



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA QUÍMICA**

**OBTENCIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO A PARTIR DE FRUTIPAN**  
*(Artocarpus communis)*

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Proyecto de investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERA QUÍMICA**

**AUTORA:** STEFANY ANDREINA RODRÍGUEZ LOOR

**TUTOR:** Ing. ADRIAN ALEJANDRO RODRÍGUEZ PINOS, MSc

Riobamba – Ecuador

2022

© 2023, **Stefany Andreina Rodríguez Loor**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, STEFANY ANDREINA RODRÍGUEZ LOOR, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 9 de diciembre del 2022.



**Stefany Andreina Rodríguez Loor**  
**C.I. 230038161-9**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA QUÍMICA**

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Proyecto de Investigación, **OBTENCIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO A PARTIR DE FRUTIPAN (*Artocarpus communis*)**, realizado por la señorita **STEFANY ANDREINA RODRÍGUEZ LOOR**, ha sido minuciosamente revisado por los miembros del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. César Arturo Puente Guijarro, Msc. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>	 _____	2022-12-09
Ing. Adrián Alejandro Rodríguez Pinos, Msc. <b>DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>	 _____	2022-12-09
Ing. Luis Santiago Carrera Almendariz, Msc. <b>ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>	 _____	2022-12-09

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo se lo dedico principalmente a mi papá, Servio Rodríguez por haberme brindado la oportunidad de estudiar apoyándome en todo momento, a mi madre, Cecibel Loor por sus palabras de motivación, por guiarme y hacer de mí una buena persona, así como también a mi abuelo, Pablo Loor que no se encuentra físicamente con nosotros, pero sé que estaría muy feliz de verme realizada como profesional. A mis sobrinas Mayté y Jaylí por su ayuda incondicional, su amor y fe en mí, a mis hermanos Alexander, Kathia, Claudia, Liliana, Andrea y Edwin por ser la fuente de inspiración en mi vida.

También dedico mi tesis a todas mis amigas las cuales han sido incondicionales conmigo y en especial a mi mejor amiga Melinna Morante por ayudarme en mis primeros semestres, a mis lindas amigas Jessica Ordoñez y Nathalya Chalar, las palabras de aliento y las cosas que vivimos han hecho de mí una mejor mujer y amiga.

Finalmente, también dedico este trabajo a todas las personas que me dieron algún consejo y ayuda durante mi carrera, esta tesis es realizada con todo mi esfuerzo y cariño. Dios bendiga sus vidas.

Stefany

## **AGRADECIMIENTO**

Le agradezco a Dios por su amor incondicional, por darme la capacidad e inteligencia para estudiar. Los agradecimientos con todo mi corazón a mi padre Servio y mi mamá Cecibel, por haberme dado la oportunidad de superarme brindándome apoyo para seguir estudiando, gracias a mi familia que siempre estuvieron pendientes de mí y especialmente a mis sobrinas Mayté y Jaylí, que me han brindado su ayuda y amor durante este período académico. Agradezco de manera especial a mis amigas Jessica y Nathalya por creer en mí y por su gran apoyo emocional y moral. Agradezco de manera especial a mi hermano Alexander Carreño por ser muy especial e incondicional conmigo, estar ahí en cada paso de mi vida.

También agradezco al Ing. Adrián Rodríguez y al Ing. Luis Carrera por sus guías y asesoramientos para poder realizar el trabajo presente, así como también a cada uno de mis docentes universitarios por impartir sus conocimientos tanto profesionales como personales ayudándonos a forjar el carácter.

Stefany

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xi
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1

### CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Problema general de investigación.....	3
1.3. Problemas específicos de investigación.....	3
1.4. Objetivos.....	3
1.4.1. <i>Objetivo general</i> .....	3
1.4.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	4
1.5. Justificación.....	4
1.5.1. <i>Justificación teórica</i> .....	4
1.5.2. <i>Justificación metodológica</i> .....	4
1.5.3. <i>Justificación práctica</i> .....	5
1.6. Hipótesis.....	5

### CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Antecedentes de la investigación.....	6
2.2. Referencias teóricas.....	7
2.2.1. <i>Generalidades del frutipan</i> .....	7
2.2.1.1. <i>Clima</i> .....	8
2.2.1.2. <i>Ciclo vital</i> .....	9
2.2.1.3. <i>Usos</i> .....	11
2.2.2. <i>Composición de la semilla de frutipan</i> .....	12

2.2.3.	<b>Almidón</b> .....	12
2.2.3.1.	<i>Amilosa</i> .....	13
2.2.3.2.	<i>Amilopectina</i> .....	13
2.2.3.3.	<i>Propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón</i> .....	14
2.2.3.4.	<i>Tipos de almidones</i> .....	16
2.2.4.	<b>Hidrólisis</b> .....	18
2.2.4.1.	<i>Hidrólisis ácida</i> .....	18
2.2.4.2.	<i>Hidrólisis enzimática</i> .....	19
2.2.5.	<b>Fermentación</b> .....	19
2.2.5.1.	<i>Tipos de fermentación</i> .....	20
2.2.5.2.	<i>Fermentación alcohólica</i> .....	21
2.2.6.	<b>Levaduras en la fermentación</b> .....	23
2.2.6.1.	<i>Características de la levadura</i> .....	23
2.2.6.2.	<i>Reproducción de las levaduras</i> .....	23
2.2.6.3.	<i>Composición química de las levaduras</i> .....	24
2.2.6.4.	<i>Condiciones para el desarrollo de las levaduras</i> .....	25
2.2.7.	<b>Alcohol etílico</b> .....	26
2.2.7.1.	<i>Producción industrial de alcohol etílico por fermentación</i> .....	27
2.2.8.	<b>Requisitos para alcohol etílico de origen agrícola</b> .....	28
2.2.8.1.	<i>Clasificación del alcohol de origen agrícola</i> .....	28
2.2.9.	<b>Determinación del contenido alcohólico</b> .....	29
2.2.10.	<b>Acidez total</b> .....	29
2.2.11.	<b>Furfural</b> .....	29
2.2.12.	<b>Alcoholes superiores</b> .....	29
2.2.13.	<b>Destilación y tipos de destilación</b> .....	29
2.2.14.	<b>Grados brix</b> .....	30
2.2.14.1.	<i>Medición de los grados brix</i> .....	31

### CAPÍTULO III

3.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	33
3.1.	<b>Enfoque de investigación</b> .....	33
3.2.	<b>Nivel de investigación</b> .....	33
3.3.	<b>Diseño de investigación</b> .....	33
3.3.1.	<i>Según la manipulación o no de la variable independiente</i> .....	34
3.3.2.	<i>Según las intervenciones en el trabajo de campo (transversal, longitudinal)</i> .....	35



3.4.	Tipo de estudio (documental/de campo).....	35
3.5.	Población y planificación, selección y cálculo del tamaño de la muestra .....	35
3.5.1.	<i>Población y planificación</i> .....	35
3.5.2.	<i>Selección y cálculo de la muestra</i> .....	35
3.6.	Metodología, métodos e instrumentos de investigación. ....	35
3.6.1.	<i>Diagrama para la extracción del almidón</i> .....	36
3.6.2.	<i>Diagrama de flujo para la hidrólisis del almidón</i> .....	39
3.6.3.	<i>Diagrama de flujo para la obtención de alcohol</i> .....	42

#### CAPÍTULO IV

4.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....	45
4.1.	Obtención del almidón.....	45
4.1.1.	<i>Prueba cualitativa para determinación de almidón</i> .....	45
4.2.	Hidrólisis ácida del almidón y medición de los grados brix .....	46
4.3.	Análisis estadístico .....	47
4.4.	Obtención de etanol .....	49
4.4.1.	<i>Grados alcohólicos obtenidos de la destilación simple</i> .....	51
4.5.	Análisis físicos y químicos del alcohol obtenido.....	52
4.6.	Prueba de las de las hipótesis .....	53
4.6.1.	<i>Prueba de la hipótesis general</i> .....	53
4.6.2.	<i>Prueba de hipótesis específica 1</i> .....	53
4.6.3.	<i>Prueba de hipótesis específica 2</i> .....	54
4.6.4.	<i>Prueba de hipótesis específica 3</i> .....	54
4.6.5.	<i>Prueba de hipótesis específica 4</i> .....	54
	CONCLUSIONES .....	55
	RECOMENDACIONES .....	56
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-2:</b>	Estados de madurez de la fruta de pan <i>Artocarpus communis</i> .....	10
<b>Tabla 2-2:</b>	Composición química del frutipan del fruto de la especie <i>Artocarpus Altilis</i> .....	12
<b>Tabla 3-2:</b>	Propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón .....	14
<b>Tabla 4-2:</b>	Tipos de almidones .....	16
<b>Tabla 5-2:</b>	Tipos de fermentación.....	20
<b>Tabla 6-2:</b>	Fases de la fermentación .....	22
<b>Tabla 7-2:</b>	Reproducción de las levaduras .....	23
<b>Tabla 8-2:</b>	Composición química de las levaduras .....	24
<b>Tabla 9-2:</b>	Condiciones de la levadura .....	25
<b>Tabla 10-2:</b>	Materias primas utilizadas en la producción de etanol por fermentación .....	27
<b>Tabla 11-2:</b>	Clasificación del alcohol de origen agrícola .....	28
<b>Tabla 12-2:</b>	Requisitos fisicoquímicos para el alcohol etílico de origen agrícola .....	28
<b>Tabla 13-2:</b>	Tipos de destilación .....	30
<b>Tabla 14-2:</b>	Métodos de medición de los grados Brix .....	31
<b>Tabla 1-3:</b>	Diseño de investigación .....	33
<b>Tabla 2-3:</b>	Variables .....	34
<b>Tabla 3-3:</b>	Descripción del proceso para la extracción del almidón.....	37
<b>Tabla 4-3:</b>	Descripción del proceso para la hidrólisis del almidón .....	39
<b>Tabla 5-3:</b>	Descripción del proceso de obtención de alcohol.....	43
<b>Tabla 1-4:</b>	Obtención de almidón de frutipan ( <i>Artocarpus communis</i> ) por vía húmeda .....	45
<b>Tabla 2-4:</b>	Determinación de los grados Brix del hidrolizado .....	46
<b>Tabla 3-4:</b>	Análisis de varianza .....	48
<b>Tabla 4-4:</b>	Resultado de los Grados Brix durante la fermentación del T2R1 .....	49
<b>Tabla 5-4:</b>	Resultado de los Grados Brix durante la fermentación del T2R2 .....	49
<b>Tabla 6-4:</b>	Resultado de los Grados Brix durante la fermentación del T2R3 .....	50
<b>Tabla 7-4:</b>	Resultado de los Grados Brix durante la segunda fermentación .....	51
<b>Tabla 8-4:</b>	Grados alcohólicos obtenidos de la destilación simple.....	51
<b>Tabla 9-4:</b>	Requisitos físicos y químicos del alcohol de origen agrícola.....	52

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1-2:</b> Artocarpus Communis (Fruta tropical de la especie Artocarpus Altilis) .....	8
<b>Ilustración 2-2:</b> Primeros frutos del árbol del pan.....	9
<b>Ilustración 3-2:</b> Semilla y Plántula de la especie Artocarpus altilis .....	11
<b>Ilustración 4-2:</b> Segmento de una molécula de amilosa .....	13
<b>Ilustración 5-2:</b> Segmento de una molécula de amilopectina .....	14
<b>Ilustración 1-3:</b> Diagrama .....	36
<b>Ilustración 2-3:</b> Proceso de jarabe glucosado.....	39
<b>Ilustración 3-3:</b> Pruebas fisicoquímicas.....	42
<b>Ilustración 1-4:</b> Prueba yodométrica positiva para almidón .....	46
<b>Ilustración 2-4:</b> Tratamientos hidrolizados y medición de los grados Brix .....	47

## ÍNDICE DE ECUACIONES

<b>Ecuación 1-1:</b> Reacción de la conversión de glucosa a alcohol .....	22
<b>Ecuación 2-2:</b> Relación de los grados alcohólicos con los grados Brix.....	32
<b>Ecuación 1-3:</b> Rendimiento del almidón.....	38
<b>Ecuación 2-3:</b> Determinación de humedad .....	38
<b>Ecuación 3-3:</b> Rendimiento del alcohol.....	43

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

- ANEXO A:** EXTRACCIÓN DEL ALMIDÓN DE FRUTIPAN A. COMMUNIS
- ANEXO B:** PROCESO DE HIDRÓLISIS DEL ALMIDÓN DE FRUTIPAN
- ANEXO C:** FIN DE HIDRÓLISIS ÁCIDA
- ANEXO D:** PRUEBAS CUALITATIVAS DE ALMIDÓN Y GLUCOSA
- ANEXO E:** MEDICIÓN GRADOS BRIX
- ANEXO F:** PROCESO DE FERMENTACIÓN
- ANEXO G:** OBTENCIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO
- ANEXO H:** TABLA DE CONVERSIÓN GRADOS BRIX Y GRADOS ALCOHÓLICOS
- ANEXO I:** RESULTADOS DE PRUEBAS FÍSICO Y QUÍMICAS.
- ANEXO J:** NTE INEN 341-DETERMINACION DE LA ACIDEZ
- ANEXO K:** NTE INEN 2014 DETERMINACIÓN DE PRODUCTOS CONGÉNERES

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo obtener alcohol etílico a partir de las semillas de frutipan de la especie *Artocarpus communis*, mediante diferentes fases del proceso como; extracción de almidón, hidrólisis, fermentación y análisis físicos químicos. En la extracción del almidón por vía húmeda se obtuvo un rendimiento de 16,34% y una humedad de 10,16%. Para la conversión de almidón en glucosa se empleó hidrólisis ácida y se llevó a cabo 4 tratamientos con tres repeticiones, en un diseño experimental 2k, las variables fueron concentración de almidón y concentración del HCl, de los cuales el mejor tratamiento fue el tratamiento dos el cual se obtuvo a partir de 50% p/v de almidón y 37% p/v de ácido, alcanzando los 63,67 grados Brix, según el análisis estadístico las variables del proceso, concentración de almidón y concentración de ácido, tuvo influencia sobre los grados Brix motivo por el cual el tratamiento escogido es viable para el proceso de fermentación anaerobia por su mayor contenido de azúcares reductores. Finalmente, a partir del mejor tratamiento se dio paso a dos fermentaciones alcohólicas la primera de 12 días y la segunda de 20 días, luego de una destilación simple se obtuvo 36° grados alcohólicos y un rendimiento de 20,52% considerándose como eficaz. Los análisis físicos y químicos reportaron un alcohol de carácter neutro con los valores establecidos por la norma NTE INEN 375 en los cuales se obtuvo una acidez de 2,4 mg/cm<sup>3</sup>, esterés 3,0 mg/cm<sup>3</sup>, aldehídos 1,3 mg/cm<sup>3</sup>, furfural 0,01 mg/cm<sup>3</sup>, metanol 8,6 mg/cm<sup>3</sup> y alcoholes superiores 2,2 mg/cm<sup>3</sup>. Se recomienda realizar una hidrólisis enzimática para la comparación del proceso de obtención de alcohol, así como también enriquecer el mosto para obtener mayores grados alcohólicos.

**Palabras claves:** <ALCOHOL ETÍLICO>, <ALMIDON>, <FRUTIPAN (*Artocarpus communis*)>, <HIDROLISIS ÁCIDA>, <FERMENTACION ALCOHOLICA>.

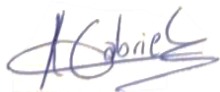
0240-DBRA-UPT-2023



## SUMMARY

The objective of this work dealt with obtaining ethyl alcohol from frutipan seeds of the *Artocarpus communis* species, through different phases of the process, such as starch extraction, hydrolysis, fermentation and physical-chemical analysis. In the wet extraction of starch, a yield of 16.34% and a moisture content of 10.16% was obtained. For the conversion of starch into glucose, acid hydrolysis was used and 4 treatments were carried out with three replicates, in a 2k experimental design, the variables were starch concentration and HCl concentration, of which the best treatment was treatment two, which was obtained from 50% w/v of starch and 37% w/v of acid. According to the statistical analysis, the process variables, starch concentration and acid concentration, had an influence on the Brix degrees, which is why the chosen treatment is viable for the anaerobic fermentation process due to its higher content of reducing sugars. Finally, based on the best treatment, two alcoholic fermentations were carried out, the first for 12 days and the second for 20 days; after a simple distillation, 36° alcoholic degrees and a yield of 20.52% were obtained, which is considered effective. The physical and chemical analyses reported a neutral alcohol with the values established by NTE INEN 375, with an acidity of 2.4 mg/cm<sup>3</sup>, esters 3.0 mg/cm<sup>3</sup>, aldehydes 1.3 mg/cm<sup>3</sup>, furfural 0.01 mg/cm<sup>3</sup>, methanol 8.6 mg/cm<sup>3</sup> and higher alcohols 2.2 mg/cm<sup>3</sup>. It is recommended to perform an enzymatic hydrolysis for the comparison of the process of obtaining alcohol, as well as to enrich the must to obtain higher alcoholic degrees.

**Key words:** <ETHYLIC ALCOHOL>, <STARCH>, <FRUTIPAN (*Artocarpus communis*)>, <ACID HYDROLYSIS>, <ALCOHOLIC FERMENTATION>.



**Abg. Ana Gabriela Reinoso. Mgs**

**Ced: 1103696132**

## INTRODUCCIÓN

El alcohol etílico es un producto de la fermentación alcohólica proveniente de diversas materias prima, especialmente las que son ricas en hidratos de carbono y altos porcentajes de azúcares fermentables. En Ecuador el alcohol etílico es altamente consumido por la población y es uno de los productos que benefician la economía del país. Una de las principales materias primas para producir etanol es la caña de azúcar por su alto contenido de azúcares fermentables y su buen rendimiento, otras de las fuentes son las materias primas ricas en hidratos de carbono como almidones provenientes de semillas, tubérculos como la yuca o la papa, cereales y cualquier alimento que posea almidón.

El almidón puede ser desdoblado a azúcares fermentables por medio de una hidrólisis ácida o enzimática, dando paso a la obtención de un jarabe glucosado el cual permite la fermentación alcohólica, mediante el uso de levaduras las cuales se alimentan de azúcares liberando CO<sub>2</sub> y etanol. Los frutos obtenidos del árbol del pan de la especie *Artocarpus altilis*, denominado *Artocarpus communis*, poseen una considerable cantidad de semillas, las cuales poseen almidón nativo, este almidón hidrolizado es un potencial para la producción de alcohol etílico mediante fermentación alcohólica. Actualmente la fruta de pan no es comercializada de ninguna forma, su único uso es de forma casera y como alimento para animales, la obtención de alcohol etílico a partir de frutipan es un producto el cual en futuras investigaciones puede ser producido industrialmente y ser comercializado.



## CAPÍTULO I

### 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1. Planteamiento del problema

El Ecuador es un país rico en fauna y flora, su vegetación es variada por su gran diversidad ecológica, según Patzelt, (1985, p.16), existen más de veintidós mil especies diferentes de vegetación en el país. Sus cuatro regiones poseen climas diferentes; cálidos, fríos y húmedos lo que permite la variedad de vegetación. Las frutas con más reconocimiento en el país desde antaño han sido el cacao y banano, ambas frutas tuvieron su gran demanda de consumo a nivel internacional.

Existe una gran variedad de frutas tropicales conocidas las cuales son consumidas diariamente por los ecuatorianos sea directamente o en productos industrializados como mermeladas, jarabes, golosinas, bebidas, etc. Entre ellas se encuentran la naranja mandarina, limón, piña, papaya, entre otras. Por otro lado, también existen las frutas exóticas las cuales solo son conocidas en el sector en el que se producen como es el caso de la fruta de pan o frutipan comúnmente conocido, esta es una especie que se produce en climas tropicales y son poco reconocidas, normalmente se consumen de forma casera en coladas, frituras o cocinadas, también se usa como alimento para animales como guatuso, vacas, caballos y cerdos.

Recientemente existe una gran aceptación hacia los diferentes productos obtenidos de la yuca y plátano entre ellos se encuentra; harina, almidones, alcoholes, jarabes etc. La fruta de pan aunque es conocida hace siglos no recibe la misma atención debido a la falta de análisis de la fruta (GRAHAM & DE BRAVO, 1981, p. 535). La producción de frutipan (*Artocarpus communis*) se presenta durante todo el año, pero en las épocas más lluviosas se presenta su mayor producción.

El árbol de frutipan es muy alto, según Arango & Quijano (1997, p.8), este árbol llega a medir de 12 a 15 metros de altura, motivo por el cual la fruta entera no se puede recolectar directamente del árbol, sino, que se debe esperar hasta que el fruto madure y caiga. En el cantón La Concordia, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas existe variedades de árboles de frutipan los fines de dichos frutos son solo caseros. Al ser una fruta que está al alcance de cualquier persona se ve la viabilidad de crear nuevos productos a partir de dicho fruto, no solamente elaboración de harinas o en recetas caseras, es así como se prevé plantear la producción de alcohol etílico a partir del frutipan como una propuesta a la innovación de nuevos productos del frutipan.

## **1.2. Problema general de investigación**

El árbol del pan posee frutos de 10 a 20 cm de ancho según Valdivié. & Alvarez (2003, p.169). Cada fruto tiene una gran cantidad de semilla de 1 a 3 cm (Villaseñor, 2015, p.8). Por el gran tamaño del árbol los frutos no pueden ser recolectados directamente, por lo que se debe esperar a que madure y caiga por efecto de la gravedad.

Una vez en el suelo los frutos se encuentran expuestos a contaminantes biológicos, por lo que debe ser recolectado durante los primeros cinco días y máximo hasta los 10 días, a partir de los 10 días se hallan hongos como; *A. niger*, *Rhizopus sp.*, *B. theobromae* *M. fulva*, *Penicillium sp.* y *A. flavus* (Amusa et al., 2002, p.59).

Es posible crear nuevos productos aprovechando todas las partes de la especie *A. communis*, gracias a los componentes que poseen, las hojas son usadas para la producción de gel cicatrizantes y actualmente existen investigaciones referentes a productos obtenidos a partir de la semilla del fruto, su gran mayoría se centra en la obtención de harinas y recetas a partir de esta.

## **1.3. Problemas específicos de investigación**

La cantidad de almidón que se extrae de las semillas del fruto son uno de los factores importantes para la obtención de alcohol etílico. Para poder realizar un proceso de fermentación se debe obtener un jarabe glucosado para obtener así un mayor rendimiento, una hidrólisis ácida ayuda a convertir las cadenas de azúcares complejas del almidón en otras más simples dando así el glucosado requerido para fermentar, por lo tanto, en la etapa de hidrólisis es una de las etapas claves en donde se debe determinar las variables a controlar, como; concentración de almidón, concentración del ácido, temperaturas y pH. Así como también la conversión de almidón a glucosa. La determinación de azúcares por la concentración de grados brix permitirá determinar el mejor tratamiento a usar en la etapa de fermentación alcohólica y una destilación simple para purificar el alcohol obtenido.

## **1.4. Objetivos**

### ***1.4.1. Objetivo general***

Obtención de alcohol etílico a partir de frutipan (*Artocarpus communis*).

#### **1.4.2. Objetivos específicos**

- Extraer almidón a partir de las semillas de frutipan *Artocarpus communis* para su posterior uso en la obtención de alcohol etílico.
- Determinar las variables de los procesos de hidrólisis mediante la aplicación de un diseño experimental y su posterior análisis estadístico.
- Realizar una fermentación alcohólica del jarabe glucosado para su posterior destilación.
- Establecer los parámetros fisicoquímicos del producto obtenido mediante la norma NTE INEN 375.

#### **1.5. Justificación**

##### **1.5.1. Justificación teórica**

Los alcoholes obtenidos a partir de almidón de papa, yuca, banano y maíz tienen buen rendimiento de acuerdo con investigaciones realizadas. Puerta, (2018, p.73) afirma que, el rendimiento de etanol obtenido a partir de almidón de maíz mediante los procesos de hidrólisis ácida y fermentación alcohólica fue de 78,1% siendo viable para la producción de alcohol etílico.

Según lo estudiado por Madruga et al., (2014, p.442), las semillas de frutipan tanto blandas como duras presentan un porcentaje de almidón entre los 90- 94%. Debido a su contenido en almidón se ve la viabilidad de producir alcohol a partir de la semilla de frutipan.

##### **1.5.2. Justificación metodológica**

La obtención de alcohol etílico posee varias etapas empezando por la obtención de almidón a partir de las semillas del árbol del pan, una segunda etapa de hidrólisis en la que se considera punto clave para la obtención de alcohol porque puede cambiar las propiedades de su estructura y funcionalidad sin cambiar su morfología granular (Wang & Copeland, 2015, p.12).

Las variables que determinan el proceso de hidrólisis son; concentración del ácido, temperatura y concentración del almidón. Una vez obtenido el almidón hidrolizado dando paso a la conversión de almidón en glucosa, se determinan mediante pruebas cualitativas y medición de los grados brix, dando paso a la etapa de fermentación alcohólica, con la ayuda de levaduras la *Saccharomyces cerevisiae*, la cual es una de las más utilizadas permitiendo la conversión rápida de azúcares en etanol (Dashko et al., 2014, p.2).

### **1.5.3. Justificación práctica**

Las semillas son recolectadas en el cantón La Concordia, Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, recogiendo 2.5kg de semilla semanales. La obtención del almidón se realiza a escala semi industrial en los laboratorios de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Laboratorios de Procesos Industriales y Laboratorio de Química Orgánica donde se realizarán las pruebas cualitativas de almidón y conversión a glucosa. El proceso de fermentación alcohólica puede realizarse con un sistema anaeróbico casero con una trampa de agua. Las pruebas para determinación del cumplimiento de los requisitos de alcohol etílico de origen agrícola para la utilización de bebidas alcohólicas se harán de acuerdo con la Norma NTE INEN 375, donde se especifica los parámetros a cumplir.

### **1.6. Hipótesis**

- Es posible obtener alcohol etílico a partir de frutipan (*Artocarpus communis*).
- El tipo de almidón obtenido de frutipan es viable para la obtención de alcohol.
- La determinación de las variables en el proceso de hidrólisis determina el mejor tratamiento.
- Los grados alcohólicos que se esperan obtener dependen del valor obtenido en la medición de los grados Brix.
- Las pruebas fisicoquímicas determinan la calidad del alcohol.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes de la investigación

Para la obtención de alcohol etílico a partir de frutipan de la especie (*Artocarpus altilis*), se requiere la obtención del almidón proveniente de las semillas del fruto (*Artocarpus communis*), puesto que en la variedad de frutipan “con semilla” contienen un alto contenido de semillas de un tamaño de 1 a 3 cm. En la investigación propuesta por Farida et al., (2015, p.26) para la obtención de Bioetanol a partir de del almidón de fruta de pan (*Artocarpus communis*) por ingeniería de sacarificación simultánea y fermentación (ESSF) usando consorcio de microbios, sugiere que dicha fruta tropical es una buena alternativa para la producción de bioetanol, puesto que posee un 79,46% de carbohidratos siendo este un valor relativamente alto. A partir de 1kg de fruta de pan se caracterizó el almidón proveniente de dicha especie y se obtiene que las semillas de la fruta de pan posee un 5,45% de humedad, 1,35% de cenizas en base seca, 0,37% de grasas 0,69% de proteínas, 1,25% de fibra y un 96,34% de carbohidratos totales (Farida et al., 2015, p.27). El contenido de almidón fue de 89% de en base seca, dicho valor fue analizado cuantitativamente por el método Anthrone midiendo la absorbancia de una longitud de onda de 620nm en un espectrofotómetro según Farida et al., (2015, p.27), se concluye así que el almidón obtenido de la semillas de la especie *A. Communis* es fuente viable para la obtención de bioetanol la técnica empleada permitió obtener una conversión cinética de fermentación del 90% mientras que, de la forma se sacarificación y fermentación diseñada se obtiene un 96% de la conversión.

Thuy et al., (2020, p.151), en el trabajo investigativo realizado sobre el efecto del tratamiento alcohólico con HCl en la modificación de jaca (*artocarpus heterophyllus lam*) almidón de semilla, realiza la obtención del almidón a partir de las semillas en el cual usa semillas frescas y enteras, retirando su corteza gruesa la parte de las semillas. Estas semillas fueron trituradas para poder romper las células y dar paso a la obtención del almidón. El proceso de molienda se realiza con agua en relación 1:5 (peso/líquido) que contiene 0,1 de NaHSO<sub>3</sub> para que la coloración del almidón no sea oscura finalmente se filtra y se deja sedimentar el almidón, el almidón sedimentado se deja se centrifuga a 500 rpm durante 15 minutos el almidón recogido se secó en una estufa durante 2 días a 50°C. Para este mismo trabajo se aplica una hidrólisis ácida con HCl usando metanol y etanol como disolvente, los productos de esta hidrólisis fueron secados a 50°C por 10 horas, para la hidrólisis se usan 25g de almidón con HCl variando las concentraciones en 2% ,4%, 6%, 8% y 12% en soluciones de alcohol donde el tratamiento con la mayor concentración de HCl tuvo una gran disminución en la viscosidad del almidón. La caracterización de este

almidón se obtuvieron resultados de; humedad 9,40%, cenizas 2,34%, proteína 0,71%, grasas 0,19%, fibra 0,71% y carbohidratos totales 87,25%. La modificación ácida del almidón nativo en metanol y etanol da lugar a almidones altamente solubles, por lo cual se concluye que es posible obtener dextrinas límites a partir del almidón de las semillas de jaca (Thuy et al., 2020, p.155).

Puerta, (2018) en su trabajo de investigación previo a la obtención del título de Ingeniería Agroindustria e Industrias Alimentarias, con el tema; efecto de la cinética de hidrólisis ácida de almidón de maíz (*zea mays l.*) en el rendimiento para la obtención de etanol, afirma que; Un tratamiento eficaz debe ser de bajo costo y bajo consumo energético. Así mismo, debe evitar la degradación o pérdida de carbohidratos o formación de subproductos inhibitorios para las enzimas y microorganismos en los procesos de hidrólisis y fermentación.

El costo de enzimas alfa-amilasa y glucoamilasa son muy costosas y no se encuentran al alcance, por otro lado, una hidrólisis ácida es un método tradicional en el cual se han obtenido buenos resultados, bajo el mismo trabajo investigativo se obtuvo un rendimiento de etanol de 78,1% con una concentración de almidón al 35%, una concentración de HCl al 37% en un tiempo de hidrólisis de 35 minutos. Una fermentación alcohólica a partir de almidón se realiza gracias a la ayuda de levaduras especialmente la (*Saccharomyces cerevisiae*), son más usadas por su capacidad de convertir rápidamente los azúcares en etanol en condiciones anaeróbicas y aeróbicas (Dashko et al., 2014, p.2)

En el trabajo realizado por Barcia, (2015), donde se realiza el trabajo de investigación obtención de etanol a partir de *Artocarpus heterophyllus lam. (Jackfruit)* considerando diferentes estados fisiológicos de la fruta, se realiza una fermentación alcohólica utilizando levadura *Saccharomyces cerevisiae* a un pH de 4.5-5 para el crecimiento óptimo, el fermentado se realizó durante 10 días y se obtuvo como mejor rendimiento etanol al 11,4 % a diferencia de Puerta (2010, p.73), en su trabajo realizado usó la misma levadura pero en mayor tiempo de fermentación y obtuvo un rendimiento de etanol de 78,1%.

## **2.2. Referencias teóricas**

### **2.2.1. Generalidades del frutipan**

El árbol del pan es una especie oriunda de las Islas de Pacífico, Malasia y Ceilán, este es una especie de árbol que se desarrolla en climas tropicales, su altura varía entre los 8 a 20 m y el diámetro de su tronco mide más de 60cm (Valdivié & Álvarez, 2003, p.169).

Es un árbol coposo y posee hojas alternas con separaciones posee látex lechoso y blanco, su forma es ovoide y sus frutos pesan entre 1 a 3 kg (Arango & Quijano, 1997, p.8). Su primera cosecha se da a los 4-6 años (Amusa et al., 2002, p.57). Existen dos tipos de especies con semilla y sin semilla, las que poseen semillas tienen más de 50 semillas por cada fruto con un tamaño de 1 a 3cm, del peso total

de la semilla el 75 por ciento es parte comestible y el 25 por ciento restante es cascara o cutícula (Duarte Aragón et al., 2017, p.15).

Entre los sinónimos botánicos de *A. altilis* se encuentran *A. communis* J.R. & G. Forst y *A. incisus* (Thunb.) L.f (Parrota, 1994, p.57).

En la investigación propuesta por Tirado et al., (2015, p.86) afirma que, el árbol del pan (*Artocarpus altilis*) es una especie perteneciente a:

- **Género:** *Artocarpus*
- **Tribu:** *Artocarpeae*
- **Familia:** *Moraceae* con cientos de variedades.

Al ser la especie más conocida es una de las más estudiadas, comprendiendo sus características, beneficios e importancia, *Artocarpus communis* se conoce a la fruta tropical que se obtiene del árbol del pan de la especie antes mencionada (Tirado et al., 2015, p.86).

En la Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas se estima que hay 85 árboles por hectárea de terreno, de los cuales de cada árbol se obtienen aproximadamente 120 frutos con un peso promedio de 744g (Uribe, 2017, p.1).



**Ilustración 1-2:** *Artocarpus Communis* (Fruta de la especie *Artocarpus Altilis*)

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

**Comentado [RISH1]:** Solo dentro de los márgenes de la ilustración como indica la guía

#### 2.2.1.1. Clima

El clima adecuado para el crecimiento de la fruta de pan o “breadfruit” en inglés, de la especie con semilla se da en climas tropicales de temperaturas entre 18 a 32 °C, con precipitaciones anuales de 1500 a 2500 mm (Parrota, 1994, p.53).

### 2.2.1.2. Ciclo vital

- *Flores*

Posee flores monoicas, en su árbol contienen flores femeninas y masculinas al mismo tiempo, las flores de sexo masculino se diferencian de las femeninas porque contienen espigas de forma cilíndricas de 12 a 40 cm de largo y un diámetro de 2.5 a 5cm, con un color amarillento, además poseen un cáliz de dos lóbulos. Por el contrario, las flores femeninas miden de 6 a 7 cm de largo y un diámetro de 4cm y estas poseen un cáliz tubular en forma de cono y un pistilo con un ovario hundido en la célula (Parrota, 1994, p.54).

- *Frutos*

Normalmente un árbol de frutipan empieza a obtener frutos a partir de los 4 años y su producción se da dos veces al año siendo continua entre marzo a septiembre con su máxima producción de frutos maduros entre los meses de junio y agosto (Parrota, 1994, p.54).



**Ilustración 2-2:** Primeros frutos del árbol del pan

Realizado por: Rodríguez, S. 2022.

La parte interna del fruto posee poca cantidad comestible de color blanquecino dicho fruto está conformada en su mayor parte por semillas de color café con una forma redondeada cada fruto tiene un aproximado de 50 a 100 semillas (Parrota, 1994, p.54).



**Tabla 1-2:** Estados de madurez de la fruta de pan *Artocarpus communis*

<b>TIPOS DE MADURACIÓN DE LA FRUTA DE PAN <i>Artocarpus communis</i></b>	
Fruta muy inmadura	Al ser desprendida del tallo, cortado o perforado, este fruto desprende una cantidad de látex lechoso, en la pulpa se produce un color oxidativo muy notorio y su pulpa es muy dura, características con las cuales se concluye que el fruto no está apto para el consumo.
Fruta inmadura	Presenta menos exudación y decoloración oxidativa que las frutas muy inmaduras y su tamaño es más grande.
Fruta madura	La cobertura de la fruta ya no presenta un color verdoso como en las frutas inmaduras, en este caso se presenta un color amarillento, y su pulpa posee un color blanquecino o crema dependiendo la fruta, no existe exudado, ni decoloración oxidativa, es así como, se puede decir que la fruta esta apta para el consumo.
Fruta muy madura	El color de la envoltura pasa de ser amarillento a un color café oscuro, presentan grietas, su pulpa posee un color muy amarillento y su textura es muy blanda.

**Fuente:** (Graham & De Bravo, 1981, p.535).

**Realizado por:** Rodríguez, S., 2022.

- Producción de semillas y diseminación

Las frutas maduras caen del árbol por efecto de la gravedad y muchas veces con la ayuda del agua de lluvia, al ser un árbol de una gran altura las frutas tienden a romperse dejando al descubierto la masa de semillas. Según Parrota (1994, p.55), algunas de las semillas que se encuentran en el suelo ya estaba germinadas mucho antes de caer, estas semillas deberán ser sembrada en suelos sobre la superficie del suelo a partir de las 7 semanas la planta alcanzara un tamaño de 30cm de alto.



**Ilustración 3-2:** Semilla y Plántula de la especie *Artocarpus altilis*

**Fuente:** (Parrota, 1994, p.55).

#### 2.2.1.3. Usos

- En las regiones de Melesia y el Caribe las semillas de frutipan se consumen como alimento cocinándolas a vapor o en agua salada (Parrota, 1994, p.56).
- En Costa Rica y Trinidad se suele preparar platos asando las semillas y adhiriéndoles sal para acompañar los platos tradicionales (Parrota, 1994, p.56).
- En Polinesia el látex que se extrae del tallo se usa como pegamento en construcciones de canoas y en Filipinas como exudado para atrapar aves (Parrota, 1994, p.56).
- Las hojas se utilizan como abono orgánico o también para envolturas de platos tradicionales (Parrota, 1994, p.56).
- En Ecuador especialmente en la región Costa donde se da la mayor producción de frutos el frutipan es solo usado con fines alimenticios, es decir está inmersa en las dietas balanceadas, no obstante, también se lo usa como alimento para animales, como en el caso del Bosque Protector “La Perla” donde existe una gran cantidad de hectáreas y en las cuales poseen

árboles de frutipan, donde dicho fruto está destinado exclusivamente a la alimentación de animales propiamente del lugar.

### 2.2.2. Composición de la semilla de frutipan

Graham Y De Bravo (1981, p.536), en su estudio “Composition of breadfruit *Artocarpus communis*” menciona que, el componente mayoritario del fruto de pan de los tres tipos de madurez; inmadura, madura y muy madura, posee principalmente carbohidratos y de los carbohidratos totales más del 50% es almidón.

**Tabla 2-2:** Composición química del frutipan del fruto de la especie *Artocarpus Altilis*

Humedad	10,53%
Cenizas	1,68%
Proteína	17,2%
Fibra	12,29%
Hidratos de Carbono	53,3%

Fuente: (Villaseñor, 2015, p.49).

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

### 2.2.3. Almidón

Dentro de una dieta normal humana se encuentra el almidón y sus productos hidrolizados como uno de los alimentos de mayor consumo, la cantidad de almidón requerida para las preparaciones alimenticias son de mayor producción especialmente en productos de panaderías. La diferencia del almidón de los demás carbohidratos es debido a los gránulos, estos, no se disuelven en agua fría por lo que forman suspensiones de baja densidad (Torres, 2007, p.10).

Se encuentra en grandes cantidades en las diversas variedades de plantas, como, por ejemplo, en los granos de cereales, los cuales contienen entre 60 y 75% de su peso seco de almidón, así como también, puede encontrarse en tubérculos, semillas de leguminosas y en algunas frutas, su concentración varía con el estado de madurez de los mismo (Hernández et al., 2008, p.718).

El almidón es la conformación de dos moléculas; 20 a 25% de amilasa (lineal y helicoidal) en peso y 75 a 80% amilopectina (ramificada) (Dorado et al., 2014, p.52), que dependiendo de la composición y arreglo estructural, confieren propiedades fisicoquímicas y térmicas únicas (Hurtado, 2019, p.2).

Los dos compuestos; amilasa y amilopectina están constituidos por glucosa por lo que el almidón posee regiones cristalinas y no cristalinas en forma de capas alternadas por el ordenamiento de las cadenas (Torres, 2007, p.11).

Un almidón puede convertirse en azúcares reductores gracias a las enzimas llamadas amilasa o a una hidrólisis ácida, dando paso a la obtención de alcohol por medio de la fermentación alcohólica de los azúcares reducidos del almidón (Del Alva, 2008, p.37).

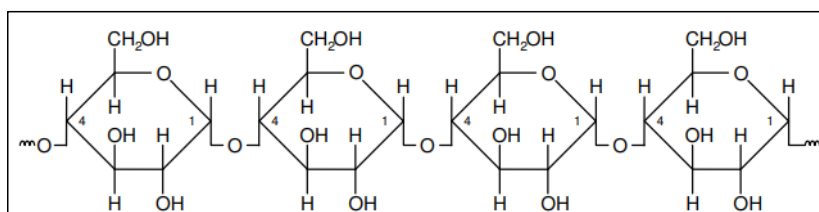
### 2.2.3.1. Amilosa

Es un polímero el cual se encuentra constituido por cadenas de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$  (1-4), dicha molécula no es soluble en agua, aunque en algunos casos forma micelas hidratadas porque tienen la capacidad de enlazar moléculas de hidrogeno a partir de los puentes de hidrógeno formando así una estructura helicoidal, la cual en presencia de yodo forma un complejo y da una coloración azul oscura (Hernández et al., 2008, p.718).

La amilosa tiende a formar geles gracias a la flexibilidad y su facilidad de adoptar ciertas formaciones en dispersiones del almidón, un enfriamiento lento permite que las cadenas se acomoden a causa de los puentes de hidrógeno y un enfriamiento rápido hace que se forme el gel (Del Alva, 2008, p.38).

Cuando se modifica la amilosa esta se vuelve más reactiva debido a que cada anillo puede llegar a tener tres grupos hidroxilos primarios (un alcohol primario reacciona más rápido que uno secundario y además más rápido que el agua) lo que favorece a reacciones de reticulación (Del Alva, 2008, p.41).

La amilosa es el polímero encargado de dar paso a la gelación del almidón cuando se eleva la temperatura, así como también es responsable de formar moléculas con una parte polar y otra apolar (Torres, 2007, p.12).



**Ilustración 4-2:** Segmento de una molécula de amilosa

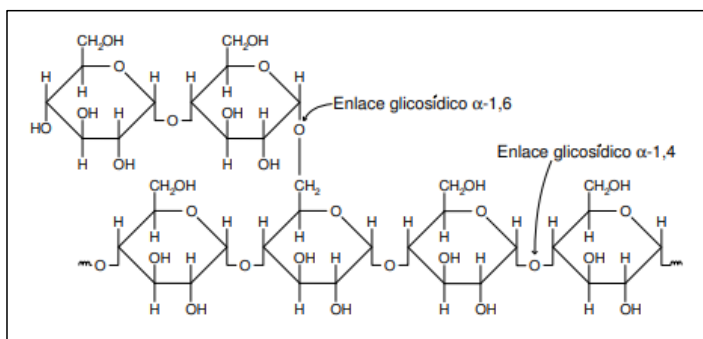
Fuente: (Ruiz, 2006, p.8).

### 2.2.3.2. Amilopectina

Es un polímero ramificado está compuesto por unidades de glucosa por medio de enlaces  $\alpha$  (1-4) y enlaces  $\alpha$  (1-6), es parcialmente soluble en agua caliente y cuando está en presencia de yodo tiene a tener un color café-morado oscuro (Del Alva, 2008, p.37).

Según (Torres, 2007, p.12), la amilopectina posee un peso molecular muy elevado dependiendo del origen del almidón, ésta constituye el 79% del almidón conocidos como céreos, es la responsable de la cristalinidad del almidón y el fenómeno de retrogradación el cual se identifica en el deterioro de los alimentos hechos a base de almidón.

La amilopectina tiene una baja reactividad debido a que cuenta con un hidroxilo primario en su anillo, tiene baja movilidad porque su estructura favorece a las redes reticuladas, sin embargo, cuando se modifica la amilopectina esta se ve favorecida por las reacciones de reticulación por los tres hidroxilos formados en su anillo glucosídico (Del Alva, 2008, p.41).



**Ilustración 52-2:** Segmento de una molécula de amilopectina

Fuente: (Ruiz, 2006, p.9).

### 2.2.3.3. Propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón

Las propiedades tanto fisicoquímicas como funcionales están basadas en la estructura granular y molecular, estas propiedades se usan para determinar la utilización del almidón en alimentos y otros sectores industriales (Del Alva, 2008, p.719).

**Tabla 3-2:** Propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón

Propiedades fisicoquímicas	
Gelatinización	<p>-Es una transición de orden y desorden que sufren los almidones al ser sometidos a temperatura (Gómez et al., 2010, p.132).</p> <p>-Ocurren cambios como el hinchamiento y la pérdida de la cristalinidad del granulo del almidón, estos cambios están relacionados a tipo de almidón, tamaño del granulo, velocidad de calentamiento, contenido de humedad y</p>

	<p>condiciones de extracción del almidón (Gómez et al., 2010, p.132).</p> <p>-Para realizar el proceso de gelatinización se requiere mínimo 30% de agua a una temperatura de 60-75°C (Gómez et al., 2010, p.132).</p> <p>-Las moléculas del almidón vibran rompiendo así los puentes de hidrógeno de las zonas amorfas provocando el hinchamiento del gránulo por absorción del agua ligándose a su estructura (Gómez et al., 2010, p.132).</p>
Retrogradación	<p>Luego de un proceso de gelatinización las moléculas quedan desordenadas, la retrogradación consiste en el ordenamiento de estas moléculas dando firmeza y rigidez. La pérdida de retención del agua y la restauración de la cristalinidad se presentan en los almidones gelatinizados, este envejecimiento está presente en almidones que contienen amilopectina en un porcentaje de 10-80 %.</p> <p>Depende de varios factores como;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fuente del almidón</li> <li>• Concentración de almidón</li> <li>• Temperatura de enfriamiento</li> <li>• pH</li> <li>• Presencia de solutos (Rodríguez et al., 2007, p.15).</li> </ul>
<b>Propiedades funcionales</b>	
Solubilidad	<p>Hace referencia a la capacidad que posee el almidón al reaccionar y disolverse con el agua (Granados et al., 2014, p.94)</p>

Hinchamiento	Esta propiedad se relaciona con el contenido de amilopectina presente en el almidón y la amilosa como un inhibidor del hinchamiento (Granados et al., 2014, p.94).
Sinéresis	La organización de las moléculas del almidón permite la expulsión del agua, produciendo cambios en sus propiedades (Ortiz, 2008, p.7).
Comportamiento reológico	Hace referencia a la deformación y fluidez de los almidones, es decir sus propiedades mecánicas, determinando su manejo tratamiento y aplicación (Arias et al., 2020, p.1)

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

#### 2.2.3.4. Tipos de almidones

**Tabla 4-2:** Tipos de almidones

<b>Almidones digeribles</b>	Dentro de los alimentos consumidos por el ser humano se encuentran los almidones de digestión lenta y de digestión rápida. La diferencia entre ambos radica en el consumo calorías, determinando así que es mejor consumir almidones de digestión lenta para mantener una dieta balanceada (Parada S & Rozowski N, 2008, p.5).
	Este tipo de almidones no son absorbidos en los intestinos de los seres humanos, este hecho se atribuye a que este tipo de almidones posee una alta cantidad de amilosa en relación a la amilopectina que crea una estructura compacta que es menos susceptible a la hidrólisis enzimática natural del

<b>Almidones resistentes</b>	<p>cuerpo, otro aspecto que influye es el tamaño y tipo de gránulo (Villarroel et al., 2018, p.272).</p>
	<p><b>Tipo 1 (AR1):</b> Se encuentra principalmente en granos enteros y legumbres, son resistentes al calor por lo que permite su cocción, además, se compone de una matriz indigerible (Villarroel et al., 2018, p.272)</p>
	<p><b>Tipo 2 (AR2):</b> Se encuentra en los alimentos crudos como papa y plátano, este tipo de almidones posee gránulos de almidón resistentes a la digestión enzimática debido a su estructura compacta que no permite el funcionamiento de las enzimas digestivas (Villarroel et al., 2018, p.272).</p>
	<p><b>Tipo 3 (AR3):</b> Su resistencia se debe a la reorganización molecular de amilosa retrogradada que proviene de un proceso de gelatinización, los ciclos de calentamiento o enfriamiento aumenta la resistencia en alimentos como leguminosas, cereales y tubérculos (Villarroel et al., 2018, p.272).</p>
	<p><b>Tipo 4 (AR4):</b> Son almidones modificados químicamente mediante esterificación, reticulación o transglicosilación, no</p>



	se pueden descomponer porque dichas modificaciones hacen que la estructura sea inaccesible a la digestión por amilasa (Villaruel et al., 2018, p.272).
	<p><b>Tipo 5 (AR5):</b></p> <p>Se forman cuando las cadenas ramificadas de amilopectina interactúan con ácidos grasos y alcoholes formando así el complejo lípido-amilosa, estos complejos se forman normalmente en procesos de cocción (Villaruel et al., 2018, p.272).</p>

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

#### 2.2.4. Hidrólisis

Según Herrera & Meers (2013, p.5), La hidrólisis consiste en la doble descomposición de la molécula de agua ( $H^+$  y  $OH^-$ ) con otro compuesto, en la cual sus átomos forman otra especie química. Por la naturaleza disolvente del agua, también puede efectuarse la hidrólisis mediante adición de un ácido o una enzima

La hidrólisis en los almidones se realiza con la intención de convertir dicho almidón en azúcares fermentables (Herrera & Meers, 2013, p.6). Su objetivo principal es romper las moléculas de tamaño macro (polisacáridos) los cuales no se puede fermentar en otros de fácil fermentación como los (mono y di sacáridos) (Romero, 2003, p.26).

##### 2.2.4.1. Hidrólisis ácida

Este tipo de hidrólisis se realiza con la ayuda de ácidos normalmente con HCl o  $H_2SO_4$  que permite dar paso al rompimiento de las cadenas cortas de dextrinas. La concentración del ácido, el pH (1.5), la temperatura (90-100°C) y el tiempo de hidrólisis son los parámetros de los cuales depende el grado de degradación (Herrera & Meers, 2013, p.6). Una hidrólisis parcial no da paso a la descomposición de azúcares (Xiao et al., 2010, p.22).

La hidrólisis por su no selectividad forma un gran cantidad de subproductos y juntos con los azúcares producen compuestos que pueden llegar a ser tóxicos para la fermentación (Romero, 2003, p.58). La hidrólisis ácida con ácido diluido tiende a rendir una gran cantidad de subproductos

mientras que, la hidrólisis con ácido concentrado forma menos subproductos pero por razones económicas el ácido debe reciclarse (Viñals et al., 2012, p.11).

#### *2.2.4.2. Hidrólisis enzimática*

Se realiza con la ayuda de microorganismos vivientes, las enzimas más utilizadas son la alfa-amilasa y beta amilasa (Bustos et al., 2017, p.133), las primeras desdoblan el almidón en glucosa y maltosa; se caracteriza por la facilidad de fragmentación de los almidones en dextrinas reductoras, que no dan color en el yodo, y la segunda, convierte la totalidad del almidón en glucosa (Romero, 2003, p.69).

La estructura granular del almidón, el tamaño y tipo de cristal, la relación amilosa/amilopectina y el peso molecular promedio de dicha relación también son factores que intervienen en la hidrólisis enzimática, además de los cuerpos proteicos y lipídicos y las condiciones de especificidad de la enzima (Bustos et al., 2017, p.133).

Una hidrólisis enzimática no es viable para el comercio del producto que se desee elaborar debido a los altos costos de las enzimas, esto se une a una baja velocidad de reacción y la necesidad de un reactor que favorezca la reacción (Romero, 2003, p.69).

#### *2.2.5. Fermentación*

La fermentación se lleva a cabo cuando existen sustancias orgánicas de origen vegetal las cuales no contienen nitrógeno (Romero, 2003, p.3), es un proceso de carácter metabólico que por efecto de levaduras y bacterias pueden transformarse compuestos químicos en orgánicos, principalmente azúcares en ácido butírico, ácido láctico o etanol (Puerta, 2010, p.1).

Los procesos biotecnológicos de la actualidad que son realizados con levaduras permiten la elaboración de cerveza, vinos o biocombustibles (Dashko et al., 2014, p.3), por lo general, se produce un desprendimiento gaseoso y se da una producción de energía.

### 2.2.5.1. Tipos de fermentación

**Tabla 5-2:** Tipos de fermentación

<b>Fermentación alcohólica</b>	Proceso anaeróbico de transformación de azúcares, principalmente hexosas, glucosas y fructuosas en etanol y dióxido de carbono, así como las creaciones de varios subproductos con la ayuda de levaduras como; <i>Saccharomyces</i> (López de la Maza et al., 2019, p.12).
<b>Fermentación Láctica</b>	El principal producto obtenido de la fermentación láctica es el ácido láctico, el cual es mayormente usado industria alimentaria, las bacterias responsables de dicha fermentación son las mismas de la elaboración de yogurt ( <i>Streptococcus, lactobacillus</i> y <i>bacillus</i> ) (Trujillo et al., 1997, p.45).
<b>Fermentación acética</b>	Es un proceso aerobio producido por la fermentación acética del alcohol etílico, el cual es oxidado aeróbicamente o acetaldehído (Carlisle, 2005, pp. 5-6).

<p style="text-align: center;"><b>Fermentación butírica</b></p>	<p>Los principales productos obtenidos son el ácido butírico y el butanol. Las primeras investigaciones sobre este tipo de fermentación fueron propuestas por PASTEUR en 1861, donde se determinó que el proceso comienza con una fermentación láctica y que el lactato de calcio formado se transformaba en butirato de calcio.</p> <p>A gran escala el ácido butírico es obtenido a partir de la transformación de carbohidratos, almidón, sacarosa, glucosa, maltosa, levulosa y ácido láctico las cuales son fermentadas por bacterias butíricas como; <i>Clostridium</i> (PACHECO &amp; YESQUEN, 2011, pp. 18-19)</p>
<p style="text-align: center;"><b>Fermentación malo-láctica</b></p>	<p>Es producida por bacterias lácticas (<i>Leuconostoc</i>, <i>Pediococcus</i> y <i>Lactobacillus</i>), las cuales mediante vía catabólicas convierten el ácido málico en ácido láctico como productos principales, se requiere la enzima malato-carboxilasa para que la reacción pueda ocurrir (Paladino et al., 2001, p.106).</p>

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

#### 2.2.5.2. Fermentación alcohólica

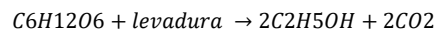
La fermentación alcohólica es una biorreacción que permite degradar azúcares en alcohol y dióxido de carbono (Vázquez & Ophélie, 2007, p.252).

Este tipo de fermentación se realiza en un sistema anaeróbico con la acción de levaduras y algunas clases de bacterias. Donde el sustrato celular; mono y di sacáridos en su mayoría, son transformados principalmente en alcohol etílico y dióxido de carbono (Romero, 2012, p.5).

Por medio de la fermentación alcohólica se produce etanol a partir de materias primas ricas en carbohidratos como; azúcar, almidón, celulosa entre otras, con la ayuda de levaduras como la *Saccharomyces cerevisiae*, que es usada con mayor frecuencia al momento de fermentar (Vázquez & Ophélie, 2007, pp.251-252).

En el proceso de fermentación alcohólica influyen varios factores tales como; concentración de azúcares, temperatura, pH, concentración de células vivas, cepa utilizada entre otros, dichos parámetros hacen que la fermentación se vea realizada en un amplio periodo de tiempo (López de la Maza et al., 2019, p.12).

La fermentación se desenvuelve a través de una reacción denominada GAY LUSSAC



**Ecuación 1-1:** Reacción de la conversión de glucosa a alcohol

Esta reacción es producto de los azúcares que se fermentan a causa de la mezcla de la levadura con el mosto dando inicio al proceso de fermentación las cuales se clasifican en tres fases (Gilces & Veloz, 2006, p.47).

**Tabla 6-2:** Fases de la fermentación

<b>Fase preliminar</b>	Inicia en el momento en que la levadura y el mosto hacen contacto donde se multiplican las células con pequeñas cantidades de elevación de temperatura y desprendimiento de Dióxido de Carbono CO <sub>2</sub> . Se realiza a temperaturas entre 20 y 30°C en un tiempo de 4 a 6 horas.
<b>Fase tumultuosa</b>	En esta fase se produce la nutrición de los microorganismos con los azúcares en presencia de oxígeno, se oxidan totalmente los azúcares y se produce CO <sub>2</sub> y en un sistema anaerobio la levadura utiliza azúcar como su alimento produciendo etanol. Existe desprendimiento de energía motivo por el cual la temperatura dentro del recipiente aumenta la cual se debe controlar, ya que de ella depende el rendimiento alcohólico.
<b>Fase final</b>	

	Existe disminución de la temperatura y desprendimiento de CO <sub>2</sub> , la concentración de azúcares llega a valores cercanos a cero en medición de grados Brix.
--	--

Fuente: (Gilces & Veloz, 2006, pp. 47-48).

Elaborador por: Rodríguez S, 2022.

### 2.2.6. Levaduras en la fermentación

Unos de los grupos de mayor importancia dentro del Reino monera son las levaduras, donde su mayor uso radica en los procesos de fermentación, síntesis de compuestos orgánicos, fuentes de vitaminas, antibióticos, hormonas esteroideas así como también en suplementos para humanos y animales, para empezar un proceso de incubación y transformar todo el azúcar contenido en la melaza en alcohol se necesitan el uso de las levaduras (Gilces & Veloz, 2006, pp.23-24).

Suárez et al., (2016, p.21) afirma que la levadura es un nombre genérico que agrupa a una variedad de organismos unicelulares.

#### 2.2.6.1. Características de la levadura

- Son microorganismos unicelulares con un tamaño entre (4-8 *um*) de largo y (5-16 *um*) de ancho siendo superior al de las bacterias, pero así mismo posee citoplasma, pared celular y membrana citoplasmática con diferentes formas (esféricas, ovaladas, cilíndricas) (Gilces & Veloz, 2006, p.23).
- Su núcleo no posee membrana de separación por lo que se encuentra incluido en el citoplasma (Gilces & Veloz, 2006, p.23).
- Su membrana citoplasmática es semipermeable, dejando pasar los alimentos nutritivos que necesita la célula y salir los desechos (Gilces & Veloz, 2006, p.23).

#### 2.2.6.2. Reproducción de las levaduras

**Tabla 7-2:** Reproducción de las levaduras

<b>Reproducción por gemación</b>	Las células nuevas siguen unidas a la original debido a que comparte el citoplasma aun cuando forma un nuevo núcleo, obteniendo la forma de racimos.
----------------------------------	--

<b>Reproducción por esporas</b>	Cuando las células están maduras estas se abren y las nuevas células crecen dentro de ella.

Fuente: (Gilces & Veloz, 2006, pp.23-24).

Elaborador por: Rodríguez S, 2022.

### 2.2.6.3. Composición química de las levaduras

**Tabla 8-2:** Composición química de las levaduras

<b>Minerales</b>	Lo constituyen principalmente los grupos fosfatos (Potasio y Magnesio), su proporción influye de manera considerable en el medio en que se desarrolle la levadura.
<b>Glúcidos</b>	La pared celular de la levadura está constituida por manano y glicógeno esterificado por ácido fosfórico. El glicógeno es poco soluble en agua, mientras que, la goma de la levadura en agua produce soluciones viscosas no reductoras que, mediante hidrólisis producen manosa, glucosa y metilpentosa. Ambas en unión producen glúcidos de reserva por lo cual viven las levaduras en los primeros periodos de fermentación.
<b>Lípidos</b>	El contenido de grasa y la tolerancia para producir alcohol son inversamente proporcionales, normalmente las levaduras poseen un 5% de materia grasa.

<b>Prótidos</b>	<p>Las materias nitrogenadas de la levadura representan un 35-65% de su materia seca, está formado por dos proteínas la albúmina y la fosfoproteína.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Un 25% corresponde a los núcleoproteidos, ácido nucleínico y volutina.</li> <li>• Un 10% restante corresponde a peptonas, aminoácidos, bases nitrogenadas, pigmentos.</li> </ul>
<b>Vitaminas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vitamina B</li> <li>• Vitamina D</li> <li>• Vitamina E (pocas cantidades)</li> </ul>
<b>Diastasas</b>	<p>Las levaduras poseen grandes cantidades de invertina, las cuales se destruyen por calentamiento y su difusión se favorece por la presencia de alcohol, cloroformo y éter.</p>

Fuente: (Gilces & Veloz, 2006, pp. 27-28).

Elaborador por: Rodríguez S, 2022.

#### 2.2.6.4. Condiciones para el desarrollo de las levaduras

**Tabla 9-2:** Condiciones de la levadura

<b>Nutrientes</b>	Hidratos de carbono, proteínas, vitaminas y sales minerales.
<b>Humedad</b>	Máxima de 45-50% dependiendo la levadura.
<b>Temperatura</b>	20-30°C
<b>Oxígeno</b>	Anaerobia: utilizan Carbonos procedentes de azúcares fermentables (glucosa, fructosa, galactosa, manosa).



	Aerobia: Asimila Carbono de ácidos orgánicos en formas de sales (ácidos lácticos, succínicos, málicos, tartárico, cítrico)
<b>Acidez</b>	Rango de pH 3-7

**Fuente:** (Gilces & Veloz, 2006, pp.28-29).

**Elaborador por:** Rodríguez S, 2022.

La levadura *Saccharomyces cerevisiae*, es una de las más utilizadas en el sector comercial industrial.

Su nombre se deriva de:

- Saccharo (azúcar)
- myces (hongo)
- cerevisiae (cerveza) (Suárez et al., 2016, p.21)

Clasificación:

- Orden: saccharomycetales
- Familia: saccharomycetaceae
- Subfamilia: saccharomycetoideae
- Tribu: saccharomycetae
- Género: saccharomyces
- Especie: saccharomyces Cerevisiae (Gilces & Veloz, 2006, p.31).

Es una levadura que no obtiene su propio alimento es decir, que obtiene la energía a partir de la glucosa y tiene una elevada capacidad fermentativa (Suárez et al., 2016, p.22).

Para la producción de alcohol etílico con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, se debe controlar los siguientes parámetros; temperatura, pH y concentración de azúcares (Puerta, 2018, p.34).

### 2.2.7. Alcohol etílico

Es un producto de la fermentación de los azúcares por levaduras (Nocito et al., 2012, p.1), en condiciones normales el etanol es volátil, inflamable y transparente. Posee un olor agradable característico de los alcoholes (Pacheco & Trujillo, 2019, p.16).

De manera industrial puede obtenerse principalmente por gracias al tratamiento de etileno con ácido sulfúrico concentrado y una hidrólisis posteriormente, unos de los métodos son mediante la hidratación del etileno a altas presiones y temperaturas y mediante el método Fischer-Tropsch el cual consiste en hidrogenación catalítica de monóxido de carbono a presiones y temperaturas altas. De manera natural se produce mediante los procesos de fermentación cuyas condiciones dependen de la materia prima a utilizar (Rodríguez, 2009, p.8)

### 2.2.7.1. Producción industrial de alcohol etílico por fermentación

Unos de los procesos mayormente usando en la fermentación industrial es la actuación de las levaduras sobre los azúcares. Dentro de los sectores comerciales como industrias cerveceras, vitivinícolas, de elaboración de vinagres, panadera, entre otros, aprovechan la factibilidad del este proceso. Existe una gran cantidad de materias primas que poseen hidratos de carbonos los cuales se obtienen a bajos costos siendo rentables para el proceso de obtención de etanol. (Rodríguez, 2009, p.10).

Dentro de los procesos de obtención existen varios parámetros que debe cumplir el tratamiento para obtener buen rendimiento de alcohol etílico tales como; concentración óptima de azúcar, pH y temperatura, adición de sustancias que nutran el mosto, inhibición al crecimiento bacteriano y levaduras con altas tolerancias alcohólicas (Rodríguez, 2009, p.10).

**Tabla 10-2:** Materias primas utilizadas en la producción de etanol por fermentación

<p><b>Directamente fermentables</b></p>	<p>No requieren transformación previa en hidratos de carbono como;</p> <p>Glucosa: Pulpa de frutas</p> <p>Sacarosa: Pulpa de frutas</p> <p>Fructuosa: Caña de Azúcar, Remolacha Azucarera, Sorgo</p> <p>Sacarino (tallos)</p>
<p><b>Indirectamente fermentables</b></p>	<p>Se necesita realiza una transformación a hidratos de carbono y luego a azúcares fermentables antes de ser sometidos a fermentación</p> <p>Almidón: Yuca, Maíz, Camote, Papa, Granos de Cereales, Tubérculos, Bananos</p> <p>Celulosa: Madera, Bagazo y Paja de Caña, Cáscaras de Maní, Tusa de Maíz, Paja de Arroz, Palma.</p>

Fuente: (Rodríguez, 2009, p.11).

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

### 2.2.8. Requisitos para alcohol etílico de origen agrícola

Se establecen normas para la producción de alcohol etílico a usarse en bebidas alcohólicas. Según la norma INEN 375 (2018), un alcohol de origen agrícola es aquel que, mediante destilación de mostos provenientes de fermentación alcohólica de materias primas de origen agrícola de naturaleza azucarada o amilácea, así como también rectificaciones o destilados alcohólicos simples.

#### 2.2.8.1. Clasificación del alcohol de origen agrícola

**Tabla 11-2:** Clasificación del alcohol de origen agrícola

<b>Alcohol extra neutro</b>	Alcohol etílico de origen agrícola con un grado alcohólico mínimo de 96 % de fracción volumétrica y cuyo contenido total de congéneres es específica en la tabla 12-2.
<b>Alcohol neutro</b>	Alcohol etílico de origen agrícola con un grado alcohólico mínimo de 95 % de fracción volumétrica y cuyo contenido total de congéneres se especifica en la tabla 12-2.

Fuente: (INEN, 2018, p.1).

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

**Tabla 12-2:** Requisitos fisicoquímicos para el alcohol etílico de origen agrícola

Requisito	Unidad	Alcohol etílico extraneutro		Alcohol etílico neutro		Método de ensayo
		Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	
Alcohol, fracción volumétrica	%	96	-	95	-	NTE INEN 340
Acidez total, como ácido acético	mg/100 cm <sup>3</sup> (*)	-	1,5	-	3,0	NTE INEN 341
Ésteres, como acetato de etilo	mg/100 cm <sup>3</sup> (*)		1,3	-	5,0	NTE INEN 2014
Aldehídos, como etanal	mg/100 cm <sup>3</sup> (*)		0,2	-	2,0	NTE INEN 2014
Furfural	mg/100 cm <sup>3</sup> (*)	-	0,01	-	0,01	NTE INEN 2014
Metanol	mg/100 cm <sup>3</sup> (*)	-	1,5		10,0	NTE INEN 2014
Alcoholes superiores **	mg/100 cm <sup>3</sup> (*)	-	0,7	-	3,0	NTE INEN 2014

\* El volumen de 100 cm<sup>3</sup> corresponde al alcohol absoluto.  
 \*\* Los alcoholes superiores comprenden: isopropanol, propanol, isobutanol, isoamilico, amilico.

Fuente: (INEN, 2018, p.2).

### **2.2.9. Determinación del contenido alcohólico**

La determinación de los grados alcohólicos hace referencia a la relación entre el volumen del etanol que se encuentra en una mezcla hidroalcohólica a temperatura ambiente 20°C y el volumen total de la muestra a la misma temperatura expresándose en porcentaje (%) (INEN, 2016, p.1).

### **2.2.10. Acidez total**

Se conoce como acidez total a los ácidos totales que se obtienen cuando la bebida alcohólica es llevada a un pH neutral de 7, por medio de la adición de una solución alcalina (INEN-341, 1978, p.1).

### **2.2.11. Furfural**

Su nombre se deriva de la palabra en latín *furfur* que en castellano se denomina “salvado” la cual hace referencia a la fuente común para su obtención. Se encuentra en aldehídos de subproductos derivados de maíz, avena, trigo, aleurona, aserrín (NTE INEN 2014, p.1).

### **2.2.12. Alcoholes superiores**

Este término se usa para hacer referencia a aquellos alcoholes que presentan un alto peso molecular los cuales se producen en el proceso de fermentación alcohólica. Los alcoholes principales son el 2-propanol, isobutanol, butanol y alcoholes amílicos (NTE INEN 2014, p.1).

### **2.2.13. Destilación y tipos de destilación**

Destilación es una operación física la cual permite la separación de una mezcla líquida con distintos puntos de ebullición obteniendo una sustancia más pura.

Luego del proceso de fermentación el cual posee cierto grado alcohólico, este debe ser sometido a una etapa de destilación para obtener los grados alcohólicos deseados según el tipo de alcohol que se desee obtener (González et al., 2016, p.50).

A escala industrial la producción de alcohol etílico se lo realiza con tecnologías de alta eficacia actualmente, independientemente de la materia prima usada y la finalidad del alcohol, las columnas de destilación al vacío con transferencia de energía es la razón por la cual el proceso se considera estable y eficiente. También se determinan debilidades del este proceso porque no hay un aprovechamiento de la calidad térmica de las corrientes (González et al., 2016, p.50).

El punto de ebullición del alcohol está comprendido entre 70 a 78°C y el punto de ebullición del agua es 100°C al aplicar las temperaturas adecuadas el alcohol es separado del mosto y sus vapores

son conducidos a un condensador que los vuelve a estado líquido, este, tendrá la misma composición que los vapores (Áviles & Días, 2021, p.19).

**Tabla 13-2:** Tipos de destilación

<b>Destilación simple</b>	Destilación a escala de laboratorio que purifica líquidos mediante la eliminación de impurezas no volátiles mediante la diferencia de los puntos de ebullición.
<b>Destilación fraccionada</b>	Se basa en la diferencia de los puntos de ebullición al igual que la destilación simple la diferencia radica en que este sistema posee una columna rectificadora la cual se llena con perlas de vidrio o lana metálica que proporciona una superficie para que el líquido sea condensado y se vuelva a evaporar varias veces.
<b>Destilación al vacío</b>	La presión de vapor del líquido es igual a la presión externa, si se reduce la presión también se reduce el punto de ebullición.

Fuente: (Áviles & Días, 2021, pp.20-21).

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

#### 2.2.14. Grados brix

La escala de medición de los sólidos solubles fue establecida por el químico alemán A.F.W. Brix en el siglo XIX, es una de las mediciones más usadas en las industrias de bebidas para cuantificar la cantidad de azúcar contenido en las bebidas (Zuluaga, 2009, p.76).

Se define como el porcentaje peso-peso de azúcar disuelta en una solución acuosa y se expresa en grados Brix, por ejemplo, una solución con 10° B implica que la solución de 100 g tiene 10 g de azúcar disuelta (Zuluaga, 2009, p.76).

#### 2.2.14.1. Medición de los grados brix

Existen varios métodos para medir la cantidad de sacarosa obtenida en una solución y ser expresadas en términos de grados Brix (Zuluaga, 2009, p.76).

**Tabla 14-2:** Métodos de medición de los grados Brix

<b>Densimetría</b>	<p>La medición por termohidrómetro fue la técnica pionera en este tipo de medición, sin embargo, actualmente es considerada obsoleta y no es usada en condiciones normales.</p> <p>Esta técnica posee ciertas desventajas prácticas como la fragilidad del hidrómetro, el cual está fabricado de vidrio y necesita ser calibrado periódicamente y con mucha exactitud. El procedimiento para leer Brix con este instrumento en ocasiones es difícil y requiere tiempo, y no puede ser automatizado.</p>
<b>Refractometría</b>	<p>Se usa un refractómetro es un aparato de medición diseñado para determinar esta variación en la velocidad de la luz, para medir Brix, es esencial que la dependencia con la temperatura se tome en consideración, el equipo tiene la opción de realizar calibraciones con uno o dos puntos, normalmente los valores <i>zero</i> y <i>span</i>, La respuesta del refractómetro está dada como índice de refracción asociada a una temperatura por compensación. Esta lectura la convierte a grados Brix directo o invertido dependiendo de la escala a la cual se desea imprimir en la pantalla del refractómetro.</p>

<b>Titulación inversa</b>	<p>La AOAC International también recomienda el método volumétrico Lane-Eynon se usa la solución de Fehling titulada con una solución de azúcar previamente invertido (muestra), ya que la sacarosa como tal no es un azúcar reductor mientras que los derivados de su inversión si lo son. Esta técnica es usada principalmente para análisis de soluciones con baja concentración de azúcar, alrededor de 9,5 g por litro (aprox. 1 °B). Debido a que es una titulación inversa la calidad de la medición disminuye con el aumento de la concentración de sacarosa invertida presente en la solución, el procedimiento como tal es difícil y los cálculos descritos en la norma AOAC no expresan el resultado en grados Brix.</p>
---------------------------	--

Fuente:(Zuluaga, 2009, pp.67-77).

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

#### 2.2.14.2. Grados Brix y su relación con los grados alcohólicos

Mediante la concentración de azúcares medidas en un refractómetro se puede obtener el grado alcohólico de forma indirecta, cuando un mosto tiene una gran cantidad de azúcares, este tendrá una mayor densidad y a su vez menos velocidad en los rayos de luz (Torres, 2017,p.4).

Para la medición de grados Brix con un refractómetro, este debe estar calibrado, se debe estandarizar con agua destilada y la muestra a medir debe estar a una temperatura ambiente de 20°C.

Una vez medidos los grados Brix se puede calcular los grados alcohólicos aproximados mediante la siguiente ecuación, para grados brix entre 15 a 25 °B, para valores superiores se puede verificar mediante tablas (Torres, 2017,p.4).

$$\%vol = (0.6757x \text{ Grados Brix}) - 2,0839$$

**Ecuación 2-2:** Relación de los grados alcohólicos con los grados Brix

Según Torres (2017 ,p.15) en el manual de instrucciones de manejo del uso de refractómetro dispone de una tabla en donde se relaciona los grados Brix con valores mayores a los propuestos para el uso de la ecuación 2, con los grados alcohólicos.

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. Enfoque de investigación

La investigación presente se realiza mediante un enfoque mixto, es decir, cuantitativo y cualitativo. Se pretende partir de la hipótesis en la cual se plantea la posibilidad de obtener alcohol a partir de las semillas de frutipan *Artocarpus communis*. Siguiendo dicho procedimientos investigaciones de temas afines. Así como también se requieren las cantidades de almidón a hidrolizar para poder realizar una fermentación alcohólica y dar paso a la obtención del alcohol. Los análisis estadísticos no permitirán reconocer cual es el mejor procedimiento.

#### 3.2. Nivel de investigación

Se considera que este tipo de investigación es de carácter exploratorio puesto que se busca conocer la viabilidad de las semillas de frutipan para producir alcohol etílico, si bien existen investigaciones relacionadas, pero no existe tal investigación concretamente.

#### 3.3. Diseño de investigación

Para esta investigación se realizará un diseño factorial  $2^k$ , según Medina & Lopez, (2011, P.101) este es uno de los mejores métodos para la determinación los efectos de varios factores y sus interacciones.

La información obtenida de este diseño de investigación permite el desarrollo de nuevos procesos industriales o analíticos y productos (Medina & Lopez, 2011, P.104)

**Tabla 1-3:** Diseño de investigación

Tratamiento	Repeticiones	Variable A Concentración almidón %p/v	Variable B Concentración ácida %v/v
T1	T1R1	35	37
	T1R2	35	37
	T1R3	35	37
	T2R1	50	37



T2	T2R2	50	37
	T2R3	50	37
T3	T3R1	35	30
	T3R2	35	30
	T3R3	35	30
T4	T4R1	50	30
	T4R2	50	30
	T4R3	50	30

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

### 3.3.1. Según la manipulación o no de la variable independiente (no experimental, casi experimental, experimental)

Según la manipulación de la variable es un diseño experimental ya que las variables son controladas y manipuladas permitiendo la aceptación o no de la hipótesis.

**Tabla 2-3:** Variables

N.º	Etapa	VARIABLES INDEPENDIENTES	VARIABLES DEPENDIENTES
1	Extracción de almidón	Velocidades: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alta</li> <li>• Media</li> <li>• Baja</li> </ul>	Rendimiento del almidón
2	Hidrolisis del almidón	Cantidad de almidón a hidrolizar. Concentración de ácido HCl	Grados Brix
3	Fermentación	Grados Brix Días de fermentación	Grados alcohólicos

4	Destilación	Temperatura Tiempo de destilación	Grados alcohólicos.
5	Análisis Físicos y químicos		

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

### 3.3.2. Según las intervenciones en el trabajo de campo (transversal, longitudinal)

El trabajo investigativo es transversal puesto que se debe centrar en el control de características en momentos concretos.

### 3.4. Tipo de estudio (documental/de campo)

El estudio es de campo realizándose en los laboratorios de la ESPOCH, mediante la experimentación en todas las fases previas a la obtención del alcohol etílico permitiendo así el estudio y análisis de los resultados según las variables, también se puede aludir que también es de carácter documental debido a que este tipo de estudio hace referencia a la recolección de la información lo cual es indispensable para el presente trabajo.

### 3.5. Población y planificación, selección y cálculo del tamaño de la muestra

#### 3.5.1. Población y planificación

La materia prima, frutipan, será recolectada en el Cantón La Concordia en los lugares específicos donde se encuentre el árbol del pan. Se necesitará 10kg de semillas de frutipan para obtener el almidón mediante vía húmeda facilitando el proceso.

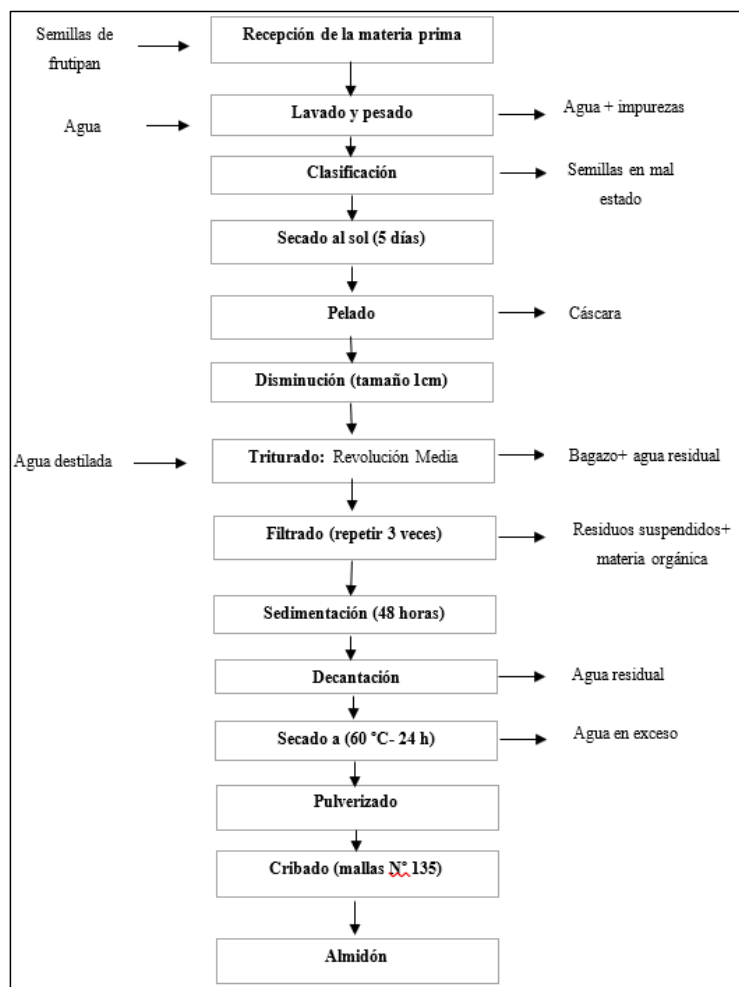
#### 3.5.2. Selección y cálculo de la muestra

La selección de la muestra para esta investigación es de carácter no probabilístico, ya que la cantidad de alcohol a obtener es una variable dependiente netamente del proceso.

### 3.6. Metodología, métodos e instrumentos de investigación.

### 3.6.1. Diagrama para la extracción del almidón

El almidón será obtenido por vía húmeda como lo propone Espinoza (2015, p. 40), en su trabajo de obtención de alcohol etílico a partir de almidón de banano donde obtiene un buen rendimiento. La extracción por vía húmeda es una de las más utilizadas en los trabajos investigativos por su amplia información y por la factibilidad del proceso.



**Ilustración 1-3:** Diagrama

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

**Tabla 3-3:** Descripción del proceso para la extracción del almidón

Materiales	Equipos	Reactivos
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cuchillos</li> <li>• Recipientes plásticos</li> <li>• Bandejas de aluminio</li> <li>• Tela filtrante</li> <li>• Fundas Ziploc</li> <li>• Mortero</li> <li>• Vidrio reloj</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Licuadora industrial</li> <li>• Estufa</li> <li>• Balanzas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agua destilada</li> <li>• Lugol</li> </ul>
<b>PROCEDIMIENTO</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Recepar la materia prima, semillas de frutipan analizando las semillas que se encuentren en mejores condiciones.</li> <li>• Las semillas recolectadas deben sometidas a lavado y pesado</li> <li>• Secar las semillas al sol durante 5 días con el fin de secar la cáscara externa de la semilla facilitando el pelado.</li> <li>• La reducción de tamaño se la realiza con un cuchillo de acero inoxidable a tamaños aproximados de 1cm.</li> <li>• Para el proceso de trituration se necesita una velocidad media y por cada 1kg de semilla se agrega 5 l de agua (1:5).</li> <li>• En el proceso de filtrado se debe usar tela para filtrar leche, este procedimiento debe ser realizado 3 veces</li> <li>• Dejar sedimentar el almidón por 48 horas, luego de este tiempo se decantar el agua residual y se obtener la pasta blanca del almidón.</li> <li>• Dejar secar la pasta blanca en recipientes de aluminio en una estufa industrial a 60°C por 24 horas.</li> <li>• Pulverizar el almidón obtenido con un mortero hasta obtener partículas finas.</li> <li>• Cribar el almidón en una malla 135um para obtener partículas uniformes</li> <li>• Almacenar el almidón en fundas ziploc a temperatura ambiente.</li> </ul>		

- Comprobar la existencia de almidón, colocando almidón sobre un vidrio reloj y añadir gotas de Lugol, si la prueba es positiva el almidón tomará un color azul-purpura oscuro, caso contrario adquiere el color natural del yodo indicativo de la ausencia de almidón.
- Evaluar el rendimiento del almidón.

**Ecuación 1-3:** Rendimiento del almidón.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

- Determinar la humedad del almidón mediante pérdida de peso, colocando 10g de muestra de almidón previamente calibradas, en una estufa a 105°C durante 15 minutos, desecar y pesar, repetir hasta tener un peso constante.

**Ecuación 2-3:** Determinación de humedad

$$\%H = \frac{(\text{Peso cap} + \text{MH}) - (\text{peso cap} + \text{MS})}{\text{gramos de almidon}} \times 100$$

Donde:

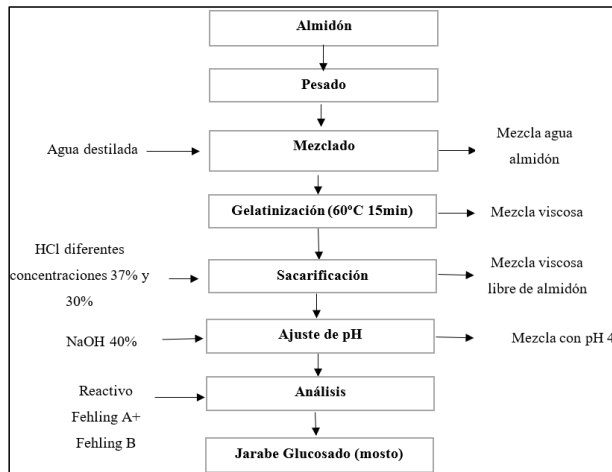
MH= Mezcla homogénea

MS= Muestra Seca

**Nota:** Se debe realizar este procedimiento mínimo 3 veces para constatar la eficacia del método.

**Realizado por:** Rodríguez, S., 2022.

3.6.2. Diagrama de flujo para la hidrólisis del almidón



**Ilustración 2-3:** Proceso de jarabe glucosado

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

**Tabla 4-3:** Descripción del proceso para la hidrólisis del almidón

Materiales	Equipos	Reactivos
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vasos de precipitación</li> <li>• Pipetas</li> <li>• Varilla de agitación</li> <li>• Espátula</li> <li>• Vidrio reloj</li> <li>• Etiquetas</li> <li>• Guantes</li> <li>• Mascarilla</li> <li>• Malla de asbesto</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reverbero</li> <li>• Termómetro</li> <li>• Balanzas</li> <li>• Indicador de pH</li> <li>• Refractómetro</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agua destilada</li> <li>• HCl</li> <li>• NaOH</li> <li>• Fehling A y Fehling B.</li> <li>• Lugol</li> </ul>
<b>PROCEDIMIENTO</b>		

**Tratamiento uno (35% de almidón y 37% HCl)**

- Pesar 35g de almidón nativo de frutipan en una balanza analítica
- Colocar agua destilada en un vaso de precipitación de 250ml con el fin de obtener una concentración de 35% p/v.
- Mezclar almidón con agua a una temperatura 60°C durante 15 minutos, hasta obtener una mezcla viscosa.
- Dejar enfriar
- Agregar 5ml de HCl al 37% y agitar constantemente sobre el reverbero a una temperatura constante de 90°C, durante 120 minutos.
- Comprobar la conversión del almidón en glucosa mediante prueba negativa para Lugol.
- Dejar enfriar y ajustar el pH con NaOH al 40%, dejar un pH de 4.
- Una vez obtenido la prueba negativa para almidón, se realiza la comprobación de la conversión del almidón a glucosa, mediante prueba Fehling; agregar en un tubo de ensayo 2ml de hidrolizado y 0.25ml de Fehling A+ 0.25ml de Fehling B, llevar a baño María y observar el cambio de color de azul a rojo pardo, indicativo de presencia de glucosa.
- Repetir 3 veces el tratamiento, etiquetar cada tratamiento.
- Medir los grados Brix de cada tratamiento.

**Tratamiento dos (50% de almidón y 37% HCl)**

- Pesar 50g de almidón nativo de frutipan en una balanza analítica
- Colocar agua destilada en un vaso de precipitación de 250ml con el fin de obtener una concentración de 50% p/v.
- Mezclar almidón con agua a una temperatura 60°C durante 15 minutos, hasta obtener una mezcla viscosa.
- Dejar enfriar
- Agregar 5ml de HCl al 37% y agitar constantemente sobre el reverbero a una temperatura constante de 90°C, durante 120 minutos.
- Comprobar la conversión del almidón en glucosa mediante prueba negativa para Lugol.
- Dejar enfriar y ajustar el pH con NaOH al 40%, dejar un pH de 4.
- Una vez obtenido la prueba negativa para almidón, se realiza la comprobación de la conversión del almidón a glucosa, mediante prueba Fehling; agregar en un tubo

de ensayo 2ml de hidrolizado y 0.25ml de Felina+ 0.25ml de Fehling B, llevar a baño María y observar el cambio de color de azul a rojo pardo, indicativo de presencia de glucosa.

- Repetir 3 veces el tratamiento, etiquetar cada tratamiento.
- Medir los grados Brix de cada tratamiento.

#### **Tratamiento tres (35% de almidón y 30% HCl)**

- Pesar 35g de almidón nativo de frutipan en una balanza analítica
- Colocar agua destilada en un vaso de precipitación de 250ml con el fin de obtener una concentración de 35% p/v.
- Mezclar almidón con agua a una temperatura 60°C durante 15 minutos, hasta obtener una mezcla viscosa.
- Dejar enfriar
- Agregar 5ml de HCl al 30% y agitar constantemente sobre el reverbero a una temperatura constante de 90°C, durante 120 minutos.
- Comprobar la conversión del almidón en glucosa mediante prueba negativa para Lugol.
- Dejar enfriar y ajustar el pH con NaOH al 40%, dejar un pH de 4.
- Una vez obtenido la prueba negativa para almidón, se realiza la comprobación de la conversión del almidón a glucosa, mediante prueba Fehling; agregar en un tubo de ensayo 2ml de hidrolizado y 0.25ml de Felina+ 0.25ml de Fehling B, llevar a baño María y observar el cambio de color de azul a rojo pardo, indicativo de presencia de glucosa.
- Repetir 3 veces el tratamiento, etiquetar cada tratamiento.
- Medir los grados Brix de cada tratamiento.

#### **Tratamiento cuatro (50% de almidón y 30% HCl)**

- Pesar 50g de almidón nativo de frutipan en una balanza analítica
- Colocar agua destilada en un vaso de precipitación de 250ml con el fin de obtener una concentración de 50% p/v.
- Mezclar almidón con agua a una temperatura 60°C durante 15 minutos, hasta obtener una mezcla viscosa.

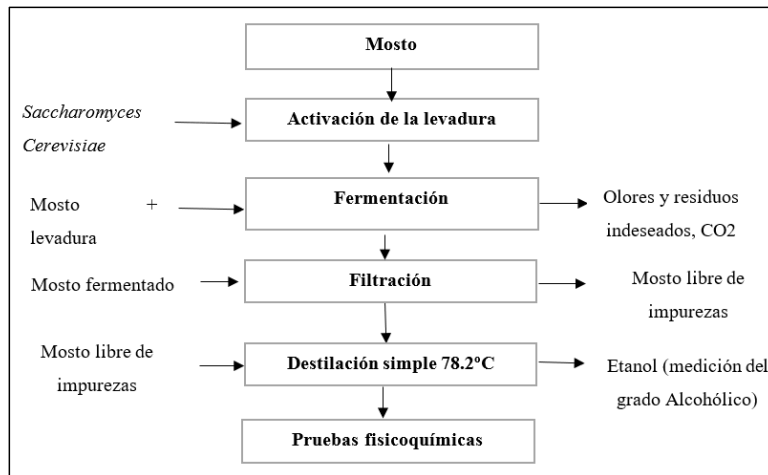


- Dejar enfriar
- Agregar 5ml de HCl al 30% y agitar constantemente sobre el reverbero a una temperatura constante de 90°C, durante 120 minutos.
- Comprobar la conversión del almidón en glucosa mediante prueba negativa para Lugol.
- Dejar enfriar y ajustar el pH con NaOH al 40%, dejar un pH de 4.
- Una vez obtenido la prueba negativa para almidón, se realiza la comprobación de la conversión del almidón a glucosa, mediante prueba Fehling; agregar en un tubo de ensayo 2ml de hidrolizado y 0.25ml de Felina+ 0.25ml de Fehling B, llevar a baño María y observar el cambio de color de azul a rojo pardo, indicativo de presencia de glucosa.
- Repetir 3 veces el tratamiento, etiquetar cada tratamiento.
- Medir los grados Brix de cada tratamiento.

**Nota:** Una vez obtenido el tratamiento con mayor grados Brix, se debe realizar el mismo procedimiento aumentando las cantidades de almidón, agua, ácido y base.

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

### 3.6.3. Diagrama de flujo para la obtención de alcohol



**Ilustración 3-3:** Pruebas fisicoquímicas

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

**Tabla 15-3:** Descripción del proceso de obtención de alcohol

Materiales	Equipos	Reactivos
Etiquetas Probetas Recipientes	Equipo de destilación Equipo de fermentación casero Refractómetro Alcoholímetro	Agua destilada Alcohol
<b>PROCEDIMIENTO</b>		
<p>Determinar el tratamiento con mayor concentración de grados Brix.</p> <p>Realizar 3 repeticiones con las cantidades indicadas del tratamiento llevado a escala 1000.</p> <p>Medir grados Brix, ajustar pH de ser necesario (3.5-4) y medir la temperatura.</p> <p>Activar la levadura con agua a 35°C hasta obtener una solución lechosa.</p> <p>Agregar la levadura al mosto, tapar correctamente el recipiente y colocar la trampa de agua</p> <p>Dejar fermentar durante 15 a 20 días.</p> <p>Medir los grados Brix periódicamente verificando su reducción, hasta obtener un valor constante el cual indica el final de la fermentación.</p> <p>Realizar una destilación simple a 78.2°C, temperatura a la cual se destila el etanol</p> <p>Medir los grados alcohólicos obtenidos.</p> <p>Realizar un análisis sensorial del alcohol obtenido.</p> <p>Calcular el rendimiento del alcohol obtenido.</p> <p><b>Ecuación 3-3:</b> Rendimiento del alcohol</p> $\%R = \frac{\text{cantidad de alcohol obtenido ml}}{\text{mosto fermentado ml}} \times 100$ <p>Se deben realizar las pruebas fisicoquímicas según lo estipula la norma INEN375</p> <p>Alcohol, fracción volumétrica: NTE INEN 340</p> <p>Acidez total: NTE INEN 341</p> <p>Ésteres: NTE INEN 2014</p> <p>Aldehídos: NTE INEN 2014</p> <p>Furfural: NTE INEN 2014</p>		

Metanol: NTE INEN 2014

Alcoholes superiores: NTE INEN 2014

**Realizado por:** Rodríguez, S., 2022.

## CAPITULO IV

### 4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Obtención del almidón

**Tabla 1-4:** Obtención de almidón de frutipan (*Artocarpus communis*) por vía húmeda

Tratamiento	Materia prima	Cantidad de almidón	Rendimiento %	Humedad %
1	2,5 kg	389 g	15,6	10,2
2	2,5 kg	416 g	16,6	10,1
3	2,5 kg	420 g	16,8	10,2
Promedio		408g	16,3	10,2

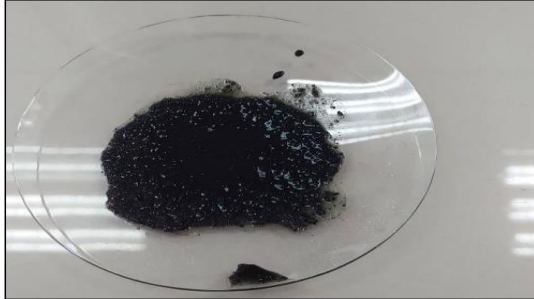
Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

Según la tabla 20-4, el rendimiento promedio de almidón es de 16,3%, siendo un valor aceptable. El trabajo propuesto por Arévalo (2011, p.42), donde realiza la extracción de almidón de yuca para la obtención de alcohol etílico obtiene un rendimiento de 16,5% similar al valor obtenido.

El porcentaje de rendimiento de este trabajo difiere significativamente con los valores obtenidos en el trabajo investigativo de Evaluación Nutricional y funcional del almidón de frutipan especie sin semilla propuesto por Villaseñor (2015, p.48), en la cual se obtiene un rendimiento 56,4%. La principal razón de la diferencia es que la fruta de pan sin semilla posee un mayor contenido de masa por lo cual se puede aprovechar toda la fruta para extraer su almidón a diferencia del presente trabajo en donde únicamente se utiliza las semillas de la fruta de pan variedad con semillas. El contenido de humedad es de 10,2% están dentro de los límites establecidos ya que a partir de una humedad del 12% se desarrolla con más facilidad el crecimiento microbiano (Puerta, 2018, p.25).

##### 4.1.1. Prueba cualitativa para determinación de almidón

El almidón obtenido fue sometido a prueba según el método yodo métrico, el cual consiste en utilizar una disolución de Yoduro de Potasio (KI) en agua destilada a la cual se le denomina Lugol. El indicativo para la prueba positiva para almidón es el cambio de coloración del almidón a un color púrpura muy oscuro, como se puede observar en la Ilustración 6-4 (Puerta, 2018, p.47).



**Ilustración 1-4:** Prueba yodo métrica positiva para almidón

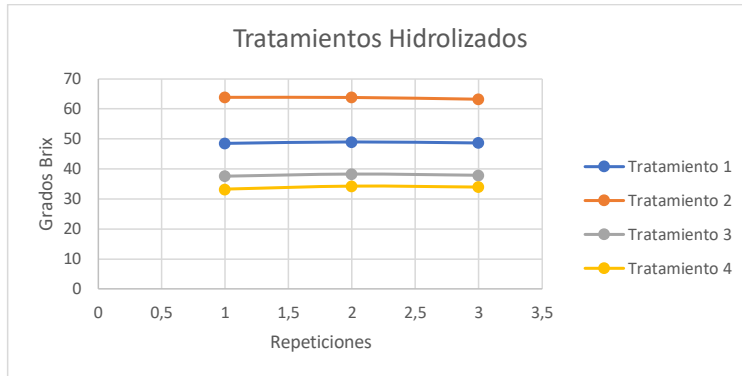
Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

#### 4.2. Hidrólisis ácida del almidón y medición de los grados brix

**Tabla 16-4:** Determinación de los grados Brix del hidrolizado

Tratamiento	Repetición	Grados brix (°B)	Índice de refracción
1	T1R1	48,54	1,41
	T1R2	49,02	1,42
	T1R3	48,67	1,41
2	T2R1	63,90	1,45
	T2R2	63,85	1,45
	T2R3	63,27	1,45
3	T3R1	37,59	1,39
	T2R1	38,30	1,39
	T3R3	37,90	1,39
4	T4R1	33,28	1,38
	T4R2	34,28	1,38
	T4R3	33,96	1,38

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.



**Ilustración 2-4:** Tratamientos hidrolizados y medición de los grados Brix

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

En el Ilustración 1-4, se puede observar los valores obtenidos de la medición de Grados Brix de cada uno de los tratamientos realizados, se puede constatar que el tratamiento dos (T2) con formulaciones de 50% p/v de almidón y 37% HCl presenta mayor grados Brix, motivo por el cual es escogido como el mejor tratamiento para su posterior fermentación al tener mayor cantidad de azúcares fermentables, por el contrario, el tratamiento 4 T(4) con formulaciones de 50% almidón y 30% HCl presenta el menor contenido de azúcares en la medición Brix.

### 4.3. Análisis estadístico



**Ilustración 1-4:** Gráfica de probabilidad normal

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

El Ilustración 3-4 muestra una probabilidad de datos normales, para un análisis de varianza los datos deben tener una distribución normal aproximada, los valores debe tener significancia entre sí.

**Tabla 3-4:** Análisis de varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	3	1598,56	532,85	3727,78	0,000
Lineal	2	1327,24	663,62	4642,60	0,000
CONC ALM	1	88,13	88,13	616,54	0,000
CONC ACI	1	1239,11	1239,11	8668,67	0,000
Interacciones de 2 términos	1	271,32	271,32	1898,12	0,000
CONC ALM*CONC ACI	1	271,32	271,32	1898,12	0,000
Error	8	1,14	0,14		
Total	11	1599,71			

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

El análisis estadístico ANOVA muestra un valor de p menor al nivel de significancia de 0,05, según este valor se llega a la conclusión de que el nivel de significancia para rechazar la hipótesis nula es mayor al 95%, debido a que todos los factores tienen influencia en la obtención de grados Brix. Según los realizado por Espinoza (2015, p.54) concluye que al obtener el valor de ( $p < 0.05$ ) se debe rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alternativa, en la cual se determinan que las variables del proceso determinan el mejor tratamiento.

Se realizaron en total 12 hidrolizados variando la concentración de Ácido clorhídrico y la concentración de almidón:

- Tratamiento 1: 35% almidón y 37% HCl
- Tratamiento 2: 50% almidón y 37% HCl
- Tratamiento 3: 35% almidón y 30% HCl
- Tratamiento 4: 50% almidón y 30% HCl

De todos los tratamientos se midieron los grados Brix y se determinó que la mayor grados Brix, se debe a una concentración de almidón al 50% p/v y 37% v/v de HCl, dando como resultado valores muy cercanos en las tres repeticiones de 63,67°B. El menor contenido de grados Brix lo tuvo el tratamiento 3, debido a la concentración baja del ácido, según Puerta, (2018, p.30) una baja concentración de ácido hace que se obtenga una hidrólisis parcial del almidón.

Tomando en cuenta las tablas de Refractometría propuestas por Torres (2017, p.3), las cuales relaciona los grados Brix con los grados alcohólicos, el aumento de grados Brix será directamente

proporcional a los grados alcohólicos, es decir entre mayor grados Brix se obtiene mayores grados alcohólicos.

#### 4.4. Obtención de etanol

Según la tabla 21-4 el tratamiento 2 con sus tres repeticiones posee una mayor cantidad de grados Brix de 63,67°B, indicando que es el mejor tratamiento para llevar a un proceso fermentativo, entre más grados brix posea el tratamiento mayor cantidad de azúcares fermentables posee la muestra (Zuluaga, 2009, p.76).

**Tabla 4-4:** Resultado de los Grados Brix durante la fermentación del T2R1

Tratamiento	Días de fermentación	Grados Brix °B	pH
T2R1	1	63,70	4.5
	5	57,83	4.5
	10	44,23	4
	12	27,35	4

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

**Tabla 5-4:** Resultado de los Grados Brix durante la fermentación del T2R2

Tratamiento	Días de fermentación	Grados Brix °B	pH
T2R2	1	63,83	4,5
	5	56,38	4,5
	10	47,35	4
	12	26,74	4

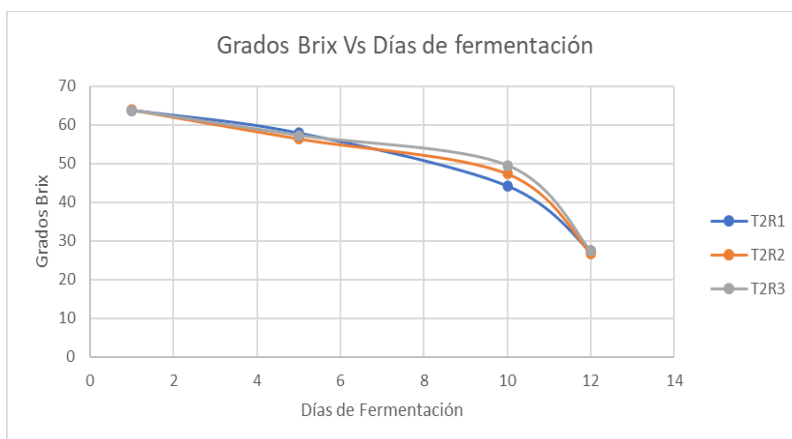
Realizado por: Rodríguez, S., 2022.



**Tabla 6-4:** Resultado de los Grados Brix durante la fermentación del T2R3

Tratamiento	Días de fermentación	Grados Brix °B	pH
T2R3	1	63.67	4,5
	5	57.23	4,5
	10	49.52	4
	12	27.53	4

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.



**Ilustración 2-4:** Grados Brix vs Días de fermentación de los 3 tratamientos realizados

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

Se midieron los grados Brix durante el proceso de fermentación de los tres mostos fermentados, el objetivo de la medición es la reducción de los mismo para constatar que el proceso fermentativo está siendo efectivo, los grados Brix fueron bajando periódicamente como se observa en el Ilustración 3-4, al día 12 de fermentado se obtienen que los tres tratamientos alcanzan un valor promedio de 27,20°B, el control del pH se mantuvo en valores de 4,5-4 este control debe ser realizado para evaluar que la levadura siga en óptimas condiciones durante la fermentación. Sigifredo y Stroppiano (2003, p.12) asegura que la levadura *Saccharomyces Cerevisiae* se favorece en un pH de 4,4-5, así como también la disminución del pH durante la fermentación se debe a que el Nitrógeno toma la materia orgánica perdiendo su alcalinidad y volviéndose más ácida un pH alcalino no es favorable para el desarrollo eficaz de la levadura.

**Tabla 7-4:** Resultado de los Grados Brix durante la segunda fermentación

Tratamiento	Días de fermentación	Grados Brix °B	pH
T2R4	1	62,91	4
	4	59,46	
	6	47,21	
	10	32,86	
	14	26,38	
	17	24,13	
	19	24,11	
	20	24,11	

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

La tabla 25-4 muestra los resultados obtenidos durante la segunda fermentación donde únicamente se realizó una repetición con el fin de dar paso a una fermentación hasta obtener el valor constante de los grados Brix, como se observa en la tabla 7-4 los grados Brix son constantes a partir del día 19 de fermentación, a diferencia de la primera fermentación donde se obtuvo un valor promedio de 27,20 °B en las tres repeticiones. Los grados Brix disminuyeron hasta 24,11 obteniéndose un valor más bajo concluyendo así un mejor proceso de fermentación y posterior destilación, esto se debe a el tiempo de fermentación que, concordando con lo propuesto por Arévalo, (2011, p.44), para alcohol etílico obtenido a partir de almidón, se mantuvo una fermentación de 15 a 30 días obteniendo así mejores resultados en las muestras donde se obtiene menor cantidad de grados Brix finales debido a que hay más conversión de azúcares en etanol.

#### 4.4.1. Grados alcohólicos obtenidos de la destilación simple

**Tabla 8-4:** Grados alcohólicos obtenidos de la destilación simple

Tratamiento	Volumen mosto fermentado (ml)	Volumen obtenido (ml)	Grados alcohólicos Destilación simple GAY LUSSAC	Rendimiento %
<b>Primera fermentación</b>				
T2R1	750	140	36	18,7
T2R2	750	158	35	21,1
T2R3	750	167	35	22,3

PROMEDIO		155	35	20,7
<b>Segunda Fermentación</b>				
T2	750	162	38	21,6

Realizado por: Rodríguez, S., 2022.

Se realizaron cuatro fermentaciones de 750ml de mosto, tres fermentaciones en una primera etapa y una fermentación posterior en una segunda etapa con más días de fermentación hasta obtener un valor de grados Brix constantes, con levadura *Kveik Ale Yeast* de la sepa *Saccharomyces cerevisiae*, utilizada para obtener alcoholes de hasta 40 °GL. Cada mosto fue destilado mediante destilación simple en la cual se obtuvieron grados alcohólicos de entre 35°,36° y 38°GL para cada tratamiento, obteniendo un rendimiento de entre 20,92% promedio de los 4 tratamientos. En los resultados obtenidos por Puerta (2018, p.73), obtuvo un rendimiento de la obtención del alcohol de 78,14% en su trabajo sobre el efecto cinético de la hidrólisis ácida en el almidón de maíz para la obtención de alcohol etílico, donde su mejor tratamiento lo obtienen a partir de una concentración de almidón del 35% y de HCl al 37%, siendo similares a el tratamiento acertado en el presente trabajo, la diferencia entre el trabajo citado con el presente, se basa en el tipo de almidón, puesto que para el trabajo de la hidrólisis de maíz se usa un almidón comercial y en el presente se usa un almidón nativo realizado experimentalmente.

Realizando una comparación con el Trabajo de Integración Curricularpropuesto por Barcia, 2015, donde se obtiene alcohol a partir del almidón de frutipan de la especie *Artocarpus heterophyllus lam*, sin semilla se obtiene un rendimiento de etanol de 12,5% en una fermentación de un periodo de 10 días (Barcia, 2015, p.28), A diferencia de este trabajo donde se obtiene un rendimiento mayor debido a que se realizó una fermentación de 20 días hasta obtener el valor constante de medición en los grados Brix.

#### 4.5. Análisis físicos y químicos del alcohol obtenido

**Tabla 917-4:** Requisitos físicos y químicos del alcohol de origen agrícola

Parámetro	Unidad	Método	Requisitos Alcohol Neutro	Resultado
Acidez total, como ácido acético	mg/100cm <sup>3</sup>	NTE INEN 341	Mínimo: - Máximo: 3,0	2,4

Ésteres como Acetato de etilo	mg/100cm <sup>3</sup>	NTE INEN 2014	Mínimo: - Máximo: 5,0	3,9
Aldehído como etanal	mg/100cm <sup>3</sup>	NTE INEN 2014	Mínimo: - Máximo: 2,0	1,3
Furfural	mg/100cm <sup>3</sup>	NTE INEN 2014	Mínimo: - Máximo: 0,01	0,01
Metanol	mg/100cm <sup>3</sup>	NTE INEN 2014	Mínimo: - Máximo: 10,0	8,6
Alcoholes superiores	mg/100cm <sup>3</sup>	NTE INEN 2014	Mínimo: - Máximo: 3,0	2,2

Realizado por: Labolab, 2022.

La tabla 9-4 muestra los resultados obtenidos de las pruebas físicas y químicas realizadas al alcohol obtenido, según la norma INEN, (2018, p2.), los valores obtenidos a través de los métodos de ensayos propuestos determinan si el alcohol obtenido a partir de fuentes agrícolas es de carácter neutro o extraneutro. Los valores obtenidos de acidez, esteres, aldehídos, furfural y metanol corresponde a los de un alcohol neutro cuyos valores máximos se encuentran especificados en la tabla 27-4.

#### **4.6. Prueba de las de las hipótesis**

##### **4.6.1. Prueba de la hipótesis general**

Luego de un proceso de destilación simple a partir del almidón de frutipan hidrolizado se acepta la hipótesis general acerca de la obtención del alcohol etílico, se obtuvo 36°GL de la destilación del mosto fermentado, teniendo como evidencia la aceptación de la hipótesis.

##### **4.6.2. Prueba de hipótesis específica 1**

Las semillas de frutipan posee una considerable cantidad de almidón, el dato se puede verificar a partir del valor obtenido del rendimiento el cual fue de 16,34%, concluyendo así que es posible

obtener almidón a partir de las semillas del fruto de pan de la especie *A. communis*, el porcentaje de humedad es otro de los indicativos de la viabilidad del proceso de extracción, se obtuvo un valor de humedad menor al 12%, se considera que a partir de este valor comienza el crecimiento microbiano del almidón nativo, impidiendo su uso.

#### **4.6.3. Prueba de hipótesis específica 2**

En análisis de varianza indica que las variables del proceso de hidrolisis (concentración de almidón y concentración de ácido) si determinan el mejor tratamiento, el valor de p es menor a 0,05 por lo que el nivel de significancia es mayor a 95%, permitiendo así rechazar la hipótesis nula  $H_0$  y aceptar la hipótesis alternativa donde se determinan que dichas variables si tienen significancia sobre los grados Brix.

#### **4.6.4. Prueba de hipótesis específica 3**

Los grados alcohólicos obtenido concuerdan con los valores de la tabla de conversión de grados Brix a grados alcohólico (ver ANEXO G), se obtuvo 36°GL de los mostos fermentados.

#### **4.6.5. Prueba de hipótesis específica 4**

Las pruebas fisicoquímicas se encuentran dentro de los parámetros de calidad, según lo estipulado por la norma INEN 375, para alcoholes etílicos provenientes de origen agrícola, ver Tabla 9-4 donde se encuentran los valores obtenidos indicando que se obtiene un alcohol neutro.

## CONCLUSIONES

- Se obtuvo alcohol a partir de las semillas de frutipan, empezando con la extracción del almidón a partir de las semillas, siguiéndose de una hidrólisis ácida con HCl, así como también un proceso de fermentación alcohólica anaerobia y una destilación simple.
- Se extrajo almidón a partir de las semillas de frutipan en el cual se usaron 2.5 kg de semilla triturada y se obtuvo 408,33g de almidón, obteniéndose un rendimiento de 16,34% y una humedad de 10,33% siendo viable para su posterior hidrólisis y fermentación alcohólica.
- Se determinaron las variables en el proceso de hidrólisis ácida, en las cuales se varió la concentración de almidón y la concentración de ácido a usar, el mejor tratamiento fue el que alcanzó los 63, 67°B el cual se obtuvo de una concentración de almidón de 50% y una concentración de HCl 37%, según el análisis de varianza el valor p fue menor a 0,05, determinando que todos los factores tienen influencia sobre los grados Brix.
- Se realizó una fermentación alcohólica en tres repeticiones con 750ml cada uno en un periodo de 12 días de fermentación donde se obtuvo 36°GL en el primer tratamiento y 35°GL en el tratamiento 2 y 3, adicionalmente se realizó una cuarta fermentación con 20 días de fermentación en el cual se obtuvo un valor de grados Brix constante de 24,11 y 38°GL.
- Los parámetros fisicoquímicos del alcohol obtenido se encuentran dentro de los requisitos propuestos por la Norma INEN 375, para alcoholes etílicos de origen agrícola, para acidez; 2,4 mg/cm<sup>3</sup>, ésteres; 3,9 mg/cm<sup>3</sup>, aldehídos; 1,3 mg/cm<sup>3</sup>, furfural; 0,01mg/cm<sup>3</sup>, metanol 8,6 mg/cm<sup>3</sup> y alcoholes superiores; 2,2 mg/cm<sup>3</sup>, valores los cuales indican la obtención de un alcohol neutro.

## RECOMENDACIONES

- Para mejorar el rendimiento de obtención de alcohol se puede enriquecer el mosto con jugo de caña de azúcar puesto que es alto en glucosa.
- Se puede optar por hidrólisis enzimática de almidón obtenido de las semillas del frutipan, se considera que una hidrólisis enzimática no permite la creación de subproductos durante la hidrólisis, por lo que se esperaría un mejor tratamiento.
- Usar una levadura que resista a altos grados alcohólicos como la *Saccharomyces bayanus*, puesto que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* no resiste muchos grados alcohólicos limitando el proceso de obtención de alcohol.

## BIBLIOGRAFÍA

**AMUSA, N. A., et al.** "Bio-deterioration of breadfruit (*Artocarpus Communis*) in storage and its effects on the nutrient composition". *African Journal of Biotechnology*, [en línea], 2002, (United State of America) 1(2), pp. 50-55. [Consulta: 28 enero 2022]. ISSN 1014-1521. Disponible en: <https://doi.org/10.5897/ajb2002.000-010>

**ARANGO, G., & QUIJANO, J.** *Datos de la industria*. Ecuador: Andes Edit, 1997, p.5.

**ARÉVALO, A.** "Uso Del Almidón De Yuca Para La Obtención De Alcohol Etflico". *Scielo*, vol. 4, n°5 (2011), (Ecuador) pp. 1-2.

**ARIAS, W., et al.** (2020). "El papel de la reología en la caracterización de fluidos". *Scielo, Scielo*, vol. 14, n°4 (2020), (Ecuador) pp. 4-6.

**ÁVILES, V. et al.** *Diseño de una destiladora industrial de alcohol*. Ecuador: Santa Ines, 2021, p.4.

**BARCIA, J.** "Obtención de etanol a partir de *artocarpus heterophyllus lam.* (jackfruit) considerando diferentes estados fisiológicos de la fruta". *Revista UCE*, vol. 1, n°2 (2021), (Ecuador) pp. 2-4.

**BUSTOS, C., et al.** "Hidrólisis enzimática de almidón enzymatic Hydrolysis of starch". *Revista de Investigación Universidad de América*, vol. 2, n°4 (2017), (Ecuador) pp. 1-5.

**CARLISLE, R.** " *Algunas reacciones de la Fermentación acética*". *Scielo*, vol. 1, n°5 (2005), (Ecuador) pp. 123-565.

**DASHKO, S., et al.** "Why, when, and how did yeast evolve alcoholic fermentation? FEMS" *Yeast Research, Scielo*, vol. 14, n°6 (2014), (Ecuador) pp. 826–832. <https://doi.org/10.1111/1567-1364.12161>

**DEL ALVA, H.** "Efecto de amilosa, amilopectina y sus derivados oxidados sobre la biodegradabilidad y propiedades en espumas de poliuretano". *Scielo*, vol. 4, n°5 (2008), (Ecuador) pp. 2-56.



**DORADO, G., et al.** "Efectos de la amilasa, en cuerpos exteriores". *Archaeobios*, vol. 1, n°8 (2021), (Ecuador) pp. 51–60.

**DUARTE ARAGON, E. Et al.** "Elaboración de harina de fruta de pan (*Artocarpus Altilis*), aplicando métodos de conservación como alternativa de desarrollo agroindustrial, en la región Atlántica de Nicaragua (RACCS – RACCN), en el periodo de agosto 2016-septiembre 2017". *Scielo* [en línea], 2017, (Ecuador) 17(2), pp. 1-2. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0102-0302. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/6724/1/240094.pdf>

**ESPINOZA, S.** *Obtención de alcohol etílico a partir del almidón de banano*. In. Ecuador: Rayos Nocturnos Editorial, 2015, p.69.

**FARIDA, I. et al.** "Direct bioethanol production from breadfruit starch (*Artocarpus communis* forst) by engineered simultaneous saccharification and fermentation (ESSF) using microbes consortium". *Scielo* [en línea], 2015, (USA) 1(2), pp. 25-31. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0132-1222. Disponible en: <https://doi.org/10.14710/ijred.4.1.25-31>

**GILCES, P., & VELOZ, P.** "Estudio Del Uso De Los Nutrientes Para La Levadura En Fermentación Con El Propósito De Mejorar La Producción Del Alcohol Etílico". *Scielo* [en línea], 2006, (Ecuador) 1(2), pp. 25-31. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0112-1232. Disponible en <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/737/1/975.pdf>

**GONZÁLEZ, M., et al.** "Análisis energético e integración de la destilación de alcohol: : método convencional y doble efecto". *Centro Azúcar*, vol. 43, n°3 (2016), (Ecuador) pp. 57–67.

**GRAHAM, H. D., & DE BRAVO, E. N.** (1981). "Composition of the Breadfruit". *Journal of Food Science*, [en línea], 1981, (USA) 46(2), pp. 535-539. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 1232-6543. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1981.tb04904.x>

**GRANADOS, C., et al.** "Propiedades funcionales del almidón de sagu (*maranta arundinacea*). Propiedades Funcionales Del Almidón de Sagu (*Maranta Arundinacea*)" *Scielo*, vol. 2, n°3 (2014), (Ecuador) pp. 90–96.

**HERNÁNDEZ, M., et al.** (2008). "Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México". *Ciencia e Tecnología de Alimentos*, [en línea], 2008, (Ecuador)

28(3), pp. 718-726. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 1212-6544. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/s0101-20612008000300031>

**HERRERA, A., & MEERS, R.** (2013). "Diseño De Las Etapas De Hidrólisis De Almidón Y Fermentación Para Producir Bioetanol Basado En La Respuesta Dinámica Del Sistema". *Scielo* [en línea], 2015, (USA) 1(2), pp. 25-31. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 1233-5675. Disponible en: [http://190.25.234.130:8080/jspui/bitstream/11227/67/1/DISEÑO\\_DE\\_LAS\\_ETAPAS\\_DE\\_HIDRÓLISIS\\_DE\\_ALMIDÓN\\_Y\\_FERMENTACIÓN\\_PARA\\_PRODUCIR\\_BIOETANOL\\_BASADO\\_EN\\_LA.pdf](http://190.25.234.130:8080/jspui/bitstream/11227/67/1/DISEÑO_DE_LAS_ETAPAS_DE_HIDRÓLISIS_DE_ALMIDÓN_Y_FERMENTACIÓN_PARA_PRODUCIR_BIOETANOL_BASADO_EN_LA.pdf)

**HURTADO, J.** (2019). "Estudio del almidón modificado de Banano (*M. sapientum* L.) variedad cavendish obtenido por acetilación. In" *Revista cubana de Enfermería*, [en línea], 2019, (Ecuador) 7(2), pp. 31. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0187-0987. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/14181>

**NTE INEN 341.** *Bebidas Acohólicas Determinación de la Acidez.* p.1–7.

**NTE INEN 340.** *Bebidas Alcohólicas. Determinación Del Contenido De Alcohol Etílico. Método del alcoholímetro de vidrio.*

**ECUATORIANA NTE INEN 3028.** *Servicio Ecuatoriano De Normalización.*

**LÓPEZ DE LA MAZA, D.** "Application of principal component analysis to alcoholic fermentation". *Revista Científica de La UCSA*, [en línea], 2019, (USA) 2(52), pp. 2-31. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 9769-3456. Disponible en: <https://doi.org/10.18004/ucsa/2409-8752/2019.006.02.011-019>

**VALDIVIÉ, D.& ÁLVAREZ, R.** "Nota sobre la utilización del árbol de la fruta del pan (*Artocarpus communis*) en pollos de engorde". *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, vol. 37, n°2 (2003), (Ecuador) pp. 169–172.

**MADRUGA, M. et al.** (2014). "Chemical, morphological and functional properties of Brazilian jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) seeds starch". *Food Chemistry, Scielo* [en línea], 2015, (USA) 1(2), pp. 25-31. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 3132-1232. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.003>

**MEDINA, P., & LOPEZ, Á.** "Análisis crítico del diseño factorial 2K sobre casos aplicados". *Scientia Et Technica*, [en línea], 2011, (Ecuador) 3(2), pp. 101-106. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0232-2222. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84921327018>

**MONSALVE, J., et al.** (2010). "Producción de etanol a partir de la cáscara de banano". *Hedianzixue Yu Tance Jishu/Nuclear Electronics and Detection Technology*, [en línea], 2010, (Colombia) 12(22), pp. 235-331. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0222-1254. Disponible en: [https://doi.org/10.14710/ijred.4.1.25-3130\(12\), 21-27](https://doi.org/10.14710/ijred.4.1.25-3130(12), 21-27).

**NOCITO, L. Et al.** *Alcoholismo*. Ecaudor: Andes edit, 2012, pp. 1-8.

**ECUATORIANA NTE INEN 2014.** *Annual book of inen, bebidas alcohólicas. Determinación de productos congéneres por cromatografía de gases*, 34.

**ORTIZ, C.** "Estabilidad Congelación/Descongelación y Análisis de Textura de Mezclas de geles de almidones". *Scielo*, vol. 4, n°5 (2008), (Ecuador) pp. 11-22.

**PACHECO, L., & YESQUEN, J.** "Proceso De Obtencion De Parametros Optimos En La Produccion De Acido Butirico a Partir De La Melaza De La Caña De Azucar." *Scielo*, vol. 2, n°12 (2011), (Ecuador) pp. 2-34.

**PACHECO, N., & TRUJILLO, J.** (2019). "Obtención de etanol por fermentación alcohólica a partir del exudado de la pulpa de cacao ( *Theobroma cacao L.* )". *Scielo*, vol. 2, n°5 (2019), (Ecuador) pp. 1-22.

**PALADINO, S. C., et al.** (2001). "La fermentación maloláctica y el color de vinos tintos". *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias, Scielo* [en línea], 2001, (Ecuador) 2(2), pp. 15-21. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0132-1222. Disponible en: [https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos\\_digitales/10114/tomo-33-2-cap13.pdf](https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/10114/tomo-33-2-cap13.pdf)

**PARADA S, J. A., & ROZOWSKI N, J.** (2008). "Relación entre la respuesta glicémica del almidón y su estado microestructural". *Revista Chilena de Nutricion*, [en línea], 2008, (USA) 35(6), pp. 5-15. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0132-1222. Disponible en: <https://doi.org/10.4067/S0717-75182008000200001>

**PARROTA, J. A.** "Artocarpus altilis (S. Park.) Fosb. Panapén, pana de pepitas". *Scielo* [en línea], 2015, (USA) 21(23), pp. 1-9. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0132-1222. Disponible en: <http://www.fs.fed.us/global/iitf/Artocarpusalttilis.pdf>

**PATZELT, E.** (1985). "*flora del ecuador*". *Scielo*, vol. 2, n°12 (2015), (Ecuador) pp. 1-6.

**Pineda Gómez, P., et al.** (2010). "Papel del agua en la gelatinización del almidón de maíz: estudio por calorimetría diferencial de barrido". *Ingeniería y Ciencia*, [en línea], 2010, (Salvador) 1(2), pp. 129-141. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 1266-4356. Disponible en: <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/ingciencia/article/view/252>

**PUERTA, I.** "Fundamentos de la fermentación en beneficio del café". *Calidad y Manejo Ambiental*, vol. 65, n°32 (2010), (Ecuador) pp. 3-7.

**PUERTA, M.** "Efecto de la cinética de hidrólisis ácida de almidón de maíz (zea mays .) En el rendimiento para la obtención de etanol.". *Scielo*, vol. 1, n°2 (2018), (Ecuador) pp. 1-110.

**RODRIGUEZ, E., et al.** (2007). "Evaluación de la retrogradación del almidón en harina de yuca precocdda". *Rev. Colomb. Quím*, vol. 36, n°1 (2007), (Colombia) pp. 13-30.

**RODRÍGUEZ, L.** *Estudio de la obtención de alcohol etílico a partir de sorgo*. Ecuador: Andes Santa Rosa, 2009, p.54.

**ROMERO, C.** "Evaluación de la Fermentación Alcohólica para la Producción de Hidromiel". *Scielo*, vol. 4, n°3 (2012), (Ecuador) pp. 1-5.

**ROMERO, I.** "Hidrólisis ácida y enzimática del residuo de poda de olivo. Fermentación de Hidrolizados con Pachysolen Tannophilus. In". *Revista Jaén*. [en línea], 2003, (Ecuador) 23(2), pp. 1-31. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 6543-8767. Disponible en: <http://ruja.ujaen.es/bitstream/10953/431/1/8484392880.pdf>

**RUIZ, G.** "Obtención y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca". *Ingeniería y Ciencia - Ing.Cienc*, [en línea], 2015, (Colombia) 11(26), pp. 2-21. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 1212-6532. Disponible en: <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/ingciencia/article/view/457>

**SIGIFREDO, B., & STROPPIANO, C.** "Análisis comparativo de la influencia de factores de estrés en levaduras industriales y levaduras de panificación" *Scielo*, vol. 65, n°22 (2003), (Ecuador) pp. 1-2.

**SUÁREZ, C., et al.** "Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol". *Revista de Investigación*, [en línea], 2016, (Ecuador) 52(1), pp. 20-38. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0132-6565. Disponible en: <https://doi.org/10.14710/ijred.4.1.25-31>

**THUY, L. et al.** "Effect of hcl-alcoholic treatment on the modification of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus lam*) seed starch". *Materials Science Forum*, [en línea], 2015, (USA) 9(91), pp. 2-3. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 1234-4321 Disponible en: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.991.150>

**TIRADO, D. et al.** (2015). "Transferencia de calor y materia durante el proceso de freído de alimentos: Tilapia (*Oreochromis niloticus*) y fruta de pan (*Artocarpus communis*). *Informacion Tecnologica*, [en línea], 2015, (Perú) 26(1), pp. 1-2. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0132-1222. Disponible en: <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000100010>

**TORRES, A.** *Manual de instrucciones PCE-Oe*. Colombia: Editorial Sol, 2017, p.34.

**TORRES, K.** "Optimización De La Etapa De Hidrólisis Ácida En El Proceso De Fosfatación De Almidón Por Extrusión Para La Encapsulacion De Aceite Esencial De Naranja". *Scielo* [en línea], 2015, (Ecuador) 1(2), pp. 1-101. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0132-1222. Disponible en: <http://www.uaeh.edu.mx/docencia/Tesis/icbi/licenciatura/documentos/Optimizacion de la etapa de hidrolisis acida.pdf>

**TRUJILLO, M., et al.** "fermentacion lactica en continuo a partir de suero dulce de el suero de leche es un gran contaminante de aguas debido a su alta demanda bioquímica de oxígeno ( dbo ), principalmente causada por la estudia la posibilidad de convertir el lactosuero en un profesional". *Scielo*, vol. 1, n°2 (2022), (Ecuador) pp. 45-50.

**URIBE, J.** "Mapeo y caracterización agronómica de la población de fruta de pan (*Artocarpus altilis*) en plantas ya establecidas de Santo Domingo de los Tsáchilas". *Scielo*, vol. 4, n°12 (2017), (Ecuador) pp. 1-2.

**VÁZQUEZ, J., & OPHÉLIA, D.** (2007). "Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas". *Ingeniería, Investigación y Tecnología, Scielo* [en línea], 2007, (Ecuador) 8(4), pp. 249-259. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 0243-4543. Disponible en: <https://doi.org/10.22201/fi.25940732e.2007.08n4.020>

**VILLARROEL, P., et al.** "Resistant starch: Technological characteristics and physiological interests". *Revista Chilena de Nutricion*, [en línea], 2018, (Colombia) 24(76), pp. 1-6. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 1547-8954. Disponible en: <https://doi.org/10.4067/s0717-75182018000400271>

**VILLASEÑOR, D.** (2015). Evaluación nutricional y funcional del almidón de la fruta de pan ( *Artocarpus altilis* ) como potencial componente en alimentos, en la provincia del Oro, *Scielo* [en línea], 2015, (Ecuador) 12(43), pp. 1-76. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 1994-19865. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/2884/1/CD000019-TRABAJO COMPLETO-pdf>

**VIÑALS, M., et al.** "Obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica". *Redalyc*, vol. 4, n°5 (2012), (Ecuador) pp. 1-2.

**WANG, S., & COPELAND, L.** (2015). "Effect of Acid Hydrolysis on Starch Structure and Functionality: A Review". *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, [en línea], 2015, (Ecuador) 55(8), pp. 1081-1097. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 9393-9898. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.684551>

**ZULUAGA, E.** "Fisicoquímico empleados y homologación de métodos de análisis fisicoquímico empleados en postobón s.a. para materias primas y producto terminado, y validación del método para la determinación de grados brix". *Scielo* [en línea], 2009, (España) 21(1), pp. 2-3. [Consulta: 11 enero 2023]. ISSN 1993-1998. Disponible en: <https://doi.org/10.14710/ijred.4.1.25-31>



**ANEXOS**

**ANEXO A: EXTRACCIÓN DEL ALMIDÓN DE FRUTIPAN A. COMMUNIS**



a)



b)



c)

<b>NOTAS:</b>	<b>CATEGORIA DEL DIAGRAMA:</b> <input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar	<b>ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO</b> <b>FACULTAD DE CIENCIAS</b> <b>ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA</b>	<b>EXTRACCIÓN DE ALMIDON DE FRUTIPAN (<i>Artocarpus communis</i>)</b>		
a. Reducción del tamaño de las semillas de frutipan			<b>LÁMINA</b>	<b>ESCALA</b>	<b>FECHA</b>
		ELABORADO POR:	1	1:1	26/04/2022

b. Sedimentación del almidón	<input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar	Rodríguez Stefany			
c. Almidón seco, pulverizado					



**ANEXO B: PROCESO DE HIDRÓLISIS DEL ALMIDÓN DE FRUTIPAN**



a)



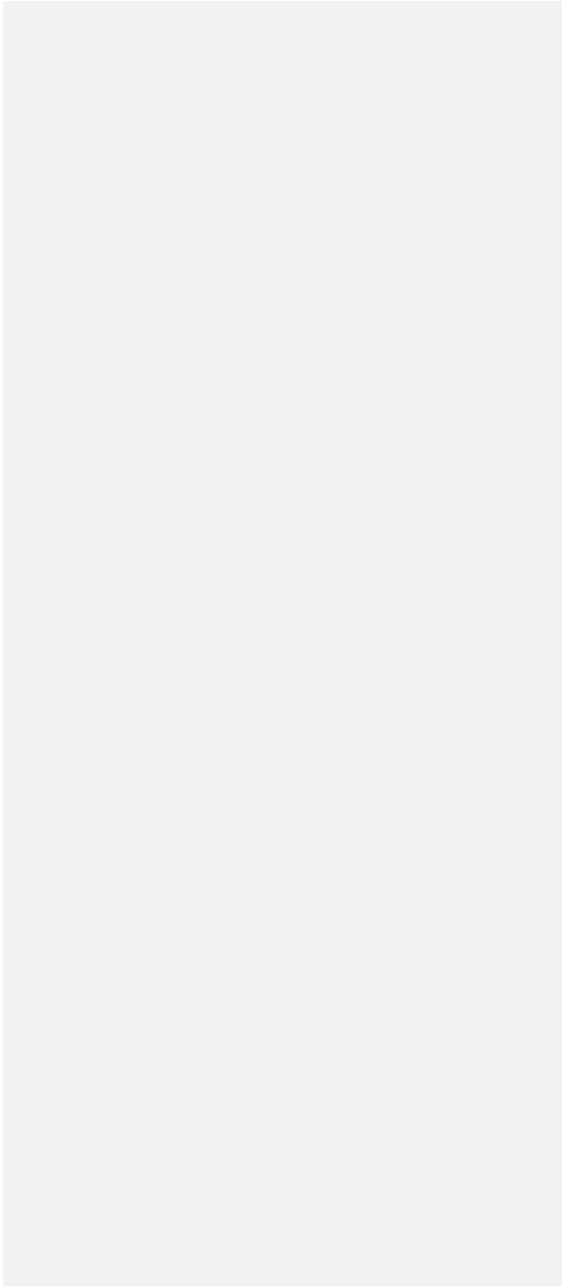
b)



c)

NOTAS:	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITEÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA	PROCESO DE HIDRÓLISIS DEL ALMIDON DE FRUTIPAN		
			LÁMINA	ESCALA	FECHA
a. Pesado del almidón b. Gelatinización a 60°C	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar		1	1:1	14/07/2022

c. Hidrolisis ácida	<input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar	ELABORADO POR: Rodríguez Stefany			
------------------------	---	-------------------------------------	--	--	--



**ANEXO C: FIN DE HIDRÓLISIS ÁCIDA**



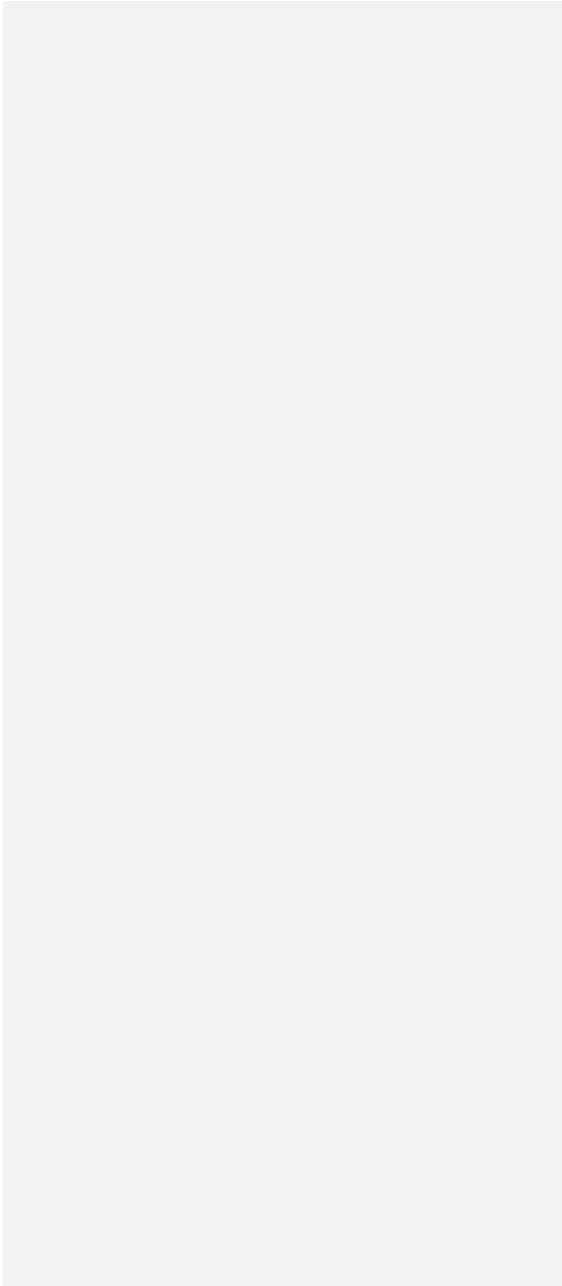
a)



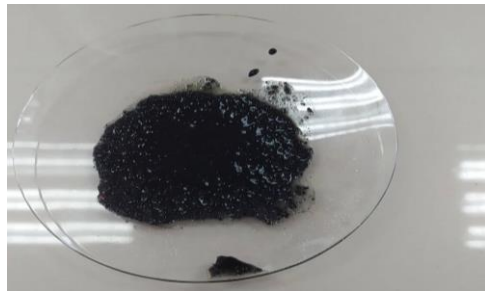
b)

NOTAS:	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA	FIN DE HIDRÓLISI ÁCIDA		
			LÀMINA	ESCALA	FECHA
a. Fin de la hidrolisis ácida	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar	ELABORADO POR:	1	1:1	21/07/2022

b. Diferentes tratamientos hidrolizados	<input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar	Rodríguez Stefany			
---	---	-------------------	--	--	--



**ANEXO D: PRUEBAS CUALITATIVAS DE ALMIDÓN Y GLUCOSA**



a)



b)

NOTAS:	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA  ELABORADO POR:	FIN DE HIDRÓLISI ÁCIDA		
			LÁMINA	ESCALA	FECHA
a. Prueba de Lugol positiva para almidón	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar		1	1:1	21/07/2022
b. Prueba de Fehling	<input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar				

positiva para almidón	<input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar	Rodríguez Stefany			
--------------------------	---	-------------------	--	--	--

**ANEXO E: MEDICIÓN GRADOS BRIZ**



a)



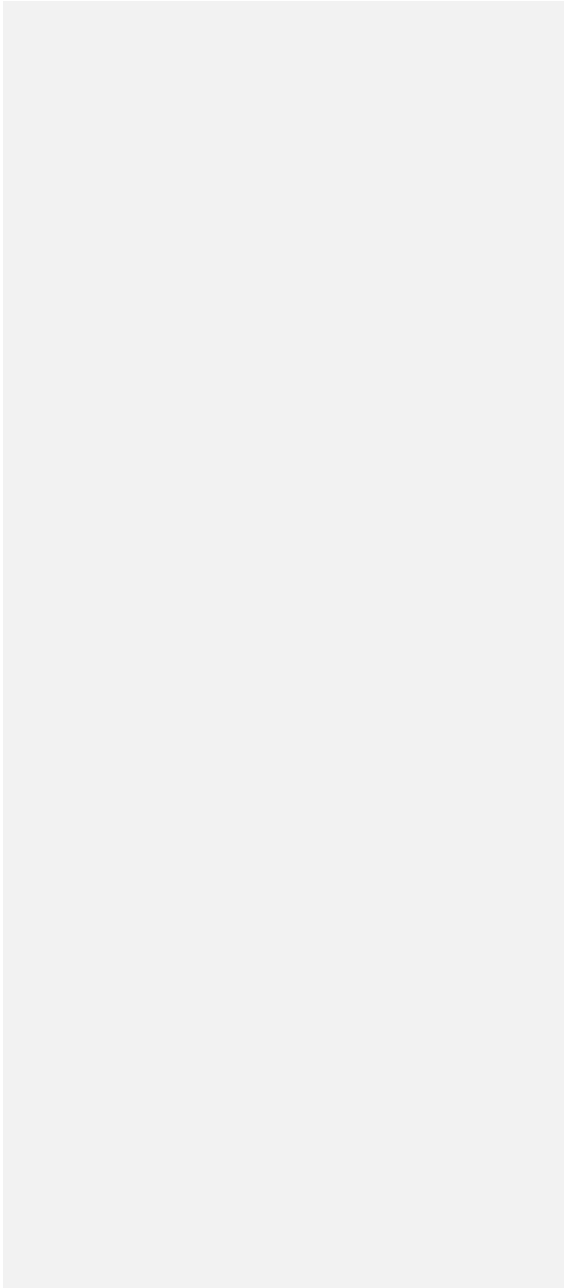
b)



c)

NOTAS:	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA	MEDICIÓN GRADOS BRIZ		
			LÁMINA	ESCALA	FECHA
a. Medición Grados Briz T1R1	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar	ELABORADO POR: Rodríguez Stefany	1	1:1	22/07/2022
b. Medición Grados Briz T2R1					

c. Medición Grados Briz T2R1	<input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar				
------------------------------------	---	--	--	--	--





**ANEXO F: PROCESO DE FERMENTACIÓN**



a)



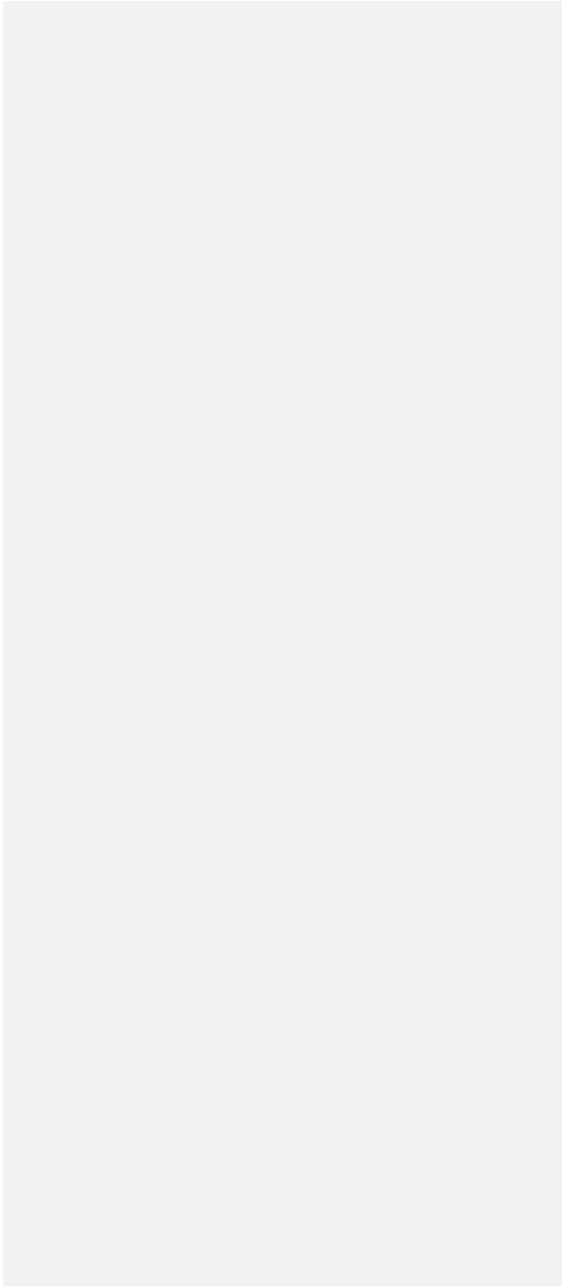
b)



c)

NOTAS:	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA  ELABORADO POR:	PROCESO DE FERMENTACIÓN		
			LÁMINA	ESCALA	FECHA
a. Mostos	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar		1	1:1	25/07/2022
b. fermentación tratamientos: T2R1T2R2T2R3					

c. Segunda Fermentación	<input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar	Rodríguez Stefany			
----------------------------	---	-------------------	--	--	--



**ANEXO G: OBTENCIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO**



a)



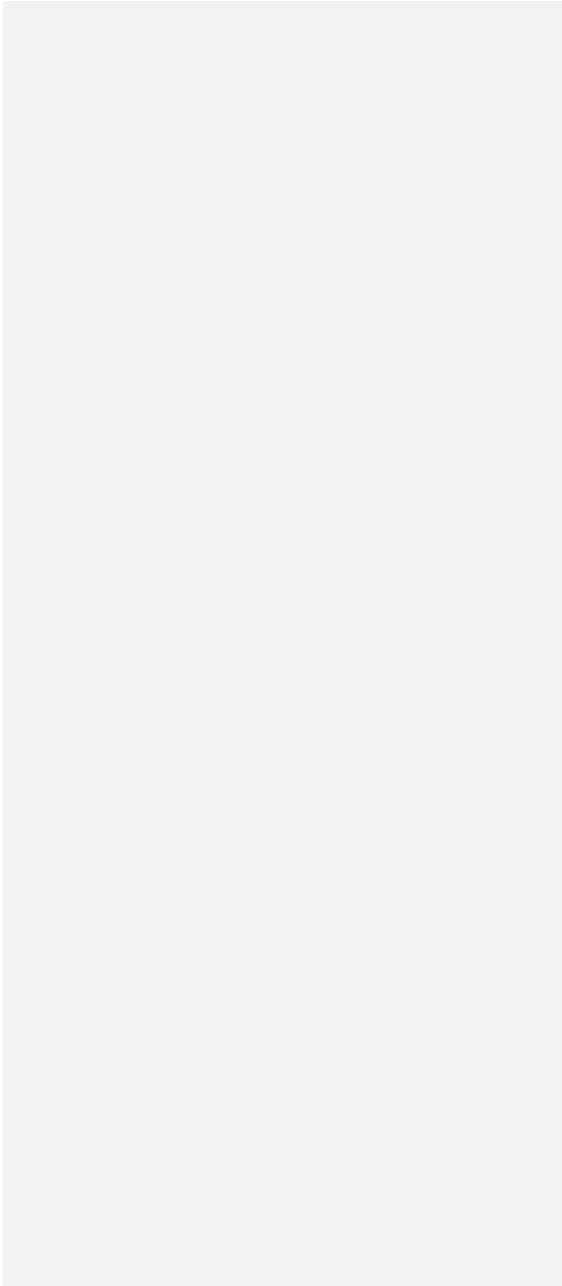
b)



c)

NOTAS:	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA	OBTENCIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO		
			LÁMINA	ESCALA	FECHA
a. Destilación simple de los tres tratamientos	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar	ELABORADO POR:	1	1:1	09/08/2022

b. Medición grados Alcohólicos	<input type="checkbox"/> Información <input checked="" type="checkbox"/> Por calificar	Rodríguez Stefany			
c. Etanol obtenido					




ANEXO H: TABLA DE CONVERSIÓN GRADOS BRUX Y GRADOS ALCOHÓLICOS

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volumétrica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
25.0	1.37232	1.1049	249.7	226.0	14,84
25.1	1.37249	1.1053	250.7	226.8	14,90
25.2	1.37266	1.1057	251.7	227.6	14,96
25.3	1.37283	1.1062	253.0	228.7	15,03
25.4	1.37300	1.1068	254.4	229.9	15,11
25.5	1.37317	1.1072	255.4	230.7	15,17
25.6	1.37335	1.1076	256.4	231.5	15,23
25.7	1.37353	1.1081	257.8	232.6	15,32
25.8	1.37370	1.1087	259.1	233.7	15,39
25.9	1.37387	1.1091	260.1	234.5	15,45
26.0	1.37405	1.1095	261.1	235.3	15,51
26.1	1.37423	1.1100	262.5	236.4	15,60
26.2	1.37440	1.1106	263.8	237.5	15,67
26.3	1.37457	1.1110	264.8	238.3	15,73
26.4	1.37475	1.1114	265.8	239.2	15,79
26.5	1.37493	1.1119	267.2	240.3	15,88
26.6	1.37510	1.1125	268.5	241.4	15,95
26.7	1.37528	1.1129	269.5	242.2	16,01
26.8	1.37545	1.1133	270.5	243.0	16,07
26.9	1.37562	1.1138	271.8	244.1	16,15
27.0	1.37580	1.1144	273.2	245.2	16,23
27.1	1.37598	1.1148	274.2	246.0	16,29
27.2	1.37615	1.1152	275.2	246.8	16,35
27.3	1.37632	1.1157	276.5	247.9	16,43
27.4	1.37650	1.1163	277.9	249.0	16,51
27.5	1.37667	1.1167	278.9	249.8	16,57
27.6	1.37685	1.1171	279.9	250.6	16,63
27.7	1.37703	1.1176	281.3	251.6	16,71
27.8	1.37721	1.1182	282.6	252.7	16,79
27.9	1.37739	1.1186	283.6	253.5	16,85
28.0	1.37757	1.1190	284.6	254.3	16,91
28.1	1.37775	1.1195	286.0	255.4	16,99
28.2	1.37793	1.1201	287.3	256.5	17,07
28.3	1.37810	1.1205	288.3	257.3	17,13
28.4	1.37828	1.1209	289.3	258.1	17,19
28.5	1.37846	1.1214	290.7	259.2	17,27
28.6	1.37863	1.1220	292.0	260.3	17,35
28.7	1.37881	1.1224	293.0	261.0	17,41
28.8	1.37899	1.1228	294.0	261.8	17,47
28.9	1.37917	1.1233	295.3	262.9	17,55
29.0	1.37935	1.1239	296.7	264.0	17,63
29.1	1.37953	1.1244	298.1	265.1	17,71
29.2	1.37971	1.1250	299.4	266.1	17,79
29.3	1.37988	1.1254	300.4	266.9	17,85
29.4	1.38006	1.1258	301.4	267.7	17,91
29.5	1.38024	1.1263	302.8	268.8	17,99
29.6	1.38042	1.1269	304.1	269.9	18,07
29.7	1.38060	1.1273	305.1	270.6	18,13
29.8	1.38078	1.1277	306.1	271.4	18,19
29.9	1.38096	1.1282	307.4	272.5	18,26

ANEXO I: RESULTADOS DE PRUEBAS FÍSICO Y QUÍMICAS.



**LABOLAB**  
ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES  
INFORME DE RESULTADOS



SERVICIO DE ACREDITACION ECUATORIANA  
Asociación N° 006 LABORATORIOS  
LABORATORIO DE ENSAYOS

Orden de análisis N° 222679  
Informe N° 222679-I  
Hoja 1 de 1

**DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE**

Nombre: Stefany Andreina Rodriguez Loor  
 Dirección: Riobamba  
 Muestra: Muestra de Alcohol a partir de "FRUTIPAN"  
 Descripción: Líquido  
 Contenido declarado: 500 ml  
 Fecha Elaboración: 03 de octubre del 2022  
 Fecha Vencimiento: 03 de abril del 2023  
 Lote: 501  
 Envase: Botellas de vidrio de silicato sodocálcico D-I con tapa de polipropileno  
 Conservación de la muestra: Refrigeración

**DATOS DEL LABORATORIO**

Fecha de recepción: 30 de septiembre del 2022  
 Toma de muestra por: Cliente  
 Contenido encontrado: 500 ml  
 Fecha de realización del ensayo: 05 - 07 de octubre del 2022  
 Fecha de emisión del informe: 10 de octubre del 2022  
 Condiciones ambientales: 22,1°C 526% HR

**ANÁLISIS:**

PARÁMETRO	UNIDAD	METODO	RESULTADO
Acidez total, como ácido acético	mg/100 cm <sup>3</sup>	NTE INEN 341	2,4
Ésteres como Acetato de etilo	mg/100 cm <sup>3</sup>	NTE INEN 2014	3,9
Aldehídos, como etanal	mg/100 cm <sup>3</sup>	NTE INEN 2014	1,3
Formal	mg/100 cm <sup>3</sup>	NTE INEN 2014	0,01
Metanol	mg/100 cm <sup>3</sup>	NTE INEN 2014	8,6
Alcoholes Superiores	mg/100 cm <sup>3</sup>	NTE INEN 2014	2,2

  
 Dra. Cecilia Latorre  
 GERENTE GENERAL



**LABOLAB**  
ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada, tal como fue recibida en LABOLAB.  
 LABOLAB no se responsabiliza por los datos proporcionados por el cliente.  
 Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.  
 Las opiniones e interpretaciones no se encuentran dentro del alcance de acreditación del ISE.

---

**INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA NOTIFICACION SANITARIA**

Análisis físico, químico, microbiológico, envenenamiento de alimentos, aguas, bebidas, materias primas, fertilizantes, cosméticos, pesticidas, aceites, materias plásticas y otros.  
 Pda. Andrade Marín E-7-25 y Diego de Almagro (tel.: 2383-223 / 2381-258 / 2338-503 / 2338-524 Cel.: 999 999 6412 / 999 544 2153 / 999 744 1181)  
 E-mail: secretaria@labolab.com.ec / laboratorio@labolab.com.ec / info@labolab.com.ec / info@laboratorio.com.ec

MC
www.labolab.com.ec
Quito - Ecuador
Fecha: 11 de octubre del 2022

ANEXO J: NTE INEN 341-DETERMINACION DE LA ACIDEZ

Norma Técnica Ecuatoriana	BEBIDAS ALCOHOLICAS DETERMINACION DE LA ACIDEZ	INEN 341 1978-03
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar la acidez en bebidas alcohólicas destiladas.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. ALCANCE</b></p> <p>2.1 Esta norma establece el método para determinar la acidez total, la acidez fija y la acidez volátil.</p> <p style="text-align: center;"><b>3. DEFINICIONES</b></p> <p>3.1 Acidez total. Es la suma de los ácidos valorables obtenida cuando se lleva la bebida alcohólica a neutralidad (pH: 7), por adición de una solución alcalina.</p> <p>3.2 Acidez volátil. Es la suma de los ácidos volátiles valorables por neutralización de la bebida alcohólica, usando una solución alcalina.</p> <p>3.3 Acidez fija. Es la suma de los ácidos fijos valorables por neutralización de la bebida alcohólica, usando una solución alcalina.</p> <p style="text-align: center;"><b>4. RESUMEN</b></p> <p>4.1 Determinar la acidez total y la acidez fija mediante titulación con hidróxido de sodio y, por diferencia, establecer el valor de la acidez volátil.</p> <p style="text-align: center;"><b>5. INSTRUMENTAL</b></p> <p>5.1 Matraz Erlenmeyer, de 500 cm<sup>3</sup>.</p> <p>5.2 Crisol de platino, o de porcelana, de 50 cm<sup>3</sup>.</p> <p>5.3 Baño de vapor.</p> <p>5.4 Estufa, con regulador de temperatura.</p> <p>5.5 Bureta, de 10 cm<sup>3</sup> con graduación de 0,05 cm<sup>3</sup>.</p> <p>5.6 Pipeta volumétrica, de 25 cm<sup>3</sup>.</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-39199 - Baquerizo Moreno Es-20 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

CDU: 663.5



AL 04.02-302

## 6. REACTIVOS

- 6.1 Solución 0,1 N de hidróxido de sodio, debidamente valorada.
- 6.2 Solución indicador de fenoftaleína, solución alcohólica al 1%.
- 6.3 Alcohol neutro.
- 6.4 Agua destilada.

## 7. PROCEDIMIENTO

7.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra.

### 7.2 Determinación de la acidez total.

7.2.1 Colocar 250 cm<sup>3</sup> de agua destilada, recientemente hervida y neutralizada, en un matraz Erlenmeyer de 500 cm<sup>3</sup> y añadir 25 cm<sup>3</sup> de muestra y 5 gotas de la solución de fenoftaleína; proceder a titular, utilizando la bureta, con la solución 0,1 N de hidróxido de sodio.

### 7.3 Determinación de la acidez fija.

7.3.1 Evaporar a sequedad 25 cm<sup>3</sup> de muestra contenidos en un crisol de platino o de porcelana, sobre un baño de vapor.

7.3.2 Colocar el crisol y su contenido en la estufa, a 100°C, durante 30 min.

7.3.3 Disolver y transferir el residuo seco utilizando porciones de alcohol neutro (aproximadamente 25 cm<sup>3</sup>) a un matraz Erlenmeyer de 500 cm<sup>3</sup>, que debe contener 250 cm<sup>3</sup> de agua destilada, recientemente hervida y neutralizada.

7.3.4 Adicionar 5 gotas de solución de fenoftaleína y proceder a titular, utilizando la bureta, con la solución 0,1 N de hidróxido de sodio.

## 8. CALCULOS

8.1 La acidez total en bebidas alcohólicas destiladas se determina utilizando la ecuación siguiente:

$$AT = 2,4 \frac{V_1}{G}$$

Siendo:

AT = acidez total, expresada como ácido acético, en gramos por 100 cm<sup>3</sup> de alcohol anhidro.

V<sub>1</sub> = volumen de solución 0,1 N de hidróxido de sodio usado en la titulación, en centímetros cúbicos (ver 7.2.1).



G = grado alcohólico de la muestra (ver INEN 340).

8.2 La acidez fija se determina utilizando la ecuación siguiente:

$$AF = 2,4 \frac{V_2}{G}$$

Siendo:

AF = acidez fija, expresada como ácido acético, en gramos por 100 cm<sup>3</sup> de alcohol anhidro.

V<sub>2</sub> = volumen de solución 0,1 N de hidróxido de sodio usado en la titulación, en centímetros cúbicos (ver 7.3.4).

G = grado alcohólico de la muestra (ver INEN 340).

8.3 La acidez volátil se determina utilizando la ecuación siguiente:

$$AV = AT - AF$$

Siendo:

AV = acidez volátil.

AT = acidez total.

AF = acidez fija.

#### 9. ERRORES DE METODO

9.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 1%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

#### 10. INFORME DE RESULTADO

10.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

10.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

10.3 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

## ANEXO K: NTE INEN 2014 DETERMINACIÓN DE PRODUCTOS CONGÉNERES

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	<b>BEBIDAS ALCOHÓLICAS DETERMINACIÓN DE PRODUCTOS CONGÉNERES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES</b>	<b>NTE INEN 2014:2015 Primera revisión 2015-10</b>
---	---	--

**1. OBJETO**

Esta norma describe el método para determinar el contenido de productos congéneres: etanal (acetaldehído), acetato de etilo (etanoato de etilo), metanol (alcohol metílico), propan-1-ol (propanol), 2-propanol (iso-propanol), butan-1-ol (butanol), butano-2-ol (sec-butanol), metilpropan-1-ol (iso-butanol), pentan-1-ol (alcohol amílico normal), 2-metil-1-butanol (alcohol amílico activo), 3-metil-1-butanol (alcohol isoamílico o iso-pentanol) y furan-2-carbaldehído (furfural), por cromatografía de gases en las bebidas alcohólicas (con excepción de la cerveza).

**2. REFERENCIAS NORMATIVAS**

Los siguientes documentos en su totalidad o en parte, son referidos en este documento y son indispensables para su aplicación. Para referencias fechadas, solamente aplica la edición citada. Para referencias sin fecha, aplica la última edición del documento de referencia (incluyendo cualquier enmienda).

NTE INEN 338, *Bebidas alcohólicas. Definiciones*

NTE INEN 339, *Bebidas alcohólicas. Muestreo*

NTE INEN 340, *Bebidas alcohólicas. Determinación del grado alcohólico*

NTE INEN-ISO 3696, *Agua para uso en análisis de laboratorio - Especificación y métodos de ensayo*

**3. DEFINICIONES**

Para los efectos de esta norma, se adoptan las definiciones contempladas en la NTE INEN 338 y las que a continuación se detallan:

**3.1 Productos congéneres.** Sustancias volátiles diferentes al etanol y metanol que se forman en el proceso de fermentación y añejamiento de las bebidas alcohólicas. También se denominan impurezas o sustancias volátiles. Dentro de los congéneres se consideran: ácidos orgánicos, aldehídos, furfural, ésteres y alcoholes superiores.

**3.2 Alcoholes superiores.** Término que se refiere a la mezcla de alcoholes de alto peso molecular que se producen durante la fermentación alcohólica; está compuesto principalmente de 2-propanol, isobutanol, butanol y alcoholes amílicos.

**3.3 Alcohol amílico.** Compuesto orgánico incoloro con la fórmula  $C_5H_{11}OH$ , este compuesto es conocido por tener ocho estructuras moleculares diferentes que son: 1-pentanol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-butanol, 2,2-dimetil-1-propanol, 3-pentanol, 2-pentanol, 3-metil-2-butanol, 2-metil-2-butanol.

**3.4 Furfural.** Aldehído industrial derivado de varios subproductos de la agricultura, maíz, avena, trigo, aleurona, aserrín. El nombre furfural es por la palabra latina furfur, "salvado", en referencia a su fuente común de obtención.

**3.5 Ácido orgánico.** Compuesto orgánico que posee un grupo carboxilo, resulta de la oxidación de los alcoholes primarios o de la oxidación de los aldehídos.

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	BEBIDAS ALCOHÓLICAS DETERMINACIÓN DE PRODUCTOS CONGÉNERES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES	NTE INEN 2014:2015 Primera revisión 2015-10
---	--	--

## 1. OBJETO

Esta norma describe el método para determinar el contenido de productos congéneres: etanal (acetaldehído), acetato de etilo (etanoato de etilo), metanol (alcohol metílico), propan-1-ol (propanol), 2-propanol (iso-propanol), butan-1-ol (butanol), butano-2-ol (sec-butanol), metilpropan-1-ol (iso-butanol), pentan-1-ol (alcohol amílico normal), 2-metil-1-butanol (alcohol amílico activo), 3-metil-1-butanol (alcohol isoamílico o iso-pentanol) y furan-2-carbaldehído (furfural), por cromatografía de gases en las bebidas alcohólicas (con excepción de la cerveza).

## 2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Los siguientes documentos en su totalidad o en parte, son referidos en este documento y son indispensables para su aplicación. Para referencias fechadas, solamente aplica la edición citada. Para referencias sin fecha, aplica la última edición del documento de referencia (incluyendo cualquier enmienda).

NTE INEN 338, *Bebidas alcohólicas. Definiciones*

NTE INEN 339, *Bebidas alcohólicas. Muestreo*

NTE INEN 340, *Bebidas alcohólicas. Determinación del grado alcohólico*

NTE INEN-ISO 3696, *Agua para uso en análisis de laboratorio - Especificación y métodos de ensayo*

## 3. DEFINICIONES

Para los efectos de esta norma, se adoptan las definiciones contempladas en la NTE INEN 338 y las que a continuación se detallan:

**3.1 Productos congéneres.** Sustancias volátiles diferentes al etanol y metanol que se forman en el proceso de fermentación y añejamiento de las bebidas alcohólicas. También se denominan impurezas o sustancias volátiles. Dentro de los congéneres se consideran: ácidos orgánicos, aldehídos, furfural, ésteres y alcoholes superiores.

**3.2 Alcoholes superiores.** Término que se refiere a la mezcla de alcoholes de alto peso molecular que se producen durante la fermentación alcohólica; está compuesto principalmente de 2-propanol, isobutanol, butanol y alcoholes amílicos.

**3.3 Alcohol amílico.** Compuesto orgánico incoloro con la fórmula  $C_5H_{11}OH$ , este compuesto es conocido por tener ocho estructuras moleculares diferentes que son: 1-pentanol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-butanol, 2,2-dimetil-1-propanol, 3-pentanol, 2-pentanol, 3-metil-2-butanol, 2-metil-2-butanol.

**3.4 Furfural.** Aldehído industrial derivado de varios subproductos de la agricultura, maíz, avena, trigo, aleurona, aserrín. El nombre furfural es por la palabra latina furfur, "salvado", en referencia a su fuente común de obtención.

**3.5 Ácido orgánico.** Compuesto orgánico que posee un grupo carboxilo, resulta de la oxidación de los alcoholes primarios o de la oxidación de los aldehídos.

**3.7 Éster.** Compuesto orgánico derivado de ácidos orgánicos o inorgánicos oxigenados en los cuales uno o más protones son sustituidos por grupos orgánicos alquilo (simbolizados por R'), resulta de la reacción entre un ácido y un alcohol.

**3.8 Factor de respuesta.** Relación entre una señal producida por un analito, y la cantidad de analito que produce la señal.

**3.9 Resolución.** Grado de separación de dos bandas adyacentes. Se define como la distancia entre los picos (o centros) dividida entre el ancho promedio de las bandas. Este valor es adimensional.

#### 4. DETERMINACIÓN DE PRODUCTOS CONGÉNERES POR CROMATOGRFÍA DE GASES

##### 4.1 Fundamento

La presencia de congéneres volátiles en las bebidas alcohólicas se determina mediante la inyección de la bebida alcohólica, pura o adecuadamente diluida o su destilado, en un sistema de cromatografía de gases. Antes de la inyección, se añade a la bebida alcohólica un patrón interno adecuado. Los congéneres volátiles se separan en una columna adecuada utilizando programación de temperatura y un detector de ionización de llama (FID). La concentración de cada uno de los congéneres se determina en relación con el patrón interno, a partir de los factores de respuesta obtenidos durante la calibración, en condiciones cromatográficas idénticas a las del análisis de la muestra<sup>1</sup>.

##### 4.2 Equipos

**4.2.1 Balanza analítica,** con sensibilidad de 0,1 mg.

**4.2.2 Alcoholímetro** centesimal de Gay Lussac o densímetro digital.

**4.2.3 Cromatógrafo de gases,** con programador de temperatura, equipado con un detector de ionización de llama (FID) y un integrador u otro sistema de tratamiento de datos capaz de medir las áreas de los picos.

**4.2.4 Columna capilar** del cromatógrafo de gases compuesta por 6 % de cianopropil-fenil y 94 % de dimetil polixilosano de 60 m x 0,25 mm de diámetro interno(d.i.), con una película de 1,40 µm de espesor.

La columna debe ser capaz de separar los analitos de forma que la resolución mínima (ver 4.7.7) entre los distintos componentes sea de 0,8 (excepto el 2-metilbutan-1-ol y el 3-metilbutan-1-ol), esto en el caso de que la simple visualización del cromatograma no sea suficiente.

NOTA. La resolución alcanzada en un sistema es proporcional al producto de la selectividad, la eficiencia y la capacidad del sistema, que son los tres más importantes parámetros de control en una columna cromatográfica.

**4.2.5 Precolumna** desactivada de 1 m por 0,53 mm con conectores.

##### 4.3 Reactivos y materiales

###### 4.3.1 Reactivos

**4.3.1.1** El agua que se utilizará será de grado analítico y debe cumplir con la NTE INEN-ISO 3696.

**4.3.1.2** Los reactivos deben ser de calidad cromatográfica, es decir, de una pureza superior al 97 %. El acetaldehído deberá almacenarse protegido de la luz a una temperatura inferior a 5 °C; los demás reactivos podrán almacenarse a temperatura ambiente. Todas las soluciones deberán almacenarse refrigeradas.

**TABLA 1. Componentes necesarios para preparar la solución patrón inicial A**

Componente
etanol absoluto (CAS 64-17-5)
metanol (CAS 67-56-1)
propan-1-ol (CAS 71-23-8)
2-propanol (CAS 67-63-0)
2-metil-1-butanol (CAS 137-32-6)
3-metil-1-butanol (CAS 123-51-3)
acetato de etilo (CAS 141-78-6)
butan-1-ol (CAS 71-36-3)
butan-2-ol (CAS 78-92-2)
metilpropan-1-ol (CAS 78-83-1)
pentan-1-ol (CAS 71-41-0)
etanal (CAS 75-07-0)
furan-2-carbaldehído (CAS 98-01-1)

#### **4.3.1.5 Solución patrón interno B**

Para preparar la solución B se debe pipetear 10 mL de butan-1-ol u otro patrón interno sugerido en 4.3.1.2, en un matraz aforado de 100 mL que contenga aproximadamente 80 mL de solución de etanol (ver 4.3.1.3), enrasar con solución de etanol (ver 4.3.1.3) y mezclar cuidadosamente.

Medir la masa del matraz vacío y después de la adición del componente, así como la masa final total.

#### **4.3.1.6 Solución patrón de calidad C**

Para preparar esta solución pipetear 1 mL de solución patrón A (ver 4.3.1.4) y 1 mL de solución patrón B (ver 4.3.1.5) en un matraz aforado de 100 mL que contenga aproximadamente 80 mL de solución de etanol (ver 4.3.1.3), enrasar con solución de etanol (ver 4.3.1.3) y mezclar cuidadosamente.

#### **4.3.1.7 Solución patrón D**

Para mantener la continuidad analítica y un control efectivo de la calidad, preparar un patrón de calidad utilizando el patrón A (ver 4.3.1.4) ya preparado o de preferencia. Preparar un patrón de control según las indicaciones del patrón A (ver 4.3.1.4) utilizando lotes o marcas de reactivos diferentes. Introducir con una pipeta 1 mL de solución A (ver 4.3.1.4) en un matraz aforado de 100 mL que contenga aproximadamente 80 mL de solución de etanol (ver 4.3.1.3), enrasar con solución de etanol (ver 4.3.1.3) y mezclar cuidadosamente.

#### **4.3.1.8 Solución patrón E**

Para preparar esta solución introducir con una pipeta 10 mL de solución B (ver 4.3.1.5) en un matraz aforado de 100 mL que contenga aproximadamente 80 mL de solución de etanol (ver 4.3.1.3), enrasar con solución de etanol (ver 4.3.1.3) y mezclar cuidadosamente.

#### **4.3.1.9 Solución control de patrón de calidad CC**

Para preparar esta solución introducir con una pipeta 9 mL de solución patrón D (ver 4.3.1.7) y 1 mL de solución patrón E (ver 4.3.1.8) en un matraz y mezclar cuidadosamente.

**4.3.2.3** Microjeringa de 10 uL de capacidad, con aproximación de 0,1 uL.

**4.3.2.4** Matraces de 100 mL.

#### **4.4 Toma de muestras**

El muestreo debe realizarse de acuerdo con lo indicado en NTE INEN 339 y la determinación de su grado alcohólico debe realizarse de acuerdo con lo indicado en NTE INEN 340.

#### **4.5 Procedimiento**

##### **4.5.1 Preparación de la muestra**

- a) Registrar la masa de un matraz adecuado, debidamente tapado.
- b) Pipetear 9 mL de la muestra y registrar su masa.
- c) Añadir 1 mL de solución patrón E (ver 4.3.1.8) y registrar su masa.
- d) Agitar la muestra vigorosamente (realizando por lo menos 20 inversiones). Las muestras deberán almacenarse a una temperatura inferior a 5 °C antes de su análisis para reducir al máximo la pérdida de sustancias volátiles.

##### **4.5.2 Preparación del blanco**

- a) Registrar la masa de un matraz adecuado, debidamente tapado.
- b) Pipetear 9 mL de solución de etanol al 40 % (fracción de volumen) (ver 4.3.1.3) en el matraz y registrar su masa.
- c) Añadir 1 mL de la solución patrón E (ver 4.3.1.8) y registrar su masa.
- d) Agitar la solución vigorosamente (realizando por lo menos 20 inversiones) las muestras deberán almacenarse a una temperatura inferior a 5 °C antes de su análisis para reducir al máximo la pérdida de sustancias volátiles.

##### **4.5.3 Preparación de las soluciones patrones de linealidad**

En una serie de balones aforados de 100 mL que contengan aproximadamente 80 mL de etanol al 40 % (fracción de volumen) (ver 4.3.1.3), pipetear; 0,1 mL; 0,5 mL; 1,0 mL y 2,0 mL de solución patrón inicial A y 1 mL de solución patrón interno B, enrasar con solución de etanol al 40 % (fracción de volumen) (ver 4.3.1.3), y mezclar cuidadosamente.

##### **4.5.4 Condiciones cromatográficas**

Para poder realizar la corrida considerar las siguientes condiciones cromatográficas:

- a) **Gas portador:** Helio.
- b) **Velocidad de flujo del gas portador:** 2,01 mL/min.
- c) **Velocidad de flujo del gas portador después de la corrida:** (post run) 3,00 mL/min.
- d) **Temperatura del horno:** 45 °C durante 7,73 min; incrementar de 45 °C hasta 100 °C a razón de 7 °C/min; incrementar de 100 °C a 180 °C con rampa a razón de 12 °C/min.
- e) **Temperatura del horno después de la corrida:** (post run) 230 °C durante 1 min.

f) **Inyección:** Split, 180°C. Relación de Split 40:1, Flujo de Split 24 mL/min, purga de septa 3 mL/min.

g) **Detector:** FID, Temperatura: 300 °C; Flujo H<sub>2</sub>: 30 mL/min - 40 mL/min; Flujo aire: 350 mL/min - 400 mL/min; Flujo gas auxiliar (N<sub>2</sub>): 12 mL/min; Señal: 10 Hz (con compensación de columna).

NOTA 1. Puede emplearse como gas de arrastre nitrógeno o hidrógeno de grado cromatográfico. La velocidad de flujo debe determinarse en cada caso particular.

NOTA 2. En el Apéndice Y se puede visualizar un cromatograma usando la columna de 6 % de clonopropil-fenil y 94 % de dimetil polioxano de 60 m.

#### 4.5.5 Ensayo preliminar

Injectar de 1 µL de solución patrón C (ver 4.3.1.6) para comprobar que todos los analitos se separan

#### 4.5.6 Curva de calibración

Se prepara una curva de calibración, para lo cual se preparan soluciones patrones de linealidad, estas soluciones son utilizadas para comprobar la linealidad de la respuesta del detector de ionización de llama. Para ello:

Injectar de 1 µL de cada uno de las soluciones patrones de linealidad (ver 4.5.3) con el fin de comprobar que la respuesta del detector es lineal. A partir de relación de las áreas y concentración de los picos de cada congénere y del patrón interno, dadas por el integrador u otro sistema de tratamiento de datos; calcular para cada inyección el coeficiente de correlación R de cada congénere. Deberá obtenerse una gráfica lineal, con un coeficiente de correlación cercano a 1 (0,99). Para ello utilizar las fórmulas 4.7.1 y 4.7.2.

#### 4.5.7 Determinación

4.5.7.1 Injectar la solución patrón C (ver 4.3.1.6) y dos soluciones patrón CC (ver 4.3.1.9). Luego inyectar las muestras problema preparadas (ver 4.5.1), inyectando la solución patrón CC (ver 4.3.1.9) cada 10 muestras para garantizar la estabilidad e inyectar un patrón C (ver 4.3.1.6) cada 5 muestras.

4.5.7.2 Medir el área de los picos con la ayuda del integrador del cromatógrafo de gases u otro sistema de tratamiento de datos.

#### 4.6 Cálculos

##### 4.6.1 Relación de cada congénere obtenido

$$R = \frac{A}{A_i} \quad (1)$$

donde

R es la relación de cada congénere obtenido;

A es el área o altura del pico del congénere;

A<sub>i</sub> es el área o altura del pico del patrón interno

##### 4.6.2 Relación de la concentración de cada congénere obtenido

$$R_c = \frac{CC}{CPI} \quad (2)$$

donde

$R_c$  es la relación de la concentración de cada congénere obtenido;

CC es la concentración del congénere ( $\mu\text{g/g}$ );

CPI es la concentración del patrón interno ( $\mu\text{g/g}$ ).

#### 4.6.3 Cálculo del factor de respuesta

A partir del cromatograma de la inyección de solución patrón C (ver 4.3.1.6), calcular los factores de respuesta para cada congénere mediante la ecuación:

$$FR = \frac{API}{AC} \times \frac{CC}{CPI} \quad (3)$$

donde

FR es el factor de respuesta;

API es el área del pico del patrón interno;

AC es el área del pico del congénere;

CC es la concentración del congénere ( $\mu\text{g/g}$ );

CPI es la concentración del patrón interno ( $\mu\text{g/g}$ ).

#### 4.6.4 Concentración de cada uno de los congéneres en la muestra

$$CC = \frac{AC}{API} \times \frac{MPI}{MM} \times CPI \times FR \quad (4)$$

donde

CC es la concentración del congénere ( $\mu\text{g/g}$ );

AC es el área del pico del congénere;

API es el área del pico de la solución E (ver 4.3.1.8);

MPI es la masa del patrón interno (g);

MM es la masa de la muestra (g);

CPI es la concentración del patrón interno ( $\mu\text{g/g}$ );

FR es el factor de respuesta.



#### 4.6.5 Concentración de congéneres expresado en mg/100 mL de bebida alcohólica

$$C = CC \times \frac{\rho}{FV} \times 10000 \quad (5)$$

donde

C es la concentración del congénere (mg/100mL);

CC es la concentración del congénere (µg/g);

ρ es la densidad absoluta de la muestra a 20 °C(g/mL);

FV es el grado alcohólico en porcentaje a 20 °C( fracción de volumen).

#### 4.6.6 Porcentaje de recuperación de los congéneres contenidos en el patrón de calidad CC

$$CM = \frac{CACC}{CAD} \times 100 \quad (6)$$

donde,

CM es el porcentaje de recuperación de la muestra de la solución patrón CC (ver 4.3.1.9);

CACC es la concentración del analito en la solución patrón CC (ver 4.3.1.9);

CAD es la concentración del analito en la solución D (ver 4.3.1.7).

#### 4.6.7 Resolución

$$R_s = \frac{2(t_{r_2} - t_{r_1})}{(Wb_1 + Wb_2)} \quad (7)$$

donde

R<sub>s</sub> es la resolución de la cromatografía

t<sub>r2</sub> es el tiempo de retención del segundo componente en eluir expresado en minutos;

t<sub>r1</sub> es el tiempo de retención del primer componente en eluir expresado en minutos;

Wb<sub>1</sub> es el ancho de banda del primer componente en eluir expresado en minutos;

Wb<sub>2</sub> es el ancho de banda del segundo componente en eluir expresado en minutos.

#### 4.7 Errores del método

La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por triplicado no debe exceder del 2 %, caso contrario, debe repetirse la determinación de los productos congéneres en la muestra.

#### 4.8 Informe de resultados

4.8.1 En el informe de resultados debe indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia, debido a que muchos factores determinan la exactitud y la

confiabilidad del ensayo realizado por un laboratorio, estos factores incluyen elementos provenientes: de los factores humanos, de las instalaciones y condiciones ambientales, del método de ensayo, de los equipos, de la trazabilidad de las mediciones, del muestreo, de la manipulación de los ítems del ensayo.

**4.8.2** Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

**4.8.3** Los resultados se presentan con tres cifras significativas, con un decimal, por ejemplo 11,4 mg/100 mL de alcohol absoluto.

**4.8.4** En caso de discrepancia, el resultado obtenido por este método de ensayo será el que se prefiera.



**epoch**

**Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje**

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL**

**REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

**Fecha de entrega:** 13 / 02 / 2023

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Stefany Andreina Rodríguez Loor
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias
<b>Carrera:</b> Ingeniería Química
<b>Título a optar:</b> Ingeniera Química
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> Ing. Rafael Inty Saltos Hidalgo

0240-DBRA-UPT-2023

