



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



“Evaluación de diferentes concentraciones de enzimas, almidón y levadura para la obtención de alcohol de dos variedades de camote (*Guayaco Morado* y *Toquecita*) y su aplicación en la industria licorera”

Autoras: Chavez Reyes, Diana Niccolly
Chicaiza León, Johana Doménica

Tutora: Ph.D. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee
Cotutora: Ph.D. Villacrés Poveda, Clara Elena (Iniap)

Santo Domingo, Ecuador
2022

INTRODUCCIÓN

Camote (*Ipomoea batatas* L.)

Al igual que otros tubérculos (papa y yuca) es un alimento energético por su contenido de azúcares y posee vitaminas, minerales y compuestos antioxidantes

Se clasifican por la coloración de la pulpa

(Mohanraj & Sivasankar, 2014)



- ✓ Fácil cultivo y versátil
- X Especie poco promocionada e industrializada



(Cobaña et al., 2017)

Guayaco Morado

Toquecita

Alternativa industrial de materia prima para la elaboración de bebidas alcohólicas



Industria licorera



Alto contenido de carbohidratos, almidón y azúcares fermentables

(Escobar et al., 2022)

(Zambrano J., 2016)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar diferentes concentraciones de enzimas, almidón y levadura para la obtención de alcohol de dos variedades de camote (*Guayaco Morado* y *Toquecita*) y su aplicación en la industria licorera.

Objetivos Específicos



Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de enzimas y de almidón para la hidrólisis de dos variedades de camote (*Guayaco Morado* y *Toquecita*).

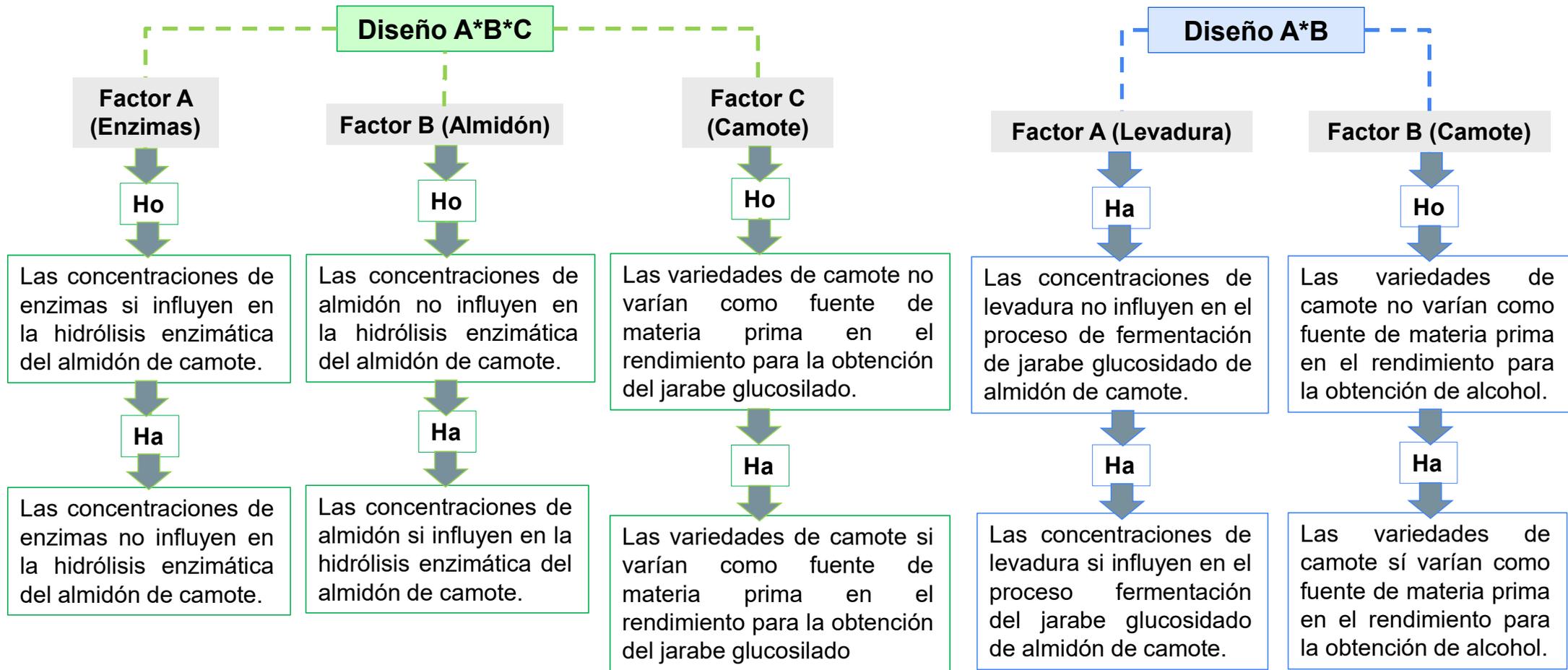
Evaluar el efecto de la concentración de levadura en la producción de etanol.



Determinar mediante análisis fisicoquímicos las características del alcohol obtenido.



HIPÓTESIS



MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación Política

País: Ecuador
Provincia: Pichincha
Cantón: Mejía
Parroquia: Cutuglagua
Sector: Panamericana sur, Km 1



Ubicación Ecológica

Zona de vida: Bosque muy húmedo Montano
Altitud: 3058 msnm
Temperatura media: 11.37°C
Precipitación: 1500 mm
Humedad relativa: 83.62%
Heliofanía: 850 horas luz año-1

Ubicación Geográfica

La presente investigación se realizó en las instalaciones del Departamento de Nutrición y Calidad en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) - Estación Experimental Santa Catalina (EESC).



Altitud: 3058 m.
Longitud: 78° 33' O.
Latitud: 00° 22' S.



MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño Experimental

Diseño A*B*C

Factores y Niveles del experimento:

Factores	Simbología	Niveles
Concentraciones enzimáticas (A)	A1	Amilasa 0,114 % (p/v)
		AMG 0,182 % (p/v)
	A2	Amilasa 0,148 % (p/v)
		AMG 0,331 % (p/v)
	A3	Amilasa 0,182 % (p/v)
		AMG 0,354 % (p/v)
	A4	Amilasa 0,217 % (p/v)
		AMG 0,388 % (p/v)
Concentraciones de almidón (B)	B1	25 %
	B2	35 %
Variedades de camote (C)	C1	<i>Guayaco Morado</i>
	C2	<i>Toquecita</i>

Tratamientos a comparar:

N°	Tratamiento	Combinación
T1	A1B1C1	C. enzimática 1 + C. almidón 25% + <i>Guayaco Morado</i>
T2	A1B1C2	C. enzimática 1 + C. almidón 25% + <i>Toquecita</i>
T3	A1B2C1	C. enzimática 1 + C. almidón 35% + <i>Guayaco Morado</i>
T4	A1B2C2	C. enzimática 1 + C. almidón 35% + <i>Toquecita</i>
T5	A2B1C1	C. enzimática 2 + C. almidón 25% + <i>Guayaco Morado</i>
T6	A2B1C2	C. enzimática 2 + C. almidón 25% + <i>Toquecita</i>
T7	A2B2C1	C. enzimática 2 + C. almidón 35% + <i>Guayaco Morado</i>
T8	A2B2C2	C. enzimática 2 + C. almidón 35% + <i>Toquecita</i>
T9	A3B1C1	C. enzimática 3 + C. almidón 25% + <i>Guayaco Morado</i>
T10	A3B1C2	C. enzimática 3 + C. almidón 25% + <i>Toquecita</i>
T11	A3B2C1	C. enzimática 3 + C. almidón 35% + <i>Guayaco Morado</i>
T12	A3B2C2	C. enzimática 3 + C. almidón 35% + <i>Toquecita</i>
T13	A4B1C1	C. enzimática 4 + C. almidón 25% + <i>Guayaco Morado</i>
T14	A4B1C2	C. enzimática 4 + C. almidón 25% + <i>Toquecita</i>
T15	A4B2C1	C. enzimática 4 + C. almidón 35% + <i>Guayaco Morado</i>
T16	A4B2C2	C. enzimática 4 + C. almidón 35% + <i>Toquecita</i>

Tipo de diseño

Modelo trifactorial (4x2x2)
conducido en D.B.C.A.

Repeticiones

Tres repeticiones por
tratamiento (16 tratamientos)

Unidades Experimentales

48

Análisis funcional

Prueba de significancia de
Tukey al 5% ($p < 0.05$)



MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño Experimental

Diseño A*B

Factores y Niveles del experimento:

Factores	Simbología	Niveles
Concentraciones de levadura (A)	A1	0,66 g/L
	A2	0,88 g/L
	A3	1g/L
Variedades de camote (B)	B1	<i>Guayaco Morado</i>
	B2	<i>Toquecita</i>

Tratamientos a comparar:

N°	Tratamiento	Combinación
T1	A1B1	C. levadura 0,66 g/L + <i>Guayaco Morado</i>
T2	A1B2	C. levadura 0,66 g/L + <i>Toquecita</i>
T3	A2B1	C. levadura 0,88 g/L + <i>Guayaco Morado</i>
T4	A2B2	C. levadura 0,88 g/L + <i>Toquecita</i>
T5	A3B1	C. levadura 1 g/L + <i>Guayaco Morado</i>
T6	A3B2	C. levadura 1 g/L + <i>Toquecita</i>

Tipo de diseño
Modelo bifactorial (3x2)
conducido en D.B.C.A.

Repeticiones
Tres repeticiones por
tratamiento (6 tratamientos)

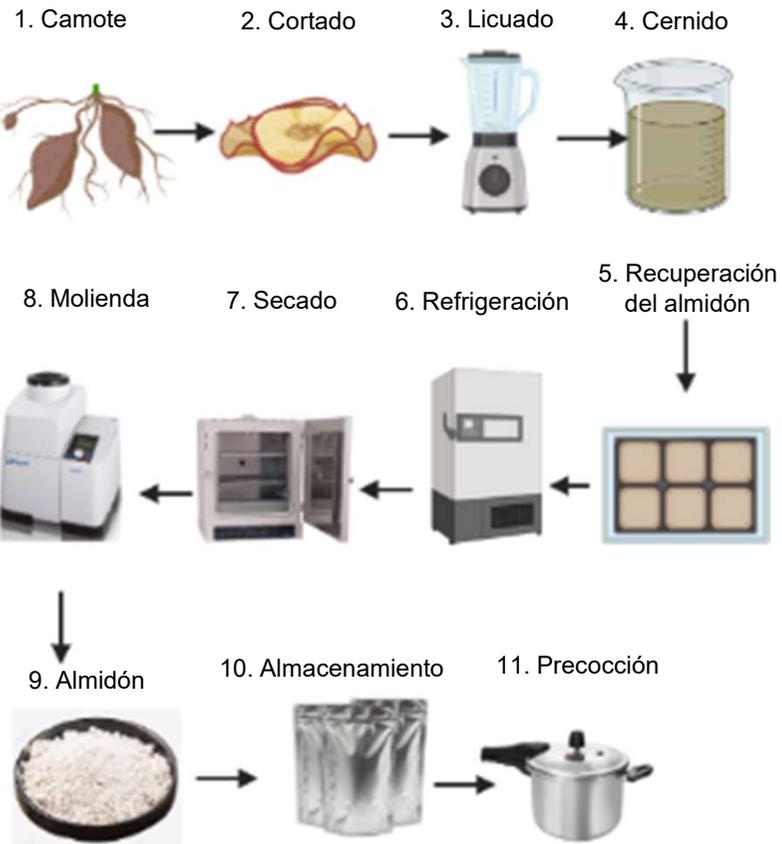
Unidades Experimentales
18

Análisis funcional
Prueba de significancia de
Tukey al 5% ($p < 0.05$)

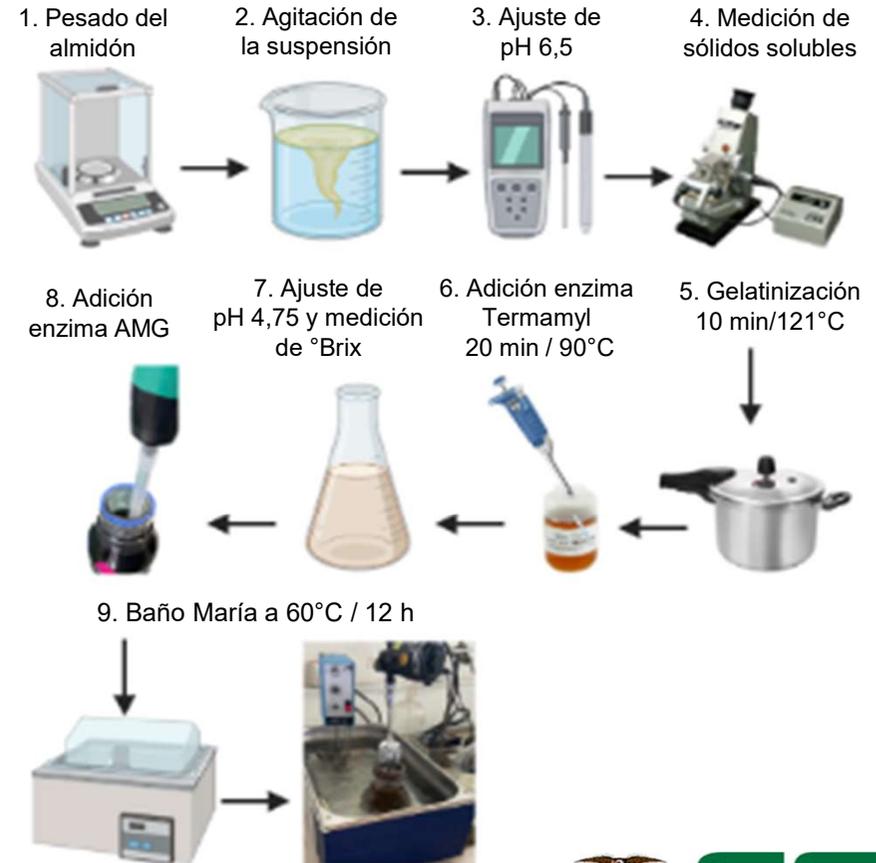


MATERIALES Y MÉTODOS

Extracción almidón de camote

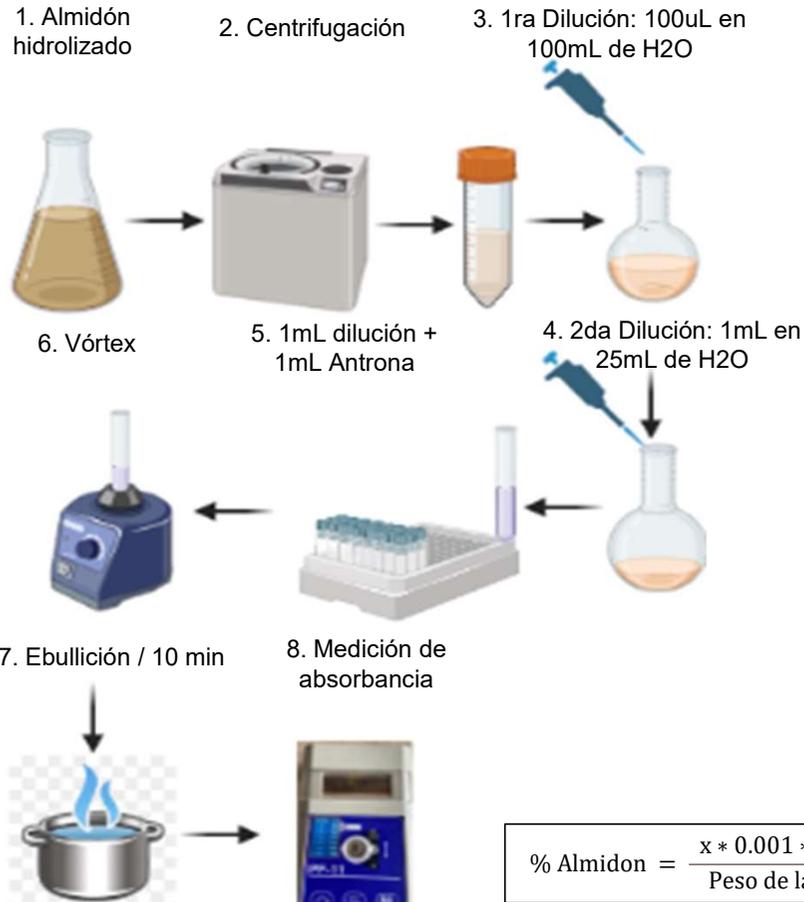


Hidrólisis enzimática



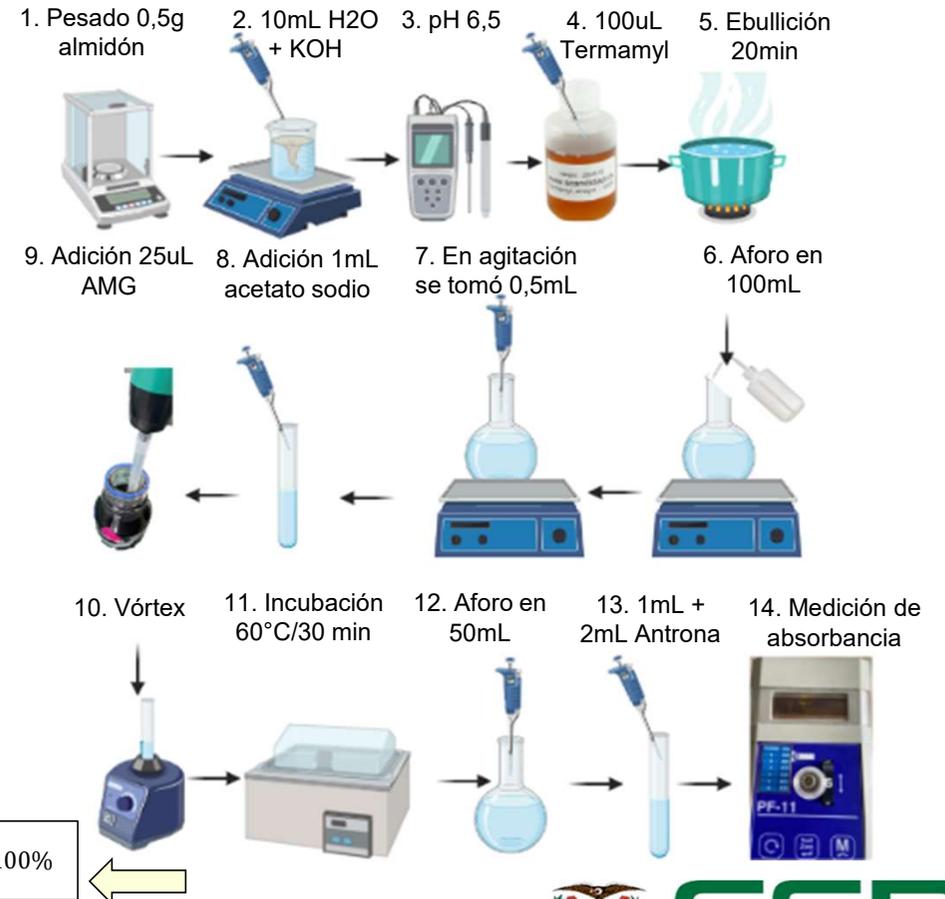
MATERIALES Y MÉTODOS

Determinación de Azúcares totales



$$\% \text{ Almidon} = \frac{x * 0.001 * 100 * 200 * 0.9}{\text{Peso de la muestra (mg)}} * 100\%$$

Determinación de Almidón total



MATERIALES Y MÉTODOS

Producción de alcohol de camote

1. Desinfección



StraighA Premium Cleaner

2. Ajuste de parámetros iniciales



20°Brix
pH 4,8

3. Activación de la levadura *S. Cerevisae*



30°C/1h

4. Inoculación de la levadura *S. Cerevisae*



5. Fermentación



30°C/12 días

- °Brix
- Grado alcohólico
- Acidez
- pH
- Densidad

6. Destilación



80°C/1h



MATERIALES Y MÉTODOS

Variables evaluadas

Azúcares totales

Curva estándar de glucosa
 $y = 0,0238x - 0,0612$



Sólidos solubles

Refractómetro



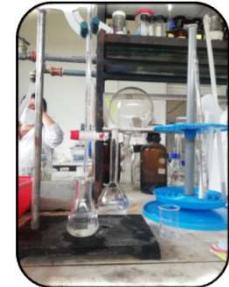
Grado alcohólico

Alcoholímetro Gay Lussac



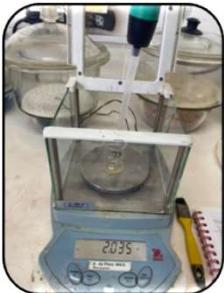
Acidez titulable

Norma INEN 341



Densidad

$$d = \frac{m}{v}$$



pH

Norma INEN 389



Turbidez

Fotómetro



Viscosidad

Viscosímetro de Ostwald



$$\eta = \left(\frac{\text{Tiempo de flujo de la muestra}}{\text{Tiempo de flujo del agua}} \right) * \rho * \eta_{H_2O(25^\circ C)}$$

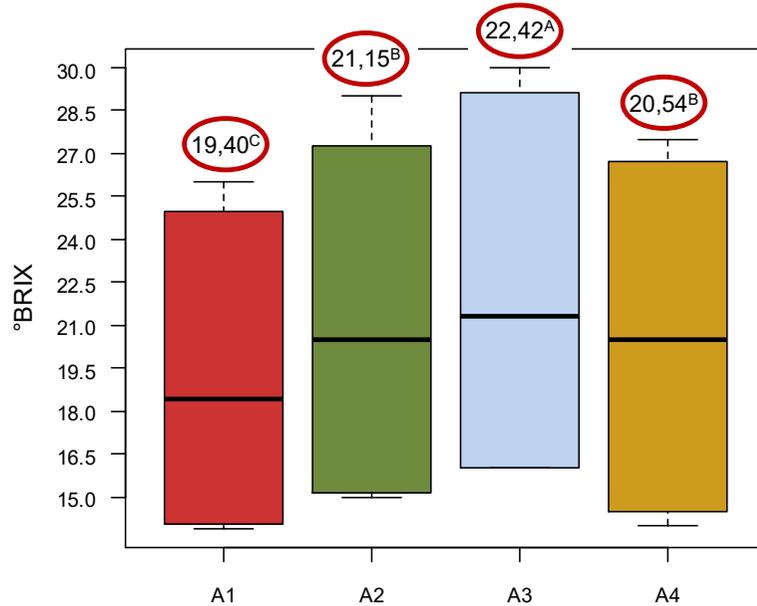


ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

RESULTADOS Y DISCUSIONES

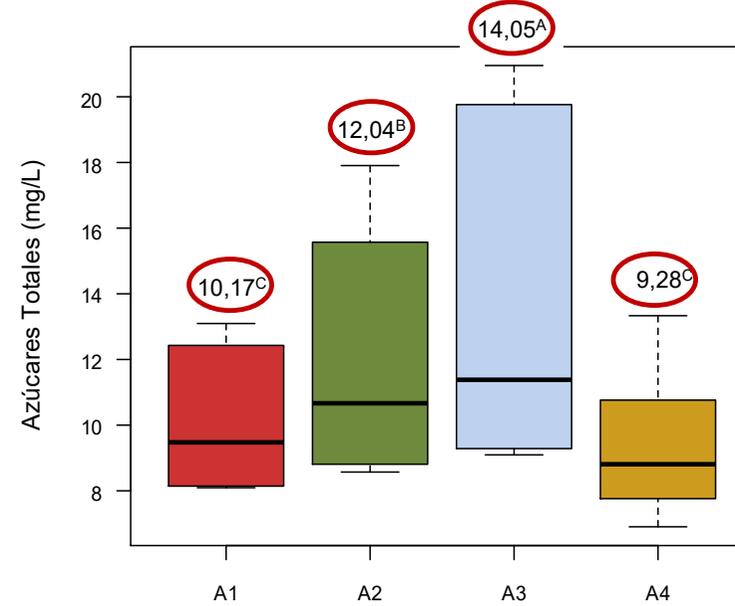
Diseño A*B*C

FACTOR A (Concentraciones de enzimas)



Concentración Enzimática

Alfa – amilasa 0,182 % y AMG 0,354 %
(p/v) obtuvo 22,75°Brix
Altamirano (2022).



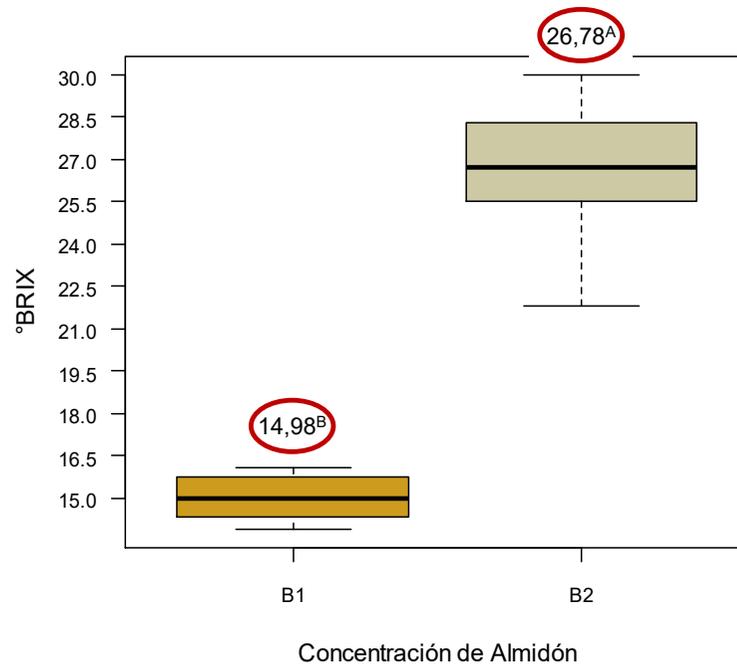
Concentración Enzimática

Depende del porcentaje del
almidón, el camote posee entre el
80% - 90% (Acosta et al., 2020).

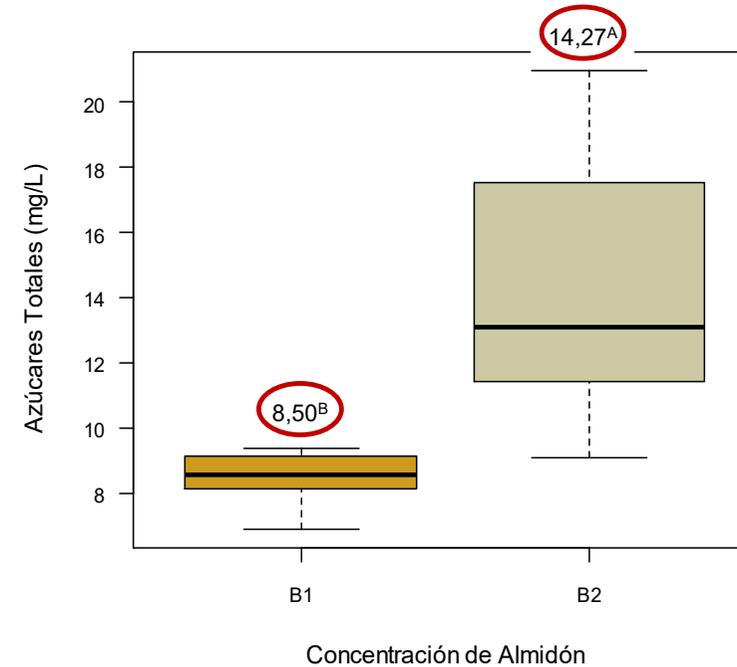


RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR B (Concentraciones de almidón)



Concentración de almidón al 35 %, 27,51°Brix. Nieblas et al. (2017)

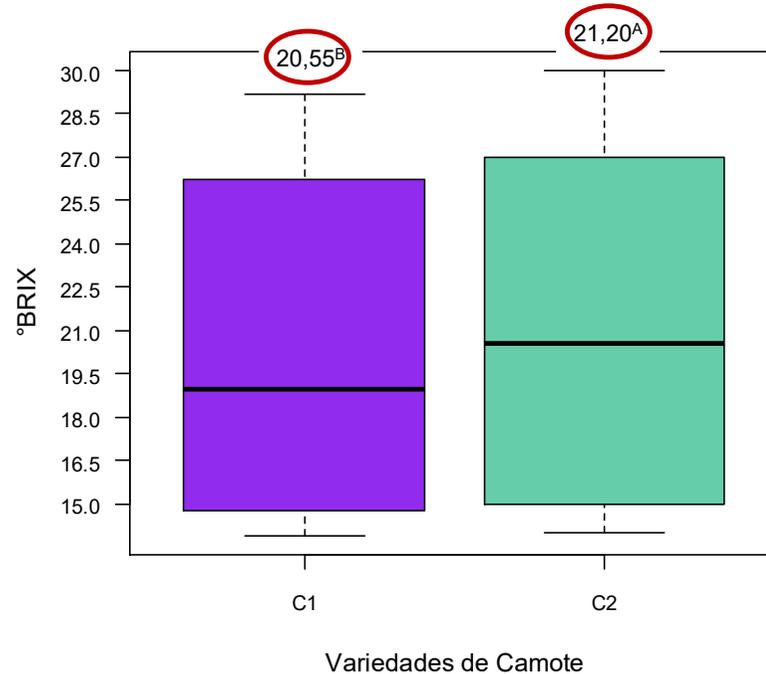


Nieblas et al. (2017) consideró como concentración óptima (35 %) para la obtención de un jarabe glucosilado.

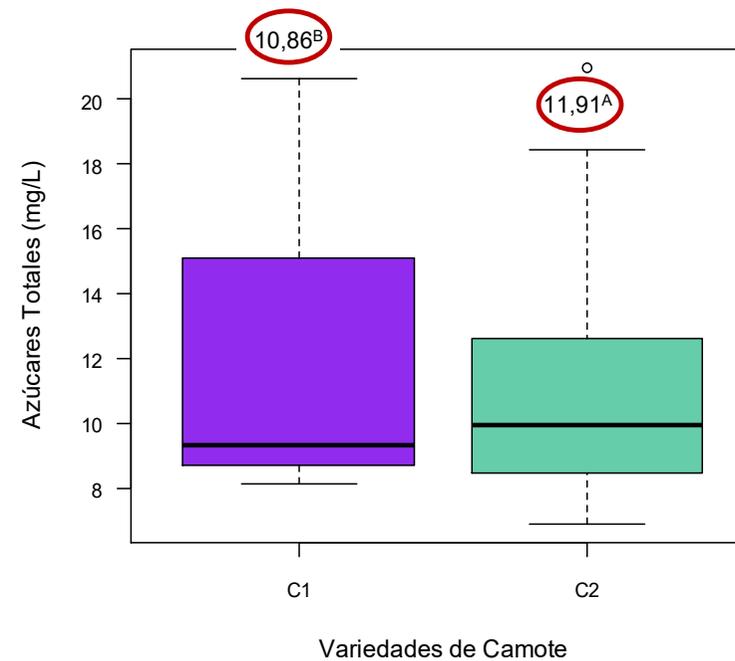


RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR C (Variedades de camote)



Barros (2012), reportó un valor de 11,80°Brix, siendo menor a los resultados obtenidos.



Nieblas et al. (2017), reportó un valor de 11,14 mg/L para la obtención de jarabes glucosilados.



RESULTADOS Y DISCUSIONES

INTERACCIÓN A*B*C

Factor A (Enzimas p/v)	Factor B (Almidón)	Factor C (Variedades)	Azúcares totales (mg/L)
Amilasa 0,114 %	25 %	Guayaco Morado	8,18 ^{DE}
AMG 0,182 %			
Amilasa 0,114 %	25 %	Toquecita	8,17 ^{DE}
AMG 0,182 %			
Amilasa 0,114 %	35 %	Guayaco Morado	12,89 ^B
AMG 0,182 %			
Amilasa 0,114 %	35 %	Toquecita	11,42 ^{BCD}
AMG 0,182 %			
Amilasa 0,148 %	25 %	Guayaco Morado	9,05 ^{CDE}
AMG 0,331 %			
Amilasa 0,148 %	25 %	Toquecita	8,69 ^{CDE}
AMG 0,331 %			
Amilasa 0,148 %	35 %	Guayaco Morado	17,38 ^A
AMG 0,331 %			
Amilasa 0,148 %	35 %	Toquecita	13,09 ^B
AMG 0,331 %			
Amilasa 0,182 %	25 %	Guayaco Morado	9,30 ^{CDE}
AMG 0,354 %			
Amilasa 0,182 %	25 %	Toquecita	9,22 ^{CDE}
AMG 0,354 %			
Amilasa 0,182 %	35 %	Guayaco Morado	20,06 ^A
AMG 0,354 %			
Amilasa 0,182 %	35 %	Toquecita	17,61 ^A
AMG 0,354 %			
Amilasa 0,217 %	25 %	Guayaco Morado	8,45 ^{CDE}
AMG 0,388 %			
Amilasa 0,217 %	25 %	Toquecita	6,96 ^F
AMG 0,388 %			
Amilasa 0,217 %	35 %	Guayaco Morado	10,01 ^{BCDE}
AMG 0,388 %			
Amilasa 0,217 %	35 %	Toquecita	11,71 ^{BC}
AMG 0,388 %			

Determinación de Almidón total

Variedad	Resultado
----------	-----------

Guayaco Morado	70,56 %
----------------	---------

Toquecita	81,33 %
-----------	---------

77 % y 78 %
Rosales (2022)

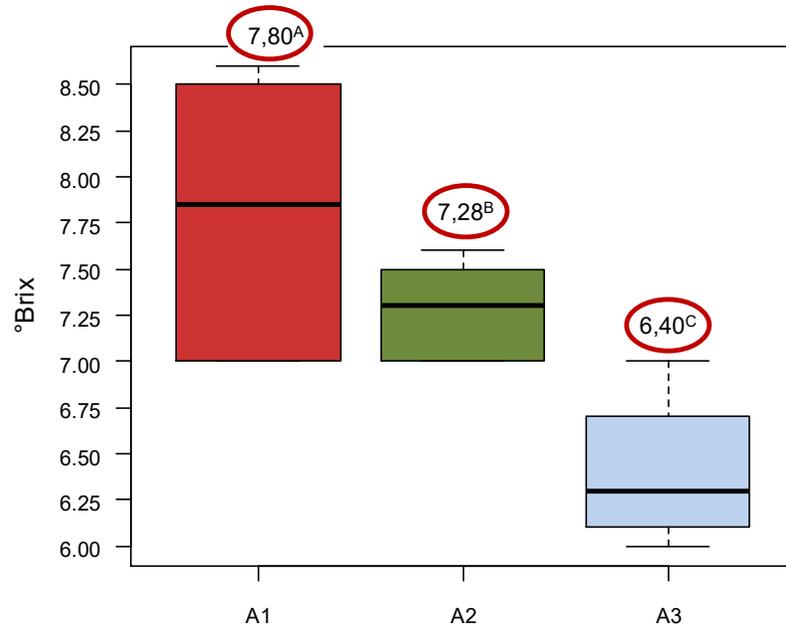
El proceso de extracción por vía húmeda contribuye a obtener un almidón de óptima calidad para su aplicación en la industria alimentaria (Paredes & Manzanillas, 2018).



RESULTADOS Y DISCUSIONES

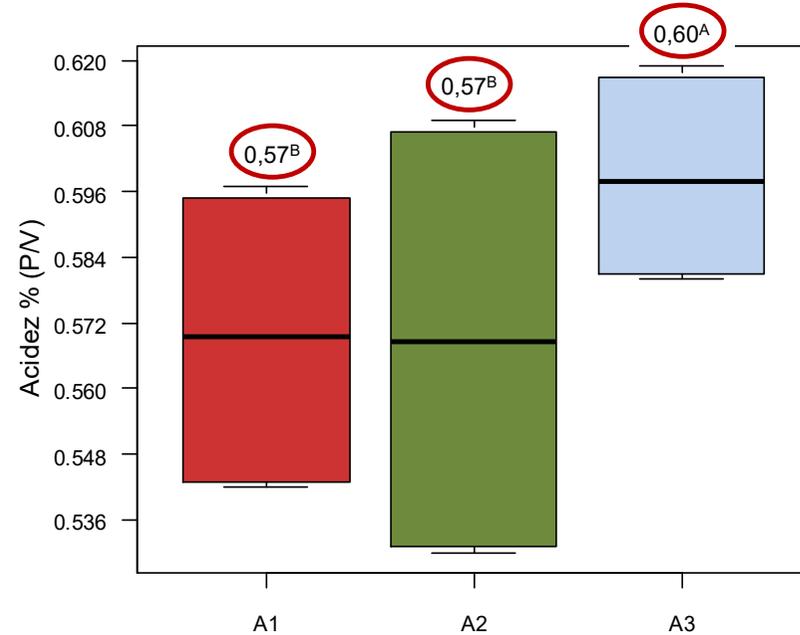
Diseño A*B

FACTOR A (Concentraciones de levadura)



Levadura

0,20 g/L: 8,17°Brix
0,50 g/L: 7,10°Brix
0,80 g/L: 5°Brix
Poma (2016)



Levadura

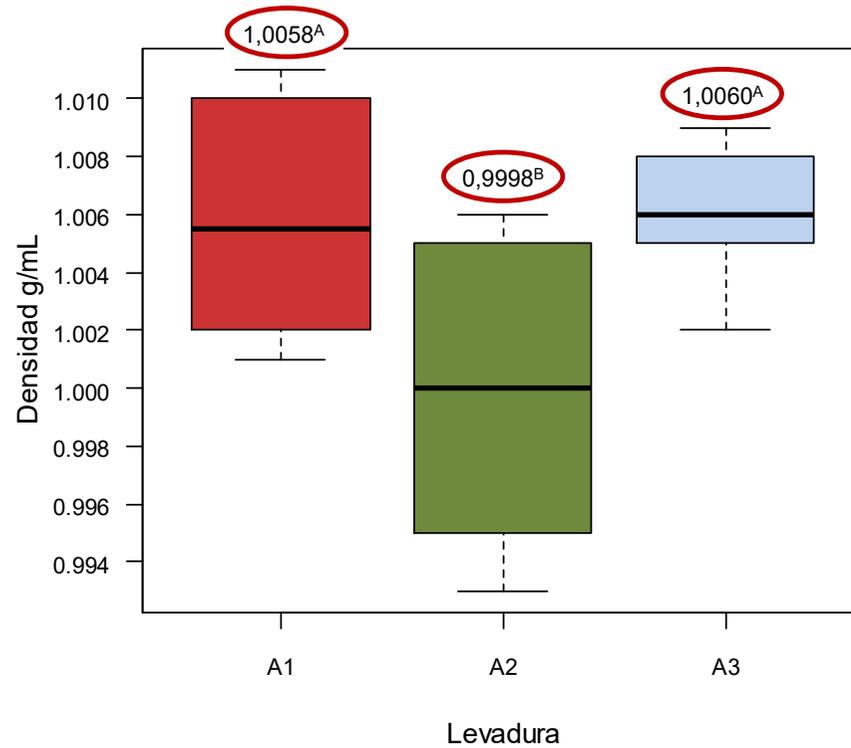
Cepas de *S. cerevisiae* generan un mayor contenido de ácidos.
Poma (2016)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR A (Concentraciones de levadura)

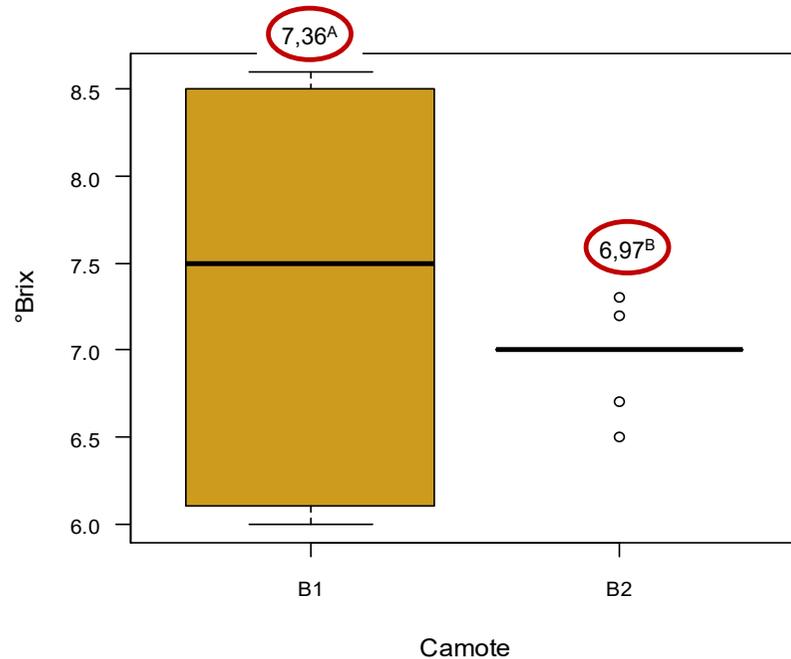


Poma (2016) y De la Cruz et al. (2012) Reportaron valores menores de 0.996 g/mL y 0,995 g/mL utilizando *S. cerevisiae*.

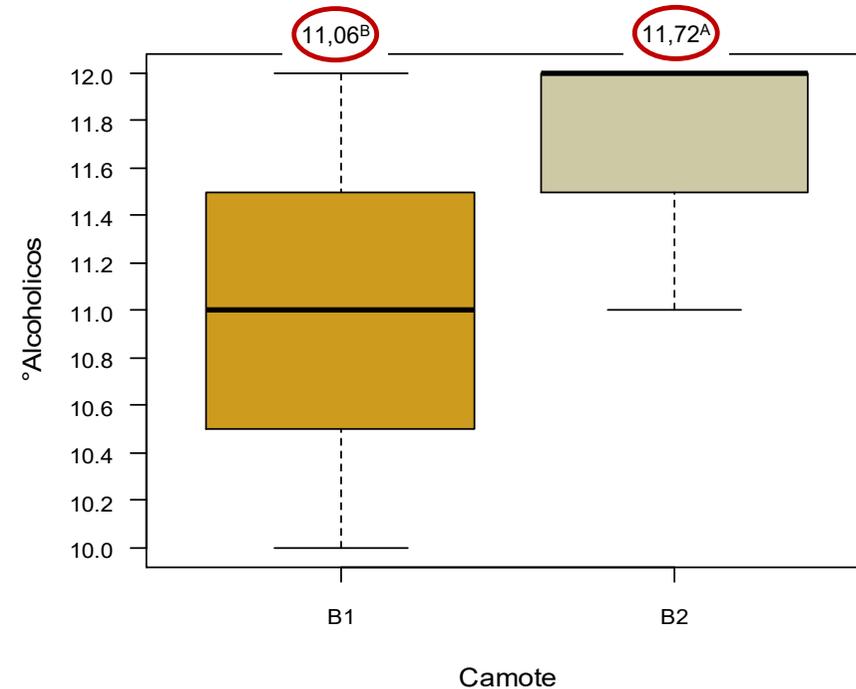


RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR B (Variedades de camote)



Comportamiento similar durante la fermentación de 8-8,5°Brix.
Albán & Carrasco (2012)

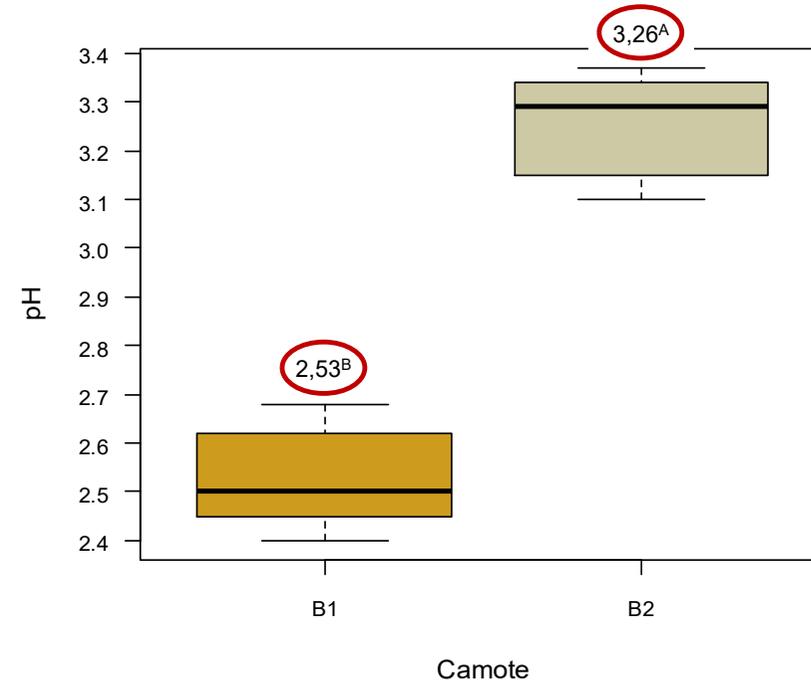
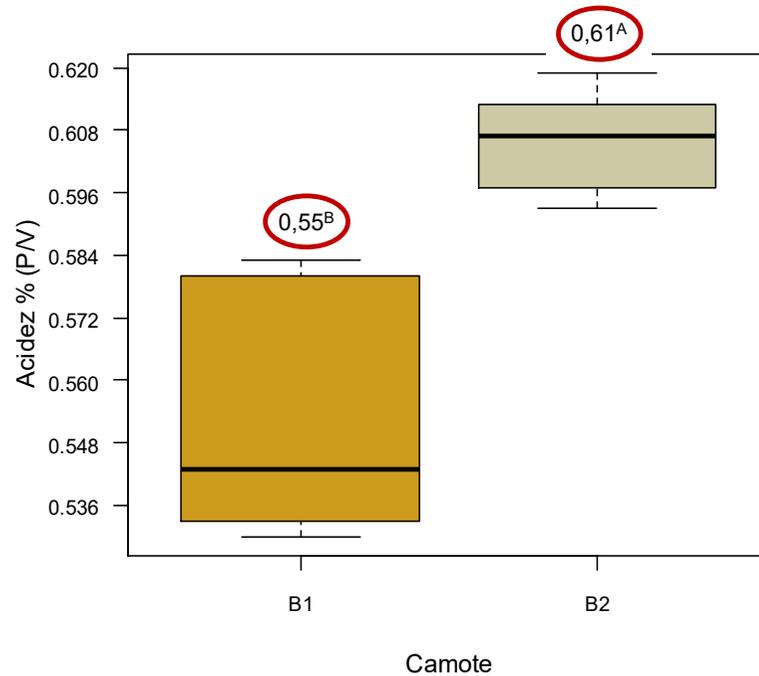


El contenido de alcohol aumenta a medida que los días de la fermentación lo hacen (15 días-22 v/v).
Andrade et al. (2009)



RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR B (Variedades de camote)



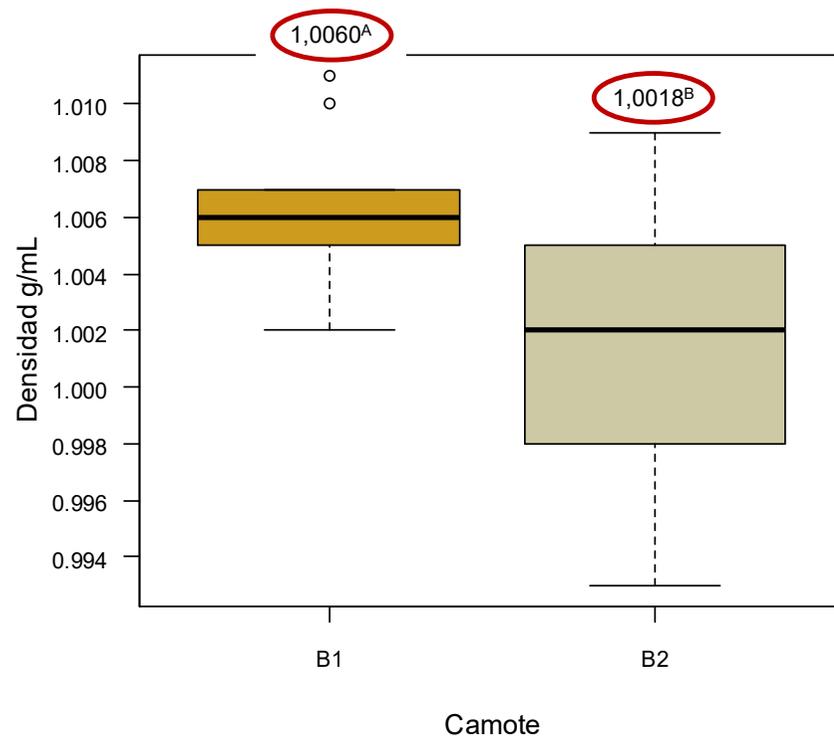
Las antocianinas moradas de *Guayaco Morado* tras la fermentación se decoloran, ya que son sensibles a los cambios de pH. Zapata et al. (2013) y Heredia (2006)

Los ácidos de la materia prima influyen significativamente sobre el pH. Butnariu & Butu (2019)



RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR B (Variedades de camote)

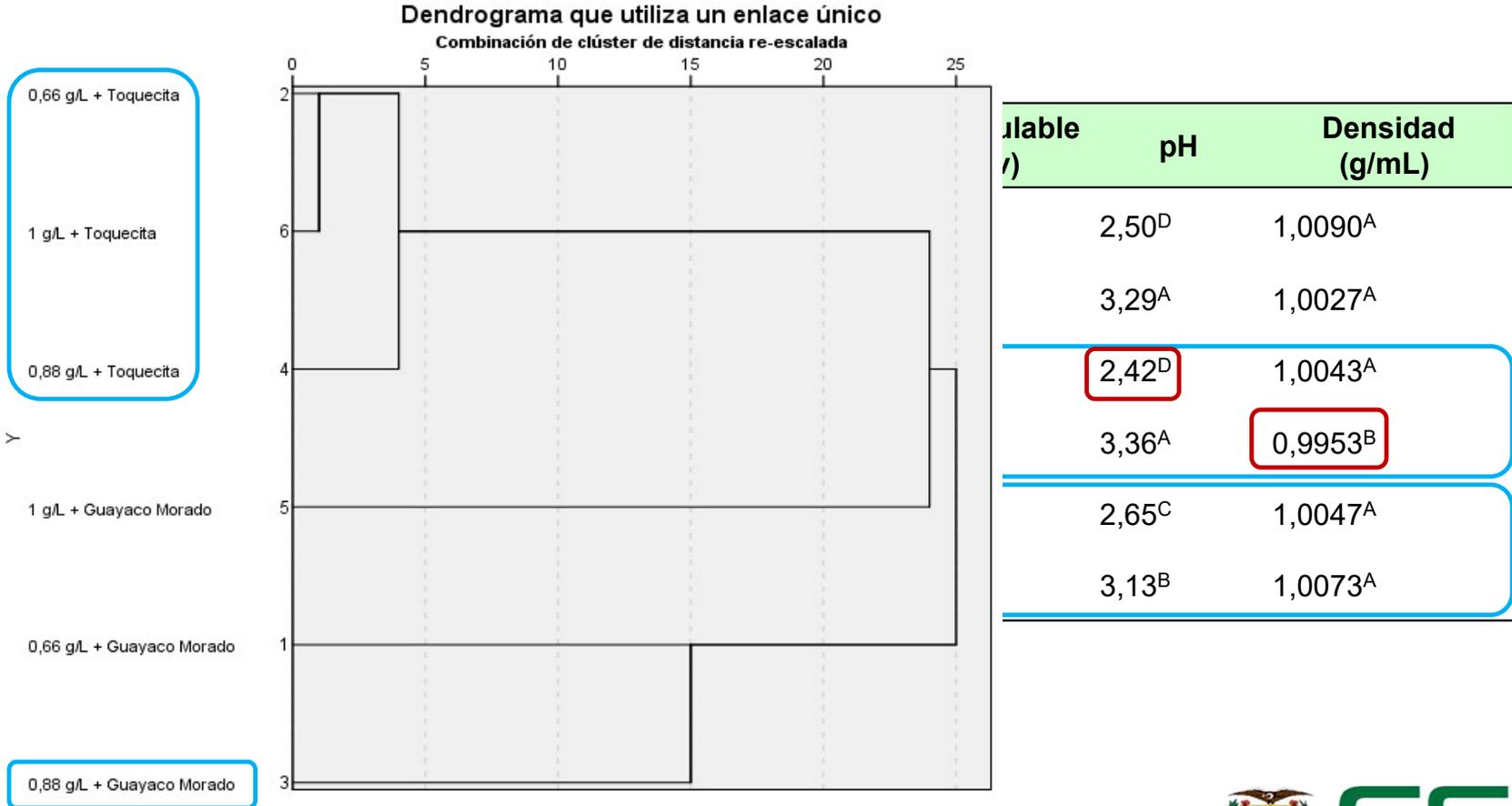


Los valores indican el contenido de azúcares aún disponibles en el mosto, lo que sugiere que los azúcares del mosto se transformaron en alcohol de una manera continua.
Miño et al. (2015)



RESULTADOS Y DISCUSIONES

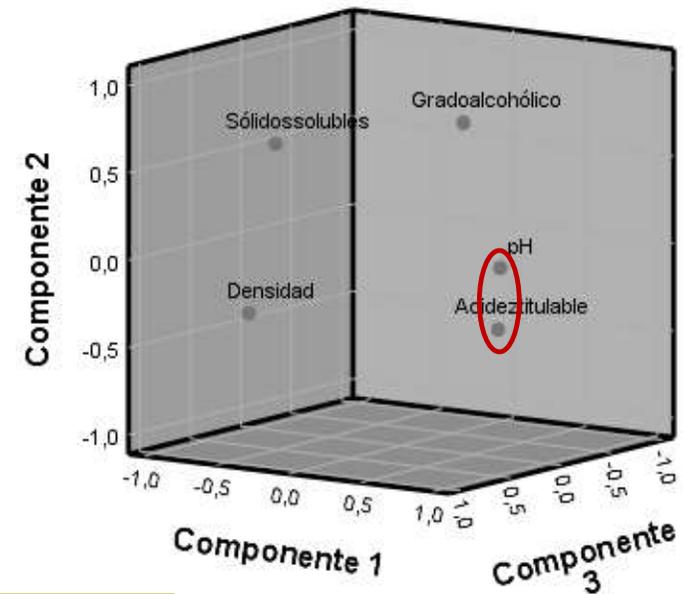
INTERACCIÓN A*B



RESULTADOS Y DISCUSIONES

INTERACCIÓN A*B

		Sólidos solubles	Acidez titulable	Grado alcohólico	pH	Densidad
Correlación	Sólidos solubles	1,000	-0,594	0,084	-0,336	0,281
	Acidez titulable	-0,594	1,000	0,158	0,887	-0,367
	Grado alcohólico	0,084	0,158	1,000	0,377	-0,430
	pH	-0,336	0,887	0,377	1,000	-0,559
	Densidad	0,281	-0,367	-0,430	-0,559	1,000

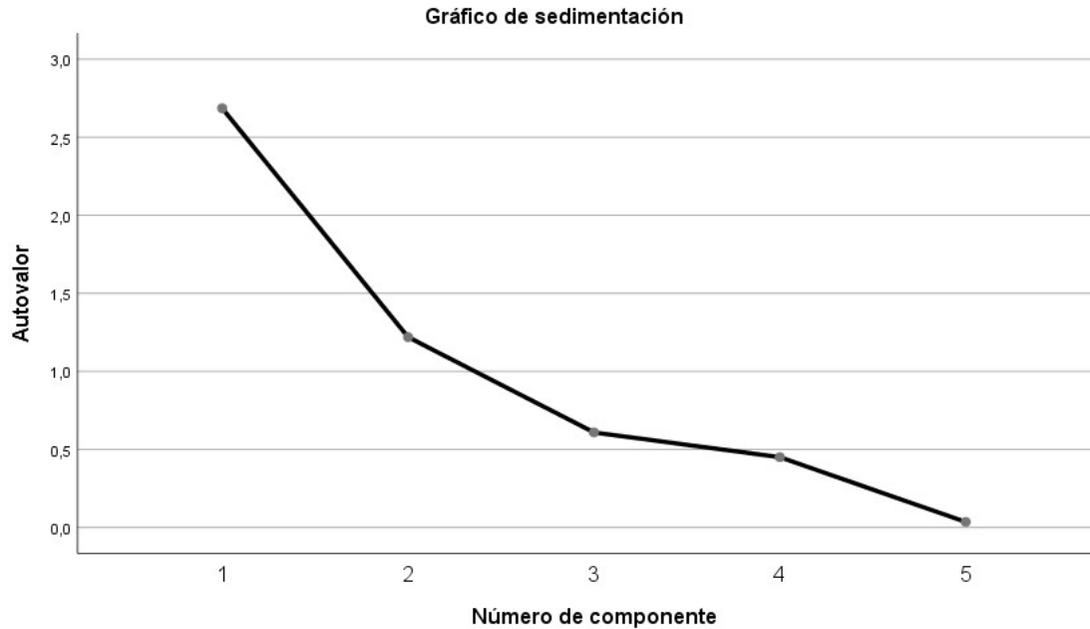


El factor de pH (4-4,5) de la solución de fermentación determina el proceso de reacción del azúcar para producir alcohol (Castro, 2015).



RESULTADOS Y DISCUSIONES

INTERACCIÓN A*B



1	Sólidos solubles	53,718%
2	Acidez titulable	24,398 %
3	Grado alcohólico	12,173 %



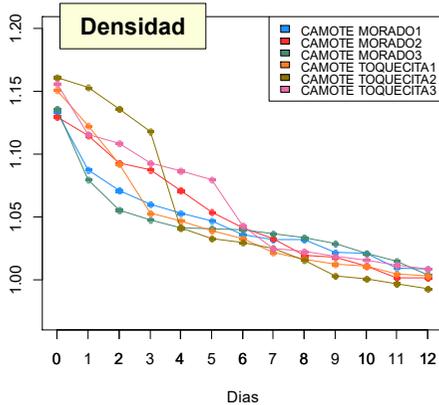
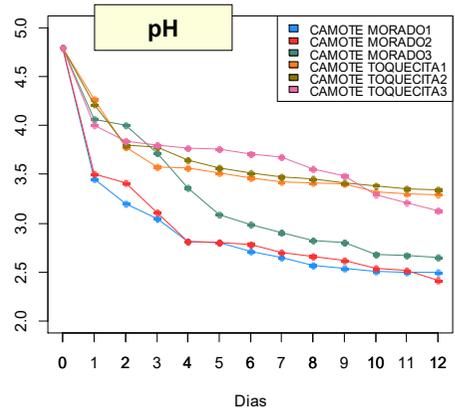
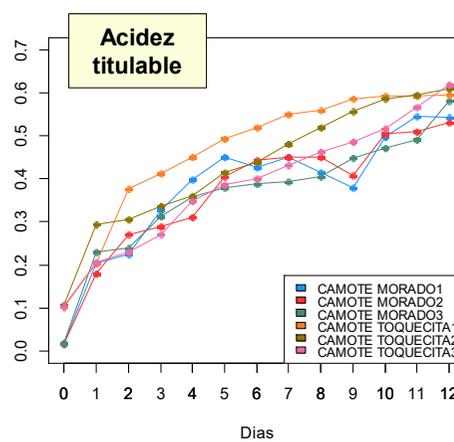
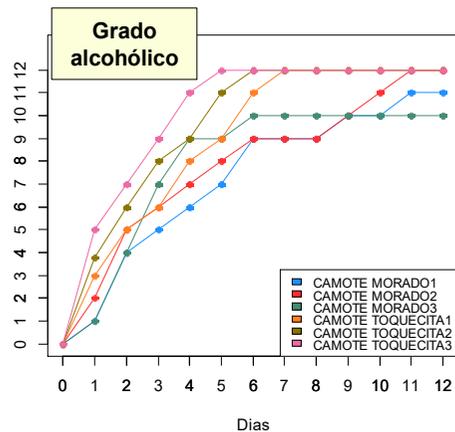
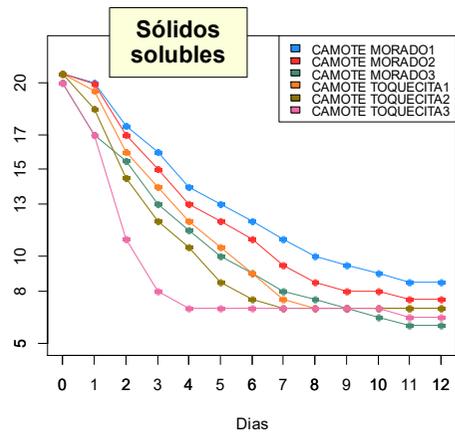
Los sólidos solubles y la acidez que se mide en función al pH son factores que influyen en la fermentación alcohólica. El valor de pH afecta el crecimiento y la tasa de fermentación de la levadura, e influye en la constitución de los productos de fermentación. Además, la densidad es un indicador para finalizar la fermentación.

Liu et al. (2015) y Miño et al. (2015)



RESULTADOS Y DISCUSIONES

Parámetros físico-químicos de los 12 días de la fermentación alcohólica



La magnitud de cambio de estos parámetros físico-químicos provocan cambios en las propiedades organolépticas (Butnariu & Butu, 2019).



El monitoreo del proceso de fermentación alcohólica es un requisito previo para determinar la calidad del alcohol obtenido (Buratti & Benedetti, 2016).

Sólidos solubles: 20 a 6,5 °Brix

Grado alcohólico: 11,83 % (v/v)



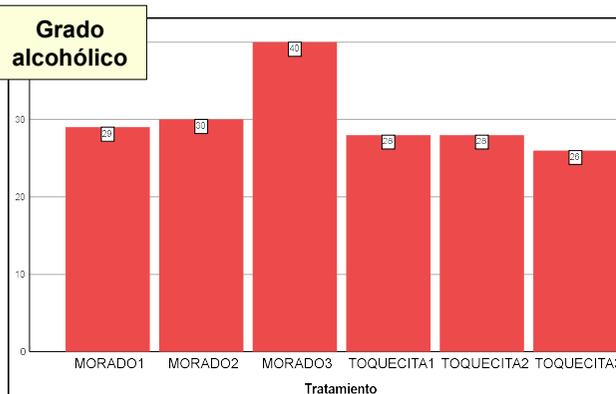
ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

RESULTADOS Y DISCUSIONES

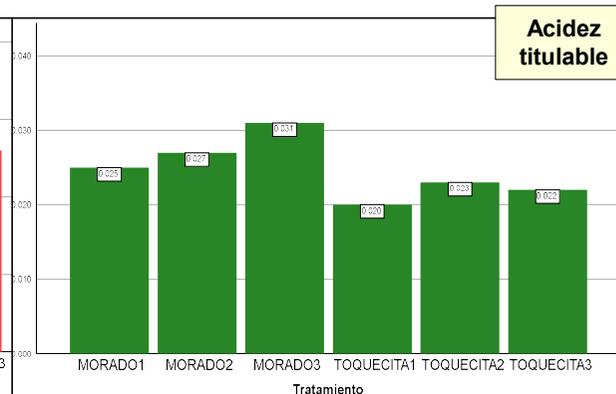
Parámetros físico-químicos del destilado

Aceptabilidad, procesamiento y su consumo (Carreon et al., 2016).

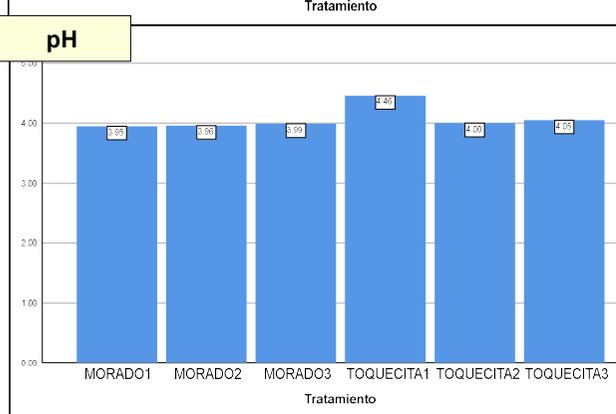
INEN 1837
15 min –50 máx %
(v/v)



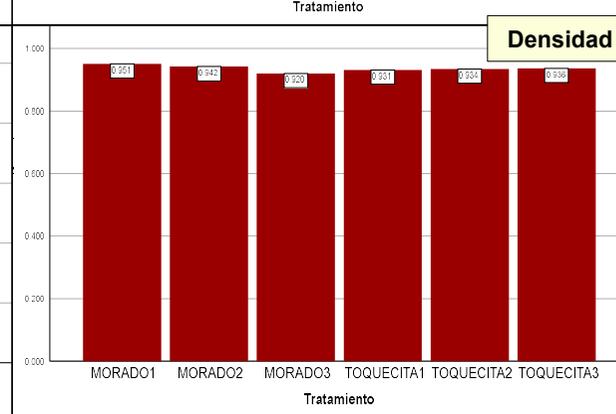
INEN 375
0,15 máx %



Rango de 3,5 a
4,0
Tadesse et al.
(2017)

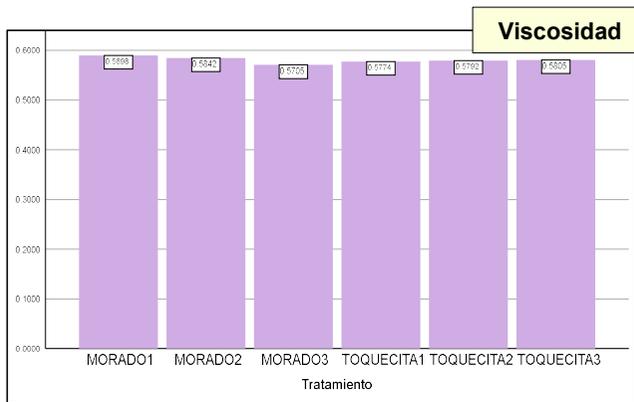


Rango de 0,920
g/mL a 0,951 g/mL
Miranda (2017) y
Sánchez (2019)



RESULTADOS Y DISCUSIONES

Parámetros físico-químicos del destilado



<1,5 Cp para bebidas de 25 a 40 % (v/v) de alcohol
Paxman et al. (2012)



0,08 FAU y 0,02 FAU
Moreno et al. (2002) y Rózański et al. (2020)

No deben ser turbias ni contener sedimentos.
Blanco et al. (2008)

0,69 mg/100mL
Sánchez (2019)

Parámetro	Resultado	Unidad	Máximo	NTE INEN
Metanol	< 1	mg/100 mL	10	1837
Furfural	<1	mg/100 mL	1,5	1837

0,3 mg/100mL
Castro (2015)

Se encuentran sujetos a controles restrictivos debido a su alta toxicidad (Balcerek et al., 2019).

Parámetro	Resultado	Unidad
Arsénico	<0,1	mg/Kg
Plomo	<0,08	mg/Kg

Rango de 0,02 a 0,3 mg/Kg
Menevseoglu & Cabaroglu (2021)



CONCLUSIONES

Diseño A*B*C

Factor A
(Concentraciones
de enzimas)

La concentración enzimática Alfa – amilasa 0,182 % (p/v) y AMG 0,354 % (p/v) presentó los mejores valores de sólidos solubles y azúcares totales, con 22,75°Brix y 14,05 mg/L, respectivamente.

Factor B
(Concentraciones
de almidón)

La concentración de almidón al 35 % proporcionó los mejores valores de sólidos solubles y azúcares totales en la hidrólisis del almidón, con valores de 26,78°Brix y 14,27 mg/L.

Factor C
(Variedades de
Camote)

La variedad *Toquecita* presentó el mayor valor de sólidos solubles (21°Brix y 20°Brix) y la variedad *Guayaco Morado* el mayor de azúcares totales (11,91 mg/L).

**Interacción
A*B*C**

Alfa - amilasa 0,182 % (p/v) y AMG 0,354 % (p/v) + Almidón al 35 % obtienen los mayores valores de azúcares totales, para la variedad *Guayaco Morado* (20,06 mg/L) y *Toquecita* (17,61 mg/L). Son los componentes óptimos para ejecutar el proceso de fermentación.



CONCLUSIONES

Diseño A*B

Factor A (Concentraciones de levadura)

1 g/L de levadura proporcionó los valores más bajos de sólidos solubles (6,40°Brix) y más altos de acidez (0,60 %).
0,88 g/L de levadura obtuvo los valores más bajos de densidad (0,9998 g/mL).

Factor B (Variedades de Camote)

Guayaco Morado presentó los menores valores de pH 2,53 y *Toquecita* los mejores resultados para sólidos solubles (6,97°Brix), grado alcohólico (11,72 %), acidez (0,61 %) y densidad (1,0018 g/mL).

Interacción A*B

1 g/L de levadura + *Guayaco Morado*: Sólidos solubles 6,07°Brix
1 g/L de levadura + *Toquecita*: Acidez 0,62 %
0,88 g/L de levadura + *Guayaco Morado*: pH 2,42
0,88 g/L de levadura + *Toquecita*: Densidad 0,9953 g/mL



RECOMENDACIONES

Aplicar el método de extracción por vía húmeda con el fin de extraer almidón de camote de mejor calidad para sus diferentes aplicaciones industriales.



Utilizar una concentración de Alfa-amilasa 0,182 % (p/v) y AMG 0,354 % (p/v) + Almidón al 35 %, para obtener jarabe glucosilado de camote y aplicarlo en la elaboración de otros subproductos.

En base al análisis físico-químico se recomienda utilizar 1 g/L de levadura y la variedad *Toquecita* para fermentar jarabes glucosilados de almidón de camote obtenidos por hidrólisis enzimática.

Utilizar el almidón de camote como un sustituto de materia prima en la obtención de alcohol, ya que la bebida alcohólica experimental no es perjudicial para la salud y es aplicable en la industria licorera, por los niveles bajos de metanol y metales pesados.



Gracias por su atención



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA