



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**EVALUACIÓN DEL IMPACTO DEL USO DE LÚPULO (*Humulus lupulus*) COMO AGENTE BACTERICIDA EN
EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE MELAZA POR LOTES A NIVEL INDUSTRIAL**

Yessenia Roxana Tzarax Díaz

Asesorado por la Inga. Qca. Hilda Piedad Palma de Martini

Guatemala, mayo de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EVALUACIÓN DEL IMPACTO DEL USO DE LÚPULO (*Humulus lupulus*) COMO AGENTE BACTERICIDA EN
EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE MELAZA POR LOTES A NIVEL INDUSTRIAL**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

YESSENIA ROXANA TZARAX DÍAZ
ASESORADO POR LA INGA. HILDA PIEDAD PALMA

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, MAYO DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL I	
VOCAL II	Ing. Pablo Christian De León Rodríguez
VOCAL III	Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa
VOCAL IV	Br. Narda Lucía Pacay Barrientos
VOCAL V	Br. Walter Rafael Véliz Muñoz
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADOR	Ing. Renato Giovanni Ponciano Sandoval
EXAMINADOR	Ing. Federico Guillermo Salazar Rodríguez
EXAMINADOR	Ing. Williams Guillermo Alvarez Mejía
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

EVALUACIÓN DEL IMPACTO DEL USO DE LÚPULO (*Humulus lupulus*) COMO AGENTE BACTERICIDA EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE MELAZA POR LOTES A NIVEL INDUSTRIAL

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 18 de noviembre de 2013.



Yessería Roxana Tzarax Díaz

Guatemala, 16 de Septiembre de 2014

Ing. Víctor Manuel Monzón
Director de la Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente.

Por este medio hago de su conocimiento que habiendo asesorado y realizado las revisiones pertinentes, doy mi aprobación al Informe final de trabajo de graduación "Evaluación del impacto del uso de lúpulo (*Humulus lupulus*) como agente bactericida en el proceso de fermentación alcohólica de melaza por lotes a nivel industrial", elaborado por la estudiante de Ingeniería Química Yessenia Roxana Tzarax Díaz, quien se identifica con carné número 2004 13154.

Por la atención prestada a la presente, muy agradecida.

Atte.



Inga. Química Hilda Palma de Martini
Colegiado No. 453

INGA. HILDA PALMA DE MARTINI
COLEGIADO No. 453



Guatemala, 24 de noviembre de 2014
Ref. EIQ.TG-IF.065.2014

Ingeniero
Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Monzón:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo **156-2013** le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Solicitado por la estudiante universitaria: **Yessenia Roxana Tzarax Díaz**.
Identificada con número de carné: **2004-13154**.
Previo a optar al título de **INGENIERA QUÍMICA**.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

EVALUACIÓN DEL IMPACTO DEL USO DE LÚPULO (*Humulus lupulus*) COMO AGENTE BACTERICIDA EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE MELAZA POR LOTES A NIVEL INDUSTRIAL

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por la Ingeniera Química: **Hilda Piedad Palma de Martíni**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

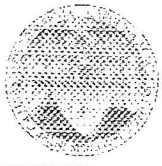
"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Pablo Enrique Morales Paniagua
COORDINADOR DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo





Ref.EIQ.TG.062.2015

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación de la estudiante, **YESSENIA ROXANA TZARAX DÍAZ** titulado: **"EVALUACIÓN DEL IMPACTO DEL USO DE LÚPULO (HUMULUS LUPULUS) COMO AGENTE BACTERICIDA EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE MELAZA POR LOTES A NIVEL INDUSTRIAL"**.
Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

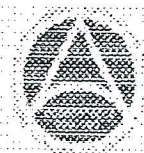
"Id y Enseñad a Todos"


Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, mayo 2015

Cc: Archivo
VMMV/ale





El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **EVALUACIÓN DEL IMPACTO DEL USO DE LÚPULO (Humulus lupulus) COMO AGENTE BACTERICIDA EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE MELAZA POR LOTES A NIVEL INDUSTRIAL**, presentado por la estudiante universitaria: **Yessenia Roxana Tzarax Díaz**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:

Ing. Angel Roberto Sic García
Decano

Guatemala, mayo de 2015



/gdech.

ACTO QUE DEDICO A:

- Dios** Creador y centro de mi vida. Bondad infinita que sin Él, nada existiría. Mi todo, a quien debo la culminación de esta meta personal.
- Mis padres** Mauro Tzarax y Martha Díaz de Tzarax, por su amor incondicional, entrega, esfuerzo y sacrificio absoluto. Son mi inspiración y a quienes debo lo que soy y donde estoy ahora.
- Mis hermanos** Mauricio, Alejandro y Gabriel Tzarax Díaz, por todo lo que han tenido que abstenerse y sacrificar en conjunto, son mi vida y motivación.
- Mi tía** Alejandra Díaz, por ser esa hermana incondicional y su gran cariño.
- Mis amigos** Por su alegría, compañerismo, fraternidad, amistad, cariño y lucha en conjunto por alcanzar nuestras metas.

AGRADECIMIENTOS A:

- Dios** Por el don de la vida, por acompañarme día a día. Por ser quien más me ama. Porque no cambia ni se agota su amor. Por su fidelidad y perfección a pesar de mis imperfecciones y permitirme alcanzar esta meta tan importante en mi vida.
- Mi familia** Por su amor, comprensión, paciencia, apoyo, provisión y sacrificios. Por ser mi fortaleza y consuelo en el fracaso y mi alegría en el éxito. El triunfo de uno es el triunfo de todos.
- Mis amigos** Por ser mis hermanos del alma, por su apoyo y ayuda incondicional, por estar conmigo en las buenas y en las malas. Por sus consejos, su tiempo y todos los momentos inolvidables que compartimos. Son un tesoro en mi vida.
- Inga. Hilda Palma** Por su valiosa asesoría, revisión, corrección y conocimientos compartidos en el presente trabajo.
- Facultad de Ingeniería** Por ser el lugar que me brindó la luz del

conocimiento en mi carrera profesional, formando fortalezas y aptitudes en mi persona.

**Universidad de
San Carlos de Guatemala**

Por ser la mejor Universidad del país, por prepararme profesionalmente. Estoy y estaré orgullosa y agradecida de pertenecer a ella.

CESEM y personal

Por permitirme iniciar mi experiencia laboral con ustedes, por su confianza, apoyo, cariño y amistad sincera. Por ser íntegros, honestos y llenos de valores, profesional y personalmente. Anteponiendo sus valores a beneficios personales.

**A mis excompañeros de
trabajo**

Por el cariño, los ánimos, apoyo, insistencia y estar siempre pendientes para que esta meta llegara a su fin.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	III
LISTA DE SÍMBOLOS	V
GLOSARIO	VII
RESUMEN	XI
OBJETIVOS.....	XIII
INTRODUCCIÓN	XV
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. Fermentación.....	3
2.1.1. Fermentación alcohólica.....	4
2.1.2. Fermentación industrial	4
2.2. Melaza	5
2.3. Alcohol etílico de melaza	6
2.4. Microorganismos	7
2.5. Contaminación bacteriana	9
2.5.1. Bacterias más comunes la fermentación alcohólica.....	10
2.5.2. Efecto de las bacterias de la fermentación alcohólica.....	10
2.6. Lúpulo.....	11
2.6.1. Lúpulo como antibacteriano.....	13
2.6.2. El uso de los ácidos del lúpulo en la producción de etanol.....	14

2.7.	Ácidos alfa.....	16
2.8.	Ácidos beta	17
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	19
3.1.	Variables	19
3.2.	Delimitación y campo de estudio.....	20
3.3.	Recursos humanos disponibles	21
3.4.	Recursos materiales disponibles (equipo, cristalería, reactivos).....	21
3.5.	Recolección y ordenamiento de la información.....	23
3.5.1.	Procedimiento	24
3.6.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información.....	26
3.6.1.	Procedimiento para la recopilación, análisis y comparación de datos	30
3.6.2.	Análisis estadístico.....	30
4.	RESULTADOS.....	33
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	37
	CONCLUSIONES.....	41
	RECOMENDACIONES	43
	BIBLIOGRAFÍA.....	45
	APÉNDICE	47
	ANEXOS.....	59

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Competencia por el azúcar entre bacterias y levaduras.....	11
2.	Planta de lúpulo.....	12
3.	Cono del lúpulo (flor de lúpulo).....	13
4.	Ácidos del lúpulo (componentes de carácter preservante).....	14
5.	Efecto inhibidor de los ácidos del lúpulo. Parte 1.....	15
6.	Efecto inhibidor de los ácidos del lúpulo. Parte 2.....	15
7.	Efecto inhibidor de los ácidos del lúpulo. Parte 3.....	16
8.	Estructura química del ácido alfa.....	17
9.	Contaminación bacteriana al final del proceso de fermentación.....	33
10.	pH inicial en el proceso de fermentación	34
11.	pH al final del proceso de fermentación.....	34
12.	Viabilidad de levadura al final del proceso de fermentación.....	35
13.	Grado de alcohol Gay Lussac (porcentaje volumen) al final del proceso de fermentación.....	35
14.	Ácido láctico al inicio y final del proceso de fermentación en fermentadores con lúpulo.....	36

TABLAS

I.	VARIABLES DE CONTROL INDEPENDIENTES.....	19
II.	VARIABLES DE CONTROL DEPENDIENTES.....	20
III.	DELIMITACIÓN Y CAMPO DE ESTUDIO.....	20
IV.	MATERIALES.....	22
V.	CRISTALERÍA.....	22
VI.	EQUIPO.....	23
VII.	CONTAMINACIÓN TOTAL AL FINAL DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN.....	26
VIII.	pH INICIAL EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN CON Y SIN LÚPULO.....	26
IX.	pH AL FINAL DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN CON Y SIN LÚPULO.....	27
X.	RECuento de levadura y contaminación bacteriana al final del proceso de fermentación (fermentadores sin lúpulo).....	27
XI.	RECuento de levadura y contaminación bacteriana al final del proceso de fermentación (fermentadores con lúpulo).....	27
XII.	Viabilidad de levadura al inicio del proceso de fermentación con y sin lúpulo.....	28
XIII.	Viabilidad de levadura al final del proceso de fermentación con y sin lúpulo.....	28
XIV.	Grado de alcohol al final del proceso de fermentación en fermentadores con y sin lúpulo.....	29
XV.	Ácido láctico al inicio y final del proceso de fermentación en fermentadores con lúpulo.....	29

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
°Bx	Grados Brix
°C	Grados Celsius
% vol.	Porcentaje volumen
pH	Potencial de hidrógeno, grado de acidez
pH_f	Potencial de hidrógeno final
pH_o	Potencial de hidrógeno inicial

GLOSARIO

Bacterias	Organismos unicelulares microscópicos, sin núcleo ni clorofila, aisladas o en grupos. Pueden tener cilios o flagelos. Transforman sustancias orgánicas en inorgánicas y viceversa.
Congenéricos	Del mismo género, de un mismo origen o de la propia derivación.
Contaminación	Es la introducción de sustancias en un medio, provocando que este sea inseguro o no apto para su uso. Alteración nociva de la pureza o las condiciones normales de un medio por agentes químicos, físicos o biológicos.
Etanol	Compuesto químico obtenido por destilación de fermentación de azúcares. Su molécula tiene dos átomos de carbono. Es líquido incoloro, de sabor urente y olor fuerte, arde fácilmente.
FDA	Food and DrugAdministration (Agencia de Alimentos y Medicamentos o Agencia de Drogas y Alimentos) es la agencia del gobierno de los Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos (tanto para personas como para animales), medicamentos (humanos y

veterinarios), cosméticos, aparatos médicos (humanos y animales), productos biológicos y derivados sanguíneos.

**Fermentación
aeróbica**

Asimilación de la materia orgánica por parte de microorganismos en presencia de oxígeno y nutrientes.

**Fermentación
alcohólica**

Es un proceso anaeróbico realizado por las levaduras y algunas clases de bacterias. Estos microorganismos transforman el azúcar en alcohol etílico y dióxido de carbono.

**Fermentación
anaeróbica**

Es el tipo de fermentación que no necesita oxígeno para llevarse a cabo.

Levaduras

Son hongos microscópicos, unicelulares, la mayoría se multiplican por gemación y algunas por escisión, son las responsables de la fermentación alcohólica.

Lúpulo

Es una de las tres especies de plantas del género humulus la familia de las cannabáceas. Tiene un suave efecto antibiótico contra las bacterias Gram positivas y favorece la actividad de la levadura de malteado.

Melaza

Es un producto líquido y espeso derivado de la caña de azúcar, y en menor medida de la

remolacha azucarera, obtenido del residuo restante en las cubas de extracción de los azúcares.

Mohos

Son organismos microscópicos que viven en la materia animal o vegetal. Ayudan en la descomposición de la materia muerta y a reciclar los nutrientes en el medio ambiente.

Sustrato

Es la superficie en la que una planta o un animal vive. El sustrato puede incluir materiales bióticos o abióticos.

Viabilidad

Es la proporción de células (levaduras) que sobreviven a alguna situación particular, es una determinación de las células vivas o muertas, con base en una muestra total de células.

RESUMEN

La fermentación alcohólica de etanol es un proceso que requiere control, por lo que se debe analizar la materia prima a utilizar, principalmente los microorganismos que realizarán el proceso de conversión de azúcar en etanol (levadura) y la contaminación (cocos y bastones), presente en el mosto a fermentar, dado que el medio es apto para el desarrollo de estos y pueden afectar el rendimiento del proceso. Por ello se pusieron a prueba varios fermentadores a nivel industrial utilizando como sustrato melaza, a los cuales se les realizaron pruebas analíticas al final del proceso de fermentación en presencia y ausencia de un agente bactericida de origen natural (a base de lúpulo) monitoreando los parámetros: pH, grados brix, grado de alcohol y ácido láctico formado dentro del mismo, para determinar el impacto dentro del proceso.

El lúpulo tiene un efecto bactericida significativo en el proceso de fermentación, ya que la contaminación presente en la muestra se redujo en un 24,2 por ciento. En la variable pH no presentó ningún efecto, se incrementó el grado de alcohol, pero en los resultados obtenidos del recuento de levadura y su viabilidad se observó una disminución, lo que genera menos levadura reutilizable para el próximo proceso de fermentación.

El alcance del estudio se basó solamente en observar el comportamiento de los parámetros involucrados en la fermentación, comparando los resultados obtenidos entre pruebas realizadas con y sin la presencia de lúpulo. Se podría aumentar el número de pruebas para obtener tener una muestra mayor y con ello mejor confiabilidad en los resultados. Con los resultados obtenidos se

puede recomendar un análisis económico que permitirá determinar si el efecto bactericida obtenido en presencia de lúpulo, compensa la pérdida de levadura en las muestras a fermentar.

OBJETIVOS

General

Evaluar el impacto del uso de lúpulo (*Humulus lupulus*) como agente bactericida en el proceso de fermentación alcohólica de melaza, por lotes a nivel industrial.

Específicos

1. Determinar el pH en muestras de mosto fermentado de los fermentadores en presencia y ausencia de lúpulo.
2. Determinar el recuento en placa de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y contaminación bacteriana (*Pediococcus* y *Lactobacillus*), en muestras de mosto fermentado (final del proceso de fermentación).
3. Obtener el grado de alcohol Gay Lussac (porcentaje volumen).
4. Medir el ácido láctico (miligramos por litro) formado en el proceso de fermentación en cada fermentador a prueba.
5. Comparar resultados (recuento de levadura, contaminación bacteriana, grado de alcohol y ácido láctico) del proceso de fermentación entre fermentadores con y sin lúpulo.

INTRODUCCIÓN

El proceso de fermentación alcohólica, necesita de ciertos parámetros para llevarse a cabo, tanto al inicio como al final del mismo. Por ser un proceso biológico necesita de microorganismos, en este caso de levaduras, que realizan el proceso de conversión de azúcares en etanol, pero dentro del mismo también se da un crecimiento de microorganismos gram positivos no deseados (*Pediococcus* y *Lactobacillus*), que de no mantenerse controlados pueden afectar el crecimiento y desarrollo eficiente de la levadura, compitiendo por el alimento o formando productos no deseados que afectarían el rendimiento y calidad del producto principal deseado, etanol.

Razón por la cual se hace necesario el uso de bactericidas, pero los utilizados comúnmente son de naturaleza química, lo que provoca que no solamente eliminan la contaminación bacteriana sino también matan la levadura, factor no conveniente para el proceso, ya que la levadura es la encargada de convertir el azúcar en etanol, y si se da un aumento en la contaminación bacteriana, habrían pérdidas de etanol.

Por ello se hizo necesario realizar una serie de pruebas, para obtener resultados del efecto que produciría un biocida de origen natural, en este caso de lúpulo, sobre la contaminación bacteriana y la forma en que este actuaría inhibiendo el crecimiento de la misma, además de la forma en que afectaría otros factores y variables dentro del proceso de fermentación, principalmente la levadura. Considerando los parámetros bajo los cuales se lleva a cabo el proceso y que son estables para el uso del producto mencionado.

Estudios previos en otros países han demostrado la eficacia del producto biocida de origen natural ante la contaminación microbiana, por ello se realizaron pruebas a nivel industrial para obtener resultados y determinar si estos son favorables al proceso.

En lo que respecta a recuento de levadura y contaminación microbiana, no hubo problemas en cuanto a los recursos, excepto en las mediciones de ácido láctico, ya que se pudo haber obtenido más corridas pero dada la escasez de tiras del test ácido láctico, se obtuvieron pocos datos, para realizar pruebas en fermentadores sin lúpulo para realizar un análisis comparativo entre el aumento de ácido láctico, formado en ambas situaciones con las mismas condiciones, exceptuando la presencia de ácido láctico en una de ellas.

En las mediciones del grado de alcohol, podrían realizarse mediciones cada cierto tiempo, para determinar si al agregar lúpulo al proceso podría disminuir el tiempo de fermentación.

1. ANTECEDENTES

Estudios previos han evaluado la acción y eficacia de las propiedades bactericidas del lúpulo para contrarrestar la contaminación microbiana dentro del proceso de cerveza y de la fermentación alcohólica.

“En el 2006, se llevó a cabo un estudio relacionado con las propiedades bactericidas contenidas en los ácidos de lúpulo, llevado a cabo por investigadores asociados a UniversitätHohenheimInstitutforFoodTechnology, Garbenstr”¹.

1. Rückle, L.Senn, T.UniversitätHohenheimInstitut for Food Technology, Garbenstr. 23, 70599 Stuttgart, ALLEMAGNE. International sugar journal Y. 2006, vol. 108, No. 1287, pages 139-147.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Fermentación

Fermentación, en el sentido amplio, se puede definir como un proceso metabólico en el que los cambios químicos son producidos en un sustrato orgánico, a través de la actividad de las enzimas segregadas por microorganismos.

La fermentación sufrió numerosos cambios de significado en el siglo pasado. Se deriva del latín *fervere* que significa "estar hirviendo" y originalmente significó el suave burbujeo o ebullición, la condición de la transformación espontánea de los zumos de fruta, como en la fermentación del vino o la sidra. El significado fue cambiado a través del estudio de Gay-Lussac de la fermentación alcohólica, para indicar la conversión del azúcar en dióxido de carbono y alcohol. Pasteur investiga la causa de la transformación fermentativa que lo llevó a definir la fermentación como la vida sin aire. Ahora, la palabra se ha vuelto más estrechamente relacionada con los microorganismos y las enzimas segregadas para catalizar los cambios fermentativos.

Podría decirse que fermentación es la transformación de un compuesto orgánico en otro compuesto orgánico diferente, debida a la acción de un microorganismo.

Con respecto al suministro de oxígeno, dos tipos de fermentación son reconocidos. Fermentación aeróbica que requiere oxígeno libre para actuar

como un aceptor de hidrógeno. El ácido acético y la fermentación del ácido cítrico son ejemplos. Fermentación anaeróbica es aquella en la que el oxígeno atmosférico no está involucrado, pero otras sustancias, tales como aldehídos o ácido pirúvico, sirven como aceptores de hidrógeno. Algunos ejemplos son el alcohol, el alcohol butílico - acetona, y la fermentación del ácido láctico.

2.1.1. Fermentación alcohólica

En general es la conversión de azúcar en alcohol por la acción de la levadura, en ausencia de aire (fermentación anaeróbica).

Los productos finales de la fermentación alcohólica son etanol y CO₂, esta es realizada por levaduras entre ellas la más conocida es *Saccharomyces cerevisiae*. Estas levaduras tienen más de un tipo metabólico, son aerobias y respiran en presencia de O₂, pero en condiciones anaerobias fermentan. Este tipo de levaduras soportan mayores concentraciones de alcohol que otros microorganismos. Por esto, la fermentación alcohólica se emplea en la conservación o producción de alimentos.

El mecanismo de conservación se basa en la producción de alta concentración de alcohol no tolerado por la mayoría de microorganismos, en especial los degradadores de la materia orgánica que deterioran el producto.

2.1.2. Fermentación industrial

Las industrias de fermentación constituyen la rama de fabricación de productos químicos que produce productos útiles, a través de las actividades vitales de los microorganismos.

Literalmente miles o millones, de los diferentes tipos de microorganismos existen en la naturaleza, y cada uno de estos cambios produce fermentación en el sentido amplio. Estos microbios son de los más diversos tipos, pero el número de transformaciones ha adquirido una importancia técnica muy limitada. El éxito de un proceso de fermentación a escala industrial depende de una serie de factores, a saber:

- La capacidad del organismo seleccionado para obtener un rendimiento constantemente alto del producto deseado en un tiempo razonable a partir de un sustrato barato, materias primas disponibles.
- A la recuperación del producto en su forma pura.
- La fabricación de un producto único que está en la demanda, pero difícil de obtener por otros métodos.

Organismos de distintos tipos se emplean en las industrias de fermentación. Se trata de especies o cepas de levaduras, bacterias y hongos. Los microorganismos de la fermentación son muy diferentes en su morfología, tamaño, forma de reproducción, la reacción de oxígeno libre, los requisitos de crecimiento, la capacidad para atacar a diferentes sustratos, y de otras maneras. Crecen activamente y producen enzimas que catalizan reacciones.

2.2. Melaza

Las melazas, mieles finales o melazas *blackstrap*, suelen ser definidas como los residuos de la cristalización final del azúcar, de los cuales no se puede obtener más sacarosa por métodos físicos.

La Norma ICONTEC 587 de 1994, define como miel o melaza (no cristalizable) “al jarabe o líquido denso y viscoso, separado de la misma masa

cocida final y de la cual no es posible cristalizar más sacarosa por métodos usuales” (ICONTEC, 1994). La melaza es una mezcla compleja que contiene sacarosa, azúcares invertidos, sales y otros compuestos solubles en álcali que normalmente están presentes en el jugo de caña localizado, así como los formados durante el proceso de manufactura del azúcar.

La melaza se diferencia de muchas poblaciones de otros alimentos para la producción de alcohol, tales como maíz, sorgo y papas, que tienen a su contenido de hidratos de carbono almacenados en forma de almidón, y deben ser tratados previamente por la acción enzimática para hidrolizar en azúcares fermentables. Los hidratos de carbono en la melaza ya están en forma de azúcares que no necesitan tratamiento previo para estar disponible para la fermentación.

2.3. Alcohol etílico de melaza

Las melazas se ajustan a la concentración de azúcar y temperatura deseadas por adición de agua, y al pH requerido por adición de una cierta cantidad de ácido. Se mezcla una levadura iniciadora con el mosto en el tanque de fermentación, que generalmente es cubierto. La mezcla puede hacerse de varias formas: una de ellas consiste en hacer converger las corrientes del mosto y del iniciador sobre una tabla de aletas situada en la parte superior del tanque.

El mosto y el iniciador quedan bien mezclados al esparcirse y caer al fondo del depósito. Otro método consiste en añadir el iniciador sobre el mosto que está ya en el depósito y mezclarlos por medio de aire comprimido que sale por diferentes puntos de tuberías colocadas en el fondo del depósito. Otro método consiste en emplear palas de agitación.

La fermentación comienza rápidamente con desprendimiento de grandes cantidades de dióxido de carbono. En las fábricas modernas se recoge este gas, se purifica y se usa para la fabricación de hielo seco o para otros diseños. Al cabo de las cincuenta horas o menos, la fermentación suele estar terminada. Las melazas fermentadas se destilan en un alambique continuo para separar el alcohol y otros componentes volátiles. El alcohol se purifica en columnas de rectificación y se almacena o se desnaturaliza.

Las melazas de caña constituyen la fuente principal del alcohol industrial. Esta materia es el jarabe residual del jugo concentrado de azúcar de caña, una vez separados los cristales de azúcar. Suelen contener del 48 al 55 por ciento de azúcares, especialmente sacarosa. Las melazas concentradas no son más que jugo de azúcar de caña después de evaporar una parte del agua y por tanto, contienen todo el azúcar, aunque una gran parte se haya invertido como resultado de una hidrólisis ácida. Su contenido en azúcar puede ser hasta del 78 por ciento.

2.4. Microorganismos

Hay centenares de especies de levaduras, bacterias y mohos que producen alcohol, pero solo dos o tres especies de levadura se aplican industrialmente en la producción de alcohol debido a su actividad fermentativa, su tolerancia de concentraciones elevadas de azúcar y alcohol y su rendimiento elevado de etanol.

Las levaduras están muy difundidas en la naturaleza, se encuentran en las frutas, los granos y otras materias nutritivas que contienen azúcares; en el suelo, en el aire, en la piel y en el intestino de los animales y en algunos insectos. Las levaduras no contienen clorofila y por consiguiente, dependen de

las plantas superiores y de los animales para obtener su energía, la cual pueden conseguir por desasimilación oxidante aerobia o por fermentación anaerobia.

Las levaduras son cuerpos unicelulares (generalmente de forma esférica), de un tamaño que va de los 2 a 4 μm y que están presentes de forma natural en algunos productos como las frutas, cereales y verduras. Son los que se denominan organismos anaeróbicos facultativos, es decir, que pueden desarrollar sus funciones biológicas con o sin aire alternativamente. Se puede decir que el 96 por ciento de la producción de etanol la llevan a cabo hongos microscópicos.

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es un hongo unicelular responsable de gran parte de las fermentaciones alcohólicas. Permite una conversión aproximada del 85 por ciento al cabo de 32 horas y del 90 por ciento al cabo de 75 horas en la producción de etanol.

Este microorganismo tiene un porcentaje en peso de carbono del 45% de oxígeno del 30,6 por ciento, de hidrógeno del 6,8 por ciento y de nitrógeno del 9 por ciento. La levadura, como todo ser vivo, tiende a reproducir su especie o por lo menos a conservarla, para lo cual necesita nutrientes y fuentes de energía. También necesita agua y oxígeno.

Cuando la levadura toma su oxígeno del aire, se dice que ocurre una fermentación aeróbica. Bajo esas condiciones, la levadura se reproduce más rápidamente, hasta que se le agota la fuente de carbono y nutrientes. Cuando toma su oxígeno de otros compuestos distintos al aire, la fermentación se llama anaeróbica. La fermentación alcohólica solo tiene lugar en forma anaeróbica.

Bajo estas condiciones la levadura se reproduce muy poco y transforma la glucosa en etanol y CO₂ hasta que la concentración de alcohol en el mosto es inhibitoria. La levadura se reproduce, en condiciones ideales, más o menos cada 20 minutos.

Cada “cepa” de levadura, requiere ciertas condiciones óptimas para su desarrollo o para convertir el azúcar en alcohol. Las principales son:

- Temperatura: 33 °C
- pH: 4,5
- Concentración de azúcar: 16-18 por ciento

También algunas bacterias y otros microorganismos pueden utilizar la glucosa, algunos de ellos la convierten en productos distintos al alcohol. Como en toda población de seres vivos, todo el tiempo nacen nuevas células, otras envejecen y otras mueren; por lo tanto, es normal encontrar, cuando se observa al microscopio, cierta cantidad de células muertas; si el número es mayor de 20 levaduras muertas por cada 100 contadas, lo más probable es que la fermentación sea más lenta de lo normal. La levadura para poder crecer o trabajar mejor, necesita además de la glucosa (azúcar) otros nutrientes como: nitrógeno (N) que suministra en forma de urea o sulfato de amonio, ácido fosfórico; azufre (S) en forma de sulfato o de ácido sulfúrico; necesita también sodio (Na), calcio (Ca) potasio (K), magnesio (Mg), manganeso (Mn). Cobre (Cu) y hierro (Fe) que en grandes cantidades pueden ser inhibidores o venenosos (micronutrientes).

2.5. Contaminación bacteriana

La contaminación bacteriana es un problema continuo en procesos fermentativos, particularmente, en fermentaciones para producción de etanol,

donde se utiliza melaza de caña o maíz como materia prima; estos contaminantes son bacterias ácido lácticas, predominando el género *Lactobacillus*, principalmente, estas compiten por factores de crecimiento necesarios para que la levadura realice su proceso fermentativo; asimismo pueden producir ácido láctico, el cual inhibe el crecimiento de la levadura, disminuyendo su productividad.

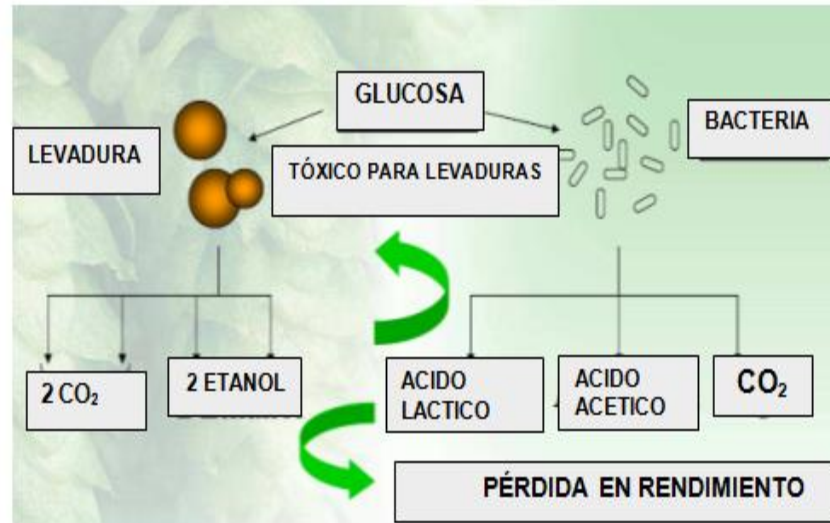
2.5.1. Bacterias más comunes la fermentación alcohólica

- Mayor al 90 por ciento *Lactobacillus*ssp. Gram +
- *Bacillus* spp. Gram +
- *Weissella* ssp. Gram +
- *Pediococcus*ssp. Gram +
- *Streptococcus*ssp. Gram +
- *Acetobacter* ssp. Gram -
- *Clostridium* spp. Gram +

2.5.2. Efecto de las bacterias de la fermentación alcohólica

- Las pérdidas en la producción de etanol.
- Ampliación del tiempo de fermentación (azúcares residuos) debido a la formación de ácidos orgánicos (ácido butírico láctico, acético, entre otros).
- Pobre rendimiento de la levadura.

Figura 1. Competencia por el azúcar entre bacterias y levaduras



Fuente: *Hop acids natural antibacterials*. <<http://208.106.231.12/literature/files/Abstract Hop Products Sugar Industry.pdf>>Consulta: 20 de octubre de 2013.

2.6. Lúpulo

El lúpulo, conocido científicamente como *Humulus lupulus*, pertenecen a la familia Cannabaceae, y son nativas de climas templados de Asia, Europa y América del Norte. Es una especie dioica (una especie separada con plantas masculinas y femeninas) que suele crecer a alturas de 16 a 26 pies. Cerveceros utilizan el cuerpo fructífero de la planta del lúpulo femenino, conocido como el cono. Las plantas masculinas no se cultivan en los jardines de lúpulo, ya que no producen conos, pero sí fertilizan las flores femeninas, lo que lleva al desarrollo de las semillas de los conos de lúpulo. Estas semillas impartir sabores indeseables y la astringencia de la cerveza. Los conos de lúpulo consisten en una serie de pétalos como bractéolas conectadas a un vástago interno llamado *strig*. Pequeñas glándulas de lupulina amarilla que se encuentra

en la base de estas bractéolas contienen ácidos, resinas y aceites esenciales que proporcionan amargor y aroma de la cerveza. Ácidos alfa son algunos de los componentes más importantes presentes en las glándulas de lupulina. El sabor amargo de la cerveza proviene principalmente de la isomerización de los ácidos alfa, durante la cocción del mosto.

Para madurar y desarrollar su aroma precisa la luz de larguísimos días de verano, de esos que solo se dan entre los 35 y los 55 grados de latitud.

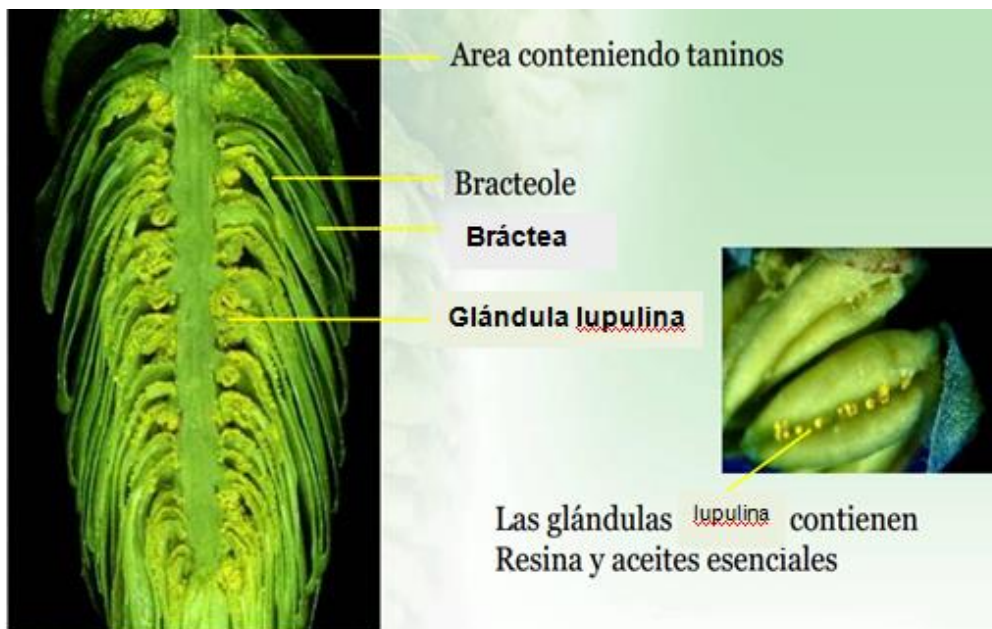
Únicamente las flores femeninas poseen los amentos en cuyas bractéolas se forma la lupulina. Estos pequeños gránulos son el objetivo de todos los esfuerzos del cultivador: son los portadores de las sustancias amargas, los aceites aromáticos cuya acción conjunta dotan a la cerveza de su carácter y sabor peculiar.

Figura 2. **Planta de lúpulo**



Fuente: *Hop acids natural antibacterials*. <<http://208.106.231.12/literature/files/AbstractHopProductsSugarIndustry.pdf>> Consulta: 20 de octubre de 2013.

Figura 3. **Cono del lúpulo (flor de lúpulo)**

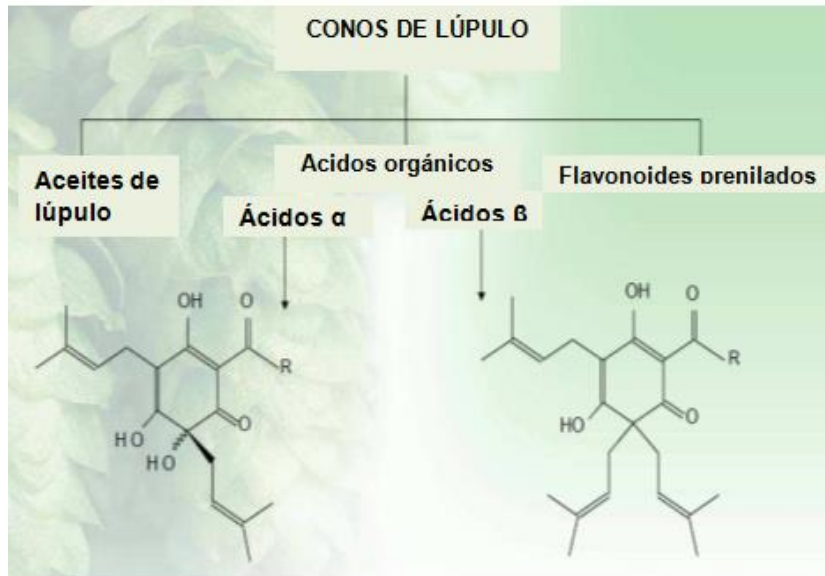


Fuente: *Hop acids natural antibacterials*. <<http://208.106.231.12/literature/files/Abstract Hop Products Sugar Industry.pdf>>Consulta: 20 de octubre de 2013.

2.6.1. **Lúpulo como antibacteriano**

Las propiedades antibacterianas de los compuestos de lúpulo se debe a su capacidad de actuar como ionóforos, estos disipan el gradiente de pH a través de la membrana de las bacterias (interrumpen la producción de energía y la absorción de nutrientes). Las formas no dissociadas de compuestos de lúpulo son antibacterianos, formas ionizadas tienen poca actividad.

Figura 4. **Ácidos del lúpulo (componentes de carácter preservante)**

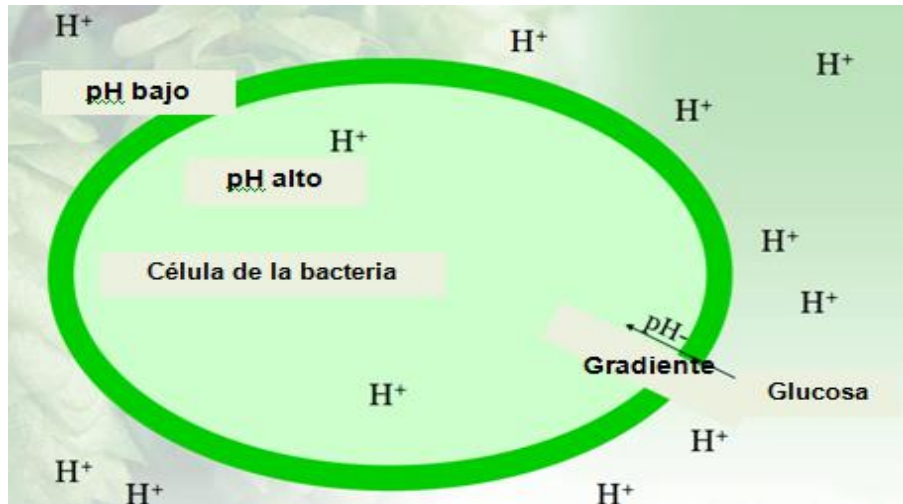


Fuente: *Hop acids natural antibacterials*. <[http://208.106.231.12/literature/files/Abstract Hop Products Sugar Industry.pdf](http://208.106.231.12/literature/files/Abstract%20Hop%20Products%20Sugar%20Industry.pdf)>Consulta: 20 de octubre de 2013.

2.6.2. El uso de los ácidos del lúpulo en la producción de etanol

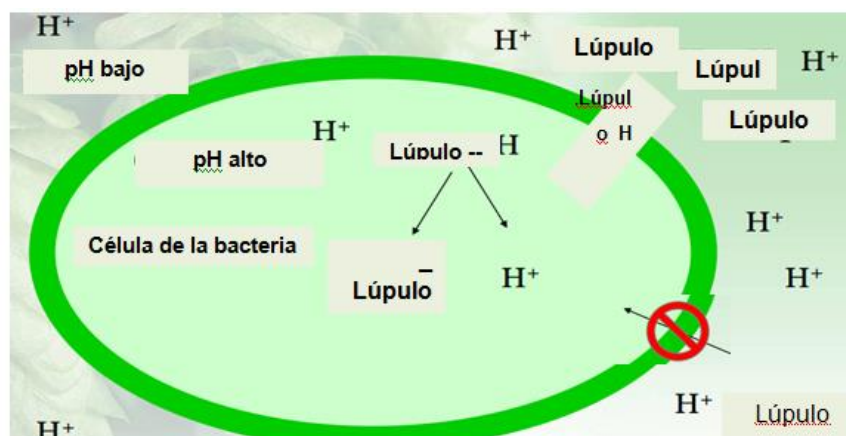
- Puede reemplazar a los antibióticos para el control de la infección y ayudar a prevenir las pérdidas en la producción de etanol.
- Inhibe la formación de ácido láctico y ácido acético a niveles de ppm.

Figura 5. Efecto inhibitor de los ácidos del lúpulo. Parte 1



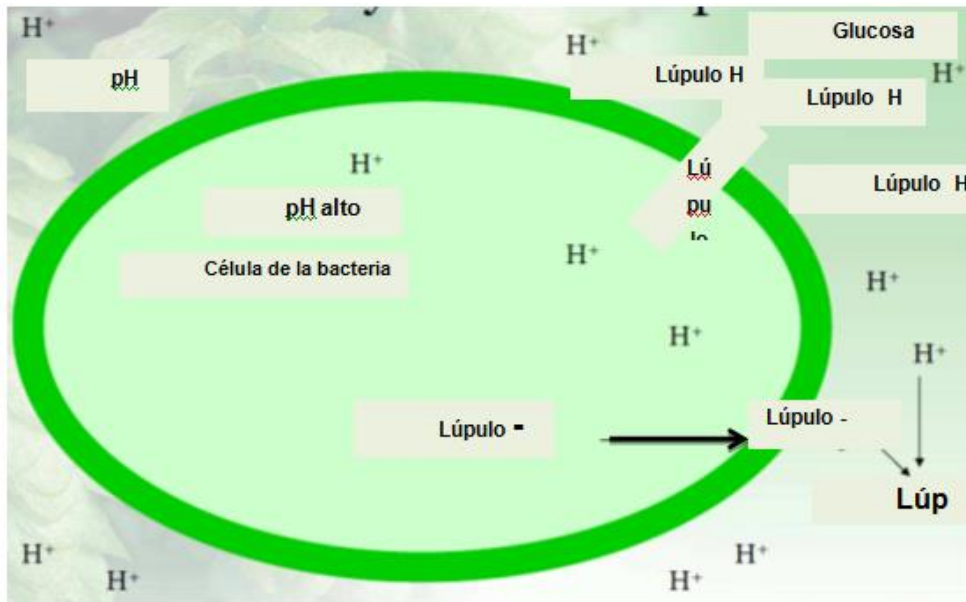
Fuente: Hop acids natural antibacterials. <<http://208.106.231.12/literature/files/Abstract Hop ProductsSugar Industry.pdf>> Consulta: 20 de octubre de 2013.

Figura 6. Efecto inhibitor de los ácidos del lúpulo. Parte 2



Fuente: Hop acids natural antibacterials. <<http://208.106.231.12/literature/files/Abstract Hop ProductsSugar Industry.pdf>> Consulta: 20 de octubre de 2013.

Figura 7. Efecto inhibidor de los ácidos del lúpulo. Parte 3



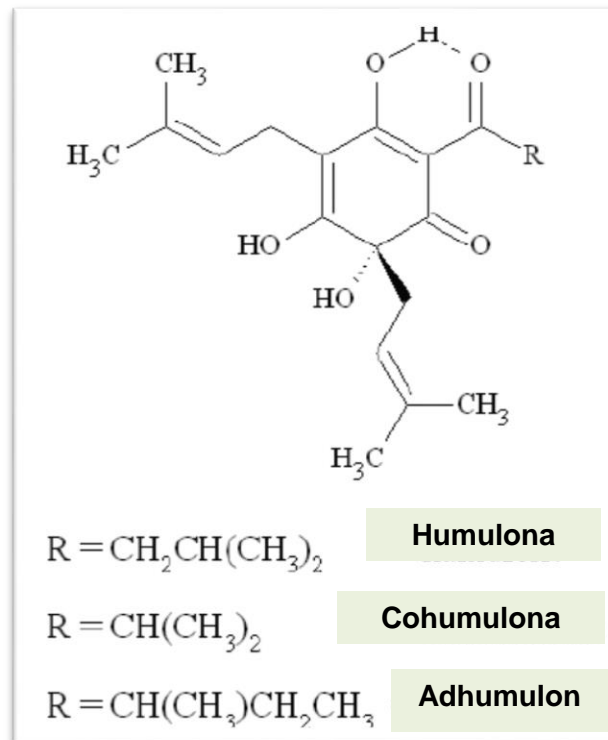
Fuente: Hop acids natural antibacterials. <[http://208.106.231.12/literature/files/AbstractHopProducts Sugar Industry.pdf](http://208.106.231.12/literature/files/AbstractHopProductsSugarIndustry.pdf)>Consulta: 20 de octubre de 2013.

2.7. Ácidos alfa

Humulonas, también conocida como ácidos alfa, son metabolitos secundarios que solo se encuentran en la fracción de resina suave de los contenidos de las glándulas de lupulina de conos de lúpulo y si una planta contiene estos ácidos, es clasificada como una planta del lúpulo. La porción de ácido alfa de la resina se compone de adhumulone alrededor del 15 por ciento, 20-50 por ciento cohumulona, y 20-50 por ciento humulona con las cantidades de cohumulona y adhumulone variando por variedad de lúpulo. Los ácidos alfa son sin duda los componentes más importantes para la fabricación de cerveza. Aunque los ácidos alfa no son amargos por sí mismos, son térmicamente isomerizados durante el punto de ebullición de fabricación de la cerveza, para

producir intensamente amargo isomerización por isomerización de los ácidos alfa, los cuales ayudan a equilibrar la dulzura y la acidez de la malta. Los ácidos alfa también se sabe que poseen cualidades bacteriostáticas que es probable que debido a la cadena lateral prenil, interfieran con la membrana plasmática de la célula de las bacterias Gram-positivas.

Figura 8. **Estructura química del ácido alfa**



Fuente: *Hop acids natural antibacterials*. <[http://208.106.231.12/literature/files/AbstractHopProducts Sugar Industry.pdf](http://208.106.231.12/literature/files/AbstractHopProductsSugarIndustry.pdf)>Consulta: 20 de octubre de 2013.

2.8. Ácidos beta

Ácidos beta, como los ácidos alfa son taxonómicamente considerados como metabolitos secundarios de la resina suave, de los contenidos de

las glándulas de lupulina de conos de lúpulo. La presencia de tres prenil parte de las cadenas que los ácidos beta bacteriostático. Los ácidos beta no son amargos, y aunque no isomerizan apreciablemente durante la fase de hervor del proceso de producción de cerveza, se oxidan fácilmente a hulupulones, que imparten la amargura no deseada a la cerveza. Aunque los ácidos beta no tienen mucha importancia para la elaboración de la cerveza.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Variables

Para realizar la presente investigación y el cumplimiento de los objetivos de la misma, realizando el análisis y comparación del proceso de fermentación bajo condiciones de inicio con y sin el uso de lúpulo, es necesario tomar en cuenta las siguientes variables:

Tabla I. **Variables de control independientes**

Número	Nombre	Variable dimensional	Descripción
1	Lúpulo	Kg	Cantidad de lúpulo utilizado
2	Temperatura	°C	Temperatura del proceso
3	°Bx	°Bx	Grado brix inicial del proceso
	PH	pHo	Potencial de hidrógeno inicial en la muestra a analizar.

Fuente: elaboración propia.

Tabla II. **Variables de control dependientes**

Núm.	Nombre	Variable dimensional	Descripción
1	°Bx	°Bx _f	Grado brix final del proceso.
2	pH	pH _f	Potencial de hidrógeno final en la muestra a analizar.
3	Grado de alcohol	% vol.	Grado de alcohol al final del proceso (°Gay Lussac).
4	Acidez láctica	mL/100mL	Acidez láctica formada durante el proceso de fermentación y días posteriores a la misma.

Fuente: elaboración propia.

3.2. Delimitación y campo de estudio

En la siguiente tabla se describe el campo de estudio de la presente investigación.

Tabla III. **Delimitación y campo de estudio**

Pregrado	Ingeniería Química
Área o industria de aplicación	Bioingeniería y Microbiología. Industria licorera (fermentación).
Ubicación	San Andrés Villa Seca, Retalhuleu. Destilería. Clima cálido, 455 metros sobre el nivel del mar

Continuación de la tabla III.

Orientación	Realizar análisis al mosto fermentado y con los resultados obtenidos Evaluar el impacto del uso de lúpulo como agente bactericida en el proceso de fermentación alcohólica.
Selección de muestra	Tomar muestras de mosto fermentado para posteriores análisis de contaminación bacteriana, recuento de levadura, ácido láctico formado y pH. Al finalizar el proceso de fermentación.

Fuente: elaboración propia.

3.3. Recursos humanos disponibles

Investigador: Yessenia Roxana Tzarax Díaz

Asesor: Inga. Qca. Hilda Piedad Palma de Martini

3.4. Recursos materiales disponibles (equipo, cristalería, reactivos)

Materiales y equipo.

Tabla IV. **Materiales**

Número	Descripción
1.	Papel blanco tamaño carta
2.	Bolígrafos
3.	Casco
4.	Bata
5.	Computadora portátil
6.	Cuadernos de notas
7.	Marcadores permanentes
8.	Botiquín para emergencias
9.	Cámara fotográfica
10.	Zapatos industriales
11.	Guantes de látex
12.	Redecilla para el cabello

Fuente: elaboración propia.

Tabla V. **Cristalería**

1	Tubos de ensayo
2	Beackers 100 mL
3	Probeta de 100 mL
4	Pipeta 10 mL
5	Embudo
6	Erlenmeyer 100 mL
7	Balones de 100 mL
8	Recipientes toma muestras

Fuente: elaboración propia.

Tabla VI. **Equipo**

1	pHmetro
2	Hidrómetro
3	Reflectómetro RQ flex 10
4	Densímetro

Fuente: elaboración propia.

- Técnica cuantitativa

El método de análisis de ácido láctico se realizará al finalizar el proceso de fermentación, tomando muestras de mosto fermentado, diluyéndolo. Se tomará 1 mL de la muestra a analizar y se aforará en un balón de 100 mL con agua desmineralizada y se analizará en el reflectómetro RQ flex 10. Además se realizarán análisis de contaminación bacteriana antes y después del proceso de fermentación, tomando una muestra de 10 mL de mosto y se aforará en un balón de 100 mL con agua desmineralizada, luego se tomará 1 mL de dicha solución, más 1 mL de azul de metileno 0,01 por ciento.

3.5. Recolección y ordenamiento de la información

La información, se recopilará gracias al apoyo de una empresa privada dedicada a la producción de etanol, las pruebas se llevarán a cabo en el laboratorio de la misma. Con los datos recopilados, se procederá a realizar comparaciones entre el proceso de fermentación con y sin la adición de lúpulo.

3.5.1. Procedimiento

Se realizarán pruebas al inicio de la fermentación (vino a fermentar: agua, melaza y nutrientes) así como en la solución ya fermentada.

- pH
Se medirá el pH de la solución, con un potenciómetro, al final del proceso de fermentación. La solución se depositará en un beacker de 100 mL y ahí se introducirá el potenciómetro para tomar la lectura respectiva.
- °Brix
Se medirá los grados Brix de la solución con un hidrómetro, al inicio del proceso de fermentación. La solución se depositará en una probeta (100 mL) y ahí se introducirá el hidrómetro.
- Acidez láctica
Se tomará 1 mL de la muestra a analizar y se aforará en un balón de 100 mL con agua desmineralizada, luego se calibrará el reflectómetro RQ flex 10, se introducirá una de las tiras de *test* en el reflectómetro para que la reconozca el aparato. Posteriormente se colocará la solución del balón en un beacker, se introducirá la tira de *test* y se contará un minuto a partir de ello, se retirará la tira del beacker, se le quitará el exceso de solución en la misma y se introducirá al reflectómetro para que el mismo pueda dar la lectura de ácido láctico en la solución analizada.

Esto se realizará en el vino (jugo de melaza, agua y nutrientes) al iniciode la fermentación, asimismo en el mosto fermentado (al final del proceso de fermentación).

- Recuento celular de levadura y contaminación bacteriana

Se tomará una muestra de 10 mL de mosto fermentado y se aforará en un balón de 100 ml con agua desmineralizada, luego se tomará 1 mL de dicha solución, más 1 ml de azul de metileno 0,01 por ciento y homogenizarlo en un tubo de ensayo, de esta forma se teñirá las células muertas de levadura, de esta mezcla tomar una gota con una pipeta de 1 ml y colocarla en una placa de cristal (Cámara de Neubauer) distinguiendo así las levaduras vivas de las muertas. Se colocará al microscopio NIKON modelo Alphaphoto YS. Se procede a hacer el recuento de las levaduras vivas y muertas, se obtiene el análisis cuantitativo de levaduras, además del recuento de la contaminación bacteriana (*Pediococcus* y *Lactobacillus*).

- Grado de alcohol Gay Lussac (% vol.)

Se tomará una muestra de 100 mL, se colocará a destilar, luego la muestra destilada (100 mL) y se inyectará en el densímetro digital, el cual proporcionará la lectura del grado alcohólico con que la muestra de mosto fermentado y destilado, tiene al finalizar el proceso de fermentación alcohólica.

3.6. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

En el laboratorio se obtienen los datos de contaminación bacteriana, pH, recuento y viabilidad de levadura, grado de alcohol y ácido láctico presente en las pruebas a fermentadores con y sin lúpulo, al inicio y final del proceso de fermentación. Los cuales se presentan tabulados de la siguiente manera:

Tabla VII. **Contaminación total al final del proceso de fermentación**

Número de prueba	Contaminación sin Lúpulo	Contaminación con Lúpulo

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla VIII. **pH inicial en el proceso de fermentación con y sin lúpulo**

Núm. de prueba	pH _o sin Lúpulo	pH _o con Lúpulo

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla IX. **pH_f final del proceso de fermentación con y sin lúpulo**

Núm. de prueba	pH _f sin Lúpulo	pH _f con Lúpulo

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla X. **Recuento de levadura y contaminación bacteriana al final del proceso de fermentación (fermentadores sin lúpulo)**

Núm. de prueba	Vivas	Muertas	Viabilidad (porcentaje)	Cocos	Bastones	Contaminación

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla XI. **Recuento de levadura y contaminación bacteriana al final del proceso de fermentación (fermentadores con lúpulo)**

Núm. de prueba	Vivas	Muertas	Viabilidad (porcentaje)	Cocos	Bastones	Contaminación

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla XII. **Viabilidad de levadura al inicio del proceso de fermentación con y sin lúpulo**

Núm. de prueba	Viabilidad sin Lúpulo (porcentaje)	Viabilidad con Lúpulo (porcentaje)

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla XIII. **Viabilidad de levadura al final del proceso de fermentación con y sin lúpulo**

Núm. de prueba	Viabilidad sin Lúpulo (porcentaje)	Viabilidad con Lúpulo (porcentaje)

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla XIV. **Grado de alcohol al final del proceso de fermentación en fermentadores con y sin lúpulo**

Núm. de prueba	Grado de alcohol sin Lúpulo	Grado de alcohol con Lúpulo

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla XV. **Ácido láctico al inicio y final del proceso de fermentación en fermentadores con lúpulo**

Día de dosificación	Ácido láctico al inicio (miligramo por litro)	Ácido láctico al final (miligramo por litro)

Fuente: pruebas de laboratorio.

3.6.1. Procedimiento para la recopilación, análisis y comparación de datos

Para la elaboración de la presente investigación, se contará con el apoyo de una empresa privada dedicada a la producción de alcohol por medio de fermentación, utilizando melaza como sustrato para el proceso de fermentación. Recopilando así los datos necesarios para llevar a cabo el cumplimiento de los objetivos general y específicos.

Los datos obtenidos se ordenarán y graficarán para mostrar las comparaciones pertinentes, y posteriormente analizarlos y demostrar si representan algún beneficio el uso de lúpulo como agente bactericida dentro del proceso de fermentación versus el mismo proceso, bajo iguales condiciones de operación pero sin lúpulo.

3.6.2. Análisis estadístico

Promedio estadístico

El promedio (\bar{a}), será útil para poder encontrar un dato representativo para las variables en cada medición.

$$\bar{a} = \frac{\sum_i^n a_i}{n} = \frac{a_1 + a_2 + \dots + a_n}{n}$$

Donde:

\bar{a} : Valor promedio

a_i : Valor i

n : Número de datos

Desviación estándar

La desviación estándar σ es la raíz cuadrada de la media de los cuadrados de las puntuaciones de desviación. Es una medida de dispersión, que indica cuánto pueden alejarse los valores respecto al promedio (media), por lo tanto es útil para buscar probabilidades.

$$\sigma = \sqrt{\frac{(X_1 - X_M)^2 + (X_2 - X_M)^2 + \dots + (X_n - X_M)^2}{N}}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - X_M)^2}{N}}$$

Donde:

σ = desviación estándar

X_1 = dato número 1

X_2 = dato número 2

X_n = dato enésimo

X_M = dato promedio

X_i = dato "i", cualquier dato que esté entre 0 y N

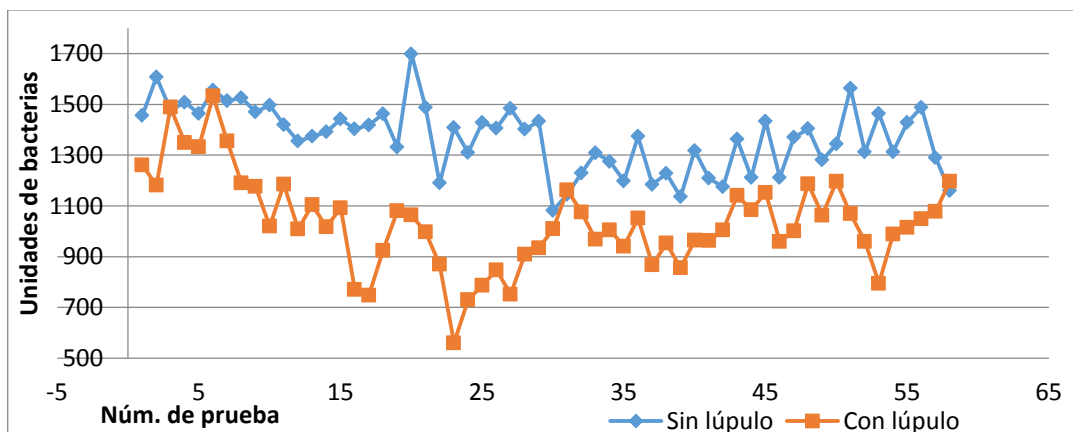
N = número de datos

Σ = sumatoria

4. RESULTADOS

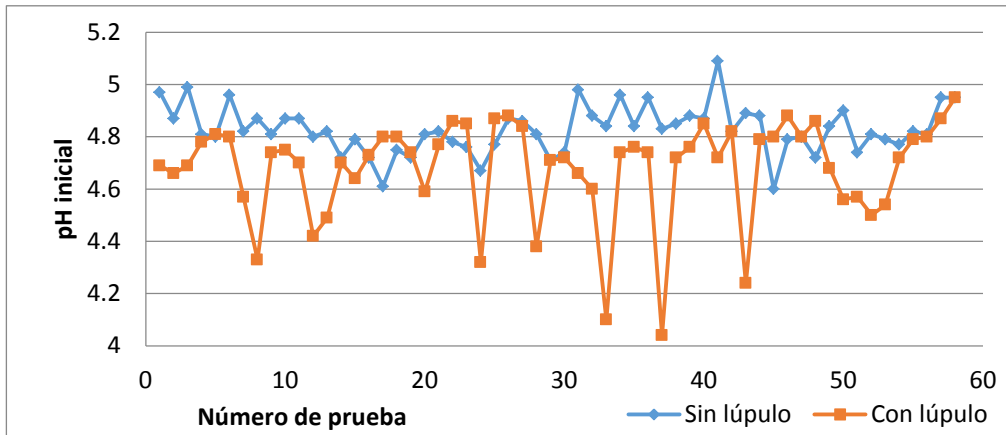
Se muestran los resultados comparativos entre fermentadores con y sin lúpulo de las pruebas realizadas (contaminación bacteriana, pH, viabilidad de levadura, grado Gay Lussac y ácido láctico) al inicio y final del proceso de fermentación.

Figura 9. Contaminación bacteriana al final del proceso de fermentación



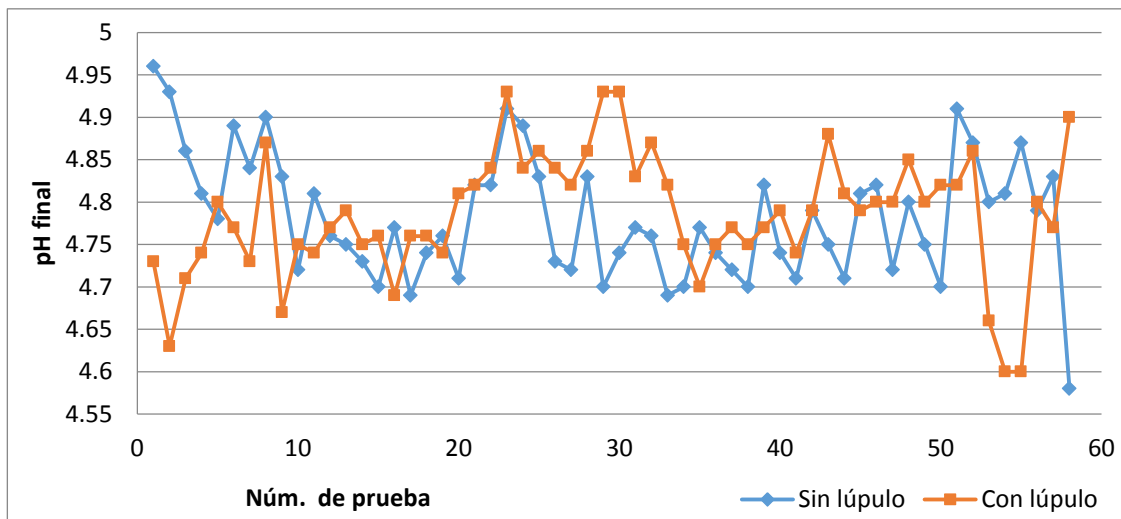
Fuente: pruebas de laboratorio.

Figura 10. pH inicial en el proceso de fermentación



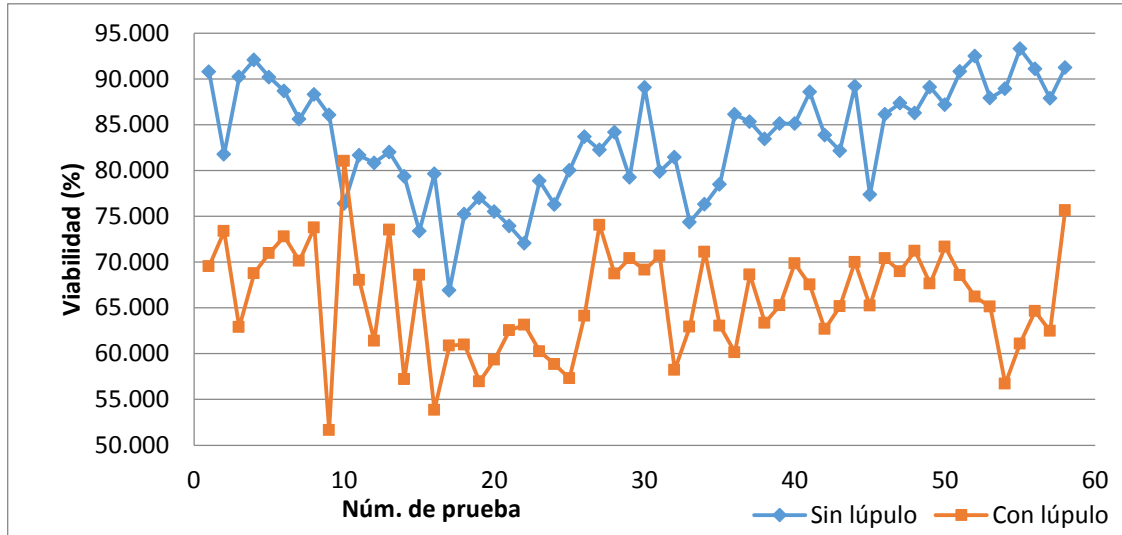
Fuente: pruebas de laboratorio.

Figura 11. pH al final del proceso de fermentación



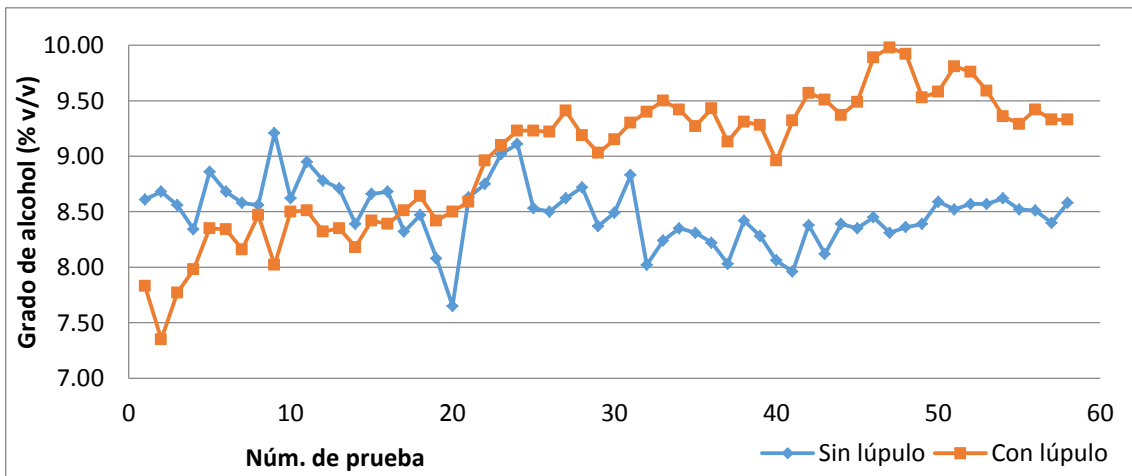
Fuente: pruebas de laboratorio.

Figura 12. Viabilidad de levadura al final del proceso de fermentación



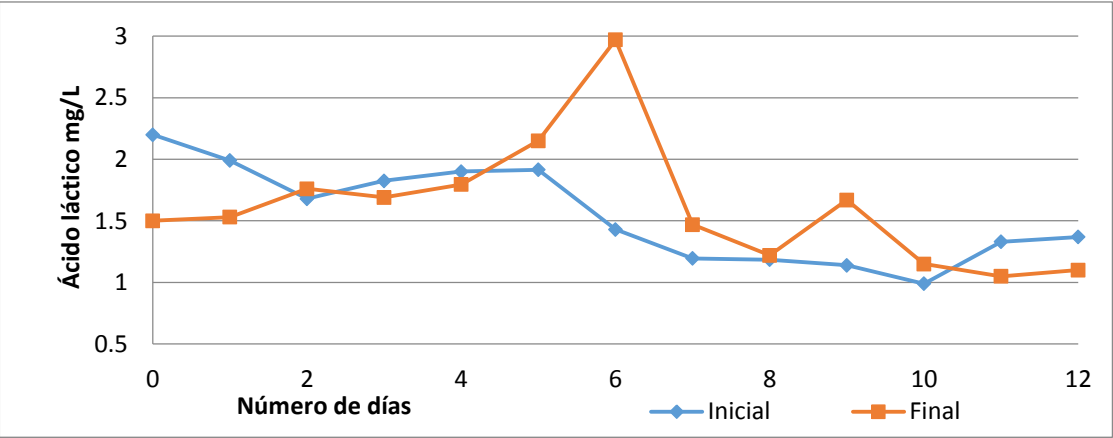
Fuente: pruebas de laboratorio.

Figura 13. Grado de alcohol Gay Lussac (porcentaje volumen) al final del proceso de fermentación



Fuente: pruebas de laboratorio.

Figura 14. **Ácido láctico al inicio y final del proceso de fermentación en fermentadores con lúpulo**



Fuente: pruebas de laboratorio.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se pudo observar que el lúpulo actúa como agente bactericida y que las funciones inhibidoras de los ácidos alfa y beta se dan sobre las bacterias gram positivas (*Lactobacillus* y *Pediococcus*), disminuyendo la contaminación microbiana. Y mejor aun, no es dañino para consumo humano ya que está aprobado por la FDA. Para obtener el resultado de la contaminación bacteriana, se contabilizó la cantidad de *Lactobacillus* y *Pediococcus* presentes en cada prueba realizada al final del proceso de fermentación, en fermentadores con y sin la presencia de lúpulo, sumando ambos datos, luego de realizar todas las pruebas correspondientes, se obtuvo el promedio de contaminación bacteriana.

Al realizar la diferencia porcentual de la contaminación bacteriana entre muestras con y sin lúpulo, se determinó que esta se inhibe en un 24,2 por ciento, lo cual evita que estos microorganismos no deseados, compitan con la levadura por el alimento (glucosa), así como también se evita un aumento en la producción de ácido láctico en lugar de etanol que es el producto deseado, afectando así la producción eficiente del mismo.

Además podría sustituirse la aplicación de antibióticos o bactericidas químicos dentro el proceso por biocidas de origen natural, ya que los microorganismos se hacen resistentes a los antibióticos, requiriendo en cada aplicación mayores dosis, para este caso, ácido sulfúrico, evitando también la muerte de levadura por el elevado nivel de acidez.

La levadura muere en medios muy ácidos, pero al realizar las pruebas de pH con el potenciómetro a la materia prima (inicio del proceso) y al mosto

fermentado (final del proceso de fermentación) se pudo observar que este, al final del proceso, no varía en las pruebas realizadas con y sin lúpulo, aunque al inicio exista una pequeña variación, esta se ajusta a medida que el proceso de fermentación va transcurriendo, hasta que al final del mismo ambos pH muestran diferencias casi insignificantes uno con el otro.

El lúpulo, aunque actúa como bactericida, inhibiendo microorganismos no deseados (*Lactobacillus* y *Pediococcus*), también afecta la viabilidad de la levadura. Esto puede observarse en la viabilidad obtenida dentro de las pruebas, realizándose un recuento de levadura viva y muerta al final del proceso con y sin la presencia de lúpulo, luego se obtuvo la viabilidad de la misma por medio del cociente de la levadura viva entre la sumatoria de levadura viva y muerta afectado por el 100 por ciento, obteniéndose así un porcentaje de la viabilidad de la levadura, notándose un descenso de 17,6 puntos porcentuales en la viabilidad con una diferencia en la desviación estándar de $\pm 0,14$ unidades.

Lo que refleja que el lúpulo además de inhibir microorganismos perjudiciales, como procedimiento útil dentro del proceso, afecta la viabilidad de la levadura matándola y afectando los medios necesarios para que esta se desarrolle adecuadamente, disminuyendo así la posibilidad de que la misma pueda ser reutilizada, por lo que tendría que agregarse levadura nueva al proceso de fermentación en cada fermentador con mayor frecuencia, lo que aumentaría los costos de producción. Aunque el bactericida utilizado es ácido sulfúrico, este también influye en la disminución de la viabilidad de levadura, ya que siendo un ácido fuerte, elimina no solo las bacterias gram positivas, sino también mata la levadura.

Respecto al grado de alcohol (grados Gay Lussac en % V/V), se tomó al final del proceso de fermentación, destilando muestras de mosto fermentado para determinar el grado obtenido al finalizar el proceso, observándose que este aumenta en 0,5 grados Gay Lussac, como puede observarse en la tabla A7. del apéndice, lo que es favorable para el proceso, ya que se obtiene mayor concentración de alcohol cuando hay presencia de lúpulo, por lo que es beneficioso en la producción del mismo, aunque cabe notar que solamente se realizaron pruebas para obtener el grado de alcohol al finalizar el proceso de fermentación, dado que si el uso de lúpulo dentro del proceso podría disminuir el tiempo total de fermentación, lo que significaría un ahorro en costos.

La formación de ácido láctico disminuye con la presencia de lúpulo, otro dato que es beneficioso dentro del proceso de producción de etanol, a través de la fermentación, razón por la cual el grado de alcohol aumenta, puesto que la producción de ácido láctico es inversamente proporcional a la producción de etanol. Si hay un aumento en la formación de ácido láctico, la concentración de alcohol disminuiría y podría verse afectada la calidad del mismo, ya que produciría un desbalance o aumento de congéneres no deseados, alterando la propiedades organolépticas finales del mismo.

Otro factor por el cual, el aumento de ácido láctico producido afecta dentro el proceso de fermentación es que podría prolongar el tiempo de fermentación, siendo este un aspecto desfavorable ya que aumentaría el consumo de todos los insumos necesarios para que dicho proceso se lleve a cabo, reflejándose esto en los costos de producción.

Además pudo observarse que el efecto del lúpulo dura 11 días, tomando como día 0 el día de la dosificación. Por lo que al llegar al día 11, se puede

notar un aumento en la cantidad de ácido láctico formado, lo que sugeriría una nueva dosificación de lúpulo.

CONCLUSIONES

1. El lúpulo actúa como agente bactericida ya que disminuye la contaminación microbiana, inhibiéndola para este caso en un 24,2 por ciento.
2. La presencia del lúpulo en el proceso de fermentación no tiene influencia en el pH, ya que el pH inicial de las muestras a fermentar disminuye. Caso contrario en el pH final, que únicamente presenta una variación de 0,01 unidades de pH.
3. El lúpulo afecta directamente la viabilidad de la levadura, ya que la disminuye en 17,6 puntos porcentuales.
4. La presencia de lúpulo aumenta el grado de alcohol obtenido en el proceso de fermentación en 0,5 grados Gay Lussac.
5. La formación de ácido láctico disminuye con la presencia de lúpulo dentro del proceso de fermentación, donde el promedio del ácido láctico al final con lúpulo es 0,07 mg/L más que en las pruebas realizadas sin la presencia de lúpulo.
6. El efecto del lúpulo como agente bactericida tiene una duración de 11 días.

RECOMENDACIONES

1. Efectuar un análisis económico costo - beneficio para agregar lúpulo al proceso de fermentación alcohólica.
2. Realizar todas las pruebas de laboratorio, incluyendo destilación de mosto fermentado a intervalos de corto tiempo, para obtener el grado de alcohol y observar cuánto tiempo de fermentación es necesario para obtener el grado de alcohol deseado, haciendo notar si disminuye el tiempo total de fermentación y el comportamiento de todas las variables en el mismo.
3. Determinar por medio de pruebas cromatográficas la concentración de congéneres para observar si se dan cambios en la concentración de alcohol y el comportamiento de cada uno de los congéneres, determinando si la calidad de alcohol producido varía o mejora de alguna forma.

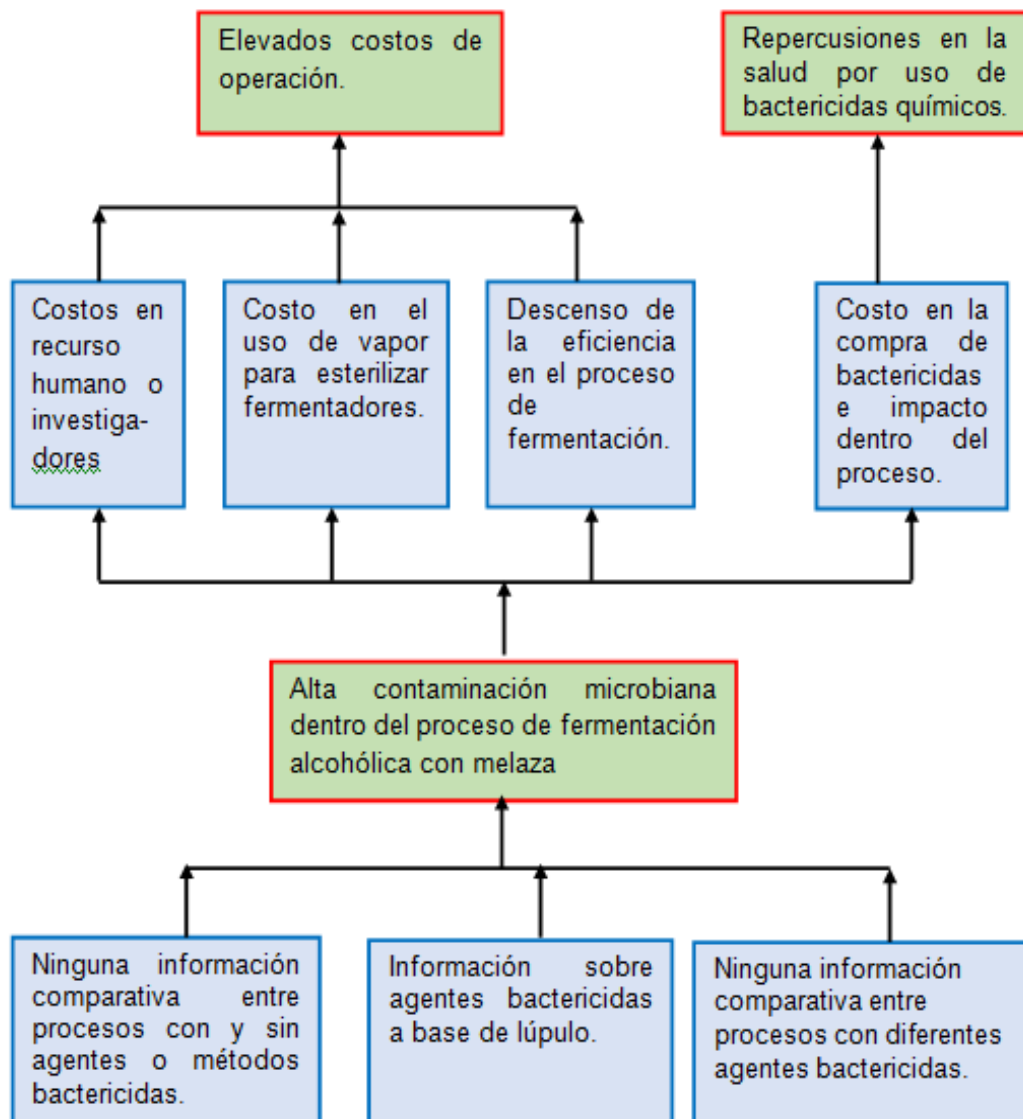
BIBLIOGRAFÍA

1. *Hop acids natural antibacterials*. [en línea]. <[http://208.106.231.12/literature/files/Abstract Hop Products Sugar Industry.pdf](http://208.106.231.12/literature/files/Abstract_Hop_Products_Sugar_Industry.pdf)>. [Consulta: 20 de octubre de 2013].
2. JACQUES, K. *The alcohol textbook*. 3rd ed. USA: Jacques Lyons Kelsall, 1999. 533 p.
3. KOLPIN, Kathryn M. *Human bitterness detection thresholds of hops acids in beer and honey*. USA: Oregon State University, 2009. 83 p.
4. *Manual de etanol Madre Tierra*. [en línea]. <<http://es.journeytoforever.org/biocombustibles/manual-etanol-madre-tierra/manual-etanol-1.cgi>>. [Consulta: 20 de octubre de 2013].
5. MONTEJO PERALTA, Silvia Pamela. *Efecto de las variables de fermentación en la formación de compuestos congénicos en el proceso de producción de ron pesado de miel virgen y melaza a nivel laboratorio*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 2010. 113 p.
6. *Plant components as technical auxiliaries*. [en línea]. <[http://208.106.231.12/literature/files/Plant components as technical auxiliaries.pdf](http://208.106.231.12/literature/files/Plant_components_as_technical_auxileries.pdf)>. [Consulta: 20 de octubre de 2013].

7. PRESCOTT, Samuel Cate. *Microbiología industrial*. 2a ed. Madrid: Aguilar Ediciones, 1952. 1236 p.
8. *Processing of and novel industrial applications for hop compounds*. [en línea]. <[http://208.106.231.12/literature/files/Presentation Life Sciences Gehrig Baczynski.pdf](http://208.106.231.12/literature/files/Presentation_Life_Sciences_Gehrig_Baczynski.pdf)>. [Consulta: 20 de octubre de 2013].
9. UNDERKOFILER, Leland A. *Industrial fermentation*. Vol I. USA: Chemical Publishing Co., 1954. 565 p.
10. VANEGAS, Maria Consuelo. *Aislamiento e identificación de Lactobacillus contaminantes en una planta colombiana de fermentación alcohólica*. Bogotá, Colombia: Universidad de los Andes, 2009. 172 p.

APÉNDICE

Figura I. ÁRBOL DE PROBLEMAS



Fuente: elaboración propia.

TABLAS DE DATOS ORIGINALES

Tabla A1. **Contaminación total al final del proceso de fermentación**

Núm. de prueba	Contaminación sin Lúpulo (UFC)	Contaminación con Lúpulo (UFC)	Núm. de prueba	Contaminación sin Lúpulo (UFC)	Contaminación con Lúpulo (UFC)
1	1456	1261	30	1082	1010
2	1608	1181	31	1145	1162
3	1479	1489	32	1229	1076
4	1508	1349	33	1309	969
5	1464	1333	34	1275	1005
6	1556	1533	35	1198	941
7	1514	1356	36	1374	1051
8	1526	1190	37	1184	868
9	1470	1176	38	1228	953
10	1497	1020	39	1136	856
11	1420	1185	40	1318	964
12	1355	1009	41	1209	963
13	1374	1104	42	1175	1005
14	1392	1017	43	1363	1141
15	1442	1092	44	1212	1085
16	1403	770	45	1433	1152
17	1419	748	46	1212	960
18	1462	924	47	1370	1001
19	1332	1080	48	1404	1187
20	1699	1064	49	1281	1063
21	1488	997	50	1344	1196
22	1190	870	51	1564	1069
23	1408	560	52	1312	960
24	1310	730	53	1464	795
25	1428	787	54	1313	988
26	1406	847	55	1428	1015
27	1484	752	56	1488	1049
28	1402	909	57	1290	1078
29	1433	934	58	1160	1196
			Prom.	1369	1035
			DE	130,46	182,59

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla A2. pH inicial en el proceso de fermentación

Núm. de prueba	pHo sin Lúpulo	pHo con Lúpulo	Núm. de prueba	pHo sin Lúpulo	pHo con Lúpulo
1	4,97	4,69	30	4,74	4,72
2	4,87	4,66	31	4,98	4,66
3	4,99	4,69	32	4,88	4,60
4	4,81	4,78	33	4,84	4,10
5	4,80	4,81	34	4,96	4,74
6	4,96	4,80	35	4,84	4,76
7	4,82	4,57	36	4,95	4,74
8	4,87	4,33	37	4,83	4,04
9	4,81	4,74	38	4,85	4,72
10	4,87	4,75	39	4,88	4,76
11	4,87	4,70	40	4,87	4,85
12	4,80	4,42	41	5,09	4,72
13	4,82	4,49	42	4,82	4,82
14	4,72	4,70	43	4,89	4,24
15	4,79	4,64	44	4,88	4,79
16	4,72	4,73	45	4,60	4,80
17	4,61	4,80	46	4,79	4,88
18	4,75	4,80	47	4,80	4,80
19	4,72	4,74	48	4,72	4,86
20	4,81	4,59	49	4,84	4,68
21	4,82	4,77	50	4,90	4,56
22	4,78	4,86	51	4,74	4,57
23	4,76	4,85	52	4,81	4,50
24	4,67	4,32	53	4,79	4,54
25	4,77	4,87	54	4,77	4,72
26	4,87	4,88	55	4,82	4,79
27	4,86	4,84	56	4,81	4,80
28	4,81	4,38	57	4,95	4,87
29	4,71	4,71	58	4,95	4,95
			Prom.	4,83	4,68
			DE	0,09	0,19

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla A3. pH al final del proceso de fermentación

Núm. de prueba	pHf sin Lúpulo	pHf con Lúpulo	Núm. de prueba	pHf sin Lúpulo	pHf con Lúpulo
1	4,96	4,73	30	4,74	4,93
2	4,93	4,63	31	4,77	4,83
3	4,86	4,71	32	4,76	4,87
4	4,81	4,74	33	4,69	4,82
5	4,78	4,80	34	4,70	4,75
6	4,89	4,77	35	4,77	4,70
7	4,84	4,73	36	4,74	4,75
8	4,90	4,87	37	4,72	4,77
9	4,83	4,67	38	4,70	4,75
10	4,72	4,75	39	4,82	4,77
11	4,81	4,74	40	4,74	4,79
12	4,76	4,77	41	4,71	4,74
13	4,75	4,79	42	4,79	4,79
14	4,73	4,75	43	4,75	4,88
15	4,70	4,76	44	4,71	4,81
16	4,77	4,69	45	4,81	4,79
17	4,69	4,76	46	4,82	4,80
18	4,74	4,76	47	4,72	4,80
19	4,76	4,74	48	4,80	4,85
20	4,71	4,81	49	4,75	4,80
21	4,82	4,82	50	4,70	4,82
22	4,82	4,84	51	4,91	4,82
23	4,91	4,93	52	4,87	4,86
24	4,89	4,84	53	4,80	4,66
25	4,83	4,86	54	4,81	4,60
26	4,73	4,84	55	4,87	4,60
27	4,72	4,82	56	4,79	4,80
28	4,83	4,86	57	4,83	4,77
29	4,70	4,93	58	4,58	4,90
			Prom.	4,78	4,79
			DE	0,07	0,07

Fuente: Pruebas de laboratorio.

Tabla A4. **Recuento de levadura y contaminación bacteriana al final del proceso de fermentación sin lúpulo.**

Núm.de prueba	Vivas	Muertas	Viabilidad (porcentaje)	Cocos	Bastones	Contaminación
1	187	19	90,777	1231	225	1456
2	350	78	81,776	1286	322	1608
3	129	14	90,210	1192	287	1479
4	221	19	92,083	1207	301	1508
5	184	20	90,196	1176	288	1464
6	141	18	88,679	1321	235	1556
7	226	38	85,606	1266	248	1514
8	98	13	88,288	1241	285	1526
9	136	22	86,076	1196	274	1470
10	139	43	76,374	1204	293	1497
11	178	40	81,651	1172	248	1420
12	156	37	80,829	1071	284	1355
13	146	32	82,022	1098	276	1374
14	173	45	79,358	1167	225	1392
15	248	90	73,373	1242	200	1442
16	215	55	79,630	1182	221	1403
17	184	91	66,909	1204	215	1419
18	76	25	75,248	1252	210	1462
19	154	46	77,000	1136	196	1332
20	148	48	75,510	1247	452	1699
21	156	55	73,934	1262	226	1488
22	165	64	72,052	1015	175	1190
23	179	48	78,855	1173	235	1408
24	148	46	76,289	1096	214	1310
25	140	35	80,000	1228	200	1428
26	164	32	83,673	1194	212	1406
27	176	38	82,243	1236	248	1484
28	245	46	84,192	1140	262	1402
29	187	49	79,237	1220	213	1433
30	253	31	89,085	850	232	1082

Fuente: pruebas de laboratorio.

Continuación de la tabla A4.

Núm. de Prueba	Vivas	Muertas	Viabilidad (porcentaje)	Cocos	Bastones	Contaminación
31	135	34	79,882	931	214	1145
32	193	44	81,435	972	257	1229
33	174	60	74,359	1086	223	1309
34	161	50	76,303	1034	241	1275
35	146	40	78,495	976	222	1198
36	211	34	86,122	1091	283	1374
37	337	58	85,316	942	242	1184
38	232	46	83,453	1024	204	1228
39	246	43	85,121	981	155	1136
40	560	98	85,106	1126	192	1318
41	279	36	88,571	995	214	1209
42	213	41	83,858	1005	170	1175
43	221	48	82,156	1131	232	1363
44	248	30	89,209	1008	204	1212
45	304	89	77,354	1130	303	1433
46	255	41	86,149	1028	184	1212
47	276	40	87,342	1076	294	1370
48	176	28	86,275	1133	271	1404
49	270	33	89,109	1031	250	1281
50	204	30	87,179	1096	248	1344
51	148	15	90,798	1304	260	1564
52	332	27	92,479	1104	208	1312
53	276	38	87,898	1236	228	1464
54	265	33	88,926	1076	237	1313
55	278	20	93,289	1164	264	1428
56	328	32	91,111	1202	286	1488
57	290	40	87,879	1073	217	1290
58	156	15	91,228	964	196	1160
Prom.	210,621	41,034	83,410	1 128,000	241,397	1 369,397
DE	78,130	19,180	6,020	106,83	46,440	130,460

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla A5. Recuento de levadura y contaminación bacteriana al final del proceso con lúpulo.

Núm. de prueba	Vivas	Muertas	Viabilidad (porcentaje)	Cocos	Bastones	Contaminación
1	137	60	69,543	1036	225	1261
2	124	45	73,373	992	189	1181
3	166	98	62,879	1225	264	1489
4	163	74	68,776	1134	215	1349
5	198	81	70,968	1083	250	1333
6	107	40	72,789	1315	218	1533
7	122	52	70,115	1127	229	1356
8	180	64	73,770	895	295	1190
9	109	102	51,659	936	240	1176
10	111	26	81,022	831	189	1020
11	132	62	68,041	915	270	1185
12	105	66	61,404	812	197	1009
13	161	58	73,516	904	200	1104
14	159	119	57,194	883	134	1017
15	142	65	68,599	910	182	1092
16	147	126	53,846	620	150	770
17	154	99	60,870	633	115	748
18	161	103	60,985	731	193	924
19	123	93	56,944	875	205	1080
20	143	98	59,336	904	160	1064
21	137	82	62,557	815	182	997
22	125	73	63,131	710	160	870
23	97	64	60,248	410	150	560
24	123	86	58,852	555	175	730
25	106	79	57,297	604	183	787
26	118	66	64,130	710	137	847
27	157	55	74,057	630	122	752
28	134	61	68,718	804	105	909
29	157	66	70,404	794	140	934
30	177	79	69,141	830	180	1010

Fuente: pruebas de laboratorio.

Continuación de la tabla A5.

Núm.de prueba	Vivas	Muertas	Viabilidad (porcentaje)	Cocos	Bastones	Contaminación
31	181	75	70,703	951	211	1162
32	177	127	58,224	861	215	1076
33	112	66	62,921	799	170	969
34	133	54	71,123	813	192	1005
35	157	92	63,052	731	210	941
36	169	112	60,142	863	188	1051
37	210	96	68,627	704	164	868
38	211	122	63,363	803	150	953
39	188	100	65,278	714	142	856
40	213	92	69,836	813	151	964
41	181	87	67,537	792	171	963
42	220	131	62,678	875	130	1005
43	129	69	65,152	941	200	1141
44	147	63	70,000	887	198	1085
45	152	81	65,236	937	215	1152
46	188	79	70,412	796	164	960
47	189	85	68,978	836	165	1001
48	287	116	71,216	972	215	1187
49	163	78	67,635	915	148	1063
50	205	81	71,678	991	205	1196
51	255	117	68,548	892	177	1069
52	237	121	66,201	792	168	960
53	140	75	65,116	680	115	795
54	186	142	56,707	798	190	988
55	215	137	61,080	818	197	1015
56	159	87	64,634	892	157	1049
57	218	131	62,464	863	215	1078
58	205	66	75,646	956	240	1196
Prom.	162,103	84,897	65,83	850,138	184,776	1034,914
DE	40,500	26,110	5,89	155,930	39,860	182,590

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla A6. Viabilidad de levadura al final del proceso de fermentación

Núm. de prueba	Sin Lúpulo (porcentaje)	Con Lúpulo (porcentaje)	Núm. de prueba	Sin Lúpulo (porcentaje)	Con Lúpulo (porcentaje)
1	90,777	69,543	30	89,085	69,141
2	81,776	73,373	31	79,882	70,703
3	90,210	62,879	32	81,435	58,224
4	92,083	68,776	33	74,359	62,921
5	90,196	70,968	34	76,303	71,123
6	88,679	72,789	35	78,495	63,052
7	85,606	70,115	36	86,122	60,142
8	88,288	73,770	37	85,316	68,627
9	86,076	51,659	38	83,453	63,363
10	76,374	81,022	39	85,121	65,278
11	81,651	68,041	40	85,106	69,836
12	80,829	61,404	41	88,571	67,537
13	82,022	73,516	42	83,858	62,678
14	79,358	57,194	43	82,156	65,152
15	73,373	68,599	44	89,209	70,000
16	79,630	53,846	45	77,354	65,236
17	66,909	60,870	46	86,149	70,412
18	75,248	60,985	47	87,342	68,978
19	77,000	56,944	48	86,275	71,216
20	75,510	59,336	49	89,109	67,635
21	73,934	62,557	50	87,179	71,678
22	72,052	63,131	51	90,798	68,548
23	78,855	60,248	52	92,479	66,201
24	76,289	58,852	53	87,898	65,116
25	80,000	57,297	54	88,926	56,707
26	83,673	64,130	55	93,289	61,080
27	82,243	74,057	56	91,111	64,634
28	84,192	68,718	57	87,879	62,464
29	79,237	70,404	58	91,228	75,646
			Prom	83,406	65,834
			DE	6,020	5,890

Fuente: pruebas de laboratorio.

Tabla A7. **Grado de alcohol al final del proceso de fermentación (Grados Gay Lussac, porcentaje volumen).**

Núm. de prueba	Sin lúpulo	Con lúpulo	Núm. de prueba	Sin lúpulo	Con lúpulo
1	8,610	7,830	30	8,490	9,150
2	8,680	7,350	31	8,830	9,300
3	8,560	7,770	32	8,020	9,400
4	8,340	7,980	33	8,240	9,500
5	8,860	8,350	34	8,350	9,420
6	8,680	8,340	35	8,310	9,270
7	8,580	8,160	36	8,220	9,430
8	8,560	8,470	37	8,030	9,130
9	9,210	8,020	38	8,420	9,310
10	8,620	8,500	39	8,280	9,280
11	8,950	8,510	40	8,060	8,960
12	8,780	8,320	41	7,960	9,320
13	8,710	8,350	42	8,380	9,570
14	8,390	8,180	43	8,120	9,510
15	8,660	8,420	44	8,390	9,370
16	8,680	8,390	45	8,350	9,490
17	8,320	8,510	46	8,450	9,890
18	8,470	8,640	47	8,310	9,980
19	8,080	8,420	48	8,360	9,920
20	7,650	8,500	49	8,390	9,530
21	8,630	8,590	50	8,590	9,580
22	8,750	8,960	51	8,520	9,810
23	9,020	9,100	52	8,570	9,760
24	9,110	9,230	53	8,570	9,590
25	8,530	9,230	54	8,620	9,360
26	8,500	9,220	55	8,520	9,290
27	8,620	9,410	56	8,510	9,420
28	8,720	9,190	57	8,400	9,330
29	8,370	9,030	58	8,580	9,330
			Prom.	8,490	8,990
			DE	0,281	0,611

Fuente: pruebas de laboratorio.

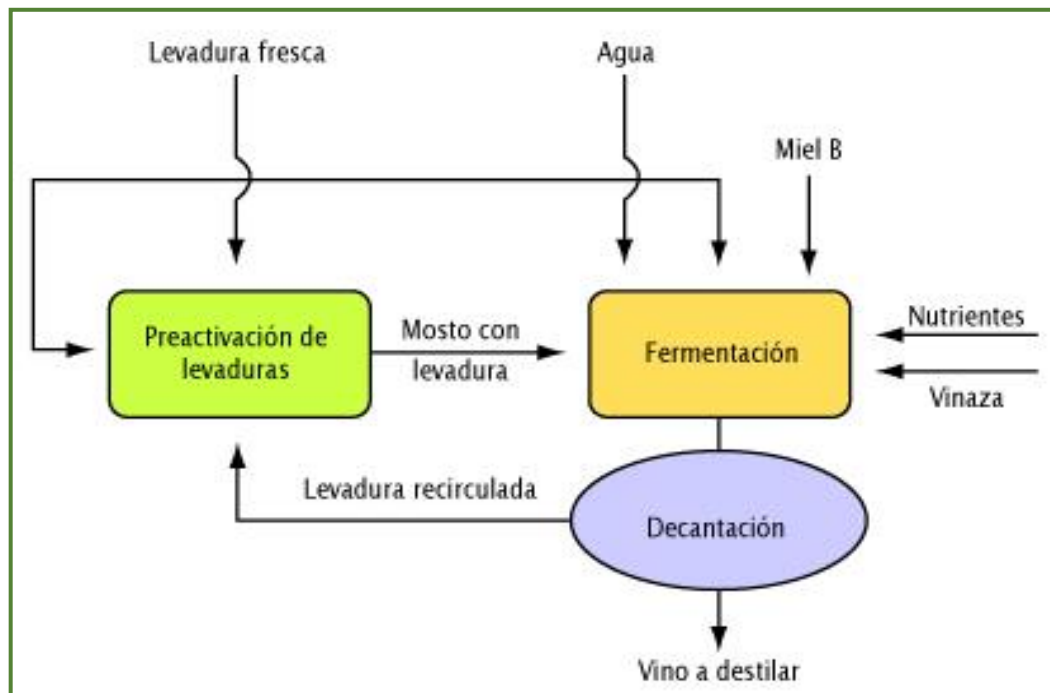
Tabla A8. **Ácido láctico al inicio y final del proceso de fermentación en fermentadores con lúpulo.**

Día de dosificación	Ácido láctico al inicio (miligramos por litro)	Ácido láctico al final (miligramos por litro)
0	2,200	1,500
1	1,990	1,530
2	1,680	1,760
3	1,825	1,690
4	1,900	1,795
5	1,915	2,150
6	1,430	2,970
7	1,195	1,470
8	1,185	1,220
9	1,140	1,670
10	0,990	1,150
11	1,330	1,050
12	1,370	1,100

Fuente: pruebas de laboratorio.

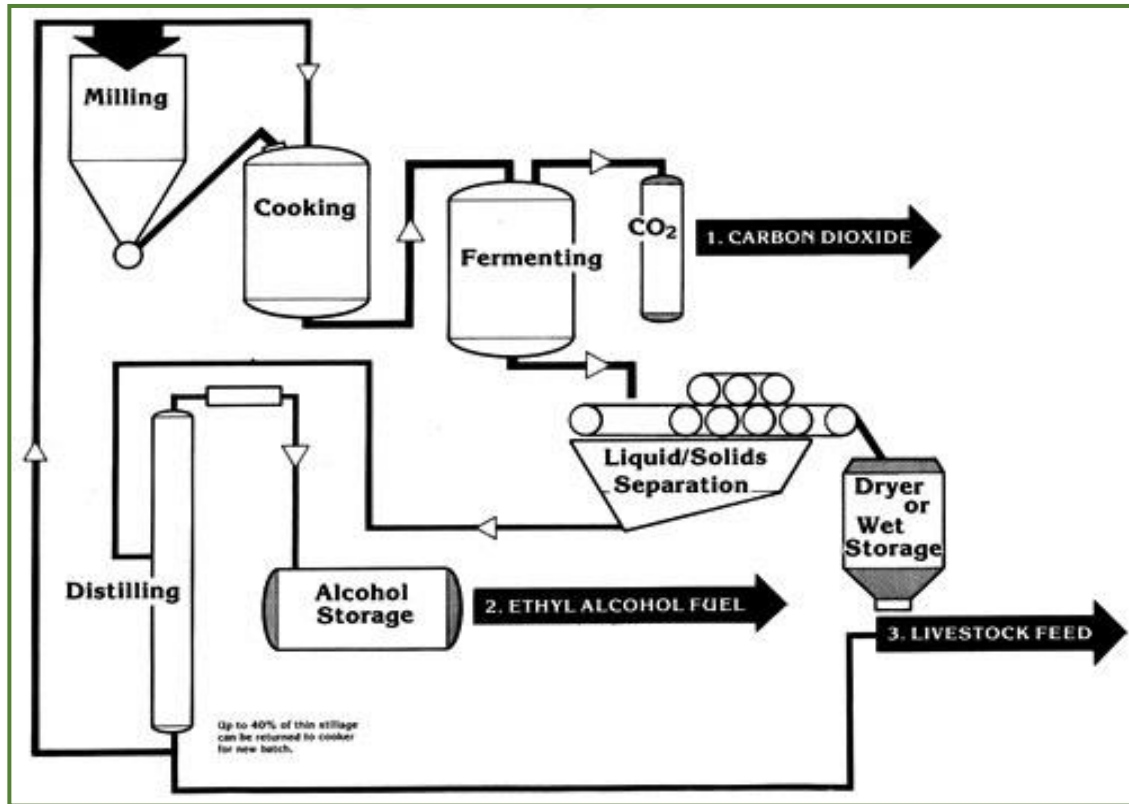
ANEXOS

Figura I. **Proceso de producción de etanol (fermentación)**



Fuente: Manual de etanol Madre tierra

Figura II. Diagrama de flujo para la producción de alcohol etílico (fermentación)



Fuente: Manual de etanol Madre Tierra