

**Rendimiento de etanol y producción de vinaza
con cuatro sustratos para la fermentación de
melaza con *Saccharomyces cerevisiae*.**

Carlos Francisco Mercado Mata

Honduras
Diciembre, 2006

**ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA**

**Rendimiento de etanol y producción de vinaza
con cuatro sustratos para la fermentación de
melaza con *Saccharomyces cerevisiae*.**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agroindustrial en el Grado
Académico de Licenciatura.

Presentado por

Carlos Francisco Mercado Mata

**Honduras
Diciembre, 2006**

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos del autor.

Carlos Francisco Mercado Mata

Honduras
Diciembre, 2006

**Rendimiento de etanol y producción de vinaza con
cuatro sustratos para la fermentación de melaza con
Saccharomyces cerevisiae.**

Presentado por

Carlos Francisco Mercado Mata

Aprobado por:

Wilfredo Domínguez, M. Sc.
Asesor Principal

Raúl Espinal, Ph.D.
Director
Carrera de Agroindustria

Francisco Javier Bueso, Ph. D.
Asesor

George Pilz, Ph. D.
Decano Académico

Kenneth L. Hoadley D.B.A.
Rector

DEDICATORIA

A Dios padre, por haberme permitido llegar hasta esta etapa de mi vida y culminar uno de mis principales objetivos.

A mi padre y madre quienes durante estos cuatro años han puesto su confianza en mi persona.

A mis abuelos y tías, que con sus consejos me han sabido guiar.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres, Carlos Mercado Romero y Ana Miriam Mata, por el apoyo incondicional que me han brindado.

A Norma Nelly Mata e Irma Arely Mata, por enseñarme a perseverar.

A la familia Nuñez Ramos, por haberme ofrecido más que un hogar, consejos en los momentos adecuados.

A Sarahí Nuñez, por la paciencia, comprensión y sobre todo el cariño.

A mis asesores Wilfredo Domínguez, M.Sc. y Javier Bueso, Ph.D, por el tiempo aportado en la discusión y resolución de problemas que se presentaron en el desarrollo del proyecto.

A mis compañeros de cuarto y amigos, que me motivaron a seguir adelante en momentos difíciles.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

Agradezco a INSAFORP por la ayuda financiera otorgada durante tres años de mi educación.

Agradezco a mis padres por pagar parte de mi educación en Zamorano.

RESUMEN

Mercado, C. 2006. Rendimiento de etanol y producción de vinaza con cuatro sustratos para la fermentación de melaza con *Saccharomyces cerevisiae*. Proyecto de Graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria, Zamorano, Honduras. 34p.

En El Salvador, la industria azucarera es una de las principales generadoras de ingresos para la economía nacional. La búsqueda de diversificación la ha llevado a estudiar la factibilidad de producir etanol para su mezcla en carburantes. No obstante, la producción de etanol a partir de melazas genera un contaminante, la vinaza. Este desecho de la destilación del fermento tiene un difícil manejo. El objetivo principal de este estudio fue analizar el rendimiento de etanol y la producción de vinaza de cuatro sustratos para la fermentación de melaza con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, a través de la determinación del contenido del etanol y la proporción etanol:vinaza. El estudio se realizó en el Laboratorio de Microbiología y el Centro de Evaluación de Alimentos de Zamorano. Los tratamientos fueron: urea, fosfato de sodio y ácido sulfúrico (Ur-Fosf-AcSul); tratamiento térmico previo a fermentación (Temp); fosfato de sodio con tratamiento térmico previo a la fermentación (Temp-Fosf); y sin aditivos (Control). Para determinar la concentración del etanol, se utilizó cromatografía de gases con una columna capilar DB-ALC1 de J&W Scientific. Los resultados muestran que se redujo la vinaza en todos los tratamientos comparados con el control ($P<0.05$). Adicionalmente, la producción de etanol de Temp-Fosf fue significativamente mayor a la de Ur-Fosf-AcSul, Temp y Control ($P<0.05$). Todos los tratamientos presentaron proporciones de vinaza:etanol estadísticamente iguales al control, excepto Temp-Fosf que presentó una menor proporción que el resto ($P<0.05$). En conclusión, el mejor tratamiento fue Temp-Fosf debido a que produjo mayor cantidad de etanol y menor cantidad de vinaza.

Palabras claves: Combustibles alternativos, cromatografía de gases, levadura.

Wilfredo Domínguez, M.Sc.
Asesor Principal

CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| Portadilla..... | i |
| Autoría..... | ii |
| Página de firmas | iii |
| Dedicatoria | iv |
| Agradecimientos..... | v |
| Resumen | vii |
| Contenido | viii |
| Índice de cuadros..... | x |
| Índice de figuras | xi |
| Índice de anexos | xii |
| | |
| 1. REVISIÓN DE LITERATURA | 1 |
| 1.1 SITUACIÓN MUNDIAL EN LA PRODUCCIÓN DE ETANOL..... | 1 |
| 1.1.1 Importancia y beneficios de la agroindustria azucarera en El Salvador..... | 1 |
| 1.2 PROBLÉMÁTICA DE LAS DESTILERÍAS..... | 2 |
| 1.3 IMPORTANCIA DE LA APLICACIÓN DE NITRÓGENO EN LA FERMENTACIÓN | 4 |
| | |
| 2. INTRODUCCIÓN | 5 |
| | |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS | 6 |
| 3.1 LOCALIZACIÓN | 6 |
| 3.2 MATERIALES..... | 6 |
| 3.3 EQUIPO | 6 |
| 3.4 MÉTODOS..... | 7 |
| 3.4.1 Diseño experimental..... | 7 |
| 3.4.2 Preparación de los sustratos para el desarrollo de procesos de fermentación. | 7 |
| 3.4.3 Análisis químico..... | 7 |
| | |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 9 |
| 4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DE LOS TRATAMIENTOS | 9 |
| 4.2 PRODUCTOS DE LA DESTILACIÓN DE LOS SUSTRATOS | 9 |
| 4.3 PERFIL DE ETANOL | 10 |
| | |
| 5. CONCLUSIONES | 12 |

| | | |
|-----------|------------------------------|-----------|
| 6. | RECOMENDACIONES | 13 |
| 7. | BIBLIOGRAFÍA | 14 |
| 8. | ANEXOS..... | 15 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | | Pág. |
|---------------|---|-------------|
| 1. | Evaluación del pH en cuatro sustratos para la fermentación de melaza con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 9 |
| 2. | Volumen de vinaza, concentración de etanol y su respectiva proporción, producto de la destilación de cuatro preparaciones de sustrato | 10 |
| 3. | Tiempo de retención para etanol de cuatro sustratos destilados obtenido por cromatografía de gases. | 11 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Pág. |
|---|-------------|
| 1. Producción mundial de etanol | 1 |
| 2. Efluente de vinaza proveniente del fondo de la columna de destilación, Guatemala..... | 3 |
| 3. Dilución de vinaza por área, como tratamiento del efluente, Guatemala..... | 3 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| Anexo | Pág. |
|---|-------------|
| 1. Cromatogramas de alcoholes por tratamiento. | 16 |
| 2. Flujograma del Proceso de fermentación de melaza. | 20 |
| 3. Certificado de calidad en melaza..... | 21 |

1. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 SITUACIÓN MUNDIAL EN LA PRODUCCIÓN DE ETANOL

En la actualidad, Norte América y Brasil se sitúan como los principales productores de etanol a nivel mundial. Desde 1975, Brasil ha aumentado su producción de etanol a través del programa PRO-ALCOOL, permitiéndole así emplear gasolina con una mezcla de 22% - 26% de este biocombustible. Europa ha experimentado un rápido crecimiento en la producción de etanol, pero los porcentajes siguen siendo pequeños comparados con los de Brasil y Norte América.

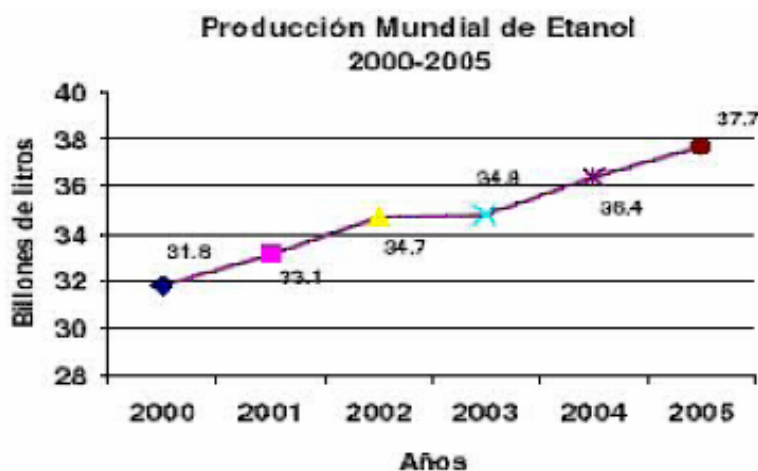


Figura 1. Producción Mundial de etanol

Fuente: IICA (2004).

1.1.1 Importancia y beneficios de la agroindustria azucarera en El Salvador

La agroindustria azucarera es uno de los sectores más importantes en la economía salvadoreña. Desde 1989 ha logrado constantemente mayor eficiencia y competitividad en la producción de caña de azúcar, en el transporte, en la transformación industrial y la comercialización de sus productos y subproductos en los mercados nacionales e internacionales. Entre 1996 y 2002, la industria azucarera aumentó su participación en el producto Interno Bruto PIB de 1.91% a 2.8%, y del PIBA de un 4.54% a un 5.83%. (Asociación Azucarera de El Salvador 2005).

En la Zafra 2001/2002, el área cosechada de caña de azúcar fue de 92,000 manzanas (63,000 hectáreas), moliéndose aproximadamente cinco millones de toneladas de caña con las que se produjeron 10 millones de quintales de azúcar (468,892 toneladas métricas) y 39 millones galones de melaza. Actualmente, nueve ingenios elaboran el total del azúcar producida en El Salvador (Asociación Azucarera de El Salvador 2005).

La agroindustria azucarera es esencial en el desarrollo rural de El Salvador; más de 450,000 personas dependen de este sector. Existen en el país más de 7,000 productores de caña, 60% de ellos asociados en cooperativas agrarias y el resto son productores independientes (Asociación Azucarera de El Salvador 2005).

1.2 **PROBLEMÁTICA DE LAS DESTILERÍAS.**

El vino, procedente de la fermentación del mosto del jugo de caña o mieles de fábrica de azúcar, es destilado para la producción de alcohol. El residuo remanente constituido por los líquidos del fondo de la columna de destilación, combinados con carbohidratos no fermentados, levaduras muertas, compuestos orgánicos, sales minerales y otros, es a lo que comúnmente se le llama vinaza. Se puede encontrar en proporciones de 12-15 litros/litro de etanol (Finguerut 2002).

La vinaza es altamente contaminante, posee una DQO (Demanda Química de Oxígeno) entre 80,000-105,000 mg/l, un pH entre 4-5, y una temperatura entre 82-88°C. La vinaza contiene 90% de agua y 10% de sólidos, de estos sólidos, el 95% son sólidos solubles y el 5% están en suspensión, su disposición al ambiente crea un serio problema. La situación se agrava, debido a que la cantidad de vinaza que se produce es 12 a 13 veces la cantidad de alcohol producido (Del Toro 2004).

De acuerdo con Ferreira y Montenegro (1987), esta proporción puede variar entre 10:1 y 15:1; recientemente se han desarrollado cambios en el proceso de fabricación de alcohol para obtener vinaza más concentrada. En Colombia, la Industria de Licores del Valle produce 2.5 l de vinaza con 55% de sólidos totales por cada litro de alcohol producido.

En la Figura 2 se puede observar el efluente de vinaza proveniente del fondo de la columna de destilación; la Figura 3 hace referencia al tratamiento que se realiza para disminuir su carga contaminante en el medio.



Figura 2. Efluente de vinaza proveniente del fondo de la columna de destilación, Guatemala.



Figura 3. Dilución de vinaza por área, como tratamiento del efluente, Guatemala.

1.3 **IMPORTANCIA DE LA APLICACIÓN DE NITRÓGENO EN LA FERMENTACIÓN**

Se recomienda que el ajuste del nitrógeno asimilable debe ser de acuerdo a la cantidad de azúcares (medido en °Brix) iniciales del mosto, evitando así fermentaciones en las que no se aprovechan la mayoría de los azúcares fermentables o paralizadas. Debe idealmente realizarse en dos aplicaciones, la primera antes de la inoculación y la otra a mediados, en la tasa máxima de la fermentación (Bisson y Butzke 2000). Su disponibilidad en el jugo es esencial para el desarrollo de los componentes estructurales de las múltiples generaciones de células de la levadura, especialmente transportadores de azúcar, aminoácidos y del amonio, las enzimas glucolíticas y las ATPasas que mantienen el interior de la célula neutra (Bisson y Butzke 2000).

Fernández (1999), afirma que las aplicaciones de dosis altas de nitrógeno en fase estacionaria llevan a una mayor transformación de azúcar en alcohol. Según Bisson (1999), suplementaciones en la fase estacionaria de la fermentación con aminoácidos específicos como glicina y fenilalanina, prolongan la alta actividad fermentativa, mientras que el amonio no tiene este efecto, debido a que las adiciones de aminoácidos pueden incrementar la habilidad para sintetizar rápidamente proteínas degradadas, como las transportadoras de glucosa. Algunos aminoácidos son claramente más efectivos que otros y también al compararlos con una mezcla de estos.

2. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los esfuerzos por reemplazar el petróleo están siendo cada vez más intensivos y captan la atención de un mundo amenazado por el cambio climático e inestabilidades económicas en países productores de petróleo. El etanol, producto de la fermentación y posterior destilación de la melaza, tiene un potencial muy elevado para ser una fuente alternativa de energía renovable, que permitiría reducir la dependencia del petróleo.

En El Salvador, existen cuatro plantas de alcohol etílico, todas ellas con una capacidad total de producción de 360 litros de alcohol/día. Estas plantas operaron en el pasado, y actualmente se realizan estudios para reactivarlas. Adicionalmente, se está analizando la posibilidad de ejecutar un Programa Nacional de Alcohol para exportación. Los beneficios de esta reactivación son varios, entre ellos: a) beneficios para el medio ambiente mediante la reducción de agentes contaminantes en el aire; b) la producción de etanol que es un subproducto de la caña de azúcar, que puede generar atractivos ingresos que protejan las fluctuaciones internacionales del precio del azúcar; c) se generan nuevas oportunidades de trabajo; y d) se generan divisas por medio de la exportación de un producto no tradicional (Asociación Azucarera de El Salvador 2005).

No obstante, la producción de etanol brinda cargas contaminantes considerables al medio ambiente, denominadas vinazas. Según Zamudio (1993), el vertimiento excesivo de aguas residuales producto de destilerías genera demasiados problemas para las industrias, a consecuencia de esto se debe mejorar y aumentar la eficiencia de los procesos de producción de etanol y realizar métodos que ayuden a mitigar la carga contaminante del efluente. Aumentar la eficiencia del proceso conlleva a disminuir la carga contaminante que se genera en la fermentación de las mieles. Mantener y controlar este proceso para generar la menor cantidad de vinaza es uno de los principales propósitos de las destilerías, dado que se genera un costo elevado para su tratamiento (Bazúa, 1993).

El objetivo principal de este estudio fue analizar el rendimiento de etanol y la producción de vinaza de cuatro sustratos para la fermentación de melaza con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, a través de la determinación del contenido del etanol con cromatografía de gases, y la evaluación de la proporción etanol:vinaza.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LOCALIZACIÓN

El estudio se realizó en Universidad Zamorano, Valle del Yeguate, Honduras, en el Laboratorio de Microbiología y el Centro de Evaluación de Alimentos.

3.2 MATERIALES

- Melaza proveniente de la Compañía Azucarera Salvadoreña S.A. de C.V.
- Ácido Sulfúrico (H_2SO_4)
- Fosfato de sodio (Na_3PO_4)
- Urea
- Levadura (*S. cerevisiae*)

3.3 EQUIPO

- Viales Supelco de 4 ml.
- Cromatógrafo de gases Agilent 6890 con detector FID, columna DB-ALC1 de J&W Scientific (30m*0.32m*1.8 μ m).
- Jeringas Hp de 10 μ l.
- Alcohólímetro con escala Tralle.
- Probetas de 50 ml, 100 ml. y 1000 ml.
- Beaker de 40 ml. 100 ml.
- Potenciómetro.
- Refractómetro Fisher Scientific graduados: 0-32, 28-62 y 58-90 % Brix.
- Erlenmeyer de 300 ml.
- Trampas de gases
- Termómetro
- Cristalería para destilación

3.4 MÉTODOS

3.4.1 Diseño experimental

El estudio consistió en evaluar cuatro sustratos a temperatura constante, realizando tres repeticiones para cada uno, obteniendo un total de 12 unidades experimentales utilizando un Diseño Completamente al Azar (DCA).

Se utilizó el programa estadístico SAS® para hacer el análisis de los datos obtenidos mediante el procedimiento GLM y una separación de medias por el método DUNCAN para encontrar diferencia significativa entre las 4 preparaciones de sustratos que se utilizaron.

3.4.2 Preparación de los sustratos para el desarrollo de procesos de fermentación

Se obtuvieron muestras de las dos bombas de salida de melaza del Ingenio Azucarero que presentaban las siguientes características químicas: 87.60% ° Brix y pureza de 36.28%, imposibilitando el crecimiento de las levaduras en este medio. Para poder promover un crecimiento vegetativo en los sustratos, estos deben ser diluidos con agua destilada hasta un porcentaje de 21 ° Brix (Anexo 3).

Para Ur-Fosf-AcSul, se disolvieron 16.28 g de urea con 2.71 g de fosfato de sodio; la dilución de melaza se realizó a 21 ° Brix. Se homogenizó la solución y se trasegaron los 900 ml de mosto enriquecido en erlenmeyers de 300 ml. Para llegar a un pH de 4.3 en el Ur-Fosf-AcSul se agregó ácido sulfúrico. En el tratamiento Control, solamente se diluyó la melaza hasta llegar a los 21° Brix para luego proceder a la inoculación de la levadura. En el tratamiento Temp, se diluyó la melaza hasta los 21 ° Brix deseados, posteriormente se sometió a un tratamiento térmico de 60 ± 3 °C durante 30 min y se procedió a inocular la levadura hasta que el sustrato hubiese alcanzado temperatura ambiente. Para Temp-Fosf, se disolvieron 2.71 g de Fosfato de sodio en el mosto, y se aplicó un tratamiento térmico a 60 ± 3 °C durante 30 min, igual que en Temp, se esperó hasta llegar a temperatura ambiente para hacer el trasiego y la inoculación.

Para aumentar la concentración de levaduras en los sustratos, se realizó un proceso aerobio que duró aproximadamente de 2 a 2.5 horas, período en el cual se logró un crecimiento vegetativo. Posteriormente se colocaron las trampas de gases para dar inicio al proceso anaerobio. El pH de cada tratamiento se midió antes y después de la fermentación de los sustratos con un potenciómetro.

3.4.3 Análisis químico

Según Casco (2005), el tiempo de retención para un estándar de etanol por cromatografía de gases es de 3.861 min. Este dato se utilizó para determinar la concentración de etanol en el producto destilado. Para la determinación de alcoholes totales se utilizó un alcoholímetro con escala tralle. El cromatógrafo de gases Agilent

modelo 6890 en conjunto con el software ChemStation fueron utilizados para determinar el porcentaje de etanol bajo la curva en cada tratamiento. También se utilizó un método de análisis predeterminado que tenía las siguientes condiciones de análisis: temperatura del inyector de 250 °C en modo split a una relación de 20:1, columna capilar J &W Scientific DB-ALC 1 (30 m de largo x 0.32 mm ID x 1.8 µm) con flujo constante de 6.86 ml/cm de nitrógeno, detector FID a 250 °C y temperatura del horno a 38 °C en fase inicial con una tasa ascendente de 20 °C/min hasta alcanzar los 120 °C. El tiempo de corrido del análisis fue de 12.2 min utilizando nitrógeno como gas de acarreo.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DE LOS TRATAMIENTOS

Cuadro 1. Evaluación del pH en cuatro sustratos para la fermentación de melaza con *Saccharomyces cerevisiae*.

| Tratamiento | pH | |
|--|----------|------------|
| | Inicial* | Final* |
| Urea, Fosfato de sodio, H ₂ SO ₄ | 4.3 ±0 | 4.50 ±0.06 |
| Control | 5.8 ±0 | 5.40 ±0.00 |
| Tratamiento térmico (60±3 ° C durante 30 min.) | 5.8 ±0 | 5.26 ±0.06 |
| Fosfato de sodio, tratamiento térmico ° (60±3 ° C durante 30 min.) | 5.9 ±0 | 5.66 ±0.11 |

*Se reporta la media obtenida de tres repeticiones a 20 ± 2° C.

La reducción de pH en el Control, Temp y Temp-Fosf, se pudo haber originado por presencia de ácido pirúvico, producto de una parada repentina de la fermentación, debido a la baja resistencia de las levaduras a la concentración de etanol (Cuadro 1).

4.2 PRODUCTOS DE LA DESTILACIÓN DE LOS SUSTRATOS

La fermentación culminó cuando la concentración de sólidos descendió a 12%. Una vez finalizada, se procedió a destilar el fermento a una temperatura de 78 ± 3 °C, en un destilador convencional.

Cuadro 2. Volumen de vinaza, concentración de etanol y su respectiva proporción, producto de la destilación de cuatro preparaciones de sustrato.*

| Tratamiento | Vinaza (ml) | Alcohol (ml) | [Etanol] (ml) | Proporción Vinaza : Etanol (ml vinaza /ml etanol) |
|--|-------------|--------------|---------------|---|
| Urea, Fosfato de sodio, H ₂ SO ₄ | 254.3 B | 45.7 A | 20.09 C | 12.65 A |
| Control | 258.3 A | 41.7 B | 21.66 B | 11.93 A |
| Temperatura (60±3 °C * 30 min.) | 254.3 B | 45.7 A | 21.00 BC | 12.12 A |
| Fosfato de sodio, T ° (60±3 °C durante 30 min) | 255.3 B | 44.7 A | 23.22 A | 11.00 B |

*Promedios con diferente letra en la misma columna son diferentes entre sí (P<0.05)

En el Cuadro 2 se observa que, comparado con el Control, los sustratos tuvieron efecto en la reducción de vinaza (P<0.05). Por consiguiente, la concentración de etanol en el destilado muestra diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.05), siendo Temp-Fosf el que obtuvo una mayor concentración. Sin embargo, para el tratamiento Ur-Fosf-AcSul la adaptación de la levadura al sustrato pudo ser uno de los factores que originó una menor concentración de etanol.

En la proporción vinaza:etanol, el sustrato que mostró menor concentración de vinaza con respecto a los demás tratamientos fue Temp-Fosf, (P<0.05). Esto se pudo haber originado por la presencia de fosfato de sodio aumentando la eficiencia energética para la síntesis de los azúcares.

4.3 PERFIL DE ETANOL

En el Cuadro 3 se muestran los tiempos de retención que se asemejaron al estándar de etanol (ver Anexo 1).

Cuadro 3. Tiempo de retención para etanol de cuatro sustratos destilados obtenido por cromatografía de gases.***

| Sustrato | Tiempo de retención* | Etanol % CG** | Grado alcohólico (Trallé) |
|--|----------------------|---------------|---------------------------|
| Urea, Fosfato de sodio, H ₂ SO ₄ | 3.6 | 99.25 A | 44.0 C |
| Control | 3.6 | 98.94 C | 52.0 A |
| Temperatura (60±3 ° C * 30 min.) | 3.6 | 98.85 D | 46.0 B |
| Fosfato de sodio, T ° (60±3 ° C durante 30 min) | 3.6 | 99.03 B | 52.0 A |

* Tiempo promedio obtenido de cuatro repeticiones por tratamiento, expresado en minutos.

** Conforman el total de etanol bajo la curva.

*** Las medias se encuentran expresadas en % v/v a 20 ° C. tomadas de 4 replicas.

Promedios con diferente letra en la misma columna son diferentes entre sí (P<0.05)

Los resultados obtenidos por cromatografía de gases difieren del expresado por el alcoholímetro debido a que el alcoholímetro identificó la concentración total de alcoholes en el destilado, mientras que el cromatógrafo identificó específicamente que tipo de alcoholes se encontraban en el destilado a la vez mostró los porcentajes de estos (Anexo 1).

El Cuadro 3 muestra diferencia estadística en cuanto a porcentaje de etanol por sustrato (P<0.05). En lo referido al contenido de etanol, los valores obtenidos por los sustratos oscilan entre 44 a 52 % v/v, encontrándose diferencia significativa entre ellos. El mejor sustrato fue Control y Fosfato de sodio más tratamiento térmico, esto se pudo haber originado por la presencia de microflora nativa y la concentración de fosfato de sodio, respectivamente. Al tener microflora nativa, está se encuentra más adaptada al sustrato motivo por el cual su eficiencia aumenta, mientras que agregando fosfato de sodio se ayuda a la fosforilación del carbono seis de la molécula de glucosa, permitiéndole a la levadura aumentar la generación de etanol.

5. CONCLUSIONES

El uso de fosfato de sodio con tratamiento térmico incrementó, la producción y porcentaje de etanol.

El tratamiento Temp-Fosf fue el que produjo menor volumen de vinaza.

El uso de fosfato de sodio con tratamiento térmico previo a la fermentación, produjo una mejor finalización de la fermentación.

6. RECOMENDACIONES

Evaluar microorganismos como *Zymomona mobilis*, *Saccharomyces carlsbergensis*, *Zygosaccharomyces*, *Z. Nussbaumeri*, ya que estos actúan a mayores concentraciones de etanol y sólidos (medidos en °Brix).

Determinar el nivel óptimo para la producción de etanol utilizando diferentes concentraciones de fosfato de sodio.

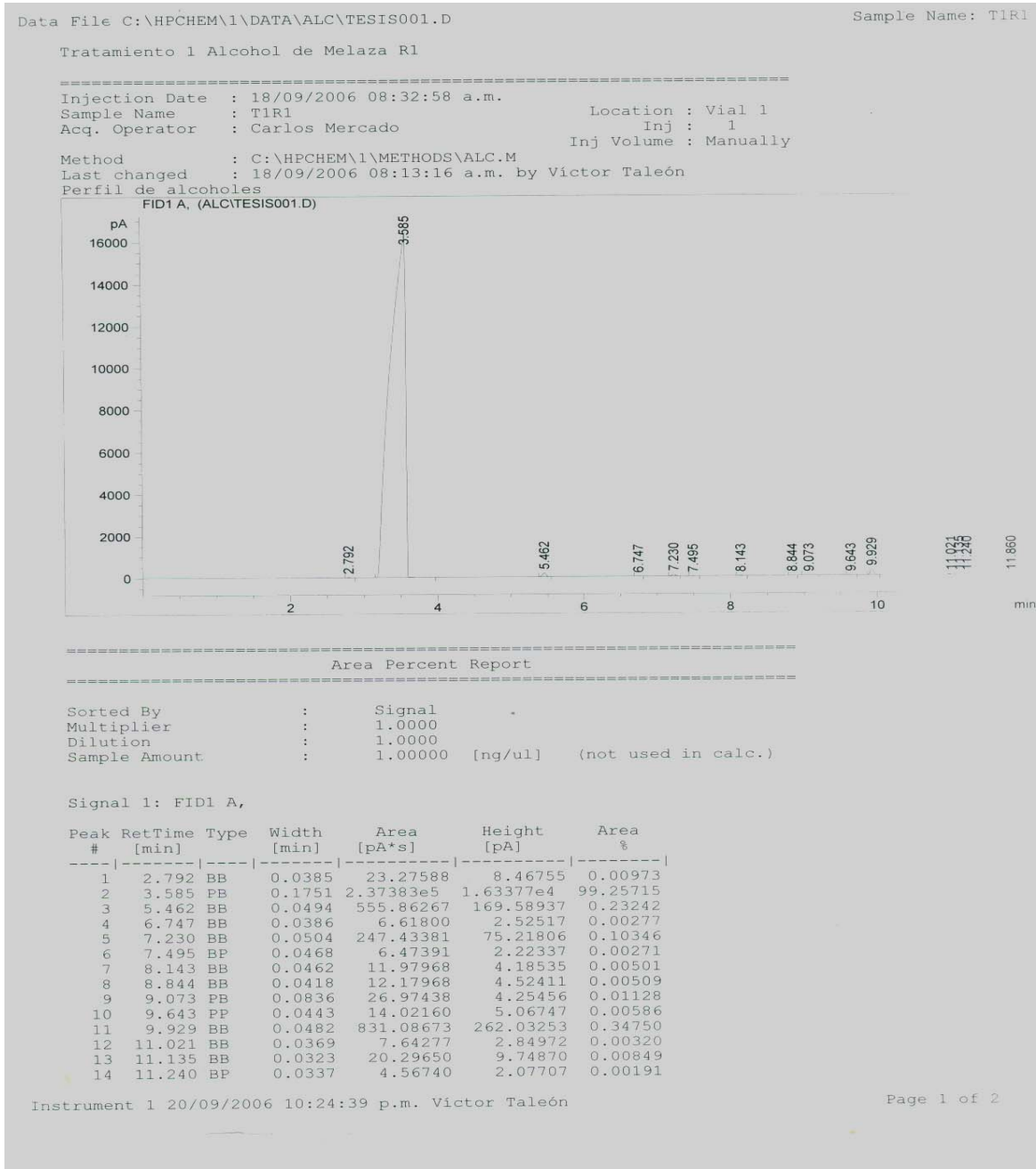
Evaluar la composición química y las características físicas de la vinaza proveniente de la melaza.

7. BIBLIOGRAFIA

- Asociación Azucarera de El Salvador. 2005. Estadísticas (en línea). Consultado el 5 de mayo de 2006. Disponible en:
<http://www.asociacionazucarera.com/agroindustria.asp>
- Bazúa, J. 1993. Manejo de suelos y uso de fertilizantes para la caña de azúcar en Brasil. Boletín GEPLACEA, v.8 no.3, p.1-6.
- Bisson, L.F. 1999. Stuck and sluggish fermentations. Am. J. Enol. 107-119 p.
- Bisson, L.F. y C. Butzke. 2000. Diagnosis and rectification of stuck and sluggish fermentations. Am. J. Enol. Vitic. 51 (2): 168-177.
- Casco, G. 2005, Caracterización química de tres marcas comerciales de aguardiente en Honduras (Tatascán, Yuscarán y Ron Plata). Tegucigalpa. Honduras. Proyecto de título Ing. Agr. Zamorano. Honduras. 34 p.
- Del Toro, A. 2004. Gestión de la Calidad del Agua. Tratamiento de Agua para la Producción de ron y Tratamiento de Efluentes Destilería. 79-112 p.
- Ferreira, S. E.; Montenegro, O. A. 1987. Efeitos da aplicacao da vinhaça nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo. Boletín Técnico COPERSUCAR (Brasil) v.36, 1-7p.
- Finguerut, J. 2002. Ethanol Production: Research and development. Ethanol 2002 International Conference on Policy, Financing and Market Development Issues. En Simposio: Jornada Bioetanol Colombia. 17 p.
- Fernández R. 1999. Efecto de dosis y momento de aplicación de fosfato diamónico sobre fermentación alcohólica y la calidad del vino. Proyecto de Título, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile. 46p.
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). 2004. Análisis de estudios de cadena de etanol. Nicaragua. 24 p.
- Zamudio, F. 1993. Utilizacao agrícola dos resíduos da agroindústria canavieira. En: Simposio sobre Fertilizantes na Agricultura Brasileira. Brasilia (Brasil). 451 – 475 p.

8. ANEXOS

ANEXO 1. CROMATOGRAMAS DE ALCOHOLES POR TRATAMIENTO.

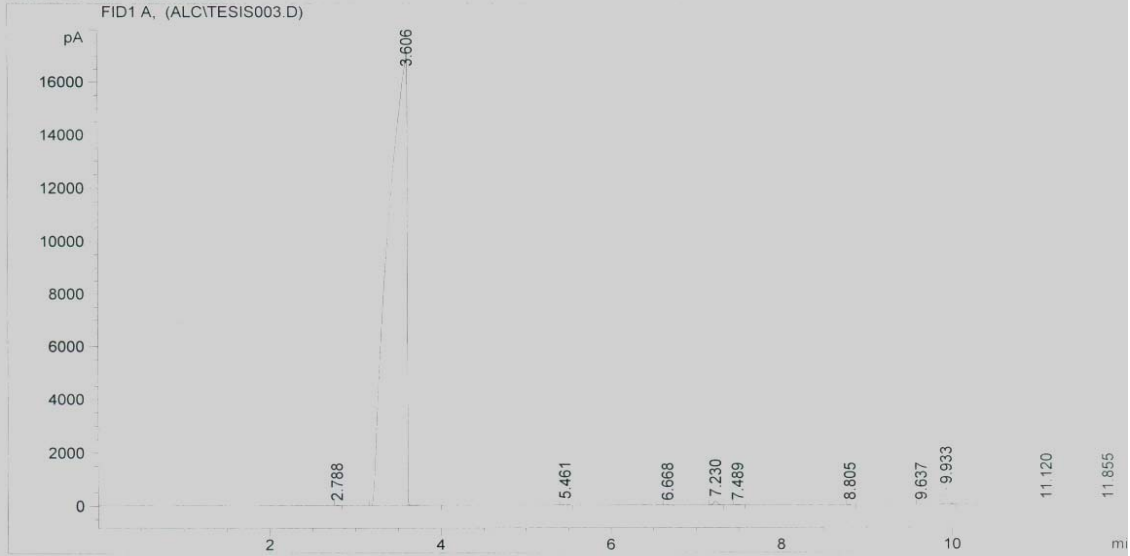


Tratamiento 2 Alcohol de Melaza R1

```

=====
Injection Date : 18/09/2006 09:17:28 a.m.
Sample Name    : T2R1
Acq. Operator  : Carlos Mercado
Location       : Vial 1
Inj           : 1
Inj Volume    : Manually

Method        : C:\HPCHEM\1\METHODS\ALC.M
Last changed  : 18/09/2006 08:13:16 a.m. by Victor Taleón
Perfil de alcoholes
    
```



=====
Area Percent Report
=====

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount  : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)
    
```

Signal 1: FID1 A,

| Peak # | RetTime [min] | Type | Width [min] | Area [pA*s] | Height [pA] | Area % |
|--------|---------------|------|-------------|-------------|-------------|----------|
| 1 | 2.788 | BB | 0.0326 | 16.19811 | 7.45090 | 0.00628 |
| 2 | 3.606 | PB | 0.1817 | 2.55284e5 | 1.71467e4 | 98.94283 |
| 3 | 5.461 | BB | 0.0456 | 166.85269 | 56.62078 | 0.06467 |
| 4 | 6.668 | BB | 0.0405 | 5.47433 | 2.06559 | 0.00212 |
| 5 | 7.230 | BB | 0.0484 | 417.52991 | 133.96097 | 0.16183 |
| 6 | 7.489 | BP | 0.0450 | 16.82224 | 5.95176 | 0.00652 |
| 7 | 8.805 | BB | 0.0432 | 6.75266 | 2.34406 | 0.00262 |
| 8 | 9.637 | BP | 0.0447 | 12.36263 | 4.31029 | 0.00479 |
| 9 | 9.933 | BB | 0.0513 | 2064.12451 | 600.24487 | 0.80001 |
| 10 | 11.120 | BP | 0.0536 | 14.27910 | 3.71472 | 0.00553 |
| 11 | 11.855 | BB | 0.0369 | 7.21629 | 3.08166 | 0.00280 |

Totals : 2.58011e5 1.79664e4

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\ALC\TESIS005.D

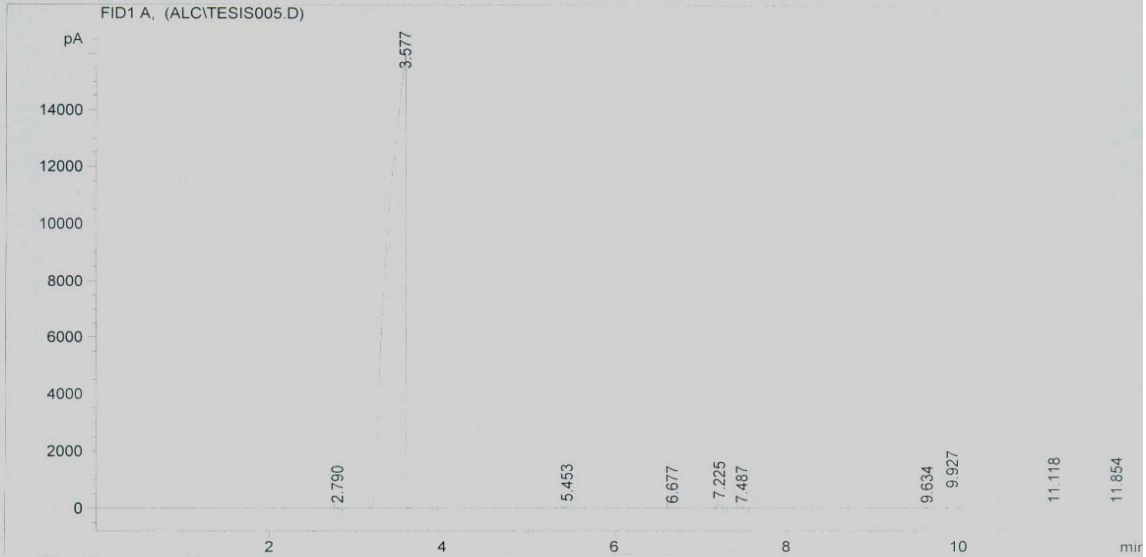
Sample Name: T3R1

Tratamiento 3 Alcohol de Melaza R1

```

=====
Injection Date   : 18/09/2006 09:58:07 a.m.
Sample Name     : T3R1
Acq. Operator   : Carlos Mercado
Method          : C:\HPCHEM\1\METHODS\ALC.M
Last changed    : 18/09/2006 08:13:16 a.m. by Victor Taleón
Perfil de alcoholes
=====

```



```

=====
Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By       : Signal
Multiplier      : 1.0000
Dilution        : 1.0000
Sample Amount    : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)

```

Signal 1: FID1 A,

| Peak # | RetTime [min] | Type | Width [min] | Area [pA*s] | Height [pA] | Area % |
|--------|---------------|------|-------------|-------------|-------------|----------|
| 1 | 2.790 | BB | 0.0300 | 18.50392 | 9.44987 | 0.00826 |
| 2 | 3.577 | PB | 0.1656 | 2.21365e5 | 1.59826e4 | 98.85125 |
| 3 | 5.453 | BB | 0.0452 | 187.01921 | 64.23877 | 0.08351 |
| 4 | 6.677 | BB | 0.0415 | 6.71644 | 2.45608 | 0.00300 |
| 5 | 7.225 | BB | 0.0480 | 506.09906 | 163.93019 | 0.22600 |
| 6 | 7.487 | BP | 0.0436 | 17.93820 | 6.46522 | 0.00801 |
| 7 | 9.634 | PP | 0.0444 | 10.74308 | 3.86280 | 0.00480 |
| 8 | 9.927 | BP | 0.0513 | 1809.68323 | 537.43390 | 0.80812 |
| 9 | 11.118 | BP | 0.0324 | 10.03233 | 4.80439 | 0.00448 |
| 10 | 11.854 | PB | 0.0403 | 5.74884 | 2.18183 | 0.00257 |

```
Totals :                2.23938e5  1.67774e4
```

Results obtained with enhanced integrator!

Instrument 1 18/09/2006 10:10:20 a.m. Carlos Mercado

Page 1 of 2

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\ALC\TESIS007.D

Sample Name: T4R1

Tratamiento 4 Alcohol de Melaza R1

```

=====
Injection Date : 18/09/2006 10:38:38 a.m.
Sample Name    : T4R1
Acq. Operator  : Carlos Mercado
Location       : Vial 1
Inj            : 1
Inj Volume     : Manually

Method         : C:\HPCHEM\1\METHODS\ALC.M
Last changed   : 18/09/2006 08:13:16 a.m. by Victor Taleón
Perfil de alcoholes
    
```



Area Percent Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount  : 1.00000 [ng/ul] (not used in calc.)
    
```

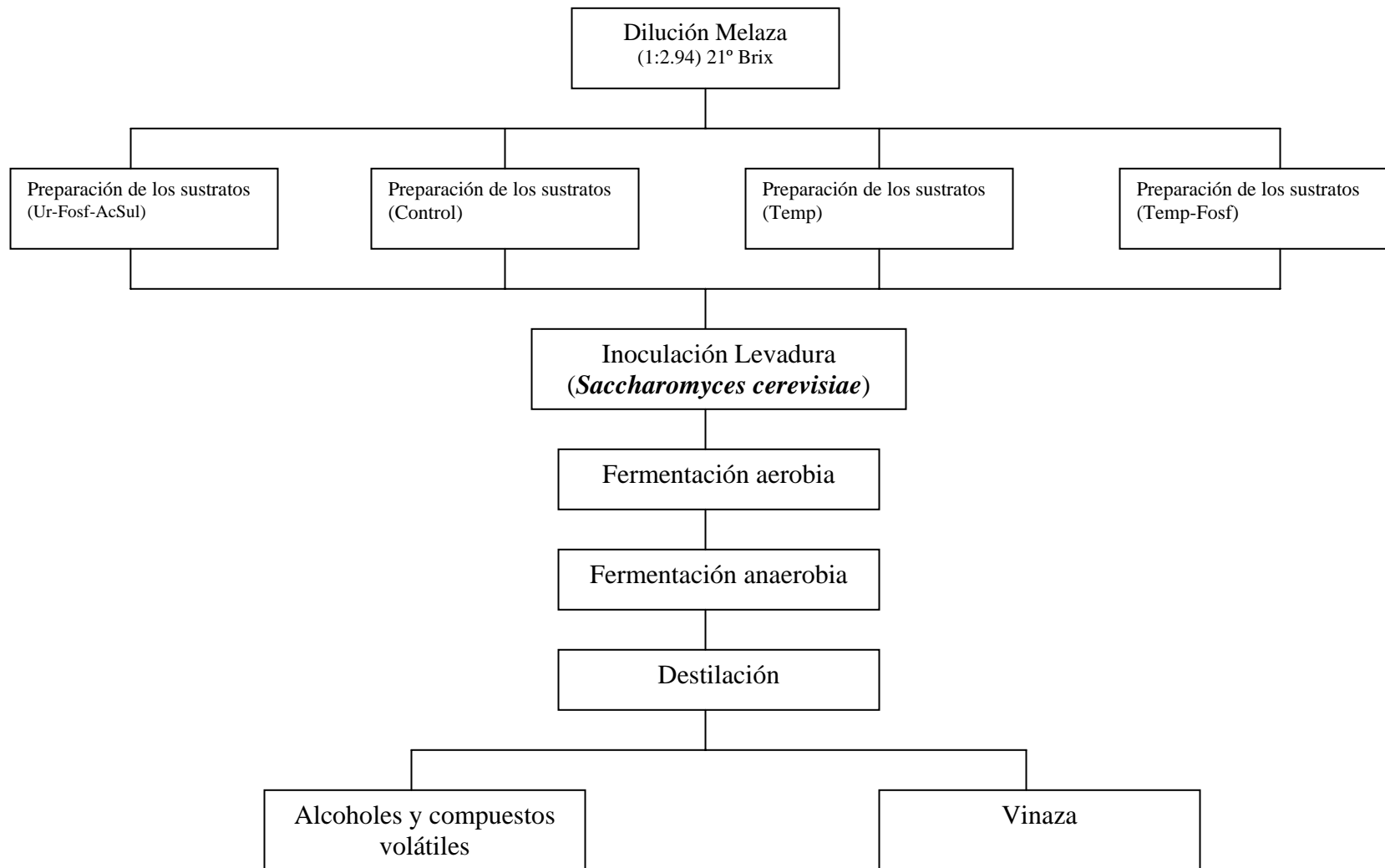
Signal 1: FID1 A,

| Peak # | RetTime [min] | Type | Width [min] | Area [pA*s] | Height [pA] | Area % |
|--------|---------------|------|-------------|-------------|-------------|----------|
| 1 | 2.791 | BB | 0.0350 | 21.81135 | 9.13778 | 0.00816 |
| 2 | 3.607 | PB | 0.1827 | 2.64586e5 | 1.75071e4 | 99.03262 |
| 3 | 5.461 | BB | 0.0459 | 224.50920 | 75.41051 | 0.08403 |
| 4 | 6.592 | BB | 0.0406 | 6.15630 | 2.25773 | 0.00230 |
| 5 | 7.229 | BB | 0.0497 | 477.24234 | 150.90825 | 0.17863 |
| 6 | 7.487 | BB | 0.0434 | 62.26218 | 22.00531 | 0.02330 |
| 7 | 9.634 | PB | 0.0448 | 19.89670 | 7.24687 | 0.00745 |
| 8 | 9.928 | PP | 0.0512 | 1761.66772 | 514.03906 | 0.65938 |
| 9 | 11.104 | BB | 0.0368 | 4.80390 | 2.00196 | 0.00180 |
| 10 | 11.853 | BP | 0.0400 | 6.19823 | 2.37501 | 0.00232 |

Totals : 2.67171e5 1.82924e4

Results obtained with enhanced integrator!

ANEXO 2. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE MELAZA.



ANEXO 3. CERTIFICADO DE CALIDAD EN MELAZA



INGENIO CENTRAL IZALCO

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD

ZAFRA 2005 / 2006 FECHA 17 de Abril de 2006.

CERTIFICADO DE CALIDAD EN MELAZA

SOLICITADO POR: Carlos Mercado.

| | RESULTADO | UNIDAD |
|---------------------|-----------|--------|
| BRIX | 87.60 | % |
| POLARIZACION | 31.79 | % |
| PUREZA | 36.28 | % |
| AZUCARES REDUCTORES | 16.66 | % |
| CENIZAS | 13.09 | % |



Atentamente,
 Ing. Adán Ernesto Anaya Zepeda.
 Responsable de Laboratorio.