



**UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS NATURALES**  
**Y DEL AMBIENTE**  
**ESCUELA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**TEMA**

EFFECTO DE LA LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) Y LA TEMPERATURA EN LA OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum L.*), EN LA UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR.

TESIS DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL OTORGADO POR LA UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR, A TRAVÉS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE.

**AUTORES**

CHIMBO JIMENEZ FAUSTO ABEL  
VEGA GUERRERO JUAN PABLO

**DIRECTOR**

ING. JUAN GAIBOR

**GUARANDA – ECUADOR**

**2015**

**TEMA**

“EFECTO DE LA LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) Y LA TEMPERATURA EN LA OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharun officinarum L.*), EN LA UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR”.

**REVISADO POR**

.....

ING. JUAN GAIBOR  
**DIRECTOR DE TESIS**

**CALIFICADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE TESIS**

.....

PhD. MOISES ARREGUÍN  
**BIOMETRISTA**

.....

ING. EDWIN SOLÓRZANO  
**ÁREA TÉCNICA**

.....

ING. PATRICIA IZA  
**REDACCIÓN TÉCNICA**

## DECLARACIÓN

Nosotros, **Juan Pablo Vega Guerrero y Fausto Abel Chimbo Jiménez**, autores declaramos que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría; este documento no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas el autor.

La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

.....  
Juan Pablo Vega Guerrero  
C.I. 0201878196

.....  
Fausto Chimbo Jiménez  
C.I. 0201622503

## **DEDICATORIA**

Este trabajo lo dedico con todo mi amor a Dios que siempre está a mi lado llenándome de fortaleza, sabiduría y guiándome en el camino de mi vida.

A mis queridos y amados padres María y Enrique, quienes me han inculcado valores de amor, responsabilidad y perseverancia y poder culminar con éxito este trabajo de investigación.

Al amor de mi vida Silvana y mi pequeña hija Doménica, quienes están a mi lado dándome su apoyo incondicional y el amor que solo ellas me lo pueden dar, para alcanzar con éxito esta meta de mi vida.

**JUAN PABLO**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo está dedicado a DIOS, por darme la vida a través de mis queridos padres, Flor y Carlos, por su apoyo incondicional durante mi vida estudiantil, a mis hermanos por estar junto a mí en los momentos difíciles.

A mis dos hermanas gemelas Sor Elena y Sor Fanny quienes fueron mi inspiración para culminar con éxito la tesis de grado, se los agradezco desde el fondo de mi alma.

También dedico a todos mis sobrinos por darme ese apoyo incondicional siempre durante el tiempo de mi formación académica.

**FAUSTO ABEL**

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente y en especial a la Escuela de Ingeniería Agroindustrial, un agradecimiento a cada uno de nuestros maestros quienes nos impartieron sus sabios conocimientos, para poderlos aplicar en nuestra vida profesional.

A nuestro Director de tesis Ing. Juan Gaibor quien nos brindó su apoyo incondicional durante todo el proceso de nuestra investigación.

A nuestro Biometrista Phd. Moisés Arreguin, por su profesionalismo en el desarrollo de este trabajo de investigación.

Un reconocimiento al Ing. Edwin Solórzano, Área Técnica y a la Ing. Patricia Iza, Redacción Técnica, por su aporte en la realización de esta investigación.

Y cada una de las personas que de una u otra forma nos brindaron su apoyo para la culminación de este trabajo de investigación.

**JUAN PABLO Y FAUSTO**

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

| CAPÍTULO   | DESCRIPCIÓN                     | PÁG.  |
|------------|---------------------------------|-------|
|            | TEMA                            | I     |
|            | DECLARACIÓN                     | II    |
|            | DEDICATORIA                     | III   |
|            | AGRADECIMIENTO                  | V     |
|            | ÍNDICE DE CONTENIDOS            | VI    |
|            | ÍNDICE DE CUADROS               | XII   |
|            | ÍNDICE DE TABLAS                | XIII  |
|            | ÍNDICE DE GRÁFICOS              | XVIII |
|            | ÍNDICE DE FIGURAS               | XVII  |
|            | ÍNDICE DE ANEXOS                | XV    |
| <b>I.</b>  | <b>INTRODUCCIÓN</b>             | 1     |
| <b>II.</b> | <b>MARCO TEÓRICO</b>            | 3     |
| 2.1.       | Caña de azúcar                  | 3     |
| 2.1.2.     | Clasificación taxonómica        | 3     |
| 2.1.3.     | Origen                          | 3     |
| 2.1.4.     | La caña de azúcar en el Ecuador | 4     |
| 2.1.5.     | Variedades de caña de azúcar    | 5     |
| 2.1.5.1.   | Variedad POJ 27-14              | 5     |
| 2.1.5.2.   | Variedad POJ 28-78              | 6     |

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| 2.1.5.3.  | Variedad ECU-01                                      | 6  |
| 2.1.5.4.  | Variedad RD 75-11                                    | 7  |
| 2.1.6.    | Distribución y eficiencia productiva                 | 7  |
| 2.1.7.    | Producción mundial                                   | 7  |
| 2.1.8.    | Producción nacional                                  | 8  |
| 2.1.9.    | Producción local                                     | 9  |
| 2.1.10.   | Derivados de la caña de azúcar                       | 9  |
| 2.1.10.1. | Panela   | 9  |
| 2.1.10.2. | Azúcares   | 10 |
| 2.1.10.3. | Alcohol carburante                                   | 10 |
| 2.1.10.4. | Alcohol etílico                                      | 11 |
| 2.1.10.5. | Mieles   | 11 |
| 2.1.10.6. | Ácido cítrico  | 12 |
| 2.1.11.   | Subproductos de la caña de azúcar                    | 12 |
| 2.2.      | Etanol   | 13 |
| 2.2.1.    | Etanol como biocombustible                           | 14 |
| 2.2.2.    | Producción de etanol a nivel nacional                | 15 |
| 2.2.3.    | Producción de bioetanol a partir de caña de azúcar   | 16 |
| 2.2.4.    | Producción agrícola y rendimiento de biocombustibles | 17 |
| 2.2.5.    | Aplicaciones del etanol en la industria              | 19 |
| 2.3.      | Fermentación   | 19 |
| 2.3.1.    | Concepto bioquímico de fermentación                  | 20 |



|         |  |    |
|---------|--|----|
| 2.3.2.  | Concepto microbiológico de fermentación              | 20 |
| 2.4.    | Las levaduras  | 21 |
| 2.5.    | Fermentación alcohólica por levaduras y bacterias    | 22 |
| 2.5.1.  | Formación de etanol por levaduras                    | 22 |
| 2.5.2.  | La fermentación normal de la glucosa por la levadura | 23 |
| 2.6.    | Factores que intervienen en la fermentación          | 23 |
| 2.6.1.  | Concentración de azúcares                            | 24 |
| 2.6.2.  | pH   | 24 |
| 2.6.3.  | Oxígeno  | 24 |
| 2.6.4.  | Agitación  | 24 |
| 2.6.5.  | Grados Brix  | 25 |
| 2.6.6.  | Temperatura  | 25 |
| 2.7.    | Clasificación de los procesos de fermentación        | 25 |
| 2.7.1.  | Los productos finales de la fermentación             | 26 |
| 2.7.2.  | El oxígeno en el proceso de fermentación             | 26 |
| 2.8.    | Las rutas bioquímicas de las fermentaciones          | 27 |
| 2.8.1.  | La glucólisis  | 28 |
| 2.8.2.  | El ciclo de Krebs                                    | 29 |
| 2.8.3.  | La cadena respiratoria                               | 29 |
| 2.9.    | Los fermentadores                                    | 30 |
| 2.10.   | Curva de crecimiento de un microorganismo            | 30 |
| 2.10.1. | Fase de latencia                                     | 31 |

|             |  |           |
|-------------|--|-----------|
| 2.10.2.     | Fase logarítmica o exponencial                   | 31        |
| 2.10.3.     | Fase estacionaria                                | 31        |
| 2.10.4.     | Fase de muerte                                   | 32        |
| 2.11.       | Destilación                                      | 32        |
| 2.11.1.     | Tipos de destilación                             | 33        |
| 2.11.1.1.   | Destilación simple                               | 33        |
| 2.11.1.2.   | Destilación fraccionada                          | 33        |
| 2.11.1.3.   | Destilación por arrastre con vapor de agua       | 34        |
| <b>III.</b> | <b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>                      | <b>35</b> |
| 3.1.        | Localización del experimento                     | 35        |
| 3.2.        | Situación geográfica y climática de la localidad | 35        |
| 3.2.1.      | Zona de vida                                     | 36        |
| 3.3.        | <b>MATERIALES</b>                                | <b>36</b> |
| 3.3.1       | Materia prima                                    | 36        |
| 3.3.2.      | Material de planta                               | 36        |
| 3.3.3.      | Material de laboratorio                          | 37        |
| 3.3.4.      | Suministros de oficina                           | 37        |
| 3.4.        | <b>MÉTODOS</b>                                   | <b>38</b> |
| 3.4.1.      | Factores en estudio                              | 38        |
| 3.4.2.      | Tratamientos                                     | 38        |
| 3.4.3.      | Tipo de diseño                                   | 39        |
| 3.4.4.      | Tipo de análisis                                 | 40        |

|            |  |           |
|------------|--|-----------|
| 3.4.5.     | Análisis estadístico   | 41        |
| 3.4.6.     | Prueba de comparación de medias  | 42        |
| 3.4.7.     | Beneficio costo  | 42        |
| 3.5.       | <b>VARIABLES EXPERIMENTALES</b>  | 43        |
| a.         | Materia prima  | 43        |
| b.         | Durante el proceso   | 43        |
| c.         | Producto final   | 43        |
| 3.6.       | <b>MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO A NIVEL DE PLANTA PILOTO</b>      | 44        |
| 3.7.       | <b>DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO A NIVEL DE LABORATORIO</b>              | 47        |
| <b>IV.</b> | <b>RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>  | <b>51</b> |
| 4.1.       | Proceso de obtención de etanol a partir de caña de azúcar variedad POJ | 51        |
| 4.2.       | Características de la materia prima                                    | 51        |
| 4.3.       | <b>PROCESO DE FERMENTACIÓN A NIVEL DE LABORATORIO</b>                  | <b>54</b> |
| 4.3.1.     | Determinación del pH   | 54        |
| 4.3.2.     | Determinación del °Brix  | 58        |
| 4.3.3.     | Determinación del grado alcohólico                                     | 63        |
| 4.3.4.     | Determinación del tiempo de fermentación                               | 66        |
| 4.3.5.     | Determinación del volumen del producto final                           | 67        |

|              |   |           |
|--------------|---|-----------|
| 4.4.         | PRUEBAS EXPERIMENTALES A NIVEL DE PLANTA PILOTO                               | 70        |
| 4.4.1.       | Determinación del pH  | 70        |
| 4.4.2.       | Determinación del °Brix   | 72        |
| 4.4.3.       | Determinación del grado alcohólico  | 74        |
| 4.4.4.       | Determinación del volumen   | 74        |
| 4.5.         | ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DEL ALCOHOL A NIVEL DE LABORATORIO Y DE PLANTA PILOTO | 76        |
| 4.6.         | ANÁLISIS BENEFICIO COSTO  | 80        |
| <b>V.</b>    | <b>VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS</b>   | <b>81</b> |
| <b>VI.</b>   | <b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>   | <b>82</b> |
| 6.1.         | Conclusiones  | 82        |
| 6.2.         | Recomendaciones   | 84        |
| <b>VII.</b>  | <b>RESUMEN Y SUMMARY</b>  | <b>85</b> |
| 7.1.         | RESUMEN   | 85        |
| 7.2.         | SUMMARY   | 86        |
| <b>VIII.</b> | <b>BIBLIOGRAFÍA</b>   | <b>87</b> |

## ÍNDICE DE CUADROS

| NÚMERO    | DESCRIPCIÓN  | PÁG. |
|-----------|--|------|
| Cuadro 1. | Clasificación taxonómica de la caña de azúcar                              | 3    |
| Cuadro 2. | Rendimientos de caña de azúcar en países de América Latina                 | 17   |
| Cuadro 3. | Rendimiento de etanol con una productividad de 65 ton/ha de caña de azúcar | 18   |
| Cuadro 4. | Rendimiento de etanol con una productividad de 85 ton/ha de caña de azúcar | 19   |

## ÍNDICE DE TABLAS

| <b>NÚMERO</b> | <b>DESCRIPCIÓN</b>                                  | <b>PÁG.</b> |
|---------------|---|-------------|
| Tabla 1.      | Localización del experimento                        | 35          |
| Tabla 2.      | Parámetros climáticos                               | 35          |
| Tabla 3.      | Factores en estudio                                 | 38          |
| Tabla 4.      | Tratamientos en estudio                             | 39          |
| Tabla 5.      | Características del experimento                     | 40          |
| Tabla 6.      | Fuente de variación                                 | 40          |
| Tabla 7.      | Prueba de análisis de varianza                      | 41          |
| Tabla 8.      | Valores de pH en la materia prima                   | 51          |
| Tabla 9.      | Valores de °Brix en la materia prima                | 52          |
| Tabla 10.     | Valores de pH durante el proceso de fermentación    | 54          |
| Tabla 11.     | Análisis de varianza para pH                        | 55          |
| Tabla 12.     | Valores de °Brix durante el proceso de fermentación | 58          |
| Tabla 13.     | Valores de °Brix inicial y final                    | 59          |
| Tabla 14.     | Análisis de varianza para °Brix                     | 60          |
| Tabla 15.     | Análisis de varianza para °GL                       | 63          |
| Tabla 16.     | Análisis de varianza para el tiempo de fermentación | 66          |
| Tabla 17.     | Volumen del producto final                          | 67          |
| Tabla 18.     | Análisis de varianza para volumen                   | 68          |
| Tabla 19.     | Valores de pH en la planta piloto                   | 70          |

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| Tabla 20. | Valores de °Brix en la planta piloto                    | 72 |
| Tabla 21. | Volúmenes de alcohol obtenidos a nivel de planta piloto | 75 |
| Tabla 22. | Valores cromatográficos                                 | 76 |
| Tabla 23. | Costo de producción por cada 30 l                       | 80 |

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

| <b>NÚMERO</b> | <b>DESCRIPCIÓN</b>                                  | <b>PÁG.</b> |
|---------------|---|-------------|
| Grafico 1.    | Valores de pH en la materia prima                   | 52          |
| Grafico 2.    | Valores de °Brix en la materia prima                | 53          |
| Grafico 3.    | Valores de pH durante el proceso de fermentación    | 55          |
| Grafico 4.    | Prueba de medias para pH (factor levadura)          | 57          |
| Grafico 5.    | Prueba de medias para pH (factor temperatura)       | 57          |
| Grafico 6.    | Valores de °Brix durante el proceso de fermentación | 58          |
| Grafico 7.    | Valores de °Brix inicial y final                    | 59          |
| Grafico 8.    | Prueba de medias para °Brix (factor levadura)       | 61          |
| Grafico 9.    | Prueba de medias para °Brix (factor temperatura)    | 62          |
| Grafico 10.   | Interacciones para °Brix                            | 62          |
| Grafico 11.   | Prueba de medias para °GL (factor levadura)         | 64          |
| Grafico 12.   | Prueba de medias para °GL (factor temperatura)      | 64          |
| Grafico 13.   | Comparación °Brix con °GL                           | 65          |
| Grafico 14.   | Valores de °GL                                      | 65          |
| Grafico 15.   | Prueba de medias para el tiempo de fermentación     | 67          |
| Grafico 16.   | Prueba de medias para volumen                       | 68          |
| Grafico 17.   | Volumen del producto final                          | 69          |
| Grafico 18.   | Valores de pH en la planta piloto                   | 71          |
| Grafico 19.   | Valores de pH promedio en la planta piloto          | 71          |



|             |   |    |
|-------------|---|----|
| Grafico 20. | Valores de °Brix en la planta piloto                    | 73 |
| Grafico 21  | Valores de °Brix promedio en la planta piloto           | 73 |
| Grafico 22. | Valores de °GL en la planta piloto                      | 74 |
| Grafico 23. | Volúmenes de alcohol obtenidos a nivel de planta piloto | 75 |
| Grafico 24. | Valores de metanol                                      | 78 |
| Grafico 25. | Valores de alcoholes superiores                         | 79 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

| NÚMERO     | DESCRIPCIÓN   | PÁG. |
|------------|---|------|
| Figura 1.  | Fermentación  | 23   |
| Figura 2.  | Productos que se pueden formar a partir del piruvato          | 28   |
| Figura 3.  | Fases de crecimiento de un microorganismo                     | 30   |
| Figura 4.  | Diagrama para la obtención de etanol a partir de jugo de caña | 46   |
| Figura 5.  | Recepción de la materia prima                                 | 47   |
| Figura 6.  | Preparación de la materia prima                               | 47   |
| Figura 7.  | Preparación de la levadura                                    | 48   |
| Figura 8.  | Colocación de las muestras en los erlenmeyers                 | 48   |
| Figura 9.  | Fermentación de las muestras                                  | 49   |
| Figura 10. | Destilación   | 49   |
| Figura 11. | Diagrama de flujo a nivel de laboratorio                      | 50   |

## ÍNDICE DE ANEXOS

| <b>NÚMERO</b> | <b>DESCRIPCIÓN</b>                                  |
|---------------|---|
| Anexo 1.      | Mapa de ubicación                                   |
| Anexo 2.      | Valores de pH durante el proceso de fermentación    |
| Anexo 3.      | Valores de °Brix durante el proceso de fermentación |
| Anexo 4.      | Valores de grado alcohólico                         |
| Anexo 5.      | Valores de tiempo de fermentación                   |
| Anexo 6.      | Valores de volumen del producto final               |
| Anexo 7.      | Análisis físico químico del alcohol                 |
| Anexo 8.      | Cromatogramas                                       |
| Anexo9.       | Norma INEN 362                                      |
| Anexo10.      | Fotografías del proceso de obtención de etanol      |
| Anexo11.      | Glosario  |

## I. INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar es cultivo tradicional en el Ecuador destinado principalmente a la obtención de azúcar y otros subproductos como melaza, miel, panela y etanol. En los últimos años el gobierno ecuatoriano ha venido impulsando la utilización de etanol como reemplazo parcial de la gasolina; se está ejecutando en la ciudad de Guayaquil el plan piloto de formulación y uso de gasolina extra con etanol anhidro, hasta un reemplazo del 5% en su primera etapa (INER, 2014).

El país requiere aproximadamente 6`000.508 L/año, de los cuales se logra captar entre 3 y 4 millones por año, siendo necesario incrementar el abastecimiento de etanol como biocombustible. La provincia de Bolívar tiene sectores destinados a la producción de caña de azúcar: Regulo de Mora, Tablas de la Libertad (grande y chico), Balsapamba, sectores de Limón, La Cena, Santa Lucia, Chaso Juan y la zona de Facundo Vela, siendo esta ultima la más representativa en la producción de caña de azúcar en donde existe aproximadamente 1.505 Has. de caña sembrada. La producción de etanol de la asociación de cañicultores de la parroquia Facundo Vela es de 7.000 l mensuales, los cuales son vendidos a Petroecuador para posteriormente ser utilizado como etanol anhidro (MAGAP, 2012).

Los productores presentan algunos problemas en lo relacionado al incremento de la producción y de la calidad del etanol obtenido. La variedad más sembrada es la POJ, sin embargo los cañaverales tiene una edad promedio de 20 a 25 años los suelos presentan mal manejo lo que propende a la aparición de procesos erosivos. En lo referente a la fermentación se la realiza de forma tradicional, en el 2012 el Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador, implementó tecnología con el fin de mejorar el proceso de obtención de etanol. El principal problema que presentan es el proceso de la fermentación, que se realiza de 3 a 4 días y obtienen un grado alcohólico del etanol producido entre 60 a 70 ° GL.

La presente investigación aborda el estudio del efecto de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la temperatura, como factores que influyen directamente en el proceso de la fermentación anaeróbica y específicamente en el tiempo de duración de la misma.

Para la realización de esta investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Evaluar el efecto de la *Saccharomyces cerevisiae* en el proceso de fermentación.
- Establecer el efecto de la temperatura en el proceso de fermentación.
- Caracterizar física y químicamente el etanol obtenido en el mejor tratamiento.
- Determinar el beneficio costo en el mejor tratamiento.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Caña de azúcar

La caña de azúcar es una planta monocotiledónea que pertenece a la familia de las gramíneas (Osorio, G. 2007). Su nombre científico es *Saccharum officinarum L.*; su nombre común caña de azúcar, es conocida con otros nombres, caña de castilla, caña dulce, cañaduz, caña melar (Díaz, L. 2002).

#### 2.1.2 Clasificación taxonómica

**Cuadro 1.** Clasificación taxonómica de la caña de azúcar

| <b>CRITERIO</b>    | <b>DETALLE</b>  |
|--------------------|-----------------|
| <b>Reino</b>       | Vegetal         |
| <b>División</b>    | Magnoliophyta   |
| <b>Clase</b>       | Angiospermae    |
| <b>Sub – clase</b> | Monocotyledonea |
| <b>Súper Orden</b> | Commelinidae    |
| <b>Orden</b>       | Commelinales    |
| <b>Familia</b>     | Poaceae         |
| <b>Genero</b>      | Saccharum       |
| <b>Especie</b>     | Offcinarum L.   |

Fuente: Díaz, L. 2009

#### 2.1.3. Origen

Según Edgerton (1958), la caña de azúcar es nativa de las regiones subtropicales y tropicales del sudeste asiático. Alejandro Magno la llevo de la india hacia Persia, mientras los árabes la introdujeron en Siria, Palestina, Arabia y Egipto, de donde se extendió por todo el continente africano y a la Europa meridional. A finales del siglo

XV, Cristóbal Colon la llevo a las islas del Caribe, de allí fue llevada a toda América Tropical y Subtropical (Díaz, L. 2002).

#### **2.1.4. La caña de azúcar en el Ecuador**

La caña de azúcar constituye uno de los principales cultivos permanentes, es la materia prima básica para la elaboración de azúcar refinada principalmente a nivel industrial. También se la utiliza en pequeña escala para la elaboración de panela, melaza, bebidas alcohólicas artesanales, y, desde el año 2008 se está utilizando como materia prima para la elaboración de biocombustible.

Las primeras variedades usadas desde hace más de 100 años para la producción de azúcar, fueron las cañas nobles (*Saccharum officinarum*) tales como cristalina, castilla, rayada, blanca, etc. Luego se usaron las variedades híbridas de la serie POJ, por ejemplo la POJ2878, que se usaban principalmente para producir alcohol y panela en las estribaciones de las cordilleras occidental y oriental. Más adelante, entre los años 1960 a 1970, se introdujeron otras variedades como la POJ3016, PR7058, azul casa grande, entre otras (Castillo & Cifuentes, 2004).

Alrededor de 1960 se introduce la variedad Rangar desde Australia, y a partir de 1966 se inicia la multiplicación e incremento del número de Ha. sembradas, especialmente en los ingenios San Carlos y Valdez. Por ejemplo en el ingenio San Carlos, en 1966 se siembran 56 Ha, llegando en 1997 a ocupar el 90% del área sembrada. Esta variedad no es completamente resistente a las enfermedades de la caña presentes en Ecuador y presenta moderada o baja respuesta a condiciones desfavorables del ambiente, tales como sequía y suelos muy pesados o arcillosos y arenosos (Castillo & Cifuentes, 2004).

Otras variedades han sido cultivadas a través de ciertos periodos de tiempo, disminuyendo rápidamente su área cultivada y en muchos casos desapareciendo

totalmente. Estas variaciones pueden deberse a la poca estabilidad genética que presentaron a través de los años o su susceptibilidad a enfermedades comunes, tales como raquitismo de la soca (Castillo & Cifuentes, 2004).

#### **2.1.5. Variedades de caña de azúcar**

Las variedades existentes en el Ecuador han venido mejorando en el transcurso de los años, las empresas destinadas a la producción de azúcar buscan variedades de alto rendimiento, de ahí la importancia del mejoramiento genético de las plantas. Es necesario mencionar que el azúcar producido en las hojas de la caña, es almacenado en los tallos, que acumulan mayor o menor cantidad de acuerdo a la constitución genética de la variedad y el ambiente donde ésta se desarrolle. Mientras mayor capacidad tenga la planta para reaccionar a un ambiente determinado, mejor será su acumulación de azúcar. De allí la importancia de disponer de variedades que respondan a las condiciones ambientales (Castillo & Cifuentes, 2004).

##### **2.1.5.1. Variedad POJ 27-14**

Los tallos de esta variedad son largos y cilíndricos, de diámetro grueso, color morado, entrenudos de longitud media y no contienen cerosina. Su hábito de crecimiento es semirrecto, de hojas abiertas, macollamiento escaso, pelusa abundante y se deshoja con facilidad (Osorio, G. 2007).

Es un material de amplia adaptación a diferentes agroecosistemas y especialmente en suelos ácidos y buen comportamiento en la mayoría de los suelos de ladera (Osorio, G. 2007).

Su maduración es tardía, puede presentarse antes de los 20 meses de edad del cultivo y genera jugos de excelente calidad. Presenta facilidad para la limpieza de jugos. Es susceptible al pisoteo (Osorio, G. 2007).



### **2.1.5.2. Variedad POJ 28-78**

Esta fue obtenida en la isla de Java e introducida en Colombia en 1929. Tiene tallos largos, diámetro mediano a grueso, color amarillo verdoso y entrenudos de longitud media y cubiertos con cerosina; su habita de crecimiento es semirrecta y sus hojas abiertas contiene bastante pelusa, se deshoja fácilmente y se adapta a diferentes agro ecosistemas. La maduración es tardía, la floración es escasa y genera jugos de buena calidad; con un equipo que cumpla con una BPM de mantenimiento y calibración adecuada se puede lograr un 55 a 60% de extracción (Osorio, G. 2007).

Es un material de amplia adaptación en las zonas paneleras, que ofrecen muy buena concentración de sacarosa en los jugos, por lo que da un excedente índice de conversión a panela que puede llegar a un 12,5% a escala comercial, y ofrece excelentes posibilidades para la obtención de nuevas presentaciones del producto, como panela instantánea, granulada, pastillas, panelines, redonda y en cubos. Los jugos son de fácil clarificación y las mieles son de excelente calidad. Es altamente productora de biomasa y la palma obtenida al momento del corte es abundante y de buena calidad, una BPA es utilizarla en alimentación animal (Osorio, G. 2007).

### **2.1.5.3. Variedad ECU-01**

Proviene del cruzamiento entre variedades SP81-6215 x SP80-1816, realizado en el Centro de Tecnología Canavieira Brasil, es un poco más tolerante que la variedad rangar al saltamontes (*Perkinsiello saccharicida*) y al barredor del tallo (*Diatraea saccharalis*), pero un poco más susceptible al áfido amarillo.

El manejo de estas plagas requiere de una evaluación periódica, procurando mantener siempre un equilibrio biológico a través de la conservación y aumento de los enemigos naturales. Su hábito de crecimiento es semirrecto, de hojas abiertas, verde oscuro con presencia de cera y poca pelusa (CINCAE, 2007).

#### **2.1.5.4. Variedad RD 75-11**

Es originaria de República Dominicana. Sus tallos largos, reclinados y curvos son medianamente gruesos, de color amarillo verdoso, con entrenudos largos, cilíndricos y cubiertos con cerosina. Su hábito de crecimiento es semirrecto, con hojas largas, angostas y puntas dobladas, poseen un color verde amarillento, no tienen pelusa y, si la tienen, es rala. Presenta buen macollamiento, aunque no buen deshoje natural. Los tallos tienden a inclinarse y son susceptibles al volcamiento, por lo cual se recomienda utilizar esta variedad en terrenos menos pendientes u ondulados. Se comporta muy bien en suelos que no presentan excesos de humedad. Presenta restricción en ambientes que propicien la floración (Osorio, G. 2007).

#### **2.1.6. Distribución y eficiencia productiva**

Este cultivo se encuentra en los cinco continentes, siendo Europa el que menos área cultivada presenta por la latitud a la que se encuentra, es representado por Islas Canarias. Málaga y Granada de España con unas 1,150 ha. América es el continente que más caña cultiva en el mundo y junto con Asia representan el 90% del total mundial (Díaz, L. 2002).

#### **2.1.7. Producción mundial**

En términos de producción, la caña, es el cultivo primario de azúcar a nivel mundial. El número actual de producción se ubica en 1.450 millones de toneladas de azúcar, de 22 millones de Has. alrededor del mundo. Los países productores líderes de caña son Brasil, India y China, con aproximadamente 60% de la producción mundial. Su presencia dentro de la industria, va ganando mayor presencia, como en el caso de la industria del biocombustible. Brasil utiliza el 48% de su producción de caña para producir etanol, mientras que el resto es ocupado para la producción de azúcar (Barcia, W. 2012).

### **2.1.8. Producción nacional**

Entre los cultivos de importancia nacional y mundial tanto para la alimentación como para la industria de bioenergía y productos derivados, está la caña de azúcar. Se estiman unas 25 millones de ha sembradas en el mundo, principalmente para extracción de azúcar (Castillo, R. 2013).

En Ecuador se cosechan anualmente unas 81.000 ha para producción de azúcar y etanol. Otras 50.000 ha se destinan para producción de panela y alcohol artesanal. Además de la producción de azúcar y sus derivados, como biocombustible etanol, este producto ayuda a reducir las emisiones de CO<sub>2</sub> de los combustibles fósiles. A su vez, la planta captura el dióxido de carbono del ambiente y procesa los azúcares y bagazo. Se calcula que 1.000 toneladas de caña de azúcar son equivalentes a 16.259 toneladas de petróleo. Es una planta noble, que con ingeniería genética a más de incorporar resistencia genética a plagas y enfermedades, puede convertirse en una biofábrica para producir vacunas, vitaminas y mejorar la producción de biocombustibles y energía (Castillo, R. 2013).

En la cuenca baja de la provincia del Guayas en el 2012, se produjo 580mil toneladas de azúcar, cuyo consumo es principalmente nacional. Los ingenios azúcares han proyectado una zafra con grandes expectativas. En el 2013 se cosecho un promedio de 80 toneladas por hectárea de caña, con un rendimiento de azúcar de 220 libras de azúcar por hectárea. Como aporte a esta producción y por la importancia que tiene este cultivo en Ecuador el CINCAE, ha entregado cuatro variedades de caña desarrolladas bajo las condiciones ambientales de producción del litoral ecuatoriano: ECU-01, EC-02, EC-03 y EC-04. Todas las variedades superan a la variedad más sembrada denominada Rangar tanto en caña como en azúcar. Hasta el momento la expansión de la primera variedad ha sido exitosa, llegando a las 10.000 ha sembradas (Castillo, R. 2013).

### **2.1.9. Producción Local**

En la provincia Bolívar existen 8.000 Has. utilizadas para la producción de caña. Pero 3.500 Has. las que se utilizan en los programas de comercio justo y producción orgánica. La zona subtropical de la provincia se consolida poco a poco como un sector agroexportador. Por ejemplo, en San Luis de Pambil, parroquia del cantón Las Naves, la Asociación de Cañicultores de Facundo Vela, Salinas (en su parte subtropical), Ramón Campaña, el Corazón, inicio sus exportaciones de etanol a partir del 2008. La empresa francesa L'oreal es una de las compañías que compra esa materia prima ecuatoriana. El etanol, derivado de la caña de azúcar, es utilizado para la elaboración de cosméticos en este caso. Más de mil personas de las cinco parroquias trabajan fortaleciendo la producción de los mencionados productos. El alcohol es comercializado también a Petrocomercial, empresa estatal que elabora con él la ecogasolina (MIPRO, 2013).

### **2.1.10. Derivados de la caña de azúcar**

De ese espigado y alto tallo de la caña no solo se produce azúcar, es una planta que ofrece diversos productos y subproductos entre ellos tenemos: panela, azúcares, alcohol carburante, etanol, mieles, ácido cítrico (PROCAÑA, 2015).

#### **2.1.10.1. Panela**

Producto obtenido por evaporación directa del jugo de caña de azúcar, ya sea o no previamente clarificado. La panela se puede encontrar en forma compacta (cuadrada o circular) como ha sido su presentación tradicional o de manera granulada, en polvo y hasta saborizada. Por normas de sanidad hoy su presentación debe llevar empaque (PROCAÑA, 2015).

### **2.1.10.2. Azúcares**

El azúcar, componente básico de la dieta humana moderna, está constituida esencialmente, por sacarosa y se hizo conocida en el mundo occidental gracias a los árabes, que lo introdujeron en la edad media como especia de alto valor. El azúcar de la caña comenzó a ser producido en Portugal a partir del cultivo en sus colonias del Atlántico y, debido a la amplia expansión del cultivo de caña en el Nuevo Mundo tropical, pasó a ser de un producto de uso restringido a las elites a mercancía de gran empleo en todo el mundo (BNDES, 2008).

Actualmente, más de 130 países producen azúcar y su producción mundial en la cosecha 2007 alcanzó los 164,5 millones de toneladas. Un 78% del total fue producido de la caña de azúcar cultivada, principalmente, en regiones tropicales y subtropicales del hemisferio sur. Lo demás se extrajo de la remolacha azucarera, cultivada sobre todo en las zonas templadas del Hemisferio Norte. Como los costos de producción de azúcar de caña son inferiores a los costos a base de la remolacha, cada vez se amplía más la fracción producida por los países en desarrollo (BNDES, 2008).

### **2.1.10.3. Alcohol carburante**

La caña es la materia prima para su producción, estudios científicos dan como resultado que es el producto agrícola que presenta el balance energético más alto comparado con otros. Los combustibles que se generan en la caña son usados por los ingenios a través del bagazo y paja que no son renovables y no contaminantes; el CO<sub>2</sub> que emite cuando se quema, al igual que al quemar el alcohol, es la misma cantidad que absorbe la caña cuando crece, de esta forma el CO<sub>2</sub> en la atmósfera no se incrementa (PROCAÑA, 2015).

#### **2.1.10.4. Alcohol etílico**

El compuesto químico etanol, o alcohol etílico, es un alcohol que se presenta como líquido incoloro e inflamable con un punto de ebullición de 78°C principal producto de las bebidas alcohólicas (PROCAÑA, 2015).

#### **2.1.10.5. Mieles**

Existen varios tipos de mieles de acuerdo con el estado del proceso:

Meladura: Es el jugo clarificado y concentrado por evaporación.

Miel virgen: Es la meladura, que no ha sido sometida al proceso de cristalización, cuando su contenido de azúcares totales como reductores, es mayor a 67%.

Miel Rica Invertida: Es el producto que se obtiene cuando la meladura se somete a los procesos de inversión y concentración, logrando contenidos de azúcares totales como reductores superiores a 75%.

Miel: Líquido madre de las masas cocidas, que se separa de los cristales por centrifugación.

Masa Cocida: Mezcla, altamente concentrada, de cristales y líquido madre, que se obtiene por evaporación al vacío.

Miel final o Melaza: Líquido denso y viscoso obtenido de la centrifugación de la masa cocida final y del cual no es posible recuperar, económicamente, más sacarosa por los métodos usuales (PROCAÑA, 2015).

#### **2.1.10.6. Ácido cítrico**

El ácido cítrico o su forma ionizada, el citrato, es un ácido orgánico que está presente en la mayoría de las frutas, sobre todo en cítricos como el limón y la naranja. Se obtiene por fermentación de distintas materias primas, especialmente la melaza de caña de azúcar (PROCAÑA, 2015).

#### **2.1.11. Subproductos de la caña de azúcar**

La caña, nos brinda una principal utilidad que es el endulzante natural, el azúcar, el cual es extraído de su tallo en donde acumula un líquido dulce. Además de utilizarlo para la producción del azúcar, se emplea como fuente de materias primas para la que se elaboran otros productos derivados, como en el caso de: la panela también conocida como piloncillo su utilidad se destina a endulzantes y elaboración de licores con el ron por ejemplo, alimento para animales (procesos orgánicos e inorgánicos), soluciones de impacto ambiental (alcohol como combustible renovable), papel, madera, cartón, etc (Díaz, L. 2002)

La caña de azúcar permite producir mucho más que bioetanol, azúcar y electricidad. Entre todas los coproductos tradicionales de la caña se podrían citar la melaza, el aguardiente, el bagazo, la levadura, la torta de filtro y la vinaza. Y la lista de nuevos productos que podemos mencionar incluye desde realzadores de sabor para la industria de alimentos hasta plástico para embalajes. Un minucioso estudio publicado en Brasil, en el año 2005, menciona más de 60 tecnologías que emplean la caña de azúcar como materia prima en distintos sectores industriales (BNDES, 2008).

La melaza – miel pobre o miel residual de la fabricación de azúcar es muy usada para la producción de bioetanol en las destilerías encontradas en las plantas, pero también se la puede utilizar para la alimentación animal o para el cultivo de hongos y bacterias, pasando por otros procesos de fermentación dirigidos a la fabricación de

productos químicos y farmacéuticos, así como la producción del fermento biológico bastante empleado en la panificación. La levadura es el extracto seco obtenido mediante tres procesos alternativos: el secado del caldo de la levadura, del fondo de cuba o también de la vinaza, constituyendo un suplemento proteico de bajo costo, empleado como ingrediente del alimento balanceado animal y en la industria de alimentos (BNDES, 2008).

El bagazo sirve, principalmente, como combustible. Además una fuente importante de celulosa para las industrias de papel y cartón. En Sao Paulo, el bagazo se comercializa mucho gracias a su capacidad energética y también se usa regularmente en industrias de cerámicas y en el procesamiento de la naranja, entre otras (BNDES, 2008).

## **2.2. Etanol**

Conocido como alcohol etílico, es un alcohol que se presenta como un líquido incoloro e inflamable con un punto de ebullición de 78 °C al mezclarse con agua en cualquier proporción, da una mezcla azeotrópica. Su fórmula química es  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ , principal producto de las bebidas alcohólicas como el vino (15% aproximadamente), la cerveza (5%) o licores (hasta 50%) (Toala & Astudillo, 2010).

Las recurrentes crisis en los precios y el agotamiento de los combustibles fósiles como el petróleo, el cual es clave en el desarrollo de la vida de la sociedad hacen necesaria la investigación, fomento y uso de nuevos combustibles. Uno de estos combustibles es el etanol producido a partir de la fermentación de los azúcares, el que debidamente procesado poco a poco comienza a postularse como combustible en el mercado internacional (Levtova, 2006).



Características:

- Es un líquido inflamable, incoloro y es el alcohol de menor toxicidad.
- Posee un alto octanaje y una mayor solubilidad en gasolina que el metanol.
- Es usado como aditivo que se añade a la gasolina para oxigenarla, llamado Ethyl Teriary Butyl Ether, el cual ayuda a que se produzca una mejor y limpia combustión.
- Se lo usa en las bebidas alcohólicas y como desinfectante o solvente (Celi & Macías, 2006).

### **2.2.1. Etanol como biocombustible**

El etanol carburante es un alcohol libre de agua, conocido como alcohol anhidro; con el fin de lograr la combinación con las gasolinas, este cuenta con un alto octanaje y se produce por la fermentación de azúcares. Es reconocido en la actualidad como un biocombustible de alta calidad (Briceño y Calero, 2004).

El etanol tiene numerosas aplicaciones industriales como disolvente y como combustible. Históricamente, el empleo del etanol como combustible de automóvil data de los años posteriores a la Primera Guerra Mundial, cuando en Inglaterra funcionaron automóviles con mezclas de gasolina y etanol (Celi & Macías, 2006).

El incremento a escala mundial del etanol como biocombustible se fundamenta en dos grandes realidades: por un lado, la cada vez más complicada localización y obtención de petróleo y los altos costos de sus derivados y, por otro, los altos niveles de contaminación ambiental que estos producen (Briceño & Calero, 2004).

Actualmente, son varios los países que están estudiando el empleo del etanol, obtenido de la biomasa y más específicamente a partir de la caña de azúcar, como

combustible, bien como componente único o bien como una mezcla con gasolinas (Celi & Macías, 2006).

### **2.2.2. Producción de etanol a nivel nacional**

Ecuador produce diariamente 125.000 litros de alcohol para bebidas alcohólicas, especialmente. La producción privada de etanol está a cargo de tres Azucareros Aztra (75.000 l/día): Sideral S.A: asociada al Ingenio San Carlos (20.000 l/día), y (Codona S.A, asociada al Ingenio Valdez (30.000 l/día). El costo promedio de etanol anhidrido por litro es estas fábricas es de USD 0,98 (Toala & Astudillo, 2010).

Ecuador exporta entre el 70 y el 80 % del alcohol que se fabrica, es decir, entre unas 20 y 30 mil toneladas, según los industriales Guayaquileños. El etanol se lo puede generar no solo de la caña, sino también del banano, yuca, arroz, maíz, sorgo, cebada y otros productos (Toala & Astudillo, 2010).

En Ecuador la producción de alcohol se encuentra desarrollada y reservada a lo que disponga el oligopolio constituido por Codana, Soderal y Producargo empresas nacionales, las dos primeras pertenecen al capital privado, mientras la última posee capital privado y estatal, en una relación de 40% y 60% respectivamente. Todas estas muestran una capacidad de producción total de entre 12.0000 – 15.0000 l de alcohol etílico por día, durante la época de zafra. Es decir, de Julio a Diciembre, el resto del año corresponde a la fase de interzafra en la cual no existe producción y como se reparten el mercado en igual proporción en lo que tiene que ver al producto citado, cada una de las empresas alcanzaría aproximadamente 40.000 l/diarios (Morales, J. 2010).

### **2.2.3. Producción de etanol a partir de caña de azúcar**

El cultivo más utilizado para la producción de etanol es la caña de azúcar, bien en forma de melaza o de zumo de caña. Esto ocurre principalmente en Brasil aunque también India produce etanol de estos cultivos. El organismo más utilizado para realizar el proceso de fermentación de los azúcares es la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, que puede fermentar la sacarosa de la caña hasta etanol, controlando las condiciones de aireación (Sánchez & Cardona, 2008).

La producción de bioetanol de caña de azúcar se puede basar en la fermentación, directamente del jugo de caña, o de las mezclas de jugo y melaza, que es como se realiza generalmente. En el caso del bioetanol extraído directamente del jugo, las primeras etapas del proceso de fabricación, desde la llegada de la caña hasta el tratamiento inicial del jugo, se asemejan al proceso de fabricación de azúcar. En un proceso más completo, el jugo pasa por el calaje, calentamiento y decantación, así como en el proceso del azúcar. Una vez tratado, el jugo se evapora para adecuar su concentración de azúcares y, eventualmente, se lo mezcla con la melaza, dando origen al mosto, una solución azucarada y lista para fermentar (BNDES, 2008).

El mosto sigue hacia los tanques de fermentación, donde se le agregan levaduras (hongos unicelulares de la especie *Saccharomyces cerevisiae*) y se fermenta durante un periodo de 8 a 12 horas, dando origen al vino (mosto fermentado, con una concentración del 7% al 10% de alcohol). El proceso de fermentación más utilizado en las destilerías es de Melle Boinot, cuya característica principal es la recuperación de las levaduras del vino mediante su centrifugación. De esta manera, luego de la fermentación, las levaduras se recuperan y se guardan para un nuevo uso, y el vino es enviado a las columnas de destilación (BNDES, 2008).

Durante la destilación, primero se recupera el bioetanol en forma hidratada, con aproximadamente 96 °GL (porcentaje en volumen), correspondiente a cerca de 6% de

agua en peso dejando la vinaza como residuo, en una proporción media de 10 a 13 litros por litro de bioetanol hidratado producido. En este proceso también se apartan otras fracciones líquidas, dando origen a los alcoholes de segunda y al aceite de fusel. El bioetanol hidratado se puede almacenar como producto final o bien, puede ser mandado a la columna de deshidratación. Pero, como se trata de una mezcla azeotrópica, sus componentes no se pueden separar a través de una simple destilación. La tecnología que más se utiliza es la deshidratación por medio de la adición del ciclohexano, cuando se formula una mezcla azeotrópica ternaria, con punto de ebullición inferior al del bioetanol anhidro (BNDES, 2008).

La posibilidad de utilizar los azúcares de caña, total o parcialmente, para la producción de bioetanol se convierte en una característica muy importante para esta agroindustria que, debido a las condiciones de precio, a la demanda existente y a las perspectivas de mercado puede establecer, respetando ciertos límites, un programa de producción de mínimo costo y máximo beneficio económico (BNDES, 2008).

#### **2.2.4. Producción agrícola y rendimiento de biocombustibles**

La mayoría de países en Latinoamérica cultiva la caña de azúcar para la producción de azúcar. Los principales productores son Brasil, México y Colombia. Los rendimientos promedio de producción para los principales productores de la región se presentan en el siguiente cuadro:

**Cuadro 2.** Rendimientos de caña de azúcar en países de América Latina

| <b>País</b> | <b>Ton/ha</b> |
|-------------|---------------|
| Perú        | 109,676       |
| Guatemala   | 96,032        |
| Colombia    | 91,569        |
| Ecuador     | 73,715        |

**Fuente:** Ramírez, M. 2008

Para estimar la productividad, se toman de referencia 2 rendimientos:

- Un nivel de rendimiento promedio de 65 ton/ha
- Un nivel de rendimiento bueno de 85 ton/ha

La fabricación de etanol a partir de la caña de azúcar se puede realizar con cualquiera de las siguientes materias primas (Ramírez, M. 2008).

- Miel pobre (c) o melazas, el ingenio mantiene la misma producción de azúcar y utiliza una destilería anexa para procesar las melazas agotadas que resultan del proceso de producción de azúcar para fabricar etanol.
- Miel rica (b), cuando existe interés en producir más etanol, no se agotan por completo las mieles, produciendo menos azúcar y dedicando una mayor parte para el etanol.
- Jugo directo, en este caso se desvía el jugo de caña hasta el punto en que ya no se produce azúcar, lo que aumenta considerablemente la producción de etanol

La cantidad de etanol producida varía según el tipo de materia prima utilizada (productividad industrial). Para tener una referencia se utilizan valores estimados según las condiciones de México con productividades de 65 y 85 ton/ha (Ramírez, M. 2008).

**Cuadro 3.** Rendimiento de etanol con una productividad de 65 ton/ha de caña de azúcar

| Rubro                                | Miel pobre (c) | Miel rica(b) | Jugo directo |
|--------------------------------------|----------------|--------------|--------------|
| Productividad industrial (l/tn caña) | 8.8            | 17.1         | 80           |
| Productividad etanol (l/ha)          | 572            | 1,111.5      | 5,200        |
| Productividad en ton etanol /ha      | 0,45           | 0,88         | 4,12         |

**Fuente:** Ramírez, M. 2008

**Cuadro 4.** Rendimiento de etanol con una productividad de 85 ton/ha de caña de azúcar

| Rubro                           | Miel pobre (c) | Miel rica (b) | Jugo directo |
|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|
| Productividad industrial (l/ha) | 8.8            | 17.1          | 80           |
| Productividad etanol (l/ha)     | 748            | 1,453.5       | 6,800        |
| Productividad en ton etanol /ha | 0,59           | 1.15          | 5.39         |

Fuente: Ramírez, M. 2008

### **2.2.5. Aplicaciones del etanol en la industria**

Además de usarse con fines culinarios (Bebida alcohólica), el etanol se utiliza ampliamente en muchos sectores industriales y en el sector farmacéutico, como principio activo o excipiente de algunos medicamentos y cosméticos (es el caso del alcohol antiséptico 70° GL y en la elaboración de ambientadores y perfumes) (Hernández, A. 2003).

La industria química lo utiliza como compuesto de partida en la síntesis de diversos productos, como en acetato de etilo (un disolvente para pegamentos, pinturas, etc.), el éter di etílico, etc. También se aprovechan sus propiedades desinfectantes (Hernández, A. 2003).

### **2.3. Fermentación**

Los procesos fermentativos o fermentaciones han sido utilizados y desarrollados por el hombre desde hace aproximadamente ocho mil años, a pesar de que no se conocía la existencia ni la influencia de los microorganismos en esos procesos (Hernández, A. 2003).

La palabra fermentación proviene de una adaptación del termino en latín fermentare, que significa “ebullir”; se utilizó porque describía la ebullición aparente que se

observa durante la fabricación de vinos, a causa de la producción del dióxido de carbono, gas que se libera en forma de burbujas y provoca movimiento en el líquido (Hernández, A. 2003).

El concepto de fermentación se ha ido modificando con el tiempo y, actualmente, abarca una gran cantidad de procesos y productos diversos: el termino se aplica tanto a procesos muy simples como a los que se desarrollan a escala industrial, con controles bien establecidos y de gran utilidad para el hombre, por lo que resulta difícil describirlo. Sin embargo, prevalecen dos criterios para su definición, uno bioquímico y otro microbiológico (Hernández, A. 2003)

### **2.3.1. Concepto bioquímico de fermentación**

La primera explicación bioquímica del proceso por el cual el azúcar en solución acuosa es descompuesto en alcohol y gas carbónico, en virtud de la acción de las células vivas de levadura, la dio el químico francés Louis Pasteur, el cual vio que mientras se descomponen el azúcar en ausencia de aire, las células de levadura viven y se propagan en el líquido en fermentación y llamo al proceso de la fermentación alcohólica “vida sin oxígeno” (Gilses & Veloz, 2006).

De acuerdo con la interpretación bioquímica hecha por Pasteur, la fermentación se conoce como la desasimilación anaeróbica de compuestos orgánicos por la acción de microorganismos u otras células o de extractos celulares (Gilses & Veloz, 2006).

### **2.3.2. Concepto microbiológico de fermentación**

Desde el punto de vista microbiológico, en la actualidad, se entiende por fermentación aquel proceso en el que los microorganismos producen metabolitos o biomasa, a partir de la utilización de sustancias orgánicas, en ausencia o presencia de oxígeno. La descomposición de los sustratos es llevada a cabo por enzimas

producidas por los microorganismos para tal finalidad. Se debe observar que el concepto llega a excluir a los microorganismos del proceso, siempre y cuando estén presentes sus enzimas; sin embargo, en estos casos, la velocidad de obtención y los rendimientos del producto son menores (Hernández, A. 2003).

#### **2.4. Las levaduras**

Las levaduras son micro hongos, bastante heterogéneos en su morfología y fisiología, sin embargo la forma habitual en la que se las encuentra es como células únicas. Algunas además de su forma unicelular o de levadura, pueden presentar micelio. Se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, localizadas en el suelo, en la superficie de las frutas, cereales, en el néctar de las flores y en ambientes acuáticos. La mayoría son saprofitas y proliferan en materia orgánica muerta, otras son parásitas, facultativas u obligadas, por lo que se desarrollan en otros seres (García V, 2004).

Entre las saprofitas, las fermentativas encargadas de la fermentación alcohólica de azúcares, constituyen el grupo de microorganismos más utilizados en la industria elaboradora de bebidas (García, V. 2004).

*Saccharomyces cerevisiae*, es la levadura más conocida y de importancia industrial ya que es la especie de levadura utilizada por excelencia para la obtención de etanol a nivel industrial debido a que es un organismo de fácil manipulación y de recuperación, no es exigente en cuanto a su cultivo, no presenta alto costo, tolera altas concentraciones de etanol, en la fermentación produce bajas concentraciones de subproductos, es osmotolerante, capaz de utilizar altas concentraciones de azúcares, presenta alta viabilidad celular para el reciclaje y características de floculación y sedimentación para el procesamiento posterior (Fajardo & Sarmientos, 2007).



## 2.5. Fermentación alcohólica por levaduras y bacterias

La fermentación alcohólica, es un proceso anaeróbico realizado por levaduras y de algunas clases de bacterias. Donde el sustrato celular; mono y di sacáridos en su mayoría, son transformados principalmente en alcohol etílico y dióxido de carbono, con la generación de equivalentes de reducción de los compuestos NADH/NAD<sup>+</sup> y NADHP/NADP<sup>+</sup> y enlaces de alta energía de fosfato, ATP. La energía se sintetiza como ATP a partir de un proceso de glicolisis al que sigue el metabolismo del piruvato. De este modo la fermentación completa la glucolisis y hace posible producir energía en ausencia de oxígeno (Nielsen, J.2003).

El etanol es uno de los productos de la fermentación de los azúcares más abundante entre los microorganismos. Incluso en las plantas y muchos hongos se almacena etanol en condiciones anaeróbicas. Los principales productores de alcohol son levaduras, sobre todo cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. Las levaduras, al igual que la mayoría de los hongos, son organismos de respiración aeróbica; en ausencia de aire fermentan los hidratos de carbono a etanol y anhídrido carbónico. El alcohol aparece también como producto principal o secundario de la fermentación de hexosas o pentosas en muchas bacterias anaeróbicas y aeróbicas facultativas (Schlegel, H. 1997).

### 2.5.1. Formación de etanol por levaduras

Las levaduras han sido un objeto de investigación preferencial en el estudio de las vías del metabolismo básico antes. Ya Gay-Lussac (1815) formuló la transformación de la glucosa a etanol en su forma actual:



### 2.5.2. La fermentación normal de la glucosa por la levadura.

La fermentación de la glucosa a etanol y anhídrido carbónico por las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) se realiza a través de la vía de la fructosabifosfato. La transformación de piruvato a etanol implica dos pasos. En el primero se descarboxila el piruvato por la piruvato-descarboxilasa (1) con participación de la tiaminapirufosfato, formándose acetaldehído; este se reduce a etanol con  $\text{NADH}_2$  mediante el alcohol-deshidrogenasa (2):

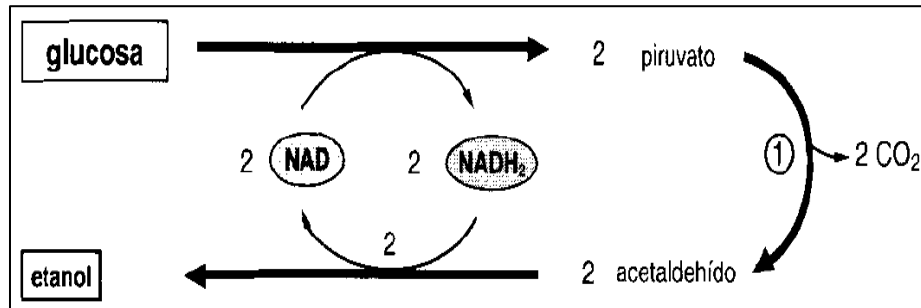


Figura 1. Fermentación

Fuente: Hans G. Schlegel 1997.

En esta transferencia de hidrógeno se consume el hidrógeno liberado en la deshidrogenación de la triosa-fosfato: el balance de oxidación-reducción queda así equilibrado (Schlegel, H. 1997).

### 2.6. Factores que intervienen en la fermentación

En el ámbito industrial es importante evaluar los factores físicos - químicos que afectan el proceso fermentativo, a fin de establecer el mejor rendimiento.

### **2.6.1. Concentración de azúcares**

Para la multiplicación inicial de la levadura, la concentración de azúcares debe mantenerse en niveles bajos, ya que la respiración de la levadura puede ser interferida con grandes cantidades de azúcar en la fase inicial (Betancourt, R. 2001).

### **2.6.2. pH**

El pH tiene un marcado efecto en la velocidad de crecimiento y en el rendimiento. El pH óptimo para algunos organismos en especial para las levaduras se encuentra en un rango de 4.0 a 6.0. Un cambio en el valor de pH puede afectar su composición o su naturaleza de la superficie microbiana al disociarse ácidos y bases. Este último puede afectar la floculación de la biomasa o la adhesión a las paredes. El pH tiene una gran influencia en los productos finales del metabolismo anaerobio (Fajardo y Sarmientos, 2007).

### **2.6.3. Oxígeno**

La presencia de oxígeno tiende a proporcionar una menor producción de alcohol, ya que la levadura pasará a oxidar carbohidratos por medio de la respiración, llevando a la proliferación de levadura y no a la producción de alcohol (Betancourt, R. 2001).

### **2.6.4. Agitación**

Es un factor que actúa disminuyendo la sedimentación de células, proporcionando un contacto eficiente con el sustrato. Una agitación moderada del mosto en la fermentación permite mantener las células en suspensión (Betancourt, R. 2001).

### **2.6.5. Grados Brix**

El mosto para fermentación alcohólica debe tener un grado brix entre 16 y 20, pues si el brix es muy bajo el grado alcohólico obtenido será pobre por lo contrario si el brix es muy alto la fermentación no se efectúa, pues la presión osmótica que se ejerce sobre las levaduras es grande y no permite que actúen sobre los azúcares (Coronel, M. 2011).

### **2.6.6. Temperatura**

Influye directamente en el tiempo de fermentación y en la aparición o no de infecciones. La temperatura durante un proceso fermentativo industrial se mantiene entre 30 – 32 °C, aunque la temperatura óptima para las levaduras se encuentra entre 25 – 30 °C. Temperaturas más elevadas favorecen el desarrollo bacteriano, inhiben el crecimiento de la levadura y promueven la evaporación de alcohol, sin embargo algunas tandas tienden a estabilizarse espontáneamente alrededor de los 36 °C (Betancourt, R. 2001).

## **2.7. Clasificación de los procesos de fermentación**

La gran cantidad de procesos y productos que involucran el término fermentación hace difícil no solo la definición del concepto, sino también su clasificación. En general, se establecen divisiones con base en (Hernández, A.2003).

- El tipo de producto final por obtener
- La presencia o ausencia de oxígeno en el proceso.

### **2.7.1. Los Productos finales de la fermentación**

Desde el punto de vista comercial, las fermentaciones se pueden clasificar tomando en cuenta los productos que se obtendrán. Entre ellos, se pueden, mencionar:

- Células microbianas (biomasa)
- Metabolitos microbianos (enzimas, etanol, butanol, acetona, ácidos orgánicos, etc).

### **2.7.2. El oxígeno en el proceso de fermentación**

También es posible clasificar las fermentaciones con base en la presencia o ausencia de oxígeno molecular durante el proceso. De acuerdo con esta división, los procesos se denominan:

- Fermentación aerobia
- Fermentación anaerobia.

En la *fermentación aerobia*, el aceptor final de los electrones es el oxígeno; es imprescindible su presencia para el desarrollo del microorganismo y la producción del compuesto deseado (Hernández, A.2003).

En este tipo de procesos se produce fundamentalmente biomasa, dióxido de carbono y agua.

En la *fermentación anaerobia*, el proceso de producción del metabolito de interés se desarrolla en ausencia de oxígeno; los productos finales son sustancias orgánicas, por ejemplo, ácido láctico, ácido propionico, ácido acético, butanol, etanol y acetona. Sin embargo en la mayoría de las fermentaciones anaeróbicas, se requiere un poco de

oxígeno al inicio del proceso para favorecer el crecimiento y la reproducción del microorganismo (Hernández, A.2003).

En los procesos anaeróbicos, los microorganismos producen mucho menos energía que los aeróbicos y, para suplir sus necesidades de energía, metabolizan una mayor cantidad de azúcares; por consiguiente, elaboran más metabolitos. Entonces, a través de la cantidad de oxígeno, se puede manipular un proceso de fermentación para incrementar la producción de la sustancia de interés; por ejemplo, cuando se trabaja con un microorganismo facultativo (capaz de crecer en presencia o ausencia de oxígeno), como *Saccharomyces cerevisiae*, se obtienen diferentes productos mayoritarios, según la concentración de oxígeno en el medio: si es muy limitado, habrá una mayor producción de etanol, mientras que si es alta, se favorece la producción del microorganismo, o sea, la producción de biomasa (Hernández, A.2003).

## **2.8. Las rutas bioquímicas de las fermentaciones**

Es de gran importancia conocer las rutas bioquímicas de degradación de los compuestos orgánicos, no solo para determinar cuáles pueden ser los productos que se obtendrán en una fermentación, sino por la posibilidad de manipular el proceso para producir otro tipo de sustancias. Existen varias rutas o secuencias bioquímicas de utilización y conversión de los azúcares; sin embargo, únicamente se mencionaran en forma general tres de ellas, consideradas como las de mayor relevancia desde el punto de vista industrial:

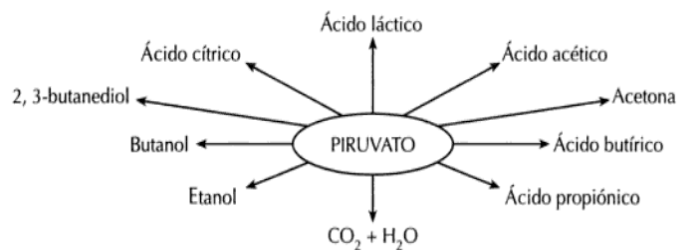
- La glucólisis
- El ciclo de Krebs
- La cadena respiratoria

### 2.8.1. La glucólisis

La glucólisis y la fermentación son las rutas metabólicas por las que se sintetiza etanol en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Mediante una ruta bioquímica de 10 reacciones enzimáticas diferentes conocida como la glucólisis, una molécula de glucosa se oxida para producir dos moléculas de piruvato. En el proceso, también se sintetiza dos moléculas de adenosin trifosfato (ATP) a partir de adenosin difosfato (ADP) y dos de dinucleotido de adenina y nicotinamida reducido (NADH) a partir de NADH<sup>+</sup> también llamado NADH oxidado. El ATP es una molécula de alta energía que se utiliza en la célula para transportar la energía extraída de la glucosa, y el NADH es un acarreador de electrones. Para que la glucólisis continúe funcionando, el NADH<sup>+</sup> necesita ser regenerado a partir de NADH; esto se logra gracias a la fermentación. La fermentación consiste en la conversión de piruvato en etanol gracias a la catálisis de las enzimas piruvato descarboxilasa (PDC) y del alcohol dshidrogenasa(ADH). Así, se puede considerar que el etanol es el residuo metabólico de la extracción de energía de la glucosa (Zamora et al; 2014).

Algunos de los productos que pueden ser formados del piruvato se observan en la Figura1.



**Figura 2.** Productos que se pueden formar a partir del piruvato.

**Fuente:** Hernández, A. 2003.

### **2.8.2. El ciclo de Krebs**

Una de las vías más comunes de utilización del piruvato, en condiciones aeróbicas, es conocida como el ciclo de Krebs o del ácido cítrico.

Las principales funciones de este ciclo consisten en (Hernández, A. 2003).

- Transportar electrones durante el metabolismo aerobio de los carbohidratos.
- Proporcionar esqueletos de carbono (intermediarios del ciclo) para que el microorganismo sintetice los compuestos que requiere.

El ciclo consiste en una serie de reacciones catalizadas por enzimas, que se inician con la producción de acetyl-CoA (acetyl coenzima A) por oxidación del piruvato. La nueva molécula de dos carbonos se combina con el oxalacetato para formar el ácido cítrico. Luego, la molécula de ácido cítrico sufre una serie de transformaciones hasta que es descarboxilada y oxidada para producir nuevamente el oxaloacetato. Durante las reacciones del ciclo, se producen ocho átomos de hidrogeno (a partir de los intermediarios) que son transferidos a la cadena respiratoria transportadora de electrones: los electrones fluyen dentro de esta cadena, a causa de una serie de reacciones enzimáticas (inician en el compuesto NADH y finalizan en el oxígeno), y originan un gran cambio de energía libre que es utilizada para formar varias moléculas de ATP (Hernández, A. 2003).

### **2.8.3. La cadena respiratoria**

El proceso químico mediante el cual se libera la energía de un carbohidrato o azúcar, es la oxidación y se denomina respiración celular.

Es importante saber que los procesos de la respiración celular pueden ocurrir tanto en presencia de oxígeno como en ausencia.



En el primer caso, la respiración celular recibe el nombre de respiración aeróbica; en el segundo, respiración anaeróbica (Abate, 1999).

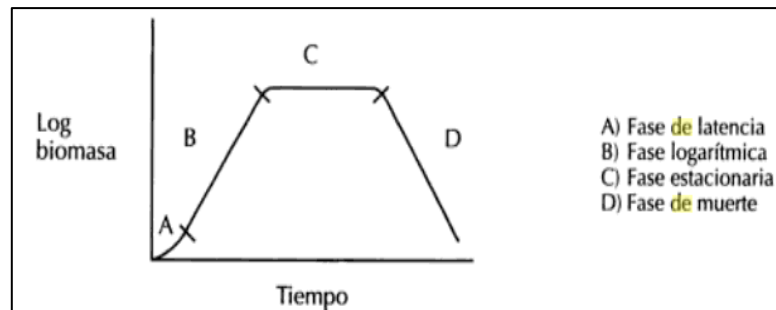
## 2.9. Los fermentadores

Un fermentador es un recipiente que provee condiciones adecuadas a una cepa microbiana para que pueda generar eficientemente un determinado metabolito. Actualmente el término fermentador o biorreactor pueden ser considerados como sinónimos. La eficiencia de un fermentador depende de la concentración de biomasa, el mantenimiento de las condiciones asépticas, la transferencia de masa y energía, y del mantenimiento de las condiciones óptimas de operación (Hochfeld, W. 2006).

Generalmente, los fermentadores se construyen de vidrio o de acero inoxidable. A escala de laboratorio, su volumen oscila desde uno hasta cincuenta litros y, a escala industrial, pueden llegar hasta los trescientos mil litros (Hernández, A.2003).

## 2.10. Curva de crecimiento de un microorganismo

Esta curva representa el comportamiento del crecimiento del microorganismo a través del tiempo. Con base en ella, se determina cuando se produce la mayor cantidad de biomasa o de metabolitos (primarios o secundarios).



**Figura 3.** Fases de crecimiento de un microorganismo.

**Fuente:** Hernández A, 2003.

### **2.10.1. Fase de latencia**

La fase de latencia también es conocida como fase lag, coincide con el periodo de adaptación del microorganismo a las nuevas condiciones nutricionales y ambientales. Se presenta inmediatamente después de la inoculación y su duración depende del estado fisiológico de la célula inoculada y de las condiciones ambientales. Si el microorganismo se encuentra en su fase logarítmica antes de la inoculación, la fase lag es muy pequeña o puede no presentarse. Durante este periodo, no existe aumento en el número de células, pues el microorganismo utiliza la energía disponible con el fin de sintetizar las enzimas que requiere para su desarrollo en el nuevo medio (Hernández, A. 2003).

### **2.10.2. Fase logarítmica o exponencial**

En ella la velocidad de crecimiento es máxima y el tiempo de generación es mínimo. Durante esta fase la velocidad de crecimiento aumenta y es proporcional a la concentración microbiana(X), como se presenta en la ecuación (Recalde, D. 2010).

$$\frac{dx}{dt} x \frac{1}{x} = Um$$

Durante esta fase la composición celular es constante y aunque la composición del medio puede variar, permite la síntesis celular (Recalde, D. 2010).

### **2.10.3. Fase estacionaria**

En la fase estacionaria, la velocidad de crecimiento (reproducción) del microorganismo es igual a la velocidad de muerte y se llega a un equilibrio celular. La importancia de esta fase varía con el tipo de fermentación. Si el objetivo final de la fermentación es la producción de etanol, no es necesario (ni rentable) continuar el

proceso cuando se alcanza la fase estacionaria, ya que una vez que obtiene la máxima concentración de las células, la mayor acumulación de estas sustancias se presenta durante la fase estacionaria (Hernández, A.2003).

#### **2.10.4. Fase de muerte**

Se produce una disminución del número de células viables y la tasa de mortalidad aumenta progresivamente. Existen varios factores externos que afectan la curva de crecimiento microbiano. Entre los más importantes se encuentran la concentración de compuestos necesarios para el crecimiento, la temperatura, el pH del medio de cultivo y la actividad de agua (Recalde, D. 2010).

#### **2.11. Destilación**

La destilación es uno de los métodos más usados en la separación y purificación de líquidos. El objetivo principal de la destilación es separar una mezcla de varios componentes aprovechando sus distintas volatilidades, o bien separar los materiales volátiles de los no volátiles. El éxito obtenido en el uso de las técnicas de destilación depende de varios factores, entre estos incluye la diferencia de vapor de los componentes presentes, la cantidad de muestra, y del equipo de destilación (Angulo, A. 2010)

La destilación es una operación unitaria que consiste en la separación de los componentes de una mezcla líquida (en la que todos los compuestos son más o menos volátiles) por evaporación y condensación sucesivas. La separación se basa en la diferencia de volatilidades absolutas de los componentes, lo que tiene como consecuencia la formación de un vapor de composición diferente a la del líquido del que procede. Lógicamente, cuando mayor sea la diferencia de volatilidades mayor será la separación que se puede conseguir (Marcilla, A.1998).

### **2.11.1. Tipos de destilación**

Para la clasificación se puede tener en cuenta la fase de vapor, la fase líquida y la presión externa que soporta el sistema.

Cuando se considera la fase vapor y según la vía que siga de vapor formado, se puede distinguir: destilación simple, destilación fraccionada y destilación por arrastre con vapor de agua (Lamarque, A. 2008).

#### **2.11.1.1. Destilación simple**

En la destilación simple el vapor que se retira del seno del líquido, pasa inmediatamente al refrigerante donde condensa y luego se recolecta el líquido destilado. Mediante este procedimiento pueden separarse mezclas de dos componentes que tengan una diferencia de puntos de ebullición de, al menos 60-80 °C. Mezclas de sustancias cuyos puntos de ebullición difieran en 30-60 °C se pueden separar por destilaciones sencillas repetidas, recogiendo las fracciones enriquecidas en uno de los componentes, las cuales se vuelven a destilar (Lamarque, A. 2008).

#### **2.11.1.2. Destilación fraccionada**

En la destilación fraccionada, la fase de vapor se separa del seno del líquido atraviesa una columna de fraccionamiento, llega a un refrigerante donde condensa y luego se recolecta. La destilación fraccionada es la combinación de muchas destilaciones simples en una sola operación, para lo cual se utiliza una columna de fraccionamiento vertical rellena con un material inerte (perlas de vidrio, trozos de plato poroso, etc.), en la cual ocurren sucesivas evaporaciones y condensaciones hasta que finalmente el vapor alcanza el extremo de la columna y condensa en el refrigerante (Lamarque, A. 2008).

Una destilación fraccionada equivale a varios cientos de destilaciones simples y resulta eficaz incluso en la separación de líquidos cuyos puntos de ebullición se diferencian en una fracción de grado. Se dice que una columna de destilación fraccionada posee varios cientos de platos teóricos, siendo cada uno de ellos el equivalente a una destilación simple para las primeras porciones de destilado. Por lo tanto la eficacia de una columna de destilación fraccionada es mayor cuantos más platos teóricos posee (Lamarque, A. 2008).

Para lograr el equilibrio evaporación – condensación es necesario que la columna trabaje en forma adiabática, para lo cual se la recubre con un aislante térmico (por ejm hilo de amianto). El vapor formado que asciende por la columna, se condensa al tomar contacto con la parte más fría del relleno (Lamarque, A. 2008).

#### **2.11.1.3. Destilación por arrastre con vapor de agua**

En la destilación por arrastre con vapor de agua el vapor que se retira del seno del líquido atraviesa una cámara que contiene la sustancia a extraer generalmente se trata de una sustancia volátil e inmiscible en él llega al refrigerante donde condensa y luego se recolecta como dos fases líquidas ya que la sustancia así extraída es inmiscible en agua (Lamarque A. 2008).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se realizó en la Universidad Estatal de Bolívar, ubicado en la Parroquia Guanujo sector Alpachaca km. 3½ vía Ambato.

**Tabla 1. Localización del experimento**

| <b>UBICACIÓN</b> | <b>LOCALIDAD</b>                      |
|------------------|---------------------------------------|
| País             | Ecuador                               |
| Provincia        | Bolívar                               |
| Cantón           | Guaranda                              |
| Parroquia        | Guanujo                               |
| Sector           | Alpachaca. Km3 ½ vía Ambato           |
| Dirección        | Av. Che Guevara y Av. Gabriel Secaira |

Fuente: Elaboración propia (2015)

#### 3.2. SITUACIÓN GEOGRÁFICA Y CLIMÁTICA DE LA LOCALIDAD

**Tabla 2. Parámetros climáticos**

| <b>Parámetro</b>        | <b>Valor</b> |
|-------------------------|--------------|
| Altitud                 | 2800 msnm    |
| Longitud                | 79° 0' 02''  |
| Latitud                 | 01° 34' 15'' |
| Temperatura media anual | 13°C         |
| Temperatura máxima      | 18°C         |
| Temperatura mínima      | 8°C          |
| Humedad                 | 75%          |

Fuente: MAGAP, 2012

### **3.2.1. Zona de vida**

Ecológicamente el área del cantón Guaranda de acuerdo con la clasificación de la zona de vida de L. Holdridge, corresponde a la zona de vida Bosque Húmedo Montano Bajo (B.H.M.B).

## **3.3. MATERIALES**

### **3.3.1. Materia prima**

- Jugo de caña
- Levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)

### **3.3.2. Material de planta**

- 1 Bioreactor
- 1 Balanza gramera digital
- 1 Potenciómetro portátil
- 1 Potenciómetro fijo
- 1 Alcoholímetro
- 3 Refractómetros
- 4 Jarras de 2 litros de capacidad de acero inoxidable
- 1 Probeta de plástico de 1000 cc
- 2 Baldes de 10 litros de capacidad
- 18 Envases de recolección de etanol de 500ml
- 1 Embudo plástico

### **3.3.3. Material de laboratorio**

- 1 Probeta de vidrio de 50ml
- 1 Termómetro
- 3 Vasos de precipitación 500ml
- 18 Erlenmeyers de vidrio de 250ml
- 3 Equipos destilación simple
- 3 Planchas de calentamiento

### **3.3.4. Suministros de oficina**

- Equipo de computo
- Filmadora
- Cámara fotográfica
- Esfero gráficos
- Hojas de papel bond
- Calculadora
- Flash memory
- Libreta de apuntes
- Software Statgraphics



### 3.4. MÉTODOS

#### 3.4.1. Factores en estudio

En la presente investigación se consideró dos factores de estudio: porcentaje de levadura correspondiente al factor (A), y dos niveles de temperatura correspondiente al factor (B), como se detalla a continuación.

**Tabla 3. Factores en estudio**

| <b>Factores</b> | <b>Código</b> | <b>Niveles</b>   |
|-----------------|---------------|--|
| (Levadura)      | A             | A1 levadura 0,15g/l<br>A2 levadura 0,20 g/l<br>A3 levadura 0,25g/l |
| Temperatura     | B             | B1 30 °C<br>B2 40 °C   |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

#### 3.4.2. Tratamientos

En el presente estudio se aplicó un diseño completamente al azar DCA con arreglo factorial A x B (3x2) con tres repeticiones

**Tabla 4. Tratamientos en estudio**

| Tratamiento | Código | Niveles  |                  |
|-------------|--------|----------|------------------|
|             |        | Levadura | Temperatura (°T) |
| 1           | A1B1   | 0.15g/l. | 30 °C            |
| 2           | A1B2   | 0.15g/l. | 40 °C            |
| 3           | A2B1   | 0.20g/l. | 30 °C            |
| 4           | A2B2   | 0.20g/l. | 40 °C            |
| 5           | A3B1   | 0.25r/l  | 30 °C            |
| 6           | A3B2   | 0.25g/l. | 40°C             |

Fuente: Elaboración propia (2015)

### 3.4.3. Tipo de diseño.

Diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x2 con 3 repeticiones, el mismo que corresponde al siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

$Y_{ijk}$  = Cualquier variable sujeta de medición

$\mu$  = Media general

$A_i$  = Efecto del factor A

$B_j$  = Efecto del facto B

$AB_{ij}$  = Efecto de la interacción (A\*B)

$\varepsilon_{ijk}$  = Efecto del error experimental

**Tabla 5. Características del experimento**

| DETALLE                       | ITEM      |
|-------------------------------|-----------|
| Numero tratamientos           | 6         |
| Número de repeticiones        | 3         |
| Total unidades experimentales | 18        |
| Tamaño Unidad Experimental    | 30 litros |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

#### 3.4.4. Tipo de análisis

**Tabla 6. Fuente de variación**

| Fuente de Variación  | Grados de Libertad |
|----------------------|--------------------|
| Efecto A (a-1)       | 2                  |
| Efecto B (b-1)       | 1                  |
| Efecto AB (a-1)(b-1) | 2                  |
| E(axb)(r-1)          | 12                 |
| Total (axb)(r)-1     | 17                 |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

### 3.4.5. Análisis estadístico

Para determinar diferencia entre tratamientos se aplicó análisis de varianza (ANOVA) el modelo del análisis de varianza es:

**Tabla 7. Prueba de análisis de varianza**

| Fuente de variabilidad | Suma de cuadrados  | Grados de libertad | Cuadrados medios                    | F Calculado              | Valor P                   |
|------------------------|--|--------------------|-------------------------------------|--------------------------|---------------------------|
| <b>Tratamiento</b>     | $SC_{TRAT} = \sum_{i=1}^k n_i (\bar{y}_{i\cdot} - \bar{y}_{\cdot\cdot})^2$ | $k - 1$            | $CM_{TRAT} = \frac{SC_{TRAT}}{k-1}$ | $\frac{CM_{TRAT}}{CM_E}$ | $P(F \triangleright F_0)$ |
| <b>Error</b>           | $SC_T = SC_T = SC_{TRAT}$  | $N - k$            | $CM_E = \frac{SC_E}{N - k}$         |                          |                           |
| <b>Total</b>           | $SC_T = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_{\cdot\cdot})^2$   | $N - 1$            |                                     |                          |                           |

Fuente: Padilla, D. (2008)

Dónde:

$n_i$  = Tamaño de la muestra del i-ésimo tratamiento

$y_{ij}$  = La observación del tratamiento i con la observación j.

$\bar{y}_{i\cdot}$  = Promedio de las observaciones del tratamiento i.

$\bar{y}_{\cdot\cdot}$  = Promedio global de todas las observaciones

k = Total de tratamientos del experimento.

N = Suma de las  $n_i$  muestras de todos los tratamientos

### 3.4.6. Prueba de comparación de medias

Para la determinación del mejor tratamiento se aplicó la prueba de medias (DMS).

$$DMS = Q \sqrt{\frac{nK(K+1)}{12}}$$

Dónde:

Q= Valor tabulado K y nivel de significación establecido

n = número de juicios totales

K= número de tratamientos

### 3.4.7. Beneficio costo

Para relación beneficio costo se aplicó la siguiente formula:

$$B / C = \frac{\sum_{i=0}^n \frac{V_i}{(1+i)^n}}{\sum_{i=0}^n \frac{C_i}{(1+i)^n}}$$

Dónde:

B/C = Relación beneficio/costo

Vi = Valor de la producción (beneficio bruto)

Ci = Egresos (i=0,2,3,4,...n)

I = Tasa de descuento

### 3.5. VARIABLES EXPERIMENTALES

#### a. **Materia prima**

- **°Brix:** Para la medición del porcentaje de sólidos solubles presentes en el jugo de caña; se empleó un refractómetro de escala 0° a 32° Brix. De acuerdo a la norma NTE INEN 2337:2008.
- **pH:** Para la medición de los valores de pH en la materia prima utilizada en la investigación; se utilizó el potenciómetro, y se lo realizó según términos de la norma NTE INEN 2 337:2008.

#### b. **Durante el Proceso**

- **Sólidos Solubles durante la fermentación:** Con el objeto de determinar las curvas de fermentación del mosto, se empleó un refractómetro de escala 0° a 32° Brix, la toma de datos se efectuó cada 4 horas en todos los tratamientos.
- **pH durante la fermentación:** Se utilizó en la investigación pH metro, los datos se registró durante la fermentación en un periodo de 4 horas entre cada registró, esto se aplicó a todos los tratamientos.
- **pH finales:** Se empleó un pH metro, estos valores se los determinó al no registrar descensos en los valores de pH en cada uno de los tratamientos.

#### c. **Producto Final**

- **Grado alcohólico:** Se midió el grado alcohólico utilizando un alcoholímetro según la norma INEN 340.

- **Alcoholes Superiores:** Se utilizó la norma INEN 345, esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de alcoholes superiores en bebidas alcohólicas.
- **Metanol:** Se utilizó la norma INEN 347, Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de metanol en bebidas alcohólicas destiladas

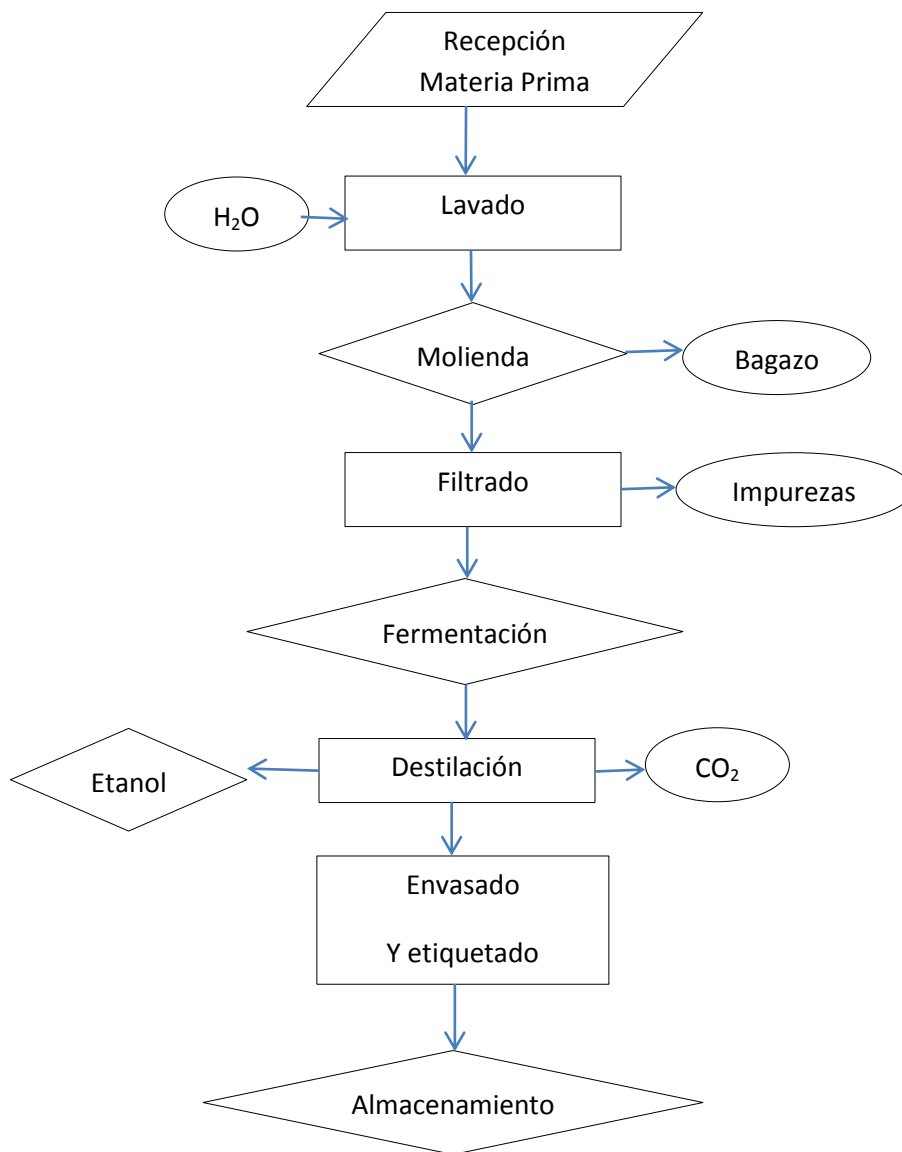
### **3.6. MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO A NIVEL DE PLANTA PILOTO**

Para el manejo experimental de la investigación se siguió el siguiente esquema:

- **Recepción de la materia prima:** La caña fue cortada y transportada desde los canteros de Facundo Vela hasta la U.E.B lugar del proceso.
- **Lavado de la caña:** Se lo realizó con abundante agua para eliminar impurezas (tierra, hojas) contraídas durante el corte y transporte.
- **Preparación de la caña:** Esto se lo realizó con el objetivo de sacar las partes que no son aptas para la molienda, como raíces y hojas.
- **Molienda de la caña:** En esta etapa del proceso se extrajo el jugo de caña mismo que tuvo 18 °Brix, el cual sirvió como referente para dar inicio al proceso de fermentación y su posterior destilación.
- **Filtrado:** Se utilizó un lienzo, con la finalidad de retirar las impurezas (tierra, bagazo) que se encuentren en el mosto.

- **Fermentación:** Para el proceso de fermentación se adicionó la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), tres niveles de 0,15, 0,20, 0,25 g/l, la fermentación se efectuó a una temperatura llegando como limite a 40 °C en el biorreactor, el cual estuvo siendo agitado por una aleta dentro del fermentador con hasta 60 rpm; se realizó hasta el final de la producción de CO<sub>2</sub>. Se registró el tiempo inicial y final de fermentación, y los grados Brix iniciales y finales.
- **Destilado:** Se utilizó el destilador, con una temperatura entre 75 y 80 °C, donde se obtuvo el producto final como es el etanol, en esta fase se midió el grado alcohólico y el rendimiento de etanol, para la realización de los respectivos análisis.
- **Envasado y etiquetado:** Luego de haber tomado los grados alcohólicos se procedió al envasado en botellas de vidrio y su etiquetado.
- **Almacenamiento:** El producto final se almacenó al ambiente.





**Figura 4.** Diagrama para la obtención de etanol a partir de jugo de caña.

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

### 3.7. DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO A NIVEL DE LABORATORIO

Para el manejo experimental a nivel de laboratorio de la investigación se siguió el siguiente esquema:

- **Recepción de la materia prima.** El jugo de caña proveniente de la zona de Facundo Vela fue trasladada al laboratorio en envases plásticos.



**Figura 5.** Recepción de la materia prima

- **Preparación de la materia prima.** Se filtró el jugo de caña, para lo cual se utilizó un embudo, filtro y un Erlenmeyer para la recolección del jugo.



**Figura 6.** Preparación de la materia prima

- **Preparación de la levadura.** Se pesó la levadura en una balanza digital (0,0375g, 0,05g, 0,0625g), y se disolvió en jugo de caña el cual se colocó a baño maría a una temperatura de 30 °C.



**Figura 7.** Preparación de la levadura

- **Colocación de las muestras en los erlenmeyers.** Se utilizó 250ml de jugo de caña, se añadió la levadura en cada uno de los erlenmeyer, se colocaron los tapones, las mangueras la una manguera para la obtención de las muestras y la otra para el CO<sub>2</sub> producido por la fermentación.



**Figura 8.** Colocación de las muestras en los erlenmeyers

- **Fermentación de las muestra.** Se colocaron las muestras en dos estufas con temperaturas de 40 y 30 °C respectivamente. El pH y °Brix fueron medidos cada cuatro horas y el proceso de fermentación se detuvo al observar un valor constante del °Brix, lo cual nos indicó que esta listo para la destilación.

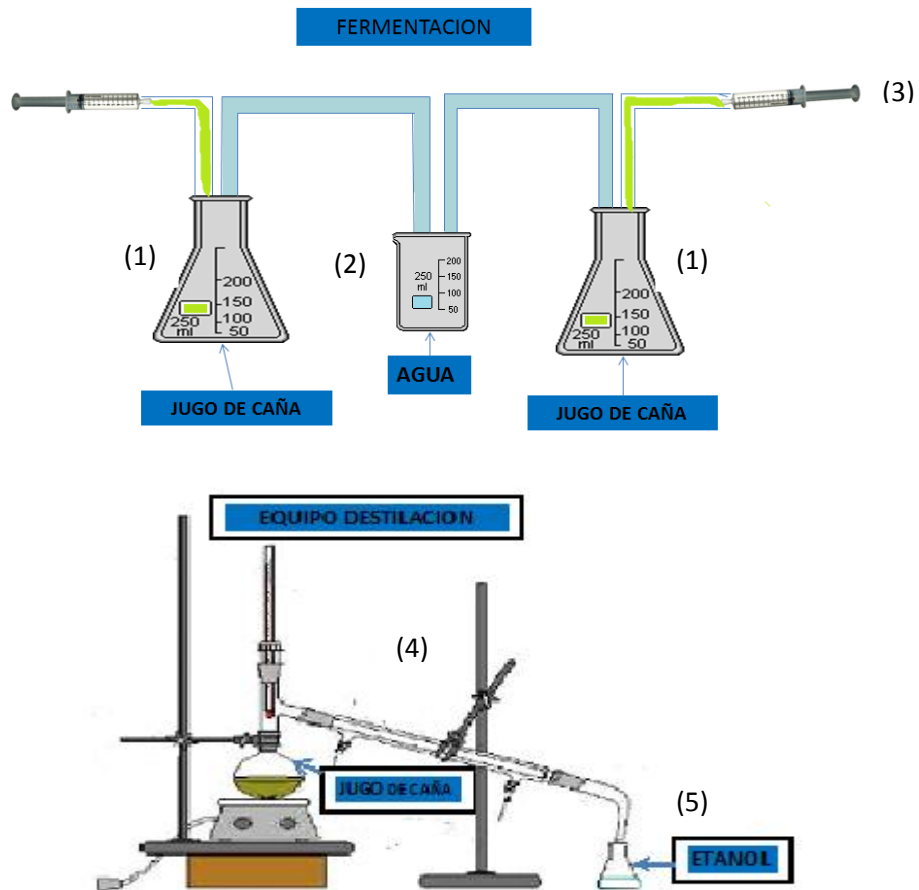


**Figura 9.** Fermentación de las muestras.

- **Destilación.** Se utilizó un equipo destilación, para destilar el mosto a temperaturas entre 75 y 80 °C, el alcohol producido se colocó en frascos de vidrio para sus posteriores análisis.



**Figura 10.** Destilación



**Figura 11.** Diagrama de flujo a nivel de laboratorio

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

**Descripción:**

- 1 Jugo de caña de azúcar
- 2 Trampa de CO<sub>2</sub>
- 3 Jeringuilla para obtención de muestras
- 4 Equipo de destilación
- 5 Etanol

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. Proceso de obtención de etanol a partir de caña de azúcar variedad POJ

El proceso de obtención de etanol se realizó a nivel de laboratorio y a nivel de planta piloto.

### 4.2. Características de la materia prima

La materia prima utilizada en este ensayo proviene de los productores de la parroquia Facundo Vela, cantón Guaranda, Provincia Bolívar de la variedad POJ. Se realizaron análisis físicos antes de ser utilizada en los ensayos.

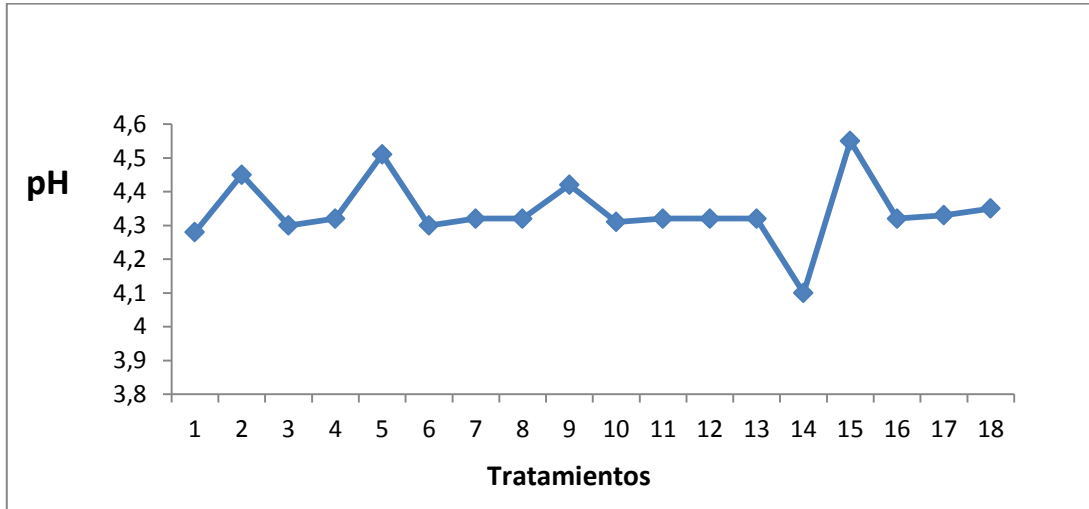
**Tabla 8. Valores de pH en la materia prima**

| Muestra | 1    | 2    | 3   | 4    | 5    | 6   | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   | 12   | 13   | 14  | 15   | 16   | 17   | 18   |
|---------|------|------|-----|------|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|------|------|
| pH      | 4,28 | 4,45 | 4,3 | 4,32 | 4,51 | 4,3 | 4,32 | 4,32 | 4,42 | 4,31 | 4,32 | 4,32 | 4,32 | 4,1 | 4,55 | 4,32 | 4,33 | 4,35 |

Fuente: Elaboración propia (2015)

En la Tabla 8 se indican los valores de pH inicial y con los que se inició el proceso de fermentación. De acuerdo con Arroyo, L. (2009) el pH óptimo es de 4,4 a 5. Esto demuestra que los valores utilizados en esta investigación se encuentran dentro de estos parámetros.

**Gráfico 1. Valores de pH en la materia prima**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

Los valores indican homogeneidad del pH comprendidos entre 4 y 5; sin embargo existe mínima variabilidad en las muestras 2, 5, 14,15, cuyos valores son diferentes, pero que se encuentran en los rangos comprendidos. De acuerdo a los estudios realizados por Arroyo, L. (2009) los valores de pH óptimos para el inicio del proceso de fermentación por acción de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* está comprendido en el rango de 4.4 a 5; esto también se corrobora con los valores mencionados por Panikov (1995) que manifiesta que los valores óptimos de están entre 4,5 a 5.

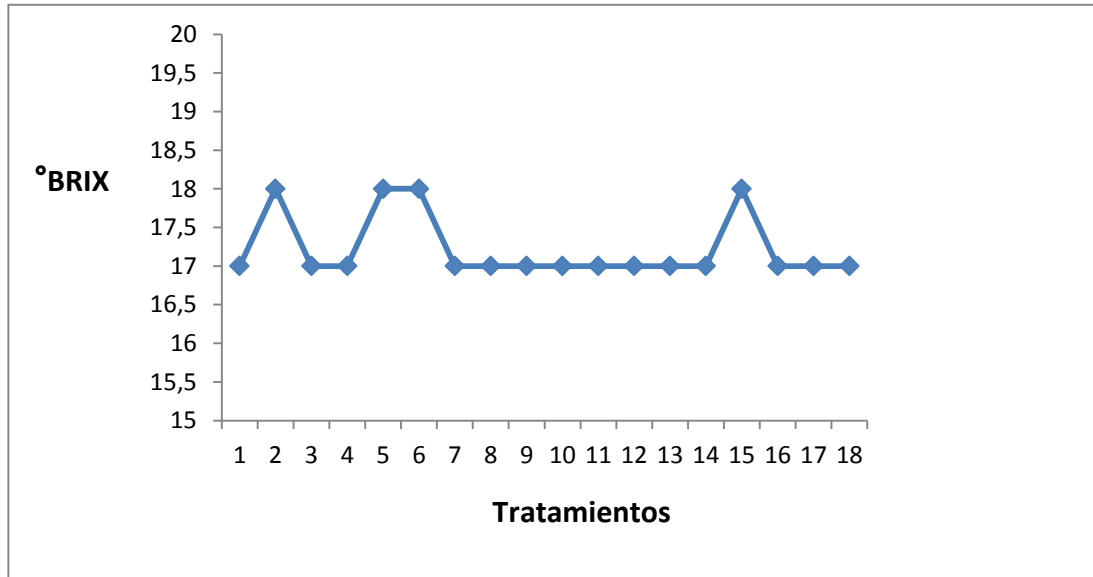
**Tabla 9. Valores de °Brix en la materia prima**

| Muestras      | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|---------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Valores °Brix | 17 | 18 | 17 | 17 | 18 | 18 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 18 | 17 | 17 | 17 |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

En la Tabla 9 se indican los valores de °Brix inicial, valores con los cuales se dio inicio al proceso de fermentación.

**Gráfico 2. Valores de °Brix en la materia prima**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

Los valores indican diferencias mínimas, resaltando las muestras 2, 5, 6, 15, cuyos valores son ligeramente diferentes a los demás; sin embargo, el rango comprendido entre 17 y 18 se mantiene mayoritariamente.

Según Salgado (2003), el valor óptimo de °Brix en la materia prima está en un rango de 17,3 a 20,3 con una media de 18,5, esto también se corrobora con los valores mencionados por Nieto, H (2009), que manifiesta que el °Brix para el inicio de la fermentación están entre 15 a 20, lo cual demuestra que los valores de la materia prima utilizados en el estudio se encuentran dentro de estos parámetros.



### 4.3. PROCESO DE FERMENTACIÓN A NIVEL DE LABORATORIO

Durante el proceso de fermentación, se tomaron los datos de pH y °Brix

#### 4.3.1. Determinación del pH

Se realizó cada cuatro horas hasta la finalización de la fermentación.

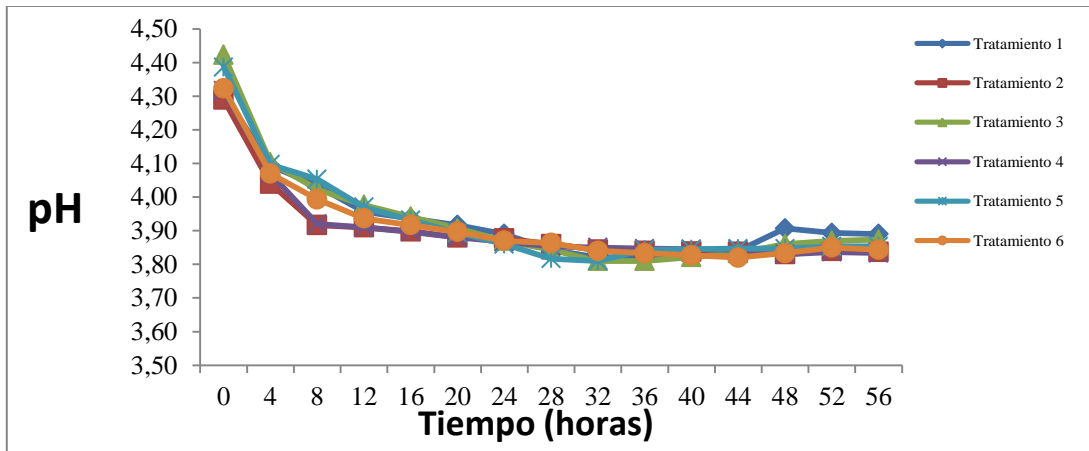
**Tabla 10. Valores de pH durante el proceso de fermentación**

| TRATAMIENTOS | HORAS |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | PROMEDIO |      |
|--------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|----------|------|
|              | 0     | 4    | 8    | 12   | 16   | 20   | 24   | 28   | 32   | 36   | 40   | 44   | 48   | 52   |          | 56   |
| T1           | 4,31  | 4,09 | 4,03 | 3,96 | 3,94 | 3,92 | 3,89 | 3,84 | 3,82 | 3,82 | 3,83 | 3,84 | 3,91 | 3,89 | 3,89     | 3,93 |
| T2           | 4,29  | 4,04 | 3,92 | 3,91 | 3,90 | 3,88 | 3,88 | 3,86 | 3,84 | 3,84 | 3,84 | 3,84 | 3,83 | 3,84 | 3,84     | 3,90 |
| T3           | 4,42  | 4,10 | 4,02 | 3,98 | 3,94 | 3,91 | 3,87 | 3,84 | 3,81 | 3,81 | 3,82 | 3,83 | 3,86 | 3,87 | 3,87     | 3,93 |
| T4           | 4,32  | 4,07 | 3,92 | 3,91 | 3,90 | 3,88 | 3,87 | 3,85 | 3,85 | 3,85 | 3,85 | 3,84 | 3,83 | 3,84 | 3,83     | 3,91 |
| T5           | 4,39  | 4,10 | 4,05 | 3,97 | 3,93 | 3,89 | 3,86 | 3,82 | 3,81 | 3,84 | 3,85 | 3,85 | 3,85 | 3,85 | 3,85     | 3,93 |
| T6           | 4,32  | 4,07 | 3,99 | 3,94 | 3,92 | 3,90 | 3,87 | 3,86 | 3,84 | 3,83 | 3,83 | 3,82 | 3,83 | 3,85 | 3,84     | 3,91 |
| PROMEDIO     | 4,34  | 4,08 | 3,99 | 3,94 | 3,92 | 3,90 | 3,87 | 3,85 | 3,83 | 3,83 | 3,83 | 3,84 | 3,85 | 3,86 | 3,86     |      |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

En la Tabla 10 se indican los valores de pH promedios medidos durante el proceso de fermentación.

**Gráfico 3. Valores de pH durante el proceso de fermentación**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

Los valores pH indican una variabilidad durante el proceso de fermentación, con un valor máximo de 4.42 y un valor mínimo de 3.84. Según Gilses & Veloz (2006), el pH durante el proceso de fermentación debe mantenerse entre 3.5 a 4. Esto demuestra que la mayoría de nuestros tratamientos se encuentran dentro de este rango.

**Tabla 11. Análisis de varianza para pH**

| Fuente                     | SC                  | Gl | CM                  | Razón-F | Valor-P   |
|----------------------------|---------------------|----|---------------------|---------|-----------|
| <b>Efectos principales</b> |                     |    |                     |         |           |
| A:Levadura                 | $4,4 \cdot 10^{-5}$ | 2  | $2,2 \cdot 10^{-5}$ | 0,07    | 0,9369 NS |
| B:Temperatura              | $2,5 \cdot 10^{-5}$ | 1  | $2,5 \cdot 10^{-3}$ | 7,23    | 0,0197*   |
| <b>Interacciones</b>       |                     |    |                     |         |           |
| AB                         | $1,3 \cdot 10^{-4}$ | 2  | $6,7 \cdot 10^{-5}$ | 0,20    | 0,8240NS  |
| Residuos                   | $4,1 \cdot 10^{-3}$ | 12 | $3,4 \cdot 10^{-4}$ |         |           |
| Total (corregido)          | $6,7 \cdot 10^{-3}$ | 17 |                     |         |           |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

NS = Diferencia estadística no significativa

\* = Diferencia estadística significativa

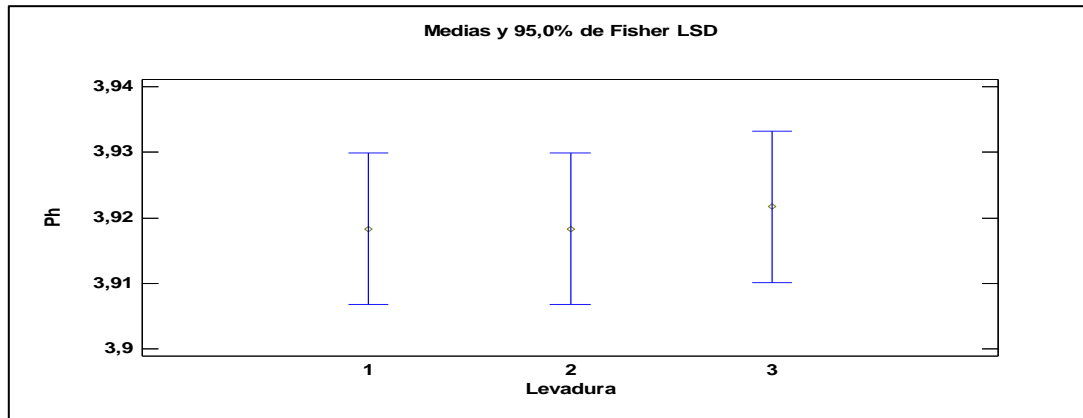
El análisis de varianza para pH indica el efecto en los tratamientos estudiados de las variables concentración de la levadura y la temperatura. El valor de p-value de 0,9369 del factor levadura, indica que no es estadísticamente significativo entre los porcentajes de levadura utilizada en el estudio con un 95 % de confianza; por lo que no hay evidencia suficiente para no rechazar la hipótesis nula y no aceptar la hipótesis alternativa. Por lo tanto los diferentes porcentajes de levadura no tienen efecto alguno en el pH.

El valor de p-value de 0,0197 indica que existe diferencia significativa en los diferentes niveles de temperatura con un 95% de confianza. Estos valores indican que existe fuerte evidencia que hipótesis nula no es verdadera. Por lo tanto, no se rechaza la hipótesis alternativa y, en consecuencia las diferentes temperaturas tienen efecto sobre el pH.

La interacción con un valor de p-value de 0,8240, indica que no existe diferencia significativa al 95% de confianza. En consecuencia, no existe evidencia suficiente para no rechazar la hipótesis nula, por lo que la interacción de diferentes porcentajes de levadura y diferentes temperaturas no tiene efecto en el pH en los diferentes tratamientos.

El pH es un factor importante en el proceso de fermentación, contribuye al control de la contaminación bacteriana, tiene efecto en el crecimiento de las levaduras, en la velocidad de fermentación y en la formación de alcohol. De acuerdo a Shafaghath (2010), el pH favorable para el crecimiento de la *saccharomyces cerevisiae* se encuentra entre 4.4 y 4.6 con un pH óptimo de 4,5. Asimismo, manifiesta que el valor de pH en el inicio de incubación se encuentra en un rango en 4.4 a 5.6; Según Arroyo López (2009) establece un pH comprendido entre 4.2 a 4.6, por lo cual el experimento realizado se encuentra dentro de los parámetros establecidos para el inicio del crecimiento de la levadura.

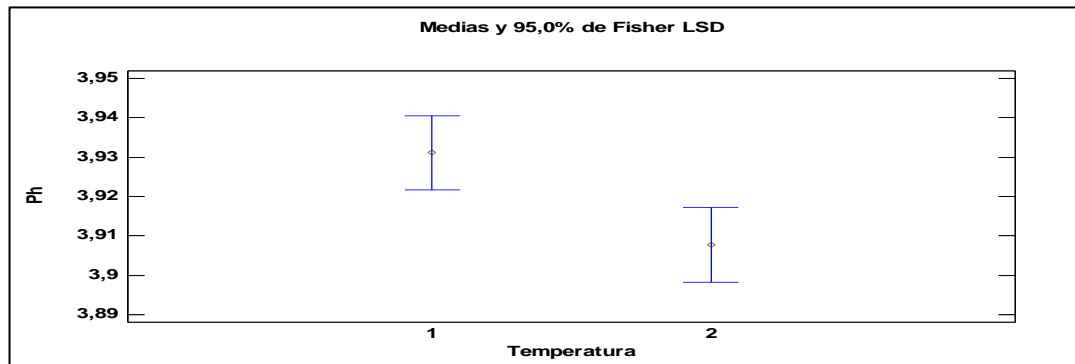
**Gráfico 4. Prueba de medias para pH (factor levadura)**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

El gráfico muestra que no existe diferencia significativa entre medias

**Gráfico 5. Prueba de medias para pH (factor temperatura)**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

Los resultados representados en el gráfico indican que existe diferencia significativa entre los diferentes niveles de temperatura, por lo que la temperatura tiene un efecto directo en el valor de pH. De acuerdo con Arroyo, L. (2009), la temperatura óptima de crecimiento de la *saccharomyces cerevisiae* esta reportado entre 34 y 40 °C, mientras que a temperaturas mayores o menores tienen un efecto significativo en la tasa de crecimiento máximo.

### 4.3.2. Determinación del °Brix

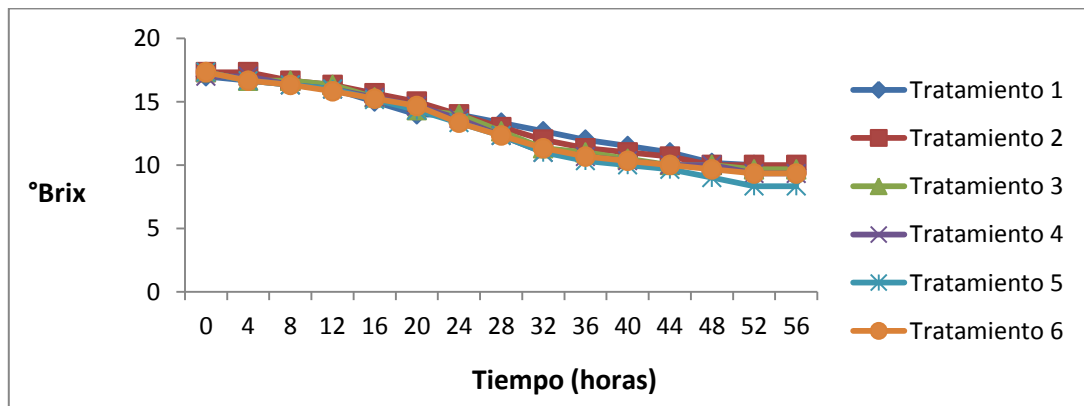
En la Tabla 12 se indican los valores de °Brix promedios medidos durante el proceso de fermentación.

**Tabla 12. Valores de °Brix durante el proceso de fermentación**

| TRATAMIENTOS    | HORAS |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | PROMEDIO |    |
|-----------------|-------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----------|----|
|                 | 0     | 4  | 8  | 12 | 16 | 20 | 24 | 28 | 32 | 36 | 40 | 44 | 48 | 52 |          | 56 |
| T1              | 17    | 17 | 16 | 16 | 15 | 14 | 14 | 13 | 13 | 12 | 12 | 11 | 10 | 10 | 10       | 13 |
| T2              | 17    | 17 | 17 | 16 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 11 | 11 | 10 | 10 | 10       | 13 |
| T3              | 17    | 17 | 17 | 16 | 15 | 14 | 14 | 13 | 11 | 11 | 11 | 10 | 10 | 10 | 10       | 13 |
| T4              | 17    | 17 | 16 | 16 | 15 | 15 | 14 | 12 | 11 | 11 | 10 | 10 | 10 | 9  | 9        | 13 |
| T5              | 17    | 17 | 16 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 10 | 10 | 10 | 9  | 8  | 8        | 13 |
| T6              | 17    | 17 | 16 | 16 | 15 | 15 | 13 | 12 | 11 | 11 | 10 | 10 | 10 | 9  | 9        | 13 |
| <b>PROMEDIO</b> | 17    | 17 | 16 | 16 | 15 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 11 | 10 | 10 | 9  | 9        |    |

Fuente: Elaboración propia (2015)

**Gráfico 6. Valores de °Brix durante el proceso de fermentación**



Fuente: Elaboración propia (2015)

Los valores de °Brix indican una variabilidad durante el proceso de fermentación, con un valor máximo de 17 y un valor mínimo de 8. Según Gilses & Veloz (2006), indica que cuando el ° Brix haya alcanzado un valor tal que ya no varíe y se mantenga constante se da por terminada la fermentación.

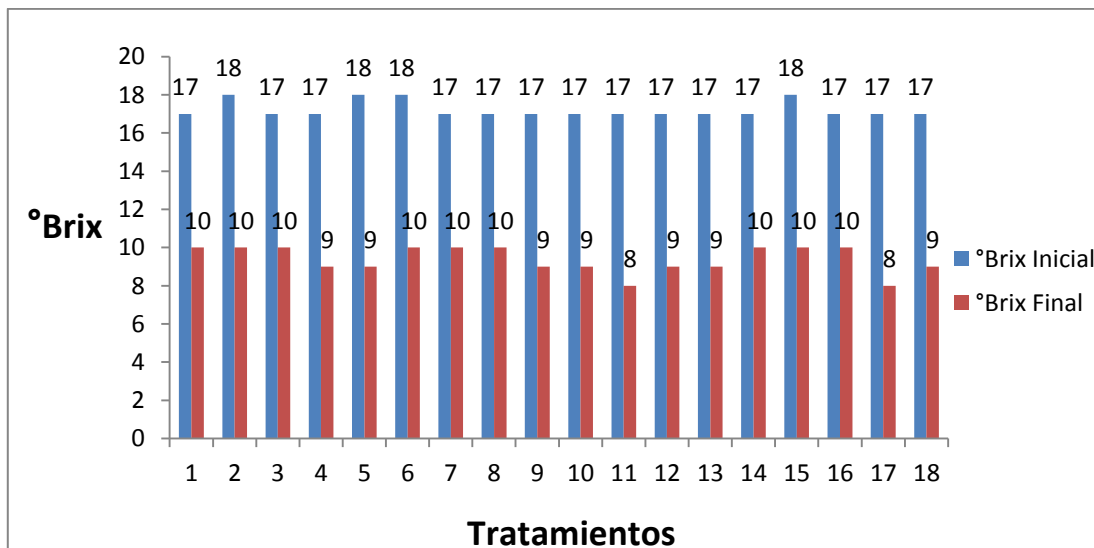
**Tabla 13. Valores de °Brix inicial y final**

|               |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|---------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| °Brix Inicial | 17 | 18 | 17 | 17 | 18 | 18 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 18 | 17 | 17 | 17 |
| °Brix Final   | 10 | 10 | 10 | 9  | 9  | 10 | 10 | 10 | 9  | 9  | 8  | 9  | 9  | 10 | 10 | 10 | 8  | 9  |

Fuente: Elaboración propia (2015)

En la Tabla 13 se indican los valores de °Brix inicial los cuales fueron tomados antes de arrancar los ensayos, también se indica los valores finales de °Brix al parar el proceso de fermentación.

**Gráfico 7. Valores de °Brix inicial y final**



Fuente: Elaboración propia (2015)

El gráfico indica la disminución del °Brix de todos los tratamientos, esto debido a la transformación de azúcares en alcohol.

**Tabla 14. Análisis de varianza para °Brix**

| Fuente              | SC                  | Gl | CM                  | Razón-F | Valor-P   |
|---------------------|---------------------|----|---------------------|---------|-----------|
| Efectos principales |                     |    |                     |         |           |
| A:levadura          | 1,2                 | 2  | $6.1 \cdot 10^{-1}$ | 6,06    | 0,0152 *  |
| B:temperatura       | $1.7 \cdot 10^{-2}$ | 1  | $1.6 \cdot 10^{-2}$ | 0,17    | 0,6901NS  |
| Interacciones       |                     |    |                     |         |           |
| AB                  | $1.5 \cdot 10^{-1}$ | 2  | $7.6 \cdot 10^{-2}$ | 0,75    | 0,4914 NS |
| Residuos            | 1,2                 | 12 | $1.0 \cdot 10^{-1}$ |         |           |
| Total (corregido)   | 2.6                 | 17 |                     |         |           |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

NS = Diferencia estadística no significativa

\* = Diferencia estadística significativa

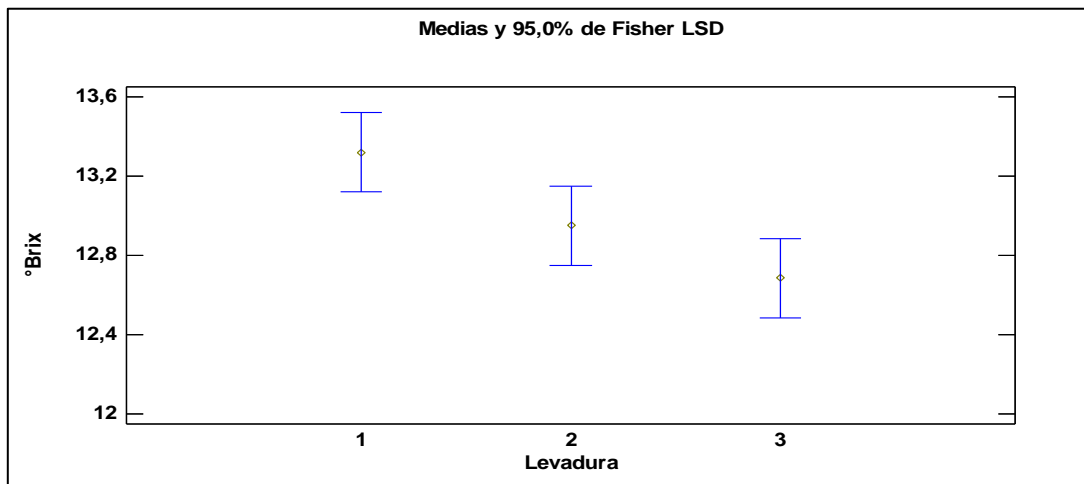
El análisis de varianza para °Brix indica que hay diferencia significativa en los niveles de levadura en cuanto a la disminución de este factor. El valor de p-value de 0,0152 indica una evidencia fuerte que la hipótesis nula no es verdadera. Por lo tanto, no se rechaza la hipótesis alternativa. Es decir, el factor levadura influye significativamente sobre el °Brix.

La fermentación tiene como uno de sus objetivos proporcionar energía anaeróbica a las levaduras. Arroyo, L (2009), manifiesta que la temperatura inicial de fermentación comienza correctamente a los 30, 32 °C; donde la cantidad de levadura inicial es suficiente para arrancar el proceso de fermentación.

El factor temperatura con un valor de p- value de 0,6901, indica que no existe diferencia significativa, con lo que no hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula y, en consecuencia, no aceptar la hipótesis alternativa; es decir, que no existe efecto de la temperatura en la variable °Brix. La interacción con un valor de p- value de 0,4914 indica que no existe diferencia significativa al 0,05%; por lo que no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula. Por lo tanto, la interacción entre los factores levadura y temperatura no tienen efecto alguno en los grados °Brix.

Según Taron D, et al, (2012) durante el proceso fermentativo, se presenta una disminución de forma uniforme a lo largo del proceso, con relación a los grados Brix. Cabe destacar, que en las primeras horas de iniciación del proceso fermentativo se evidencia mayor actividad fermentativa.

**Gráfico 8. Prueba de medias para °Brix (factor levadura)**

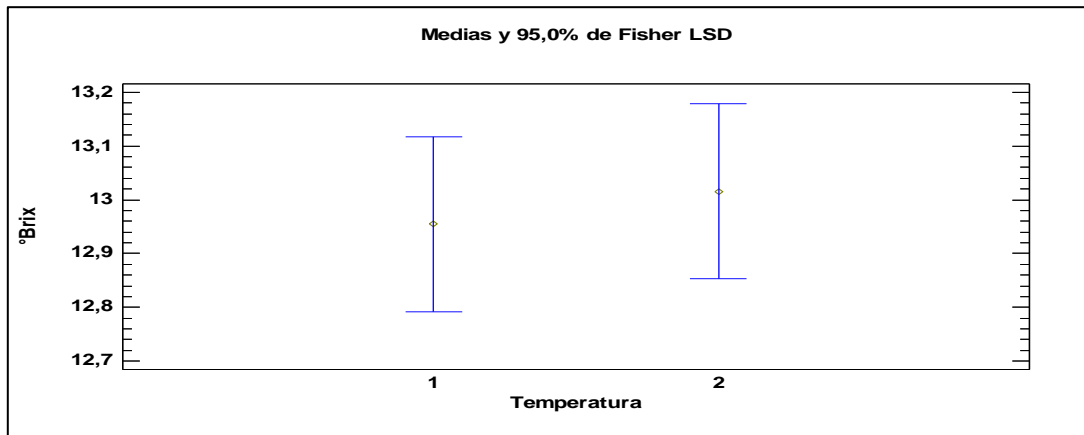


**Fuente:** Elaboración propia (2015)

La prueba de medias indica que el nivel 1 y el nivel 3 son diferentes. Tal que, el primero corresponde al valor inicial de 0,15g/l en el proceso de fermentación



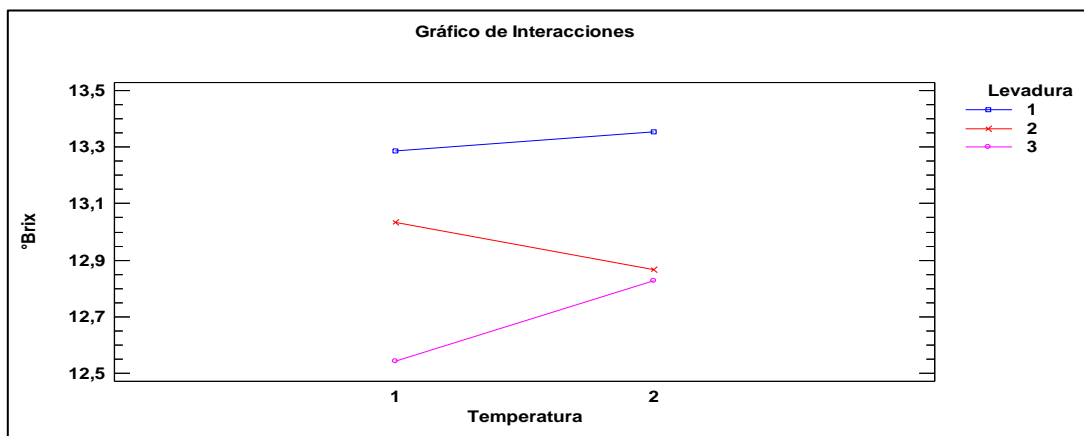
**Gráfico 9. Prueba de medias para °Brix (factor temperatura)**



Fuente: Elaboración propia (2015)

La prueba de medias indica que no existe diferencia entre los niveles de temperatura.

**Gráfico 10. Interacciones para °Brix**



Fuente: Elaboración propia (2015)

El gráfico indican que no existe interacción entre los diferentes niveles de factor levadura con el factor temperatura; por tanto, no existe efecto de la interacción en los °Brix.

### 4.3.3. Determinación del grado alcohólico

**Tabla 15. Análisis de varianza para °GL**

| Fuente              | SC     | Gl | CM    | Razón-F | Valor-P   |
|---------------------|--------|----|-------|---------|-----------|
| Efectos principales |        |    |       |         |           |
| A:levadura          | 140,44 | 2  | 70,22 | 30,10   | 0,0000 ** |
| B:temperatura       | 722,00 | 1  | 722,0 | 309,43  | 0,0000 ** |
| Interacciones       |        |    |       |         |           |
| AB                  | 21,33  | 2  | 10,67 | 4,57    | 0,0334 *  |
| Residuos            | 28,00  | 12 | 2,333 |         |           |
| Total (corregido)   | 911,8  | 17 |       |         |           |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

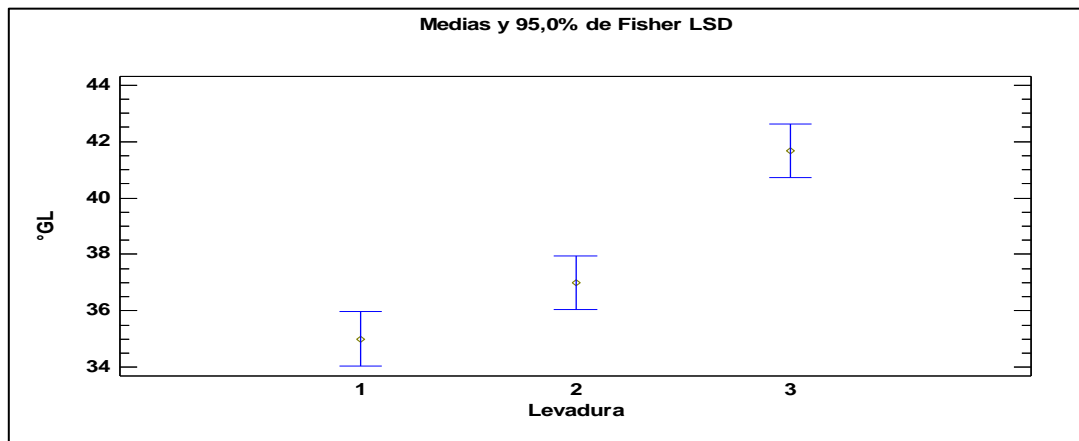
\*\* = Diferencia estadística altamente significativa

\* = Diferencia estadística significativa

Los valores de p-value para levadura y temperatura son 0,0000. Esto indica que existe diferencia extremadamente fuerte con un 99% de confiabilidad estadística. La interacción entre los factores levadura y temperatura es 0,0334 al 95% de confiabilidad, lo que indica una fuerte evidencia que la hipótesis nula no es verdadera y, en consecuencia no se rechaza la hipótesis alternativa. Por lo tanto existe efecto de levadura y temperatura en los °GL. Además, es importante mencionar que la existencia de una temperatura adecuada con la cantidad suficiente de levadura dan las condiciones propicias para que arranque la fermentación anaeróbica y exista la consecuente producción de alcohol.

Según Rankine, (2000), el grado alcohólico tiene gran importancia ya que durante la fermentación aproximadamente la mitad del peso del azúcar se transforma en alcohol, el balance restante en dióxido de carbono.

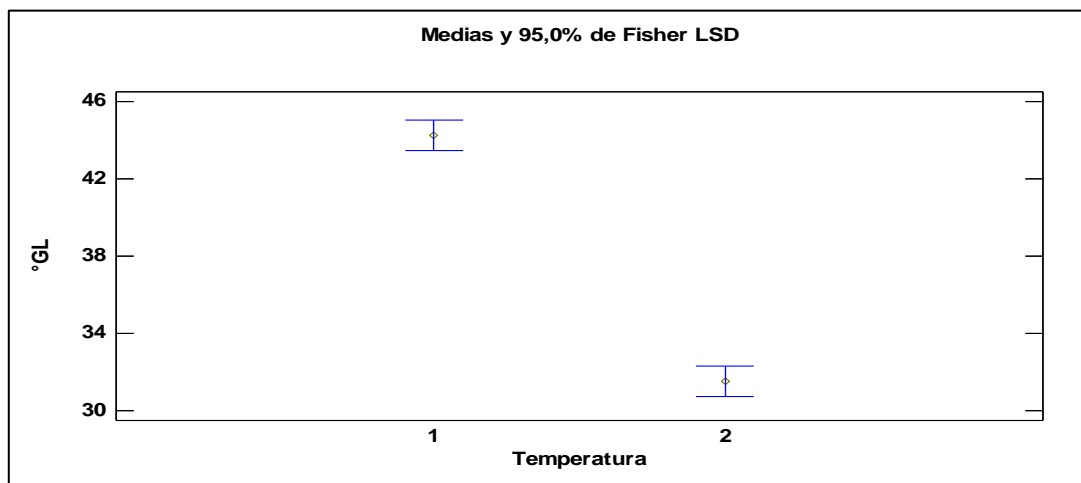
**Gráfico 11. Pruebas de medias para °GL (factor levadura)**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

La prueba de medias indica que el nivel 1 y el nivel 3 son diferentes, donde el nivel uno corresponde al valor inicial de 0,15g/l en el proceso de fermentación

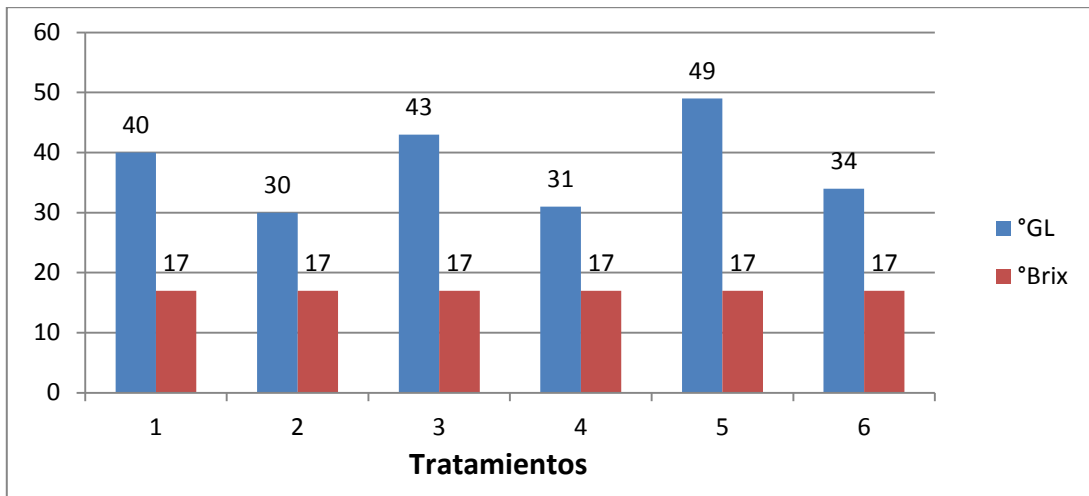
**Gráfico 12. Pruebas de medias para °GL (factor temperatura)**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

La prueba de medias indica que existe diferencia entre los niveles de temperatura, donde claramente sobresale el nivel uno correspondiente 30°C en el proceso de fermentación.

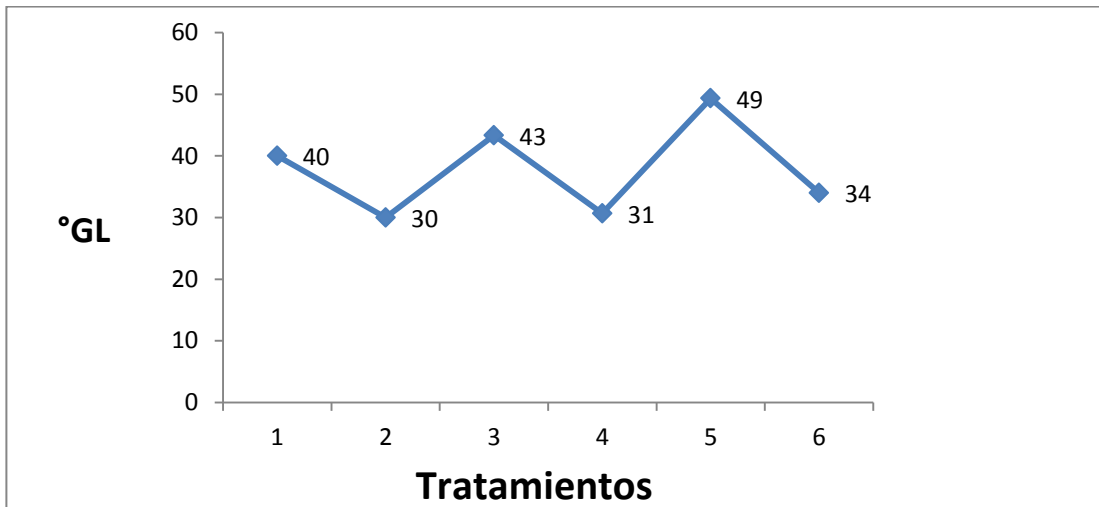
**Gráfico 13. Comparación °Brix con °GL**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

El gráfico indica la comparación del °Brix con °GL donde sobresale el T5 A3B1 (0,25g/l y 30°C) con un mayor grado alcohólico, es superior a los demás tratamientos.

**Gráfico 14. Valores de °GL**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

El gráfico indica los valores promedio de °GL, donde claramente destaca el tratamiento T5 A3B1, por tener mejor grado alcohólico.

#### 4.3.4. Determinación del tiempo de fermentación

**Tabla 16. Análisis de varianza para el tiempo de fermentación**

| Fuente              | SC     | Gl | CM    | Razón-F | Valor-P   |
|---------------------|--------|----|-------|---------|-----------|
| Efectos principales |        |    |       |         |           |
| A:levadura          | 12,44  | 2  | 6,22  | 0,28    | 0,7606 NS |
| B:temperatura       | 32,00  | 1  | 32,0  | 1,44    | 0,2533 NS |
| Interacciones       |        |    |       |         |           |
| AB                  | 37,33  | 2  | 18,67 | 0,84    | 0,4556 NS |
| Residuos            | 266,67 | 12 | 22,22 |         |           |
| Total (corregido)   | 348,44 | 17 |       |         |           |

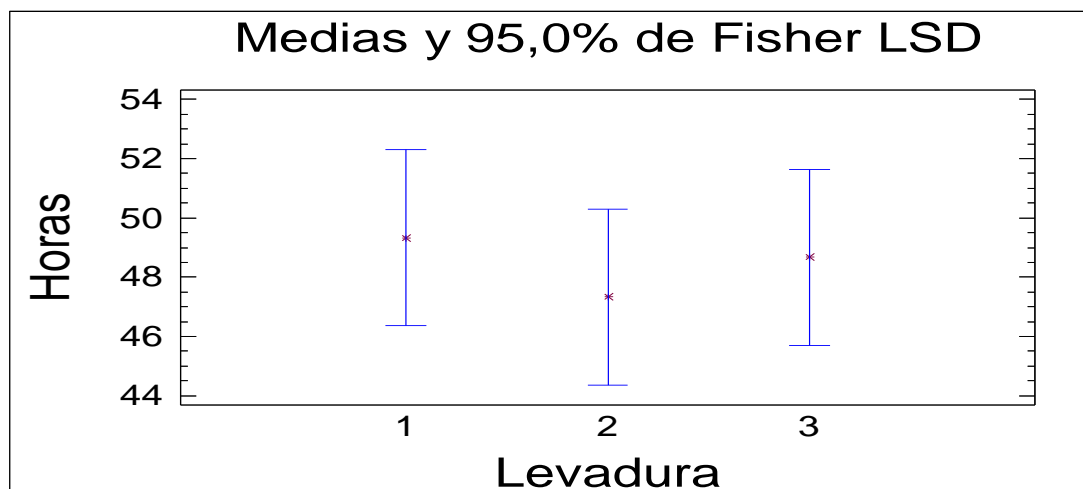
**Fuente:** Elaboración propia (2015)

NS = Diferencia estadística no significativa

El análisis de varianza para tiempo de fermentación no evidencia diferencia significativa en los valores de los factores levadura y temperatura, como tampoco en la interacción; por lo que no existe evidencia suficiente para no rechazar la hipótesis nula y no aceptar la hipótesis alternativa. Por lo tanto, los diferentes porcentajes de levadura y niveles de temperatura no tienen efecto alguno en el tiempo de fermentación.

Según BNDES (2008), el mosto para fermentarse necesita un periodo de 8 a 12 horas, dando origen al vinillo (mosto fermentado, con una concentración del 7% al 10% de alcohol), lo que demuestra que el tiempo de fermentación en esta investigación está dentro de estos parámetros.

**Gráfico 15. Prueba de medias para el tiempo de fermentación**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

La prueba de medias indica que no existe diferencia entre los niveles de levadura con respecto al tiempo.

#### 4.3.5. Determinación del volumen del producto final

En la Tabla 17 se indica los valores promedios de volumen, los cuales fueron tomados en el producto final, a partir de 250 ml de jugo de caña.

**Tabla 17. Volumen del producto final**

| TRATAMIENTOS    | ml   |      |      | PROMEDIO |
|-----------------|------|------|------|----------|
| T1              | 35   | 32   | 34   | 33,67    |
| T2              | 30   | 34   | 36   | 33,33    |
| T3              | 35   | 30   | 32   | 32,33    |
| T4              | 32   | 30   | 35   | 32,33    |
| T5              | 35   | 34   | 35   | 34,67    |
| T6              | 34   | 32   | 34   | 33,33    |
| <b>PROMEDIO</b> | 33,5 | 32,0 | 34,3 |          |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

**Tabla 18. Análisis de varianza para volumen**

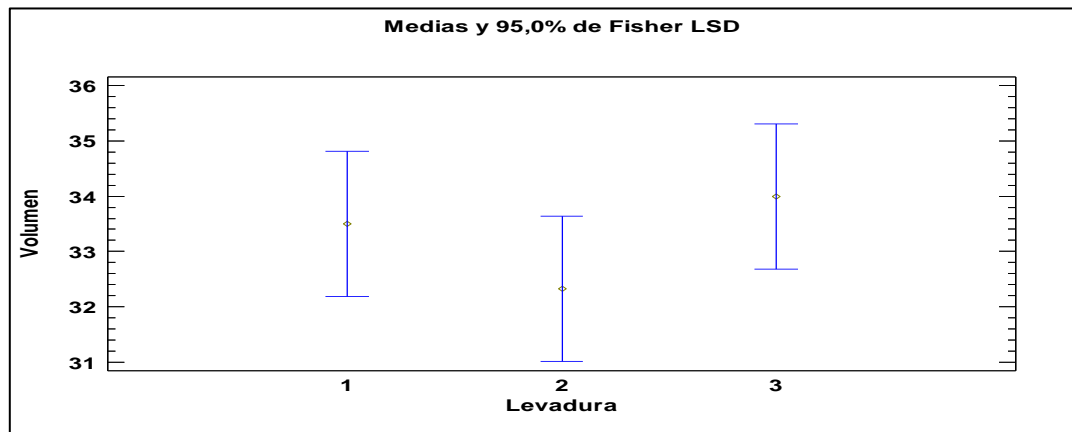
| Fuente              | SC      | Gl | CM       | Razón-F | Valor-P   |
|---------------------|---------|----|----------|---------|-----------|
| EFECTOS PRINCIPALES |         |    |          |         |           |
| A:Levadura          | 8,77778 | 2  | 4,38889  | 1,01    | 0,3922 NS |
| B:Temperatura       | 1,38889 | 1  | 1,38889  | 0,32    | 0,5817 NS |
| INTERACCIONES       |         |    |          |         |           |
| AB                  | 1,44444 | 2  | 0,722222 | 0,17    | 0,8484 NS |
| RESIDUOS            | 52,0    | 12 | 4,33333  |         |           |
| TOTAL (CORREGIDO)   | 63,6111 | 17 |          |         |           |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

NS = Diferencia estadística no significativa

Los valores de p-value para levadura (0,3922), temperatura (0,5817) y su interacción (0,8484) muestran que no existe evidencia suficiente para no rechazar la hipótesis nula en los tres casos y, en consecuencia, no se acepta la hipótesis alternativas. Es decir, los diferentes porcentajes de levadura y temperatura e interacción de ambas no tienen efecto alguno en el volumen del producto final.

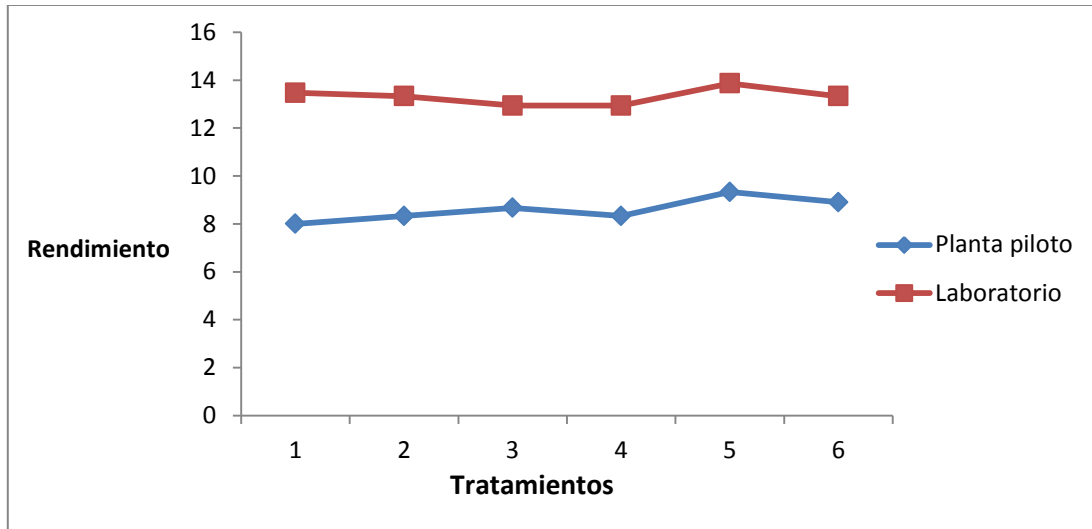
**Gráfico 16. Prueba de medias para volumen**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

El análisis de medias indica la no existencia de diferencia estadística entre los diferentes niveles de levadura, por lo que no afecta la utilización de cualquier nivel de levadura.

**Gráfico 17. Volumen del producto final**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

En el gráfico se indica la diferencia de medias entre los valores de rendimiento obtenidos a nivel de laboratorio y planta piloto; la diferencia promedio está en 4%, lo cual denota que los valores porcentuales de rendimiento a nivel de laboratorio es superior al de planta piloto. Esto se debe a que las condiciones de trabajo cambian, a nivel de laboratorio se puede realizar un control más exhaustivo del ensayo a través de sus variables; a nivel de planta piloto como se asemeja más a la realidad, entran en acción otras variables ambientales y humanas difíciles de controlar, lo que afecta directamente en la producción en volumen.



#### 4.4. PRUEBAS EXPERIMENTALES A NIVEL DE PLANTA PILOTO

Luego de realizado los estudios experimentales a nivel de laboratorio, se procedió a llevar los ensayos a nivel de planta piloto.

##### 4.4.1. Determinación del pH

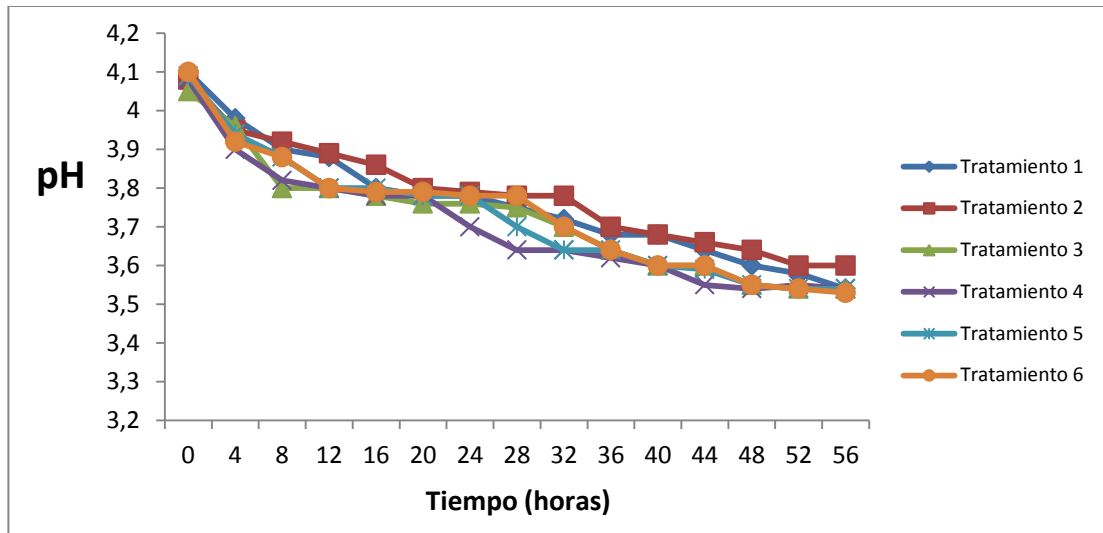
En la Tabla 19 se indican los valores de pH medidos durante el proceso de fermentación.

**Tabla 19. Valores de pH en la planta piloto**

| TRATAMIENTOS | HORAS |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |          |
|--------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|----------|
|              | 0     | 4    | 8    | 12   | 16   | 20   | 24   | 28   | 32   | 36   | 40   | 44   | 48   | 52   | 56   | PROMEDIO |
| T1           | 4,1   | 3,98 | 3,9  | 3,88 | 3,80 | 3,78 | 3,78 | 3,75 | 3,72 | 3,68 | 3,68 | 3,64 | 3,6  | 3,58 | 3,54 | 3,76     |
| T2           | 4,08  | 3,95 | 3,92 | 3,89 | 3,86 | 3,8  | 3,79 | 3,78 | 3,78 | 3,7  | 3,68 | 3,66 | 3,64 | 3,6  | 3,6  | 3,78     |
| T3           | 4,05  | 3,96 | 3,8  | 3,8  | 3,78 | 3,76 | 3,76 | 3,75 | 3,7  | 3,64 | 3,60 | 3,6  | 3,55 | 3,54 | 3,54 | 3,72     |
| T4           | 4,08  | 3,9  | 3,82 | 3,8  | 3,78 | 3,78 | 3,7  | 3,64 | 3,64 | 3,62 | 3,6  | 3,55 | 3,54 | 3,55 | 3,54 | 3,70     |
| T5           | 4,09  | 3,94 | 3,88 | 3,8  | 3,80 | 3,78 | 3,78 | 3,7  | 3,64 | 3,64 | 3,60 | 3,59 | 3,55 | 3,54 | 3,54 | 3,72     |
| T6           | 4,1   | 3,92 | 3,88 | 3,8  | 3,79 | 3,79 | 3,78 | 3,78 | 3,7  | 3,64 | 3,6  | 3,6  | 3,55 | 3,54 | 3,53 | 3,73     |
| PROMEDIO     | 4,08  | 3,94 | 3,87 | 3,83 | 3,80 | 3,78 | 3,77 | 3,73 | 3,70 | 3,65 | 3,63 | 3,61 | 3,57 | 3,56 | 3,55 |          |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

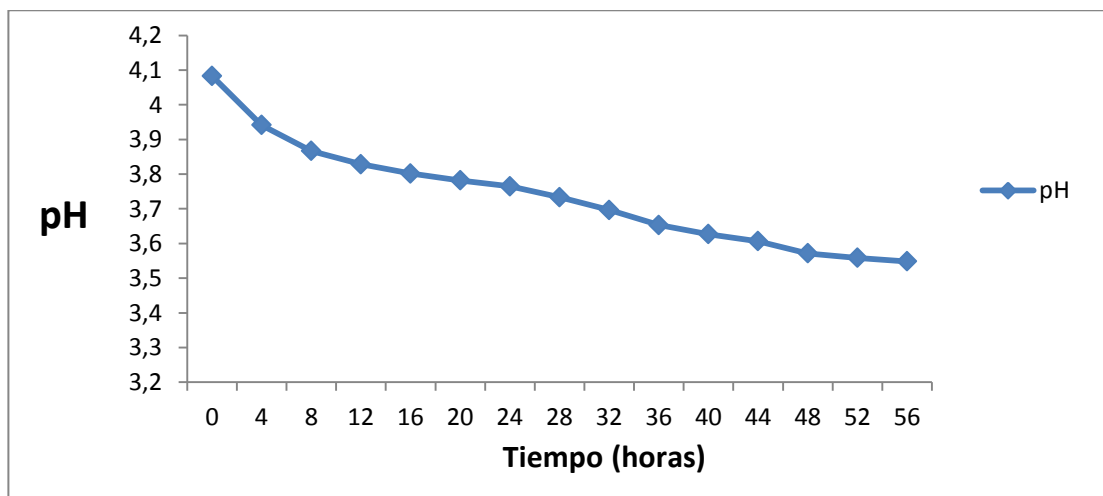
**Gráfico 18. Valores de pH en la planta piloto**



Fuente: Elaboración propia (2015)

En el gráfico se indica la disminución del pH de todos los tratamientos con el tiempo y el aumento de acidez del medio, esto debido a la transformación de azúcares en alcohol, al no existir el sustrato tiende a la disminución del pH.

**Gráfico 19. Valores de pH promedio en la planta piloto**



Fuente: Elaboración propia (2015)

Se indica la disminución del pH promedio de los tratamientos estudiados en función del tiempo, y el aumento de acidez del medio, esto debido a la transformación de azúcares en alcohol, al no existir el sustrato el medio tiende a la disminución del pH.

#### 4.4.2. Determinación del °Brix

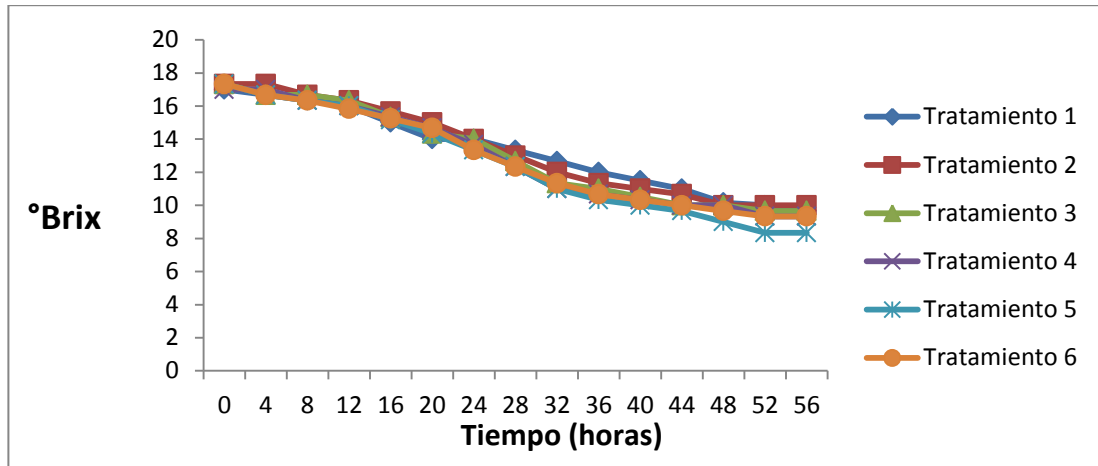
En la Tabla 20 se indican los valores de °Brix medidos durante el proceso de fermentación.

**Tabla 20. Valores de °Brix en la planta piloto**

| TRATAMIENTOS    | HORAS |    |      |    |    |      |    |      |      |      |    |    |    |    |    | PROMEDIO |
|-----------------|-------|----|------|----|----|------|----|------|------|------|----|----|----|----|----|----------|
|                 | 0     | 4  | 8    | 12 | 16 | 20   | 24 | 28   | 32   | 36   | 40 | 44 | 48 | 52 | 56 |          |
| T1              | 17    | 16 | 15   | 14 | 14 | 13   | 13 | 12,5 | 12   | 12   | 11 | 11 | 10 | 10 | 10 | 13       |
| T2              | 17    | 17 | 16,5 | 16 | 15 | 14,5 | 14 | 13   | 13   | 12,5 | 12 | 11 | 11 | 10 | 10 | 14       |
| T3              | 17    | 17 | 16   | 16 | 15 | 14   | 13 | 13   | 12   | 11   | 10 | 10 | 10 | 9  | 9  | 13       |
| T4              | 17    | 17 | 16,5 | 16 | 15 | 14   | 14 | 13   | 12,5 | 12   | 11 | 10 | 10 | 9  | 9  | 13       |
| T5              | 18    | 17 | 17   | 16 | 15 | 14   | 14 | 13,5 | 13   | 12   | 11 | 10 | 10 | 9  | 9  | 13       |
| T6              | 18    | 17 | 16   | 15 | 14 | 13,5 | 13 | 12   | 11   | 11   | 10 | 10 | 9  | 9  | 9  | 13       |
| <b>PROMEDIO</b> | 17    | 17 | 16   | 16 | 15 | 14   | 14 | 13   | 12   | 12   | 11 | 10 | 10 | 9  | 9  |          |

Fuente: Elaboración propia (2015)

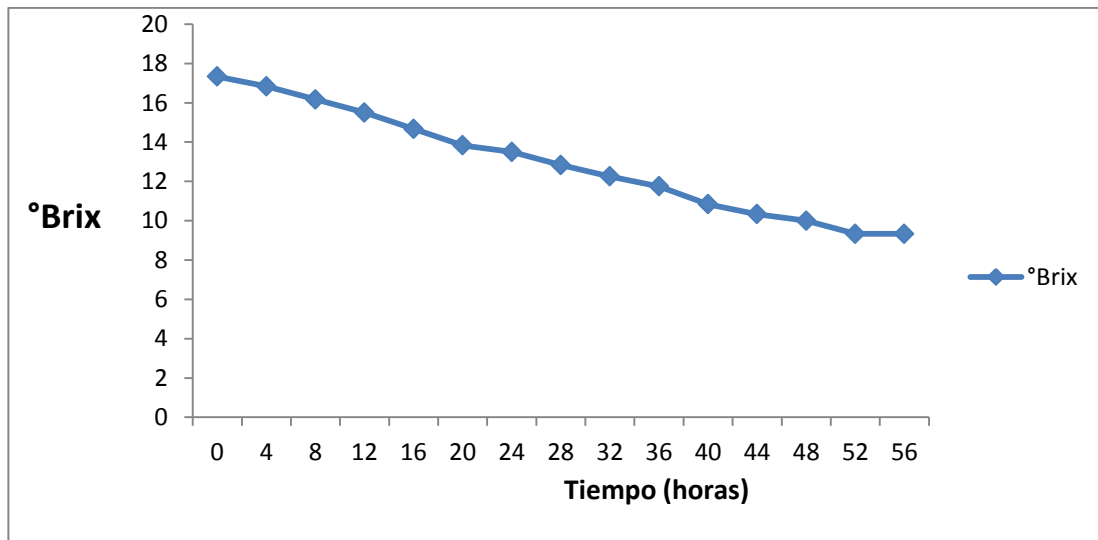
**Gráfico 20** Valores de °Brix en la planta piloto



Fuente: Elaboración propia (2015)

Se indica la disminución del °Brix de todos los tratamientos con el tiempo y el aumento de acidez del medio, esto debido a la transformación de azúcares en alcohol, al no existir el sustrato tiende a la estabilización del °Brix.

**Gráfico 21** Valores de °Brix promedio en la planta piloto



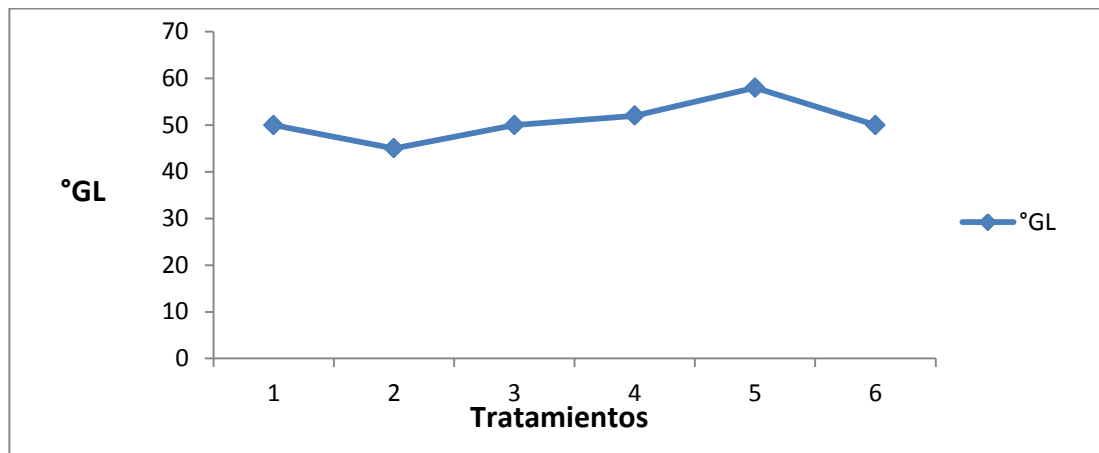
Fuente: Elaboración propia (2015)

En el gráfico se indica la disminución del °Brix promedio de los tratamientos estudiados en función del tiempo, y el aumento de acidez del medio, esto debido a la transformación de azúcares en alcohol, al no existir el sustrato el medio tiende a estabilizar el °Brix

#### 4.4.3. Determinación del grado alcohólico

En el gráfico 22 se indican los valores de °GL medidos en el producto final.

**Gráfico 22. Valores de °GL en la planta piloto**



Fuente: Elaboración propia (2015)

El gráfico indica el °GL, donde claramente destaca el tratamiento T5 A3B1 (0,25g/l y 30°C) por tener el mejor grado alcohólico.

#### 4.4.4. Determinación del volumen

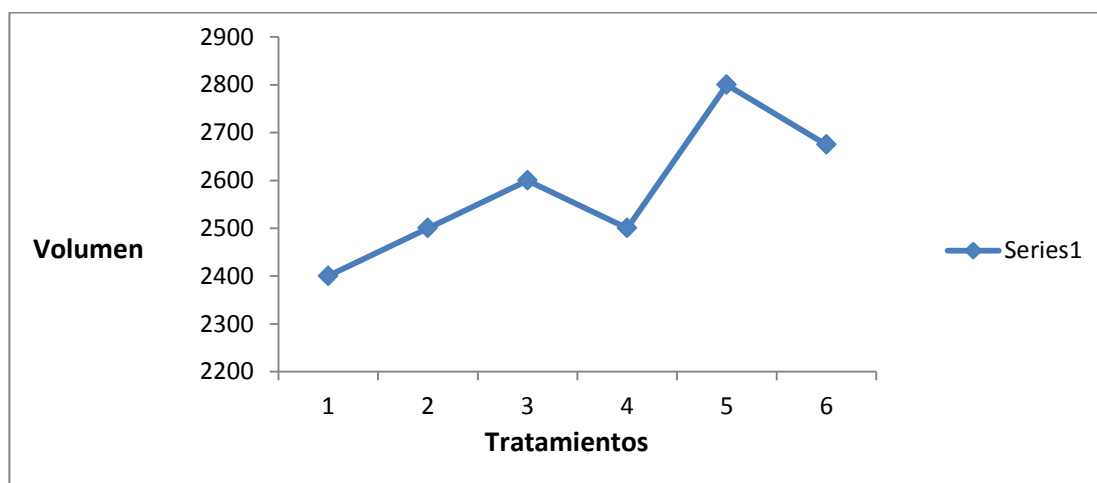
En la Tabla 21 se indican los valores de volumen medidos en el producto final.

**Tabla 21. Volúmenes de alcohol obtenidos a nivel de planta piloto**

|           |         |
|-----------|---------|
| <b>T1</b> | 2400ml  |
| <b>T2</b> | 2500 ml |
| <b>T3</b> | 2600 ml |
| <b>T4</b> | 2500 ml |
| <b>T5</b> | 2800 ml |
| <b>T6</b> | 2675 ml |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

**Gráfico 23. Volúmenes de alcohol obtenidos a nivel de planta piloto**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

La producción de etanol a nivel de la planta piloto tuvo una variación significativa, esto es debido a las características técnicas y de infraestructura que tiene la planta piloto.

Según BNDES (2008), una proporción media de 10 a 13 litros por litro de bioetanol producido, lo que demuestra que nuestra producción se encuentra dentro de este parámetro ya que de 30 litros de jugo de caña se obtuvo un promedio de 2.5litros.

#### 4.5. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DEL ALCOHOL OBTENIDO A NIVEL DE LABORATORIO Y DE PLANTA PILOTO

El alcohol obtenido fue sometido a un estudio cromatográfico con el objetivo de determinar la posible presencia de metanol y de etanol. Estos análisis se lo realizaron tanto en alcohol obtenido en el ensayo experimental a escala de laboratorio y, a nivel de planta piloto.

**Tabla 22. Valores cromatográficos**

| <b>MUESTRA 1 (A3B2 0,25g/l a 40°C)</b> |                       |                                |
|--|-----------------------|--------------------------------|
| <b>PARAMETROS ANALIZADOS</b>           | <b>RESULTADOS (%)</b> | <b>METODO DE ANALISIS</b>      |
| <b>ETANOL</b>                          | 99,2422               | INEN 2014 C.G*                 |
| <b>METANOL</b>                         | 0,0157                | PEE-LASA-FQ-10b3 INEN 2014 C.G |

| <b>MUESTRA 2 (A1B1 0,15g/l a 30°C)</b> |                       |                                |
|--|-----------------------|--------------------------------|
| <b>PARAMETROS ANALIZADOS</b>           | <b>RESULTADOS (%)</b> | <b>METODO DE ANALISIS</b>      |
| <b>ETANOL</b>                          | 98,9468               | INEN 2014 C.G*                 |
| <b>METANOL</b>                         | 0,0158                | PEE-LASA-FQ-10b3 INEN 2014 C.G |

| <b>MUESTRA 3 (A2B1 0,20g/l a 30 °C)</b> |                       |                                |
|---|-----------------------|--------------------------------|
| <b>PARAMETROS ANALIZADOS</b>            | <b>RESULTADOS (%)</b> | <b>METODO DE ANALISIS</b>      |
| <b>ETANOL</b>                           | 98,9672               | INEN 2014 C.G*                 |
| <b>METANOL</b>                          | 0,0191                | PEE-LASA-FQ-10b3 INEN 2014 C.G |

| <b>MUESTRA 4 (A3B1 0,25g/l a 30 °C)</b> |                       |                                |
|---|-----------------------|--------------------------------|
| <b>PARAMETROS ANALIZADOS</b>            | <b>RESULTADOS (%)</b> | <b>METODO DE ANALISIS</b>      |
| <b>ETANOL</b>                           | 98,9271               | INEN 2014 C.G*                 |
| <b>METANOL</b>                          | 0,0134                | PEE-LASA-FQ-10b3 INEN 2014 C.G |

| <b>MUESTRA 11 (A3B1 0,25g/l a 30°C)</b> |                       |                                |
|---|-----------------------|--------------------------------|
| <b>PARAMETROS ANALIZADOS</b>            | <b>RESULTADOS (%)</b> | <b>METODO DE ANALISIS</b>      |
| <b>ETANOL</b>                           | 98,9549               | INEN 2014 C.G*                 |
| <b>METANOL</b>                          | 0,0015                | PEE-LASA-FQ-10b3 INEN 2014 C.G |

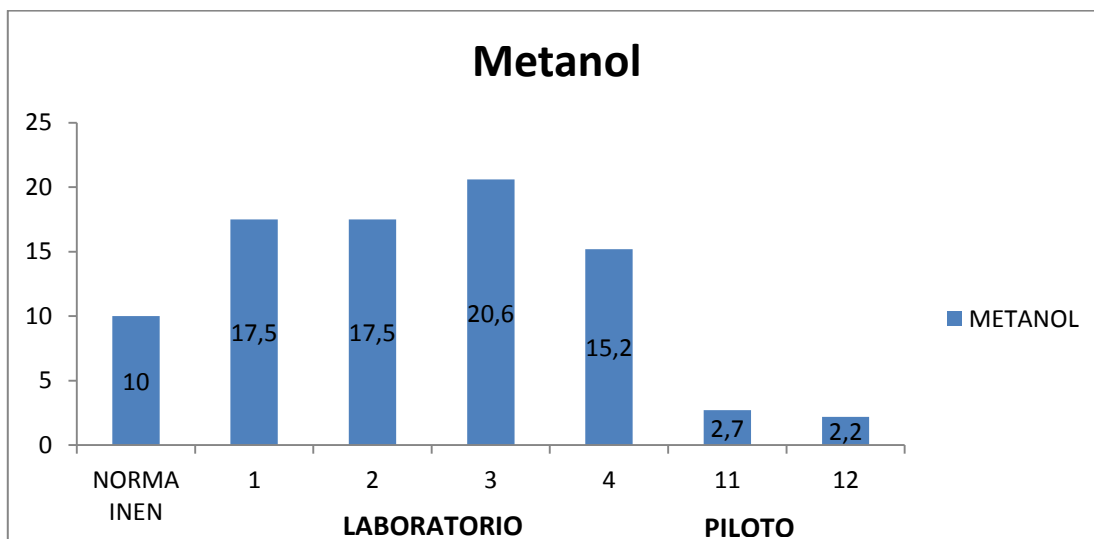
| <b>MUESTRA 12 (A3B1 0,25g/l a 30°)</b> |                       |                                |
|--|-----------------------|--------------------------------|
| <b>PARAMETROS ANALIZADOS</b>           | <b>RESULTADOS (%)</b> | <b>METODO DE ANALISIS</b>      |
| <b>ETANOL</b>                          | 99,6711               | INEN 2014 C.G*                 |
| <b>METANOL</b>                         | 0,001                 | PEE-LASA-FQ-10b3 INEN 2014 C.G |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

Tabla 22 indica que las muestras tanto de laboratorio como de la planta piloto tienen un alto contenido de etanol, el cual era el objetivo de la investigación, también se reporta la presencia de metanol.



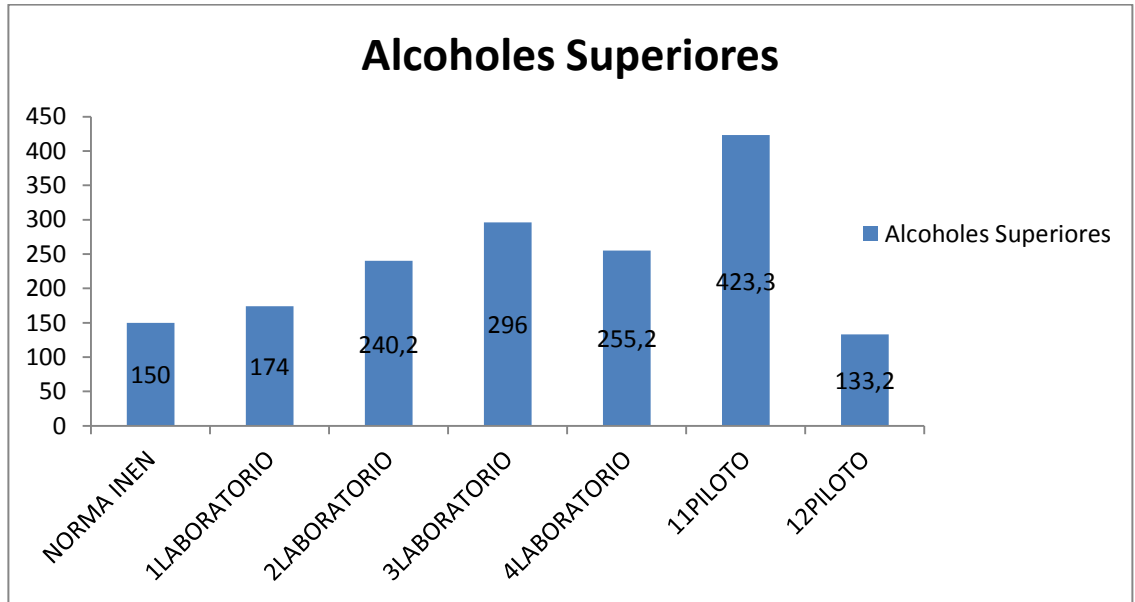
**Gráfico 24. Valores de metanol**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

Según la norma INEN 362 el valor permitido de metanol en bebidas alcohólicas es de 10mg/100ml de alcohol absoluto. El gráfico 24 indica que el contenido de metanol en los alcoholes obtenidos a nivel del laboratorio está por sobre el valor permitido en dicha norma, mientras que el determinado a nivel de la planta piloto están muy por debajo del límite establecido.

**Gráfico 25. Valores de alcoholes superiores**



**Fuente:** Elaboración propia (2015)

Según la norma INEN 362 el valor permitido de alcoholes superiores en bebidas alcohólicas es de 150mg/100ml de alcohol absoluto. El gráfico 25 indica que el contenido de alcoholes superiores en el producto final a nivel del laboratorio y planta piloto están por sobre el valor permitido en dicha norma, indicando que la muestra 12 de la planta piloto está dentro del rango permitido.

#### 4.6. ANALISIS BENEFICIO COSTO

A continuación presentamos el análisis económico de costo-beneficio al utilizar la tecnología propuesta por el presente trabajo investigativo:

**Tabla 23. Costo de producción por cada 30 l**

| Rubros          | Unidades (\$) | Costo unitario (\$) | Costo (\$) |
|-----------------|---------------|---------------------|------------|
| Guarapo         | 30            | 0,12                | 3,60       |
| Levadura        | 7,5           | 0,03                | 0,86       |
| Envases         | 4             | 0,15                | 0,60       |
| Costos          |               |                     | 5,06       |
| Venta           | 4             | 1,50                | 6,00       |
| Beneficio bruto |               |                     | 0,94       |

Fuente: Elaboración propia (2015)

Datos de los costos reales que involucra el proceso de producción de etanol en la Parroquia Facundo Vela.

Calculo del costo/beneficio

$$B/C = \frac{\sum_{i=0}^n \frac{V_i}{(1+i)^n}}{\sum_{i=0}^n \frac{C_i}{(1+i)^n}}$$

$$B/C = \frac{\sum_{i=0}^n \frac{0,94}{(1+0,12)^i}}{\sum_{i=0}^n \frac{5,06}{(1+0,12)^i}} = 0.1857$$

La relación beneficio/costo es de 0.1857.

## V. VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS

La hipótesis anunciada fue que la levadura (*saccharomyces cerevisiae*), y la temperatura no inciden en la obtención del producto final.

De acuerdo al análisis de varianza realizado (Tabla 16. Análisis de varianza para el tiempo de fermentación), el factor levadura con sus diferentes niveles no presentan diferencias significativas al 5%; por lo tanto no tiene incidencia en la obtención del producto final.

De acuerdo al análisis de varianza realizado (Tabla 16. Análisis de varianza para el tiempo de fermentación), el factor temperatura con sus diferentes niveles no presentan diferencias significativas al 5%; por lo tanto no tiene incidencia en la obtención del producto final.

Ante lo cual no existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1. CONCLUSIONES

- La levadura *Saccharomyces cerevisiae* no presenta un efecto significativo a un nivel 0,25 g/l en el tiempo de fermentación (51 horas), pero si presenta un efecto significativo en grados Brix (8) y grado alcohólico (49); por lo tanto el tratamiento 5 es considerado el más idóneo para realizar el proceso.
- La temperatura no presenta un efecto significativo a un nivel de 30 °C en el tiempo de fermentación (51 horas), pero si presenta un efecto significativo en grados Brix (8) y grado alcohólico (49); por lo tanto el tratamiento 5 es considerado el más idóneo para realizar el proceso.
- El etanol extraído presenta las siguientes características físicas y química correspondientes al tratamiento 5: grado alcohólico (49), metanol (2,20 mg/100ml de alcohol absoluto), alcoholes superiores (133,2 mg/100ml de alcohol absoluto); por lo tanto este alcohol, tiene un alto contenido de etanol que lo califica como materia prima para la obtención de etanol anhidro.
- El valor del indicador costo/ beneficio del tratamiento 5 es del 0,1857; a un valor menor a 1, no es aconsejable el ejercicio de esta actividad productiva, por lo que es necesario profundizar en el estudio técnico y tecnológico de la obtención de etanol.
- Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación dan a conocer los cambios en los valores de pH, grados Brix , °GL, alcoholes superiores, volumen, tanto a nivel de laboratorio y a nivel de planta piloto. Los valores obtenidos en laboratorio indican una eficiencia en la conversión de azúcar en alcohol en alrededor 13%, esto debido a que las condiciones se puede controlar. A nivel de planta piloto

los resultados muestran una disminución en alrededor del 4% en los resultados de laboratorio esto debido a la dificultad de controlar las variables ambientales y humanas difíciles de controlar, lo que afecta directamente en la producción en volumen. Estas observaciones incrementan la cuestión acerca de la transformación de azúcares en el proceso de fermentación, no logra influir positivamente en el incremento de volumen y el °GL la principal razón es la calidad de la levadura utilizada

## 6.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda en futuros estudios, tomar en consideración otros factores de importancia tales como tiempo y velocidad de agitación, tratamiento térmico previo a la fermentación, desarrollo de la fermentación a través de la aplicación de modelos de cinética de crecimiento microbiano; aspectos que colaborarían en el conocimiento de los procesos de fermentación a ser aplicados en el sector de Facundo Vela y otros sectores de la provincia Bolívar donde se procese caña de azúcar para obtener etanol.
- Se recomienda realizar una limpieza de todo el equipo de fermentación, para evitar una posible contaminación en el proceso.
- Se recomienda realizar un convenio con los cañicultores de la parroquia Facundo Vela para continuar en los estudios de producción de etanol, para estar vinculados con los sectores productivos y dar potenciales respuestas a problemáticas técnicas que se presentan en los lugares de producción.
- Es necesario realizar estudios sobre el cultivo de la caña de azúcar, introducción, mejoramiento de variedades, calidad de suelos, aspectos importantes que necesitan ser abordados para mejorar el cultivo.
- Se recomienda el desarrollo de investigaciones que involucren el estudio de las fermentaciones a partir de jugo de caña de azúcar para obtener etanol, debido a que es un sector considerado estratégico dentro de la matriz productiva y de la zona 5.

## VII. RESUMEN Y SUMMARY

### 7.1. RESUMEN

La presente investigación que se titula: Efecto de la levadura (*Saccharomyces cerevisia*) y la temperatura en la obtención de etanol a partir de caña de azúcar (*saccharun officiarum L*). Se desarrolló en la Universidad Estatal de Bolívar, con la finalidad de obtener etanol mediante la adición de diferentes concentraciones de levadura y temperaturas, para optimizar el tiempo de fermentación, los análisis físicos químicos se realizaron en el Laboratorio LASA de la ciudad de Quito.

La investigación consistió en obtener etanol a partir del mosto de jugo de caña, sometiendo la materia prima a diferentes procesos como recepción, filtrado, fermentación y destilación. Las variables en estudio fueron pH, °Brix, °GL, tiempo de fermentación en el producto final análisis físico químico.

Para el desarrollo de la fase experimental se utilizó un Diseño Completamente al Azar con un arreglo factorial AxB con tres repeticiones, donde A corresponde a la levadura y B a la temperatura.

Se realizaron ensayos a diferentes concentraciones de levadura y temperatura se determinó el mejor tratamiento en relación al °Brix, °GL, fue el tratamiento T5 (A3B1) correspondiente a 0,25g/l de levadura y 30°C de temperatura



## 7.2. SUMMARY

This research titled: Effect of yeast (*Saccharomyces cerevisia*) and temperature in obtaining ethanol from sugarcane (*Saccharun Officiarum L*). It was developed in Bolívar State University, in order to produce ethanol by adding different concentrations of yeast and temperatures to optimize the fermentation time, physical chemical analyzes were performed in the LASA Laboratory Quito.

The investigation was to obtain ethanol from cane juice must subjecting the raw material to different processes such as receiving, filtering, fermentation and distillation. The variables studied were pH, Brix, °GL, fermentation time the final product physical chemical analysis.

For the development of the pilot phase Design was used completely randomized in a factorial arrangement with three replications AxB where A corresponds to the yeast and B to temperature.

Assays at different concentrations of yeast and the best treatment temperature in relation to °Brix performed °GL determined was the corresponding treatment T5 (a3b1) to 0,25g / l yeast and temperature 30 ° C

## VIII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Abate, J. (1999). *Biología Aplicada*. Editorial Universidad Estatal a Distancia. Costa Rica.
2. Angulo, A. (2010). *Efectividad de los Microorganismos Nativos en Relación a Aspergillus Nigar, Clostridium thermocellum ATCC27405 y Zymomonas Mobilis para la producción de Bioetanol a partir de Residuos de Sandía Cityllus lanatus*. Escuela Politécnica del Ejército. Ecuador. Quito.
3. Arroyo, L. (2009). *Effects of temperatura, pH and sugar concentración on the growth parameters of Saccharomyces cerevisiae, kudriavzevii and their interspecific hybrid*. International Journal of Food Microbiology. Elsevier.
4. Barcia, W. (2012). *Producción de caña de azúcar en el Ecuador*. Disponible en <http://ambitoeconomico.blogspot.com/2012/10/produccion-de-la-cana-de-azucar-en-el.html>.
5. Betancourt, R. (2001). *Guías de laboratorio de operaciones unitarias III*. Primera edición. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. Manizales. Pág. 31.
6. BNDES, (2008). *Bioetanol de caña de azúcar, energía para el desarrollo sostenible*. Primera edición. Brasil. Rio de Janeiro.
7. Briceño, C., & Calero, C. (2004). *Etanol como Combustible para vehículos*. Carta Trimestral 1 de 2004- CENICAÑA. Colombia.

8. Castillo, R & Cifuentes, E. (2004). *Fisiología, floración y mejoramiento genético de la caña de azúcar en Ecuador*. Centro de investigación de la caña de azúcar del Ecuador (CINCAE). Publicación Técnica N°. 3. Ecuador.
9. Castillo, R. (2013). *Caña de azúcar: Cultivo para la sostenibilidad*. Centro de investigación de la caña de azúcar del Ecuador (CINCAE). Ecuador. Guayaquil. Disponible en <http://cincae.org/cana-de-azucar-cultivo-para-la-sostenibilidad/>
10. Celi, S & Macías, E. (2006). *Obtención, preparación y aplicación del alcohol como combustible alternativo en un motor de combustión interna*. Escuela Politécnica del Ejército. Ecuador. Latacunga
11. CINCAE. (2007). *Centro de investigación de la caña de azúcar del Ecuador*. Ecuador. Guayaquil.
12. Coronel, M. (2011). *Artículo de Vinos de Frutas*. Universidad Tecnológica Equinoccial. Ecuador. Quito. Disponible en <http://www.ute.edu.ec/fci/coronel.pdf>
13. Díaz., L. (2002). *Manual de Producción de Caña de Azúcar (Saccharum officinarum L.)*. Honduras.
14. Fajardo,E & Sarmientos,S. (2007). *Evaluación de la melazas de caña como sustrato para la producción de Saccharomyces cerevisiae*. Pontificia Universidad Javeriana. disponible en <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis26.pdf>.
15. García, V. (2004). *Introducción a la Microbiología*. Segunda edición. Editorial Universidad Estatal a Distancia. Costa Rica. San José.

16. Gilses, P & Veloz, P. (2006). *Estudio del uso de los nutrientes para la levadura en fermentación con el propósito de mejorar la producción del alcohol etílico*. Universidad de Guayaquil. Ecuador.
17. Hernández, A. (2003). *Microbiología industrial*. Primera edición. Universidad Estatal a Distancia. Costa Rica. San José.
18. Hernández, V. & Decloux, M. (2007). *Procesos de producción en caña de azúcar en Ecuador*.
19. Hochfeld, W. (2006). *Producing Biomolecular Substances with Fermenters, Biofactors, and Biomolecular Synthesizers*. CRC/Taylor y Francis. United States of America.
20. INER. (2014). *Proyecto sustitución parcial etanol en gasolina*. Disponible en: [www.iner.gob.ec/biocombustibles](http://www.iner.gob.ec/biocombustibles).
21. Lamarque, A. (2008). *Fundamentos teóricos prácticos de química orgánica*. Primera edición. Editorial encuentro. Argentina. Córdoba. Pág. 30,31.
22. Levtona, F. (2006). *Energías "Alternativas". El Etanol*. Revista Ciencia y Tecnología.
23. MAGAP. (2012). *Implementación de sistemas agroecológicos en fincas productoras de caña, mejoramiento de procesos de producción, industrialización y comercialización de alcohol*. Facundo Vela.
24. Marcilla, A. (1998). *Introducción a las operaciones de separación calculo por etapas de equilibrio*, Edición electrónica. Espagrafic. España. Alicante.

25. MIPRO, (2013). *El subtrópico de Bolívar se abre a la agroexportación*. Ministerio de Industrias y Productividad en Bolívar.
26. Morales, J. (2010). *La industria de los biocombustibles en Ecuador*. Universidad Andina Simón Bolívar. Ecuador.
27. Nielsen, J. Villadsen, J. Lidèn, G. (2003). *Biorection engineering principles*. Third edición. Springer. Estados Unidos. New York.
28. Nieto, H. (2009). *Evaluacion de las condiciones de la fermentación alcohólica utilizando Saccharomyces cerevisiae y jugo de caña de azúcar como sustrato para obtener etanol*. Escuela Politécnica del Ejército.
29. NTE INEN 362. (2014). *Bebidas alcohólicas. Aguardiente de caña requisitos*.
30. Osorio, G. (2007). *Manual técnico: Buenas prácticas agrícolas BPA y buenas prácticas de manufactura BPM en la producción de la caña y panela*. Primera Edición. CTP Print Ltda. Medellín, Colombia.
31. Padilla, D. (2008). *Aplicación del diseño estadístico de experimentos a los ensayos realizados en la unidad de negocios PROPAGACION, El Quinche*. Escuela superior Politécnica de Chimborazo.
32. Panikov, N. (1995). *Microbial Growth Kinetics*. First edition. Chapman & hall. USA. New York.
33. PROCAÑA. (2015). *Subproductos y derivados de la caña de azúcar*. Asociación Colombiana de Productores y Proveedores de caña de azúcar. Colombia. Disponible en <http://www.procana.org/new/quienes-somos/subproductos-y-derivados-de-la-ca%C3%B1a.html>.

34. Ramírez, M. (2008). *Cultivos para la producción sostenible de biocombustibles: Una alternativa para generación de empleos e ingresos*. Primera edición. Edit. Comunica. Honduras.
35. Rankine, B. (2000). *Manual Práctico de Enología*. Tercera edición. Edt. Acibia. España. Zaragoza.
36. Recalde, D. (2010). *Elaboración de una bebida alcohólica de jícama (*smallanthus sonchifolius*) y manzana (*Pyrus malus L*)*. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Politécnica Nacional. Ecuador. Quito.
37. Salgado García Sergio, Nuñez Escobar Roberto, Bucio Alanis Lauro, (2003). *Determinación de la dosis optima económica de fertilización en caña de azúcar*. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Terra Latinoamericana. Vol 21. Mexico.
38. Sánchez, O. & Cardona, C. (2008). *Trends in biochnological production of fuel etanol from different feedstocks Bioresource Technology*.
39. Schlegel, H. (1997). *Microbiología general*. Nueva edición, Ediciones omega. España. Barcelona.
40. Shafaghat, H, et al. (2010). *Optimal growth *Saccharomyces cerevisiae* (PTCC 24860) on pretreated molasses for the ethanol production: the application of the response surface methodoly*. Association of the Chemical Engineers. CI & CEQ.
41. Taron, D., Arnulfo, Y., Fuentes B., Lorenzo, A., Martinez P. (2012). *Elaboración de una bebida alcohólica destilada a partir de sorgo dulce*

*(Sorghum Saccharatum)* con las características congénicas del cereal. Universidad de Antioquia. Vitae. Vol 19. Colombia. Medellín.

42. Toala, Gary & Astudillo, J. (2010). *Proyecto de implementación de una planta productora de etanol en base a la caña de azúcar*. Ecuador. Santa Elena.
43. Zamora, T., Prado A., Capataz J., Barrera E., Peña, J. (2014). *Demostraciones prácticas de los retos y oportunidades de la producción de bioetanol de primera y segunda generación a partir de cultivos tropicales*. Universidad Autónoma de México. ISSN0187-893-X. México.

# **ANEXOS**



Anexo 1. Mapa de ubicación



Fuente: Instituto Nacional de Estadística y Censo (2010)

**Anexo 2.** Valores de pH durante el proceso de fermentación

| TRATAMIENTO |   |     | pH   |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | PROMEDIO |      |
|-------------|---|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|----------|------|
| A           | B | REP | 0    | 4    | 8    | 12   | 16   | 20   | 24   | 28   | 32   | 36   | 40   | 44   | 48   | 52   | 56   |          |      |
| 1           | 1 | 1   | 4,28 | 4,1  | 4,08 | 4,01 | 4,00 | 3,98 | 3,95 | 3,86 | 3,85 | 3,85 | 3,88 | 3,9  | 3,95 | 3,92 | 3,91 | 3,97     |      |
| 1           | 2 | 1   | 4,45 | 4,11 | 3,92 | 3,91 | 3,90 | 3,87 | 3,88 | 3,85 | 3,84 | 3,83 | 3,83 | 3,83 | 3,82 | 3,82 | 3,82 | 3,82     | 3,91 |
| 2           | 1 | 1   | 4,3  | 4,11 | 4,08 | 4,02 | 4,00 | 3,98 | 3,89 | 3,84 | 3,82 | 3,82 | 3,83 | 3,84 | 3,83 | 3,83 | 3,83 | 3,81     | 3,93 |
| 2           | 2 | 1   | 4,32 | 4,1  | 3,95 | 3,93 | 3,92 | 3,9  | 3,9  | 3,87 | 3,87 | 3,85 | 3,85 | 3,85 | 3,84 | 3,84 | 3,83 | 3,83     | 3,92 |
| 3           | 1 | 1   | 4,51 | 4,1  | 4,03 | 3,97 | 3,94 | 3,90 | 3,84 | 3,81 | 3,81 | 3,88 | 3,87 | 3,85 | 3,84 | 3,86 | 3,85 | 3,85     | 3,94 |
| 3           | 2 | 1   | 4,3  | 4,1  | 4,05 | 4    | 3,97 | 3,94 | 3,92 | 3,91 | 3,86 | 3,86 | 3,86 | 3,86 | 3,85 | 3,85 | 3,84 | 3,84     | 3,94 |
| 1           | 1 | 2   | 4,32 | 4,1  | 4,07 | 3,94 | 3,91 | 3,87 | 3,85 | 3,82 | 3,8  | 3,82 | 3,82 | 3,81 | 3,87 | 3,85 | 3,84 | 3,84     | 3,91 |
| 1           | 2 | 2   | 4,32 | 4    | 3,91 | 3,90 | 3,89 | 3,87 | 3,86 | 3,85 | 3,84 | 3,84 | 3,84 | 3,84 | 3,83 | 3,85 | 3,85 | 3,85     | 3,90 |
| 2           | 1 | 2   | 4,42 | 4,1  | 3,95 | 3,93 | 3,90 | 3,86 | 3,85 | 3,84 | 3,8  | 3,8  | 3,81 | 3,81 | 3,88 | 3,9  | 3,92 | 3,92     | 3,92 |
| 2           | 2 | 2   | 4,31 | 4,03 | 3,90 | 3,90 | 3,88 | 3,86 | 3,85 | 3,84 | 3,84 | 3,85 | 3,85 | 3,85 | 3,83 | 3,83 | 3,82 | 3,82     | 3,90 |
| 3           | 1 | 2   | 4,32 | 4,11 | 4,08 | 3,96 | 3,92 | 3,88 | 3,86 | 3,82 | 3,81 | 3,82 | 3,84 | 3,85 | 3,85 | 3,84 | 3,84 | 3,84     | 3,92 |
| 3           | 2 | 2   | 4,32 | 4,01 | 3,95 | 3,91 | 3,89 | 3,87 | 3,84 | 3,83 | 3,82 | 3,82 | 3,81 | 3,80 | 3,81 | 3,85 | 3,85 | 3,85     | 3,89 |
| 1           | 1 | 3   | 4,32 | 4,08 | 3,95 | 3,92 | 3,91 | 3,90 | 3,87 | 3,85 | 3,81 | 3,8  | 3,81 | 3,81 | 3,9  | 3,91 | 3,92 | 3,92     | 3,92 |
| 1           | 2 | 3   | 4,1  | 4,01 | 3,92 | 3,92 | 3,91 | 3,90 | 3,89 | 3,88 | 3,85 | 3,85 | 3,85 | 3,84 | 3,84 | 3,85 | 3,84 | 3,84     | 3,90 |
| 2           | 1 | 3   | 4,55 | 4,1  | 4,04 | 3,98 | 3,93 | 3,88 | 3,87 | 3,85 | 3,81 | 3,81 | 3,83 | 3,85 | 3,87 | 3,88 | 3,89 | 3,89     | 3,94 |
| 2           | 2 | 3   | 4,32 | 4,08 | 3,91 | 3,90 | 3,89 | 3,88 | 3,85 | 3,85 | 3,84 | 3,84 | 3,84 | 3,83 | 3,82 | 3,84 | 3,85 | 3,85     | 3,90 |
| 3           | 1 | 3   | 4,33 | 4,08 | 4,05 | 3,98 | 3,94 | 3,90 | 3,88 | 3,82 | 3,81 | 3,83 | 3,84 | 3,84 | 3,85 | 3,86 | 3,87 | 3,87     | 3,93 |
| 3           | 2 | 3   | 4,35 | 4,1  | 3,98 | 3,90 | 3,89 | 3,88 | 3,85 | 3,85 | 3,84 | 3,82 | 3,81 | 3,80 | 3,84 | 3,85 | 3,84 | 3,84     | 3,91 |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

**Anexo 3.** Valores de °Brix durante el proceso de fermentación

| TRATAMIENTO |   |     | °Brix |    |    |      |      |    |    |    |    |    |      |    |      |    | PROMEDIO |      |
|-------------|---|-----|-------|----|----|------|------|----|----|----|----|----|------|----|------|----|----------|------|
| A           | B | REP | 0     | 4  | 8  | 12   | 16   | 20 | 24 | 28 | 32 | 36 | 40   | 44 | 48   | 52 |          | 56   |
| 1           | 1 | 1   | 17    | 17 | 17 | 16   | 15   | 14 | 14 | 14 | 12 | 12 | 11,5 | 11 | 10,5 | 10 | 10       | 13,4 |
| 1           | 2 | 1   | 18    | 18 | 17 | 17   | 16   | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 11   | 11 | 10   | 10 | 10       | 13,5 |
| 2           | 1 | 1   | 17    | 17 | 17 | 17   | 16   | 15 | 14 | 14 | 12 | 11 | 10,5 | 10 | 10   | 10 | 10       | 13,4 |
| 2           | 2 | 1   | 17    | 17 | 17 | 16   | 15,5 | 15 | 14 | 13 | 11 | 11 | 10,5 | 10 | 10   | 9  | 9        | 13,0 |
| 3           | 1 | 1   | 18    | 17 | 17 | 17   | 16   | 15 | 14 | 13 | 11 | 11 | 10,5 | 10 | 9    | 9  | 9        | 13,1 |
| 3           | 2 | 1   | 18    | 17 | 17 | 16,5 | 15,8 | 15 | 13 | 12 | 11 | 10 | 10   | 10 | 10   | 10 | 10       | 13,0 |
| 1           | 1 | 2   | 17    | 16 | 16 | 16   | 15   | 14 | 14 | 13 | 13 | 12 | 11,5 | 11 | 10   | 10 | 10       | 13,2 |
| 1           | 2 | 2   | 17    | 17 | 16 | 16   | 15,5 | 15 | 14 | 12 | 11 | 11 | 10,5 | 10 | 10   | 10 | 10       | 13,0 |
| 2           | 1 | 2   | 17    | 16 | 16 | 16   | 15   | 14 | 14 | 12 | 11 | 11 | 10,5 | 10 | 10   | 9  | 9        | 12,7 |
| 2           | 2 | 2   | 17    | 17 | 16 | 16   | 15,5 | 15 | 14 | 12 | 11 | 11 | 10,5 | 10 | 10   | 9  | 9        | 12,9 |
| 3           | 1 | 2   | 17    | 16 | 16 | 15   | 14   | 13 | 12 | 11 | 11 | 10 | 10   | 10 | 9    | 8  | 8        | 12,0 |
| 3           | 2 | 2   | 17    | 16 | 16 | 15   | 14,5 | 14 | 13 | 12 | 11 | 11 | 10,5 | 10 | 10   | 9  | 9        | 12,5 |
| 1           | 1 | 3   | 17    | 17 | 16 | 16   | 15   | 14 | 14 | 13 | 13 | 12 | 11,5 | 11 | 10   | 10 | 9        | 13,2 |
| 1           | 2 | 3   | 17    | 17 | 17 | 16   | 15,5 | 15 | 14 | 14 | 13 | 12 | 11,5 | 11 | 10   | 10 | 10       | 13,5 |
| 2           | 1 | 3   | 18    | 17 | 17 | 16   | 15   | 14 | 14 | 12 | 11 | 11 | 10,5 | 10 | 10   | 10 | 10       | 13,0 |
| 2           | 2 | 3   | 17    | 17 | 16 | 16   | 15   | 14 | 13 | 12 | 11 | 10 | 10   | 10 | 10   | 10 | 10       | 12,7 |
| 3           | 1 | 3   | 17    | 17 | 16 | 16   | 15,5 | 15 | 14 | 13 | 11 | 10 | 9,5  | 9  | 9    | 8  | 8        | 12,5 |
| 3           | 2 | 3   | 17    | 17 | 16 | 16   | 15,5 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 10,5 | 10 | 9    | 9  | 9        | 12,9 |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

#### Anexo 4. Valores de grado alcohólico

| TRATAMIENTO |   |     |     |
|-------------|---|-----|-----|
| A           | B | REP | °GL |
| 1           | 1 | 1   | 40  |
| 1           | 2 | 1   | 30  |
| 2           | 1 | 1   | 40  |
| 2           | 2 | 1   | 30  |
| 3           | 1 | 1   | 48  |
| 3           | 2 | 1   | 32  |
| 1           | 1 | 2   | 40  |
| 1           | 2 | 2   | 30  |
| 2           | 1 | 2   | 45  |
| 2           | 2 | 2   | 30  |
| 3           | 1 | 2   | 50  |
| 3           | 2 | 2   | 35  |
| 1           | 1 | 3   | 40  |
| 1           | 2 | 3   | 30  |
| 2           | 1 | 3   | 45  |
| 2           | 2 | 3   | 32  |
| 3           | 1 | 3   | 50  |
| 3           | 2 | 3   | 35  |

Fuente: Elaboración propia (2015)

**Anexo 5.** Valores de tiempo de fermentación

| <b>TRTATAMIENTO</b> |                    |            |              |
|---------------------|--------------------|------------|--------------|
| <b>Levadura</b>     | <b>Temperatura</b> | <b>REP</b> | <b>Horas</b> |
| <b>1</b>            | <b>1</b>           | <b>1</b>   | <b>52</b>    |
| <b>1</b>            | <b>2</b>           | <b>1</b>   | <b>48</b>    |
| <b>2</b>            | <b>1</b>           | <b>1</b>   | <b>44</b>    |
| <b>2</b>            | <b>2</b>           | <b>1</b>   | <b>52</b>    |
| <b>3</b>            | <b>1</b>           | <b>1</b>   | <b>48</b>    |
| <b>3</b>            | <b>2</b>           | <b>1</b>   | <b>40</b>    |
| <b>1</b>            | <b>1</b>           | <b>2</b>   | <b>48</b>    |
| <b>1</b>            | <b>2</b>           | <b>2</b>   | <b>44</b>    |
| <b>2</b>            | <b>1</b>           | <b>2</b>   | <b>52</b>    |
| <b>2</b>            | <b>2</b>           | <b>2</b>   | <b>52</b>    |
| <b>3</b>            | <b>1</b>           | <b>2</b>   | <b>52</b>    |
| <b>3</b>            | <b>2</b>           | <b>2</b>   | <b>52</b>    |
| <b>1</b>            | <b>1</b>           | <b>3</b>   | <b>56</b>    |
| <b>1</b>            | <b>2</b>           | <b>3</b>   | <b>48</b>    |
| <b>2</b>            | <b>1</b>           | <b>3</b>   | <b>44</b>    |
| <b>2</b>            | <b>2</b>           | <b>3</b>   | <b>40</b>    |
| <b>3</b>            | <b>1</b>           | <b>3</b>   | <b>52</b>    |
| <b>3</b>            | <b>2</b>           | <b>3</b>   | <b>48</b>    |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

**Anexo 6.** Valores de volumen del producto final

| <b>TRATAMIENTO</b> |          |            |                |
|--------------------|----------|------------|----------------|
| <b>A</b>           | <b>B</b> | <b>REP</b> | <b>Volumen</b> |
| 1                  | 1        | 1          | 35             |
| 1                  | 2        | 1          | 30             |
| 2                  | 1        | 1          | 35             |
| 2                  | 2        | 1          | 32             |
| 3                  | 1        | 1          | 35             |
| 3                  | 2        | 1          | 34             |
| 1                  | 1        | 2          | 32             |
| 1                  | 2        | 2          | 34             |
| 2                  | 1        | 2          | 30             |
| 2                  | 2        | 2          | 30             |
| 3                  | 1        | 2          | 34             |
| 3                  | 2        | 2          | 32             |
| 1                  | 1        | 3          | 34             |
| 1                  | 2        | 3          | 36             |
| 2                  | 1        | 3          | 32             |
| 2                  | 2        | 3          | 35             |
| 3                  | 1        | 3          | 35             |
| 3                  | 2        | 3          | 34             |

**Fuente:** Elaboración propia (2015)

## Anexo 7. Análisis físico químico del alcohol



### INFORME DE RESULTADOS

INF. LASA 13-04-15-0855  
ORDEN DE TRABAJO No. 000921-15

SOLICITADO POR: JUAN ALBERTO GAIBOR CHÁVEZ  
DIRECCIÓN: PICHINCHA 1004 ENTRE SELVA ALEGRE Y MALDONADO  
TELÉFONO / FAX: 0997838109  
TIPO DE MUESTRA: ALCOHOL  
PROCEDENCIA: GUARANDA-UNIVERSIDAD DE BOLIVAR  
IDENTIFICACIÓN: ETANOL I  
COD. MUESTRA: 5006-15

FECHA RECEPCIÓN: 08/04/2015  
FECHA DE ANÁLISIS: 08/04-13/04/2015  
FECHA DE ENTREGA: 13/04/2015  
NÚMERO DE MUESTRAS: UNA (1)  
MUESTREO: SOLICITANTE

### ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

| PARÁMETRO ANALIZADO  | RESULTADO | UNIDAD                         | MÉTODO DE ANÁLISIS              |
|----------------------|-----------|--------------------------------|---------------------------------|
| FURFURAL             | 1.20      | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | INEN 2014 C.G. *                |
| METANOL              | 17.50     | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | PEE-LASA-FQ-10b3 INEN 2014 C.G. |
| ALCOHOLES SUPERIORES | 174.0     | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | INEN 2014 C.G. *                |

- LOS ENSAYOS MARCADOS CON (\*) ESTÁN FUERA DEL ALCANCE DE ACREDITACIÓN DEL OAE
- LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL OAE CON ACREDITACIÓN N° OAE LE 1C 06-002

  
Dr. Marco Gujarrero Ruales  
GERENTE DE LABORATORIO

LASA se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida en el laboratorio. Las incertidumbres de los resultados para los ensayos se encuentran disponibles en los registros de Laboratorio LASA. Prohibida su reproducción parcial o total por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.

Pág. 1 de 1

Av. de la Prensa N53-113 y Gonzalo Gallo • Teléfonos: 2469- 814 / 2269-012  
Juan Ignacio Pareja OE5-97 y Simón Cárdenas • Teléfono: 2290-815  
Celular: 099 9236 287 • e-mail: info@laboratoriolasa.com  
web: www.laboratoriolasa.com • Quito - Ecuador





LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS  
Y PRODUCTOS PROCESADOS

### INFORME DE RESULTADOS

INF. LASA 13-04-15-0856  
ORDEN DE TRABAJO No. 000921-15

SOLICITADO POR: JUAN ALBERTO GAIBOR CHÁVEZ  
DIRECCIÓN: PICHINCHA 1004 ENTRE SELVA ALEGRE Y MALDONADO  
TELÉFONO / FAX: 0997838109  
TIPO DE MUESTRA: ALCOHOL  
PROCEDENCIA: GUARANDA-UNIVERSIDAD DE BOLIVAR  
IDENTIFICACIÓN: ETANOL 2  
COD. MUESTRA: 5007-15

FECHA RECEPCION: 08/04/2015  
FECHA DE ANÁLISIS: 08/04-13/04/2015  
FECHA DE ENTREGA: 13/04/2015  
NÚMERO DE MUESTRAS: UNA (1)  
MUESTREO: SOLICITANTE

### ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

| PARÁMETRO ANALIZADO  | RESULTADO | UNIDAD                         | MÉTODO DE ANÁLISIS                 |
|----------------------|-----------|--------------------------------|------------------------------------|
| FURFURAL             | 1.40      | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | INEN 2014 C.G. *                   |
| METANOL              | 17.50     | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | PEE-LASA-FQ-10b3<br>INEN 2014 C.G. |
| ALCOHOLES SUPERIORES | 240.2     | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | INEN 2014 C.G. *                   |

- LOS ENSAYOS MARCADOS CON (\*) ESTÁN FUERA DEL ALCANCE DE ACREDITACIÓN DEL OAE
- LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL OAE CON ACREDITACIÓN N° OAE LE 1C 06-002

  
Dr. Marco Guijarro Ruales  
GERENTE DE LABORATORIO

LASA se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida en el laboratorio. Las incertidumbres de los resultados para los ensayos se encuentran disponibles en los registros de Laboratorio LASA. Prohibida su reproducción parcial o total por cualquier medio sin permiso, o escrito del laboratorio.

Pág. 1 de 1

Av. de la Prensa N53-113 y Gonzalo Gallo • Teléfonos: 2469- 814 / 2269-012  
Juan Ignacio Pareja OE5-97 y Simón Cárdenas • Teléfono: 2290-815  
Celular: 099 9236 287 • e-mail: info@laboratoriolasa.com  
web: www.laboratoriolasa.com • Quito - Ecuador







LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS  
Y PRODUCTOS PROCESADOS

### INFORME DE RESULTADOS

INF. LASA 13-04-15-0857  
ORDEN DE TRABAJO No. 000921-15

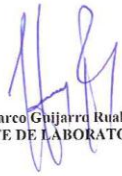
SOLICITADO POR: JUAN ALBERTO GAIBOR CHÁVEZ  
DIRECCIÓN: PICHINCHA 1004 ENTRE SELVA ALEGRE Y MALDONADO  
TELÉFONO / FAX: 0997838109  
TIPO DE MUESTRA: ALCOHOL  
PROCEDENCIA: GUARANDA-UNIVERSIDAD DE BOLIVAR  
IDENTIFICACIÓN: ETANOL 3  
COD. MUESTRA: 5008-15

FECHA RECEPCION: 08/04/2015  
FECHA DE ANÁLISIS: 08/04-13/04/2015  
FECHA DE ENTREGA: 13/04/2015  
NÚMERO DE MUESTRAS: UNA (1)  
MUESTREO: SOLICITANTE

### ANÁLISIS FISCOQUÍMICO

| PARÁMETRO ANALIZADO  | RESULTADO | UNIDAD                         | MÉTODO DE ANÁLISIS              |
|----------------------|-----------|--------------------------------|---------------------------------|
| FURFURAL             | 1.20      | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | INEN 2014 C.G. *                |
| METANOL              | 20.60     | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | PEE-LASA-FQ-10b3 INEN 2014 C.G. |
| ALCOHOLES SUPERIORES | 296.0     | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | INEN 2014 C.G. *                |

- LOS ENSAYOS MARCADOS CON (\*) ESTÁN FUERA DEL ALCANCE DE ACREDITACIÓN DEL OAE
- LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL OAE CON ACREDITACIÓN N° OAE LE 1C 06-002

  
Dr. Marco Gujarra Ruales  
GERENTE DE LABORATORIO

LASA se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida en el laboratorio. Las incertidumbres de los resultados para los ensayos se encuentran disponibles en los registros de Laboratorio LASA. Prohibida su reproducción parcial o total por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.

Pág. 1 de 1

Av. de la Prensa N53-113 y Gonzalo Gallo • Teléfonos: 2469- 814 / 2269-012  
Juan Ignacio Pareja OE5-97 y Simón Cárdenas • Teléfono: 2290-815  
Celular: 099 9236 287 • e-mail: info@laboratoriolasa.com  
web: www.laboratoriolasa.com • Quito - Ecuador





LABORATORIO DE ANALISIS DE ALIMENTOS  
Y PRODUCTOS PROCESADOS

### INFORME DE RESULTADOS

INF. LASA 13-04-15-0858  
ORDEN DE TRABAJO No. 000921-15

SOLICITADO POR: JUAN ALBERTO GAIBOR CHÁVEZ  
DIRECCIÓN: PICHINCHA 1004 ENTRE SELVA ALEGRE Y MALDONADO  
TELÉFONO / FAX: 0997838109  
TIPO DE MUESTRA: ALCOHOL  
PROCEDENCIA: GUARANDA-UNIVERSIDAD DE BOLIVAR  
IDENTIFICACIÓN: ETANOL 4  
COD. MUESTRA: 5009-15

FECHA RECEPCION: 08/04/2015  
FECHA DE ANÁLISIS: 08/04-13/04/2015  
FECHA DE ENTREGA: 13/04/2015  
NÚMERO DE MUESTRAS: UNA (1)  
MUESTREO: SOLICITANTE

### ANÁLISIS FISICOQUÍMICO

| PARÁMETRO ANALIZADO  | RESULTADO | UNIDAD                         | MÉTODO DE ANÁLISIS              |
|----------------------|-----------|--------------------------------|---------------------------------|
| FURFURAL             | 1.30      | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | INEN 2014 C.G. *                |
| METANOL              | 15.20     | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | PEE-LASA-FQ-10b3 INEN 2014 C.G. |
| ALCOHOLES SUPERIORES | 255.2     | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | INEN 2014 C.G. *                |

- LOS ENSAYOS MARCADOS CON (\*) ESTÁN FUERA DEL ALCANCE DE ACREDITACIÓN DEL OAE
- LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL OAE CON ACREDITACIÓN N° OAE LE 1C 06-002

Dr. Marco Guíjarra Ruales  
GERENTE DE LABORATORIO

LASA se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida en el laboratorio.  
Las incertidumbres de los resultados para los ensayos se encuentran disponibles en los registros de Laboratorio LASA  
Prohibida su reproducción parcial o total por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.

Pág. 1 de 1

Av. de la Prensa N53-113 y Gonzalo Gallo • Teléfonos: 2469- 814 / 2269-012  
Juan Ignacio Pareja OE5-97 y Simón Cárdenas • Teléfono: 2290-815  
Celular: 099 9236 287 • e-mail: info@laboratoriolas.com  
web: www.laboratoriolas.com • Quito - Ecuador



**INFORME DE RESULTADOS**

INF. L.A.SA 13-04-15-0865  
ORDEN DE TRABAJO No. 000921-15

**SOLICITADO POR:** JUAN ALBERTO GAIBOR CHÁVEZ  
**DIRECCIÓN:** PICHINCHA 1004 ENTRE SELVA ALEGRE Y MALDONADO  
**TELÉFONO / FAX:** 0997838109  
**TIPO DE MUESTRA:** ALCOHOL  
**PROCEDENCIA:** GUARANDA-UNIVERSIDAD DE BOLIVAR  
**IDENTIFICACIÓN:** ETANOL 11  
**COD. MUESTRA:** 5016-15

**FECHA RECEPCION:** 08/04/2015  
**FECHA DE ANÁLISIS:** 08/04-13/04/2015  
**FECHA DE ENTREGA:** 13/04/2015  
**NÚMERO DE MUESTRAS:** UNA (1)  
**MUESTREO:** SOLICITANTE

**ANÁLISIS FISIQUÍMICO**

| <i>PARÁMETRO ANALIZADO</i> | <i>RESULTADO</i> | <i>UNIDAD</i>                  | <i>MÉTODO DE ANÁLISIS</i>       |
|----------------------------|------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| FURFURAL                   | 0.80             | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | INEN 2014 C.G. *                |
| METANOL                    | 2.70             | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | PEE-LASA-FQ-10b3 INEN 2014 C.G. |
| ALCOHOLES SUPERIORES       | 423.3            | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | INEN 2014 C.G. *                |

- LOS ENSAYOS MARCADOS CON (\*) ESTÁN FUERA DEL ALCANCE DE ACREDITACIÓN DEL OAE
- LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL OAE CON ACREDITACIÓN N° OAE LE 1C 06-002



Dr. Marco Guizarro Ruales  
GERENTE DE LABORATORIO

- 1. LASA se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida en el laboratorio.
- 2. Las incertidumbres de los resultados para los ensayos se encuentran disponibles en los registros de Laboratorio LASA.
- 3. Prohibida su reproducción parcial o total por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.

Pág. 1 de 1





LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS  
Y PRODUCTOS PROCESADOS

### INFORME DE RESULTADOS

INF. LASA 13-04-15-0866  
ORDEN DE TRABAJO No. 000921-15

SOLICITADO POR: JUAN ALBERTO GAIBOR CHÁVEZ  
DIRECCIÓN: PICHINCHA 1004 ENTRE SELVA ALEGRE Y MALDONADO  
TELÉFONO / FAX: 0997838109  
TIPO DE MUESTRA: ALCOHOL  
PROCEDENCIA: GUARANDA-UNIVERSIDAD DE BOLIVAR  
IDENTIFICACIÓN: ETANOL 12  
COD. MUESTRA: 5017-15

FECHA RECEPCION: 08/04/2015  
FECHA DE ANÁLISIS: 08/04-13/04/2015  
FECHA DE ENTREGA: 13/04/2015  
NÚMERO DE MUESTRAS: UNA (1)  
MUESTREO: SOLICITANTE

### ANÁLISIS FISICOQUÍMICO

| PARÁMETRO ANALIZADO  | RESULTADO | UNIDAD                         | MÉTODO DE ANÁLISIS              |
|----------------------|-----------|--------------------------------|---------------------------------|
| FURFURAL             | 0.60      | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | INEN 2014 C.G. *                |
| METANOL              | 2.20      | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | PEE-LASA-FQ-10b3 INEN 2014 C.G. |
| ALCOHOLES SUPERIORES | 133.2     | mg/ 100 ml DE ALCOHOL ABSOLUTO | INEN 2014 C.G. *                |

- LOS ENSAYOS MARCADOS CON (\*) ESTÁN FUERA DEL ALCANCE DE ACREDITACIÓN DEL OAE
- LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL OAE CON ACREDITACIÓN N° OAE LE 1C 06-002

Dr. Marco Guíjarro Ruales  
GERENTE DE LABORATORIO

LASA se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida en el laboratorio. Las incertidumbres de los resultados para los ensayos se encuentran disponibles en los registros de Laboratorio LASA. Prohibida su reproducción parcial o total por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.

Pág. 1 de 1

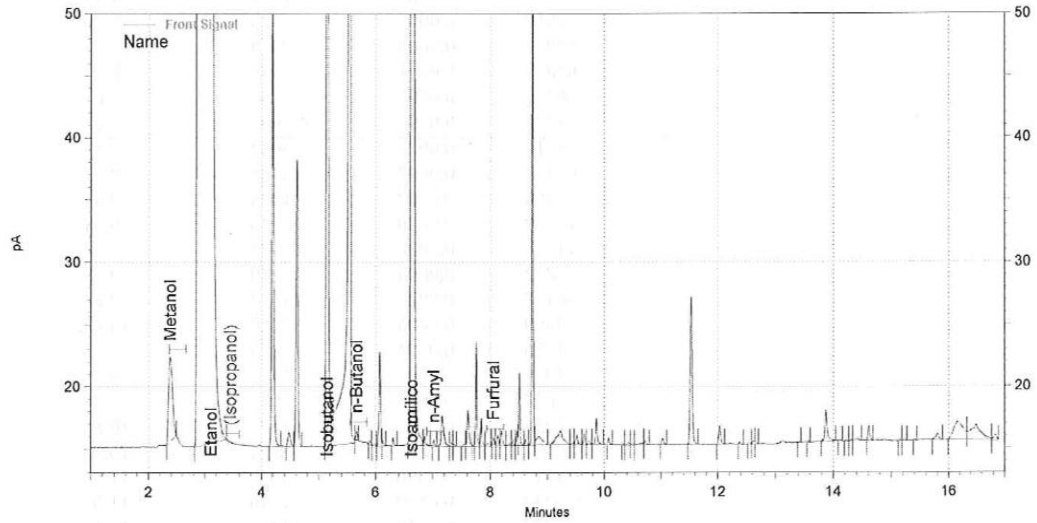
Av. de la Prensa N53-113 y Gonzalo Gallo • Teléfonos: 2469- 814 / 2269-012  
Juan Ignacio Pareja OE5-97 y Simón Cárdenas • Teléfono: 2290-815  
Celular: 099 9236 287 • e-mail: info@laboratoriolasa.com  
web: www.laboratoriolasa.com • Quito - Ecuador



## Anexo 8. Cromatogramas

### Area % Report

Data File: D:\Default\Data\Alcoholes\2015\04-ABRIL\090415\5006 OH 090415  
 Method: D:\Default\Method\CONGENERES full integracion.met  
 Acquired: 09/04/2015 22:11:21  
 Printed: 13/04/2015 10:01:26  
 Vial 29 Iny 1 uL



### Front Signal Results

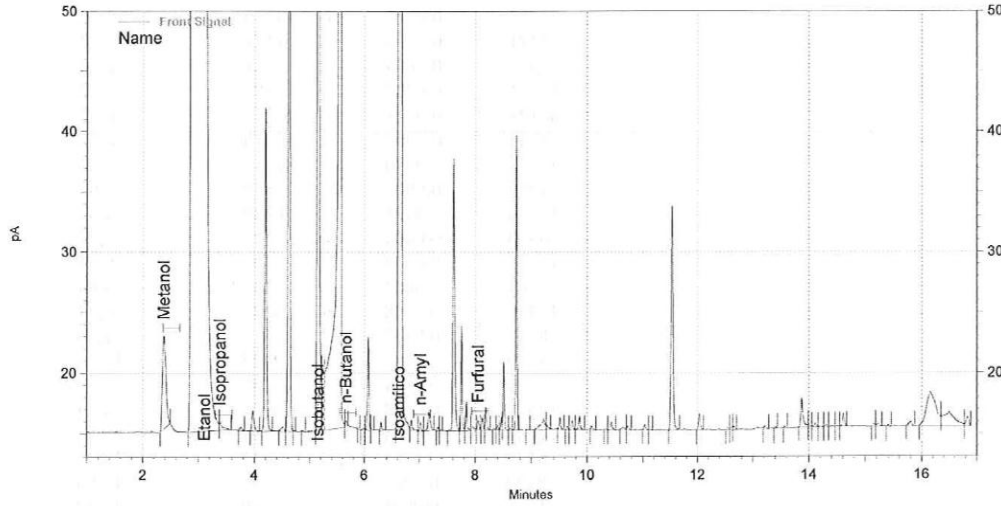
| Name       | Area       | Area Percent | Height    | Retention Time |
|------------|------------|--------------|-----------|----------------|
| Metanol    | 252662     | 0,0157       | 51911     | 2,38           |
| Etanol     | 1594449454 | 99,2422      | 167293830 | 3,11           |
|            | 611422     | 0,0381       | 280442    | 4,20           |
|            | 25933      | 0,0016       | 8585      | 4,48           |
| Isobutanol | 371929     | 0,0231       | 176411    | 4,61           |
|            | 1629700    | 0,1014       | 855076    | 5,15           |
|            | 56000      | 0,0035       | 22853     | 5,23           |
| n-Butanol  | 2716112    | 0,1691       | 1076858   | 5,55           |
|            | 9969       | 0,0006       | 5837      | 5,66           |
|            | 4183       | 0,0003       | 2701      | 5,89           |
|            | 2521       | 0,0002       | 872       | 5,97           |
|            | 102961     | 0,0064       | 57832     | 6,07           |
|            | 5384       | 0,0003       | 3245      | 6,13           |
|            | 8104       | 0,0005       | 5111      | 6,30           |
| Isoamílico | 4597479    | 0,2862       | 2291665   | 6,63           |
|            | 56017      | 0,0035       | 17637     | 6,72           |
|            | 11679      | 0,0007       | 6101      | 6,86           |
| n-Amyl     | 5235       | 0,0003       | 3445      | 7,02           |
|            | 59556      | 0,0037       | 18721     | 7,17           |
|            | 3751       | 0,0002       | 2241      | 7,33           |
|            | 2052       | 0,0001       | 1070      | 7,37           |

|          |        |        |        |       |
|----------|--------|--------|--------|-------|
|          | 3090   | 0,0002 | 1189   | 7,55  |
|          | 49831  | 0,0031 | 22177  | 7,61  |
|          | 1031   | 0,0001 | 758    | 7,68  |
|          | 86753  | 0,0054 | 64201  | 7,75  |
|          | 25715  | 0,0016 | 16662  | 7,84  |
|          | 6312   | 0,0004 | 1581   | 7,95  |
| Furfural | 6736   | 0,0004 | 4373   | 8,05  |
|          | 12763  | 0,0008 | 6388   | 8,13  |
|          | 21371  | 0,0013 | 9314   | 8,20  |
|          | 3347   | 0,0002 | 1301   | 8,34  |
|          | 6010   | 0,0004 | 3576   | 8,40  |
|          | 12991  | 0,0008 | 9339   | 8,47  |
|          | 65852  | 0,0041 | 44555  | 8,51  |
|          | 6701   | 0,0004 | 3365   | 8,61  |
|          | 471825 | 0,0294 | 327607 | 8,73  |
|          | 37710  | 0,0023 | 5082   | 8,84  |
|          | 66123  | 0,0041 | 8389   | 9,22  |
|          | 3190   | 0,0002 | 1026   | 9,44  |
|          | 14489  | 0,0009 | 6146   | 9,51  |
|          | 11777  | 0,0007 | 6923   | 9,64  |
|          | 5832   | 0,0004 | 2280   | 9,73  |
|          | 36128  | 0,0022 | 17074  | 9,86  |
|          | 7300   | 0,0005 | 4220   | 10,08 |
|          | 1196   | 0,0001 | 879    | 10,33 |
|          | 4959   | 0,0003 | 1712   | 10,43 |
|          | 2098   | 0,0001 | 942    | 10,48 |
|          | 7024   | 0,0004 | 1475   | 10,68 |
|          | 6492   | 0,0004 | 2624   | 10,73 |
|          | 9312   | 0,0006 | 4082   | 11,03 |
|          | 223247 | 0,0139 | 91246  | 11,53 |
|          | 28254  | 0,0018 | 11451  | 12,03 |
|          | 2718   | 0,0002 | 1184   | 12,38 |
|          | 3283   | 0,0002 | 1350   | 12,55 |
|          | 4608   | 0,0003 | 2051   | 12,62 |
|          | 3346   | 0,0002 | 1713   | 12,66 |
|          | 1197   | 0,0001 | 716    | 13,41 |
|          | 1848   | 0,0001 | 1066   | 13,57 |
|          | 53466  | 0,0033 | 19259  | 13,87 |
|          | 1462   | 0,0001 | 717    | 14,11 |
|          | 1391   | 0,0001 | 596    | 14,21 |
|          | 2201   | 0,0001 | 1124   | 14,30 |
|          | 7016   | 0,0004 | 1469   | 14,41 |
|          | 20219  | 0,0013 | 8900   | 14,61 |
|          | 1627   | 0,0001 | 846    | 15,15 |
|          | 2276   | 0,0001 | 899    | 15,23 |
|          | 1302   | 0,0001 | 640    | 15,40 |
|          | 15280  | 0,0010 | 3967   | 15,80 |
|          | 136981 | 0,0085 | 11233  | 16,17 |
|          | 124491 | 0,0077 | 9424   | 16,50 |
|          | 12579  | 0,0008 | 3536   | 16,83 |

|        |            |          |           |  |
|--------|------------|----------|-----------|--|
| Totals | 1606624853 | 100,0000 | 172935071 |  |
|--------|------------|----------|-----------|--|

## Area % Report

Data File: D:\Default\Data\Alcoholes\2015\04-ABRIL\090415\5007 OH 090415  
 Method: D:\Default\Method\CONGENERES full integracion.met  
 Acquired: 09/04/2015 22:33:06  
 Printed: 13/04/2015 10:13:21  
 Vial 30 Iny 1 uL

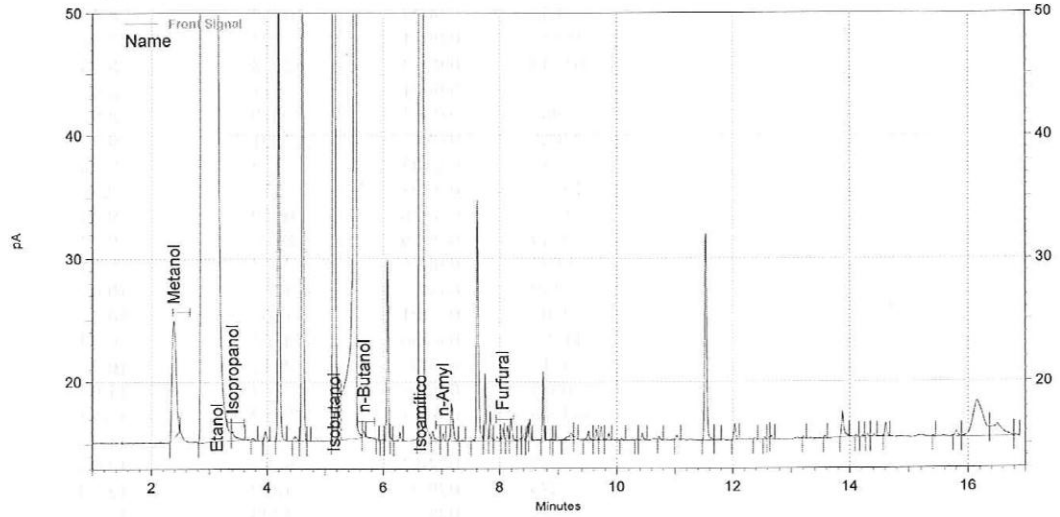


### Front Signal Results

| Name        | Area       | Area Percent | Height    | Retention Time |
|-------------|------------|--------------|-----------|----------------|
| Metanol     | 256414     | 0,0158       | 58607     | 2,38           |
| Etanol      | 1607078600 | 98,9468      | 167741507 | 3,11           |
| Isopropanol | 23695      | 0,0015       | 5024      | 3,39           |
|             | 6570       | 0,0004       | 2356      | 3,76           |
|             | 35618      | 0,0022       | 13137     | 3,97           |
|             | 446848     | 0,0275       | 205374    | 4,20           |
|             | 11282      | 0,0007       | 2965      | 4,51           |
|             | 1227966    | 0,0756       | 583414    | 4,61           |
|             | 928        | 0,0001       | 560       | 4,71           |
|             | 1430       | 0,0001       | 671       | 4,87           |
| Isobutanol  | 1924873    | 0,1185       | 971754    | 5,15           |
|             | 114964     | 0,0071       | 39235     | 5,23           |
|             | 4062162    | 0,2501       | 1377561   | 5,56           |
| n-Butanol   | 4683       | 0,0003       | 2719      | 5,66           |
|             | 1650       | 0,0001       | 1126      | 5,89           |
|             | 2736       | 0,0002       | 1044      | 5,98           |
|             | 105119     | 0,0065       | 58828     | 6,07           |
|             | 2398       | 0,0001       | 1524      | 6,13           |
|             | 8695       | 0,0005       | 5395      | 6,30           |
| Isoamilico  | 6838869    | 0,4211       | 3584222   | 6,63           |
|             | 15674      | 0,0010       | 7023      | 6,86           |

## Area % Report

Data File: D:\Default\Data\Alcoholes\2015\04-ABRIL\090415\5008 OH 090415  
 Method: D:\Default\Method\CONGENERES full integracion.met  
 Acquired: 09/04/2015 22:55:00  
 Printed: 13/04/2015 10:15:33  
 Vial 31 Iny 1 uL



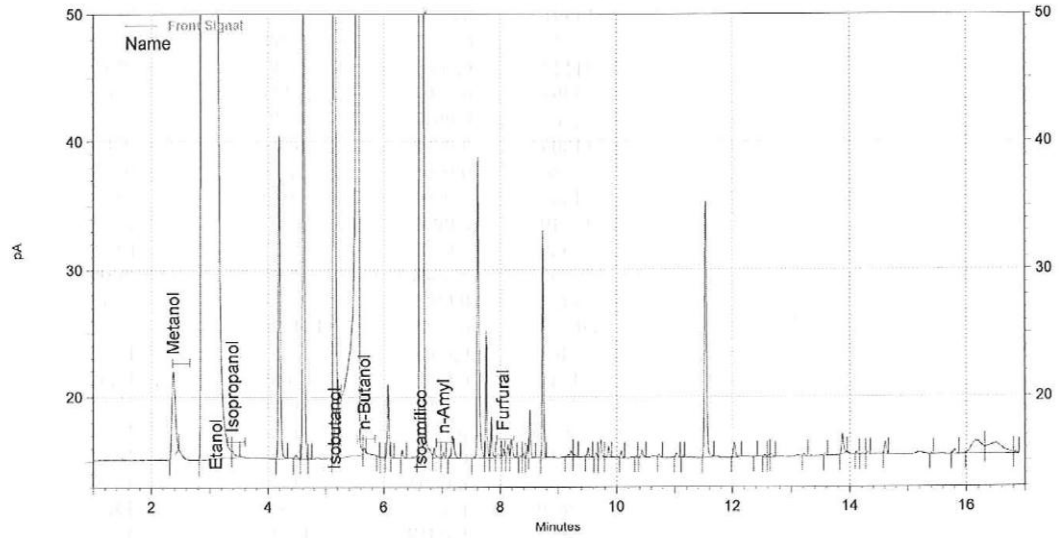
### Front Signal Results

| Name        | Area       | Area Percent | Height    | Retention Time |
|-------------|------------|--------------|-----------|----------------|
| Metanol     | 354033     | 0,0191       | 72543     | 2,38           |
| Etanol      | 1832481923 | 98,9672      | 175465913 | 3,13           |
| Isopropanol | 27457      | 0,0015       | 5667      | 3,40           |
|             | 3932       | 0,0002       | 1330      | 3,75           |
|             | 15354      | 0,0008       | 5816      | 3,97           |
|             | 612093     | 0,0331       | 302283    | 4,20           |
|             | 10933      | 0,0006       | 3027      | 4,48           |
|             | 728027     | 0,0393       | 338283    | 4,62           |
|             | 1422       | 0,0001       | 731       | 4,72           |
| Isobutanol  | 2999610    | 0,1620       | 1589196   | 5,15           |
|             | 103339     | 0,0056       | 31884     | 5,24           |
|             | 3075240    | 0,1661       | 1153290   | 5,53           |
| n-Butanol   | 6698       | 0,0004       | 3841      | 5,67           |
|             | 2572       | 0,0001       | 1551      | 5,90           |
|             | 2135       | 0,0001       | 919       | 5,97           |
|             | 200209     | 0,0108       | 113045    | 6,07           |
|             | 3141       | 0,0002       | 1884      | 6,13           |
|             | 9687       | 0,0005       | 5334      | 6,28           |
| Isoamilico  | 9354284    | 0,5052       | 4779359   | 6,63           |
|             | 15620      | 0,0008       | 6063      | 6,85           |
| n-Amyl      | 7413       | 0,0004       | 4613      | 7,02           |
|             | 67632      | 0,0037       | 23110     | 7,17           |
|             | 2143       | 0,0001       | 648       | 7,33           |
|             | 333994     | 0,0180       | 150598    | 7,61           |



## Area % Report

Data File: D:\Default\Data\Alcoholes\2015\04-ABRIL\090415\5009 OH 090415  
 Method: D:\Default\Method\CONGENERES full integracion.met  
 Acquired: 09/04/2015 23:16:48  
 Printed: 13/04/2015 10:17:37  
 Vial: 32 Iny 1 uL

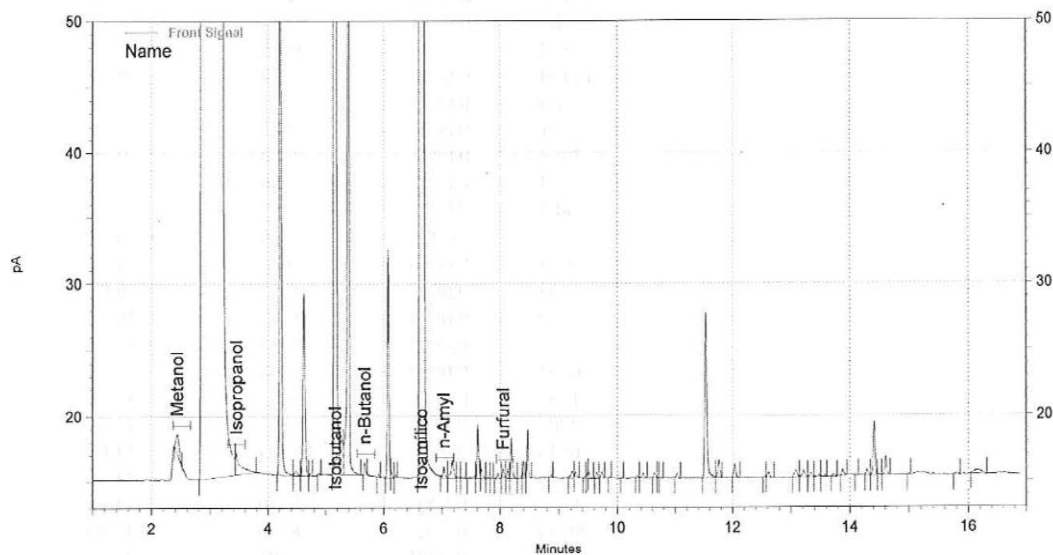


### Front Signal Results

| Name        | Area       | Area Percent | Height    | Retention Time |
|-------------|------------|--------------|-----------|----------------|
| Metanol     | 205177     | 0,0134       | 50277     | 2,38           |
| Etanol      | 1517657497 | 98,9271      | 164290202 | 3,10           |
| Isopropanol | 13702      | 0,0009       | 4137      | 3,39           |
|             | 425727     | 0,0278       | 193779    | 4,19           |
|             | 7062       | 0,0005       | 2435      | 4,48           |
|             | 793870     | 0,0517       | 382466    | 4,61           |
|             | 1476       | 0,0001       | 743       | 4,71           |
| Isobutanol  | 1935994    | 0,1262       | 993712    | 5,15           |
|             | 98430      | 0,0064       | 39197     | 5,23           |
|             | 4258208    | 0,2776       | 1403299   | 5,57           |
| n-Butanol   | 3626       | 0,0002       | 2263      | 5,66           |
|             | 1602       | 0,0001       | 1064      | 5,89           |
|             | 2105       | 0,0001       | 762       | 5,96           |
|             | 78575      | 0,0051       | 44012     | 6,07           |
|             | 2366       | 0,0002       | 1402      | 6,13           |
|             | 6925       | 0,0005       | 4535      | 6,31           |
| Isoamilico  | 6931089    | 0,4518       | 3602243   | 6,63           |
|             | 13733      | 0,0009       | 6116      | 6,86           |
| n-Amyl      | 6451       | 0,0004       | 3899      | 7,02           |
|             | 41369      | 0,0027       | 13891     | 7,17           |
|             | 402475     | 0,0262       | 180928    | 7,61           |
|             | 105735     | 0,0069       | 76326     | 7,76           |
|             | 38124      | 0,0025       | 24968     | 7,84           |
|             | 9329       | 0,0006       | 2788      | 7,96           |

## Area % Report

Data File: D:\Default\Data\Alcoholes\2015\04-ABRIL\090415\5016 OH 090415  
 Method: D:\Default\Method\CONGENERES full integracion.met  
 Acquired: 10/04/2015 1:49:24  
 Printed: 13/04/2015 10:25:45  
 Vial 39 Iny 1 uL

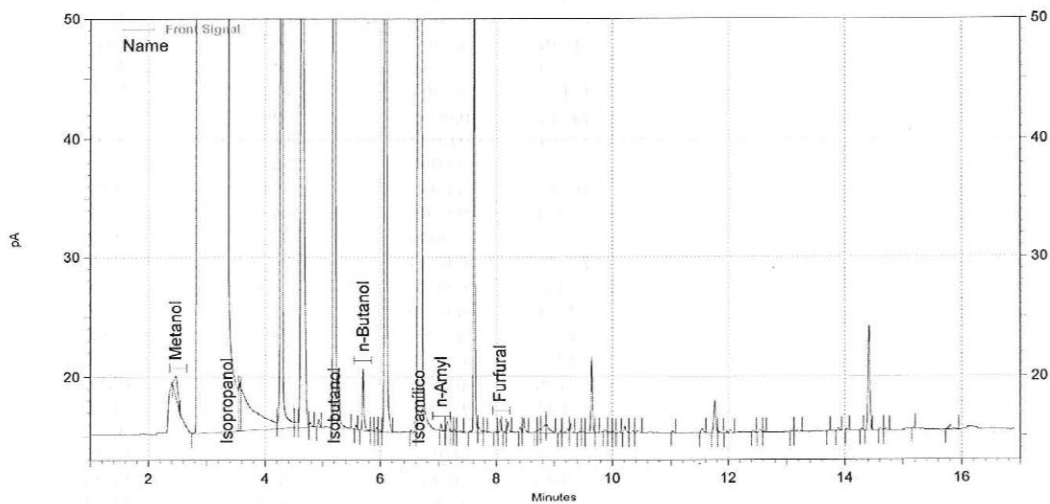


### Front Signal Results

| Name        | Area       | Area Percent | Height    | Retention Time |
|-------------|------------|--------------|-----------|----------------|
| Metanol     | 44426      | 0,0015       | 11852     | 2,43           |
| Isopropanol | 2877466472 | 98,9549      | 215201457 | 3,20           |
|             | 80292      | 0,0028       | 12839     | 3,45           |
|             | 967189     | 0,0333       | 546912    | 4,22           |
|             | 9452       | 0,0003       | 2543      | 4,48           |
|             | 260120     | 0,0089       | 106512    | 4,62           |
|             | 3162       | 0,0001       | 1571      | 4,73           |
|             | 2530       | 0,0001       | 1315      | 4,89           |
| Isobutanol  | 5034113    | 0,1731       | 2695289   | 5,17           |
|             | 75924      | 0,0026       | 21038     | 5,28           |
|             | 1121414    | 0,0386       | 613371    | 5,40           |
| n-Butanol   | 11837      | 0,0004       | 6994      | 5,68           |
|             | 3320       | 0,0001       | 2068      | 5,91           |
|             | 244572     | 0,0084       | 133202    | 6,08           |
|             | 6485       | 0,0002       | 3732      | 6,13           |
|             | 2853       | 0,0001       | 1796      | 6,20           |
| Isoamílico  | 21715593   | 0,7468       | 10088822  | 6,64           |
| n-Amyl      | 15896      | 0,0005       | 6521      | 7,03           |
|             | 31945      | 0,0011       | 9933      | 7,17           |
|             | 2441       | 0,0001       | 958       | 7,26           |
|             | 3477       | 0,0001       | 1012      | 7,37           |
|             | 4362       | 0,0002       | 1252      | 7,56           |
|             | 59157      | 0,0020       | 31305     | 7,61           |
|             | 12819      | 0,0004       | 5374      | 7,68           |

## Area % Report

Data File: D:\Default\Data\Alcoholes\2015\04-ABRIL\090415\5017 OH 090415  
 Method: D:\Default\Method\CONGENERES full integracion.met  
 Acquired: 10/04/2015 2:11:18  
 Printed: 13/04/2015 10:26:13  
 Vial 40 Iny 1 uL



### Front Signal Results

| Name        | Area       | Area Percent | Height    | Retention Time |
|-------------|------------|--------------|-----------|----------------|
| Metanol     | 60409      | 0,0010       | 12973     | 2,47           |
| Isopropanol | 6153268671 | 99,6711      | 309614260 | 3,34           |
|             | 72157      | 0,0012       | 31526     | 3,57           |
|             | 434294     | 0,0070       | 26823     | 3,59           |
|             | 2814073    | 0,0456       | 1821080   | 4,28           |
|             | 14141      | 0,0002       | 3919      | 4,51           |
|             | 1601711    | 0,0259       | 437807    | 4,63           |
|             | 7518       | 0,0001       | 3177      | 4,78           |
|             | 9555       | 0,0002       | 5062      | 4,93           |
| Isobutanol  | 4074268    | 0,0660       | 2409099   | 5,20           |
|             | 95528      | 0,0015       | 38886     | 5,28           |
|             | 4518       | 0,0001       | 3085      | 5,58           |
| n-Butanol   | 73100      | 0,0012       | 39805     | 5,70           |
|             | 1932       | 0,0000       | 776       | 5,84           |
|             | 5678       | 0,0001       | 3140      | 5,93           |
|             | 2445       | 0,0000       | 1122      | 5,98           |
|             | 1558994    | 0,0253       | 648328    | 6,09           |
|             | 2637       | 0,0000       | 1189      | 6,52           |
| Isoamílico  | 8378103    | 0,1357       | 4512320   | 6,65           |
| n-Amyl      | 7949       | 0,0001       | 4365      | 7,04           |
|             | 14866      | 0,0002       | 6568      | 7,15           |
|             | 1462       | 0,0000       | 836       | 7,23           |
|             | 2434       | 0,0000       | 1681      | 7,27           |
|             | 3168       | 0,0001       | 787       | 7,35           |

## Anexo 9. Norma INEN 362

CDU: 663.5  
ICS: 67.160.10



CIU: 3131  
AL 04.02-401

|  |   |  |
|--|---|--|
| Norma Técnica<br>Ecuatoriana<br>Voluntaria | <b>BEBIDAS ALCOHÓLICAS.<br/>AGUARDIENTE DE CAÑA.<br/>REQUISITOS</b> | <b>NTE INEN<br/>362:2014<br/>Quinta revisión<br/>2014-04</b> |
|--|---|--|

### 1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el aguardiente de caña, para ser considerado apto para el consumo humano.

### 2. DEFINICIONES

2.1 **Aguardiente de caña (aguardiente).** Es el producto obtenido mediante la fermentación alcohólica y destilación de jugos y otros derivados de la caña de azúcar de modo que conserve sus características organolépticas.

### 3. REQUISITOS

3.1 El aguardiente de caña debe cumplir con los siguientes requisitos:

3.1.1 Debe ser transparente, incoloro, con olor y sabor característicos del aguardiente de caña.

3.1.2 Se permite la adición de sustancias edulcorantes, ingredientes y aditivos alimentarios de acuerdo con la NTE INEN 2074 vigente, de tal manera que no altere la naturaleza del producto.

3.1.3 Se permite la mezcla entre materias primas proveniente de caña con diferentes concentraciones de congéneres, siempre que el producto resultante conserve las características propias.

3.1.4 No se permite contaminaciones con sustancias distintas a los productos propios de la fermentación.

3.1.5 Debe cumplir con los requisitos establecidos en la tabla 1.

**TABLA 1. Requisitos del aguardiente de caña**

| REQUISITO                          | UNIDAD                     | MÍNIMO | MÁXIMO | MÉTODO DE ENSAYO    |
|------------------------------------|----------------------------|--------|--------|---------------------|
| Grado alcohólico a 20°C            | %v/v                       | 28     | 50     | NTE INEN 340        |
| Furfural                           | mg/100 cm <sup>3</sup> (*) | —      | 1,5    | NTE INEN 2014       |
| Alcoholes superiores<br>(ver nota) | mg/100 cm <sup>3</sup> (*) | —      | 150    | NTE INEN 2014       |
| Metanol                            | mg/100 cm <sup>3</sup> (*) | —      | 10     | NTE INEN 347 o 2014 |

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

(Continúa)

DESCRIPTORES: Bebidas espirituosas, alcoholes, aguardientes, licores, fermentación, destilación, maceración, requisitos.

**3.1.6** El agua utilizada para hidratación debe ser potable, la que puede ser sometida a un proceso de tratamiento adecuado, de acuerdo a las exigencias del proceso de elaboración.

#### **4. INSPECCIÓN**

**4.1 Muestreo.** El muestreo se debe realizar de acuerdo a la NTE INEN 339.

#### **5. ENVASADO**

**5.1** El aguardiente de caña debe envasarse en recipientes de material resistente a la acción del producto que no alteren las características del mismo.

#### **6. ROTULADO**

**6.1** El rotulado debe cumplir con lo dispuesto en la NTE INEN 1933.

*(Continúa)*

**Anexo 10. Fotografías del proceso de obtención de etanol**



**Fotografía 1. Recepción**



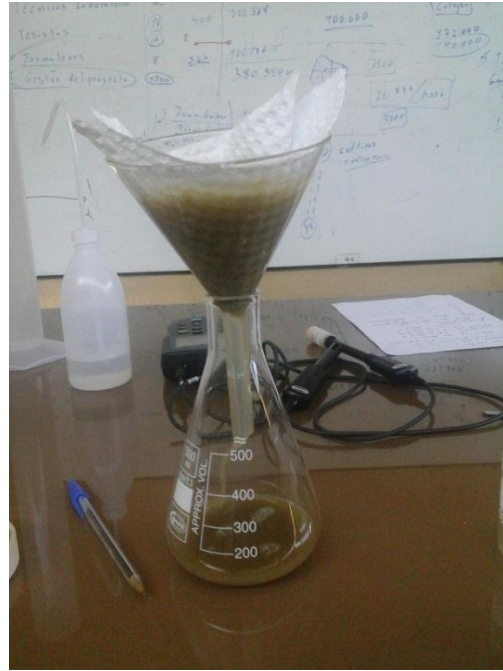
**Fotografía 2. Limpieza**



**Fotografía 3. Lavado**



**Fotografía 4. Molienda**



**Fotografía 5. Filtrado**



**Fotografía 6. Activación de la levadura**



**Fotografía 7. Adición de la levadura**



**Fotografía 8. Fermentación**





**Fotografía 9. pH**



**Fotografía 10. °Brix**



**Fotografía 11. Destilación**





**Fotografía 12. Envasado**



**Fotografía 13. Almacenado**

## **Anexo 11.** Glosario

**Etanol.-** Es un alcohol primario que con tiene 2 átomos de carbono, de fórmula química  $C_2H_5OH$ .

**Fermentación.-** es un proceso catabólico de oxidación incompleta, que no requiere oxígeno, y el producto final es un compuesto orgánico. Según los productos finales, existen diversos tipos de fermentaciones.

**pH.-** es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución. El pH indica la concentración de iones hidronio  $[H_3O]$  presentes en determinadas disoluciones.

**Grado Brix.-** Es el porcentaje de sólidos disueltos en una solución azucarada. Se expresa en °Brix.

**Absorción.-** Es la mezcla de una bebida alcohólica con agua potable, destilada, desionizada o desmineralizada.

**Grado alcohólico Gay Lussac.-** Es el título alcoholimétrico de una mezcla hidroalcohólica pura, indicado directamente por el alcoholímetro centesimal de Gay Lussac a una temperatura de referencia. Se puede expresar como símbolo de grados "GL".

**Grado alcohólico.-**Es el volumen de alcohol etílico expresado en centímetros cúbicos contenidos en  $100\text{ cm}^3$  de bebida alcohólica, a una temperatura determinada.

**Grado absoluto.-**Es el producto de multiplicar el grado alcohólico, en Gay Lussac, por el volumen medido en litros. Debe expresarse en litros

**Alcohol etílico rectificado.-** Es el producto obtenido mediante destilación y rectificación de mostos que han sufrido fermentación alcohólica, como también el producto de la rectificación de aguardientes naturales y que puede utilizarse en la elaboración de bebidas alcohólicas.

**Alcohol vínico.-** Es el alcohol rectificado neutro obtenido de mostos de uvas.

**Alcohol anhidro.-** Es el alcohol etílico referido a 100°GL a la temperatura determinada por la Norma INEN 340 de fuerza real.

**Alcohol etílico.-** Se entiende como tal el alcohol etílico rectificado apto para el consumo humano. También puede denominarse Alcohol potable.

**Alcohol étnico rectificado.-** Es el producto obtenido mediante destilación y rectificación de mostos que han sufrido fermentación alcohólica, como también el producto de la rectificación de aguardientes naturales y que puede utilizarse en la elaboración de bebidas alcohólicas.

**Alcohol industrial.-** Es el producto alcohólico obtenido mediante la destilación y/o rectificación de mostos que han sufrido fermentación alcohólica y que no es apto para el consumo humano. También puede obtenerse por síntesis específica.