

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES

1.1.1 El bioetanol

El etanol es un líquido de temperatura de ebullición (T_b) = 78,3 °C, y temperatura de fusión (T_f) = -114 °C. Este es soluble en agua en todas proporciones. La producción mundial de etanol, obtenida desde etileno, es de 2,6 millones de toneladas métricas (Tm), de las cuales 0,59 millones; 0,58 millones y 0,11 millones de Tm por año estuvieron localizadas en USA, Europa Occidental y Japón respectivamente. En estos mismos países la producción de etanol por fermentación, lo cual es ya el producto del cual se habla que es el bioetanol, fue de 5,6 millones; 0,56 millones y 0,16 millones de Tm al año, respectivamente.

Actualmente, la producción de bioetanol por fermentación de productos agrícolas se obtiene alrededor de 24 millones Tm de etanol por año. Las materias primas son: mosto de uva, melazas residuales de la fabricación de sacarosa, almidón hidrolizado de papa, de maíz, o de otros cereales, líquidos residuales de industrias de alimentos o caldos procedentes de la hidrólisis de materiales celulósicos (paja, tallos, residuos forestales). La mayoría de las plantas se encuentran en Brasil, India y USA si bien Japón, México, Sudáfrica y varios países de Europa Occidental son también productores. El primer país productor de etanol por fermentación es Brasil (a partir de caña de azúcar). (Tejedor, s.f.)

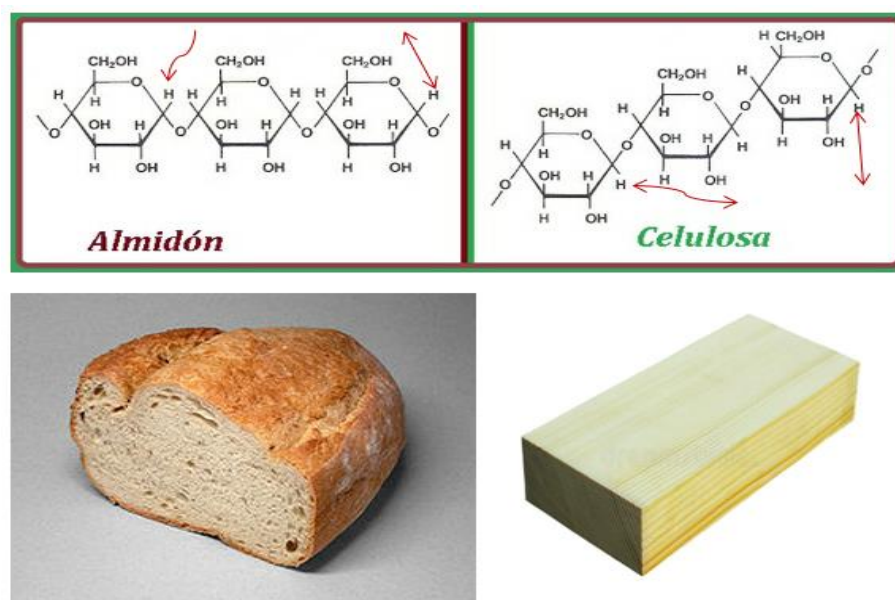
Uno de estos bioalcoholes es el resultado del proceso de fermentación del almidón contenido en el maíz. Es válido decir que todo bioetanol tiene su origen en materia vegetal, por lo tanto, es posible obtener bioetanol de cualquier materia que contenga almidón o celulosa.

La diferencia radica en que el obtener el bioetanol de un material con contenido de almidón considerable, es mucho más fácil que un material con contenido en celulosa.

Esto ya que la celulosa contiene cadenas que son más difíciles de hidrolizar a diferencia del almidón con cadenas más fácilmente hidrolizables.

Otra diferencia considerable es la estructura, porque en el almidón la orientación espacial de los monómeros de glucosa está en una misma dirección y en la celulosa cada monómero sucesivo rota 180° respecto al anterior en la cadena de polímeros.

Figura 1-1 Diferencia de los monómeros en el almidón y la celulosa



Fuente: Avicultura.com, 2018

1.1.2 Conceptualización de la idea del Proyecto de Grado

Existe un incremento notable en la demanda de etanol para su uso industrial el cual bien puede ser en la industria licorera, farmacéutica, medioambiental, entre otros. Una alternativa reciente es su uso como combustible renovable donde esta necesidad se suma a un factor mucho más importante como es el cambio climático a raíz de la emisión de gases de combustión. Las consecuencias del cambio climático son conocidas a nivel global. Entre los efectos que tienen estas emisiones, las cuales se

deben mayormente a la concentración creciente de gases de efecto invernadero como lo son el dióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄) y el óxido nitroso (N₂O). La baja capacidad de adaptación de los países en desarrollo los hace muy vulnerables a sufrir en gran manera los efectos del cambio climático. En Estados Unidos, el uso de energía aporta un 86% en las emisiones de gases de efecto invernadero.

Los datos estadísticos y científicos del Intergovernmental Panel on Climate Change en su reporte *“Third assessment report-climate change 2001. The scientific basis: summary for policymakers”* han demostrado que los gases de efecto invernadero tienen efectos significativos en los fenómenos climáticos. La intensificación del efecto invernadero es la potencial causa del calentamiento global en el planeta. (Butze, 2004)

“La atmósfera que rodea la Tierra como el cristal de un invernadero, juega un papel esencial para mantener estable la temperatura de la superficie terrestre, debido a que los gases invernadero presentes en la atmósfera desempeñan un papel clave en el sistema climático: al absorber la radiación infrarroja emitida por la superficie del Sol, vuelven a irradiar esta energía hacia al mismo planeta. Uno de los primordiales componentes atmosféricos, el vapor de agua (H₂O) es el principal de los gases invernadero, responsable del 80% del efecto que produce, el resto son gases en muy poca concentración, los denominados gases traza, que existen en muy pequeñas cantidades pero que tienen una gran importancia debido a su capacidad de absorción de radiación infrarroja. Los gases más relevantes, sean o no producidos por el hombre, son el bióxido de carbono, el metano, el óxido de nitrógeno, el ozono estratosférico y los clorofluorocarbonos (CFC). Estos gases ocasionan que tanto la superficie de la Tierra como la parte inferior de la atmósfera se calienten y, sin éstos, “la temperatura media de la Tierra debería ser 20° C bajo cero”, señala Butze (2004) en su artículo para la revista El Cotidiano. Sin embargo, el problema no es el efecto invernadero en sí, si no el incremento del mismo a consecuencia del aumento en el consumo de combustibles fósiles y la mayor emisión de gases contaminantes.

Todo esto hace que busquemos el conocer y manejar la tecnología referida a la obtención de etanol a partir de productos naturales vegetales como son los cereales.

Del 2000 al 2005 la producción mundial de etanol a partir de caña de azúcar, maíz y remolacha azucarera aumentó de menos de 20.000 millones de litros a más de 40.000 millones de litros, esto es aproximadamente un 3% del consumo mundial de gasolina. *“Brasil es el principal productor y exportador mundial de bioetanol. Los 16.000 millones de litros que produjo en 2005 representaron alrededor del 36% del total mundial. Los 15.000 millones de litros producidos por los Estados Unidos representaron la tercera parte de la producción mundial. Los siguen a bastante distancia China y la India, con un 9 y un 4%, respectivamente, de la producción mundial. En la actualidad, el biodiesel representa menos del 0,2% del diésel consumido para el transporte”*. (Naciones Unidas, 2006)

Debido a la versatilidad que este mismo tiene, entre sus usos podemos mencionar los siguientes que la Autoridad de Fiscalización de Empresas (2018) señala:

- Disolvente industrial
- Disolvente de pinturas
- Disolvente para barnices
- Disolvente para condimentos
- Disolvente para lacas
- Disolvente para perfumes
- Es utilizado como cosolvente
- Ideal para preparar soluciones

- Medio para reacciones químicas
- Medio para recristalizaciones
- Rebajante de thinner
- Usado como solvente
- Usado en flexografía
- Utilizado como adelgazador de tintas tipográficas

1.1.3 Descripción del Producto

De acuerdo al material usado, proceso e insumos usados durante la producción de etanol, este puede tener diversos grados de alcohol y según los mismos reciben diferentes nombres, esto es bastante común en cuanto a la producción de bebidas alcohólicas cuando se habla de las mismas, es bien sabido que estas tienen diferentes nombres y varían según su inventor, lugar de producción, etc.; en fin, se tienen diversas bebidas alcohólicas tal y como se señala en la tabla I-1:

Tabla I-1: Bebidas alcohólicas y grados alcohólicos correspondientes

Tipo de bebida	Grado alcohólico
Cervezas	3° a 8°
Sidras	3° a 6°
Vinos	7° a 24°
Vinos aperitivos	14° a 25°
Licores	30° a 50°
Aguardientes	45° a 50°

Fuente: Programa Iceberg, s.f.

Otro de los tipos más comunes de alcohol producidos, en la industria, es el alcohol de 70° GL que mayormente tiene un uso como desinfectante de sanitarios, de superficies, de alimentos como frutas y verduras de consumo en crudo, de material quirúrgico, de sistemas de diálisis peritoneal, de recipientes de alimentos, etc. El alcohol puede ser utilizado como antiséptico sobre tejido vivo y también como desinfectante en superficies y objetos.

La volatilidad del alcohol hace que se evapore con relativa rapidez, lo que hace innecesario aclarar cuando se aplica sobre una superficie. Pero esta aparente ventaja es, en realidad, una desventaja, ya que, al permanecer menos tiempo sobre la superficie u objeto que se quiere desinfectar, su eficacia disminuye.

Por otra parte, el etanol obtenido posterior a la fermentación de los azúcares que contiene la materia prima, sujeto al método de obtención y proceso que se siga para la producción del mismo, alcanza el grado de 96° GL ya que este es el valor máximo que se puede alcanzar de grado alcohólico dado el azeótropo que se forma entre el etanol y el agua, la formación de este azeótropo depende de la diferencia de la temperatura de ebullición de los componentes puros y del grado de no idealidad, cuanto más cercana es la temperatura de ebullición de los componentes puros y cuanto más alejada del comportamiento ideal se encuentre la mezcla, mayor es la probabilidad de formarse un azeótropo.

“Para el caso del etanol-agua se encuentra un azeótropo en 89,4 % mol de etanol a 78,2°C a 1 atm. Esta temperatura es la mínima a la cual la solución etanol-agua puede entrar en ebullición, por lo tanto, el etanol solo puede ser purificado hasta aproximadamente 95% en volumen conocido como etanol rectificado. Una vez que se alcanza esa composición los coeficientes de actividad del agua y del etanol son iguales, entonces la concentración del vapor es igual a la del líquido y por lo tanto destilaciones posteriores no son efectivas”. (Química Viva, 2016)

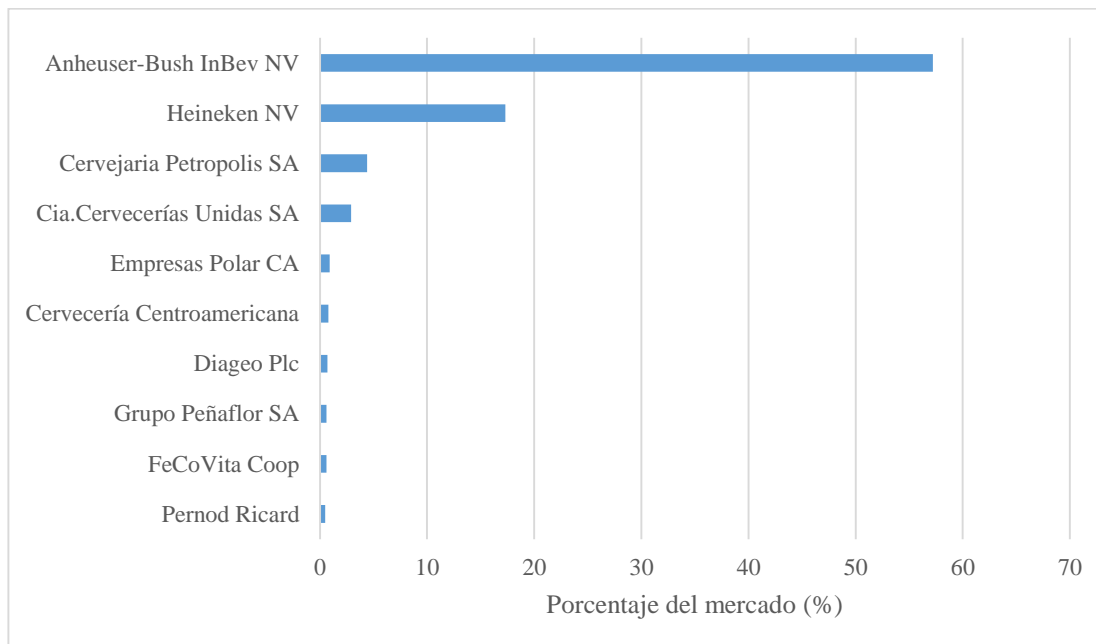
Si se desea obtener un grado alcohólico mayor, por ejemplo, 99°GL, se debe de realizar una deshidratación, con un tamiz molecular, para llegar a este grado, entre otros métodos de deshidratación.

1.1.4 Producción en otros países

Entre los representantes más destacados de la industria del alcohol en América Latina y el Caribe se encuentran los productores de cerveza, bebidas destiladas y vino. En el sector de las bebidas de malta, las empresas transnacionales han concentrado el mercado comprando empresas locales y cervecías regionales y estableciendo asociaciones locales. En los últimos 15 años, los cerveceros más grandes del mundo han expandido sus adquisiciones en América Latina.

Las industrias de bebidas en los países del Caribe y las Antillas no están tan bien establecidas como las de Brasil, México o el Cono Sur, pero se están desarrollando rápidamente. La producción de vinos, por otro lado, sigue estando descentralizada en muchos países de América Latina y el Caribe, con cerca de mil bodegas comerciales sólo en Argentina.

Figura 1-2 Top 10 de las compañías de bebidas alcohólicas en Latinoamérica y el Caribe



Fuente: Robaina, Babor, Ilana, & Paula, 2020

En Brasil, en los años 1905-1925, se dieron unas primeras pruebas para hacer uso del etanol en los motores. Dados los precios bajos del petróleo para la época esto no tuvo gran repercusión; sin embargo, en 1975 se tuvo una crisis petrolera que hizo que se despertara el interés en los biocombustibles con el programa brasileño llamado Proálcool para incentivar el desarrollo de los motores con capacidad de funcionar quemando alcohol hidratado y mezclas de gasolina con alcohol anhidro. (Álvarez, 2009)

En el año 1979 se lanzaron dos tipos de etanol al mercado brasileño, estos fueron el alcohol anhidro, que consistía en un alcohol al 99,9%, apto para mezclarse con gasolina en proporciones de hasta 20 a 25% de etanol; otro de estos fue el alcohol hidratado que consistía en un alcohol al 96% y el restante 4% era de agua, este era usado de manera

directa en motores de ciclo Otto en automóviles modificados. Ambos a partir de la caña de azúcar.

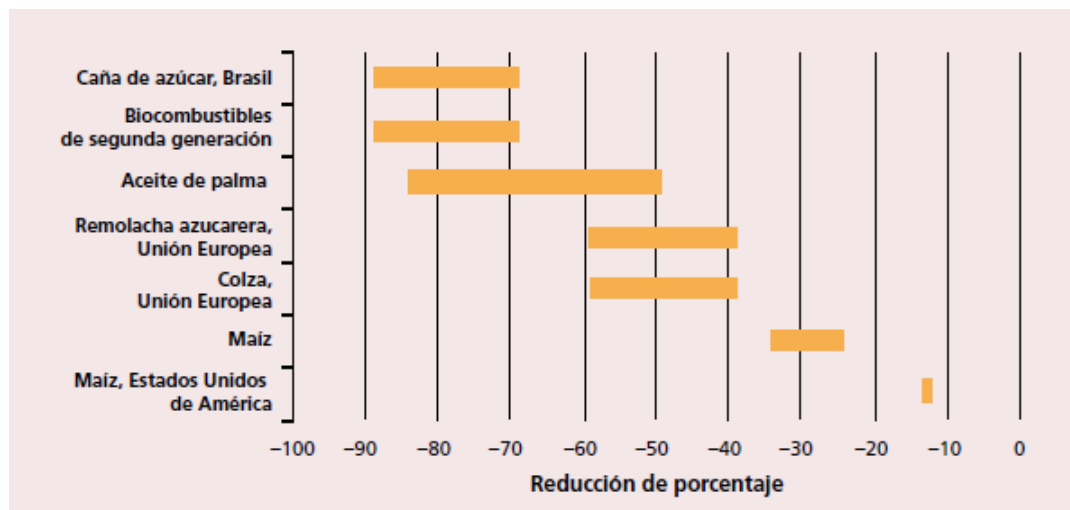
En Estados Unidos se enfocó más en la producción de bioetanol a partir de maíz, mediante dos líneas de producción principales. La primera de estas fue la molienda seca, consistía en moler los granos de maíz para poder producir harina donde se le añadía agua y enzimas para cocerla, posterior a esto se agrega levadura en lo que se conoce como un proceso de fermentación para luego pasar a una destilación.

Otra línea es la de la producción mediante molienda húmeda, donde se hace cocer el grano de maíz en agua caliente para separar la proteína del almidón. La sección que contiene el almidón es molida y se lleva a secar el almidón de donde se obtiene azúcares que son fermentables con el propósito de obtener etanol. Cabe resaltar que la molienda seca, para el 2008 ocupaba un 80% del total de la industria productora de etanol en los Estados Unidos. (Álvarez, 2009)

Sin embargo, y tal y como señala la FAO, la idea de los biocombustibles puede parecer una alternativa totalmente recomendada contra los efectos en el medio ambiente de los combustibles convencionales, pero según su artículo "*Efecto de los biocombustibles en el medio ambiente*" se hace mención de que los componentes nitrogenados que son empleados como fertilizantes para los cultivos de donde se obtiene la materia prima para la producción de biocombustibles, tienen una acción 300 veces mayor en el efecto invernadero a comparación a la emisión de contaminantes por el uso de los combustibles fósiles que se quieren reemplazar. Si bien son 1,8 toneladas de CO₂ por hectárea al año que se ahorra en emisión por el uso de maíz como materia prima, 8,6 toneladas son ahorradas con el uso de pasto varilla, pero la conversión de pastizales a cultivos de este tipo emitiría un total de 300 toneladas por hectárea y la conversión de tierras forestales sumarían entre 600 y 1000 toneladas de CO₂ producido por hectárea. (Fargione *et al*, 2008; The Royal Society, 2008; Searchinger, 2008. *Citado por: FAO, sf.*)

Dependiendo del tipo de materia prima que sea usada para la producción de biocombustibles, la reducción de las emisiones de CO₂ serán mayores o menores tal y como se muestra en la Figura 1.

Figura 1-3 Reducciones en las emisiones de gases de efecto invernadero de determinados



Fuente: FAO, s.f.

El bioetanol se produce en una serie de países en los cuales este ha tenido buena aceptación, aunque también trajo descontento en otra tanto por el hecho de que para mantener los niveles de producción de materia prima se deben de tener grandes extensiones agrícolas que permitan la siembra y cultivo de la materia prima que es usada con estos fines, esto sumado a la creciente demanda de agua para el riego de estos cultivos, que según como el Banco Mundial expresa: *“en promedio, en la agricultura se ocupa el 70 % del agua que se extrae en el mundo, y las actividades agrícolas representan una proporción aún mayor del ‘uso consuntivo del agua’ debido a la evapotranspiración de los cultivos. A nivel mundial, más de 330 millones de hectáreas cuentan con instalaciones de riego. La agricultura de regadío representa el 20 % del total de la superficie cultivada y aporta el 40 % de la producción total de alimentos en todo el mundo”*. (Banco Mundial, s.f.)

Un análisis de la producción de bioetanol en el mundo, arroja los datos que se presentan a continuación.

Tabla I-2: Producción anual de bioetanol por país o región (m³*10⁶)

País	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
EUA	24.7	35.2	41.4	50.3	52.7	50.3	50.3	54.1	56.0	59.6
Brasil	18.9	24.5	24.9	26.2	21.1	21.1	23.7	23.4	26.8	28.2
Europa	2.1	2.7	3.9	4.5	4.4	4.4	5.2	5.5	5.2	5.3
China	1.8	1.9	2.0	2.0	2.1	2.1	2.6	2.4	3.1	3.2
Canadá	0.8	0.8	1.1	1.3	1.7	1.7	1.9	1.9	1.6	1.7
Resto del mundo	1.2	1.5	3.5	3.7	2.6	2.8	2.7	5.6	4.3	5.0
MUNDO	49.6	66.7	76.8	88.2	84.8	82.5	86.6	93.0	97.0	103.1

Fuente: Alonso-Gómez & Bello-Perez, 2018

Estados Unidos tiene un mayor porcentaje ya que se destina una gran parte al uso como biocombustible, donde de la cantidad total de su mercado de gasolina un 96% corresponde a la gasolina E10 que es una mezcla de 10% v/v de etanol y 90% v/v de gasolina y el bioetanol que se obtiene de almidón de maíz, este es el que ocupa unas tres cuartas partes de la producción de biocombustibles. (Alonso-Gómez & Bello-Perez, 2018)

Por parte de nuestra región, tenemos al país vecino de Argentina con una importante participación y aporte a los biocombustibles en lo que a la región latina respecta. La producción de bioetanol se da a partir de fines de 1970 y comienzos de 1980 con lo que en su momento se llamó programa Alconafta el cual tuvo su epicentro en la provincia de Tucumán ofreciendo una mezcla del 12% (denominado E12 porque este contenía un 12% de etanol). Este biocombustible, era producido por caña de azúcar, y fue expandiéndose a diferentes provincias del país. Debido al mejoramiento del precio

internacional del azúcar sumado a malas campañas de cosecha del cultivo, se fue dejando de lado.

Se tienen dos principales fuentes de las cuales se produce el bioetanol en este país, una de ellas es, como ya se mencionó, la caña de azúcar, y la otra es la producción con base de maíz.

1.1.5 Aspectos del Mercado Nacional

El mercado del bioetanol en nuestra realidad es cada vez más grande. Esto debido a diversos factores lo cuales inciden de manera directa en su aceptación, e incluso en su rechazo. Al hablar del mercado de bioetanol en el día a día, es necesario hablar de su oferta y su demanda, dos aspectos muy importantes para este producto tanto a nivel nacional como internacional.

1.1.5.1 Oferta

La oferta del bioetanol, en nuestro país, va de la mano con la oferta del etanol, debido a que este consiste en un primer paso para la obtención de este producto. Principalmente, el etanol producido proviene de ingenios azucareros, donde a partir de la caña de azúcar se obtiene el etanol, lo cual es conocido como la manera directa de obtenerlo. Otra manera consiste en la recuperación de la melaza, que se obtiene del proceso de obtención del azúcar, para obtener el etanol, a lo que se conoce como la manera de obtenerlo como subproducto. (Autoridad de Fiscalización de Empresas, 2018)

En Bolivia, las empresas presentadas en el Cuadro I-1 son actuales productoras de alcohol etílico, estas mismas toman protagonismo en la producción nacional de etanol en los ingenios azucareros sumando un total de 10 industrias que para el año 2018 se tuvo registro de su participación en este mercado.

Cuadro I-1: Empresas productoras de alcohol etílico para el año 2018

N°	Empresa
1	Ingenio Azucarero Guabirá Sociedad Anónima (IAGSA)
2	Unión Agroindustrial de Cañeros Sociedad Anónima (UNAGRO)
3	Compañía Industrial Azucarera San Aurelio Sociedad Anónima (CIASA)
4	Industrias Agrícolas de Bermejo Sociedad Anónima (IABSA)
5	Ingenio Sucroalcoholero Sociedad Anónima AGUAÍ (Aguai)
6	Sociedad Colectiva Industrial y Comercial Santa Cecilia (Santa Cecilia)
7	Poplar Capital Sociedad Anónima Sucursal Bolivia (Poplar)
8	Empresa Azucarera San Buenaventura (EASBA)
9	Empresa Industrias Sucroalcoholeras ISA Sociedad Anónima (Isa)
10	Takuare Industria Sucroalcoholera Sociedad Anónima (Takuare)

Fuente: Autoridad de Fiscalización de Empresas, 2018

El alcohol que se produce en el país tiene diferentes grados alcohólicos, los cuales varían según la empresa que produce el mismo participando, en algunos casos, en el mercado tanto interno como externo. Estas se clasifican de la siguiente manera que se aprecia en la Tabla presentada a continuación.

Tabla I-3: Tipos de alcohol etílico producidos en Bolivia por empresa y grado alcohólico (°GL)

N°	Empresa	Grado Alcohólico (°GL)	Destino de venta	
			Mercado interno	Exportación
1	Aguaí	96	X	X
2	IABSA	96	X	X
		93	X	X
		90		X
3	EASBA	96	X	X
		95		
4	IAGSA	96,1		X
		96,2		X
		94,5	X	
		99,2		
5	Poplar	96,02	X	X
6	CIASA	96	X	X
7	Santa Cecilia	96	X	X
8	UNAGRO	96	X	X

Fuente: Autoridad de Fiscalización de Empresas, 2018. Elaboración propia, 2021

Los alcoholes etílicos que se obtiene en el país son en su mayoría de 96°GL se conocen como “alcohol etílico de buen gusto” y por otra parte el alcohol de 93°GL, el cual se conoce como “alcohol etílico de mal gusto”.

También existe el alcohol etílico del 99,2°GL conocido como “alcohol etílico deshidratado” que únicamente se tiene registro que fue producido por la empresa Guabirá en el año de los registros realizados. (Autoridad de Fiscalización de Empresas, 2018)

El alcohol etílico es distribuido por las mismas empresas productoras, las cuales ejercen la función de productor/distribuidor. Este producto suele comercializarse a través de

mayoristas o de forma directa a los clientes finales e intermedios ya sea del mercado local o internacional. (Autoridad de Fiscalización de Empresas, 2018)

La producción de alcohol etílico se destina para su comercialización mediante dos canales, los cuales son:

- Canal mayorista. - En el mercado interno, las ventas y despachos se realizan desde la planta industrial, ya sea a granel, si está destinada a industrias, o fraccionado en jabs para el consumo potable. Las políticas de crédito varían dependiendo del tipo de cliente y el volumen adquirido. Para el mercado externo, no se tienen descuentos especiales, todos los pagos se realizan por transferencias bancarias a las cuentas corrientes del ingenio en Bolivia.
- Canal directo. - Son las ventas realizadas sin restricciones al público en general y al contado, no tienen ningún porcentaje de descuento. Asimismo, este canal comprende clientes ocasionales, como operadores de servicio e instituciones. El precio se determina a través de la ley de la oferta y la demanda.

Cada tipo de alcohol es destinado a distintos usos dependiendo de la calidad del mismo, que, como ya se mencionó existen desde 93°GL; 94,5°GL; 96°GL y 96,02°GL, el uso y destino de los principales tipos de alcohol producidos en el país se presentan en el Cuadro I-2.

Cuadro I-2 Uso y destino de cada tipo de alcohol en el mercado interno

Tipo de alcohol	Nombre comercial y técnico	Uso y destino
93°GL	Alcohol de melaza, alcohol potable, alcohol neutro, alcohol rectificado o alcohol mal gusto	Preparación de disolventes, combustible, etc.
94,5°GL	Alcohol mal gusto o industrial	Es utilizado como solvente en la industria o como combustible o carburante.
96°GL	Alcohol Buen Gusto	Para consumo humano, disolvente, elaboración de bebidas alcohólicas, farmacéuticos y otros.
96,02°GL	Alcohol etílico (nombre comercial) y alcohol etílico o etanol (nombre técnico)	Medicina, bebidas alcohólicas y perfumería

Fuente: Autoridad de Fiscalización de Empresas, 2018

En el siguiente apartado se presentan las cantidades producidas y la demanda existente de este producto tanto a nivel nacional como internacional.

1.1.5.2 Demanda

Dentro de la demanda del etanol hablamos de dos tipos de demanda que se dan para este tipo de producto, la demanda interna y la demanda externa.

La demanda interna hace referencia a que el alcohol etílico para el período de estudio de enero del 2014 a marzo de 2018 se tiene un consumo de 28,55 MM de litros de los 540 MM de litros producidos. De estos 28,55 MM de litros, aproximadamente el 84,82% de litros son de alcohol del 96° GL y posteriormente los alcoholes del 94,5°GL y 96,01°GL. Referente al alcohol de 93°GL tiene una participación menor con un

0,10% dentro de todo el total de demanda. (Autoridad de Fiscalización de Empresas, 2018)

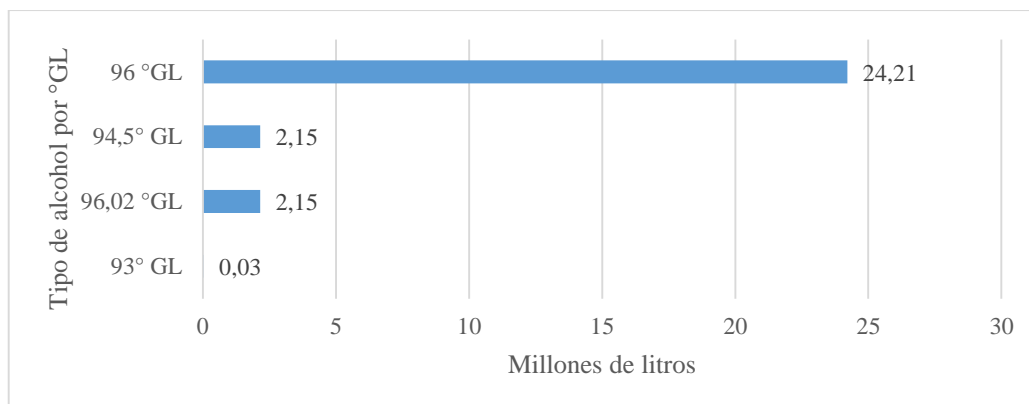
Sin embargo, en la Tabla I-3 y en la Figura 1-4 se registran el incremento en las ventas de ciertos tipos de alcohol etílico y la cantidad de alcohol vendida en el mercado interno. Esto nos confirma la Autoridad de Fiscalización de Empresas, datos que se presentan en el documento titulado: Estudio de Mercado para la producción de Alcohol Etílico 2018

Tabla I-3 Evolución trimestral del volumen de ventas en el mercado interno en millones de litros

Tipo	Trimestre	2014	2015	2016	2017	2018	Variación %
93°GL	1					0,001	N/A
	2			0,01			
	3				0,02		
	4		0,01				
94,5°GL	1	0,19	0,16	0,09	0,03	0,06	-68%
	2	0,17	0,16	0,08	0,02		
	3	0,28	0,21	0,07	0,09		
	4	0,25	0,09	0,09	0,10		
96,02°GL	1	0,02	0,27	0,07		0,07	+288%
	2	0,03	0,27	0,19	0,001		
	3	0,23	0,24	0,12	0,001		
	4	0,29	0,15	0,07	0,15		
96°GL	1	1,26	1,30	1,35	1,56	1,56	+24%
	2	0,92	1,45	1,02	1,40		
	3	1,58	1,30	1,17	1,60		
	4	1,97	1,85	1,50	1,43		
TOTAL		7,18	7,46	5,81	6,40	1,70	

Fuente: Autoridad de Fiscalización de Empresas, 2018

Figura 1-4 Volumen vendido de alcohol etílico por °GL en el mercado interno en millones de litros de enero de 2014 a marzo de 2018



Fuente: Autoridad de Fiscalización de Empresas, 2018

La demanda interna representa apenas el 5% del volumen que se produce de manera total en las empresas dedicadas a este rubro, siendo mucho más comercializado el alcohol al 96° GL conocido como alcohol de “buen gusto”, más del 50% de este tipo de alcohol tiene mucha demanda en departamentos como Santa Cruz, como se puede apreciar en la tabla presentada a continuación, donde se presentan los volúmenes de ventas por departamento.

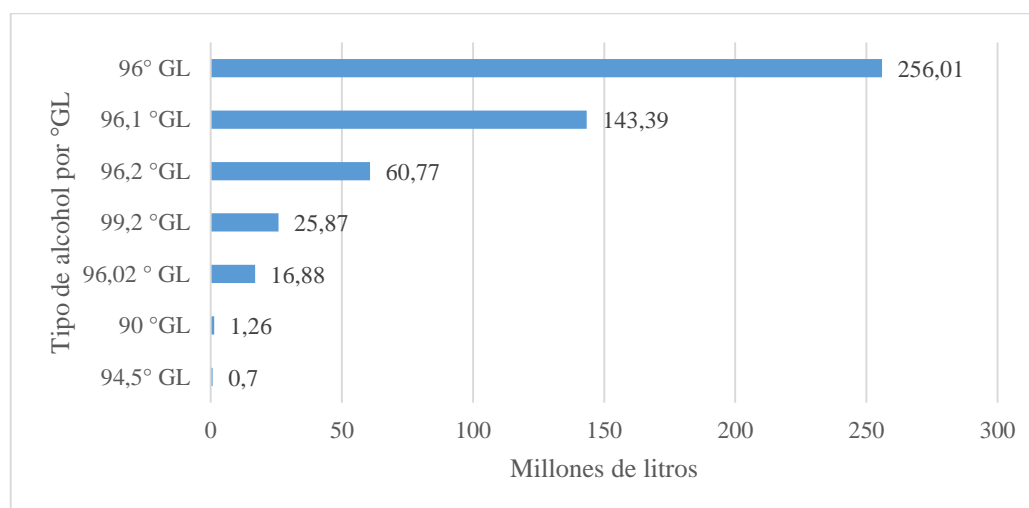
Tabla I-4 Volumen de ventas de alcohol etílico por departamento en porcentajes

Tipo	Año	BE N	CH Q	CBB	LPZ	OR U	PA N	PT S	SCZ	TJA
93°GL mínimo	2014									
	2015									100
	2016									100
	2017									100
	2018									100
94,5°GL mínimo	2014				15,0 7				84,93	
	2015			0,00 3	31,6 6				68,33	
	2016				30,6 7				69,33	
	2017			0,84	29,2 3				69,93	
	2018								100	
96,02°G L mínimo	2014			11,9 4	0,63				87,44	
	2015		0,03	7,51	0,38				922,0 9	
	2016		0,8	3,65	3,33				92,22	
	2017			1,29					98,71	
	2018			13,9 8					86,02	
96°GL mínimo	2014	8,89	0,09	5,16	4,91	4,55	0,26	2	59,51	14,6 3
	2015	9,1	0,87	4,59	2,98	4,65	0,18	1,8 9	54,8	20,8 1
	2016	6,41	1,33	4,8	5,53	7,06	0,77	1,7 9	52,44	19,8 7
	2017	3,97	0,6	2,17	3,63	6,87	1,17	1,6 9	48,88	31,0 2
	2018	3,01		4,3	1,91	7,13		0,3 1	39,73	43,7 1

Fuente: Autoridad de Fiscalización de Empresas, 2018

En cuanto a la demanda externa, según la Autoridad de Fiscalización de Empresas (2018), la demanda del 2014 al 2018 reporta que, de un volumen aproximado de 509,88 MM de litros, un 50% son de alcohol de 96°GL, seguido por el alcohol de 96,1°GL teniendo un porcentaje de demanda externa del 29% y por último el alcohol de 96,2°GL tiene el 12% de participación y los demás alcoholes con una participación igual o menor al 5% tal y como presenta la Figura 1-5.

Figura 1-5 Volumen demandado de alcohol etílico por °GL en el mercado externo en millones de litros



Fuente: Autoridad de Fiscalización de Empresas, 2018

Este alcohol producido es exportado a destinos como la Unión Europea, Francia, y los Países Bajos, también tiene cierta participación Colombia, Chile y Perú. Esto se ilustra de mejor manera en la siguiente tabla donde se aprecia el volumen de las ventas realizadas de alcohol etílico desde el país hacia los demás países.

Tabla I-5: Volumen de ventas de alcohol etílico en el mercado externo por destino

Destino	2014	2015	2016	2017	2018	TOTAL
Unión Europea	57,32	46,93	46,28	18,60	45,55	44,81
Colombia	16,01	24,66	22,95	21,25		19,70
Chile	10,34	14,84	12,20	16,88	11,83	13,08
Perú	5,62	9,34	7,89	20,94	14,29	10,21
Argentina	3,40	0,82	6,02	20,61	26,58	7,75
Uruguay	1,17	0,93	1,05	1,68	1,75	1,21
Otros	6,14	2,48	3,62	0,04		3,25

Fuente: Autoridad de Fiscalización de Empresas, 2018. Elaboración propia, 2021

En el caso que nos encontramos viviendo actualmente, debido a la pandemia por el COVID-19, es fácil de darse cuenta de que existe un incremento por la demanda de alcohol en el país para fines de bioseguridad, según los datos del periódico Los Tiempos donde debido a la pandemia del coronavirus, el alcohol desinfectante se incrementó en gran medida para las industrias cañeras. *“En la época más alta de contagios, lograron vender hasta 1,5 millones de litros por mes. Ante el rebrote de la enfermedad, la demanda este producto nuevamente se disparó y los productores prevén vender la misma cantidad. Las industrias Unagro y Guabirá comercializaron —entre ambas— más de 15 millones de litros de alcohol en el mercado nacional en 2020”.* (Los Tiempos, 2021)

El ingenio de Guabirá logró producir en el 2020 alrededor de 95 millones de litros de alcohol, de donde 7 millones de litros fueron alcohol de 70 por ciento que se vendió en el mercado nacional. Para este 2021, esta industria señala que tiene la meta de moler cerca de 3 millones de toneladas de caña y producir más de 130 millones de litros de alcohol.

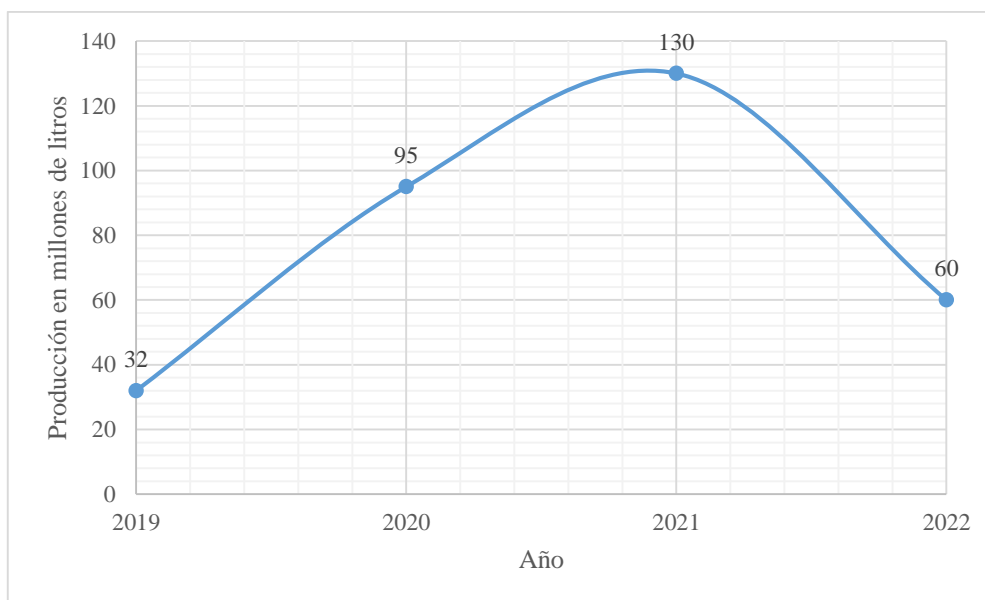
Al elevarse la producción de alcohol para fines de bioseguridad, se tuvo una disminución en el alcohol para aditivo a los biocombustibles, sin embargo, la capacidad

de producción de alcohol en UNAGRO es lo suficientemente grande para cubrir la demanda nacional y queda excedente para exportar.

En 2020 la producción de alcohol fue de 39 millones de litros, de los cuales 22 millones fueron para etanol para mezcla como aditivo con gasolina y 17 millones para alcohol potable. En 2019, Unagro produjo 32 millones de litros de alcohol. De esa cantidad, 24 millones eran etanol para mezcla como aditivo en la gasolina y sólo 8 millones para alcohol de 90 y 70 por ciento. (Los Tiempos, 2021)

Esta evolución de la demanda se demuestra en la Figura 1-6 donde se puede apreciar el pico en 2021 por, como se señaló anteriormente, la pandemia por COVID-19 la cual incrementó en la demanda del alcohol etílico en el país, así como también a nivel mundial.

Figura 1-6 Producción de alcohol etílico 2019-2022 en millones de litros en Bolivia



Fuente: Elaboración Propia, 2021

Para este año, la industria prevé producir 60 millones de litros de alcohol, de los cuales 45 millones serán destinados a la producción de etanol y 15 millones para la

elaboración de alcohol potable para el consumo nacional; el resto será destinado para la exportación.

Entre 2019 y 2020, los ingenios azucareros tenían previsto vender a YPF 105 millones de litros de alcohol anhidro, pero la estatal petrolera sólo compró 36 millones. (Los Tiempos, 2021)

1.1.6 Materias Primas

La producción regional del maíz, debe ser reconocida como la principal característica agrícola del departamento. Según se tiene registro, la producción de maíz alcanza un 6,6%, caña de azúcar 4,9% y la uva 4,2% como producción agrícola, bien se observa que el maíz está incluso por encima de la producción de uva en el departamento. (DAPRO, 2020)

Además, cabe mencionar que entre 2017 y 2018 se sembró maíz en grano en 38.678 hectáreas (ha) y produjo 90.128 toneladas (t) es decir unos 2.330 kilogramos (kg) por ha; mientras del choclero se cultivó en 545 ha, que generó 1.380 t, a razón de 2.532 kg por ha. (Patiño, 2019).

Dentro de las variedades que se cultivan en el departamento, existen algunas muy conocidas y utilizadas por los consumidores para diferentes fines, siendo la principal variedad la del maíz “*morocho*” usado mayormente para la elaboración de chicha y las muy conocidas *chirriadas* del departamento. Sin embargo, para los fines de investigación es recomendada la variedad de maíz “*sauceño*” que se cultiva en Entre Ríos, misma que posee un carácter amiláceo apropiado para extracción de almidón del mismo por la característica de su especie. Otra de las ventajas de este tipo de maíz es que es capaz de ser cultivado en terrenos de cultivo en la zona de mayor índice de producción agrícola del país como es el departamento de Santa Cruz. Cabe resaltar, de igual manera, que, para el caso de nuestro departamento, la zona del Chaco es la zona

con mayor índice de producción, y en esta zona, de igual manera, esta variedad de maíz tiene una clara posibilidad de obtener niveles de producción óptimos.

1.1.6.1 El maíz

El maíz se originó en una parte restringida de México y los tipos más desarrollados emigraron posteriormente hacia otros sitios de América. Hoy no hay dudas del origen americano del maíz, pero nunca fue mencionado en ningún tratado antiguo, ni en la Biblia, hasta el descubrimiento de América por Cristóbal Colón, quien lo vio por primera vez en la isla de Cuba en octubre de 1492 (Roca, 2013).

Este ha sido y sigue siendo un alimento consumido mayoritariamente en la región sudamericana con algunas excepciones, por este motivo no se puede dejar de lado la idea de que este producto tiene niveles de producción significativos en esta parte del mundo.

México es el centro primario de diversidad genética y la Zona Andina el secundario, donde el cultivo del maíz ha tenido una rápida evolución. De las 50 razas encontradas en México, existen siete homólogas en Guatemala, seis en Colombia, cinco en Perú y dos en Brasil, lo que hace que indiscutiblemente México haya sido el centro de difusión de estas, donde alrededor de 27 o más de la mitad de ellas han permanecido como variedades locales endémicas (Roca, 2013).

En nuestro país, la tradición del consumo de maíz representa una costumbre ya muchos años por ser esta la principal fuente de alimento de culturas que se encontraron o se encuentran asentadas en nuestro país. Hecho que en un informe de CIPCA, 2012 refleja cómo se tiene implementado el consumo de este bien natural expresándolo de manera que se comprenda que este hecho es importante a lo largo del país y no solo en ciertas regiones.

El consumo humano de maíz no perdió importancia y se mantiene vigente en la mayoría de las comunidades campesinas, indígenas y de colonos. Destaca el que las recetas o

formas de preparación de diferentes platillos y bebidas, no haya variado mucho con el transcurso del tiempo; por eso se dice que el maíz forma parte de la historia de estos pueblos y del legado de las costumbres y tradiciones, a través de las generaciones (Ortiz, 2012)

Diferentes regiones del país tienen arraigada esta costumbre de consumo de maíz ya sea en su estado natural, e inclusive seco, es útil en cualquiera de las formas que se le pueda dar el uso necesario para su consumo a manera de aprovechar al máximo el mismo.

Al ser un alimento ampliamente cultivado, la variedad de usos que se le da es igualmente amplia, tal y como se cita: Si bien la mayor parte de la producción mundial se destina a alimentación animal, existen otras utilizaciones de este cereal ya sea en alimentación humana como en productos no alimenticios. Polenta, copos de desayuno, harina de maíz, bebidas alcohólicas y no alcohólicas, golosinas, endulzantes, entre otros, son algunos de los usos alimenticios derivados del maíz. También se emplea este grano para la producción de bioetanol, fabricación de pinturas y disolventes, farmacia, productos cosméticos, polímeros biodegradables, entre otros (Izquierdo, 2013).

El maíz o choclo proporciona cantidades razonables de carbohidratos, fibra dietética y proteínas de origen vegetal, al igual que minerales, como magnesio, fósforo, potasio, zinc, cobre y manganeso, todos ellos esenciales para funciones corporales como el desarrollo y densidad de los huesos, la contracción muscular, los patrones de sueño y la regulación del estado de ánimo.

El maíz también proporciona buenos niveles de vitamina B₃ (niacina), que desempeña un papel clave en el buen funcionamiento del sistema digestivo, la piel y los nervios; así como de vitamina B₅ (ácido pantoténico), crucial para el metabolismo de grasas y proteínas.

El valor nutricional del maíz, que se presenta en el Cuadro I-3, se completa con cantidades adecuadas de otras vitaminas, principalmente B₁ (tiamina), B₆ (piridoxina), y B₉ (folato), al igual que vitamina C (ácido ascórbico) y colina. (Equipo Editorial HerbaZest, 2020)

Cuadro I-3: Información nutricional del maíz por 100 gramos

Agua	73.41 g
Calorías	96 kcal
Proteínas	3.41 g
Carbohidratos	20.98 g
Grasas	1.5 g
Fibra	2.4 g
Azúcares	4.54 g
Vitamina B ₅	0.792 mg
Vitamina B ₃	1.683 mg
Vitamina B ₆	0.139 mg
Vitamina B ₁	0.093 mg
Vitamina B ₉	23 µg
Vitamina C	5.5 mg
Vitamina B ₂	0.057 mg
Manganeso (Mn)	0.167 mg
Fósforo	77 mg
Magnesio	26 mg
Zinc	0.62 mg
Potasio	218 mg
Cobre	0.049 mg
Hierro	0.45 mg

Fuente: USDA National Nutrient Database, s.f. Elaboración propia, 2021

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

- Obtener bioetanol por hidrólisis enzimática y fermentación del almidón de maíz a escala laboratorio.

1.2.2 Objetivos Específicos

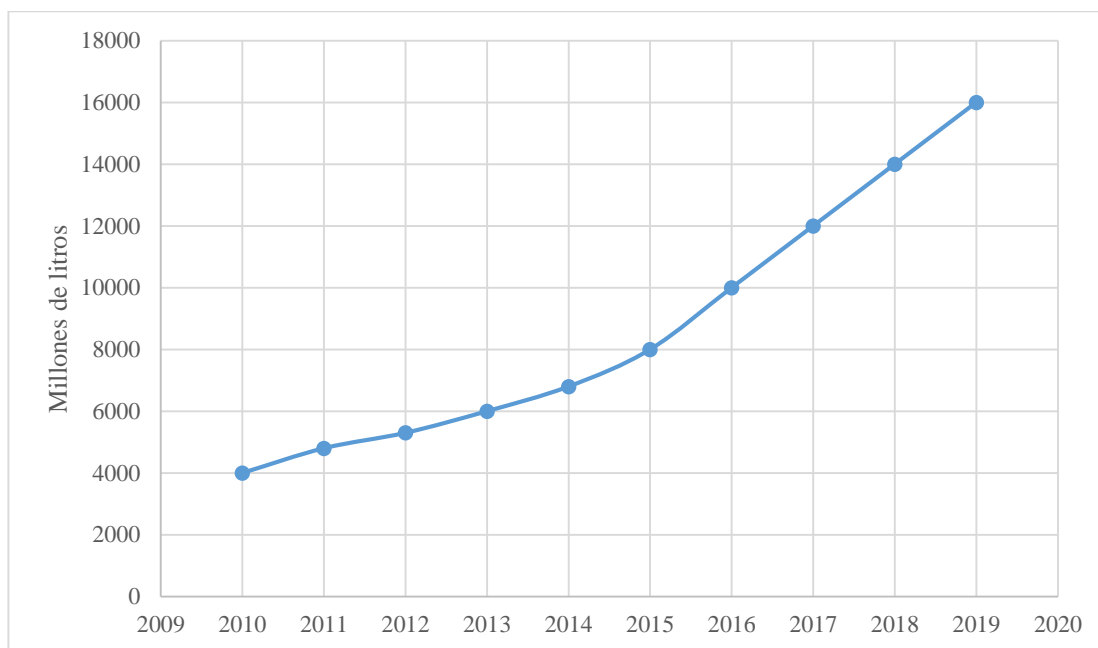
- Determinar las variables necesarias para ejecutar la fase experimental.
- Elaborar un diseño factorial para evaluar la etapa de hidrólisis enzimática con variables significativas.
- Ejecutar la fase experimental del proceso de obtención de bioetanol a partir de almidón de maíz.
- Determinar las mejores condiciones de hidrólisis enzimática para la obtención de bioetanol.
- Determinar los rendimientos del proceso experimental
- Caracterizar el bioetanol obtenido a partir del almidón de maíz y comparar el resultado con datos bibliográficos similares el ensayo.
- Determinar el costo de la investigación.

1.3 JUSTIFICACIÓN

1.3.1 Económica

En el año 2010 Dufey & Stange realizaron una proyección de la oferta de etanol del año 2010 para el año 2019, esta proyección es la presentado en la Figura 1-7 donde se presenta un crecimiento anual de entre 7 y 9%, que, para ese entonces se dijo dependería mucho del escenario que se presente al año 2030. (Dufey & Stange, 2010)

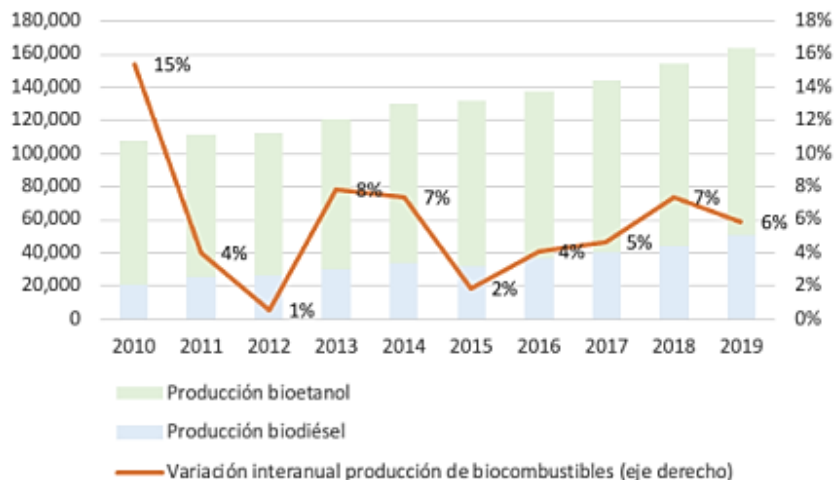
Figura 1-7 Proyección de 2010 de la cantidad de bioetanol comercializado 2010-2019



Fuente: Dufey & Stange, 2010

Proyección que se confirma con el hecho del estudio de Torroba en el año 2020 donde se registra la producción mundial desde el periodo de 2010-2019 por la creciente demanda que experimentaron los biocombustibles, los cuales son uno de los principales destinos de este producto, esto se aprecia en la Figura 1-8.

Figura 1-8 Variación interanual porcentual, tendencia y producción total (en miles de m³) de biocombustibles líquidos en el mundo



Fuente: Torroba, 2020

Cabe resaltar además el cuadro de los costos de producción y rendimiento obtenidos que Chauvet y Gonzáles citados por Serna, Barrera, & Montiel (2011), presentado en el Cuadro I-4 donde se indican los costos y rendimientos de diferentes tipos de bioetanol producidos a partir de materias primas de primera generación.

Cuadro I-4: Variación del costo de producción de bioetanol de primera generación

Fuente de carbono	Cultivo	Rendimiento (lts/ tons de cultivo)	Rendimiento (lts/ha)	Costo de producción (USD/t)	País
Sacarosa	Remolacha (jugo)	100	7000	0.48	Unión Europea
	Caña (jugo)	70-85	6000	0.21	Brasil
		10	590	0.32	India
	Caña (melaza)	10	730	0.23-0.37	México
	Sorgo	56-90	2500-4000		Suecia
Almidón	Maíz	400	3000	0.29-0.37	Estados Unidos
	Trigo	340	2700	0.62	Unión Europea
	Maíz/Trigo	285		0.59	Estados Unidos
Celulosa	Bagazo (caña)				Chile

Fuente: Serna, Barrera, & Montiel, 2011

Aquí se observa que en el aspecto económico se tiene amplia ventaja con el uso de caña de azúcar ya que esta tiene un costo de producción más bajo a comparación de las demás, sin embargo, ya se encuentra en el país actualmente en producción este tipo de etanol, por lo que es apropiado buscar alternativas a este tipo de materia prima para hacer su uso en un producto de similares características a partir de una materia prima diferente como bien podría ser el maíz, ya que si se analiza quien sigue a la caña de azúcar en un costo de producción bajo, sería el mismo maíz.

Analizando desde el punto de vista del rendimiento, se obtiene un rendimiento por hectárea mayor haciendo uso de remolacha como materia prima, sin embargo, dentro

de la producción del departamento de Tarija, que es donde se realiza el análisis del presente proyecto, la producción de la misma no se compara a la producción de maíz que existe en la región.

A nivel nacional se tiene el siguiente registro de la producción de etanol para los años 2014 al 2022 según la Autoridad de Fiscalización de Empresas y fuentes informativas confiables tales como Los Tiempo o el Ministerio de Economía y Finanzas Públicas las cuales se citaron anteriormente en el apartado 1.1.5.2.

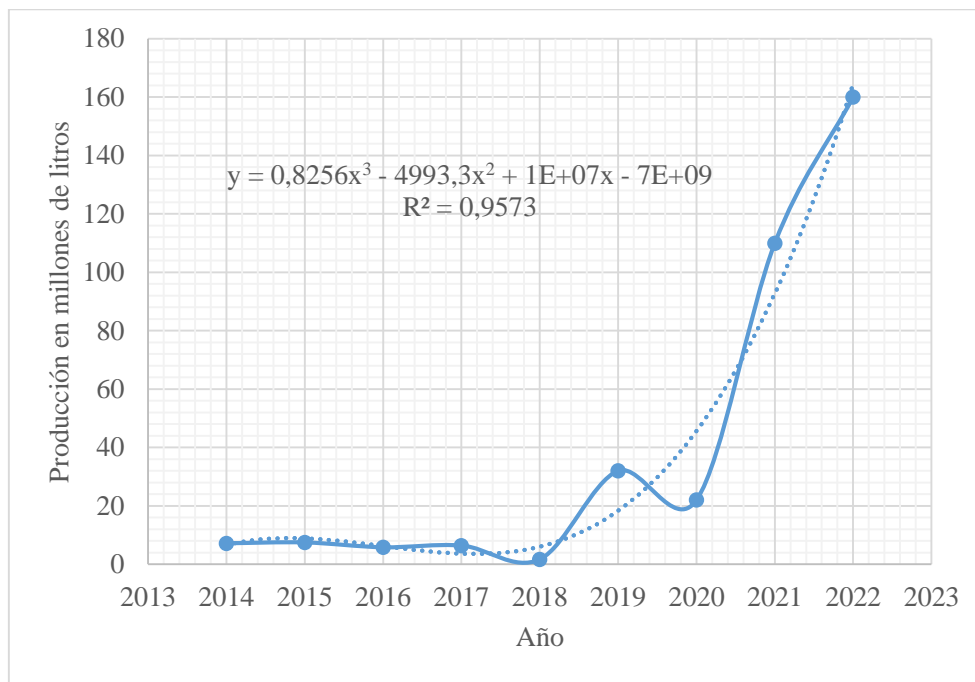
Tabla I-8 Demanda de etanol 2014 - 2022

AÑO	DEMANDA (millones de litros)
2014	7,18
2015	7,46
2016	5,81
2017	6,4
2018	1,7
2019	32
2020	22
2021	110
2022	160

Fuente: Elaboración propia

Realizando una proyección de esta demanda según una regresión polinómica de grado 3, tenemos:

Figura 1-9 Regresión polinómica grado 3



Fuente: Elaboración propia, 2022

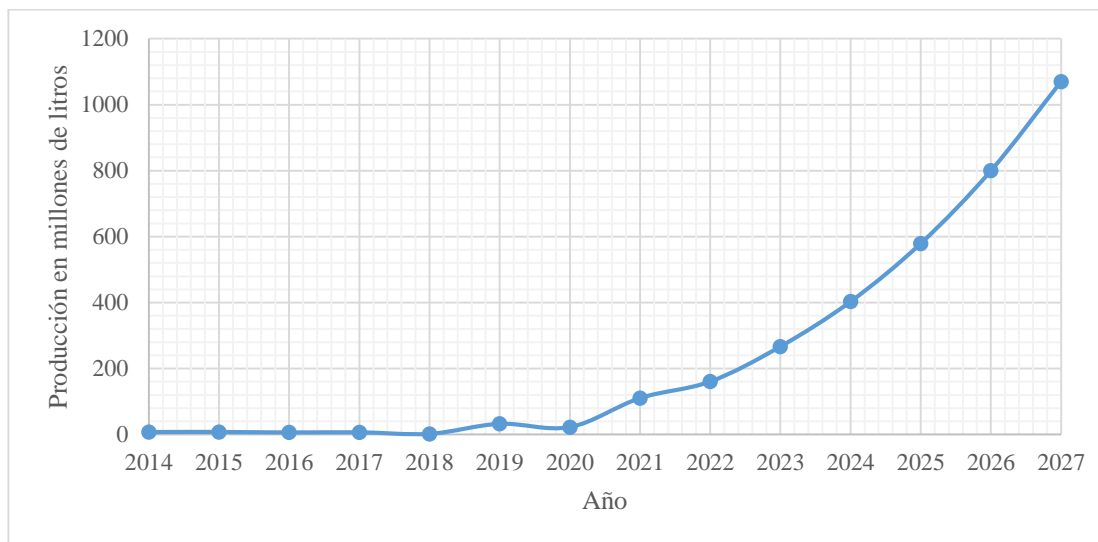
Por lo que la demanda a los siguiente 5 años, es decir, al año 2027 quedaría de la siguiente manera:

Tabla I-9 Proyección de demanda al 2027

AÑO	DEMANDA (millones de litros)
2014	7,18
2015	7,46
2016	5,81
2017	6,4
2018	1,7
2019	32
2020	22
2021	110
2022	160
2023	266,2054
2024	402,5606
2025	578,5806
2026	799,219
2027	1069,4294

Fuente: Elaboración propia, 2022

Figura 1-10 Proyección de demanda 2023-2027



Fuente: Elaboración propia, 2022

Con lo que se presume un incremento en la producción de bioetanol, siendo necesaria la búsqueda de alternativas a los procesos, materias primas y métodos ya existentes de producción del mismo.

1.3.2 Científico-Tecnológico

El desarrollo de la obtención de etanol a partir de una materia orgánica es un avance en el proceso clásico de producción de etanol el cual es principalmente por la vía química mediante síntesis y mediante fermentación a partir de una materia prima con contenido en azúcar como lo es la caña de azúcar. (Reyes, 2015)

Sin embargo, es importante contar con procesos alternativos a estos y con materias primas alternas para elevar la cantidad producida y que se garantice el abastecimiento según la demanda de etanol tanto nacional como internacional.

Una clara ventaja de la producción de bioetanol con materias primas alternas, es que se abre el paso al mercado de la producción de biocombustibles ya que un primer paso para los mismos es obtener etanol a partir de materia orgánica. Ya mediante la mejora de los sistemas de producción y los métodos empleados para este fin, será posible obtener un producto que pueda ser catalogado como biocombustible, cumpliendo los requisitos solicitados en el mercado del mismo.

Dado que el maíz, otros almidones y materias primas para la obtención de azúcares representan una pequeña porción de la biomasa que se puede utilizar para producir etanol, existe la necesidad de desarrollar tecnologías más eficientes que permitan el uso de nuevas fuentes de materias primas, como la biomasa celulósica de fibras vegetales, que se encuentra en subproductos agrícolas de bosques, árboles y hierbas. Esto proporcionará un mejor rendimiento que las tecnologías de primera generación.

La celulosa y la hemicelulosa son los dos componentes principales de las plantas y sus determinantes estructurales y dado que están compuestos de azúcares, teóricamente es posible extraer etanol de ellos. El principal problema es que estos azúcares están en

largas cadenas que deben romperse para obtener azúcares simples, de modo que puedan fermentarse para producir azúcares para etanol.

1.3.3 Social

El efecto social del bioetanol, es que a medida que se producen mayores cantidades de este, se requiere mayor cantidad de materia prima, lo cual genera fuentes de trabajo para los agricultores del país y el desarrollo de esta fuente laboral ampliamente desarrollada en el país.

La generación de empleo es un efecto que no puede dejarse de lado, según Delius (2007), quien realiza una estimación en base a valores medios por unidad productora de un millón de toneladas/año tomando en cuenta la participación del país en tan solo el 1% del mercado mundial si se llegase a expandir el área agrícola en un 6% y un 14%.

Según esta proyección realizada, se llegarían a generar 1500 empleos directos, 7500 empleos indirectos y 9000 considerando 1 millón de toneladas en 70 toneladas por hectárea.

Además, el potencial generador de empleos, según Delius, queda conformado y proyectado de la siguiente manera como se presenta en la Tabla I-10.

Tabla I-10: Proyección de generación de empleo

Año	6%	14%
2010	81900	81900
2011	86814	93590
2012	92023	106948
2013	37544	122213
2014	103397	139657
2015	109600	159590
2016	116117	182369
2017	123147	208400
2018	130536	238145
2019	138368	272136
2020	146670	310979

Fuente: Delius, 2007

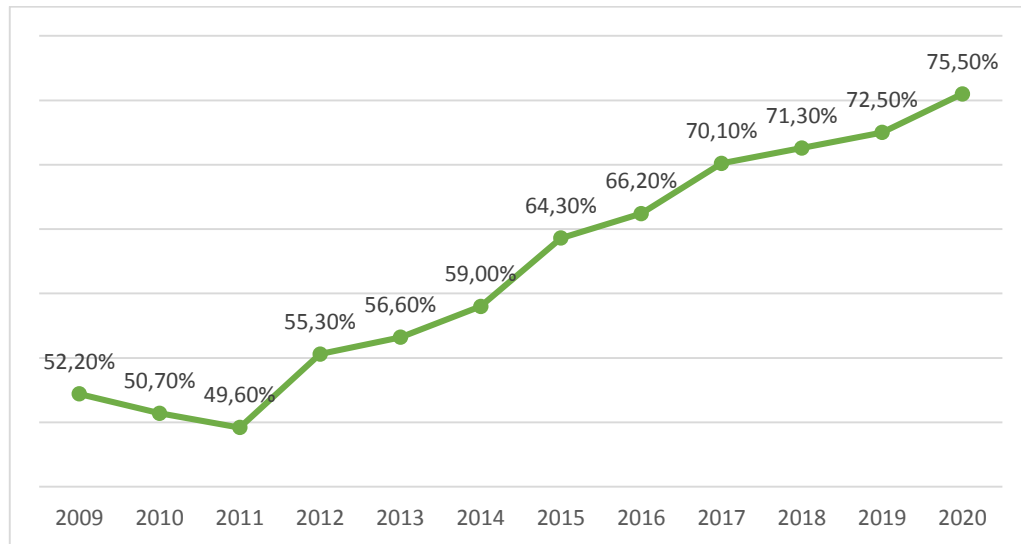
1.3.4 Ambiental

El etanol, a escala industrial, se obtiene principalmente a partir de etileno. Este mismo es obtenido por crackeo térmico donde se obtiene como contaminantes registrados producto de su elaboración: CO₂ (dióxido de carbono), CH₄ (metano) los cuales son bien conocidos como principales contaminantes y contribuyentes al calentamiento global.

En el caso de Europa, la disminución de gases de efecto invernadero, a consecuencia de implementar el uso de bioetanol como carburante a diferentes concentraciones en adición a la gasolina es bastante evidente. Este es uno de los usos que comúnmente se le da a este producto en concentraciones por encima de 99,5% de etanol. (ePURE, 2021)

En la Figura 1-11 se demuestra la efectividad de la reducción de gases de efecto invernadero tras la implementación del bioetanol.

Figura 1-11 Ahorro promedio ponderado certificado de emisiones de gases de efecto invernadero en la producción y uso de etanol como combustible en %



Fuente: ePURE, 2021

CAPÍTULO II
MARCO TEÓRICO

2.1 Bioetanol

La fermentación alcohólica del azúcar es un proceso que se viene dando desde la historia más remota de la humanidad, la fermentación de azúcares con levadura en solución acuosa y su destilación es una actividad que forma parte de la historia humana. Esto se viene aplicando siempre bajo un uso como bebidas alcohólicas. (Ancient Origins, 2019)

Desde la cerveza consumida y producida por los egipcios, el vino en las celebraciones griegas y romanas, el consumo, y especialmente la producción del alcohol a partir de materias con contenido en azúcares ha estado presente en nuestra historia. (Ancient Origins, 2019)

Figura 2-1 Dionisos, dios griego del vino



Fuente: Ancient Origins, 2019

Según Pietronave (s.f), existen tres tipos de materias primas para la producción de etanol de origen biológico, es decir, el bioetanol:

- Sustancias con alto contenido de sacarosa

Caña de azúcar

Remolacha

Melazas

Sorgo dulce

- Sustancias con alto contenido de almidón

Maíz

Papa

Yuca

- Sustancias con alto contenido de celulosa

Madera

Residuos Agrícolas

Cuando el proceso de obtención del bioetanol se realiza a partir de almidón es más complejo que partir desde la sacarosa por el hecho de que las moléculas de sacarosa se encuentran como parte del almidón y es necesario hidrolizar este mismo, esto se logra triturando el material y añadiendo agua y una enzima o bien sea ácido hasta calentar a 120-150°C en lo que se conoce como hidrólisis que se realiza previo a la fermentación de la mezcla. (Salinas & Gasca, 2009)

En el caso de que este proceso inicie desde un material con contenido en celulosa el proceso es aún más complicado ya que se debe de tratar la materia para que pueda ser fácilmente hidrolizable. Este tratamiento puede consistir en una combinación de trituración, pirólisis y ataques con ácidos y otras sustancias. Este factor es el que influye en que se tengan rendimientos altos en la caña de azúcar, medios para el maíz y bajos para la madera.

Este es el producto de la fermentación de los azúcares realizada por levaduras, esta es una fermentación anaeróbica, misma que debe ser seguida por una destilación. Si bien desde la antigüedad su aplicación principal ha sido para producir bebidas alcohólicas, en las últimas décadas se lo utiliza en gran escala para producir combustible que, puro o en mezclas, sustituye a la nafta en motores endotérmicos. (INTA, 2018)

El bioetanol es posible obtenerlo a partir de materia vegetal que contenga azúcares simples o algún compuesto que pueda convertirse en azúcares, como el almidón o la celulosa. Dentro de las especies de vegetales de las que se puede obtener el bioetanol están el maíz, trigo, sorgo, cebada, remolacha azucarera, caña de azúcar. En este caso se estudia la producción de bioetanol a partir de maíz, es decir que este es un bioetanol de primera generación donde a través de la hidrólisis del almidón contenido en el grano de maíz se obtiene glucosa que posteriormente es fermentada y destilada para obtener el bioetanol.

2.1.1 Procesos de obtención de bioetanol

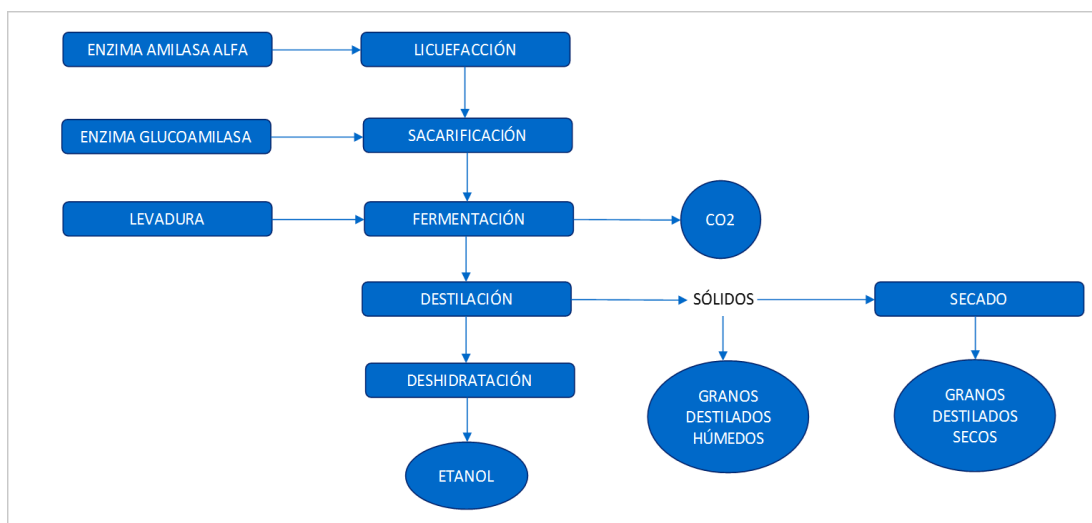
2.1.1.1 Proceso de obtención de bioetanol mediante hidrólisis enzimática y fermentación (Bioquímico)

El proceso bioquímico se caracteriza por tener como etapas importantes en este proceso la hidrólisis y la fermentación. Etapas en las cuales se da lugar a la ruptura de los enlaces glucosídicos del almidón para liberar los monómeros de glucosa que este contiene.

Con la posterior fermentación se logra pasar de glucosa a etanol mediante la ya muy conocida fórmula de fermentación alcohólica por acción de las levaduras.

De Nigris y Solari (2018) separan este proceso en siete etapas como son la limpieza y molienda, la licuefacción, sacarificación, fermentación, destilación y deshidratación.

Figura 2-2 Diagrama de obtención de bioetanol a partir de maíz por molienda en seco



Fuente: De Nigris y Solari, 2018

La Figura 2-2 muestra un esquema del proceso de obtención de bioetanol a partir de almidón de maíz presentado por De Nigris y Solari (2018), donde se aprecian los pasos a seguir en el caso de optar por un proceso de obtención a través de la molienda en seco.

El proceso que se sigue para obtener el bioetanol a partir del almidón de maíz, tal como se ha señalado en el apartado de antecedentes, consta de las etapas de molienda, hidrólisis, fermentación, destilado y deshidratado.

Limpieza y molienda

La materia prima se entrega y se analiza en busca de humedad, crecimiento de moho y apariencia general. Después de la limpieza, pasa por los molinos, que lo convierten en una harina de maíz. El propósito de romper el grano facilita la penetración del agua en la siguiente etapa del proceso.

Esta es una operación unitaria que tiene como característica el reducir el volumen promedio de aquellas partículas de una muestra sólida sometidas a esta operación. Por medios mecánicos se divide o fracciona la muestra para llevar a cabo la reducción. Existen métodos de reducción que son más comunes que otros como lo son la compresión, impacto, frotamiento y cortado.

La reducción del tamaño de partículas son procesos industriales muy importantes, pueden ser aplicadas tanto en rocas, carbón, cemento, plásticos, como también en granos, etc. Comúnmente se usan distintos tipos de equipos dependiendo el tipo de acabado que desee tener a estos equipos se les conoce generalmente como molinos. Muchas veces se desea alcanzar el grado de moler una gran cantidad de material de volúmenes y tamaños considerables hasta un polvo muy fino. Probablemente un solo molino no sea capaz de lograr la reducción deseada, entonces será necesaria una secuencia de equipos para lograr el objetivo.

En muchas industrias de alimentos, la reducción de tamaño puede ayudar a procesos de extracción de alimentos, a disminuir los tiempos de cocción, etc. En la industria de alimentos los equipos para la molienda suelen recibir diferentes nombres según la aplicación, por ejemplo, molienda de granos, picado de carne, cubeteado de tubérculos, ralladores, etc.

La preparación de la materia prima consiste en la molienda, esta se realiza con el propósito de dejar expuesto el almidón, el cual es el componente principal del bioetanol.

Molienda Húmeda – Wet Milling

La molienda húmeda es un proceso altamente sofisticado que por medios físicos y químicos separa los componentes del grano de maíz en una serie de productos útiles. La calidad requerida no se orienta hacia ningún tipo en particular (“flint”, dentado o semidentado). La exigencia de esta industria se refiere principalmente a la

homogeneidad de las partidas en cuanto a textura y a la contaminación por micotoxinas. Es un proceso en el cual el grano se debe separar en sus componentes con la ventaja que se logra una separación más efectiva y los coproductos tienen un mayor valor agregado.

Molienda Seca – Dry Milling

Es un proceso de producción para extraer el almidón contenido en el maíz ampliamente aceptado en la industria del etanol, puesto que comparativamente con el método molienda húmeda tiene menores requerimientos de capital tanto al momento de construir como de operar.

El proceso de molienda seca comprende procesos físicos destinados al desprendimiento, separación y rotura de las partes del grano: endosperma, germen y pericarpio. El proceso de molienda seca comienza con la limpieza del grano de maíz, que una vez limpio pasa a través de los molinos que lo muelen en un polvo fino -harina de maíz.

Hidrólisis enzimática

La hidrólisis es una reacción química donde se produce la ruptura de una molécula, la palabra tiene su origen en el griego *hidros* que quiere decir agua y *lisis* que significa ruptura. En química orgánica se entiende a la hidrólisis como el rompimiento de un enlace por la incorporación de uno de los iones de agua o bien de los dos en los productos de la hidrólisis.

Dentro del proceso de hidrólisis existen tanto lo que son la hidrólisis química como también la hidrólisis enzimática, ambos son usados con un mismo fin sin embargo hay que considerar que para el caso de la hidrólisis química, al ser esta realizada con ácidos o bases fuertes causan muchas veces la destrucción de algunos aminoácidos, presentan dificultad para controlar el proceso y los productos que se obtiene pueden presentar características variables. (De Nigris y Solari, 2018)

En el caso de la hidrólisis enzimática se da el uso de enzimas proteolíticas, los productos son de un elevado valor nutricional y funcional, además cabe resaltar la especificidad en las enzimas y en el control del proceso. Se elabora en condiciones moderadas, evitando excesos en las variables de proceso que afecten los productos (T, pH). Se logra controlar los procesos mediante la inactivación de enzimas.

Cuando se tiene una materia prima como el almidón se aplica una técnica de hidrólisis enzimática como parte del proceso, dentro de esta etapa es donde se encuentra el corazón del proceso en sí, esto debido a que la etapa de hidrólisis es donde el almidón que ha sido expuesto es tratado con las enzimas, lográndose así una hidrólisis enzimática para lograr llevar el almidón a glucosa según dos principales etapas conocidas como licuefacción y sacarificación.

Licuefacción

La harina de maíz se transporta a grandes tanques donde se mezcla con agua y enzimas α -amilasa. Luego, pasa por las cocinas donde se licua el almidón (pasa de sólido a líquido). Se agregan componentes químicos a la mezcla, que actúan como amortiguadores para mantenerla en un pH óptimo. En esta etapa se aplica calor, por lo que es necesario controlar la temperatura para reducir los niveles de bacterias presentes en el mosto.

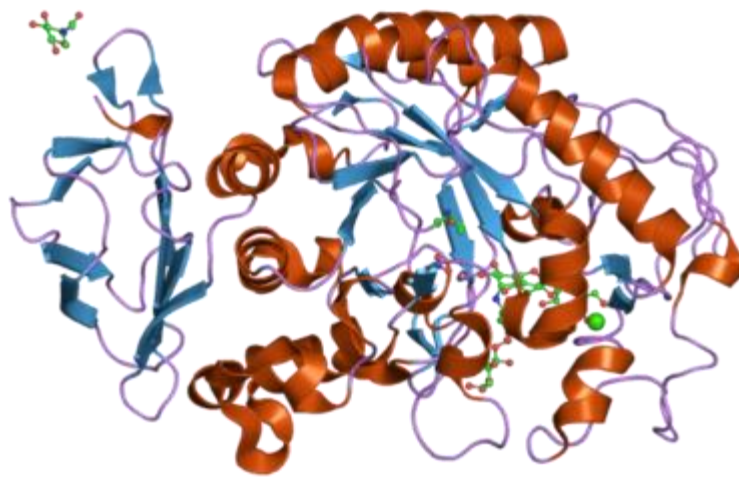
La harina de maíz se mezcla con agua y las enzimas -amilasa alfa- y se realiza la licuefacción del almidón. A la mezcla se le agregan cloruro de calcio (CaCl_2) y para estabilizar la mezcla hasta un pH de 6,5 se añade NaOH a una concentración de 0.1 N. En esta etapa se aplica calor, por lo que es necesario asegurar una temperatura de 90°C aproximadamente unos 45 minutos según el ensayo realizado por Miranda & Molina (2015). Las altas temperaturas reducen los niveles de bacterias presentes en el puré o mosto.

En la etapa de licuefacción o dextrinización empleando la enzima alfa amilasa se hidrolizan los enlaces glucosídicos α -1,4 al azar de la amilosa y la amilopectina, convirtiendo el almidón en dextrinas y oligosacáridos solubles. (De Nigris y Solari, 2018)

α -Amilasa

La α -amilasa es una endoamilasa que hidroliza parcialmente el almidón en las regiones internas, propiamente sobre las uniones α -1,4 hasta formar dextrinas. Estas dextrinas son el primer paso en la simplificación del almidón, proceso conocido como hidrólisis. (Laboratorios Bagó, 2020)

Figura 2-3 Estructura de la alfa amilasa



Fuente: Parada, 2019

Sacarificación

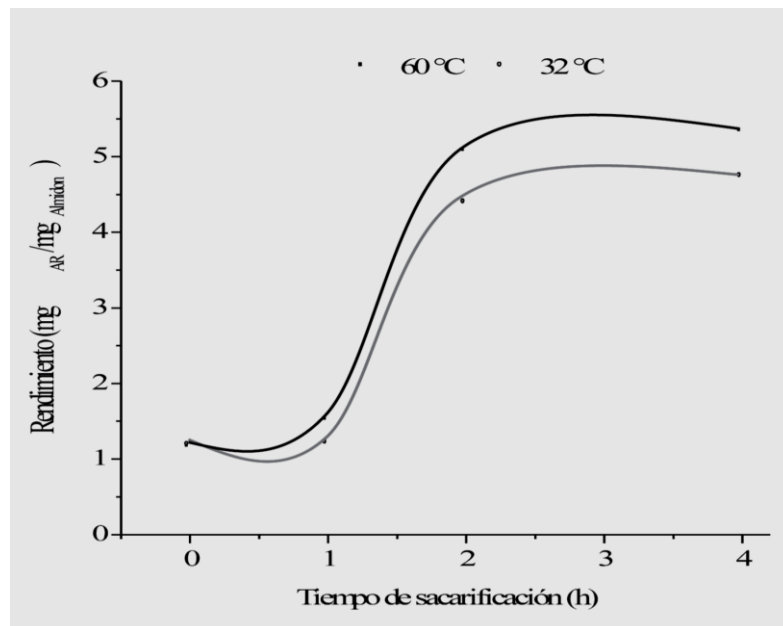
Se enfría el mosto y se agrega una enzima secundaria llamada glucoamilasa para convertir las moléculas de almidón licuado en azúcares fermentables (dextrosa) a través

del proceso de sacarificación Las enzimas actúan como catalizadores para acelerar los cambios químicos.

La sacarificación es el proceso por el cual el resultado de la etapa anterior es refrescado y se da lugar a la agregación de la glucoamilasa, la cual convierte las moléculas de almidón licuado en azúcares que son fermentables, en este caso, Las dextrinas anteriores, se hidrolizan totalmente desde los extremos no reductores, esto da origen a la maltosa, que es un disacárido, hasta obtener glucosa, que es un monosacárido.

La sacarificación es un proceso aún más importante que la licuefacción, siendo importante en esta, el tiempo y temperatura de sacarificación. La sacarificación toma un tiempo de entre 12 a 48 horas y una temperatura óptima debe ser entre los 60 y 75°C. (Meléndez, 2002)

Figura 2-4 Representación del efecto de interacción entre los factores de tiempo y temperatura de sacarificación



Fuente: Miranda & Molina, 2015

En la Figura 2-4 se puede apreciar cual es el efecto que tiene el tiempo de sacarificación sobre el rendimiento obtenido. Entre la primera y segunda hora es donde se ve un aumento significativo del rendimiento y uno leve entre la segunda y la tercera hora de sacarificación. Sin embargo, para la tercera a cuarta hora, y las que vienen en adelante, se presenta una fase de latencia en el rendimiento obtenido. Además, cabe señalar la diferenciación entre las temperaturas a las cuales se ha operado, presentando dos curvas las cuales corresponden a temperaturas de 32°C y 60°C, siendo esta última la de color más oscuro y la que presente mejores rendimientos a comparación de la anterior. Tal es este efecto que Miranda & Molina (2015) concluyen: *“Para aumentar el rendimiento de azúcares reductores, la mejor combinación de niveles es una temperatura de sacarificación de 60°C y un tiempo sacarificación de 2 h”*.

En la etapa de sacarificación se emplean las enzimas exo-amilasas, que rompen los enlaces α -1,4 glicosídicos, esta es la misma acción de las β -amilasas. Bien también puede darse el caso de romper ambos enlaces α -1,4 y α -1,6 glicosídicos, esta es una acción semejante a la amiloglucosidasa o glucoamilasa y α -glucosidasa. Estas enzimas actúan sobre los residuos de glucosa externos de la amilosa y la amilopectina y así producen solamente glucosa, o maltosa y dextrinas. Una de las enzimas muy utilizadas es una amiloglucosidasa producida a partir de una cepa seleccionada de *Aspergillus niger*, esta es la glucoamilasa, es clasificada como una exoenzima y denominada industrialmente como enzima sacarificante. Dicha enzima hidroliza tanto los enlaces α -1,4 como α -1,6 del almidón licuificado, por lo tanto convierte a las dextrinas en glucosa o dextrosa. El pH óptimo de acción enzimática está entre 4 a 4,5 y la temperatura de 58-60°C.

Glucoamilasa

Es una enzima que acorta las cadenas de almidón y libera en forma consecutiva unidades de glucosa desde el extremo no reductor del almidón. Es una exoamilasa debido a que es secretada por una célula y funciona fuera de la misma. Las glucoamilasas son inactivas en almidón crudo y por lo general presentan una actividad

óptima en el intervalo de pH 4 a 5 y a temperatura de 50 a 60°C. (De Nigris y Solari, 2018)

La glucoamilasa es producto de una fermentación de una cepa de *Aspergillus niger*, este producto se puede utilizar en la industria del alcohol, el destilado de alcohol, la cerveza, el ácido orgánico, el azúcar y la glicación del material industrial antibiótico.

Fermentación

El etanol es un producto de fermentación. Al mosto sacarificado se le añade levadura para fermentar los azúcares y así obtener etanol y dióxido de carbono. En esta fase del proceso, el mosto se mantiene durante unas 48 horas. En la fermentación, el etanol conserva mucha de la energía que originalmente estaba en el azúcar, razón por la cual el etanol es un combustible tan bueno.

En esta etapa se agrega levadura a la mezcla anterior, esto con el propósito de fermentar los azúcares y de esta manera obtener bioetanol juntamente con anhídrido carbónico. En este proceso se tiene un tiempo de fermentación de entre 48 a 60 horas antes de la destilación.

Se deben tener en cuenta ciertos factores para el crecimiento y desarrollo de la levadura, según lo enuncia Suarez, Garrido, & Guevara (2016):

- Presión osmótica: la nutrición de la levadura es un proceso osmótico. Esto puede afectar la velocidad de fermentación.
- Temperatura: las altas temperaturas ocasionan una disminución de biomasa e induce a la rigidez de la membrana celular. Mientras que bajas temperaturas, provocan un estado de latencia en la célula, deteniendo su desarrollo. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* crece a temperaturas moderadas de entre 20 y 40°C.
- Desecación: inhibe las actividades y desarrollo de los microorganismos.
- Luz: en general, suele ser perjudicial para los microorganismos.

- pH: toleran un rango de pH entre 3 y 10, pero les resulta favorable un medio ligeramente ácido con un pH entre 4,5 y 6,5.
- Alcohol: el etanol puede actuar como inhibidor de la fermentación cuando el grado alcohólico es muy elevado.

La fermentación es el proceso, de naturaleza bioquímica, por el cual se da la transformación de la materia orgánica bajo la acción de ciertas enzimas que son segregadas por microorganismos. Se lleva a cabo en un ambiente anaeróbico, es decir, libre de aire.

Su uso se da en dos principales productos:

- Productos derivados de la fermentación alcohólica. Los sustratos a partir de los cuales se produce la fermentación son en todos los casos hidratos de carbono, pero difieren de unos productos a otros como también son distintas las levaduras que realizan la fermentación y los requisitos que se les exigen.
- Productos derivados de la fermentación láctica. La fermentación láctica es el proceso básico de fabricación de diversos productos de origen vegetal y animal. Los fermentos lácticos presentan una gran importancia en la industria alimentaria. (CEUPE, s.f.)

Fermentación alcohólica

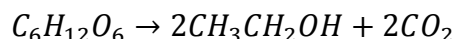
La fermentación alcohólica es una biorreacción que permite degradar azúcares en alcohol y dióxido de carbono.

Las principales responsables de esta transformación son las levaduras. La *Saccharomyces cerevisiae*, es la especie de levadura usada con más frecuencia. Por supuesto que existen estudios para producir alcohol con otros hongos y bacterias, como la *Zymomonas mobilis*, pero la explotación a nivel industrial es mínima.

A pesar de parecer, a nivel estequiométrico, una transformación simple, la secuencia de transformaciones para degradar la glucosa hasta dos moléculas de alcohol y dos moléculas de dióxido de carbono es un proceso muy complejo, pues al mismo tiempo la levadura utiliza la glucosa y nutrientes adicionales para reproducirse.

Levaduras

Las levaduras son hongos, en su mayoría, unicelulares y microscópicos. Su uso viene de muchos años atrás. Tienen un amplio uso en la fermentación, ya que estos hongos son capaces de transformar los azúcares obteniéndose así de este proceso, alcohol y dióxido de carbono según la siguiente ecuación:



Para el caso del presente proyecto se opta por realizar la fermentación con la ayuda de las ya conocidas levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, su nombre deriva del vocablo Saccharo (azúcar), myces (hongo) y cerevisiae (cerveza). Es una levadura heterótrofa, que obtiene la energía a partir de la glucosa y tiene una elevada capacidad fermentativa. Puede aislarse con facilidad en plantas y tierra, así como del tracto gastrointestinal y genital humano. (Suarez, Garrido, & Guevara, 2016)

Destilación

El mosto fermentado, ahora llamado cerveza, contiene alcohol (15%), agua y todos los sólidos no fermentables del maíz y la levadura. Luego, el mosto se bombea continuamente al sistema de columna de destilación, donde se hierve la cerveza, separando el alcohol etílico de los sólidos y el agua. El alcohol sale de la columna de destilación con una pureza del 96% y el mosto residual, llamado stillage, se transferirá del fondo de la columna para ser procesado como subproducto. (De Nigris y Solari, 2018)

Al fermentado se le conoce como cerveza, este contiene alcohol y agua, por lo tanto, es necesario un proceso de destilación para obtener la separación de estos dos compuestos, esto se realiza en una operación de destilación.

La destilación es un método comúnmente utilizado para la purificación de líquidos y la separación de mezclas con el fin de obtener sus componentes individuales.

La destilación es una técnica de separación de sustancias que permite separar los distintos componentes de una mezcla. Esta técnica se basa fundamentalmente en los puntos de ebullición de cada uno de los componentes de la mezcla. Cuanto mayor sea la diferencia entre los puntos de ebullición de las sustancias de la mezcla, más eficaz será la separación de sus componentes; es decir, los componentes se obtendrán con un mayor grado de pureza. (TP, 2021)

La destilación es el proceso de separación del etanol de los sólidos y el agua en la mezcla. Dado que el alcohol vaporiza a 78°C, y el agua a 100°C es posible que se puedan separar, por su diferencia de temperaturas, en una columna de destilación. La destilación/rectificación con reflujo convencional puede dar lugar a un etanol al 95% de pureza. En este punto el agua y el alcohol forman un azeótropo que ya no puede ser separado mediante esta operación. (Olguín, 2015)

Cuando se desea dar un uso como biocombustible al bioetanol obtenido, es necesario que se pueda garantizar un mayor porcentaje de pureza, y esto se logra mediante la técnica de deshidratado molecular para alcanzar un 99,9% al cual se conoce como etanol anhidro. (Pietronave, s.f)

Deshidratación

El alcohol pasa por un sistema de filtros moleculares o sistemas de destilación que eliminan el agua residual, de modo que alcanza una pureza del 99,5%. El alcohol puro, sin agua, se llama alcohol anhidro.

2.1.1.2 Proceso de obtención de etanol mediante gasificación y síntesis (Termoquímico)

En la vía termoquímica la biomasa es convertida mediante gasificación, a una temperatura de 800°C, en gas de síntesis que a su vez es acondicionado y convertido por vía catalítica en etanol. La conversión catalítica de gas de síntesis a etanol puede realizarse en un paso (rutas directas) o en varios pasos (rutas indirectas).

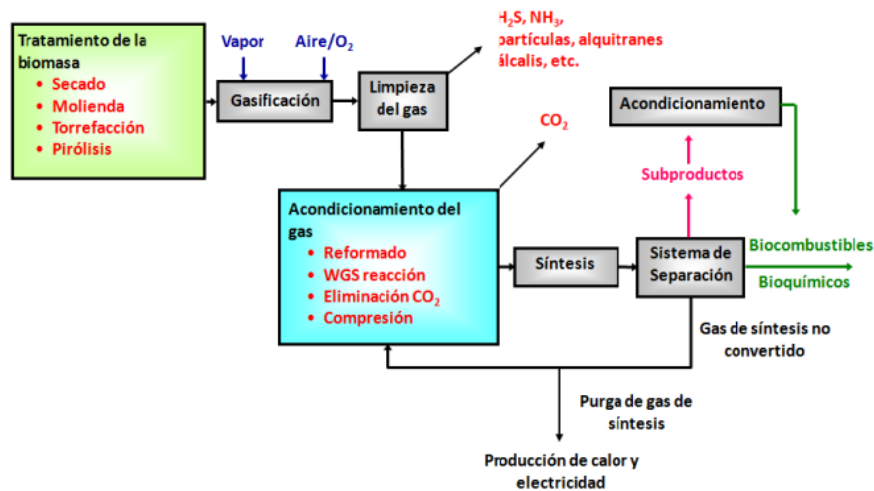
La ruta termoquímica consiste en la gasificación completa de la biomasa, incluidas hemicelulosa y lignina, en gas de síntesis seguido de la conversión catalítica de dicho gas en combustibles o productos químicos en general. Existen numerosas rutas para la conversión del gas de síntesis. En función del producto deseado, se emplean los catalizadores más adecuados en una o varias etapas de síntesis.

La biomasa es gasificada para producir un gas de síntesis que contiene principalmente H_2 y CO . El gas de síntesis es limpiado con la finalidad de eliminar cualquier contaminante como H_2S , alquitranes, álcalis o NH_3 . Posteriormente, esto se somete a un proceso de acondicionamiento donde se busca dar al gas las características de presión, temperatura y composición requeridas por el catalizador o catalizadores que vayan a ser empleados.

La siguiente etapa es la de síntesis o conversión del gas de síntesis en los productos deseados. Después, se separa el gas no reaccionado de los productos generados. La corriente gaseosa es recirculada al proceso y los productos son enviados a un sistema de separación. Finalmente, los productos se acondicionan para su venta en el mercado, ya sean productos químicos o combustibles.

Parte del gas de síntesis no reaccionadas puede ser empleado en la generación de calor o electricidad, en función de los tipos de integración de calor o electricidad, en función del tipo de integración energética que se emplee en la planta. Cada una de las etapas de este proceso se presentan en la Figura 2-5.

Figura 2-5 Esquema general para la producción de químicos o combustibles por la ruta termoquímica



Fuente: Reyes, 2015

2.1.1.3 Proceso de obtención de bioetanol mediante gasificación y fermentación

En este tipo de proceso, se realiza la combinación de ambas vías, es decir que una primera etapa se da la conversión de la biomasa, materia prima que va a ser utilizada, mediante la vía termoquímica a gas de síntesis mediante gasificación. Por otra parte, y siguiendo el proceso, se combina este primer paso con la vía bioquímica de obtención de bioetanol; aquí se da la fermentación del gas de síntesis obtenido en la primera parte del proceso, esto gracias a un proceso bioquímicos.

2.2 Materias primas

Como bien se ha mencionado anteriormente, existe en la producción de bioetanol generaciones, las cuales tratan de explicar el origen y de clasificarlos. Todas utilizan materias primas distintas para llegar al mismo fin, que es obtener el bioetanol. De cualquier manera, ambos presentan tanto ventajas como también desventajas.

El bioetanol que se obtiene como producto principal del proceso, tiene también generaciones diferentes que atienden al tipo de materia prima que se utiliza para la elaboración del mismo. Son tres generaciones que Cortés, Gata, Pipió, Rodríguez, & Sánchez (s.f.) señalan como importantes a la hora de hablar de este producto. Dentro de los procesos de obtención de bioetanol, existen alcoholes que se obtienen de diferentes materias primas, según la procedencia de la materia prima tenemos cuatro generaciones de bioetanol, cada una de ellas conlleva a un procedimiento diferente para la obtención del bioetanol, en una descripción más detallada se puede apreciar la diversidad de posibilidad para obtener dicho producto, dentro de estas se puede citar , por ejemplo, los materiales fermentables directamente, aquellos con contenido en almidón, contenido en celulosa, desechos agrícolas, etc.

2.2.1 Primera generación

La primera generación puede ser definida como aquellos que derivan de un material biológico y que pueden ser obtenidos de manera renovable. (Congreso Nacional del Medio Ambiente, 2008)

Se puede decir que el bioetanol de primera generación es aquel que se produce de materias primas convencionales. Cabe resaltar además que este tipo de bioetanol ya tienen una presencia en el mercado, son imprescindibles para el desarrollo de otras generaciones de biocombustibles y se producen de manera sostenible.

Algo que se maneja bastante sobre este tipo de bioetanol es el hecho de que, al ser alimentos ya consolidados en el mercado, son causantes directos de la hambruna en países subdesarrollados y escasez de alimentos en el mercado y el alza de precios de los mismos. Sin embargo, en el caso de la Unión Europea, donde este producto lleva mayor tiempo en uso, menos del 1% de la producción de cereales ha sido destinada al mercado productivo del mismo y, en realidad, sus precios disminuyeron en más de un 50% respecto a los precios que se registraron en el año 2008. (Congreso Nacional del Medio Ambiente, 2008)

Una de las principales ventajas del uso de bioetanol de primera generación es, sin lugar a dudas, la disminución de la contaminación emitida por los gases de efecto invernadero, al implementar este en un contexto de combustibles; producto del uso de los combustibles fósiles, es este el caso de Brasil donde la Unión Industrial de Caña de Azúcar (UNICA), en su estudio muestra que hasta fines de julio de 2008 deberían de sembrarse más de 120 millones de árboles para neutralizar la contaminación por veinte años; sin embargo, con el uso de etanol, la contaminación a partir de 2003 se ha reducido en 90%. (Salinas & Gasca, 2009)

Dentro de esta generación son, muy comunmente, usados el maíz y la caña de azúcar, esto con un muy amplio uso en Estados Unidos y Brasil, respectivamente; por otra parte, en Europa se usan el trigo y la remolacha azucarera.

Se puede señalar que este etanol de primera generación, al utilizar materia prima que es apta para la alimentación humana, representa una amenaza al suministro de alimentos, por otra parte también se habla de como este tipo de combustibles puede afectar al aumento del precio de los alimentos.

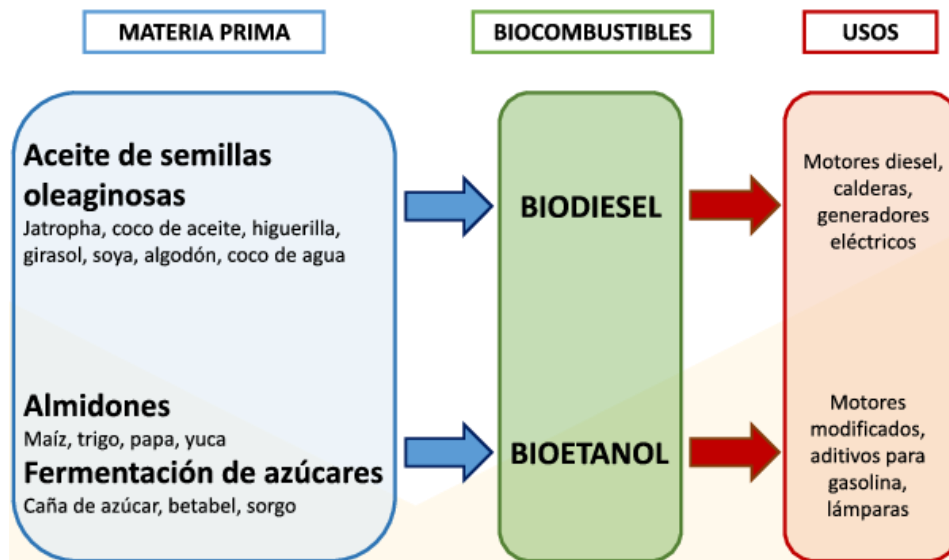
La producción de bioetanol de primera generación implica un alto consumo de agua dulce. El crecimiento en la producción de etanol está directamente relacionado con el aumento en la demanda de agua dulce para regar los campos. En todo el mundo, se consume 1 m³ de agua por cada kilogramo de cereal producido. Se estimó que el etanol utilizado en un automóvil en una distancia de 20 000 km. implica un consumo de agua equivalente al de 100 personas en Europa o 500 personas en África; Al mismo tiempo, el maíz utilizado para obtener la cantidad de etanol para la ruta mencionada puede alimentar a 7 personas durante todo un año. Además, cabe resaltar que se incrementa el uso de agroquímicos tanto en fertilización como en la fumigación. (Salinas & Gasca, 2009)

Los alcoholes de primera generación son aquellos que se obtienen de materias primas directamente fermentables, es decir, aquellas que cuyo contenido de azúcar es

apropiado para realizar la fermentación de los mismos y de esta manera, obtener el etanol más agua, según la clásica fórmula de fermentación alcohólica de los azúcares. Los procesos que se llevan a cabo para la obtención del etanol de este tipo de materia prima son la molienda, fermentación y destilación.

Además de este tipo de materia prima, también es posible obtener el bioetanol desde materias primas que tengan alto contenido en almidón, en este caso, el almidón es el que contiene los azúcares fermentables, por lo que, es necesario poder tener acceso a estos azúcares para fermentarlos y esto se logra mediante la adición de dos procesos muy importantes para este fin, a diferencia de la anterior forma de obtener el etanol, los pasos para este caso son molienda, licuefacción, sacarificación, fermentación, destilación y deshidratación.

Figura 2-6 Materias primas, biocombustibles y sus principales usos



Fuente: Valdés y Palacios, 2016

Como bien se aprecia en la Figura 2-6, es posible obtener bioetanol, que es el producto de interés, mediante el uso del almidón de maíz independientemente si este tiene o no

un uso como biocombustible, siendo una alternativa también el uso industrial del mismo.

2.2.2 Segunda generación de bioetanol

En esta generación de bioetanol, este es obtenido a partir de biomasa lignocelulósica, esto quiere decir que aquellos residuos forestales, agrícolas y los desechos urbanos, incluidos los lodos de depuradoras, pueden ser usados para la producción de este biocombustible. Este tipo de residuos contiene celulosa, también existen otros componentes como la lignina y la hemicelulosa, esta última, mediante su estructura, determina si la hidrólisis va a requerir múltiples hemicelulasas que cooperen entre sí.

Previo a la hidrólisis enzimática, se hace necesario un pretratamiento para reducir las cadenas largas de polisacáridos en cadenas más cortas y sencillas. Tratamientos que pueden ser mecánicos, como la trituración; térmicos, por explosión de vapor o agua a alta temperatura; químicos, mediante hidrólisis ácida o biológicos, por tratamiento con hongos y bio-solventes orgánicos.

Bien se pueden identificar como bioetanol de segunda generación aquel que:

- Utilizan materias primas no convencionales (lignocelulósicas u otras), este tipo de material presenta una ventaja frente a las materias primas convencionales ya que no se encuentra dentro del mercado alimentario y no son parte de la polémica que desatan las materias primas para los biocombustibles de primera generación.
- Presenta una elevada capacidad de reducción de emisiones de efecto invernadero y de ahorro energético, este es un aspecto que se da mayoritariamente en gran cantidad de materia prima para este tipo de biocombustibles.
- Se obtienen de procesos complejos, algunos procesos aún no tienen un grado de desarrollo como aquellos de primera generación. Sin embargo, se espera que

estos tengan una disponibilidad comercial en un periodo breve de tiempo. (Congreso Nacional del Medio Ambiente, 2008)

- Son producidos de manera sostenible.

Sin lugar a duda, la principal característica de este tipo es que se producen a partir de materia prima que no tiene una función alimentaria, esto permite su cultivo en tierras marginales que no se emplean para el cultivo de alimentos. La biomasa que proviene de la celulosa permite que se pueden usar desperdicios de aserraderos siendo fuentes prometedoras el álamo y el sauce, el pasto de elefante, el mijo y los residuos celulósicos industriales. (Salinas & Gasca, 2009)

Cortés, Gata, Pipió, Rodríguez, & Sánchez (s.f.) afirman lo siguiente: *“El 75% de la biomasa vegetal se compone de polisacáridos. Hay un depósito de azúcares enorme que no se aprovecha dentro de la agricultura, ya que la fracción de azúcares que se aprovecha para la alimentación es ínfima en comparación con los polisacáridos que se presentan en la pared celular del resto de la planta, es decir, de las partes no comestibles. Desde el punto de vista más simple, esta materia puede quemarse para generar calor y electricidad”*. Para lograr un aprovechamiento máximo de estos depósitos de azúcares existen dos posibilidad para lograr este fin. Una de ellas es la ruta enzimática, donde se obtiene parcialmente la conversión de estos polisacáridos; sin embargo, al usar la ruta termoquímica se obtiene un aprovechamiento total de toda la materia para convertirla en biocombustible.

A pesar de esto, Salinas & Gasca (2009) señalan que una de las desventajas de estos es que se tienen costos elevados en cuanto a su producción, hecho que sitúa a estos en el umbral de comercialización por los costos de su manufactura. Los costos para el proceso a partir de celulosa y del etanol son más altos que los precios de la gasolina a base de aceite mineral y bioetanol convencional.

Sumado a esto, se corre el riesgo de la pérdida de hábitats naturales por los monocultivos, y también la propagación de especies genéticamente modificadas con impactos hasta ahora desconocidos.

La producción de etanol de segunda generación se da a partir de materias primas que son consideradas desechos agrícolas, los rastrojos de diversos cultivos, o residuos industriales y compuestos que tengan contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina.

2.2.3 Tercera generación de bioetanol

En el afán de poder superar las desventajas que presentaban las dos anteriores generaciones se buscó una nueva generación de bioetanol que pudiera usar algas de carácter micro o macroscópicas donde estas, como fuente de energía renovable destacaban por tener una rápida generación de biomasa en tiempos cortos, además de que el cultivo de las mismas, no es, necesariamente en tierras aptas para el cultivo de vegetales comestibles.

El proceso para obtener bioetanol a partir de estas algas es similar al proceso para con los residuos lignocelulósicos, a diferencia de que al tener estas una estructura degradable, con una hidrólisis ácida no se hace necesario un pretratamiento como en el caso del bioetanol de segunda generación. Posteriormente a esta hidrólisis ácida, se realiza la fermentación y destilación. (Alonso-Gómez & Bello-Perez, 2018)

Las materias primas que hacen posible la obtención del bioetanol de tercera generación tienen más una característica de ser cultivos con alta densidad energética, dentro de estos se pueden citar los pastos perennes, las micro y macro algas, las cianobacterias, estas aportan en la producción de hidrógeno como sustrato para la conversión termoquímica y como lípidos para biodiesel. (Alonso-Gómez & Bello-Perez, 2018)

2.2.4 Cuarta generación de bioetanol

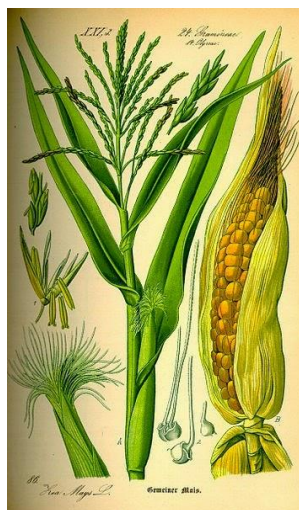
La bioingeniería hizo posible el que se tenga las materias primas para obtener el bioetanol desde organismos genéticamente modificados conocidos como (OGM) los que garantizan una mayor captura de CO₂, esta materia prima modificada puede tener un contenido más alto de lípidos que hace posible la producción simultánea de etanol y biodiesel. (Alonso-Gómez & Bello-Perez, 2018)

2.3 El maíz

El maíz (*Zea mays* L.) pertenece a la familia de las gramíneas, tribu maideas, y se cree que se originó en los trópicos de América Latina, especialmente los géneros *Zea*, *Tripsacum* y *Euchlaena*, cuya importancia reside en su relación fitogenética con el género *Zea*.

El maíz es un cereal que se caracteriza por tener tallos largos y macizos, al final de estos se dan espigas, o mazorcas, mejor conocido como el choclo, con sus semillas o granos de maíz dispuestos a lo largo de un corazón al que conocemos como marlo.

Figura 2-7 Cultivo del maíz



Fuente: Wikimedia Commons, s.f.

Es una fuente alimenticia popular, sobre todo en nuestro continente, América, donde suele molerse para elaborar harinas y también es empleado como alimento para animales e insumo para la obtención de biocombustibles.

Los maíces pueden crecer hasta los 4000 m.s.n.m, teniendo en cuenta que los mismos a mayor altura van adoptando una característica de contenido de almidón mayor a las que se producen en zonas bajas, a estas variedades se las conocen como variedades de maíz amiláceas.

Figura 2-8 Partes de la planta de maíz



Fuente: YSusPartes.com, s.f.

La planta de maíz cuenta de partes que la hacen diferentes de otros tipos de plantas pertenecientes a esta familia. Estas partes constan de la raíz, el tallo, las hojas, las mazorcas y las inflorescencias.

La raíz es quizás la más importante, ya que su función principal es mantener viva la planta, su tarea es absorber y transportar los nutrientes que se encuentran en la tierra hacia cada una de las partes de la planta, esto es fundamental para su desarrollo.

Una planta de maíz puede producir raíces reforzantes y raíces accidentales. Las primeras son raíces aéreas que crecen por encima del suelo mientras que las raíces o coronas accidentales, como también se les llama, crecen por debajo de la superficie de la Tierra.

Por su parte, el tallo es la parte principal de una planta de maíz y se caracteriza por ser muy fuerte y estable porque puede soportar perfectamente el peso de las mazorcas sin romperlas.

El tallo tiene diferentes partes tales como: la epidermis exterior, conocida por ser una capa impermeable transparente; la pared, es una capa dura y leñosa; y la médula, compuesta por un tejido blando y esponjoso que constituye la parte central del tallo.

Las hojas crecen lentamente y pueden alcanzar a ser entre 16 y 22 hojas por planta de maíz, con relación a los nodos, estas son alternas y opuestas. Nacen de las mazorcas y espigas, tienen una forma alargada.

La mazorca es considerada como el fruto de la planta de maíz, cada mazorca está formada por granos que es la parte comestible, estos granos se encuentran sujetos a lo que es el corazón de la mazorca, también conocido como marlo, y tanto granos como marlo están cubiertos por hojas, las que conocemos como cáscara o chala que a través del pedúnculo sujeta a la mazorca al tallo de la planta.

Las inflorescencias se dividen tanto en lo que son las inflorescencias masculinas como femeninas. Las masculinas son la parte reproductora de la planta y es conocida como espiga y se encuentra en la parte superior de la planta. La inflorescencia femenina se localiza en las yemas axilares de las hojas y son espigas cilíndricas.

2.3.1 El maíz en Tarija

Las variedades criollas de maíz que existen en la región tarijeña alcanzan a 25, por ejemplo, se tiene el romano, culli, overo, pullita blanco y amarillo, el morocho, bicha

sara, además de las liberadas por el Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal (INIAF) como el H1 y el HQ2, sin embargo, en el departamento solo se cultivan unas 12. (Patiño, 2019)

Los agricultores utilizan más las variedades criollas, pero una buena parte de estos también han comenzado a utilizar variedades híbridas que genera el INIAF bien sea para la alimentación de ganado por su característica “dura” cultivados en el valle central de Tarija y la zona del Chaco.

El maíz producido en el departamento de Tarija tiene la característica de que es más fácil de tratar en comparación a otros productos como la uva y las plantas frutales. Mientras que se tienen que esperar unos cinco años para producir uvas y nogales, se pueden sacar hasta dos ciclos por año de maíz. (Patiño, 2019)

Según el Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal de Tarija (INIAF), señala que las variedades de maíz se cultivan en tres principales zonas del departamento, estas zonas son:

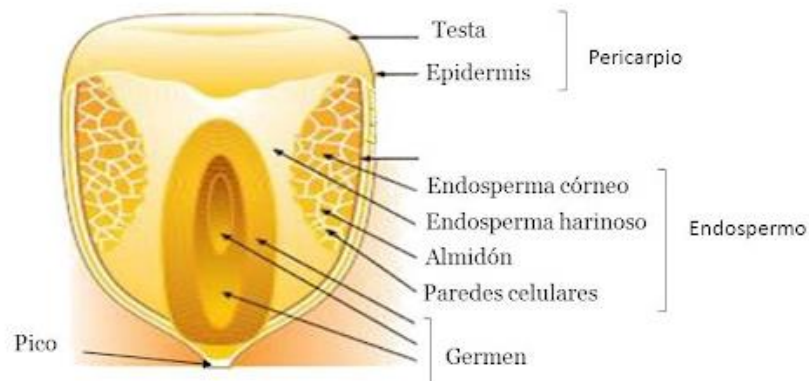
- *Zona del valle central de Tarija, con un aproximado de 10000 hectáreas totales de cultivo.*
- *Zona subandina, con un total de 21000 hectáreas de cultivos de maíz.*
- *Zona del Chaco con 46000 hectáreas de cultivo de maíz.*

En cuanto a los precios del mismo, los datos más actualizados demuestran que en 2021 el precio del quintal se encontraba en Bs. 65, pero para los principios del año 2022 era posible comprar un quintal en Bs. 95, cuando ingresó “algo” del grano de la última cosecha que se inició en marzo 2022, el precio bajó a unos Bs. 80.

2.4 El almidón

El almidón es uno de los componentes del grano de maíz, este se encuentra en el interior del grano una vez fragmentada la cubierta del mismo, esto se aprecia de mejor manera en la Figura 2-8, misma que muestra la estructura interna del grano de maíz.

Figura 2-8 Estructura del grano de maíz



Fuente: delMaiz.info, 2023

El almidón está realmente formado por una mezcla de dos sustancias, amilosa y amilopectina, que sólo difieren en su estructura: la forma en la que se unen las unidades de glucosa entre sí para formar las cadenas. Pero esto es determinante para sus propiedades. Así, la amilosa es soluble en agua y más fácilmente hidrolizable que la amilopectina (es más fácil romper su cadena para liberar las moléculas de glucosa).

La estructura del almidón es parecida a la de la celulosa, pero mientras el almidón es parte del alimento de muchos animales y se descompone fácilmente por acción de las enzimas digestivas, la celulosa es parte del tejido de sostén de las plantas y difícil de digerir, algo que la mayoría de los animales aprenden rápidamente.

El almidón se puede identificar fácilmente gracias a que la amilosa en presencia de yodo forma un compuesto azul estable a bajas temperaturas. (Gómez, 2003)

CAPÍTULO III
PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Selección del Proceso Tecnológico industrial

Existen tres opciones para llegar al producto deseado, estas tres son:

- Obtención de bioetanol vía enzimática.
- Obtención de bioetanol vía gasificación y síntesis (vía termoquímica).
- Obtención de bioetanol vía gasificación y fermentación (vía mixta).

Para seleccionar el proceso tecnológico que se va a seguir, es necesario elaborar una matriz de decisión que permita desarrollar los puntos a ser considerados para poder elegir un proceso.

Según criterio personal y tras analizar el contenido bibliográfico consultado se opta por tomar en cuenta los siguientes aspectos a considerar para cada método:

-Operación y control (25%). – Dentro de este aspecto se consideran aquellas variables de control del procedimiento en estos métodos, cómo se puede controlar las mismas, y la facilidad de operar cualquiera de estos tipos de proceso.

-Resultados obtenidos (20%). - Esto es la efectividad de los procesos de obtención de bioetanol, según los datos bibliográficos recabados, se puede contar con una idea de ciertas ventajas y desventajas al llevar a cabo estos métodos y con cuál es que se obtienen, si bien no resultados al cien por ciento efectivos, en cierto grado, mejores que con otros métodos.

-Presupuesto de ejecución (10%). – Un aspecto muy importante a la hora de seleccionar el método adecuado es el tema económico, por lo que se evalúa aquel proceso en el cual sea posible contar no solo con el presupuesto suficiente, sino también los equipos e insumos para una experiencia en laboratorio desarrollando el mismo.

Uso industrial (45%), sección de la selección del proceso dedicada específicamente al aspecto industrial de los procesos propuestos anteriormente. Este mismo se divide en:

-Disponibilidad de equipos (20%). – En la industria del bioetanol se tiene la facilidad de contar con ciertos equipos por sobre otros debido a la naturaleza del proceso seleccionado.

-Estudios del proceso (10%). – Este aspecto hace referencia a la cantidad de estudios, pruebas, material disponible y experiencias con cada uno de los métodos por los cuales es posible obtener el bioetanol.

-Nivel de preferencia (15%). – Es ponderado de acuerdo a la aplicación real de los métodos propuestos por sobre los otros, un aspecto que señala la preferencia a la hora de llevar a cabo el proceso de obtención de bioetanol por diversas facilidades y ventajas que estos presenten.

Con estos aspectos a ser considerados y las ponderaciones que se vieron convenientes asignar a cada uno de ellos por su grado de importancia a la hora de seleccionar un proceso, se elabora la Tabla III-1 la cual muestra la matriz de selección de proceso como se aprecia a continuación.

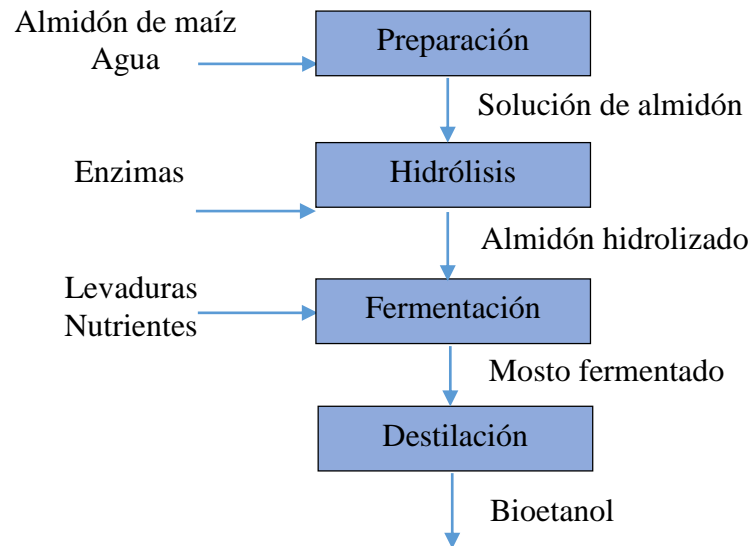
Tabla III-1: Matriz de selección de proceso

ASPECTOS CONSIDERADOS		VÍA		
		Enzimática	Termoquímica	Mixta
OPERACIÓN Y CONTROL (20%)		18	15	15
RESULTADOS OBTENIDOS (25%)		10	5	10
PRESUPUESTO DE EJECUCIÓN (10%)		8	3	3
USO INDUSTRIAL (45%)	Disponibilidad de equipos (20%)	18	15	15
	Estudios del proceso (10%)	10	5	5
	Nivel de preferencia (15%)	15	10	5
TOTAL (100%)		81	64	51

Fuente: Elaboración propia, 2021

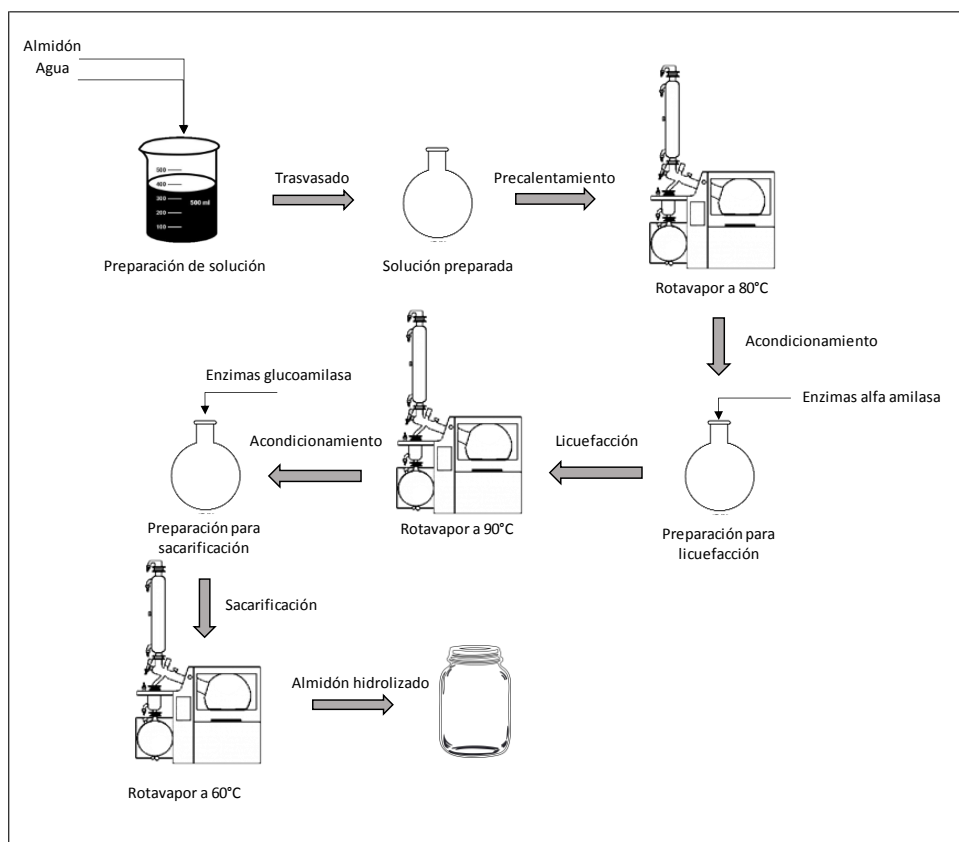
Una vez se ha seleccionado el proceso con mayor puntuación en la matriz, y según las consideraciones previas hechas en el marco teórico y la bibliografía obtenida, se procede a describir de manera más explícita la vía enzimática la cual resulta como el proceso seleccionado para llevar a cabo la obtención de bioetanol, un diagrama de bloques y uno de flujo se presentan en las Figuras 3-1 y 3-2.

Figura 3-1 Diagrama de bloques del proceso de obtención de bioetanol por la vía enzimática



Fuente: Elaboración propia (2021)

Figura 3-2 Proceso de hidrólisis enzimática del almidón de maíz

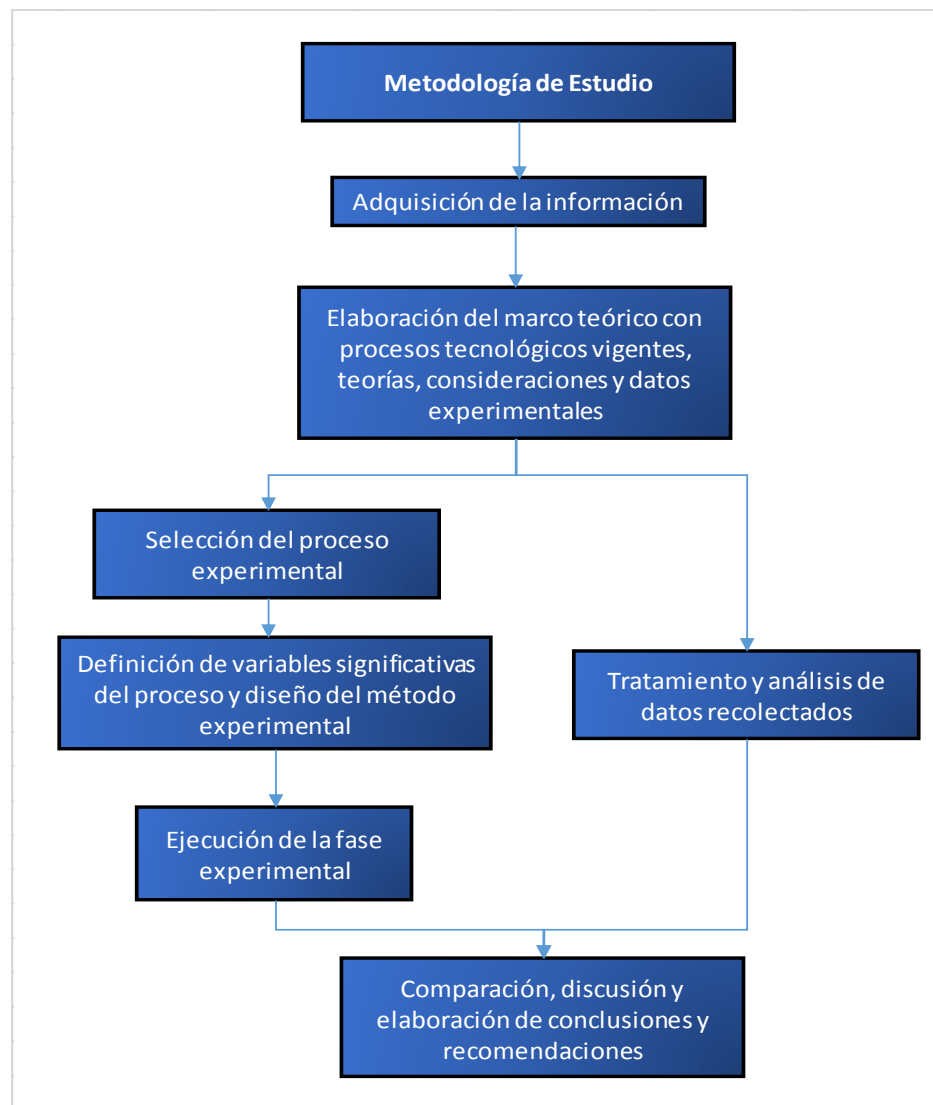


Fuente: Elaboración propia, 2022

3.2 Descripción conceptual de la metodología de estudio

Para conseguir alcanzar los objetivos propuestos para el presente proyecto, se tiene estructurada una metodología que se basa en el siguiente esquema, en la Figura 3-3, con los principales pasos a seguir y el orden respectivo de los mismos.

Figura 3-3 Metodología de estudio



Fuente: Elaboración propia, 2021

3.3 Caracterización del producto

El producto que se obtiene, en un nivel de producción industrial avanzado, es un alcohol etílico mejor conocido como “bioetanol” por su procedencia de un material orgánico, de un grado alcohólico de 96° GL, este es el máximo grado alcohólico posible de alcanzar dado el azeótropo que se forma mayormente a los 95,5° y porque este es el

grado alcohólico que se obtiene al aplicar una destilación sea simple o fraccionada sin el paso de la deshidratación del alcohol obtenido. En el presente trabajo se verifica mediante una medición del grado alcohólico final obtenido en el mosto fermentado, antes de separar el bioetanol del mismo, el cual es igual a 10°GL y al finalizar la destilación, con las condiciones que se tienen en el Laboratorio de Operaciones Unitarias, lugar donde se desarrolló la experimentación, se alcanza un total de 70°GL.

3.4 Diseño del Método experimental seleccionado

El método experimental es de operación similar al descrito en una operación industrial a diferencia de que se ha adaptado del mismo para llevarse a cabo en un ambiente de laboratorio.

Se comienza con una primera etapa de preparación del almidón de maíz donde se preparan soluciones a diferentes concentraciones del almidón en agua y se selecciona la concentración más apropiada de llevar a cabo la hidrólisis, si por contacto directo o en baño María mediante pruebas preliminares para este fin.

3.4.1 Prueba preliminar para concentración de almidón y tipo de calentamiento para la hidrólisis

Para esta prueba se tuvo como objetivos el hallar la concentración de almidón necesaria para trabajar de mejor manera y hallar el mejor tipo de calentamiento para llevar a cabo la hidrólisis; esto ya que al tener una concentración alta de almidón este se gelatiniza e imposibilita el llevar a cabo la fermentación de manera adecuada y el tipo de calentamiento permite alcanzar mayores o menores temperaturas con un mejor control de las mismas según el caso.

Con estos objetivos, se comenzó por la concentración de almidón llevando a cabo tres ensayos, cada uno de ellos con diferentes concentraciones masa/masa de almidón (m/m). Estos son 15% m/m, 10% m/m y 5% m/m.

De estos tres ensayos se concluye que el mejor es el ensayo con una concentración 15% m/m, en el caso de las preparaciones de almidón de concentración 10 y 5% m/m son demasiado ligeras para trabajar con las mismas, se pudo constatar que, para el rango de temperaturas entre 75°C y 85°C, aproximadamente, se da el fenómeno de gelatinización de las preparaciones.

Para el caso del tipo de calentamiento se ensayó con las preparaciones de 5% m/m por la facilidad de trabajo con la misma, ensayando el calentamiento en contacto directo con un calentador, y mediante baño María con el correspondiente equipo.

La manera en la cual se determinó cuál de estos tipos de calentamiento es el apropiado se realizó mediante un ensayo de hidrólisis para ambos casos, se tomó las muestras y mediante un análisis de azúcares reductores se obtiene el dato del mejor ensayo según el porcentaje más alto de azúcares reductores obtenido.

Se realizó una repetición a la misma concentración y con los mismos equipos, sin embargo, en esta prueba se optó por agregar una masa de enzima tres veces mayor a modo de ensayo. Los resultados se aprecian en la Tabla III-2.

Tabla III-2: Resultado de análisis para prueba de tipo de calentamiento

BAÑO MARÍA			CONTACTO DIRECTO		
Masa de enzima	Temperatura	% Azúcares reductores*	Masa de enzima	Temperatura	% Azúcares reductores*
0,1 g/l	80	0,34	0,1 g/l	90	0,23
0,3 g/l	80	1,15	0,3 g/l	90	0,92

Fuente: CEANID, 2022

**Los resultados de azúcares reductores son valores según los análisis realizados por el CEANID a las muestras proporcionadas.*

Se concluye esta prueba con las siguientes observaciones:

-Para llevar a cabo la hidrólisis es conveniente trabajar con baño María debido a que en este se presenta menos gelatinización en comparación con el contacto directo.

-Las temperaturas que se alcanzan en baño María son menores a comparación de las de contacto directo, sin embargo, estas se pueden controlar de mejor manera trabajando con baño María frente al contacto directo.

-El porcentaje de azúcares reductores es mayor trabajando con baño María.

-Al triplicar la masa de enzima se da un aumento en el porcentaje de azúcares reductores obtenidos.

Una vez que se ha obtenido estos datos, se procede a la selección de las variables que se estudiarán en el proceso de obtención del bioetanol. Para este fin se toman las recomendaciones de Miranda & Molina (2015) para considerar el tiempo y temperatura de la hidrólisis, sin embargo, en la presente prueba queda demostrada la importancia de considerar una tercera variable como es el caso de la masa de enzima.

Con el objeto de determinar las concentraciones de masa de enzima adecuadas para el diseño factorial se ensaya con diferentes concentraciones tal y como se presenta en el apartado 3.4.2.

3.4.2 Prueba preliminar para la selección de la concentración de masa de enzima para diseño factorial

Para realizar esta prueba, como en el punto 3.4.1 se demuestra la importancia de considerar la concentración de masa de enzima, se plantea ensayar las concentraciones adecuadas para el diseño factorial.

Se parte de la concentración de masa de enzima sugerida por el fabricante, la cual es de 0,1 g por cada litro de preparación (0,1 g/l), anteriormente se realizó el ensayo con

0,3 g/l de enzima, y en esta oportunidad se toman las concentraciones de 0,9 g/l, 1,5 g/l y 2,1 g/l.

Figura 3-4 Ensayos hidrolizados a diferentes concentraciones



Fuente: Elaboración propia, 2022

Finalizada la hidrólisis y para comprobar la efectividad de esta prueba, de igual manera que en la anterior, se solicita el análisis del porcentaje de azúcares reductores de cada muestra en el CEANID, estos resultados se presentan en la Tabla III-3.

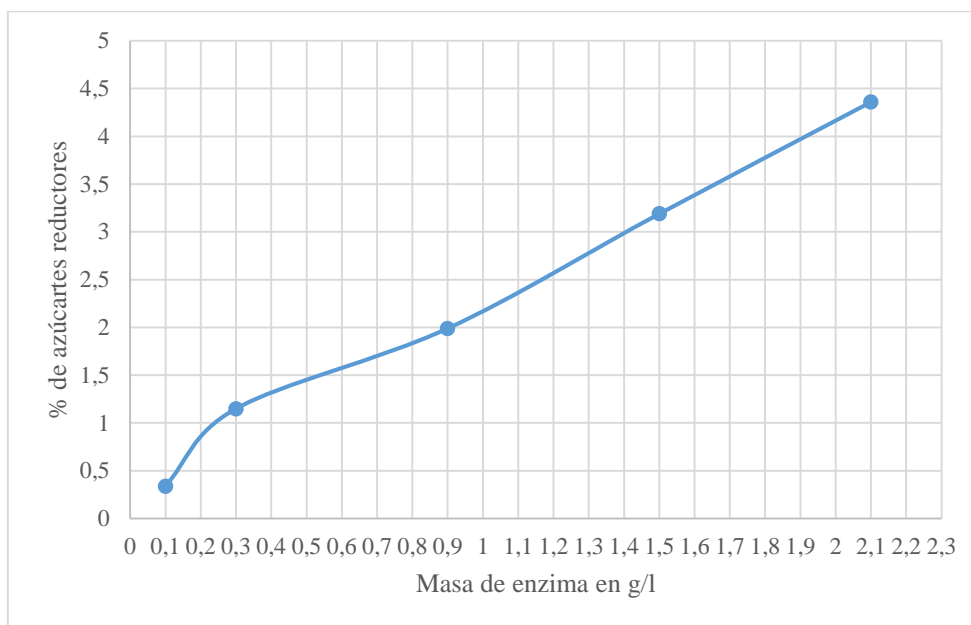
Tabla III-3: Resultados análisis de muestras

Ensayo	Masa de enzima	% Azúcares reductores
M1	0,9 g/l	1,99
M2	1,5 g/l	3,19
M3	2,1 g/l	4,36

Fuente: CEANID, 2022

A modo de ilustrar de mejor manera los resultados obtenidos se construye una curva de masa de enzima y porcentaje de azúcares reductores donde se aprecia que a mayor cantidad de enzima, mayor porcentaje de azúcares reductores según la Figura 3-5.

Figura 3-5 Azúcares reductores vs Concentración de enzima



Fuente: Elaboración propia, 2022

Como resultado de esta prueba se decide tomar la concentración de enzimas como variable parte del diseño factorial variando en las concentraciones de 1,5 y 2,1 g/l de enzima en la hidrólisis.

3.5 Diseño Experimental

Se tienen dos subprocesos como los principales del procedimiento en sí, estos dos son la hidrólisis y la fermentación. Dentro de estas existen variables que se tomarán como variables fijas, tales como la concentración de solución de almidón en 15% m/m, la temperatura y tiempo de **licuefacción** que quedan fijados en 90°C y 45 minutos, la temperatura de fermentación en 30°C que son algunos los parámetros recomendados según las pruebas realizadas para la hidrólisis de materiales amiláceos. (Molina & Miranda, 2015)

De esta manera, se analizan las variables tiempo y temperatura de **sacarificación** que, según los mismos autores, son las variables más significativas y que tienen suma importancia a la hora de obtener resultados y analizar los rendimientos tal y como se justifica y demuestra teóricamente en la sección 2.1.1.1 del Marco Teórico. Sin embargo, a esto se le añade una variable que mediante pruebas preliminares se determinó significativa, la cual es la concentración de enzimas, misma que incluye ambas enzimas dada la naturaleza de la hidrólisis enzimática donde la misma cantidad de alfa amilasa se agrega en glucoamilasa. Cabe señalar que, para la fermentación, existen una cantidad considerable de variables que, por la cantidad de las mismas, pueden dar origen a otro trabajo investigativo. Limitando el alcance del proyecto, se trabaja solo en la etapa de hidrólisis, más propiamente en la sacarificación del proceso, etapa que también puede denominarse **obtención de glucosa** por el resultado de este proceso, que es la formación de glucosa; sin embargo, con la finalidad de un manejo más técnico de las definiciones, se opta por llamar a esta etapa **sacarificación**, nombre comúnmente dado, según las diversas fuentes bibliográficas, a esta etapa de la hidrólisis.

Tomando en cuenta lo anteriormente señalado, el diseño factorial es de 3 factores, a 2 niveles cada uno, y con dos repeticiones nos da un igual de número de experimentos como sigue:

$$2^3 = 8 * 2 \text{ repeticiones} = 16 \text{ experimentos}$$

Las variables son: concentración de enzimas (g/l), tiempo de sacarificación (h) y temperatura de sacarificación (°C). Los niveles se demuestran a continuación:

Tabla III-4: Niveles de las variables para la fermentación

NIVEL	Temperatura de sacarificación (°C)	Tiempo de sacarificación (h)	Concentración de enzimas (g/l)
Inferior (-)	50	1,5	1,5
Superior (+)	60	2	2,1

Fuente: Elaboración propia, 2021

A continuación, se muestran las combinaciones de las variables en sus dos niveles a realizar además de la variable respuesta que se obtendrá como resultado de la experimentación con los respectivos niveles y variables:

Tabla III-5: Combinaciones de variables

N°	Temperatura de sacarificación (°C)	Tiempo de sacarificación (h)	Concentración de enzimas (g/l)	Grados Brix (°Bx)
1	+1	+1	+1	R1
2	+1	+1	-1	R2
3	+1	-1	+1	R3
4	+1	-1	-1	R4
5	-1	+1	+1	R5
6	-1	+1	-1	R6
7	-1	-1	+1	R7
8	-1	-1	-1	R8
9	+1	+1	+1	R9
10	+1	+1	-1	R10
11	+1	-1	+1	R11
12	+1	-1	-1	R12
13	-1	+1	+1	R13
14	-1	+1	-1	R14
15	-1	-1	+1	R15
16	-1	-1	-1	R16

Fuente: Elaboración propia, 2021

A continuación, en la Tabla III-6, se muestran las combinaciones con los valores ya definidos para cada variable y nivel anteriormente señalados y justificados.

Tabla III-6: Combinaciones de niveles y variables

N°	Temperatura de sacarificación (°C)	Tiempo de sacarificación (h)	Concentración de enzimas (g/l)	Grados Brix (°Bx)
1	60	2	2,1	R1
2	60	2	1,5	R2
3	60	1,5	2,1	R3
4	60	1,5	1,5	R4
5	50	2	2,1	R5
6	50	2	1,5	R6
7	50	1,5	2,1	R7
8	50	1,5	1,5	R8
9	60	2	2,1	R9
10	60	2	1,5	R10
11	60	1,5	2,1	R11
12	60	1,5	1,5	R12
13	50	2	2,1	R13
14	50	2	1,5	R14
15	50	1,5	2,1	R15
16	50	1,5	1,5	R16

Fuente: Elaboración propia, 2021

3.6 Reactivos y sustancias empleadas

Cuadro III-1 Nómina de reactivos y sustancias utilizadas

REACTIVOS	SUSTANCIAS
Ácido Clorhídrico 25%	Agua destilada
Hidróxido de sodio 0,1 N	Alfa amilasa
Cloruro de calcio	Glucosa amilasa
	Saccharomyces cerevisiae (Levadura)
	Fosfato diamónico (Nutriente)

Fuente: Elaboración propia, 2022

3.7 Materiales empleados

Cuadro III-2 Materiales utilizados y necesarios

Material	Cantidad	Detalle
Baño María	1	Con termostato para control de temperatura
Frascos	16	De vidrio
Espátula	1	
Vaso de precipitado	3	De 500 ml
Probeta	3	De 100, 250 y 500 ml
pHmetro	1	
Balanza analítica	1	
Termómetro	1	De -10°C a 300°C
Varilla de vidrio	1	
Brixometro	1	De bolsillo
Refractómetro	1	Tipo Abbe
Gotero	1	
Papel filtro	1	Pliegue
Cocinilla a gas	1	GLP
Baldes plásticos	2	De polipropileno (PP) de 11 litros.
Olla de aluminio	1	Diámetro mayor al balde
Contenedor plástico	1	De 65 litros
Termostato	1	
Columna de destilación	1	Discontinua

Fuente: Elaboración propia, 2022

3.8 Proceso de hidrólisis

3.8.1 Preparación de la solución

La solución que se usa para los experimentos son soluciones de almidón al 15% m/m, lo cual en el apartado 3.4.1 queda justificado. Esta solución consta de 30 gramos de almidón por cada 200 ml de solución preparada según cálculo de concentración.

$$\frac{15 \text{ gramos de almidón}}{100 \text{ gramos de solución}} * \frac{200 \text{ ml de solución}}{1} * \frac{1 \text{ gramo de solución}}{1 \text{ ml de solución}} = 30 \text{ gramos de almidón}$$

Estos 30 gramos de almidón son pesados en una balanza analítica y a ésta se le agrega una cantidad de 170 ml de agua medidos previamente en una probeta de 500 ml.

Dada la naturaleza del almidón este es insoluble en agua a temperatura ambiente (Alvis, Vélez, & Rada-Mendoza, 2008) se necesita de un calentamiento hasta unos 70°C aproximadamente, temperatura cercana a la experimental de gelatinización del almidón de maíz.

Figura 3-6 Almidón pesado y preparado



Fuente: Elaboración propia, 2022

A este punto es necesario tomar una muestra de la solución, enfriarla a 20°C y tomar el pH de la misma, el cual está cercano a los 4,5 ya que este es un pH normal del almidón, y llevar el mismo hasta un rango de 5 a 7, siendo el óptimo 6,5 con el fin de dar inicio a la siguiente etapa de la hidrólisis, la licuefacción.

Figura 3-7 Medición inicial y pH estabilizado

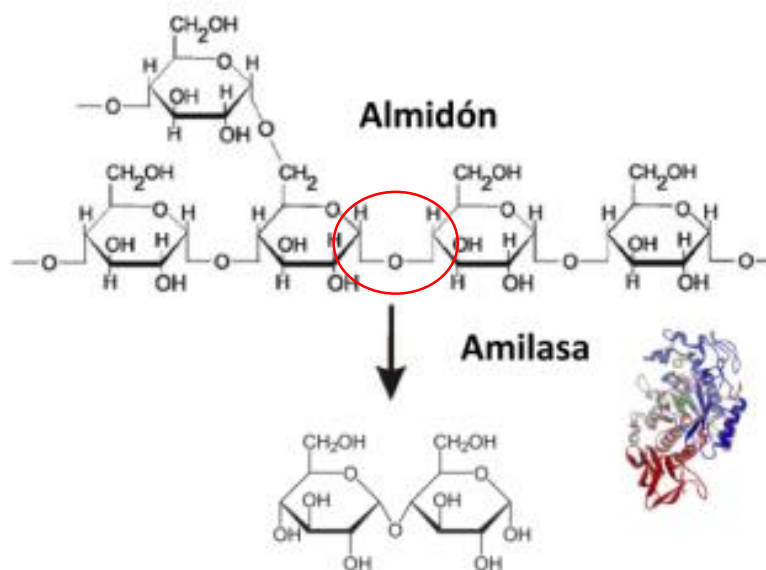


Fuente: Elaboración propia, 2022

3.8.2 Licuefacción

Esta etapa, que también es conocida como dextrinización, consiste en la adición de la enzima alfa amilasa cuya función es la de hidrolizar los enlaces glucosídicos alfa 1-4 de las moléculas de almidón presentes en la solución.

Figura 3-8 Hidrólisis de los enlaces alfa 1-4



Fuente: Olea, 2015

Para dar lugar a esta etapa es necesario utilizar un cofactor enzimático el cual viene siendo el cloruro de calcio (CaCl_2), que puede considerarse una molécula auxiliar necesaria para la actividad catalítica de la enzima, este es agregado en una concentración de 40 ppm antes de ser agregada la enzima.

La preparación de la enzima se realiza primeramente con su pesado, de acuerdo al diseño factorial, sea 1,5 g/l o bien 2,1 g/l para posteriormente diluir la misma en diez veces su peso en agua hervida fría.

$$\frac{1,5 \text{ gramos de enzima}}{1000 \text{ ml}} * \frac{300 \text{ ml}}{1} = 0,45 \text{ gramos de enzima}$$

$$\frac{2,1 \text{ gramos de enzima}}{1000 \text{ ml}} * \frac{300 \text{ ml}}{1} = 0,63 \text{ gramos de enzima}$$

Se procede a diluir los mismos en agua corresponde a 4,5 ml de agua para el primero y 6,3 ml de agua.

Una vez preparados los mismos, se procede a agregar las enzimas a los recipientes que contienen el almidón cuidando de guardar agitación constante. Cuando estos llegan a los 90°C y por un espacio de 45 minutos que son la temperatura y tiempo de licuefacción recomendados según Miranda & Molina, 2015 se lleva a cabo esta primera parte de la hidrólisis.

Figura 3-9 Adición de alfa amilasa y licuefacción



Fuente: Elaboración propia, 2022

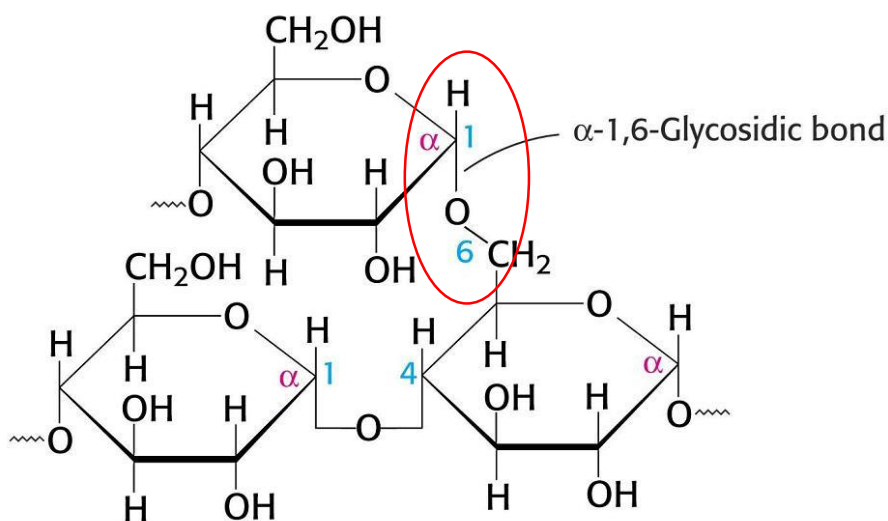
El proceso de licuefacción finaliza cuando se agrega HCl hasta pH 4,5 con el objetivo de detener la primera etapa de la hidrólisis y desactivar la enzima alfa amilasa.

3.8.3 Obtención de glucosa

La obtención de glucosa se da por una etapa conocida como sacarificación, ésta se inicia una vez que se haya enfriado la solución anterior hasta los niveles 50°C y 60°C según corresponda. A esta temperatura se preparan las enzimas glucoamilasa, en las mismas cantidades anteriormente señaladas en el apartado 3.8.2.

La función de la enzima glucoamilasa es hidrolizar los enlaces glucosídicos 1-6 de las moléculas de almidón previamente hidrolizado en α -1,4, este hecho se aprecia de mejor manera en la siguiente figura.

Figura 3-10 Hidrólisis de enlaces alfa 1-6



Fuente: Estructura de Macromoléculas Virtual. J. Sancho, s.f.

Cuando la temperatura alcanza los 50°C o 60°C se controla las temperaturas y el tiempo de permanencia según el nivel, así sea 1,5 h o 2 h según corresponda. Este proceso culmina una vez transcurrido el tiempo señalado.

Figura 3-11 Pesado y preparación de glucoamilasa



Fuente: Elaboración propia, 2022

Transcurrido el tiempo de sacarificación se enfrasca el almidón hidrolizado y se procede a la lectura de los grados Brix ($^{\circ}\text{Bx}$) obtenidos en las muestras, esto con la ayuda de un brixómetro y un refractómetro ABBE según el procedimiento señalado en el Anexo 7.

Figura 3-12 Trasvasado y envasado



Fuente: Elaboración propia, 2022

Figura 3-12 Muestra tomada y medición de grados Brix



Fuente: Elaboración propia, 2022

Posteriormente se envían las muestras al Centro de Análisis de Investigación y Desarrollo (CEANID) dependiente de la Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho para el análisis de las muestras obtenidas

con la finalidad de obtener resultados de los análisis de azúcares reductores medidos en las muestras ya hidrolizadas.

3.9 Proceso de fermentación

Una vez obtenidos los resultados de los análisis, los cuales figuran en el apartado de Resultados y discusión, se da la selección del experimento con el mejor resultado en cuanto a los análisis y mediciones realizadas para proceder a la fermentación a mayor escala con el experimento que presente un porcentaje más alto de azúcares presentes, los cuales son nuestra materia prima para obtener el alcohol etílico tal como se describe en la sección de fermentación del marco teórico.

Para esto se comienza por la etapa de hidrólisis a mayor escala que la aplicada anteriormente, esto es con una cantidad de 10 litros donde serán necesarios 1500 gramos de almidón para esta cantidad de agua y de esta manera obtener una solución al 15% m/m (porcentaje masa/masa) de almidón.

Figura 3-13 Pesado del almidón de maíz



Fuente: Elaboración propia, 2022

Figura 3-14 Preparación de la solución de almidón



Fuente: Elaboración propia, 2022

Para la acción de las enzimas α -amilasa es necesario que el medio, además de contar con la temperatura adecuada de 80°C a 90°C , debe, de igual manera, contar con un pH entre 5,5-6,5. Una vez que está el medio alcalinizado, se agrega 40 ppm del CaCl_2 como cofactor de la enzima alfa amilasa y se agrega la misma cuando ya se ha alcanzado el rango de temperatura de acción de la misma.

Figura 3-15 Adición del CaCl_2 y enzima alfa amilasa



Fuente: Elaboración propia, 2022

Este procedimiento es aplicado de la misma manera para el proceso de obtención de glucosa hasta que se alcanza el tiempo definido según los niveles de las variables dado que el tiempo de sacarificación es una de las variables seleccionadas.

En este punto se da fin con los ensayos a la hidrólisis enzimática, y se selecciona el ensayo, con su respectiva repetición, en el cual los grados Brix medidos sean los más favorables a la hidrólisis para poder ser escalados a un ensayo a mayor escala para proceder con su fermentación y destilación.

3.9.1 Preparación de las levaduras

Las levaduras utilizadas, para la presente investigación, son, como bien se señaló anteriormente, *Saccharomyces cerevisiae* en una concentración de 1 g/l, haciendo un total de 10 gramos para los diez litros, las mismas se inoculan preparándolas con 100 ml de agua tibia, a una temperatura de 38°C aproximadamente, la levadura pesada y 10 gramos de sacarosa durante un tiempo de 20 a 30 minutos.

Figura 3-16 Levaduras, sacarosa y agua



Fuente: Elaboración propia, 2022

Figura 3-17 Inicio y final de levaduras inoculadas



Fuente: Elaboración propia, 2022

Posteriormente se agregó la levadura juntamente con los nutrientes, que en este caso se usó fosfato diamónico, al bioreactor para iniciar la fermentación. Estos son ingresados en un contenedor plástico y sumergidos parcialmente en agua.

Figura 3-18 Biorreactor armado



Fuente: Elaboración propia, 2022

Dada la naturaleza anaeróbica de la fermentación alcohólica, se procede con el cierre de los baldes plásticos y se brinda una vía de escape y captura del CO₂ producto de la fermentación.

El montaje del biorreactor cuenta con la adición de un termostato marca LAUDA el cual garantiza la permanencia de aproximadamente 28°C a 30°C para una fermentación en las condiciones necesarias para el correcto desarrollo de las levaduras en el mosto a fermentar.

La fermentación es monitoreada con el control de grados Brix, grados Baumé y pH con la finalidad de tener una curva de tiempo de fermentación del almidón hidrolizado y poder optimizar el mismo según los datos recolectados.

Figura 3-19 Mosto fermentado y cargado de reboiler



Fuente: Elaboración propia, 2022

Transcurridos un total de 8 días, como promedio, se detiene la fermentación, se trasvasa el mosto fermentado al reboiler de la columna de destilación para proceder a la obtención del producto final.

3.10 Proceso de destilación

El proceso de destilación se da en una torre de destilación discontinua propia del Laboratorio de Operaciones Unitarias (LOU) de la Universidad Autónoma Juan Misael

Saracho (UAJMS). Se tomó en cuenta la destilación del metanol, el cual se destila a una temperatura de $64,7^{\circ}\text{C}$ a 65°C , según datos teóricos, sin embargo, en la práctica, y debido a la naturaleza del equipo utilizado para la presente fase, se tiene que la primera gota de condensado se presentó a los $73,4^{\circ}\text{C}$. Según los datos bibliográficos, es recomendado separar la primera porción del destilado debido a que en esta salen los componentes más livianos como bien pueden ser acetonas, metanol y demás ésteres indeseables, por lo que, a fin de separar estos componentes, se separa la fracción obtenida entre los $73,4^{\circ}\text{C}$ y 80°C los cuales representan aproximadamente un 5% del destilado total y se la nombra “cabeza”.

Se parte con una concentración de 10°GL medidos según se señala en el Anexo 8 se agrega el mosto fermentado y se procede a la destilación.

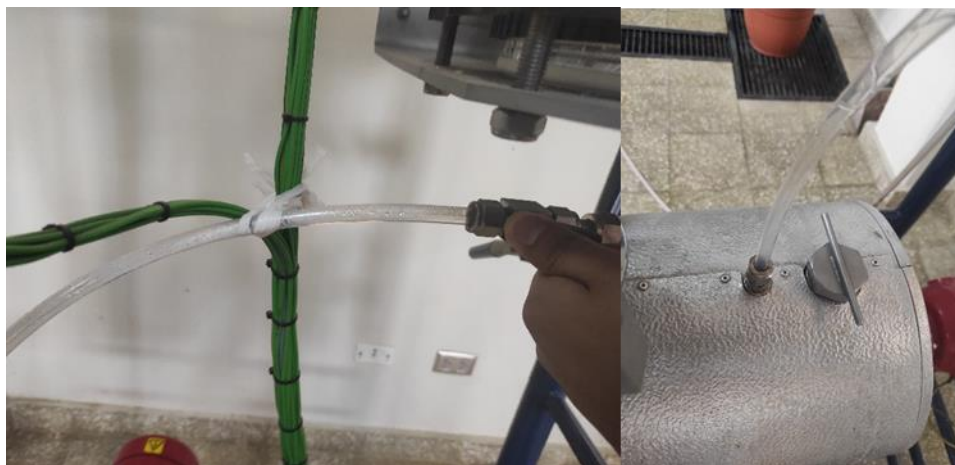
Figura 3-20 Torre de destilación



Fuente: Elaboración propia, 2022

La destilación se llevó a cabo por un espacio de aproximadamente 4 horas con un caudal de refrigeración de 4400 cc/min, y se procedió a recircular el destilado a fin de aumentar la concentración de etanol en el producto final. La fracción de etanol llamada “cuerpo” comprende el etanol obtenido entre los 80,6 °C y 90,3°C.

Figura 3-21 Recirculación de destilado



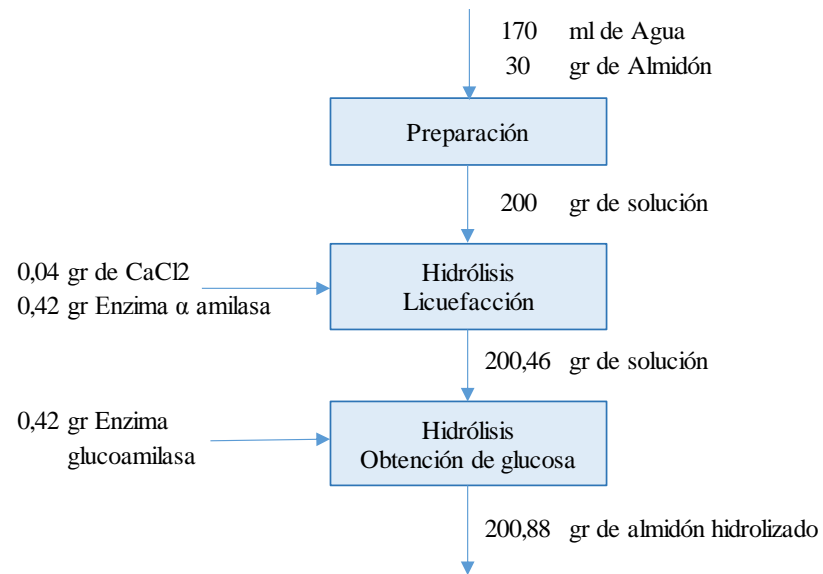
Fuente: Elaboración propia, 2022

Al finalizar la destilación, y después de continuar por aproximadamente 1 hora y 30 minutos más, se da por finalizada la destilación con la última fracción del destilado conocida como “cola” comprendida entre los 90,3 y 95°C. Los resultados se presentan en el siguiente capítulo del presente trabajo.

3.11 Balance de Materia y Energía

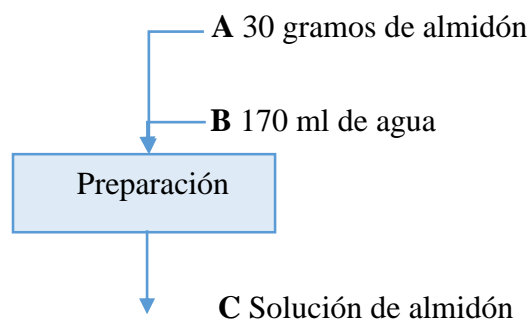
A continuación, se presentan los balances de materia y energía, tanto general como parcial, para el proceso en el cual se obtienen las muestras para el posterior análisis. Estas muestras son de un volumen igual a 200 ml.

3.11.1 Balance general de materia para el proceso experimental



3.11.2 Balance parcial de materia para el proceso experimental

3.11.2.1 Preparación de solución



$$A + B = C$$

$$C = A + B \quad (1)$$

$$B = V \text{ (ml)} * \rho \text{ (g/ml)}$$

$$B = 170 \text{ ml} * (1 \text{ gr/1 ml})$$

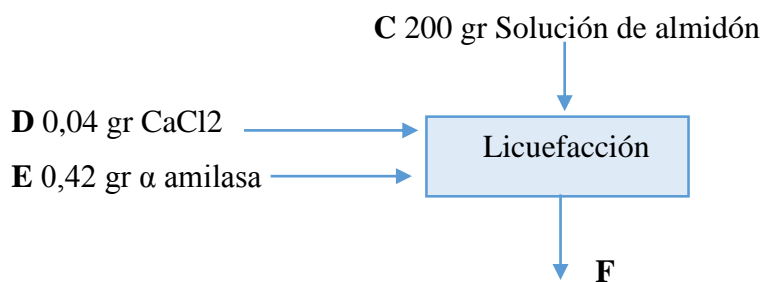
$$B = 170 \text{ gr}$$

Reemplazando B en (1):

$$C = 30 \text{ gr} + 170 \text{ gr} = 200 \text{ gr}$$

$$C = 200 \text{ gr}$$

3.11.2.2 Licuefacción

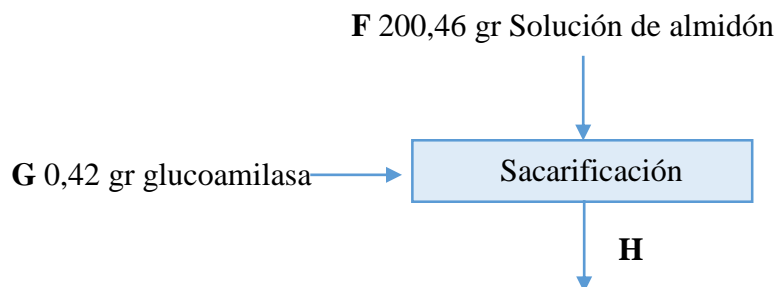


$$C + D + E = F$$

$$F = 200 \text{ gr} + 0,04 \text{ gr} + 0,42 \text{ gr} = 200,46 \text{ gr}$$

$$F = 230,46 \text{ gr}$$

3.11.2.3 Obtención de glucosa



$$F + G = H$$

$$H = 200,46 \text{ gr} + 0,42 \text{ gr}$$

$$H = 200,88 \text{ gr (masa total entregada para análisis)}$$

3.11.3 Estimación de balance de energía

3.11.3.1 Balance para el proceso de hidrólisis

Para este proceso es necesario tomar en cuenta el baño María aplicado a la solución de almidón con la finalidad de hidrolizar el mismo. Se toma en cuenta el intercambio de calor que se da entre el baño María y la solución bajo la siguiente ecuación:

$$Q_{sensible} = m_{agua\ baño\ María} * Cp * (T_{hidrólisis-1} - T_{inicial})$$

Donde:

- $Q_{sensible-1}$: Calor necesario para el cambio de temperatura para la licuefacción.
- $m_{agua\ baño\ María}$: Masa de agua del baño María.
- Cp : Calor específico del agua
- $T_{hidrólisis-1}$: Temperatura a la que se lleva a cabo la licuefacción.
- $T_{inicial}$: Temperatura inicial del baño María

Reemplazando:

$$m_{agua\ baño\ María} = 25\ litros = 25\ kg$$

$$Cp = 1\ kcal/kg^{\circ}C$$

$$T_{hidrólisis-1} = 85^{\circ}C$$

$$T_{inicial} = 18^{\circ}C$$

$$Q_{sensible-1} = 25\ kg * 1\ \frac{Kcal}{kg^{\circ}C} * (85^{\circ}C - 18^{\circ}C)$$

$$Q_{sensible-1} = 1675\ Kcal$$

Cálculo de la potencia térmica de la hornalla a GLP:

$$P = \frac{Q_{sensible}}{t_{hidrólisis-1}}$$

Donde:

- P_1 : Potencia de la hornalla.
- $Q_{sensible}$: Calor sensible.
- $t_{hidrólisis-1}$: Tiempo de licuefacción.

Reemplazando:

$$P_1 = \frac{1675 \text{ Kcal}}{45 \text{ min} * \frac{1 \text{ h}}{60 \text{ min}}}$$

$$P_1 = 2233,33 \text{ Kcal/h}$$

Se procede de igual manera para el cálculo de la sacarificación:

Reemplazando:

$m_{\text{agua baño María}} = 25 \text{ litros} = 25 \text{ kg}$

$C_p = 1 \text{ kcal/kg}^\circ\text{C}$

$T_{hidrólisis-2} = 60^\circ\text{C}$

$T_{inicial} = 50^\circ\text{C}$

$$Q_{sensible-2} = 25 \text{ kg} * 1 \frac{\text{Kcal}}{\text{kg}^\circ\text{C}} * (60^\circ\text{C} - 50^\circ\text{C})$$

$$Q_{sensible-2} = 250 \text{ Kcal}$$

Cálculo de la potencia térmica de la hornalla a GLP:

$$P = \frac{Q_{sensible}}{t_{hidrólisis-1}}$$

Donde:

- P_2 : Potencia de la hornalla.
- $Q_{sensible-2}$: Calor sensible.
- $t_{hidrólisis-2}$: Tiempo de sacarificación

Reemplazando:

$$P_2 = \frac{1675 \text{ Kcal}}{120 \text{ min} * \frac{1 \text{ h}}{60 \text{ min}}}$$

$$P_2 = 837,5 \text{ Kcal/h}$$

Potencia total de la hornalla:

$$PT = P_1 + P_2$$

$$PT = 2233,33 \frac{\text{Kcal}}{\text{h}} + 837,5 \frac{\text{Kcal}}{\text{h}}$$

$$**PT = 3070,83 \frac{\text{Kcal}}{\text{h}}**$$

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados del proceso de hidrólisis

Los resultados del proceso de hidrólisis, según el diseño factorial propuesto, son los grados Brix alcanzados (°Bx) en las mediciones realizadas, que se llevaron a cabo siguiendo el procedimiento descrito en el Anexo 7 para una mayor seguridad de los resultados obtenidos plasmados en la Tabla IV-1.

Tabla 0-1: Variable respuesta de cada ensayo

N°	Temperatura de sacarificación (°C)	Tiempo de sacarificación (h)	Concentración de enzimas (g/l)	Grados Brix (°Bx)	
				1ra Réplica	2da Réplica
1	60	2	2,1	11	10
2	60	2	1,5	8,4	8
3	60	1,5	2,1	10,5	9,8
4	60	1,5	1,5	9,2	9
5	50	2	2,1	9	8,8
6	50	2	1,5	9,1	9,4
7	50	1,5	2,1	8,5	8,4
8	50	1,5	1,5	8,4	8,6

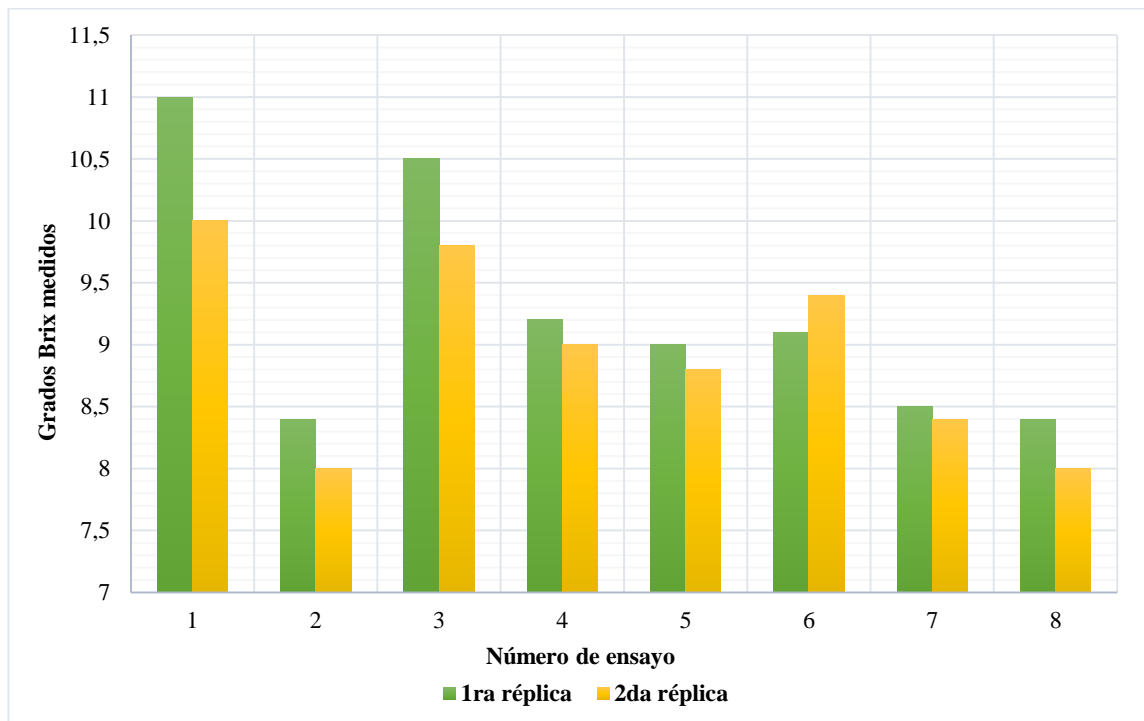
Fuente: Elaboración propia, 2022

Como se puede apreciar, los resultados medidos guardan cierta correspondencia entre los resultados de la primera experimentación: ensayos 1 al 8, y la segunda experimentación: ensayos 9 al 16. Estos resultados son analizados y discutidos a continuación.

4.2 Análisis del proceso de hidrólisis

Si se analizan los resultados obtenidos anteriormente presentados, estos varían de acuerdo a la interacción con las variables, tal es el caso para la temperatura de 60°C donde se puede apreciar en la Figura 4-1 que esta presenta picos en 3 de los 4 ensayos realizados con esta temperatura, no obstante, para el ensayo 2 se tiene un descenso significativo pudiendo bien ser este una anomalía en el ensayo por alguna interferencia en la hidrólisis del almidón. Por parte del tiempo no se tiene una clara diferencia entre los niveles seleccionados, muy probablemente debido a la mínima diferencia entre ambos niveles. Para el caso de la concentración de enzimas destacan aquellos ensayos donde se trabaja con una mayor cantidad de enzima a comparación de los que trabajan con un nivel inferior de concentración de enzimas.

Figura 4-1 Análisis de grados Brix por ensayo



Fuente: Elaboración propia, 2022

Como se indicó anteriormente, se puede apreciar un descenso significativo al cambiar las variables masa de enzima y temperatura de sacarificación, esto se explica puesto que tal y como Miranda & Molina (2015) sugieren, la temperatura óptima de sacarificación es de 60°C, a una temperatura menor el grado de hidrólisis es menor así se tenga más o menos enzima.

Como podemos comprobar, los valores obtenidos más altos corresponden a los ensayos 1 como su réplica, el ensayo 9 por lo que se seleccionan para realizar la verificación mediante un análisis de azúcares reductores.

Tabla IV-2 Resultados análisis % azúcares reductores (%AR)

	ENSAYO 1	ENSAYO 9 (RÉPLICA)
% AR	4,53	4,61

Fuente: CEANID, 2022. Elaboración propia, 2022

Dado que se hallan porcentajes cercanos, en cuanto a los azúcares reductores, los cuales son potencialmente fermentables, se opta por repetir estas condiciones en el ensayo a mayor escala.

Para conocer la cantidad de glucosa presente, a modo de conocer la cantidad de etanol que es posible obtener, se realiza el correspondiente cálculo:

-Partiendo del porcentaje de azúcares reductores obtenidos en el ensayo 1 y 9, los cuales son igual al 4,53% y 4,61% se promedia:

$$Prom \%AR = \frac{4,53\% + 4,61\%}{2} = 4,57\%$$

-Por lo tanto, se tiene:

4,57 gramos de azúcares reductores por cada 100 gramos de solución hidrolizada

-Partiendo de los grados Brix medidos, los cuales son 11°Bx y 10°Bx, se promedia:

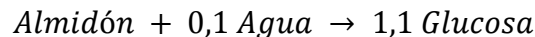
$$Prom \text{ } ^\circ Bx = \frac{11^\circ + 10^\circ}{2} = 10,5 \text{ } ^\circ Bx$$

-Por lo tanto, se tiene:

10,5 gramos de "azúcar" por cada 100 gramos de solución hidrolizada

De estos dos valores tomados, los grados Brix presentan el inconveniente de que cualquier sólido en suspensión puede elevar su valor, sin embargo, por la operación de separación mediante centrifugación, se separa cualquier interferencia a la medición, no obstante, el valor medido bien puede ser algún azúcar solubilizado que no necesariamente sea reductor, es decir, que no produzca etanol posterior a la fermentación de los mismos. Por este motivo, se toma el porcentaje de azúcares reductores como el más indicado para tener una apreciación real de la cantidad de azúcares obtenidos producto de la hidrólisis.

Para el cálculo del contenido teórico de glucosa se utiliza la siguiente relación, este mecanismo de reacción se explica de manera más explícita en el Anexo 10:



De esto se calcula la cantidad de glucosa que se obtiene con la hidrólisis según lo siguiente.

Partiendo de 1500 gramos de almidón se tiene:

$$1500 \text{ gr} * 1,1 = 1650 \text{ gr de glucosa}$$

$$m_{Gluc} = 1650 \text{ gr de glucosa}$$

4.3 Resultados del proceso de fermentación

Durante el proceso de fermentación fueron tomadas mediciones para controlar el avance de la misma, estas mediciones corresponden a los grados Brix ($^{\circ}\text{Bx}$), grados Baumé ($^{\circ}\text{Be}$) y el pH.

En la siguiente tabla se detalla las mediciones realizadas para cada ensayo realizado en esta etapa del proceso.

Tabla IV-3 Resultados medición en fermentación tacho A

Medición	Tacho A		
	$^{\circ}\text{Bx}$	$^{\circ}\text{Be}$	pH
1	14,8	8,67	4,8
2	13,8	8,55	4,5
3	13,3	8,33	4,5
4	12,2	7,78	4
5	12,2	7,78	3,8
6	12	7,69	3,8
7	11,7	7,56	3,6
8	11,6	7,52	3,6
9	11,6	7,52	3,6
10	11,4	7,39	3,6
11	10,9	7,17	3,5
12	10,2	6,83	3,5
13	9,4	6,43	3,4
14	9,4	6,43	3,4

Fuente: Elaboración propia, 2022

Tabla IV-4 Resultados de fermentación tacho B

Medición	Tacho B		
	°Bx	°Be	pH
1	13,80	8,55	4,3
2	13,60	8,46	4
3	13,50	8,42	4
4	13,40	8,38	3,8
5	12,60	7,99	3,6
6	12,60	7,99	3,6
7	12,20	7,78	3,5
8	12,0	7,69	3,5
9	12,0	7,69	3,5
10	11,80	7,61	3,4
11	11,50	7,45	3,3
12	11,10	7,26	3,3
13	10,40	6,91	3,3
14	10,30	6,87	3,3

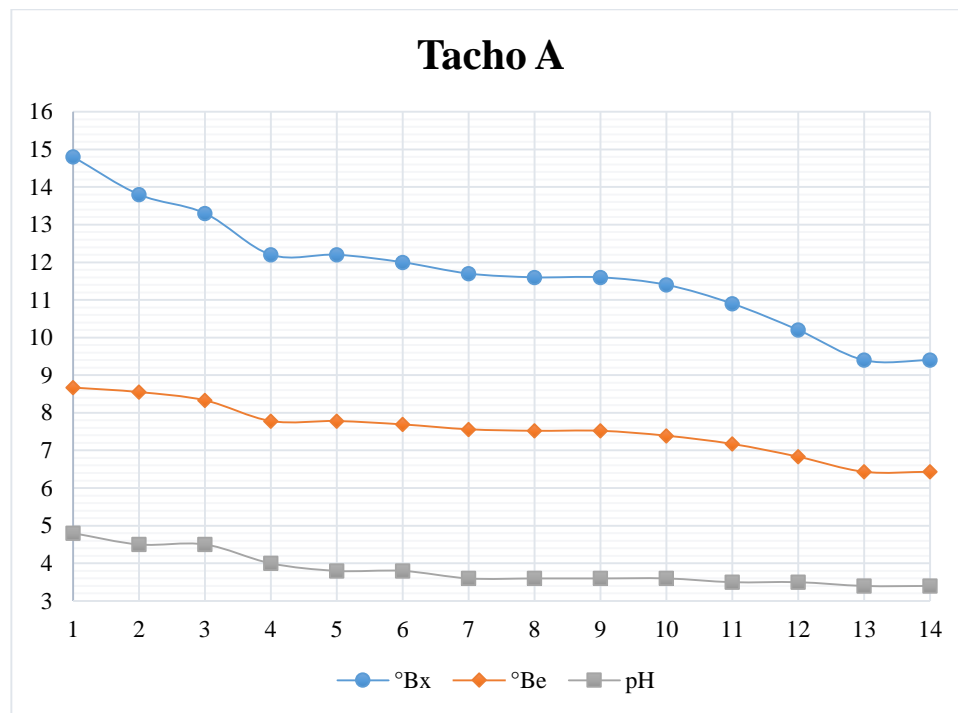
Fuente: Elaboración propia, 2022

4.4 Análisis del proceso de fermentación

Tal y como se puede apreciar en los cuadros anteriores, para el caso de los grados Brix estos descienden a medida que los días de fermentación avanzan, esto debido a la acción de las levaduras las cuales se alimentan de la glucosa obtenida por la hidrólisis del almidón para producir etanol y dióxido de carbono.

Para una mejor apreciación de los valores tomados, anteriormente, y de los comentarios vertidos al respecto, se compila los datos en curvas de fermentación con las variables mencionadas.

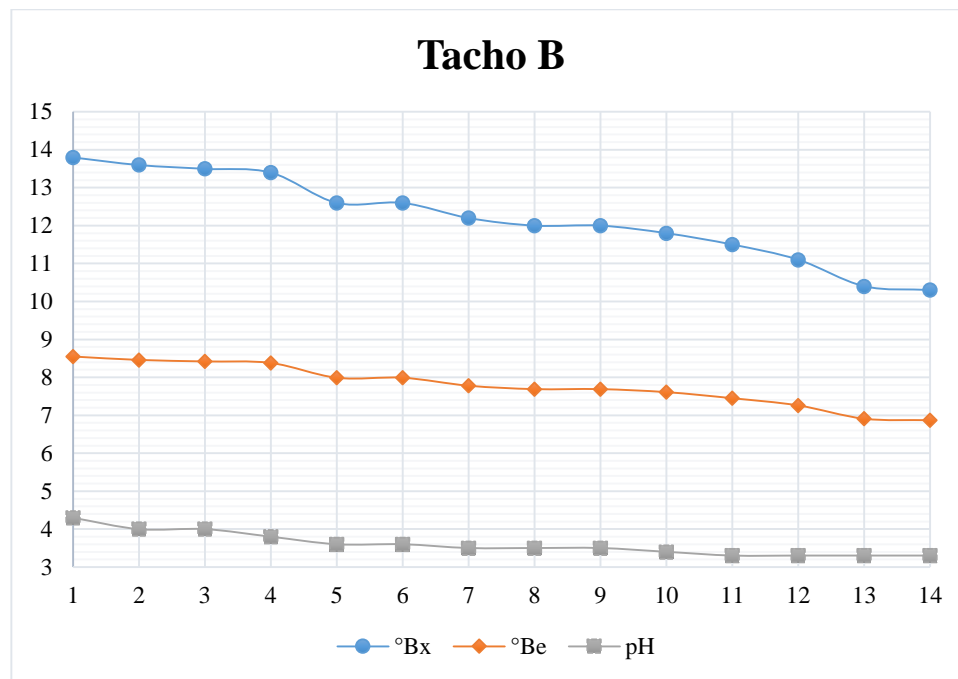
Figura 4-2 Curvas de fermentación tacho A



Fuente: Elaboración propia, 2022

Los grados Baumé van en descenso dado que la glucosa disuelta en la solución de almidón hidrolizado causa un aumento de la densidad relativa de la misma, a medida que la fermentación va en avance, el etanol formado, por su naturaleza, al tener una densidad menor que la del agua, causa la reducción del valor de los grados Baumé.

Figura 4-3 Curva de fermentación tacho B



Fuente: Elaboración propia, 2022

Por parte del pH este también presenta un descenso en las mediciones realizadas puesto que el medio en el cual se da la fermentación es un medio ligeramente ácido, aproximadamente un 4,5 a 4,8; sin embargo, el medio presenta una acidificación hasta pH de 3,4 a 3,3 aproximadamente.

4.4.1 Cálculo del rendimiento de conversión de los AR a etanol

Para el cálculo de este rendimiento se toma en cuenta la cantidad glucosa que se obtiene de 1500 gramos de almidón que como anteriormente se calculó esta es 1650 gr de glucosa, y la cantidad de etanol que es el grado alcohólico antes de iniciar la destilación, que es 10°GL.

Llevando los 10° GL a gramos, utilizando el valor de 0,789 gr/ml, que es la densidad del alcohol etílico, y el volumen de 10 litros (10000 ml) de preparación, tenemos:

$$m_{\text{etanol}} = \frac{10 \text{ ml etanol}}{100 \text{ ml}} * \frac{10000 \text{ ml}}{1 \text{ preparación}} * \frac{0,789 \text{ gr etanol}}{1 \text{ ml etanol}}$$

$$m_{\text{etanol}} = 789 \text{ gr etanol/preparación}$$

$$\eta_{\text{Et-Gluc}} = \frac{m_{\text{etanol}}}{m_{\text{Gluc}}}$$

$$\eta_{\text{Et-Gluc}} = \frac{789 \text{ gr etanol}}{1650 \text{ gr de glucosa}} * 100\%$$

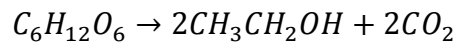
$$\eta_{\text{Et-Gluc}} = 47,34 \%$$

Donde:

$\eta_{\text{Et-Gluc}}$: Rendimiento en la obtención de etanol a partir de la glucosa obtenida.

4.4.2 Cálculo del rendimiento de etanol real y teórico

Para el cálculo del etanol teórico, se tiene la relación estequiométrica para obtener etanol a partir de glucosa. Se toman en cuenta los grados Brix medidos, los cuales nos indican la cantidad en gramos de glucosa disueltos en 100 gramos de solución:



Por: 180 gramos de glucosa tenemos 92 gramos de etanol

$$m_{\text{glucosa inicial}} = 1650 \text{ gr de glucosa}$$

$$m_{\text{Et Teo}} = \frac{1650 \text{ gr glucosa}}{1 \text{ preparación}} * \frac{92 \text{ gr etanol}}{180 \text{ gr glucosa}}$$

$$m_{\text{Et Teo}} = 843,33 \text{ gr etanol/preparación}$$

$$V_{\text{Et Teo}} = \frac{843,33 \text{ gr etanol}}{\text{preparación}} * \frac{1 \text{ ml etanol}}{0,789 \text{ gr etanol}}$$

$$V_{\text{Et Teo}} = 1068,86 \text{ ml etanol/preparación}$$

Llevamos el etanol obtenido (10°GL) a unidades de volumen, tomando en cuenta que al finalizar la fermentación el volumen total del mosto fermentando es igual a 9258 ml por las cantidades tomadas para muestreo de grados Brix y pérdida en el trasvasado a los bidones para almacenamiento:

$$V_{Et-sup Real} = \frac{10 \text{ ml etanol}}{100 \text{ ml}} * \frac{9258 \text{ ml}}{1 \text{ preparación}}$$

$$V_{Et-sup Real} = 925,8 \text{ ml etanol/preparación}$$

$$\eta_{Ferm} = \frac{V_{Et-sup Real}}{V_{Et Teo}} * 100\%$$

$$\eta_{Ferm} = \frac{925,8 \text{ ml etanol}}{1068,86 \text{ ml etanol}} * 100\%$$

$$\eta_{Ferm} = 86,62 \%$$

Este resultado es un **supuesto**, ya que cualquier componente volátil, producto de la fermentación siendo soluble en agua y con una densidad menor a esta, será leído al utilizar el alcoholímetro puesto que este no distingue el etanol de los demás compuestos debido a su principio de acción.

Para conocer a cabalidad las cantidades y el **rendimiento real de etanol** se da lugar a la destilación con los resultados presentados a continuación.

4.5 Resultados del proceso de destilación del mosto fermentado

La destilación del mosto fermentado se realizó en una columna de destilación discontinua, con las especificaciones que se mencionan en el Anexo 9.

Tabla IV-5 Resultados de las destilaciones realizadas

	N°	
	1	2
Mosto destilado (cm ³)	9610	9258
Producto de cabeza (cm ³)	32	34,6
Producto de cuerpo (cm ³)	153	182
Producto de cola (cm ³)	749	867
Grado alcohólico cuerpo (°GL)	62	70
Grado alcohólico cola (°GL)	35	46
Alcohol destilado total (cm ³)	357,01	526,22

Fuente: Elaboración propia, 2022

4.6 Análisis del proceso de destilación

El grado alcohólico alcanzado es útil para calcular el rendimiento del producto del procedimiento adoptado, es evidente que el bioetanol se obtiene a partir del almidón de maíz siguiendo la relación de etanol teórico, que es el que se debería de obtener, y el etanol real, que es el que se obtuvo, para calcular el rendimiento del proceso en general.

4.6.1 Cálculo del rendimiento de la destilación

Para este cálculo se parte de la relación anterior presentada para la cantidad de etanol teórico, esto es:

$$V_{Et\ Teo} = 1068,86 \text{ ml etanol/preparación}$$

Posterior a la destilación, se garantiza la separación del etanol real obtenido, el cual es:

°GL de cuerpo: 70°GL

Volumen: 182 ml

$$V_{\text{etanol-cuerpo}} = \frac{70 \text{ ml etanol}}{100 \text{ ml solución}} * \frac{182 \text{ ml solución}}{1}$$

$$V_{\text{etanol-cuerpo}} = 127,4 \text{ ml}$$

°GL de cola: 46°GL

Volumen: 867 ml

$$V_{\text{etanol-cola}} = \frac{46 \text{ ml etanol}}{100 \text{ ml solución}} * \frac{867 \text{ ml solución}}{1}$$

$$V_{\text{etanol-cuerpo}} = 398,82 \text{ ml etanol}$$

Volumen total de etanol obtenido:

$$V_{\text{etanol-total}} = V_{\text{etanol-cuerpo}} + V_{\text{etanol-cola}}$$

$$V_{\text{etanol-total}} = 127,4 \text{ ml} + 398,82 \text{ ml}$$

$$V_{\text{etanol-total}} = 526,22 \text{ ml}$$

$$\eta_{\text{Total}} = \frac{V_{\text{etanol-total}}}{V_{\text{Et Teo}}} * 100\%$$

$$\eta_{\text{Total}} = \frac{526,22 \text{ ml}}{1068,86 \text{ ml}} * 100\%$$

$$\eta_{\text{Total}} = 49,23\%$$

4.7 Análisis estadístico del diseño factorial

4.7.1 Análisis de varianza ANOVA del diseño factorial

Como parte del análisis de los resultados obtenidos, se realiza el análisis estadístico, en este caso un análisis de varianza (ANOVA por sus siglas en inglés) del diseño factorial propuesto.

Tabla IV-6 Diseño factorial y resultados

N°	Temperatura de sacarificación (°C)	Tiempo de sacarificación (h)	Concentración de enzimas (g/l)	Grados Brix (°Bx)
1	+1	+1	+1	11
2	+1	+1	-1	8,4
3	+1	-1	+1	10,5
4	+1	-1	-1	9,2
5	-1	+1	+1	9
6	-1	+1	-1	9,1
7	-1	-1	+1	8,5
8	-1	-1	-1	8,4
9	+1	+1	+1	10
10	+1	+1	-1	8
11	+1	-1	+1	9,8
12	+1	-1	-1	9
13	-1	+1	+1	8,8
14	-1	+1	-1	9,4
15	-1	-1	+1	8,4
16	-1	-1	-1	8,6

Fuente: Elaboración propia, 2022

Bajo recomendación del ingeniero Ignacio Velasquez Soza, profesor de la asignatura Diseño de Experimentos en la UAJMS, se opta por ingresar estos datos al programa IBM SPSS Statistics 23 en el cual se realiza el respectivo análisis de varianza donde con un nivel de confianza de 95%. Un intervalo de confianza de 95% nos indica que dentro del rango dado se encuentra el valor real de un parámetro con 95% de certeza, se tiene una cola de significación del 5% ($\alpha=0,05$) para la prueba de F de Fisher que el programa utiliza; por lo tanto, cualquier valor menor a 0,05 en la columna “Sig” indica si esta variable, o interacción, es significativa para el resultado.

La tabla IV-7 son los resultados obtenidos del análisis de varianza en el programa anteriormente mencionado, donde se puede observar, resaltado con letras rojas, las variables significativas del proceso.

Cuadro IV-1 Análisis de varianza para los resultados

Variable dependiente: GradosBrix					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	8,364a	6	1,394	9,796	,002
Intersección	1330,426	1	1330,426	9349,990	,000
Temperatura	1,891	1	1,891	13,287	,005
ConcEnzima	2,031	1	2,031	14,271	,004
Tiempo	,076	1	,076	,531	,485
Temperatura * ConcEnzima	3,331	1	3,331	23,407	,001
ConcEnzima * Tiempo	,181	1	,181	1,269	,289
Temperatura * Tiempo	,856	1	,856	6,013	,067
Error	1,281	9	,142		
Total	1340,070	16			
Total corregido	9,644	15			
a. R al cuadrado = ,867 (R al cuadrado ajustada = ,779)					

Fuente: SPSS 23, 2022

Como resultado de este análisis estadístico se puede concluir que las variables temperatura, concentración de enzima (ConcEnzima), y su interacción temperatura-concentración de enzima son significativas, por lo que se genera un nuevo análisis estadístico esta vez con estas variables e interacciones.

Cuadro IV-2 Análisis de varianza con variables significativas

Variable dependiente: GradosBrix					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	7,722a	3	2,574	11,733	,001
Intersección	1334,076	1	1334,076	6081,256	,000
Temperatura	2,031	1	2,031	9,256	,010
ConcEnzima	2,176	1	2,176	9,917	,008
TemperaturaConc Enzima	3,516	1	3,516	16,026	,002
Error	2,632	12	,219		
Total	1344,430	16			
Total corregido	10,354	15			
a. R al cuadrado = ,746 (R al cuadrado ajustada = ,682)					

Fuente: SPSS 23, 2022

4.7.2 Regresión lineal del diseño factorial

Para la regresión lineal, que es el tipo de análisis que nos va a permitir predecir el comportamiento de las variables, se toma en cuenta las variables significativas, siendo el resultado de este análisis la tabla IV-9.

Cuadro IV-3 Resultados regresión lineal

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.	95,0% intervalo de confianza para B	
	B	Error estándar	Beta			Límite inferior	Límite superior
(Constante)	9,131	,117		77,982	,000	8,876	9,386
Temperatura	,356	,117	,443	3,042	,010	,101	,611
ConcEnzima	,369	,117	,458	3,149	,008	,114	,624
TemperaturaConcEnzima	,469	,117	,583	4,003	,002	,214	,724
a. Variable dependiente: GradosBrix							

Fuente: SPSS 23, 2022

De estos resultados es posible predecir el comportamiento del modelo según los coeficientes calculados por el programa para cada una de las variables significativas del proceso, estos son:

- $Constante = 9,131$
- $Temperatura = 0,356$
- $ConcEnzima = 0,369$
- $TemperaturaConcEnzima = 0,469$

Lo que traducido a un modelo matemático queda de la siguiente manera:

$$^{\circ}Bx = 9,131 + 0,356 * (T) + 0,369 * \left(\frac{g}{l}\right) + 0,469 * (T) * \left(\frac{g}{l}\right)$$

De donde bien se puede interpretar que para un aumento en el resultado de grados Brix, a mayor temperatura, a mayor concentración de enzimas y la interacción de estas dos anteriormente mencionadas, mayor será la cantidad de grados Brix obtenidos.

A continuación, se presenta una tabla con los valores ajustados al modelo matemático y el error obtenido:

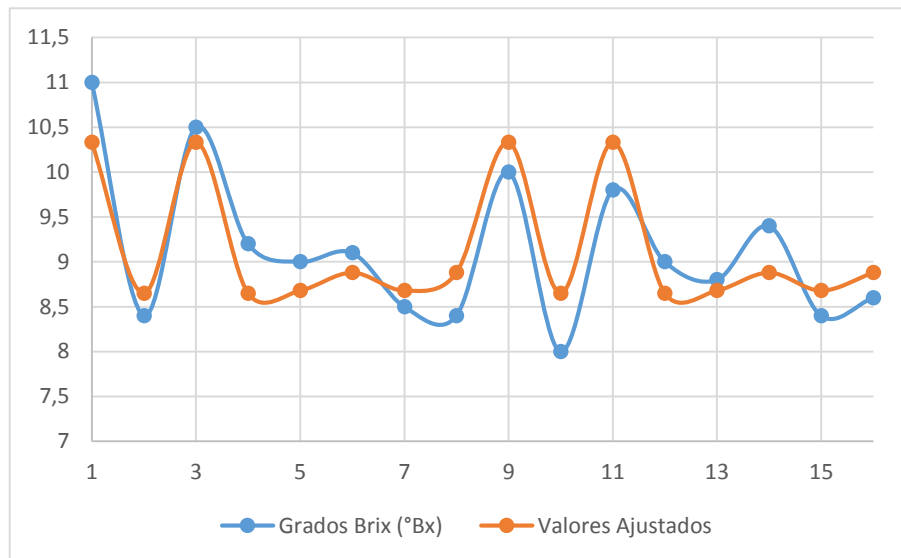
Cuadro IV-4 Valores ajustados de acuerdo al modelo matemático

N°	Grados Brix (°Bx)	Valores Ajustados	Error
1	11	10,33	0,68
2	8,4	8,65	-0,25
3	10,5	10,33	0,18
4	9,2	8,65	0,55
5	9	8,68	0,32
6	9,1	8,88	0,22
7	8,5	8,68	-0,18
8	8,4	8,88	-0,47
9	10	10,33	-0,32
10	8	8,65	-0,65
11	9,8	10,33	-0,52
12	9	8,65	0,35
13	8,8	8,68	0,13
14	9,4	8,88	0,53
15	8,4	8,68	-0,28
16	8,6	8,88	-0,28

Fuente: SPSS 23, 2023

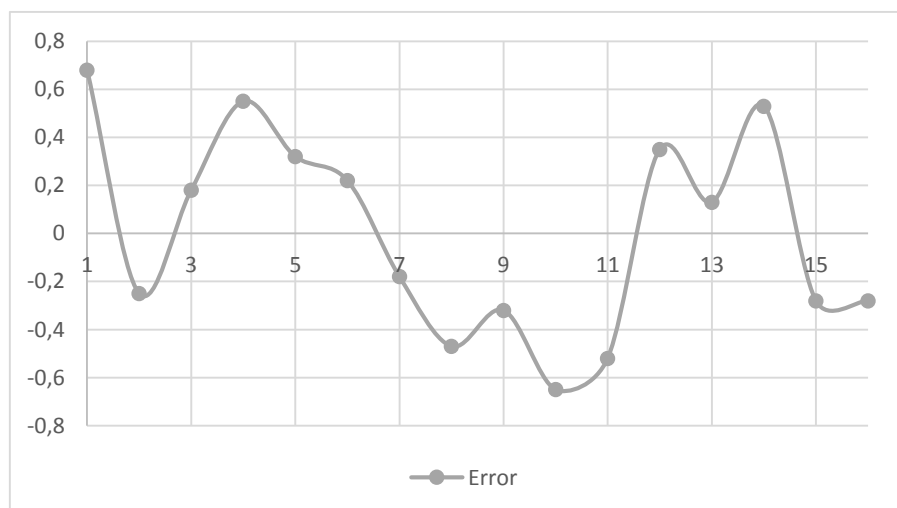
Analizando los valores obtenidos de acuerdo al modelo matemático y los medidos al finalizar la hidrólisis, se tienen los valores presentados en el Cuadro IV-4, para comparar de mejor manera el error registrado entre el valor medido y el ajustado, se los representa en la curva de la Figura 4-4.

Figura 4-4 Grados Brix medidos vs Valores ajustados al modelo matemático



Fuente: Elaboración propia, 2023

Figura 4-5 Mediciones vs Error



Fuente: Elaboración propia, 2023

CAPÍTULO V

COSTOS

5.1 Costos de la investigación

5.1.1 Costos de materiales, análisis y reactivos

Los costos de la presente investigación se encuentran divididos entre diversos gastos, sea por compra de reactivos, enzimas, materiales y demás. Estos mismos figuran en el Cuadro V-1 presentado a continuación.

Cuadro V-1 Costos del proyecto de investigación

Ítem	Detalle	Cantidad	Precio
1	Frascos	16	128 Bs
2	Espátula	1	20 Bs
3	Vaso de precipitado	3	150 Bs
4	Probeta	3	120 Bs
5	pHmetro	1	90 Bs
6	Balanza	1	100 Bs
7	Termómetro	1	50 Bs
8	Ácido Clorhídrico	½ litro	180 Bs
9	Hidróxido de Sodio	½ litro	50 Bs
10	Cloruro de Calcio	10 gramos	10 Bs
11	Levaduras	35 gramos	28 Bs
12	Nutrientes	35 gramos	3 Bs
13	Enzimas	134 gramos	469 Bs
14	Material para biorreactor	NA	120 Bs
15	Garrafa de GLP	1	22,50 Bs
16	Almidón	4 kilogramos	40 Bs
17	Análisis de laboratorio	NA	594 Bs
SUBTOTAL:			2629,5 Bs

Fuente: Elaboración propia, 2022

5.1.2 Costos de insumos

Para determinar el costo de insumos se procede primero con el cálculo de la cantidad de agua, energía eléctrica y gas licuado usado.

El agua potable usada es igual al caudal usado de agua para el refrigerante de la columna de destilación por el tiempo que se destiló las muestras.

- Caudal: 4400 cc/min
- Tiempo de uso: 5 y 30 horas = 330 minutos
- Agua usada total = 4400 cc/min * 330 minutos = 1452000 cc = 1,452 m³

Para la energía eléctrica es el siguiente consumo:

Cuadro V-2 Consumo eléctrico

Ítem	Equipo	Tiempo de uso	Consumo	Energía
1	Columna de destilación	5,3 hrs	0,6 kw	3,18 kw-h
2	Termostato	192 hrs	0,65 kw	124,8 kw-h
SUMA				127,98 kw-h

Fuente: Elaboración propia, 2022

Cuadro V-3 Costos de insumos

Ítem	Detalle	Unidades	Precio unitario	Cantidad	Costo (Bs)
1	Agua potable	m ³	0,7 Bs/ m ³	1,452 m ³	1,01 Bs
2	Energía eléctrica	kw-h	0,68 Bs/kw-h	127,98 kw-h	87,03 Bs
3	GLP	Unidad	22,50 Bs	1	22,50 Bs
SUBTOTAL					110,54 Bs

Fuente: Elaboración propia, 2022

5.1.3 Costos indirectos

Cuadro V-4 Costos indirectos

Ítem	Detalle	Unidades	Precio unitario	Cantidad	Costo
1	Internet	hrs	2,5 Bs	300	750 Bs
2	Transporte	Día	1 Bs	200	200 Bs
3	Impresión	Unidad	0,5 Bs	1496	748 Bs
4	Anillado	Unidad	7 Bs	8	56 Bs
5	Empastado	Unidad	60 Bs	3	180 Bs
6	Imprevistos	NA	500 Bs	-	500 Bs
SUBTOTAL					2434 Bs

Fuente: Elaboración propia, 2022

5.1.4 Costos totales

Sumando los costos anteriores tenemos:

Cuadro V-5 Suma de costos totales

Detalle	Subtotal
Costos de materiales, análisis y reactivos	2629,5 Bs
Costos de insumos	110,54 Bs
Costos indirectos	2434 Bs
TOTAL	5174,04 Bs

Fuente: Elaboración propia, 2022

CAPÍTULO VI
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

Como conclusiones del presente proyecto de investigación aplicada se tienen las siguientes:

Se obtiene bioetanol a partir del almidón de maíz comercial con resultados positivos e importantes similares a ensayos e investigaciones realizadas en otras partes del mundo. Las variaciones de los resultados pueden deberse a diversos factores tales como los equipos utilizados, tipos de enzimas (proveedor), inclusive las condiciones ambientales y geográficas en las cuales la investigación se ha llevado a cabo.

Durante la investigación se logró determinar que tanto la temperatura de la hidrólisis como el tiempo de la misma, inciden en los resultados finales; sin embargo, se logró comprobar que la concentración de la masa de enzimas juega también un papel importante y debe ser tomada en cuenta en un diseño factorial para estudiar a cabalidad el grado en que esta tiene efecto en los resultados.

Se descarta la variable tiempo de sacarificación como variable significativa no porque esta no tenga un efecto en los resultados finales, sino que una posible causa, para que en el análisis estadístico se descarte la misma, se atribuye a que probablemente el rango entre los niveles tomados es bastante cercano siendo esta una diferencia de tan solo 30 minutos (0,5 horas).

De la fase experimental se determinan que el ensayo 1 es el experimento en que se alcanzó un más alto valor de grados Brix, igual a 11°Bx, siendo las condiciones de trabajo de este 60°C, una concentración de enzimas de 2,1 g/l y un tiempo de hidrólisis de 2 horas. Por otra parte, para el ensayo a mayor escala se tiene un máximo de grados Brix alcanzados de 14,8°Bx.

El bioetanol obtenido por hidrólisis enzimática, fermentación y destilación tiene como mejor resultado un grado alcohólico de 70°GL partiendo de un grado alcohólico inicial de 10°GL.

La obtención de bioetanol a partir del almidón de maíz se suma a anteriores investigaciones dentro de las cuales, el presente estudio de ciertas variables como la temperatura y concentración de enzima contribuyen a tener cada vez más completo un análisis de la obtención de bioetanol a partir de diferentes materias primas siendo cada vez más necesario un estudio de prefactibilidad para este tipo de producto.

6.2 Recomendaciones

Es necesario contar con recomendaciones posteriores a la realización de la presente investigación, estas se presentan a continuación:

El estudio de la variable concentración de enzimas tiene un límite superior, según se evidenció en las pruebas preliminares. Es necesario, pues, estudiar y encontrar este límite para evitar un gasto innecesario de enzimas. Un estudio de evaluación de hidrólisis enzimática tanto en licuefacción como en sacarificación, para la concentración de enzimas, es apropiado para fines posteriores de optimización.

El control del pH en la etapa de fermentación es de suma importancia por el hecho de que al caer el pH por debajo de un valor de 3 no es factible seguir con la misma, por lo tanto, se debe tener un control riguroso a la hora de realizar este subproceso.

Es recomendable estudiar otras variables para el subproceso de hidrólisis con la finalidad de obtener resultados más favorables, las que se recomiendan tomar en cuenta son la velocidad de agitación, mayores concentraciones de enzima, como se mencionó anteriormente, un cofactor enzimático distinto al CaCl_2 o bien reactivos distintos al HCl e NaOH para estabilizar el pH de las preparaciones.

Se recomienda plantear un diseño factorial en las etapas de fermentación y destilación, para estudiar aquellas variables que inciden de manera directa en estos importantes procesos, por fines de limitación de la investigación no fue posible realizarlos; sin embargo, estos dos procesos pueden garantizar una obtención favorable de mejores resultados.

Debe existir un análisis de optimización del biorreactor para aumentar su eficiencia, durante la experimentación se evidenció el atrapamiento de CO_2 en el mosto, por lo que es necesario estudiar el efecto de la concentración de CO_2 como producto de la fermentación. De igual manera se recomienda analizar la posibilidad de añadir un sistema de agitación y burbujeo en la fermentación para estudiar sus efectos.

La finalidad de este proyecto es la de poder brindar un primer paso a la obtención del bioetanol como biocombustible, dado que no se cuenta, actualmente, con las condiciones de poder alcanzar grados alcohólicos más altos, es recomendable buscar alternativas para una deshidratación del etanol obtenido para poder alcanzar esta característica de los biocombustibles.