

**CAPÍTULO I**  
**MARCO TEÓRICO**

### 1.1.- ASPECTOS GENERALES SOBRE EL BIOETANOL

El bioetanol es un producto químico obtenido a partir de la fermentación de los azúcares que se encuentran en productos vegetales, tales como cereales, remolacha, caña de azúcar o biomasa lignocelulósica. Estos azúcares pueden encontrarse combinados en forma de sacarosa, almidón, hemicelulosa y celulosa. (Moheno de la Cruz M. s.f)

El alcohol etílico es inflamable e incoloro, posee una densidad menor a la del agua y es comúnmente empleado en la elaboración de bebidas alcohólicas.

Tabla I-1: Propiedades Fisicoquímicas del Etanol (a 1 atm y 20 °C)

<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
Estado físico	Líquido
Peso molecular (gr/mol)	46,07
Punto de ebullición (°C)	78.30
Punto de congelación (°C)	-114
Presión crítica (atm)	63
Viscosidad (poise)	0.0141
Punto de inflamación (°C)	14
Índice de refracción	1,36

Fuente: Rueda y Herrera, 2006

La graduación alcohólica se determina mediante el dispositivo denominado alcoholímetro de Gay Lussac (°G.L), donde la graduación 0 ° corresponde al agua pura y 100 ° al alcohol absoluto.

En nuestro país los tipos de etanol reciben las siguientes denominaciones:

- Alcohol medicinal desinfectante de 68° a 72° G.L.
- Alcohol de quemar de 83° a 85° G.L.
- Alcohol rectificado de 96 ° G.L.
- Alcohol neutro, rectificado, extrafino, potable o sin desnaturalizar de 96° G.L.

- Alcohol carburante mínimamente de 99° G.L., llamado también absoluto, desnaturalizado, sin rectificar.

El etanol cualquiera que fuera su origen es un combustible, es decir, libera significativas cantidades de calor al quemarse, es uno de los biocombustibles más empleados a nivel mundial. Dependiendo de su contenido de agua, el bioetanol puede ser:

- Alcohol hidratado (conteniendo desde un 5% de agua)
- Alcohol anhidro (conteniendo menos de 1% de agua) (Villa R. 2015)

### 1.1.1.- CLASES DE BIOETANOL

Las clases de bioetanol existentes según su origen son las siguientes:

- **Bioetanol de Primera Generación**

Corresponde a aquel obtenido de cultivos con un alto contenido de azúcares y que están destinados para la alimentación humana.

**Ventaja:** Se obtiene gran cantidad de hidratos de carbono fermentables.

**Desventaja:** Posibles encarecimientos locales de estos cultivos para el consumo humano.

- **Bioetanol de Segunda Generación**

El bioetanol de segunda generación no compite con la producción de alimentos ya que para la fabricación del mismo se ocupa biomasa residual, que está compuesta principalmente de materiales lignocelulósicos.

**Ventaja:** Se obtienen grandes cantidades de materia prima como ser restos de árboles o de cultivos, no provoca el encarecimiento de los alimentos.

**Desventaja:** Se hacen necesarios tratamientos previos en la materia orgánica para que pueda ser fermentada. (Biotecnología y biocombustibles. s.f)

- **Bioetanol de Tercera Generación**

Esta tecnología consiste en la utilización de algas para producir bioetanol. El alga verdeazulada prolifera rápidamente y utiliza de manera eficiente la radiación solar, CO<sub>2</sub> y elementos inorgánicos, emplea la fotosíntesis como

medio para capturar la energía del sol y convertirla en azúcar intracelularmente, lo que le proporciona la energía para crecer y reproducirse. Actualmente existen algas modificadas genéticamente para la producción directa de etanol (Biofields, 2010).

**Observación:** Es un proceso que se encuentra en fase teórica, depende de la información genética de la bacteria artificial y posee limitaciones termodinámicas importantes.

## **1.2.- UTILIDADES DEL BIOETANOL**

El bioetanol o etanol son químicamente semejantes, debido a que puede disolverse fácilmente en el agua y otros compuestos orgánicos es un ingrediente de una gran variedad de productos, desde artículos de cuidado personal hasta pinturas, barnices y combustibles. Los principales usos del etanol son los siguientes:

- Bebidas Alcohólicas
- Solvente químico industrial
- Industria cosmética y afines
- Intermediario para la producción de etileno, acetaldehído, ácido acético, ésteres etílicos entre otros
- En farmacias, hospitales y clínicas como agente desinfectante
- Aditivo en combustibles para motores de combustión interna
- Como combustible en motores (Menchaca R, 2015)

Los dos últimos puntos citados son considerados de gran relevancia a nivel industrial, económico y social razón por la cual son los considerados importantes para el presente trabajo.

### **1.2.1.- BIOETANOL COMO COMBUSTIBLE Y ADITIVO EN MOTORES DE COMBUSTIÓN INTERNA**

Las principales aplicaciones que se consideran son:

1) Como combustible para automóviles, autobuses y vehículos industriales, tanto en estado prácticamente puro como mezclado en diferentes porcentajes con naftas de 95 octanos.

**E5:** Mezcla del 5% de bioetanol y el 95 % de nafta normal. Esta es la mezcla habitual y mezcla máxima autorizada en la actualidad por la regulación europea.

**E10:** Mezcla del 10 % de bioetanol y el 90% de nafta normal. Es la mezcla más utilizada en EEUU ya que en esta proporción los motores de los vehículos no requieren ninguna modificación e incluso eleva el octanaje mejorando su resultado y obteniendo una notable reducción en la emisión de gases contaminantes.

**E85:** Mezcla de 85% de bioetanol y 15% de nafta, utilizada en vehículos con motores especiales como los denominados vehículos FFV o vehículos de combustibles flexibles con motores adaptados que permiten una variedad de mezclas y se comercializan en EEUU, Brasil y Suecia.

**E95 y E100:** Mezclas hasta el 95% y 100% de bioetanol son utilizados en motores especiales en algunos países como Brasil.

**E-Diesel:** El bioetanol permite su mezcla con gasoil utilizando un aditivo solvente y produciendo un biocombustible el E-Diesel, con muy buenas características en cuanto a combustión y reducción de contaminación ofreciendo así otras alternativas al bioetanol en el campo de los vehículos diesel.

2) Como aditivo para naftas tradicionales en forma de Etil Terbutil Eter (ETBE).

**ETBE (Etil Terbutil Éter):** Es un aditivo que se utiliza como antidetonante de la nafta. Se obtiene por síntesis del bioetanol con isobutileno, subproducto de la destilación del petróleo. Posee las ventajas de ser menos volátil y más miscible con la nafta que el etanol, se agrega en proporciones del 10-15%. La incorporación de ETBE aumenta el índice de octanaje de la nafta, evitando la adición de sales de plomo. (Universidad Iberoamericana. 2008)

Tabla I-2: Rendimiento del Etanol Carburante Empleado como Mezcla Combustible

<b>Mezclas Combustible</b>		<b>Rendimiento Relativo</b> (%)
<b>Gasolina (%)</b>	<b>Etanol (%)</b>	
100	0	100
90	10	98,30
80	20	96
70	30	93,30
0	100	68

Fuente: Vilajuana Jaime, 1981

El alcohol carburante al ser utilizado reduce en gran parte las emisiones por anhídrido carbónico (CO<sub>2</sub>), esto se debe al hecho de que el etanol es un compuesto químico con bajo peso molecular, formado por enlaces simples (C-C, C-H, C-OH) en comparación con los combustibles tradicionales (gasolina, diésel) que son mezclas complejas de distintos hidrocarburos.

Tabla I-3: Propiedades del Etanol y la Gasolina

<b>Propiedad</b>	<b>Etanol</b>	<b>Gasolina</b>
Fórmula	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	Mezcla de hidrocarburos de C <sub>4</sub> a C <sub>12</sub>
Peso Molecular (gr/mol)	46,07	100 – 105
C (% en masa)	52,20	85 – 88
H <sub>2</sub> (% en masa)	13,10	12-15
O <sub>2</sub> (% en masa)	34,70	0
Gravedad Específica	0,79	0,72 – 078
Temperatura de Ebullición (°C)	78	27 – 225
Punto de Inflamación (°C)	12,5	9
<b>Límites de Inflamabilidad</b>		
Bajo	4,30	1,40
Alto	19	7,60

Fuente: Vilajuana Jaime, 1981

Los motivos principales por los cuales es importante desarrollar bioetanol como combustible para vehículos motorizados son los siguientes:

**Energía:** Sustitución de combustibles basados en petróleo con la finalidad de aumentar los niveles de seguridad energética, disminuir la dependencia frente a la volatilidad de los precios del petróleo y reducir los costos de los combustibles o de sus importaciones.

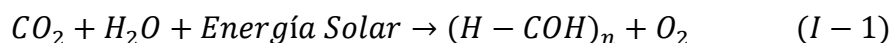
**Medio Ambiente:** Disminuir daños ambientales relacionados con la cadena del petróleo, como derrames de petróleo en los mares y fuentes de agua, además de

disminuir la contaminación destacando que el etanol contamina un 60% menos que la gasolina, una cifra considerada por los expertos que puede ser mayor.

### 1.3.- BIOMASA

La biomasa es aquella materia orgánica de origen vegetal o animal, incluyendo los residuos o desechos orgánicos, susceptible de ser aprovechada energéticamente. Esta materia posee beneficios añadidos debido a que permite un cierto grado de almacenamiento (Renovetec, 2013), constituye una alternativa realista para la sustitución de los combustibles fósiles en el sector transporte a corto y mediano plazo, favorece el mantenimiento y desarrollo del sector agrícola-forestal generando beneficios debido a la valorización energética de los materiales.

La energía que puede obtenerse a partir de la biomasa proviene del sol que, gracias al proceso de la fotosíntesis es aprovechada por las plantas verdes a través de reacciones químicas en las células vivas, para tomar dióxido de carbono del aire y transformarlo en sustancias orgánicas, según la reacción del tipo:



La energía solar se transforma entonces en energía química, que se acumula en los enlaces de los diferentes compuestos orgánicos (polisacáridos, grasas, etc.) para ser incorporada y transformada por el reino animal, incluido el hombre. Los componentes principales de la biomasa (hidratos de carbono, lípidos y proteínas), se encuentran en una proporción relativamente variable según la naturaleza de dicha biomasa que abarca un amplio rango de materias orgánicas que se caracterizan por su heterogeneidad.

La biomasa primaria está constituida por materiales vegetales, sin embargo, la misma puede ser transformada por otros seres vivos que se nutren de la misma y generan la denominada biomasa animal o biomasa de los residuos animales, de igual manera distintas actividades industriales donde se manejan biomasa animal o vegetal generan subproductos, como así también los centros urbanos como consecuencia de la alimentación de sus habitantes. (Fernández J. s.f)



Tabla I-4: Tipos de Biomasa y sus Características

<b>Tipo de biomasa</b>	<b>Características</b>
Biomasa Primaria	Materia orgánica formada directamente de seres fotosintéticos. Comprende biomasa vegetal y residuos forestales.
Biomasa Secundaria	Producidos por heterótrofos que utilizan en su nutrición biomasa primaria. La constituyen materia fecal o carne de animales.
Biomasa Terciaria	Producida por seres que se alimentan de biomasa secundaria, restos y deyecciones de animales carnívoros.
Biomasa Natural	Producida por ecosistemas silvestres, 40% de la biomasa que se produce en la tierra proviene de los océanos.
Biomasa Residual	Se puede extraer de residuos agrícolas, forestales y de actividades humanas.
Cultivos Energéticos	Recibe esta denominación cualquier cultivo agrícola cuya finalidad es proporcionar la biomasa para producir biocombustibles.

Fuente: Salinas y Gazca, 2009

Cuando la biomasa reacciona con el oxígeno en las denominadas reacciones de combustión se produce dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y agua (H<sub>2</sub>O) ambos constituyentes en determinadas proporciones de la atmósfera terrestre. Sin embargo, el permanente ciclo en el cual se encuentran sometidos estos elementos les permiten retornar a su materia de origen en el proceso de crecimiento de las plantas, por lo que se dice que se trata de un proceso cíclico.

### **1.3.1.- TIPOS DE BIOMASA RESIDUAL**

Se siguen varios criterios para clasificar los distintos tipos de residuos, entre los que cabe destacar la naturaleza de su origen (agrarios, industriales, urbanos) o los tipos de materiales que los constituyen (orgánicos, plásticos, inertes, etc.). Debido a que

nuestro interés se centra en los residuos del tipo orgánico como biomasa, se puede considerar tres grandes sectores de actividades que los producen:

### **1.3.1.1.- SECTOR AGRARIO**

Los residuos agrarios tienen lugar como consecuencia de actividades agrícolas (pajas, tallos, restos de cosechas, residuos de poda, etc.), actividades forestales (residuos de talas, clareos de monte, etc.) y actividades ganaderas (estiércoles, purines).

#### **- Residuos Agrícolas**

Se puede denominar residuo agrícola a la "planta o la porción de ella cultivada que es preciso separar para obtener el fruto" o para facilitar el cultivo propio o posterior, están constituidos por: raíces, hojas, tallos, frutos no aprovechables, pajas de cereales entre otros.

#### **- Residuos Forestales**

El monte supone un medio considerable de transformación de la energía solar. Sin embargo, el hombre no utiliza íntegramente toda la riqueza que suministra el monte y desperdicia una parte considerable, los residuos forestales están formados por: ramas, cortezas, virutas, serrín, hojas, tacones y raíces.

#### **- Residuos Ganaderos**

Tradicionalmente, los residuos producidos por el ganado (estiércol) constituían la única fuente de nutrientes para los suelos agrícolas, los mismos contienen grandes cantidades de agua y nutrientes para el crecimiento bacteriano

### **1.3.1.2.- SECTOR INDUSTRIAL**

Los residuos industriales se originan en las factorías de transformación de actividades primarias (cascaras, restos de mataderos, serrín, etc.).

#### **- Residuos Industriales**

Es muy amplio el número de sectores industriales que generan residuos orgánicos; sin embargo, en muchos de aquellos la producción real es muy escasa, ya que, por lo general dichos residuos se utilizan como subproductos o

como aporte energético, cuando no tienen utilidad y proceden de pequeñas industrias se incorporan frecuentemente a los residuos sólidos urbanos.

### **1.3.1.3.- SECTOR URBANO**

Los residuos urbanos se generan en los núcleos de población, como consecuencia de una actividad de consumo (basuras, aguas residuales).

#### **a) RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS**

Es conocido el hecho de que se producen diariamente ingentes cantidades de desperdicios, tanto en las ciudades como en las zonas rurales. Teniendo en cuenta que la mayor parte de estos residuos son de carácter orgánico y constituyen la denominada "Biomasa Residual", se puede llegar a comprender que, estas grandes cantidades de residuos que no se aprovechan y contaminan el ambiente, pueden significar una gran oportunidad para la producción de energía.

En la actualidad, los residuos aparecen cada vez con mayor pujanza en la vida cotidiana del hombre debido a factores tales como; el crecimiento de las ciudades y el desarrollo industrial, provocando que la recolección y disposición final de los mismos se traduzcan en un problema cada vez con mayor magnitud.

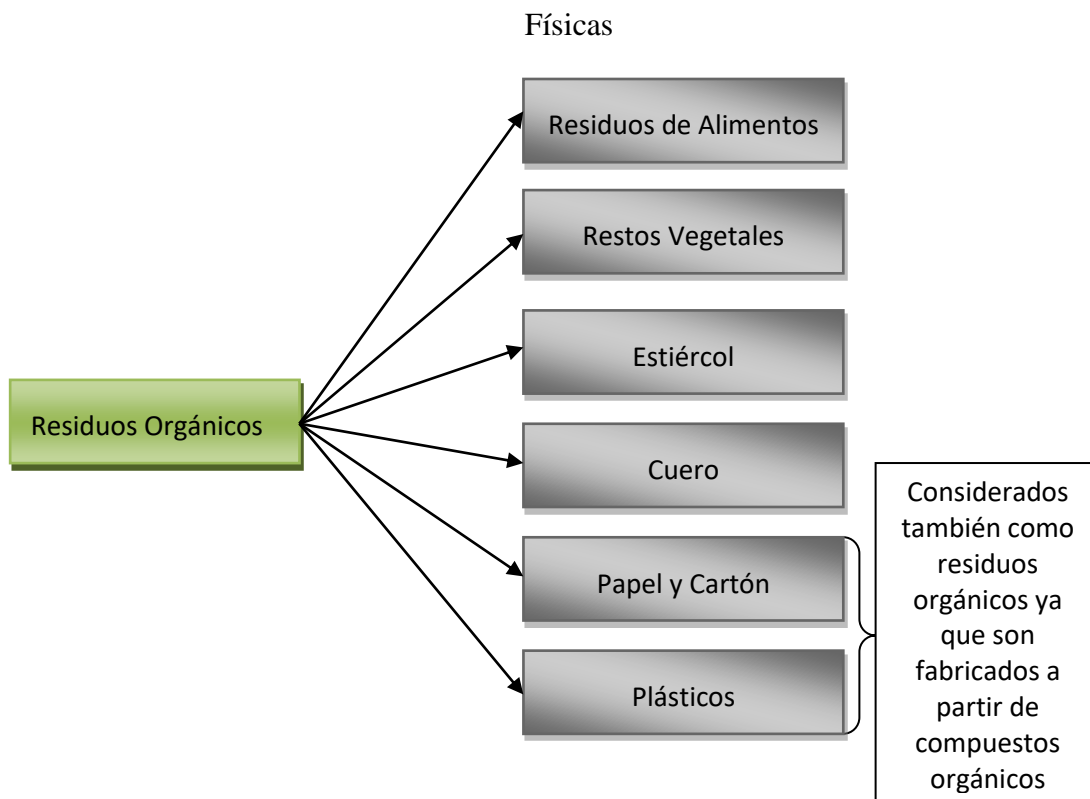
Los residuos producidos por los habitantes de los núcleos urbanos comprenden distintas clases de desechos los cuales pueden clasificarse como:

#### **- Residuos Orgánicos**

Los desechos orgánicos son el conjunto de desechos biológicos (material orgánico) producidos por los seres humanos, ganado y otros seres vivos. Son biodegradables, es decir que poseen la característica de poder desintegrarse o degradarse rápidamente, transformándose en otro tipo de materia orgánica. (PNUMA, 2006)

Los residuos orgánicos se clasifican según sus características físicas como se muestran en la siguiente figura:

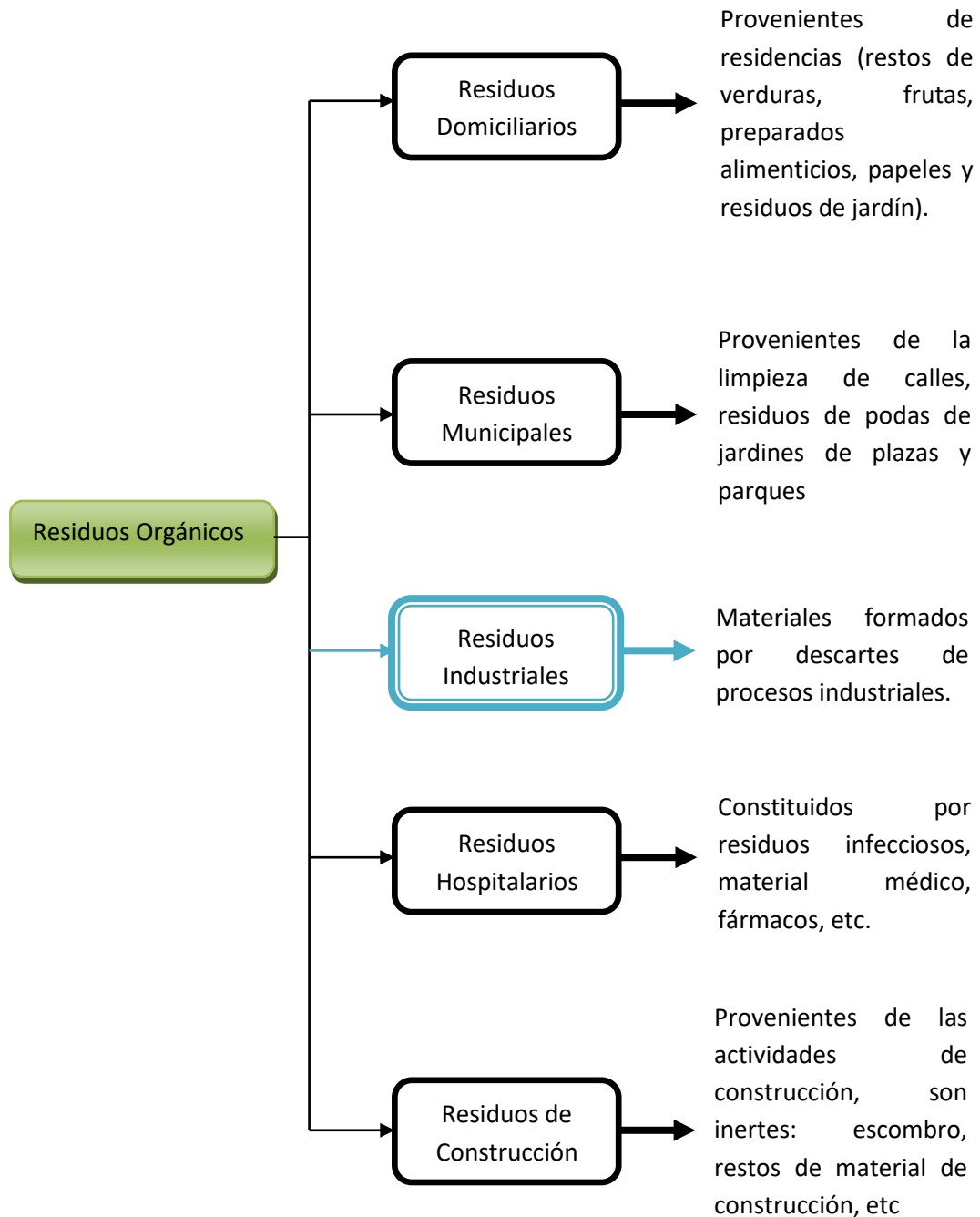
Figura I-1: Clasificación de los Residuos Sólidos Orgánicos Según sus Características



Fuente: Matute J, 2014

Tomando en cuenta su fuente de generación los residuos sólidos urbanos pueden clasificarse como se muestra en la siguiente figura:

Figura I-2: Clasificación de los Residuos Sólidos Orgánicos Según su Fuente de Generación



Fuente: Elaboración Propia, 2018

#### - **Residuos Inorgánicos**

Son aquellos desechos de origen no biológico, son de origen industrial o de algún otro proceso no natural, cuando se exponen a las condiciones ambientales necesitan de tiempos largos para degradarse dentro los residuos inorgánicos encontramos vidrios, plásticos, chatarra, productos de limpieza, pilas, etc. (Revista Ecomarca, 2018)

#### **b) AGUAS RESIDUALES URBANAS**

Se denominan "aguas residuales urbanas" a los líquidos procedentes de las actividades humanas que llevan en su composición gran parte de agua y que generalmente, son vertidos a los ríos o al mar. Su composición es tanto inorgánica (sales, arenas, etc.) como orgánicas (materiales biodegradables), y su fracción sólida contiene una cantidad de biomasa residual. (Fernández J. s.f)

#### **1.4- RESIDUOS FRUTALES COMO FUENTE DE BIOETANOL**

En cuanto a residuos sólidos orgánicos se refiere, los domiciliarios e industriales del sector alimentario compuesto por frutas y verduras son los que mayor representación cuantitativa poseen. Este tipo de materiales se caracteriza por estar formado por un conjunto de azúcares, ácidos orgánicos, sustancias colorantes, proteínas, vitaminas, aceites esenciales y materia lignocelulósica.

El procesamiento de los recursos agrícolas de los cuales provienen estos subproductos considerados residuales (descartes industriales), como sería el caso de la naranja en la planta procesadora de cítricos del departamento de Tarija, genera problemas del tipo económico y especialmente ambiental, debido a que las grandes cantidades producidas de estos materiales residuales, son generalmente en parte vendidas a bajos precios como alimento para hatos ganaderos y el resto o en su defecto son vertidos al medio externo causando severos problemas de contaminación.

Figura I-3: Residuos de Naranja



Fuente: Succulent Avenue, 2015

Con la finalidad de transformar el problema en oportunidad fue que se investigaron en el mundo entero varios procesos para obtener bioetanol utilizando como fuente de materia prima residuos como las cáscaras de naranja, tal es el caso de Corea donde se producen en promedio 70.000 toneladas de cáscaras de mandarina anuales y aproximadamente el 30% es bien utilizado, mientras que el 70% restante es dispuesto en los océanos lo cual trae demasiada contaminación.

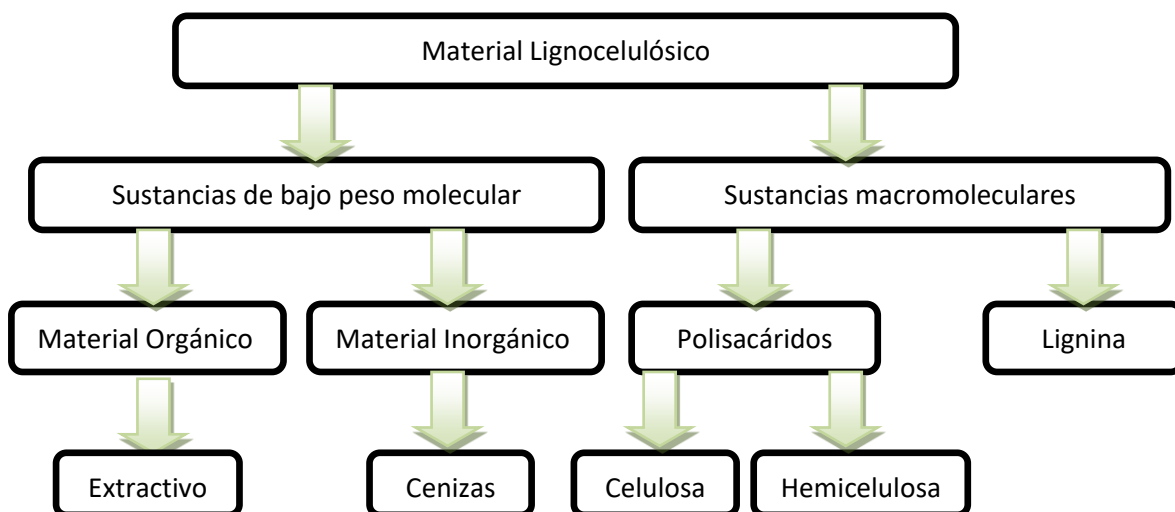
El hidrolizado obtenido de esta materia lignocelulósica puede ser utilizado como un medio de fermentación para la producción biotecnológica de etanol, sin embargo, al igual que las materias amiláceas requieren de tratamientos preliminares para lograr la degradación de los polisacáridos a unidades de azúcar asimilables por los microorganismos fermentadores. Las cáscaras de frutas cítricas son adecuadas para la obtención de etanol porque contienen baja lignina y altas concentraciones de azúcares totales, son consideradas relativamente ricas en azúcares fermentables como la glucosa y fructosa, debido a la gran disponibilidad de estos desechos lignocelulósicos se conforman como materias primas con alto potencial para la obtención de bioetanol.

### 1.4.1.- COMPOSICIÓN DE LOS RESIDUOS FRUTALES

Este tipo de materiales correspondiente a biomasa lignocelulósica, está formada por tres componentes básicos celulosa, hemicelulosa y lignina, juntamente con otros elementos presentes en menor proporción y que no forman parte de la pared celular como son la materia extractiva y las cenizas. La celulosa y hemicelulosa son polisacáridos de elevado peso molecular que representan del 60-80% del total del peso de los residuos frutales, la lignina es un polímero de naturaleza no polisacárida tridimensional y representa el 20-35% del total del material. (Guamizo et al. 2009)

Entre los elementos constituyentes minoritarios representando aproximadamente entre el 4-10% del peso en seco se encuentran las grasas, terpenos, alcaloides, proteínas, fenoles, pectinas, gomas, resinas, entre otros, cuyas proporciones y composiciones dentro de un mismo tipo de material varía en función de la edad, estado de crecimiento u otros factores. Las cenizas presentes en la biomasa contienen principalmente Ca, K, Mg que son compuestos inorgánicos que persisten después de realizada la incineración. (Tomas Pejo M. E, 2012)

Figura I-4: Esquema General de los Componentes Químicos de los Materiales Lignocelulósicos



Fuente: Universidad Industrial de Santander, 2006.

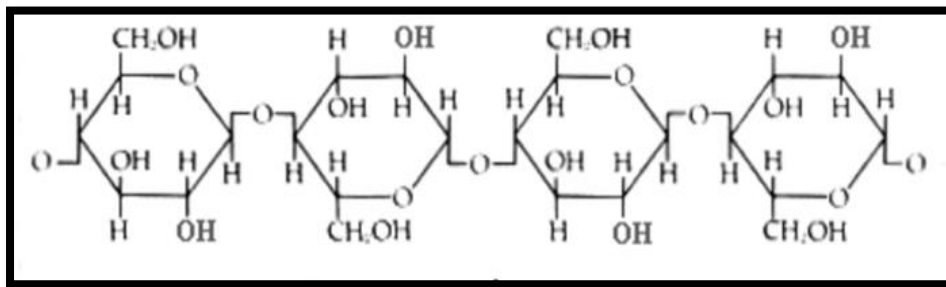


### 1.4.1.1.- CELULOSA

La celulosa es un polisacárido compuesto exclusivamente de moléculas de glucosa, es un homopolisacárido (compuesto por un solo tipo de monosacárido), es rígido, insoluble en agua, contiene desde varios cientos hasta varios de miles de unidades de  $\beta$ -glucosa. La celulosa es la biomolécula orgánica más abundante ya que forma la mayor parte de la biomasa terrestre, se encuentra en las paredes de las células de las plantas. Químicamente se considera como un polímero natural, formado por un gran número de unidades de glucosa mediante enlaces  $\beta$ -1,4-O-glucosídicos, es una larga cadena polimérica de peso molecular variable, con fórmula empírica representativa  $(C_6H_{10}O_5)_n$  con un valor mínimo de 200 unidades. (Ecured, 2017)

La celulosa posee una estructura lineal y fibrosa donde se establecen puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de distintas cadenas yuxtapuestas de glucosa.

Figura I-5: Estructura Básica de las Moléculas de Celulosa Unidas Mediante Puentes de Hidrógeno



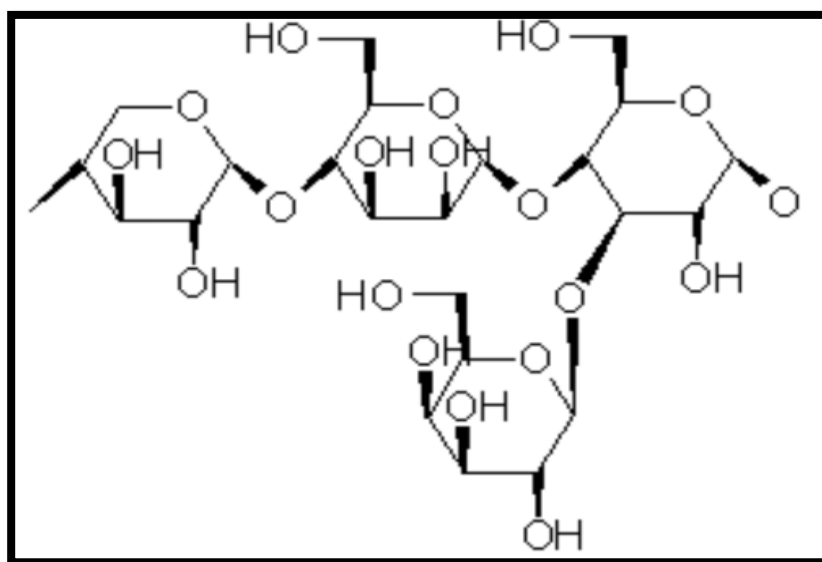
Fuente: Cortínez V, 2010

### 1.4.1.2.- HEMICELULOSA

La hemicelulosa es un heteropolisacárido (polisacárido compuesto por más de un tipo de monosacárido), unidos mediante enlaces  $\beta$  (1-4), fundamentalmente xilosa, arabinosa, galactosa, manosa, glucosa y ácido glucurónico que forman una cadena ramificada. Entre éstos monosacáridos destacan la glucosa, xilosa, galactosa y fructosa. (Méndez A. 2014)

Forma parte de las paredes de las células vegetales, recubriendo la superficie de las fibras de celulosa y permitiendo el enlace de pectina, se caracteriza por ser una molécula con ramificaciones como lo es el ácido urónico, capaz de unirse a otras moléculas mediante enlaces que constituyen la pared rígida que protege a la célula de la presión ejercida sobre ésta por el resto de las células que la rodean. La hemicelulosa se clasifica en pentosanos y hexosanos, los pentosanos se encuentran constituidos principalmente por aldopentosas (monosacáridos de 5 átomos de carbono) y los hexosanos están formados por aldohexosas (monosacáridos de 6 átomos de carbono)

Figura I-6: Estructura Básica de la Molécula de Hemicelulosa (Xylosa- $\beta$ (1,4)-Manosa- $\beta$ (1,4)-Glucosa-alfa(1,3)-Galactosa



Fuente: Berserkerben, 2006

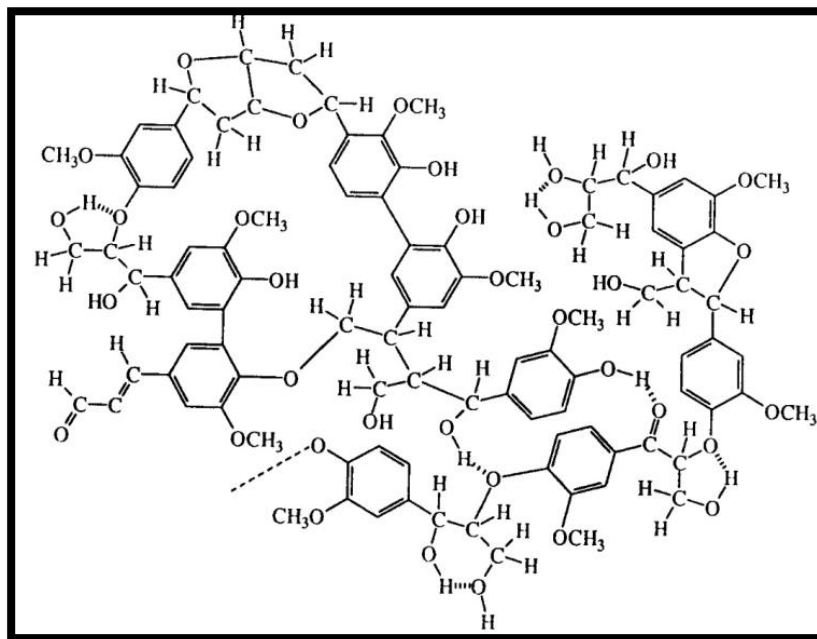
#### 1.4.1.3.- LIGNINA

La lignina es un polímero formado por unidades de fenil-propano (polifenólico) que se deposita en las paredes celulares secundarias, y a veces primarias de las células de las plantas, se trata de una sustancia hidrofóbica que elimina agua de las paredes celulares.

Es una molécula muy abundante en las plantas denominadas leñosas y es el segundo biopolímero más abundante en la Tierra tras la celulosa, es el único polímero carbonado de la pared celular que no está formado por monómeros de carbohidratos y por ello es más impermeable al agua. (Chávez-Sifontes & Domine, 2013)

La lignina es la tercera fracción mayoritaria de la biomasa lignocelulósica. La lignina no es un material de interés para la producción de azúcares, por lo cual es ideal, retirarla mediante la aplicación de pre tratamientos preliminares.

Figura I-7: Estructura de Básica de la Lignina



Fuente: Navarro R, 2013

### 1.5.- CASCARA DE NARANJA

La materia prima a emplear para la obtención de etanol corresponde a descartes del fruto de la naranja, los cuales están formados específicamente por la piel o cáscara de la misma, compuesta principalmente por materia lignocelulósica con alta disponibilidad y sin ningún tipo de valor económico, las cuales se consideran subproductos provenientes de actividades humanas tales como el comercio interno, el consumo directo en domicilios y especialmente del sector industrial.

La cáscara de naranja se obtiene del epicarpio del fruto, que junto con la corteza blanca adyacente (mesocarpio) forma su piel. En el caso de la cáscara de naranja la colorida piel exterior se denomina flavedo y corresponde al exocarpio; inmediatamente por debajo se encuentra el albedo que sería el mesocarpio. La cáscara en sus distintos usos puede ser utilizada fresca, seca, caramelizada o encurtida en sal.

Figura I-8: Cáscara de Naranja



Fuente: Carrillo, 2012

### **1.5.1.- USOS DE LAS CÁSCARAS DE NARANJA**

Las cáscaras de naranja y de otros cítricos se suelen utilizar principalmente en el área de la gastronomía para darle sabor a diferentes comidas y alimentos elaborados como ser: pasteles, dulces, mermeladas, chutneys, salsas, sorbetes e incluso ensaladas.

Es utilizada también en la preparación de bebidas alcohólicas como cocteles no solo por su sabor, sino también por su color y con fines decorativos. El epicarpio es una gran fuente de aceites esenciales cuyos principales usos destacan en los campos de:

- Gastronomía
- Terapia Medicinal
- Conservación de alimentos
- Controladores Naturales de Plagas en Plantas

### 1.5.2.- COMPOSICIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LAS CÁSCARAS DE NARANJA

La composición fisicoquímica de las cáscaras de naranja se detalla a continuación en la siguiente tabla:

Tabla I-5: Composición Fisicoquímica de las Cascaras de Naranja

<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
Sólidos Solubles Totales (°Brix)	7,10 ± 1,2
pH	3,93 ± 0,03
Acidez Total (g de ácido cítrico/100 ml)	0,29 ± 0,03
Índice de Formol	34,00 ± 2,4
Humedad (%)	85,90 ± 1,6
Grasa (%) DM	1,55 ± 0,17
Ceniza (%) DM	3,29 ± 0,19
Proteína (%) DM	6,16 ± 0,23
Carbohidratos (%) DM	89,00 ± 1,1
Azúcares Neutrales	3,80 ± 0,3
Ácido Urónico (%)	7,10 ± 0,9
Lignina (%)	3,20 ± 0,4
Pectina (%) DM	17,00 ± 5,0

DM: Materia Seca

Fuente: SciELO, 2011

## **1.6.- CUANTIFICACIÓN DE MATERIA PRIMA EXISTENTE EN EL DEPARTAMENTO DE TARIJA**

La materia prima que será utilizada para el proceso de obtención de bioetanol consiste en residuos formados por cáscaras de naranja provenientes principalmente del procesamiento de los frutos en fresco, que estarán centralizados en la planta procesadora de cítricos de la localidad de Bermejo y en menor proporción en la ciudad de Tarija como consecuencia del consumo de manera directa por parte de la población del lugar, los mismos que son considerados como materia potencialmente contaminante, sin valor monetario y que debido a la ausencia de conocimientos acerca de sus propiedades útiles no tienen ninguna aplicación comercial en la actualidad.

De acuerdo al censo agropecuario realizado por el Instituto Nacional de Estadística el departamento de Tarija ocupa el quinto lugar en producción de naranja después del departamento de Chuquisaca, sin embargo, debido a la instalación de la nueva planta procesadora de cítricos en Bermejo, se piensa que la disponibilidad de cítricos en el departamento aumentará drásticamente, con el consecuente aumento de sus residuos.

Tomando en cuenta un valor promedio para la cascara del 20,88% (w/w) del peso total por cada naranja (Universidad de las Américas Puebla, 1977), se estimaron las cantidades aproximadas de cáscaras existentes en el departamento de Tarija, los datos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla I-7: Producción Aproximada de Residuos de Naranja en el Departamento de Tarija

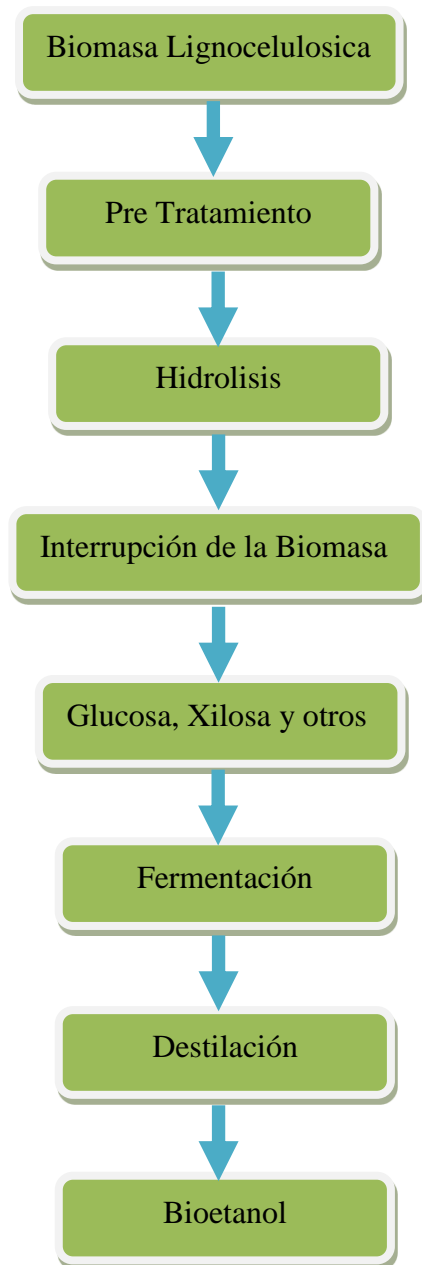
<b>Año</b>	<b>Producción de Naranja (t)</b>	<b>Producción de Cáscaras de Naranja (t)</b>
2009-2010	4656	972,17
2010-2011	4541	948,16
2011-2012	4672	975,51
2012-2013	4609	962,36
2013-2014	4837	1009,96
2014-2015	5025	1049,22
2015-2016	5141	1073,44

Fuente: Elaboración Propia en Base a datos brindados por el Instituto Nacional de Estadística (INE), 2017

### **1.7.- TECNOLOGÍAS EXISTENTES PARA EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE CASCARAS DE NARANJA**

El proceso para la obtención de bioetanol a partir de cáscaras de naranja al igual que para cualquier material lignocelulosico, comprende varias etapas bien definidas a seguir con distintas alternativas para la realización de cada una. El proceso de obtención queda esquematizado en la siguiente figura:

Figura I-9: Proceso de Obtención de Bioetanol de Segunda Generación



Fuente: Jain et al. 2011



### **1.7.1.- PRE TRATAMIENTO**

Se denomina como pre tratamiento al conjunto de acciones que se lleva a cabo para mejorar el rendimiento en la obtención de azúcares fermentables desde la materia prima inicial.

En esta etapa se busca disociar el revestimiento formado por la lignina y la hemicelulosa alrededor de la celulosa con la finalidad de aumentar la accesibilidad de la misma a las enzimas o agentes químicos, las características de la celulosa son alteradas en su estructura tal como el grado de cristalinidad y/o grado de polimerización, se provoca la solubilización y redistribución de la lignina, para lo cual existen varias tecnologías que se clasifican según su naturaleza en físicas, químicas, fisicoquímicas y biológicas.

#### **1.7.1.1.- PRE TRATAMIENTOS MECÁNICOS**

Consiste en emplear la molienda que mediante fuerzas de impacto y corte disminuye la cristalinidad de la celulosa, este método de pre tratamiento implica baja eficiencia en hidrólisis, altos costos energéticos que, generalmente varían según la naturaleza de la materia prima a tratar y el tamaño final de partícula deseado. (Chang y Holtzapfle, 2000)

#### **1.7.1.2.- PRE TRATAMIENTOS QUÍMICOS**

Consisten en emplear sustancias químicas tales como el ozono, ácidos, álcalis y solventes orgánicos. Entre estos es importante destacar los pre tratamientos con ácidos diluidos debido a que mejoran significativamente la hidrólisis enzimática. (Galbe y Zacchi, 2002)

##### **- Oxidación húmeda**

Un pre tratamiento oxidativo consiste en la adición de un compuesto oxidante, como el peróxido de hidrogeno o ácido per acético a la biomasa, que está sumergida en agua. Durante el pre tratamiento oxidativo puede tener lugar reacciones como sustitución electrofílica, el desplazamiento de cadenas

laterales, rompimientos de vínculos de alquil, aril, eter o de núcleos aromáticos. (Hon y Shiraishi, 2001)

- **Tratamientos con ozono**

El ozono ha sido utilizado para degradar la lignina y la hemicelulosa. Se lleva a cabo a condiciones de presión y temperatura ambiental. La degradación es esencialmente limitada a atacar la lignina y hemicelulosa. (Sun y Cheng, 2002).

- **Hidrolisis con Alcalis**

Se lleva a cabo con NaOH diluido donde se sumerge el material lignocelulosico, produciendo un hinchamiento de la biomasa, teniendo lugar reacciones como solvatación y saponificación. Esto provoca un estado de inflamación de la biomasa, lo que la hace más accesible para enzimas y bacterias. Disoluciones de alcalis fuertes dan lugar a hidrolisis alcalina, degradación y descomposición de polisacáridos y rompimiento de radicales finales.

- **Tratamiento con Solventes Orgánicos**

En el proceso, un compuesto orgánico acuoso se mezcla con un ácido inorgánico (HCl o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), este se utiliza para romper el interior de la lignina y puentes de hemicelulosa. Se emplean disolventes orgánicos como metanol, etanol, acetona, etilenglicol, trietilenglicol y alcohol tetrahidrofurfurilico. (Sánchez y Cardona, 2005).

### 1.7.1.3.- PRE TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS

En este tratamiento el material lignocelulósico se somete a la acción de determinadas enzimas o microorganismos, como los hongos de la podredumbre blanca, marrón o blanda. El objetivo es degradar la lignina y la hemicelulosa, eliminando las barreras que protegen la celulosa y haciéndola más accesible al posterior ataque en la hidrólisis. (Fan *et al.*, 1987)

- **Tratamiento con hongos**

Utiliza microorganismos como hongos de podredumbre marrón, blanca y suave para degradar la lignina y hemicelulosa en materiales de desecho. La

podredumbre marrón ataca la celulosa, mientras que la podredumbre blanca y suave ataca tanto la celulosa como la lignina. Hongos de pudrición blanca (basidiomicetos) son los más eficaces para el pre tratamiento biológico de materiales lignocelulosicos. (Fan *et al.*, 1987)

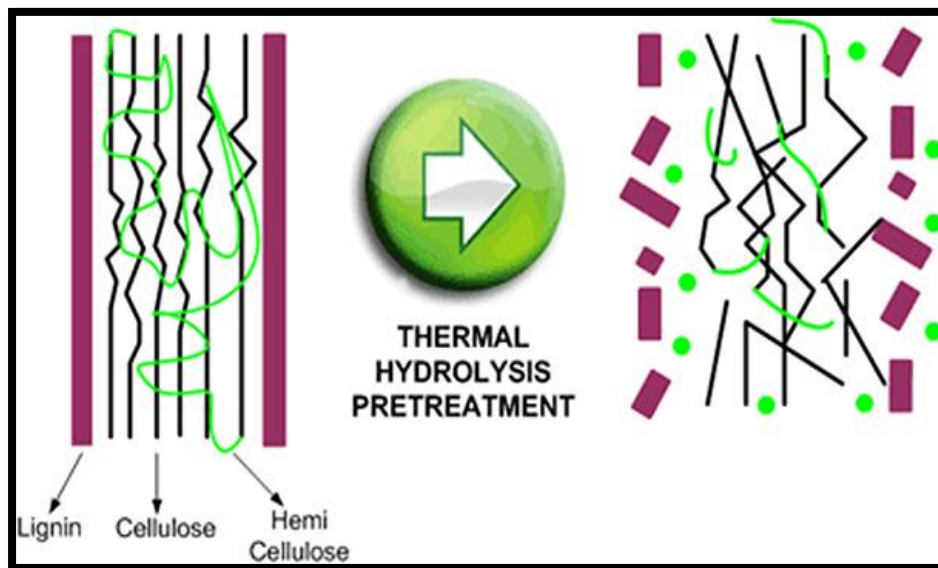
- **Tratamiento con bio-solventes orgánicos**

Emplea solventes orgánicos y hongos, el primero para permitir la acción de hidrolisis en la hemicelulosa y el segundo para la descomposición de la red de lignina. (Itoh *et al.*, 2003)

#### 1.7.1.4.- PRE TRATAMIENTOS TÉRMICOS

En este tipo de pre tratamientos la materia lignocelulósica es calentada generalmente entre un rango de 150 °C a 180 °C, la hemicelulosa y la lignina son solubilizadas, durante los pre tratamientos térmicos una parte de la hemicelulosa es hidrolizada formando ácidos, los mismos que son asumidos como catalizadores en la hidrólisis.

Figura I-10: Pre tratamiento de la Biomasa Lignicelulosica



Fuente: HRS Heat Exchangers, 2018

- **Explosión con Vapor (EV)**

Es un pre tratamiento hidro-térmico en el cual la biomasa es sometida a la acción del vapor saturado a relativamente alta presión durante un determinado tiempo que varía desde unos segundos a varios minutos, seguidamente tiene lugar una rápida descompresión hasta presión atmosférica, como resultado se obtiene biomasa con alteraciones físicas, químicas y una celulosa más accesible al ataque en la hidrólisis (Duff y Murray, 1996)

- **Agua Líquida a Alta Temperatura (LHW)**

Consiste en someter la biomasa lignocelulósica al efecto del agua caliente por un tiempo determinado, lográndose solubilizar principalmente la hemicelulosa de la celulosa de tal forma que sea más accesible y se pueda evitar la formación de inhibidores a un pH ácido. (Kohlmann *et al.*, 1995)

#### **1.7.1.5.- PRE TRATAMIENTOS FISICOQUÍMICOS**

Estos tipos de pre tratamientos se caracterizan por su alta eficiencia cuando se trabajan con materiales lignocelulósicos entre éstos podemos mencionar como los más importantes a los siguientes:

- **Explosión con Vapor de Amoniac (AFEX)**

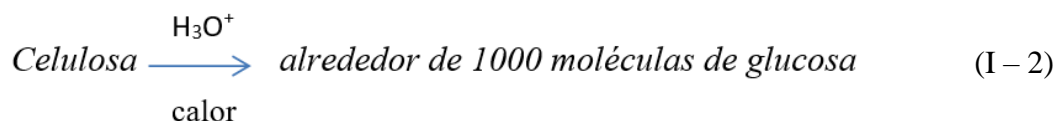
Realizado con cargas de amoniaco entorno de 1:1 a temperaturas que van desde la temperatura ambiente hasta los 120 °C, con una duración de hasta 10 días, por varios minutos. El rendimiento de hidrólisis se aumenta 6 veces y el rendimiento de producción de etanol 2,5 veces. (Alizadeh *et al.*, 2005)

- **Explosión con Anhídrido Carbónico**

Se lleva a cabo a altas presiones y altas temperaturas que oscilan los 200 °C, el proceso dura varios minutos, se producen líquidos; ácidos que hidrolizan especialmente la hemicelulosa, el CO<sub>2</sub> también puede ser aplicado como supercrítico, situación que incrementa el rendimiento de la glucosa causado principalmente por un aumento en el tamaño de los poros (Kim y Hong, 2001).

### 1.7.2.- HIDRÓLISIS

La celulosa no puede ser fermentada directamente; es necesario convertirlas en azúcares más sencillos para su transformación en alcohol. La hidrólisis es un proceso químico que divide la molécula de celulosa por la acción de la molécula de agua. Las complejas estructuras de la celulosa se dividen en diferentes procesos para conseguir una solución azucarada donde el principal componente es la glucosa y eliminar productos de descomposición de los azúcares que pueden inhibir o al menos, dificultar el proceso de fermentación. Principalmente, se realizan procesos de hidrólisis de ácidos concentrados a bajas temperaturas, de ácidos diluidos a altas temperaturas y enzimáticos. (Castells X. 2012)



#### 1.7.2.1.- HIDRÓLISIS CON ÁCIDOS CONCENTRADOS

La hidrólisis con ácidos concentrados permite temperaturas más bajas en el proceso, lo que reduce la cantidad de subproductos y proporciona mayor rendimiento de conversión. Los ácidos concentrados atacan los puentes de hidrógeno existentes entre las cadenas de celulosa provocando la destrucción de su cristalinidad, con lo cual se produce la formación del ión carbonilo intermedio de la etapa de hidrólisis y esta puede transcurrir a temperaturas desde 20 a 50 °C. Las reacciones de degradación son reducidas, lo que permite rendimientos aceptables de conversión de glucosa en tiempos cortos.

Los ácidos se emplean a concentraciones del 70 a 77 % y son generalmente:

- Ácido clorhídrico: Ácido de fácil recuperación, pero muy corrosivo.
- Ácido fluorhídrico: Ácido volátil sin embargo de fácil recuperación, posee un alto nivel de peligrosidad y un alto costo.
- Ácido Sulfúrico: Presenta problemas en su recuperación.

### **1.7.2.2.- HIDRÓLISIS CON ÁCIDOS DILUIDOS**

La hidrólisis química con ácido sulfúrico diluido ha sido ampliamente estudiada, se caracteriza por sus altas tasas de reacción y por realizar una efectiva hidrólisis de la celulosa. Se reportó según estudios realizados que a una temperatura baja la sacarificación tiene bajos rendimientos, sin embargo, a altas temperaturas el tratamiento con ácidos diluidos favorece la hidrólisis de la celulosa mientras que la hemicelulosa es hidrolizada hasta alcanzar aproximadamente un 80 % de conversión. Existen dos condiciones típicas en cuanto al tratamiento con ácidos diluidos se refiere:

- Altas temperaturas comprendidas entre 160 – 200 °C, en procesos continuos con bajas cargas de sólido 5 – 10 % en peso.
- Bajas temperaturas comprendidas entre 120 – 160 °C en procesos con alta carga de sólidos 10 – 40 % en peso.

Este tipo de hidrólisis ácida es exitosamente utilizada en el tratamiento de materiales lignocelulósicos como desechos de maíz, bagazo de caña, maderas y astillas de álamo, paja de trigo y pasto, con concentraciones entre 1- 5% de ácidos tales como  $H_2SO_4$ , HCl,  $HNO_3$ , las variables que comúnmente intervienen en esta operación son la temperatura, concentración del ácido y la razón sólido-líquido.

### **1.7.2.3.- HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA**

La matriz lignocelulósica puede sacarificarse enzimáticamente para obtener azúcares fermentables. Los microorganismos son fuentes potenciales de celulasas y hemicelulasas, que pueden ser utilizadas para la hidrólisis del material lignocelulósico pre tratado. Las celulasas y hemicelulasas son enzimas especializadas en descomponer celulosa y hemicelulosa, estas enzimas las producen microorganismos como bacterias y hongos, que son los principales agentes de descomposición del planeta, sin embargo, el uso de este tipo de hidrolisis resulta en un costo mayor que la hidrolisis acida. (Guarnizo *et at*, 2009).

#### **1.7.2.4.- HIDRÓLISIS Y FERMENTACIÓN SIMULTÁNEA (HFS)**

En este tipo de procedimiento la hidrólisis y la fermentación del sustrato se realizan en un mismo reactor. La levadura junto con la enzima celulolítica reduce la acumulación de azúcares en el reactor, incrementa la tasa de hidrólisis por separado, se requieren condiciones similares de pH, temperatura y concentración óptima de sustrato tanto para la hidrólisis como para la fermentación. (Dekker & Wallis, 1983)

Uno de los problemas asociados a la HFS es la diferencia de temperaturas óptimas para cada proceso, sin embargo, para mitigar este problema se utilizan levaduras termo tolerantes como *Kluyveromices fragilis*, la tasa de sacarificación en el proceso de hidrólisis y fermentación por separado se ve afectada por la inhibición del producto final, mientras que en la HFS la inhibición disminuye debido a que la glucosa es consumida por el microorganismo fermentativo tan pronto como este se desarrolla.

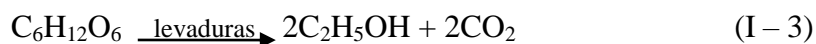
Mediante la HFS los costos del proceso disminuyen debido a la eliminación de una de las etapas y se presentan riesgos menores de contaminación.

Para realizar la fermentación se prepara lo que se llama pie de cuba a partir de levaduras comerciales que son denominadas levaduras secas activas (LSA) éstas son levaduras que vienen en forma de pequeñísimos pellets que necesitan ser hidratados antes de su utilización (García J.2006), para lo cual se parte de una fracción pequeña de materia prima cuyo jarabe se deja fermentar espontáneamente y cuando la fracción está en plena fermentación puede ser utilizada como inóculo para el resto del jarabe.

#### **1.7.3.- FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA**

La fermentación alcohólica es un proceso biológico en plena ausencia de aire, originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general azúcares como ser: la glucosa, la fructosa, la sacarosa, xilosa, etc.) para obtener como productos finales: alcohol en forma de etanol, dióxido de carbono en forma de gas y moléculas de ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico.

La reacción que representa la transformación del azúcar en alcohol es la siguiente:



### 1.7.3.1.- ETAPAS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

**1) Fase de Inducción:** Es aquella durante la cual las levaduras se multiplican y la fermentación empieza a producirse.

**2) Fase Tumulosa:** Se caracteriza por un aumento de dióxido de carbono y elevación de la temperatura, al mismo tiempo que la velocidad de fermentación es máxima.

**3) Fase Lenta:** Durante esta etapa el mosto fermenta a velocidad más baja, debido a que el metabolito empieza a ser tóxico para las levaduras.

Como se ha mencionado los hidrolizados de materiales lignocelulosicos son mezclas complejas de distintos monómeros como pentosas y hexosas, junto con otros compuestos que pueden actuar como inhibidores para microorganismos. La glucosa derivada principalmente de la fracción celulósica, determina toda la posición de la estructura lignocelulosica, es el sustrato más importante que utilizan los microorganismos que pueden producir alcohol a nivel industrial como *Escherichiacoli*, *Corynebacterium glutamicum*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Zimomona mobilis*, *Torulaspora*, las especies de microorganismos que pueden degradar glucosa en alcohol son más comunes que los microorganismos que pueden ser capaces de degradar azúcares derivados de la hemicelulosa (xilosa, arabinosa, manosa, galactosa) además son sustratos menos eficientes en términos de productividad y rendimiento (Jojimaet *al.*, 2010). Es por esto que se deben de elegir microorganismos que posean las siguientes propiedades: fermentación eficiente de pentosas y hexosas de preferencia que sean capaces de digerir estos azúcares simultáneamente, alta tolerancia a los inhibidores, resistencia contra contaminación microbiana, alta productividad y rendimiento.

Algunas de las características usadas para la clasificación de los microorganismos son:

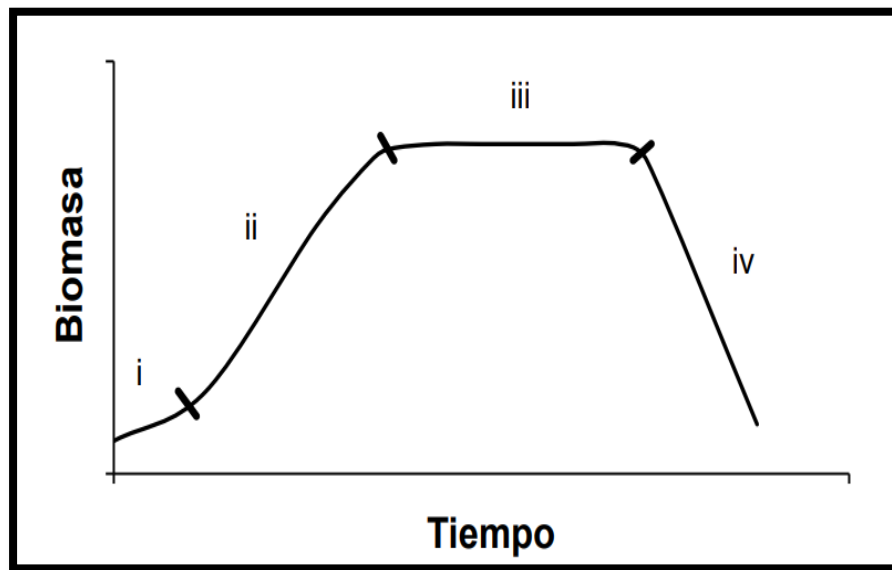


- El tipo de azúcar que pueden fermentar.
- Rendimiento en la producción de alcohol; hay variedades que para producir un grado de alcohol consumen de 17 a 19 g de azúcar, otras en cambio de menor rendimiento necesitan de 21 a 22 g.
- El grado máximo de alcohol que pueden resistir, algunos detienen su actividad al 5% en volumen mientras que otras llegan a 17% o 18% en volumen.

### 1.7.3.2.- CRECIMIENTO MICROBIANO

El comportamiento de la levadura en el tiempo se representa por una curva de crecimiento, la cual consiste de cuatro fases: (Sánchez A. 2011)

Figura I-11: Curva de Crecimiento de la Levadura



Fuente: Sánchez A, 2011

- (i) Fase de Adaptación: Representa el periodo de adaptación de la levadura a las nuevas condiciones nutricionales y ambientales. En esta fase no existe

aumento en el número de células debido a que la levadura utiliza la energía disponible para sintetizar las enzimas que requiere para su desarrollo en el nuevo medio.

- (ii) Fase logarítmica o exponencial: En esta fase las células se multiplican de manera exponencial. La velocidad de crecimiento puede ser cuantificada con base al número de células que se producen por unidad de tiempo. La fase termina cuando los nutrientes se agotan, las condiciones ambientales se modifican o cuando la célula produce metabolitos tóxicos que inhiben su reproducción.
- (iii) Fase estacionaria: En esta fase la velocidad de crecimiento de la levadura es igual a la velocidad de muerte. Una vez que se obtiene la máxima concentración de células, la producción de etanol disminuye.
- (iv) Fase de muerte: Es la fase en la que el número de muertes es mayor al número de nuevas células formadas. Esta fase continúa hasta que la población disminuye a una pequeña fracción de células resistentes o hasta que todas las células mueren.

### **1.7.3.3.- LIMITACIONES DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA**

La determinación de los factores que limitan la glucólisis fermentativa del etanol son complejos debido a la interrelación existente y a la naturaleza de los parámetros intervinientes durante el proceso de fermentación. Algunos de ellos se deben tener en cuenta en la fermentación alcohólica industrial. En las limitaciones que surgen durante el proceso se pueden enumerar como algunos de los más importantes:

- **Concentración de etanol resultante:** Una de las principales limitaciones del proceso, es la resistencia de las levaduras a las concentraciones de etanol (alcohol) que se llegan a producir durante la fermentación, algunos microorganismos como el *saccharomyces cerevisiae* pueden llegar a soportar hasta el 20% de concentración en volumen.

- **Acidez del substrato:** El pH es un factor limitante en el proceso de la fermentación ya que las levaduras se encuentran afectadas claramente por el ambiente, bien sea alcalino o ácido. Por regla general el funcionamiento de las levaduras está en un rango que va aproximadamente desde 3,5 a 5,5 pH.
- **Concentración de azúcares:** La concentración excesiva de hidratos de carbono en forma de monosacáridos y disacáridos puede frenar la actividad bacteriana. De la misma forma la baja concentración puede frenar el proceso. Las concentraciones límite dependen del tipo de azúcar, así como de la levadura responsable de la fermentación.
- **Contacto con el aire :** Una intervención de oxígeno (por mínima que sea) en el proceso lo detiene por completo (es el denominado Efecto Pasteur). Esta es la razón por la que los recipientes fermentadores se cierran herméticamente.
- **La temperatura:** El proceso de fermentación es exotérmico, y las levaduras tienen un régimen de funcionamiento en unos rangos de temperatura óptimos, se debe entender además que las levaduras son seres mesófilos. La mayoría cumple su misión a temperaturas de 30 °C.
- **Ritmo de crecimiento de las cepas:** Durante la fermentación las cepas crecen en número debido a las condiciones favorables que se presentan en el medio, esto hace que se incremente la concentración de levaduras.

#### 1.7.3.4.- LEVADURAS

Las levaduras son microorganismos unicelulares y con formas variables (esféricas, ovaladas, cilíndricas). Pueden tener 2 a 100 micras de longitud y de 2 a 10 micras de diámetro. Poseen un núcleo, citoplasma, pared celular y membrana citoplasmática. En el citoplasma puede haber una o más vacuolas, que son bolsas con material de reserva (azúcares, grasas) o con productos de desecho del metabolismo celular. La membrana citoplasmática es semipermeable, dejando la entrada para los elementos nutritivos que necesita la célula y permitiendo la salida de los desechos de la misma (García, J. 2006).

### ➤ **Sacharomyces Cerevisiae**

Es una levadura (hongo unicelular) heterótrofa, que obtiene energía a partir de fuentes de carbono que varían desde aminoácidos hasta distintas variedades de azúcares tales como: glucosa, fructosa, manosa, galactosa, sacarosa, maltosa y rafinosa. En su ciclo de vida alternan dos formas, una haploide y otra diploide, ambas formas se reproducen de forma asexual por gemación.

Las utilidades industriales más importantes de esta levadura son la producción de cerveza, pan, vino, kumis, gracias a su capacidad de generar CO<sub>2</sub> y etanol durante el proceso de fermentación.

Una de las especies de levadura más importante en la producción de alcohol como se mencionó anteriormente es la *Sacharomyces Cerevisiae*, ya que es la responsable de la fermentación de la mayor parte de los azúcares del sustrato. Su poder alcoholígeno es elevado y es muy resistente.

Presenta las siguientes características:

- El estrés osmótico puede causar una disminución en el volumen celular, la velocidad de la fermentación y viabilidad celular.
- Fermenta en condiciones anaerobias, en intervalos de temperatura de 30-37 °C
- Soportan medios más ácidos que otros microorganismos que se desarrollan usualmente en un pH de 4 y 5, lo que es aprovechado en la industria para mantener el medio controlado de bacterias que puedan competir por el sustrato.
- Tolera concentraciones de etanol de hasta un 20 %
- Tiene una productividad aproximadamente de 3,3 g etanol/Lh
- Alta tolerancia a inhibidores presentes en hidrolizados de materiales lignocelulósicos.
- Tasa de crecimiento celular aproximadamente de 5 a 6 h<sup>-1</sup>
- Tolera concentraciones de glucosa de hasta 15 % (v/v)

### **1.7.3.5.- BACTERIAS**

Son microorganismos unicelulares procariotes que pueden provocar enfermedades, fermentaciones o putrefacción en los seres vivos o materias orgánicas, carecen de orgánulos internos, pueden tener forma de barra, esfera o hélice. La mayoría presentan un tamaño diez veces menor que el de las células eucariotas entre 0,5 y 5  $\mu\text{m}$ , el núcleo lleva el material genético formado por un único filamento de ADN, los ribosomas son elementos granulados que se hallan contenidos en el citoplasma bacteriano compuestos por ARN y por último el citoplasma contiene inclusiones de reserva.

➤ **Zimomona Mobilis**

Es una bacteria Gram-negativa, anaerobia facultativa que lleva a cabo el metabolismo de la glucosa mediante la ruta de Entner-Doudoroff. Aporta la ventaja de que el 98% de la glucosa metabolizada se convierte en etanol y  $\text{CO}_2$  equimolarmente y solo el 2% de la glucosa se va a biomasa, de ahí que se obtenga 1 mol de ATP por mol de glucosa fermentada.

Presenta las siguientes características:

- Tolera altas concentraciones de glucosa de hasta 300 g/L
- Tolera altas concentraciones de etanol de hasta 16% (v/v)
- Mayor absorción de azúcar y rendimiento de etanol de 0,48 g etanol/g glucosa
- Alta tasa específica de crecimiento microbiano de 10-13  $\text{h}^{-1}$
- Posee una productividad de aproximadamente 4,3 g etanol/Lh
- Baja producción de biomasa
- Su necesidad nutricional es simple

Desventajas:

A pesar de las significativas ventajas que ofrece *Zimomona Mobilis*, varios factores impiden su uso comercial en la producción de bioetanol.

- La gama de sustratos que puede catabolizar se limitan a glucosa, fructosa y sacarosa considerados costosos.
- No es capaz de fermentar azúcares C5 como xilosa y arabinosa que son componentes importantes de hidrolizados lignocelulósicos.
- A diferencia de las levaduras y E. coli, Zimomona Mobilis no puede tolerar los inhibidores tóxicos presentes en los hidrolizados lignocelulósicos tales como ácido acético y compuestos fenólicos. La concentración de ácido acético en hidrolizados lignocelulósicos puede ser tan alta como 1,5 % (w/w), cifra muy por encima del umbral de tolerancia de Z.mobilis.
- Requiere de un pH más elevado que las levaduras, por lo cual existe riesgo de contaminación.

#### **1.7.4.- DESTILACIÓN**

La destilación es básicamente un método físico utilizado para la purificación de líquidos y la separación de mezclas mediante la aplicación del calor con el fin de obtener sus componentes individuales, basado fundamentalmente en la diferencia de volatilidades de los componentes en la mezcla. (TP- Laboratorio Químico, s.f)

El bioetanol se obtiene por fermentación de medios azucarados hasta lograr un grado alcohólico alrededor del 10 – 15%, concentrándose por destilación para la obtención del alcohol hidratado o llegar hasta el alcohol absoluto tras un proceso específico de deshidratación.

##### **1.7.4.1.- DESTILACIÓN SIMPLE**

Se usa para separar líquidos con puntos de ebullición inferiores a 150 °C de impurezas no volátiles, o bien para separar mezclas de dos componentes que hiervan con una diferencia de puntos de ebullición de al menos 60-80 °C. Mezclas de sustancias cuyos puntos de ebullición difieren de 30-60 °C se pueden separar por destilaciones sencillas repetidas. Para que la ebullición sea homogénea y no se produzcan proyecciones se introduce en el matraz un trozo de plato poroso.

El líquido que se quiere destilar se pone en el matraz (que no debe llenarse mucho más de la mitad de su capacidad) y se calienta con la placa calefactora. Cuando se alcanza la temperatura de ebullición de la mezcla líquida comienza la producción apreciable de vapor, condensándose parte del mismo en el termómetro y en las paredes del matraz. La mayor parte del vapor pasa al refrigerante donde se condensa debido a la corriente de agua fría que asciende por la camisa de este, el destilado (vapor condensado) escurre al matraz colector a través de la alargadera. (Fernández, G. 2012)

La destilación convencional separa la mayor parte del agua, llegando a una concentración máxima de 95,60 % en peso de etanol, con un punto de ebullición a presión atmosférica (1 atm) de 78,20 °C; este punto constituye el límite de separación correspondiente a este tipo de operación debido a la formación del azeótropo en la mezcla.

#### **1.7.4.2.- DESTILACIÓN EXTRACTIVA CON EFECTO SALINO**

Tradicionalmente la separación del sistema etanol-agua se realiza con destilación azeotrópica, usando benceno, pentano o dietil éter como solventes, o mediante destilación extractiva empleando etilenglicol o gasolina; éstas tecnologías sin embargo involucran altos costos de capital y operación además de los problemas ambientales junto con el riesgo para la salud de las personas que supone el manejo de los solventes empleados.

Para romper el azeótropo también se puede aprovechar el efecto salino, el cual se presenta cuando una sal se disuelve en una solución de líquidos y altera el equilibrio termodinámico, e incluso puede afectar la solubilidad del sistema. Dado que la sal es un compuesto de naturaleza no volátil solo está presente en la fase líquida mientras que el vapor en equilibrio tiene la mayor concentración del componente en el cual la sal es menos soluble.

La destilación extractiva con una combinación de sal y solvente como agente de separación permite obtener productos de alta pureza; este proceso integra destilación

extractiva tradicional con el principio del efecto salino, en donde la disolución de la sal, la reutilización y el transporte son mejorados por el solvente, con la ventaja adicional de que la cantidad de agente de separación necesaria se reduce en un 500%, lo cual reduce los requerimientos energéticos.

Actualmente se conocen varios procesos que usan sales disueltas en etilenglicol, sin embargo, debido a las restricciones que se deben tener por seguridad industrial con relación al manejo del etilenglicol se está investigando otros tipos de solventes como agentes de separación técnicamente factibles, rentables y menos riesgosos como por ejemplo el polialcohol PAW con sal de cloruro de calcio usado en la ruptura del azeótropo agua-etanol. (Vásquez, C. 2007)

## **CAPÍTULO II**

### **PARTE EXPERIMENTAL**



## 2.1.- MATERIA PRIMA

Como materia prima se utilizó residuos de naranja, los mismos que para este caso particular de estudio, fueron generados en expendios de jugos, bebidas y postres derivados de frutas, los cuales están situados mayormente de manera ambulante en distintas zonas de la ciudad de Tarija.

Figura II-1: Expendios de Comidas a Base de Frutas



Fuente: Elaboración propia, 2018

Se reunió aproximadamente 4 kilogramos de cascaras de naranja de los expendios citados, dicha materia prima no tuvo costo alguno, fue recogida a la celeridad de su generación y transportada en bolsas de polipropileno debidamente cerradas hasta el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la U.A.J.M.S.

### **2.1.1.- ELIMINACION DE LAS CASCARAS DE NARANJA EN EXPENDIOS COMERCIALES**

Estos residuos son recogidos en algunos lugares del centro de la ciudad por el encargado de la empresa de aseo del departamento de Tarija (DMAT) para ser destinados en la elaboración de abono mediante compostaje, mientras que los residuos (cascara de naranja) restantes de la ciudad son depositados en contenedores y trasladados a botaderos como desechos orgánicos para su disposición final.

### **2.1.2.- DETERMINACION DE LOS PARAMETROS FISICOS Y QUIMICOS DE LAS CASCARAS DE NARANJA**

Se determinaron parámetros básicos de la materia prima a emplear, tales como contenido de humedad, azúcares reductores, azúcares totales, para ello se realizaron una serie de operaciones de adecuación, las mismas que se detallan en apartados posteriores.

Se determinó el contenido de humedad en las instalaciones del Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID). Para tal operación se utilizaron los recipientes propios del equipo de secado, previamente lavados con agua destilada y secados; seguidamente se pesaron aproximadamente 10 gramos por muestra sin compactar y se introdujo en el secador a 105 °C, el equipo muestra datos de % de humedad, tiempo de secado, velocidad de secado y masa de sólido, para garantizar la veracidad de los resultados obtenidos se realizaron pruebas por duplicado

Figura II-2: Determinación de Humedad de las Cascaras de Naranja



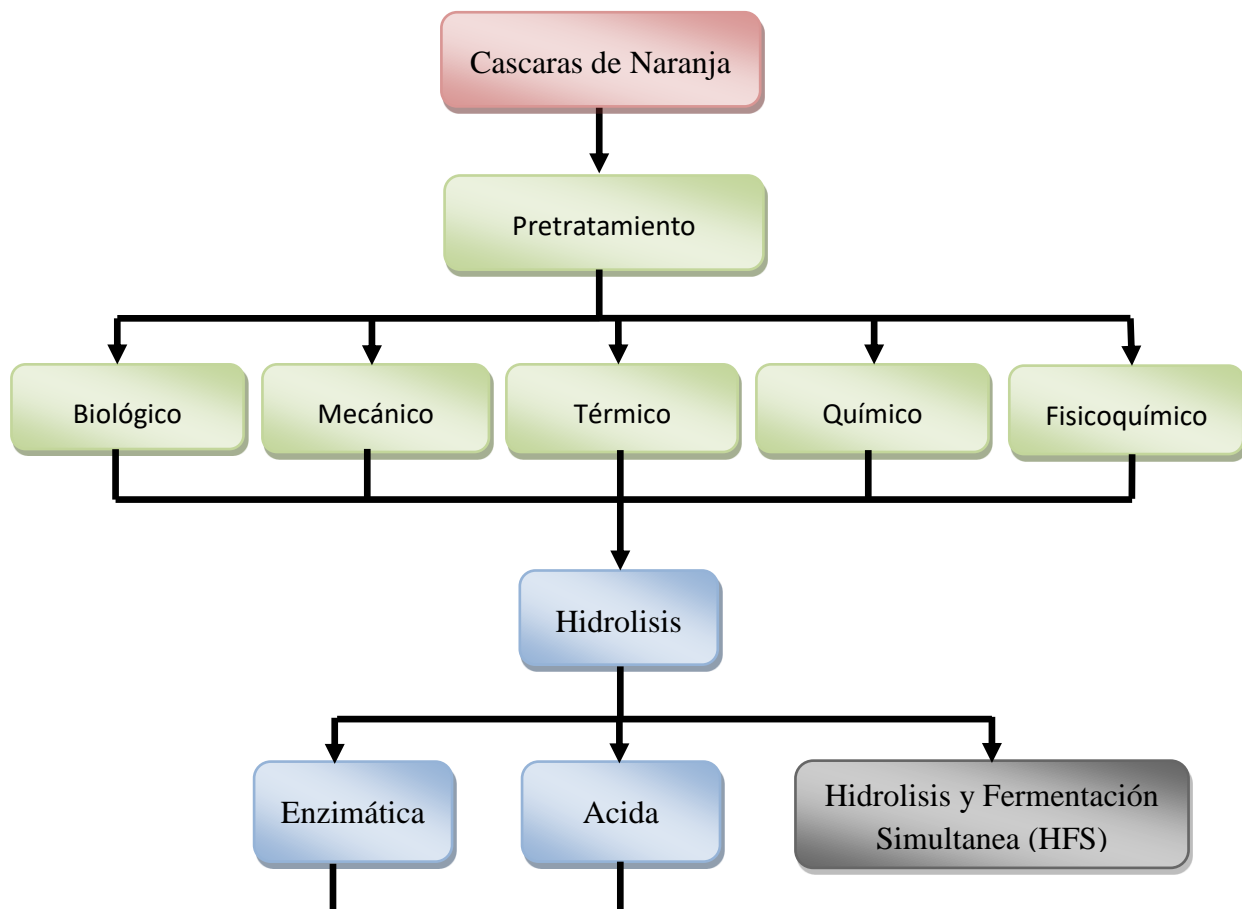
Fuente: Elaboración propia, 2018

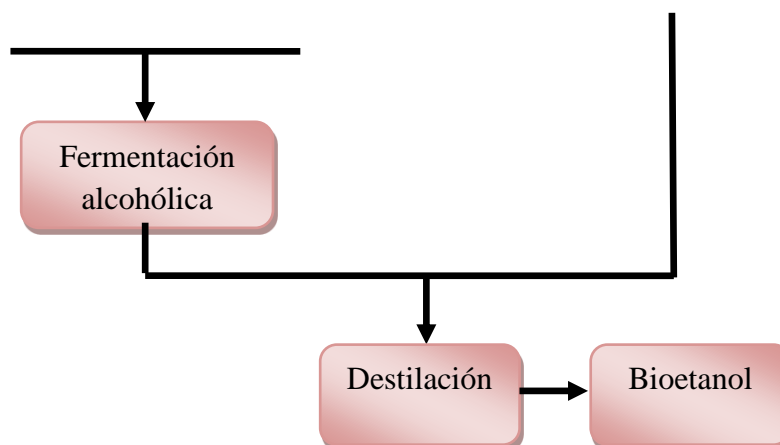
La determinación de azúcares totales y reductores de la materia prima se realizó en el Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID), para lo cual se pesó 50 g de materia en un recipiente plástico y se envió a dicho establecimiento para su análisis.

## **2.2.- SELECCIÓN DE LAS ETAPAS A EMPLEAR PARA EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE CASCARA DE NARANJA**

Tal como se expuso en apartados anteriores, existen varias opciones alternas para cada una de las etapas que conforman el proceso de obtención de bioetanol a partir de materia lignocelulósica, razón por la cual es necesario analizar las características, ventajas, desventajas de cada una de ellas y realizar la selección correspondiente para conformar el proceso más adecuado a emplear.

Figura II-3: Etapas Alternativas a Seleccionar en el Proceso de Obtención de Bioetanol





Fuente: Elaboración propia, 2018

### 2.2.1.- SELECCIÓN DE LA ETAPA DE PRE TRATAMIENTO

Los factores a tomar en cuenta para la selección de la operación de pretratamiento en la obtención de bioetanol utilizando cáscaras de naranja, se establecen a continuación con sus respectivos puntajes a asignar.

Tabla II-1: Factores a Evaluar en la Matriz de Selección del Pre tratamiento a Emplear

<b>Factor Evaluado</b>	<b>Comentario</b>	<b>Ponderación P %</b>
Disponibilidad de Tecnología	Existencia de materiales y equipos implicados en la operación	25
Costo	Los costos deben ser los más bajos posibles	20
Eficiencia	Eficiencia aceptable en la disolución de la lignina y posterior hidrólisis	25
Formación de Inhibidores	Baja o nula formación de agentes inhibidores	20

Tiempo	Tiempos de residencia cortos	10
--------	------------------------------	----

Fuente: Elaboración Propia, 2018

Los parámetros de mayor relevancia en esta etapa en orden descendente son:

- Disponibilidad de Tecnología (25%): Es importante que el equipo a emplear este ampliamente difundido de tal manera que exista el acceso a esta tecnología para que la etapa pueda llevarse a cabo en óptimas condiciones.
- Eficiencia (25%): Es fundamental para justificar esta etapa la alta eficiencia en la disolución de la lignina para mejorar el hidrolisis de azúcares.
- Costo (20%): Es un factor importante a la hora de seleccionar una etapa de proceso debido a que el costo de una operación determina la rentabilidad de la elaboración del producto.
- Formación de Inhibidores (20%): Los inhibidores que se puedan formar por la ejecución de una determinada etapa afectan directamente en el proceso de fermentación alcohólica reduciendo la producción de etanol.
- Tiempo (10%): Factor menos relevante, sin embargo, se deben considerar que la etapa seleccionada tenga un tiempo de residencia corto para reducir costos y aumentar la producción.

Tabla II-2: Escala de Puntaje de Cumplimiento en la Matriz de Selección del Pre tratamiento a Emplear

<b>Puntaje Asignado</b>					
<b>Puntaje 1 - 10</b>	1	3	5	8	10
	No aplicable	Muy poco aplicable	Poco aplicable	Medianamente aplicable	Aplicable
<b>PC</b>	Puntaje de cumplimiento en cada alternativa para cada factor				

Fuente: Elaboración Propia, 2018

Tomando en cuenta los aspectos anteriormente citados, de acuerdo a una preselección se consideran como las opciones más viables a ser evaluadas en la matriz de decisión las siguientes:

- Explosión con Vapor (EV)
- Agua Líquida a Alta Temperatura (LHW)
- Pre tratamientos Químicos
- Pre tratamientos Mecánicos

Tabla II-3: Matriz de Selección del Pretratamiento a Emplear en el Proceso de Obtención de Bioetanol

Factor Evaluado	Explosión con vapor (EV)			Agua líquida a alta temperatura (LHW)			Pretratamientos Mecánicos			Pretratamientos Químicos		
	Descripción	PC 1-10	Ponderación P*PC	Descripción	PC 1-10	Ponderación P*PC	Descripción	PC 1-10	Ponderación P*PC	Descripción	PC 1-10	Ponderación P*PC
Disponibilidad de Tecnología	Nivel alto	10	2,5	Nivel bajo	3	0,75	Nivel medio	8	2	Nivel bajo	3	0,75
Costo	Bajo costo	10	2	Costo moderado	8	1,6	Elevado costo energético	3	0,6	Elevado costo de reactivos	8	0,6
Eficiencia	< eficiencia que LHW	8	1,25	Alta eficiencia	10	2	Baja eficiencia	3	0,75	Alta eficiencia	10	2,5
Formación de Inhibidores	Generación de inhibidores	5	1	Baja o nula formación	8	1,6	No se forman inhibidores	10	2	Riesgo de formación de inhibid	3	0,6



										ores		
Tiempo	Corto tiempo de operación	10	1	>tiempo que EV	8	0,8	Tiempos moderadamente altos	5	0,5	Tiempos bajos a moderados	8	0,8
<b>Total</b>			<b>7,75</b>			<b>6,75</b>			<b>5,85</b>			<b>5,25</b>

Fuente: Elaboración Propia, 2018

Tomando en cuenta cada uno de los factores considerados de importancia para la operación de pretratamiento en la obtención de bioetanol a partir de cáscaras de naranja, la opción más adecuada es el pre tratamiento con explosión con vapor con un puntaje igual a 7,75.

### 2.2.2.- SELECCIÓN DE LA ETAPA DE HIDROLISIS A EMPLEAR

Los factores a tomar en cuenta para la selección de la operación de hidrólisis en la obtención de bioetanol utilizando cáscaras de naranja, se establecen a continuación con sus respectivos puntajes a asignar.

Tabla II-4: Factores a Evaluar en la Matriz de Selección de Hidrólisis a Emplear

<b>Factor Evaluado</b>	<b>Comentario</b>	<b>Ponderación P %</b>
Disponibilidad de Tecnología	Existencia de materiales y equipos implicados en la operación	20
Costo	Los costos deben ser los más bajos posibles	25
Eficiencia de conversión	Alta eficacia de conversión de celulosa a glucosa	25
Formación de Inhibidores	Baja formación de agentes inhibidores	20
Tiempo	Tiempos de residencia cortos	10

Fuente: Elaboración Propia, 2018

Los aspectos de mayor relevancia que se tomaron en cuenta se citan a continuación en orden decreciente:

- **Eficiencia de Conversión:** Factor esencial en esta etapa, debido a que el objetivo buscado es convertir en lo posible la totalidad de la celulosa presente en la materia prima a glucosa para lograr jarabes ricos en azúcares fermentables y obtener un buen rendimiento en la producción de etanol.

- **Costo:** El costo debe ser el menor posible para no encarecer el proceso y afectar la rentabilidad en la elaboración del producto.
- **Disponibilidad de Tecnología:** Los equipos, materiales o reactivos implicados deben tener una amplia difusión para que se pueda tener acceso a la tecnología necesaria y llevar a cabo la etapa en óptimas condiciones.
- **Formación de Inhibidores:** Al igual que en la etapa anterior la formación de inhibidores en lo posible debe ser nula o en su defecto mínima para no disminuir el rendimiento del producto.
- **Tiempo:** El tiempo de retención debe ser lo más corto posible para no incurrir en gastos excesivos que afecten la rentabilidad del producto.

Tabla II-5: Escala de Puntaje de Cumplimiento en la Matriz de Selección de Hidrólisis a Emplear

<b>Puntaje Asignado</b>					
<b>Puntaje 1 - 10</b>	1	3	5	8	10
	No aplicable	Muy poco aplicable	Poco aplicable	Medianamente aplicable	Aplicable
<b>PC</b>	Puntaje de cumplimiento en cada alternativa para cada factor				

Fuente: Elaboración Propia, 2018

Tabla II-6: Matriz de Selección de Hidrólisis a Emplear en el Proceso de Obtención de Bioetanol

Factor Evaluado	Hidrólisis con Ácido Concentrado			Hidrólisis con Ácido Diluido			Hidrólisis Enzimática		
	Descripción	PC 1-10	Ponderación P*PC	Descripción	PC 1-10	Ponderación P*PC	Descripción	PC 1-10	Ponderación P*PC
Disponibilidad de Tecnología	Nivel moderado	5	1	Nivel alto	8	1,6	Nivel bajo	3	0,6
Costo	Altos costos involucrados	3	0,75	<Costo relativo	8	2	Costos elevados	5	1,25
Eficiencia de conversión	Alta eficiencia	10	2,5	Alta eficiencia	10	2,5	Menor eficiencia	8	2
Formación de Inhibidores	Formación de inhibidores	3	0,6	Riesgos de formación de inhibidores	5	1	Baja o nula formación de inhibidores	8	1,6
Tiempo	Tiempos cortos de retención	10	1	> tiempo que a mayor conc.	8	0,8	Tiempo prolongado de operación	5	0,5
<b>Total</b>			<b>5,85</b>			<b>7,9</b>			<b>5,95</b>

Fuente: Elaboración Propia, 2018

Tomando en cuenta cada uno de los factores considerados de importancia para la operación de hidrólisis de azúcares en la obtención de bioetanol a partir de cáscaras de naranja, la opción más adecuada es la *hidrólisis con ácido diluido* a alta temperatura con un puntaje igual a 7,9.

### **2.2.3.- SELECCIÓN DEL MICROORGANISMO A EMPLEAR EN LA ETAPA DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA**

Los factores a tomar en cuenta para la selección del microorganismo a emplear durante la etapa de fermentación alcohólica en la obtención de bioetanol utilizando cáscaras de naranja, se establecen a continuación con sus respectivos puntajes a asignar.

Tabla II-7: Factores a Evaluar en la Matriz de Selección del Microorganismo Fermentador a Emplear

<b>Factor Evaluado</b>	<b>Comentario</b>	<b>Ponderación P %</b>
Concentración de azúcar tolerable	Alta tolerancia a cantidades significativas de glucosa	15
Resistencia a sustancias inhibidoras de hidrólisis	Microorganismo resistente a contaminantes del medio	20
Productividad	Alto nivel de conversión en periodos cortos de tiempo	15
Eficiencia	Elevado nivel de conversión en etanol	15
Concentración de etanol tolerable	Alta tolerancia a cantidades significativas de etanol	15

Condiciones óptimas requeridas del medio	Las más ácidas posibles para evitar competencia por el sustrato	20
--	---	----

Fuente: Elaboración Propia, 2018

Los aspectos de mayor relevancia que se tomaron en cuenta se citan a continuación en orden decreciente:

- **Resistencia a Sustancias Inhibidoras de Hidrolisis:** En la etapa anterior de hidrolisis de azúcares mediante ácido diluido, suelen formarse sustancias inhibidoras para los microorganismos fermentadores como el hidroximetil furfural, que ocasiona el rendimiento de producción de etanol en la fermentación.
- **Condiciones Óptimas Requeridas del Medio:** Las condiciones del medio deben ser favorables en lo posible solamente para los microorganismos productores de etanol y no así para otros seres vivos que puedan consumir el sustrato y reducir el rendimiento del producto.
- **Concentración Tolerable de Etanol:** El microorganismo fermentador a emplear debe ser capaz de resistir altas concentraciones de etanol para no detener su actividad y aumentar la producción.
- **Concentración de Azúcar Tolerable:** Debe existir en lo posible una alta concentración de azúcar en el medio para que las cantidades de etanol producido sean significativas, razón por la cual el microorganismo debe ser capaz de tolerar dichas condiciones.
- **Productividad:** La productividad del microorganismo fermentador empleado debe ser elevada, es decir que la cantidad de ml de etanol producidos por gramo de glucosa corto tiempo es considerable.
- **Eficiencia:** El microorganismo fermentador debe ser capaz de registrar altos niveles de conversión de glucosa a etanol y en lo posible fermentar la mayor

cantidad de azúcares presentes en la solución azucarada (xilosa, arabinosa, manosa, galactosa, etc)

Tabla II-8: Escala de Puntaje de Cumplimiento en la Matriz de Selección del Microorganismo a Emplear

<b>Puntaje Asignado</b>					
<b>Puntaje 1 – 10</b>	1	3	5	8	10
	No aplicable	Muy poco aplicable	Poco aplicable	Medianamente aplicable	Aplicable
<b>PC</b>	Puntaje de cumplimiento en cada alternativa para cada factor				

Fuente: Elaboración Propia, 2018

Tabla II-9: Matriz de Selección del Microorganismo Fermentador a Emplear en el Proceso de Obtención de Bioetanol

<b>Factor Evaluado</b>	<b>Sacharomyces Cerevisiae</b>			<b>Zimomona Mobilis</b>		
	<b>Descripción</b>	<b>PC 1-10</b>	<b>Ponderación P*PC</b>	<b>Descripción</b>	<b>PC 1-10</b>	<b>Ponderación P*PC</b>
Concentración de azúcar tolerable	15 % de ART	8	1,2	20 % de ART	10	1,5
Resistencia a sustancias inhibidoras de hidrólisis	Alto nivel de resistencia	8	1,6	Suceptibles a compuestos fenolicos	5	1

Productividad	Moderada productividad	8	1,2	Alta productividad	10	1,5
Eficiencia	Moderada eficiencia	8	1,2	Alta eficiencia	10	1,5
Concentración de etanol tolerable	Tolerancia hasta 8 %	8	1,2	Tolerancia hasta 16 %	10	1,5
Condiciones óptimas requeridas del medio	pH < 4	10	2	pH > 4	5	1
<b>Total</b>			<b>8,4</b>			<b>8</b>

Fuente: Elaboración Propia, 2018

Tomando en cuenta cada uno de los factores considerados de importancia para la operación de fermentación alcohólica de azúcares en la obtención de bioetanol a partir de cáscaras de naranja, el microorganismo más adecuado a emplear es la levadura *Saccharomyces Cerevisiae* con un puntaje igual a 8,4.

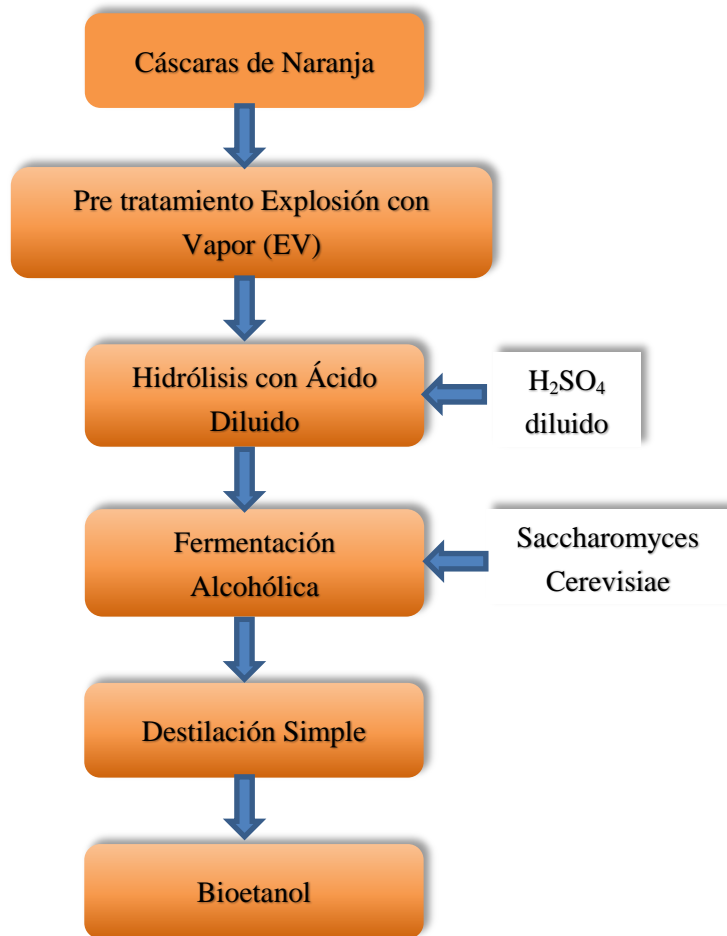
*Debido al limitante en los objetivos propuestos del presente trabajo, el proceso seleccionado no incluye la deshidratación del etanol para ser empleado como biocombustible, razón por la cual para separar el etanol del mosto fermentado se opta por emplear la operación de destilación simple*



#### 2.2.4.- PROCESO SELECCIONADO A EMPLEAR EN LA OBTENCION DE BIOETANOL A PARTIR DE MATERIA RESIDUAL DE NARANJA

Una vez analizadas las experimentaciones realizadas con cada una de las etapas alternas seleccionadas que se mostraron anteriormente, se puede establecer el proceso global para la obtención de bioetanol a partir de cáscaras de naranja, el mismo que se esquematiza en la siguiente figura:

Figura II-4: Etapas Seleccionadas para el Proceso de Obtención de Bioetanol a partir de Cáscaras de Naranja



Fuente: Elaboración Propia, 2018

### 2.3.- DISEÑO EXPERIMENTAL

En la presente investigación se presentan dos diseños factoriales, correspondientes a las etapas de hidrólisis con ácidos diluidos y fermentación alcohólica, los cuales se describen a continuación.

#### 2.3.1.- DISEÑO FACTORIAL PARA LA ETAPA DE HIDRÓLISIS ÁCIDA

La operación de hidrólisis mediante ácido diluido, se realizará a una temperatura aproximada de 85 °C a presión atmosférica. El reactivo a emplear es ácido sulfúrico en concentraciones de 4 y 7 %, durante tiempos de reacción de 4 horas y 8 horas.

Se utilizará materia pre tratada de cáscara de naranja, en proporción de 2 gramos de materia prima por cada 100 ml de solución acuosa de ácido sulfúrico en las concentraciones anteriormente citadas, la variable de respuesta identificada corresponde a la cantidad de sólidos solubles totales (° Brix), establecida por eficacia y bajo costo de realización de tal forma que el diseño experimental correspondiente a esta etapa de proceso queda definido de la siguiente manera:

$$2^2 = 4 * 2 \text{ repeticiones} = 8 \text{ experimentos}$$

Las variables involucradas con sus respectivos niveles y códigos se muestran a continuación:

Tabla II-10: Diseño Experimental de la Etapa de Hidrólisis Ácida

Variable	Nivel	Código
Concentración del Ácido (%)	- 4 % (-1)	C <sub>1</sub>
	- 7 % (+1)	C <sub>2</sub>
Tiempo de Reacción (h)	- 4 h (-1)	t <sub>1</sub>
	- 8 h (+1)	t <sub>2</sub>
Variable de Respuesta	Sólidos solubles totales (° Brix)	

Fuente: Elaboración propia, 2018

Tabla II-11: Combinación de las Variables en la Hidrólisis Ácida

Material a Hidrolizar	Nº	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)		Tiempo (h)		Respuesta (1)	Respuesta (2)
Cáscaras de Naranja	1	C <sub>1</sub> = 4	-1	t <sub>1</sub> = 4	-1	R <sub>1</sub> (C <sub>1</sub> , t <sub>1</sub> )	R <sub>2</sub> (C <sub>1</sub> , t <sub>1</sub> )
	2	C <sub>2</sub> = 7	+1	t <sub>1</sub> = 4	-1	R <sub>1</sub> (C <sub>2</sub> , t <sub>1</sub> )	R <sub>2</sub> (C <sub>2</sub> , t <sub>1</sub> )
	3	C <sub>1</sub> = 4	-1	t <sub>2</sub> = 8	+1	R <sub>1</sub> (C <sub>1</sub> , t <sub>2</sub> )	R <sub>2</sub> (C <sub>1</sub> , t <sub>2</sub> )
	4	C <sub>2</sub> = 7	+1	t <sub>2</sub> = 8	+1	R <sub>1</sub> (C <sub>2</sub> , t <sub>2</sub> )	R <sub>2</sub> (C <sub>2</sub> , t <sub>2</sub> )

Fuente: Elaboración propia, 2018

### 2.3.2.- DISEÑO FACTORIAL PARA LA ETAPA DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

El procedimiento correspondiente a la fermentación alcohólica se llevará a cabo empleando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, la cual será inoculada en los jarabes glucosados obtenidos en la etapa de hidrólisis anterior (B1, B2) con las mayores concentraciones de sólidos solubles totales (° Brix) manteniendo una temperatura de 37 °C, El pH del medio será aproximadamente de 3,5 y de 4,5.

La variable de respuesta identificada como principal, por considerarse de mayor interés en el proceso investigado son los grados Gay Lussac (° GL) que refleja la concentración porcentual en volumen del bioetanol producido por las levaduras. El diseño experimental correspondiente a esta etapa del proceso queda definido de la siguiente manera:

$$2^2 = 4 * 2 \text{ repeticiones} = 8 \text{ experimentos}$$

Las variables involucradas con sus respectivos niveles y códigos se muestran a continuación en la siguiente tabla:

Tabla II-12: Diseño Experimental de la Etapa de Fermentación Alcohólica

Variable	Nivel	Código
Concentración de Sólidos Solubles (° Brix)	- ° Brix (-1)	B <sub>1</sub>
	- ° Brix (+1)	B <sub>2</sub>
Acidez del medio (pH)	- 3,5 (-1)	P <sub>1</sub>
	- 4,5 (+1)	P <sub>2</sub>
Variable de Respuesta	Grados Gay Lussac (° GL)	

Fuente: Elaboración Propia, 2018

Tabla II-13: Combinación de las Variables de Fermentación

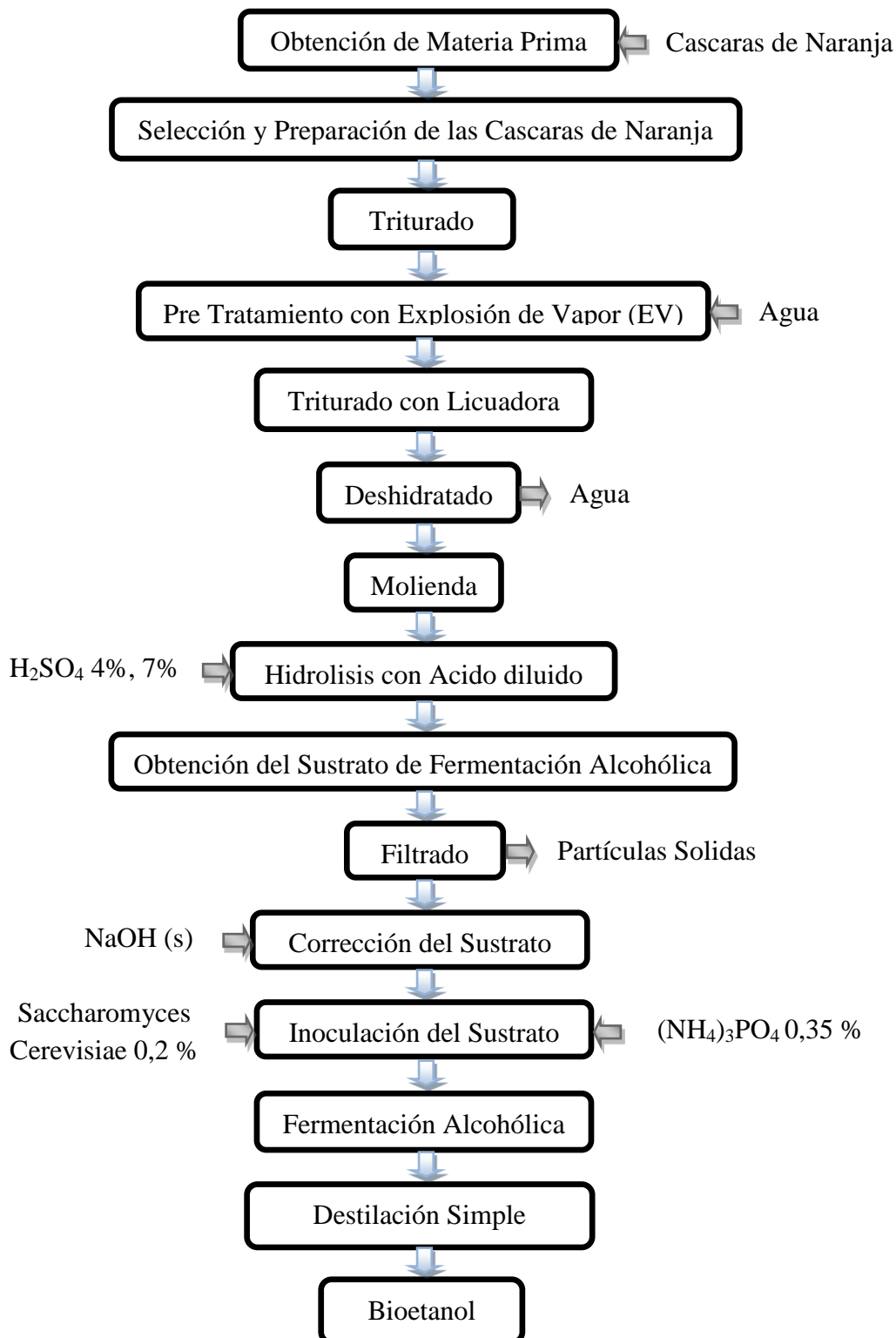
Nº	Sólidos Solubles (° Brix)		Acidez del Medio (pH)		Respuesta (1)	Respuesta (2)
	1	B <sub>1</sub>	-1	P <sub>1</sub> = 3,5	-1	R <sub>1</sub> (B <sub>1</sub> ,P <sub>1</sub> )
2	B <sub>1</sub>	-1	P <sub>2</sub> = 4,5	+1	R <sub>1</sub> (B <sub>1</sub> ,P <sub>2</sub> )	R <sub>1</sub> (B <sub>1</sub> ,P <sub>2</sub> )
3	B <sub>2</sub>	+1	P <sub>1</sub> = 3,5	-1	R <sub>1</sub> (B <sub>2</sub> ,P <sub>1</sub> )	R <sub>1</sub> (B <sub>2</sub> ,P <sub>1</sub> )
4	B <sub>2</sub>	+1	P <sub>2</sub> = 4,5	+1	R <sub>1</sub> (B <sub>2</sub> ,P <sub>2</sub> )	R <sub>1</sub> (B <sub>2</sub> ,P <sub>2</sub> )

Fuente: Elaboración propia, 2018

#### 2.4.- OBTENCION DE BIOETANOL A ESCALA DE LABORATORIO

En la siguiente figura se muestra cada una de las etapas realizadas en el proceso de obtención de bioetanol a escala de laboratorio usando materia residual de naranja:

Figura II-5: Diagrama del Proceso de Obtención de Bioetanol a Escala de Laboratorio



Fuente Elaboración propia, 2018

### 2.4.1.- OBTENCION DE LA MATERIA PRIMA

Se utilizó materia residual de naranja recogida de expendios de comidas y bebidas a base fruta, de acuerdo a lo anteriormente establecido los mismos fueron transportados en bolsas de polietileno de baja densidad hasta las instalaciones del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la U.A.J.M.S, para su posterior selección, preparación y utilización como biomasa en la obtención de bioetanol.

Figura II-6: Obtención de la Materia Prima a Emplear



Fuente: Elaboración propia, 2018

### 2.4.2.- SELECCIÓN Y PREPARACION DE LA MATERIA PRIMA

Para la selección de la materia residual de naranja se tomaron en cuenta únicamente las cascaras de las cuales se evaluó mediante inspección visual los siguientes aspectos: color, aspecto, grado de descomposición de tal manera que no presenten deterioros ni alteraciones, con la finalidad de obtener una mezcla lo más homogénea posible y con un mínimo de contaminantes externos. Posteriormente se preparó la materia prima mediante la operación de lavado con agua fría con la finalidad de librar el material de polvo, suciedades y contaminantes.

Figura II-7: Cascaras de Naranja Seleccionadas para el Proceso de Obtención de Bioetanol



Fuente: Elaboración propia, 2018

#### 2.4.3.- TRITURADO

Los residuos seleccionados y preparados fueron triturados con la ayuda de tijeras en piezas de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> con el objetivo de aumentar el área de contacto en la posterior etapa de pre tratamiento de explosión con vapor (EV).

Figura II-8: Cascaras de Naranja Trituradas



Fuente: Elaboración propia, 2018

Posteriormente se pesaron con ayuda de una balanza analítica aproximadamente 322 gramos de cascaras de naranja triturada:

Figura II-9: Pesaje de Cascaras de Naranja Destinadas a Pre Tratamiento



Fuente: Elaboración propia, 2018

Tabla II-14: Cantidad Pesada de Materia Prima

<b>Materia Residual</b>	<b>Peso (g)</b>
Cascara de Naranja	322,444

Fuente: Elaboración propia, 2018

#### **2.4.4.- PRE TRATAMIENTO CON EXPLOSION DE VAPOR (EV)**

Antes de iniciar con la operación de pre tratamiento se pesaron y separaron aproximadamente 20 gramos de cascaras de naranja para la determinación de humedad y no ser alterada con el vapor como se explicó en apartados anteriores.



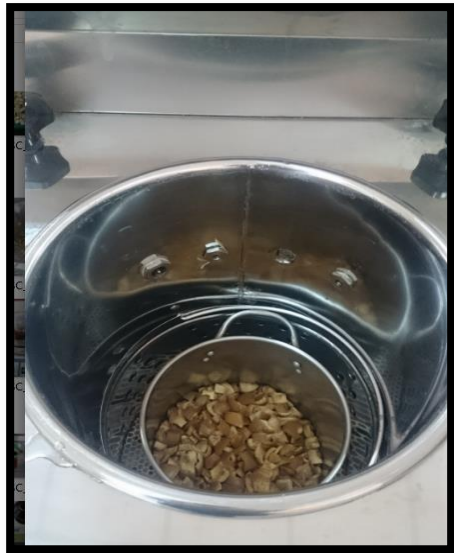
Tabla II-15: Cantidades de Materia Prima Destinadas al Pre tratamiento

<b>Materia Residual</b>	<b>Cantidad Inicial (g)</b>	<b>Cantidad Determinación de Humedad (g)</b>	<b>Cantidad Pre Tratamiento EV (g)</b>
Cascara de naranja	322,444	20,100	302,344

Fuente: Elaboración propia, 2018

El pre tratamiento mediante explosión con vapor se realizó con la finalidad de disociar la lignina y hemicelulosa que se encuentran recubriendo a la celulosa dentro de la biomasa y de esta manera facilitar la accesibilidad del ácido sulfúrico a la misma. La materia prima fue introducida en una autoclave y sometida a vapor saturado a 125 °C y 2 bares de presión durante 15 minutos.

Figura II-10: Cascaras de Naranja Sometidas a Pre Tratamiento EV



Fuente: Elaboración propia, 2018

Luego de haber concluido con el pre tratamiento se observó un hinchamiento en la materia prima, al tiempo que se pudo constatar el debilitamiento efectivo en la estructura de la biomasa sometida a la operación.

Las cascaras de naranja fueron nuevamente pesadas para determinar la cantidad de humedad absorbida y poder establecer los parámetros de control en la operación de secado.

Tabla II-16: Cantidad de Cascaras de Naranja al Finalizar el Pre Tratamiento (EV)

<b>Materia Residual</b>	<b>Cantidad Inicial (g)</b>	<b>Cantidad después del Pre tratamiento EV (g)</b>	<b>Humedad Absorbida (%)</b>
Cascara de naranja	302,344	309,969	2,522

Fuente: Elaboración propia, 2018

#### **2.4.5.- TRITURADO CON LICUADORA**

Las cantidades de cascara de naranja obtenidas del pre tratamiento realizado, fueron sometidas al triturado con ayuda de una licuadora con la finalidad de obtener un tamaño de partícula adecuado para favorecer el proceso de deshidratación durante la operación de secado.

Figura II-11: Triturado con Licuadora



Fuente: Elaboración propia, 2018

Al finalizar la operación se produjeron pérdidas en la cantidad de cascara de naranja empleada, razón por la cual se procedió a pesarlos nuevamente.

Tabla II-17: Cantidad de Cascara de Naranja Obtenida del Triturado con Licuadora

<b>Materia Residual</b>	<b>Cantidad Inicial (g)</b>	<b>Cantidad después del Triturado con Licuadora (g)</b>	<b>Pérdidas Registradas (%)</b>
Cascara de naranja	309,969	289,976	6,450

Fuente: Elaboración propia, 2018

#### **2.4.6.- DESHIDRATADO**

En esta etapa se determinó la humedad del material procedente del triturado con licuadora, para lo cual se utilizaron capsulas, un secador de convección a presión atmosférica y una balanza analítica.

Las capsulas limpias se tararon en el secador a 105 °C durante dos horas, después de ese tiempo se enfriaron durante 45 minutos en desecador hasta temperatura ambiente.

Figura II-12: Desecador Empleado en la Operación de Deshidratado



Fuente: Elaboración propia, 2018

Se pesó aproximadamente 5 g de material sin compactar en la capsula previamente tarada y se llevó al secador a 105 ° C realizando la correspondiente replica.

Figura II-13: Deshidratado de las Cascaras de Naranja Trituradas



Fuente: Elaboración propia, 2018

Una vez transcurridos 30 minutos, se retiraron las capsulas y se las llevó al desecador por 45 minutos hasta enfriar a temperatura ambiente, posteriormente se registró el peso con ayuda de una balanza analítica. Esta operación se repitió hasta lograr peso constante lo cual verifica que se eliminó toda el agua presente en la muestra, resultando en un tiempo de secado de 2 horas y media.

Seguidamente se empleó el tiempo encontrado como referencia para el secado del material restante, el cual fue deshidratado en condiciones idénticas a las anteriormente citadas. Posteriormente se raspo el material contenido en los recipientes empleados para el secado y se procedió nuevamente al pesado para la obtención de las cantidades totales obtenidas de cada mezcla.

Tabla II-18: Cantidades Obtenidas del Secado

<b>Cascaras de Naranja</b>
----------------------------

Inicio Deshidratado (g)	Final Deshidratado (g)
289,976	67,144
23,155 % Materia Solida	
76,845 % Humedad	

Fuente: Elaboración propia, 2018

#### 2.4.7.- MOLIENDA

Con el objetivo de obtener partículas más finas con tamaño menor que en la etapa anterior de triturado, se realizó la operación de molienda con ayuda de un mortero.

Figura II-14: Molienda de las Cascaras de Naranja



Fuente: Elaboracion propia, 2018

Estas partículas de menor tamaño son más eficaces para la posterior etapa de hidrolisis, debido a que el área de contacto entre el sólido y la solución de ácido sulfúrico será más grande, aumentando la efectividad en la transformación de celulosa a glucosa.

De igual manera que en el triturado se produjeron pérdidas, razón por la cual se procedió nuevamente al pesado.

Tabla II-19: Cantidades Obtenidas de la Molienda

<b>Cascaras de Naranja</b>		
Inicio de Molienda (g)	Final de Molienda (g)	Perdidas (%)
67,144	66,250	1,331

Fuente: Elaboración propia, 2018

#### **2.4.8.- HIDROLISIS DE AZUCARES**

El proceso de hidrolisis se llevó a cabo utilizando ácido sulfúrico diluido, en esta etapa la fracción rica en celulosa de la biomasa por acción de la molécula de agua es fragmentada en unidades de glucosa (monómeros), es decir en azucares fermentables que son del tipo reductor.

Antes de iniciar la etapa de hidrolisis se pesaron y separaron en envases plásticos 50 gramos de cascaras de naranja molida, la cual fue enviada para la determinación de azucares totales y reductores a instalaciones de Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID) para su correspondiente análisis.

Tabla II-20: Cantidad de Cascara de Naranja Destinada a Hidrolisis Acida

<b>Cascaras de Naranja</b>		
Cantidad Inicial (g)	Análisis (CEANID) (g)	Cantidad para Hidrolisis (g)
66,250	50,000	16,250

Fuente: Elaboración propia, 2018

Según lo establecido en el diseño experimental se necesitan 16 gramos de cascaras de naranja para la etapa de hidrolisis, de tal forma que se cuenta con biomasa suficiente su ejecución.

Se pesaron 2 gramos de cascaras de naranja y se diluyo en 100 de solución de ácido sulfúrico en un vaso de precipitado de 250 ml, la misma que se colocó en un agitador magnético a una temperatura de 85 °C, 300 rpm y tiempos de 4 y 8 horas. Se tapó el vaso con un vidrio reloj llenado con agua fría para condensar el vapor y no perder líquido, se extrajo muestra con ayuda de una jeringa cada hora y se observó el incremento de los grados Brix con ayuda de un refractómetro con certificado de calibración.

Figura II-15: Hidrolisis Acida de Azucres en Agitador Magnético



Fuente: Elaboración propia, 2018

En esta etapa también se determinaron parámetros tales como: volumen de dilución y densidad de dilución, el procedimiento que se siguió se explica a continuación.

#### **2.4.8.1.- DETERMINACION DEL VOLUMEN DE DILUCION**

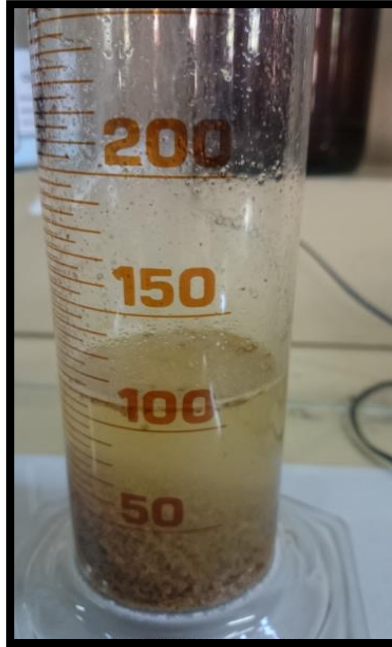
En este apartado se determinó el volumen de las 8 diluciones realizadas en la etapa de hidrolisis de azúcares.

Se pesó 2 gramos de cascaras de naranja deshidratada, se midieron los 100 ml de ácido sulfúrico a las respectivas concentraciones en una probeta de 500 ml, a



continuación, se diluyó la biomasa pesada en la solución de ácido sulfúrico y se leyó de manera directa el volumen.

Figura II-16: Determinación del Volumen de Dilución

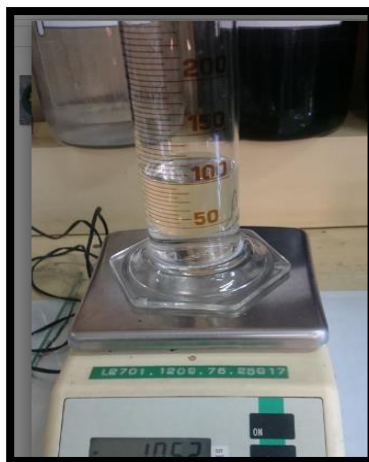


Fuente: Elaboración propia, 2018

#### **2.4.8.2.- DETERMINACION DE LA DENSIDAD DE LA DILUCION**

Se determinó la densidad de los 8 experimentos siguiente el procedimiento que se explica a continuación.

Figura II-17: Determinación de la Masa de la Dilución



Fuente: Elaboración propia, 2018

Primeramente, se determinó el peso de los 100 ml de ácido sulfúrico, a la cual se sumó los dos gramos de cascara de naranja pesada con anterioridad para obtener el peso total de la dilución, el peso total obtenido se dividió entre el volumen de la dilución leído directamente en la probeta, la densidad se calculó mediante la siguiente expresión:

$$\rho = \frac{m}{v} = \frac{(masa\ de\ 100\ ml\ de\ ácido) + (masa\ de\ cascara\ de\ naranja)}{Volumen\ de\ dilucion}$$

#### 2.4.8.3.- DETERMINACION DE LOS GRADOS BRUX

Los grados Brix se determinaron con ayuda de un refractómetro marca IVYMEN cuyo rango de medida es de 0 a 95, las mediciones fueron realizadas al iniciar la hidrólisis, cada hora y al finalizar esta etapa, la medición fue realizada para los 8 experimentos del diseño factorial. Antes de iniciar con las lecturas se calibro el equipo con agua destilada a temperatura ambiente para corroborar que las mediciones sean confiables.

Figura II-18: Medición de los Grados Brix



Fuente: Elaboración propia, 2018

Los experimentos que alcanzaron los mayores grados Brix se muestran en la siguiente tabla:

Tabla II-21: Experimentos con Mayores Grados Brix Obtenidos en la Hidrolisis

N°	Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	Tiempo de Reacción (hr)	° Brix
1	7	8	12,8
2	7	4	12,1

Fuente: Elaboración propia, 2018

Como estos dos experimentos alcanzaron los mayores grados Brix, los mismos serán empleados como sustrato en la etapa de fermentación alcohólica.

#### 2.4.9.- OBTENCION DEL SUSTRATO PARA LA FERMENTACION

Para realizar la etapa de fermentación alcohólica se requiere aproximadamente de 2500 ml de cada sustrato, 2000 ml para la fermentación y 500 ml para la

determinación de azúcares reductores, razón por la cual es necesario realizar nuevamente todos los pasos anteriormente explicados para la obtención de las cantidades requeridas para cada sustrato seleccionado en la fermentación alcohólica.

Mediante el siguiente cálculo se estimará la cantidad de materia prima necesaria a emplear:

$$\text{Cantidad requerida de materia seca} \approx 100 \text{ gramos}$$

Asumiendo pérdidas:

$$\text{Cantidad requerida de materia seca} = 125 \text{ gramos}$$

Si de 323 gramos de materia prima triturada se obtiene 67 gramos materia seca para hidrolizar, la cantidad necesaria de materia prima para obtener 125 gramos de materia seca es:

$$\begin{aligned} &\text{Cantidad requerida de materia prima} \\ &= 323 \text{ g materia prima} * \left( \frac{125 \text{ g materia seca}}{67 \text{ g materia seca}} \right) \end{aligned}$$

$$\text{Cantidad requerida de materia prima} \cong 603 \text{ g} = 0,603 \text{ kg materia prima}$$

En el siguiente cuadro se muestran de manera resumida los datos de las cantidades obtenidas en cada etapa:

Tabla II-22: Cantidad de Materia Obtenida en Cada Etapa

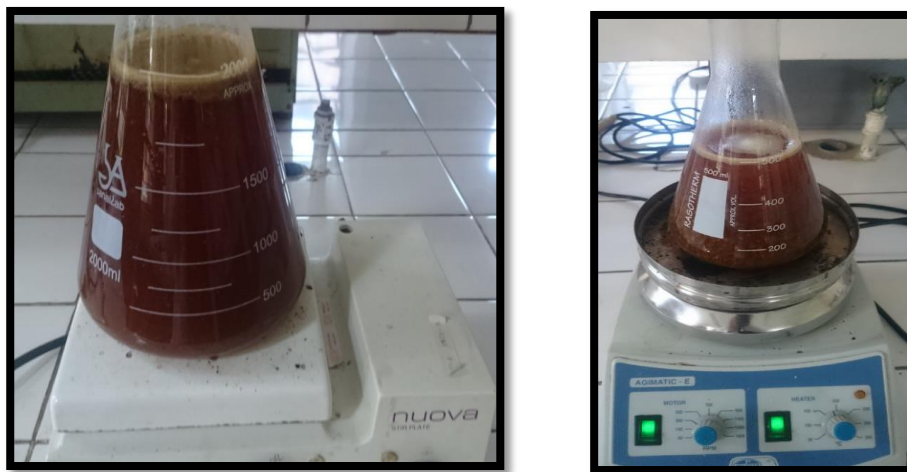
<b>Triturado (g)</b>	<b>Pre Tratamiento (g)</b>	<b>Triturado con Licuadora (g)</b>	<b>Deshidratado (g)</b>	<b>Molienda (g)</b>
603,100	618,320	578,440	133,930	132,140

Fuente: Elaboración propia, 2018

Una vez obtenida la materia seca requerida, se realizó la hidrólisis correspondiente siguiendo la misma metodología anteriormente empleada. Se prepararon los sustratos uno a la vez de la siguiente manera: se pesaron 40 y 10 gramos de materia seca, se diluyó a 2000 y 500 ml con ácido sulfúrico correspondientemente en matraces de

igual capacidad, esto debido a la dificultad para emplear un solo recipiente en donde hidrolizar directamente los 2500 ml y se colocaron en las mismas condiciones de trabajo anteriormente citadas para el caso empleando igualmente agitadores magnéticos.

Figura II-19: Obtención de Sustratos para la Fermentación Alcohólica



Fuente: Elaboración propia, 2018

#### 2.4.10.- FILTRADO

Finalizada la etapa de hidrolisis se procedió a filtrar la solución glucosada obtenida, mediante el empleo de coladores, gasas y papel de filtración lenta con la finalidad de eliminar todas las partículas sólidas que se encuentren presentes y que puedan obstaculizar la fermentación.

Figura II-20: Filtración de Partículas Sólidas del Sustrato



Fuente: Elaboración propia, 2018

#### 2.4.10.1.- DETERMINACION DE AZUCARES REDUCTORES

Una vez finalizado el filtrado se midieron aproximadamente 500 ml de cada sustrato, se colocaron en envases plásticos y fueron enviados al Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID) para la determinación de azúcares reductores.

Figura II-21: Muestras de Sustratos Enviadas para Determinación de Azúcares Reductores



Fuente: Elaboración propia, 2018

### 2.4.11.- CORRECCION DEL SUSTRATO

Con el objetivo de que existan las condiciones necesarias para llevar a cabo la fermentación alcohólica, se realizó la corrección del sustrato mediante el ajuste del pH de la siguiente manera:

Con ayuda de un potenciómetro se ajustó el pH a niveles en los cuales las levaduras puedan actuar en nuestro caso 3,5 y 4,5, para lo cual se utilizó hidróxido de sodio solido debido a que la acidez del sustrato al finalizar la hidrolisis era excesivamente alta.

Figura II-22: Corrección del Sustrato



Fuente: Elaboración propia, 2018

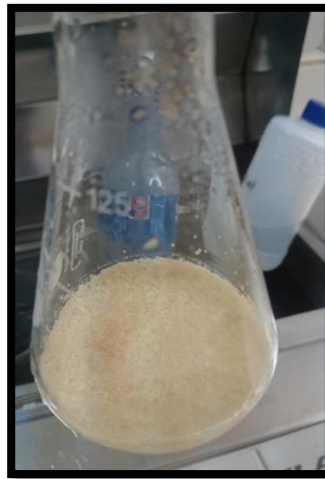
### 2.4.12.- INOCULACION DEL SUSTRATO

En primer lugar, se procedió con la activación de la levadura cervecera seca de tipo *Saccharomyces Cerevisiae* con la cual se inoculará el sustrato.

Se llevó 500 ml de sustrato hasta 85 °C por 15 minutos con la finalidad de eliminar microorganismos existentes en la solución que obstaculicen el proceso de fermentación, posteriormente se dejó atemperar en baño maría hasta la temperatura de 37 °C, se adiciono 2 g de fosfato de amonio disolviendo cuidadosamente,

seguidamente se midió 20 ml de sustrato en un matraz de 125 ml y se le adiciono 0,5 g de azúcar, una vez disuelto el sólido se adiciono la levadura y se dejó reposar por 30 minutos observando la activación de la misma al duplicar su volumen. Todo el procedimiento se realizó bajo condiciones de esterilidad para evitar la contaminación de la levadura.

Figura II-23: Activación de la Levadura



Fuente: Elaboración propia, 2018

Es importante hacer notar que la adición de azúcar se realizó únicamente con el propósito de activar la levadura y favorecer el crecimiento celular (en condiciones aerobias), de tal forma de que se cuente con una buena cantidad de células viables que faciliten el proceso fermentativo; tal y como recomienda Villa, R (2015) entre otros profesionales en producción de alcohol, es posible emplear mieles residuales u otra clase de mostos ricos en azúcares en cantidades controladas para la activación de la levadura

#### **2.4.13.- FERMENTACION ALCOHOLICA**

Para llevar a cabo la fermentación se acondiciono dos matraces Kitasato de 1000 ml de capacidad, los cuales fueron esterilizados en autoclave a 130 °C por 10 minutos, también se acondiciono un tapón de goma al cual se le realizo un orificio por el cual



se insertó una manguera delgada conectada a una jeringa para la toma de muestra, mientras que por el extremo del matraz se conectó una manguera para la salida de gas la cual estuvo sumergida en el agua para impedir la entrada del aire.

Para iniciar la fermentación se trasvaso el sustrato atemperado a 37 °C al matraz kitasato y se inoculo con la levadura activada, cuidando de que el sustrato y la levadura se encuentren a la misma temperatura para evitar un shock térmico que elimine a los microorganismos, finalmente se selló el matraz con el tapón de goma y se sumergió en baño maría, iniciándose así el proceso de fermentación que se llevó a cabo por 6 días, tiempo por el cual se controló diariamente los grados Brix.

Figura II-24: Fermentación Alcohólica



Fuente: Elaboración propia, 2018

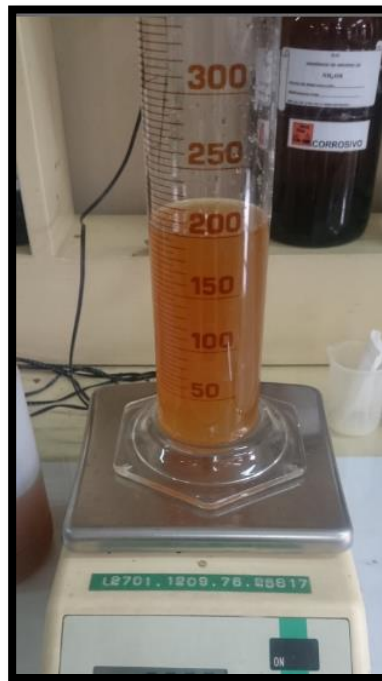
#### **2.4.13.1.- CONSUMO DEL SUSTRATO**

Se realizaron mediciones de los grados Brix cada 24 horas, tiempo durante el cual se pudo constatar el consumo de los azúcares contenidos en el sustrato por parte de las levaduras a través de la disminución de los grados Brix.

Las mediciones se realizaron con ayuda de un refractómetro marca IVYMEN cuyo rango de medida es de 0-95 %, calibrando el equipo antes de cada lectura para obtener datos confiables.

Al finalizar la fermentación se procedió a determinar la densidad del vino obtenido de manera análoga que al inicio del procedimiento.

Figura II-25: Determinación de la Densidad del Vino obtenido



Fuente: Elaboración propia, 2018

#### **2.4.14.- DESTILACIÓN SIMPLE**

Una vez filtrado el vino obtenido, se midió con ayuda de una probeta y mediante un rota vapor marca HEIDOLPH se procedió a separar el etanol del vino.

En la destilación se fue aumentando la temperatura hasta alcanzar la ebullición aproximadamente a 75 °C a presión atmosférica, se observó la formación de condensado gracias al sistema de refrigeración y el destilado se acumuló en un balón

colector. La operación finalizó al observar el culminado de la ebullición quedando en el vino los compuestos menos volátiles cuyo punto de ebullición son más elevados.

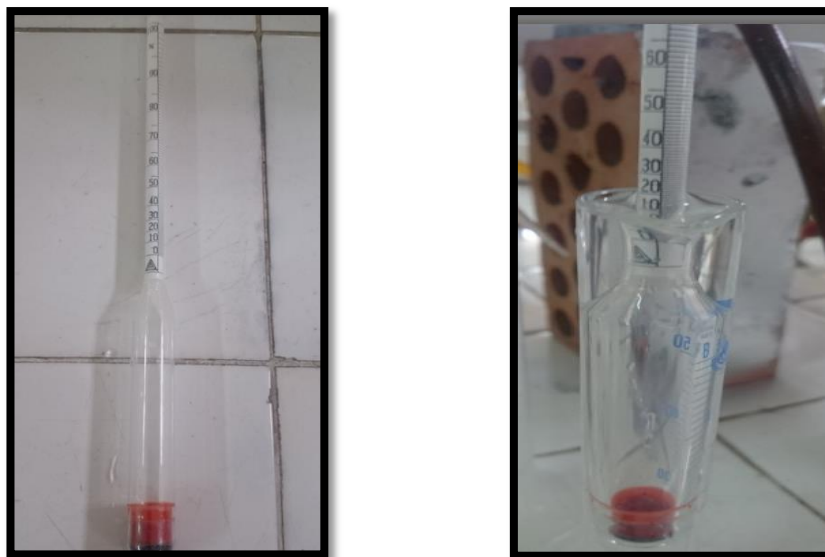
Figura II-26: Destilación Simple



Fuente: Elaboración propia, 2018

El destilado obtenido fue de vaciado en una probeta, una vez que se enfrió a temperatura de 20 °C se introdujo el alcoholímetro y se determinó los grados Gay Lussac por observación directa Posteriormente se completó al volumen original con agua destilada para realizar la lectura del grado alcohólico correspondiente al vino, registrándose una concentración máxima de 7,5 °G.L

Figura II-27: Medición del Grado Alcohólico



Fuente: Elaboración propia, 2018

El bioetanol obtenido al finalizar la destilación es una mezcla etanol-agua cuya concentración máxima de alcohol fue de 32,5 °G.L, según bibliografía mediante una serie de procesos de deshidratación puede alcanzar los 99 ° G.L para su uso como biocombustible.

Figura II-28: Bioetanol Obtenido



Fuente: Elaboración propia, 2018

**CAPITULO III**  
**RESULTADOS Y DISCUSIONES**

### 3.1.- RESULTADOS OBTENIDOS EN LA MATERIA PRIMA

#### 3.1.1.- RESULTADOS OBTENIDOS EN LA DETERMINACION DE HUMEDAD DE LAS CASCARAS DE NARANJA

Se realizó la determinación de humedad de las cascaras de naranja frescas, los resultados se obtuvieron en el secador MOISTURE disponible en las Instalaciones del Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID)

El equipo empleado posee una pantalla digital que indica los datos de: velocidad de secado, porcentaje de humedad, peso, temperatura, tiempo transcurrido, los mismos que conforme al paso del tiempo se fueron tabulando, para mayor exactitud se realizaron pruebas por duplicado y los resultados se muestran a continuación.

Tabla III-1: Determinación de Humedad de las Cascaras de Naranja (A)

<b>Tiempo (min)</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Agua Evaporada (g)</b>	<b>Agua Evaporada Total (%)</b>
0	5,110	0	0
5	4,356	0,754	14,760
10	3,601	1,508	29,520
15	3,101	2,009	39,310
20	2,667	2,442	47,800
25	2,322	2,788	54,560
30	1,976	3,134	61,330
35	1,742	3,368	65,910
40	1,508	3,602	70,500

45	1,403	3,707	72,550
50	1,298	3,812	74,610
53,4	1,275	3,835	75,060

Fuente: Elaboración propia, 2018

Tabla III-2: Determinación de Humedad de las Cascaras de Naranja (B)

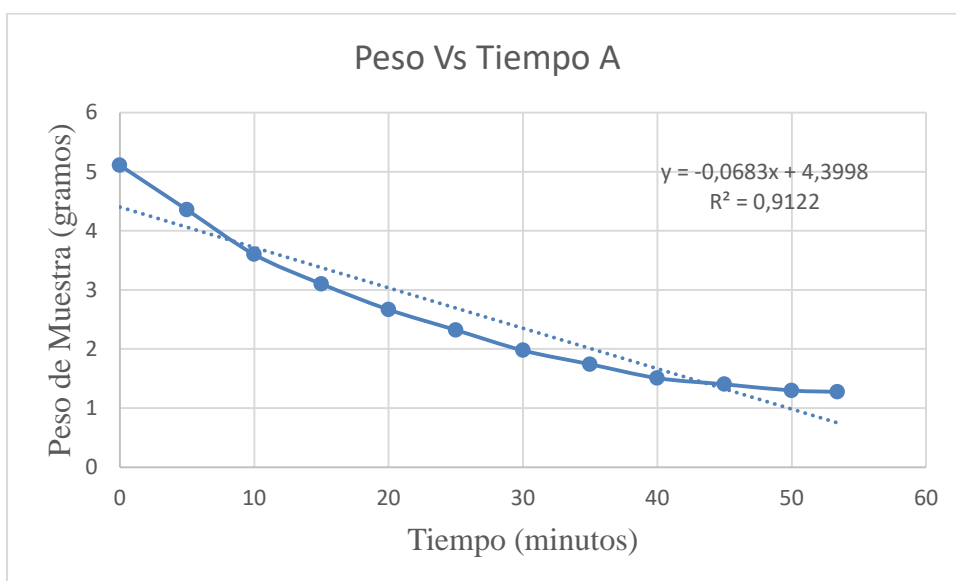
<b>Tiempo (min)</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Agua Evaporada (g)</b>	<b>Agua Evaporada Total (%)</b>
0	5,203	0	0
5	4,563	0,640	12,300
10	3,926	1,277	24,550
15	3,356	1,847	35,500
20	2,871	2,332	44,830
25	2,440	2,763	53,100
30	2,075	3,128	60,120
35	1,771	3,432	65,960
40	1,538	3,665	70,440
45	1,397	3,806	73,160
50	1,324	3,879	74,560
52,9	1,304	3,899	74,930

Fuente: Elaboración propia, 2018

En las tablas anteriores se detallan los datos de interés en la determinación de humedad en base a las dos pruebas realizadas en el secador MOISTURE, en la cual se indica el tiempo de secado transcurrido, la variación del peso de muestra, incremento del agua evaporada en cada intervalo de tiempo y el agua evaporada total en porcentaje.

En las siguientes figuras se muestran las curvas secado, es la variación en el peso de la muestra por la pérdida de agua respecto al tiempo:

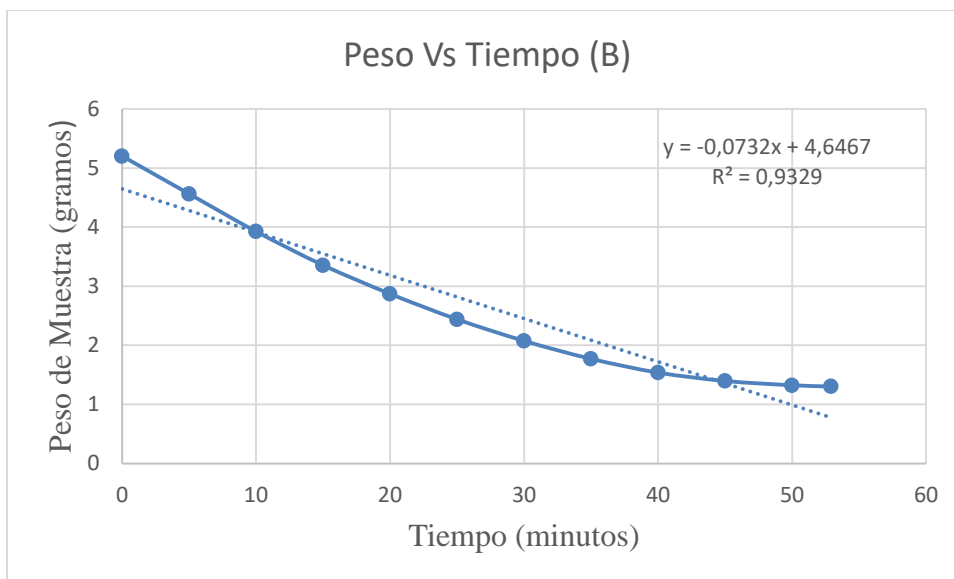
Figura III-1: Curva de Secado de Cascaras de Naranja (A)



Fuente: Elaboración propia, 2018



Figura III-2: Curva de Secado de Cascaras de Naranja (B)



Fuente: Elaboración propia, 2018

En las curvas de secado, en ambas experiencias se puede observar que durante los primeros 20 minutos existe una velocidad máxima (2,71%/min) de deshidratación, en donde el agua libre o no ligada al material es eliminada y predominan las condiciones externas.

Posteriormente se observa que la curva ingresa en un periodo de velocidad decreciente, donde se evapora la humedad ligada del material y predominan las condiciones externas e internas al mismo tiempo. Finalmente, la curva ingresa a una etapa donde la pérdida de agua ocurre desde el interior a una velocidad mínima (0,10%/min) hasta que no exista variación en el peso del material.

Los resultados obtenidos en la determinación de humedad se muestran en la siguiente tabla:

Tabla III-3: Resultados Obtenidos en la Determinación de Humedad de las Cascaras de Naranja

<b>Datos Obtenidos</b>	
Hora de Inicio: 8:30 am	Hora de Finalización: 9:23 am
Contenido de Humedad (%): 74,990	Materia Seca (%): 25,010
Velocidad de Secado Max (%/min): 2,710	Velocidad de Secado Min (%/min): 0,100
Tiempo de Secado (min): 53,150	Fecha de Realización: 20-04-17

Fuente: Elaboración propia, 2018

*En las cifras presentadas anteriormente se tomaron los valores medios entre las muestras A y B.*

De la tabla anterior se establece que, de una cantidad inicial de 5 g de cascara de naranja se puede obtener aproximadamente 1,250 g de materia seca, correspondiendo al 25,010 % de la cantidad inicial, logrando eliminar 3,749 g de agua, el cual corresponde al 74,980 % de la cantidad inicial.

Con estos resultados se indica que las cascaras de naranja presenta un contenido de humedad del 74,980 % y 25,010 % de materia seca con un tiempo de deshidratado de 53,150 minutos a 105 °C.

### **3.1.2.- RESULTADOS DE LA DETERMINACION DE AZUCARES TOTALES Y REDUCTORES DE LAS CASCARAS DE NARANJA DESHIDRATADA**

Los resultados obtenidos del Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID), muestran un elevado contenido en azucares totales en las cascaras de naranja, mientras que el contenido de azucares reductores es menor, sin embargo, el mismo no deja de ser significativo.

Lo anterior se traduce en que las cascaras de naranja empleadas para la obtención de bioetanol no solamente están compuestas por cadenas de lignina, hemicelulosa y celulosa, sino que también contienen una importante cantidad de azúcares reductores que favorecen el rendimiento en la obtención de glúcidos fermentables en la etapa de hidrólisis acida.

Tabla III-4: Resultados de los Análisis de la Cascaras de Naranja Deshidratadas

<b>Cascaras de Naranja Deshidratadas</b>				
<b>Parámetro</b>	<b>Técnica de Ensayo</b>	<b>Unidad</b>	<b>Resultado</b>	<b>Fecha de Ejecución</b>
Azúcares Reductores	Reducción de Cobre	g/l	88,22	11-22 de Mayo del 2018
Azúcares Totales	Reducción de Cobre	g/l	127,60	11-22 de Mayo del 2018

Fuente: Centro de Análisis Investigación y Desarrollo CEANID, 2018

### **3.2.- RESULTADOS OBTENIDOS DE LOS PRODUCTOS INTERMEDIOS**

Los resultados obtenidos durante la ejecución del trabajo de laboratorio correspondiente a la parte experimental del presente proyecto de investigación se presentan a continuación.

#### **3.2.1.-RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS ETAPAS DE TRITURADO, PRE TRATAMIENTO, TRITURADO CON LICUADORA, DESHIDRATACION Y MOLIENDA**

En esta etapa se obtuvieron datos acerca de la cantidad de cascara de naranja empleada en cada operación, los mismos se detallan a continuación:

Tabla III-5: Cantidad de Cascara de Naranja Resultante desde la Etapa de Triturado hasta Molienda

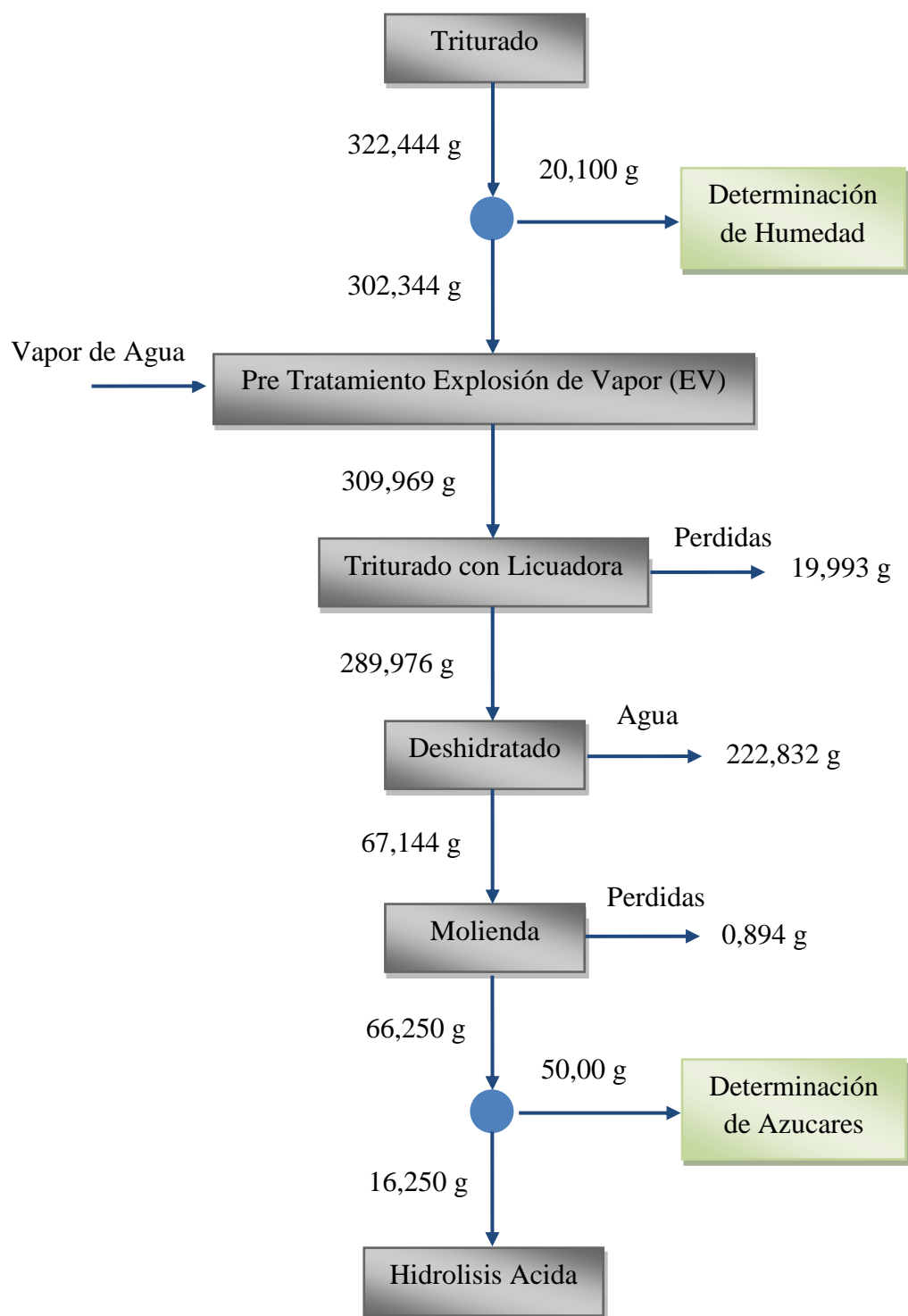
<b>Cascara de Naranja</b>	<b>Peso (g)</b>
Triturado	322,444
Determinación de Humedad	20,100
Destinada a Pre Tratamiento	302,344
Obtenida del Pre Tratamiento	309,969
Obtenida del Triturado con Licuadora	289,976
Obtenida de la Deshidratación	67,144
Obtenida de la Molienda	66,250
Determinación de Azucres	50,000
Destinada a Hidrolisis Acida	16,250

Fuente: Elaboración propia, 2018

Los resultados obtenidos demuestran que, realizando las operaciones de adecuación requeridas para la obtención de bioetanol, a partir de 322,444 g de cascara de naranja iniciales se pueden obtener aproximadamente 66,250 g de materia seca y 16,250 g de biomasa seca útil para la etapa de hidrolisis acida de azucres.

Las cifras presentadas pueden representarse de manera gráfica en el siguiente diagrama de bloques para una mejor visualización e identificación:

Figura III-3: Diagrama de Bloques: Etapas Triturado a Molienda



Fuente: Elaboración propia, 2018

### 3.2.2.- RESULTADOS OBTENIDOS EN LA ETAPA DE HIDROLISIS ACIDA

Los resultados obtenidos durante el mencionado procedimiento se detallan en la siguiente tabla:

Tabla III-6: Resultados de la Hidrolisis Acida de las Cascaras de Naranja

Muestra	°Brix/hora									
	N°	t <sub>0</sub>	t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>3</sub>	t <sub>4</sub>	t <sub>5</sub>	t <sub>6</sub>	t <sub>7</sub>	t <sub>8</sub>
C.N (4% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	M <sub>1</sub>	5,5	6,4	7,3	8,0	8,1				
	M <sub>2</sub>	5,6	6,5	7,5	8,1	8,2				
C.N (4% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	M <sub>3</sub>	5,4	6,4	7,2	7,9	8,0	8,1	8,5	8,7	8,6
	M <sub>4</sub>	5,6	6,6	7,5	8,0	8,2	8,3	8,6	8,8	8,9
C.N (7% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	M <sub>5</sub>	10,0	10,7	11,0	11,3	11,9				
	M <sub>6</sub>	10,4	10,8	11,4	11,7	12,1				
C.N (7% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	M <sub>7</sub>	10,3	10,5	10,9	11,4	11,8	12,1	12,3	12,6	12,8
	M <sub>8</sub>	10,2	10,6	11,2	11,6	11,9	12,4	12,5	12,6	12,6

Fuente: Elaboración propia, 2018

Las cifras anteriores muestran el incremento en el contenido de azúcares totales reflejado en el aumento de los sólidos solubles (°Brix) a consecuencia de la reacción ocurrida entre el ácido sulfúrico y las partículas deshidratadas de las cascara de naranja.

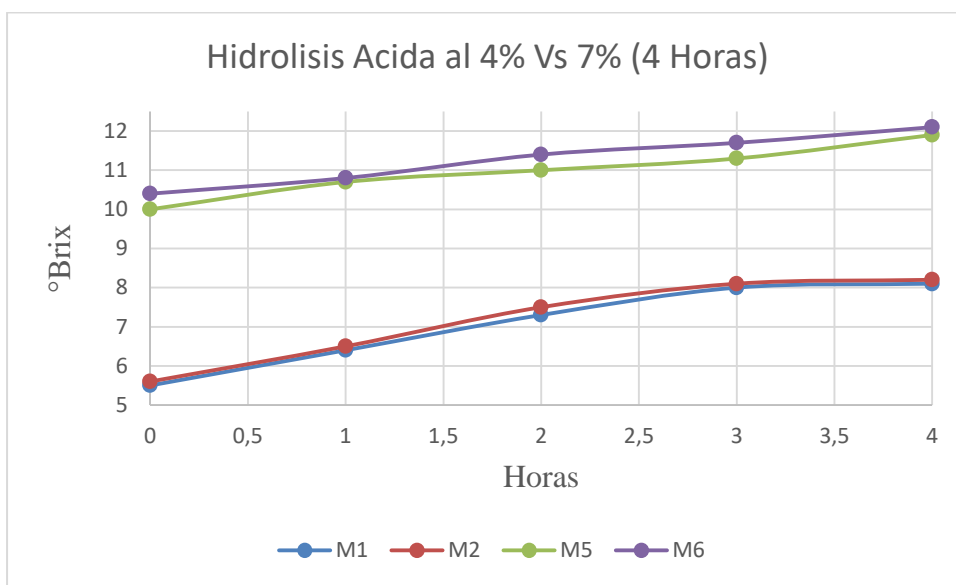
Es importante hacer notar que debido al contenido de azúcares y otros elementos presentes en el material, se cuenta inicialmente con una cantidad apreciable de sólidos solubles compuesta por: una parte de azúcares reductores, pectina, aceites esenciales, entre otros, mientras que la otra parte proviene de la reacción de hidrolisis instantánea que ocurre entre la celulosa y el ácido sulfúrico, así pues, esta cantidad depende de la

concentración del reactivo empleado, razón por la cual en la tabla presentada los °Brix iniciales son diferentes.

Según los datos mostrados se puede afirmar que la operación se ve favorecida inicialmente a mayor concentración de ácido empleada (7%). Mientras que para iguales condiciones de trabajo (85°C – 400 rpm) y tiempos de reacción idénticos, los resultados más elevados se obtuvieron también empleando ácido sulfúrico al 7% frente a una concentración menor del 4%.

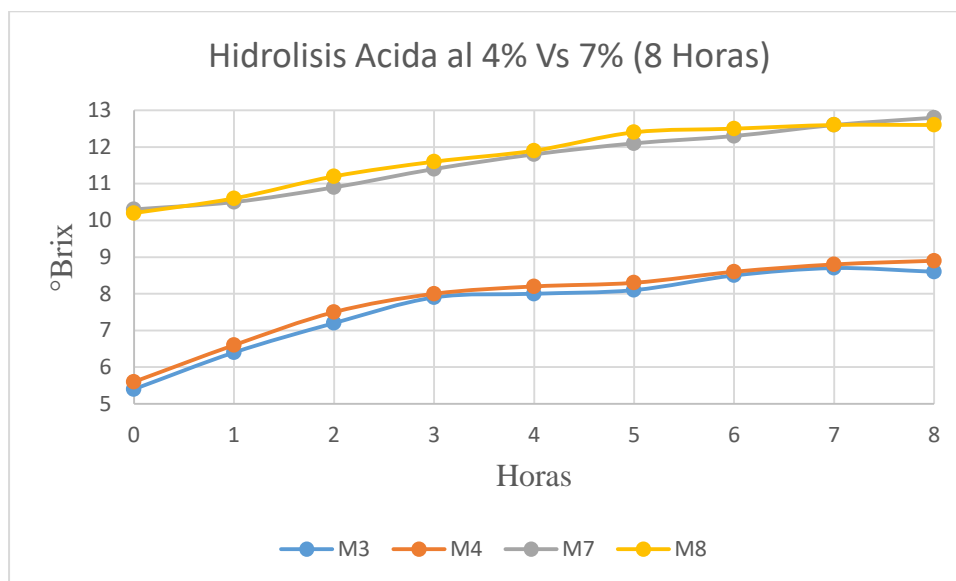
En las siguientes figuras se muestra la representación gráfica de las cifras mostradas anteriormente en donde se puede observar el incremento de los sólidos solubles (°Brix) conforme al tiempo de reacción de las experiencias realizadas.

Figura III-7: Formación de Azúcares Fermentables Mediante Hidrolisis Ácida (4 Horas)



Fuente: Elaboración propia, 2018

Figura III-8: Formación de Azúcares Fermentables Mediante Hidrolisis Ácida (8 Horas)



Fuente: Elaboración propia, 2018

En la operación realizada se pudo observar claramente el efecto que posee la variación del tiempo en la formación de azúcares fermentables, en las cuales se verificó que para cada concentración de ácido sulfúrico empleada los resultados máximos se alcanzan en 8 horas de trabajo (4%; 8,9 ° Brix- 7%; 12,8 ° Brix). Sin embargo, de acuerdo a las experiencias realizadas se puede establecer que la variable determinante en la hidrolisis ácida es la concentración del ácido sulfúrico, se constató que al emplear una concentración del 7 % frente a una inferior del 4%, los mejores resultados son alcanzados en 4 y 8 horas de (12,1 – 12,8 °Brix) reacción a una concentración del 7%, sobresaliendo así la influencia de la concentración sobre el tiempo de reacción.

En lo que se refiere al tiempo de reacción, al cabo de 8 horas se obtuvo el mayor contenido de sólidos solubles (12,8 °Brix), sin embargo la velocidad en el incremento de °Brix empieza a ser demasiado lenta después de pasadas las 6 horas de trabajo y al no existir demasiada variación en relación al valor al finalizar las 8 horas, por razones de costo económico y tiempo se considera como el periodo más idóneo para la



obtención de azúcares fermentables empleando ácido sulfúrico al 7 %, 6 horas de reacción.

Tomando en cuenta los cuadros y graficas presentadas, se puede observar que M<sub>5</sub>, M<sub>6</sub>, M<sub>7</sub>, y M<sub>8</sub>, representan a las muestras que alcanzaron la mayor cantidad de solidos solubles (°Brix) como variable de respuesta en la etapa de hidrolisis acida, razón por la cual son seleccionadas como sustrato para la posterior etapa de fermentación alcohólica.

### 3.2.2.1.- RESULTADOS OBTENIDOS EN LA DETERMINACION DEL VOLUMEN DE DILUCION

Los resultados obtenidos mediante lectura directa se muestran en la siguiente tabla:

Tabla III-7: Resultados en la Determinación del Volumen de Dilución

Concentración H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	Volumen de Acido (ml)	Peso Materia Seca (g)	Volumen (ml)
4	100	2,102	105
4	100	2,105	105
7	100	2,099	105
7	100	2,105	105

Fuente: Elaboración propia, 2018

Los datos anteriores correspondientes al volumen de dilución serán utilizados para calcular la densidad de cada una de las diluciones realizadas, la importancia de estos datos radica en el escalamiento que se lleva a cabo cuando el proceso de elaboración es llevado del laboratorio a la industria, en el diseño de los recipientes y equipos que se utilizarían en cada etapa.

### 3.2.2.2.- RESULTADOS OBTENIDOS EN LA DETERMINACION DE LA DENSIDAD DE DILUCION

Los resultados obtenidos en la determinación de la densidad de dilución se detallan en la siguiente tabla:

Tabla III-8: Resultados Obtenidos en la Determinación de la Densidad de Dilución

Concentración $H_2SO_4$ (%)	Volumen de Dilución (ml)	Peso de la Dilución (g)	Densidad (g/ml)
4	105	$2,102+102,900 = 105,002$	1,000
4	105	$2,105+102,700 = 104,805$	0,998
7	105	$2,099+104,600 = 106,699$	1,016
7	105	$2,105+104,500 = 106,605$	1,015

Fuente: Elaboración propia, 2018

Los valores calculados de densidad serán útiles en el cálculo del rendimiento en la producción de etanol en el posterior proceso de fermentación alcohólica.

### 3.2.3.- RESULTADOS OBTENIDOS EN LA ELABORACION DE LOS SUSTRATOS PARA LA FERMENTACION ALCOHOLICA

Como se explicó en el capítulo anterior, una vez conocidas las mejores condiciones de trabajo, se procedió con la obtención de las cantidades requeridas de materia seca para la ejecución de la etapa de fermentación alcohólica, razón por la cual fue necesario realizar todas las operaciones previas a la etapa de hidrólisis ácida, desde el triturado hasta la molienda, los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla III-9: Resultados en la Obtención de Materia Seca de los Sustratos de Fermentación

<b>Cascara de Naranja</b>	<b>Peso (g)</b>
Triturado	603,100
Obtenida del Pre Tratamiento	618,320
Obtenida del Triturado con Licuadora	578,440
Obtenida de la Deshidratación	133,930
Obtenida de la Molienda	132,140
Destinada a Hidrolisis Acida	132,000

Fuente: Elaboración propia, 2018

En la tabla anteriormente presentada, se puede observar que las cantidades obtenidas en cada etapa para la obtención de materia seca del sustrato de fermentación alcohólica son proporcionalmente iguales a las registradas en el inicio de las experiencias de hidrolisis.

Sin duda el aspecto más notable en estos datos es la elevada cantidad de humedad eliminada durante el procedimiento de secado, esto se debe a que la humedad de la cascara de naranja es alterada debido al pre tratamiento EV realizado y que evidentemente causo el incremento en el contenido de agua en la misma.

### **3.2.3.1.- RESULTADOS DE LA HIDROLISIS ACIDA EN LA OBTENCION DEL SUSTRATO**

Como se explicó en apartados anteriores, en esta etapa se realizaron 4 operaciones de hidrolisis empleando ácido sulfúrico al 7 %, durante tiempos de reacción de 4 y 8 horas por sustrato, los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Tabla III-10: Resultados de la Hidrolisis en la Obtención de los Sustratos de Fermentación

<b>Sustrato 1</b>		<b>Sustrato 2</b>	
<b>Condiciones Iniciales</b>			
<b>Materia Seca (g)</b>	60	<b>Materia Seca (g)</b>	60
<b>rpm</b>	300	<b>rpm</b>	300
<b>Temperatura (°C)</b>	85	<b>Temperatura (°C)</b>	85
<b>Tiempo de Reacción (hr)</b>	4	<b>Tiempo de Reacción (hr)</b>	8
<b>Volumen Total (ml)</b>	3000	<b>Volumen Total (ml)</b>	3000
<b>Solidos Solubles (°Brix)</b>	10,2	<b>Solidos Solubles (°Brix)</b>	10,3
<b>Condiciones Finales</b>			
<b>Volumen Total (ml)</b>	2880	<b>Volumen Total (ml)</b>	2730
<b>Solidos Solubles (°Brix)</b>	12,0	<b>Solidos Solubles (°Brix)</b>	12,9

Fuente: Elaboración propia, 2018

Los sustratos obtenidos alcanzaron de manera aproximada la cantidad de grados brix establecida anteriormente en el diseño factorial al finalizar cada operación, los cuales son: para el primer sustrato 12,0 °Brix y para el segundo sustrato 12,9 °Brix, notándose un ligero aumento en el segundo sustrato con relación a las pruebas anteriores en iguales condiciones de trabajo.

En la tabla se puede observar que se obtuvo suficiente cantidad de ambos sustratos para realizar la fermentación alcohólica (2880 ml – 2730 ml). Sin embargo, los mismos contienen gran cantidad de partículas sólidas en suspensión, razón por la cual

se realizó una filtración con la finalidad de que no obstruyan el procedimiento de fermentación.

### **3.2.3.2.- VOLUMEN OBTENIDO DESPUES DE LA OPERACIÓN DE FILTRACION**

Los resultados obtenidos al finalizar esta operación se muestran a continuación en la siguiente tabla:

Tabla III-11: Volumen de Sustratos Obtenidos Después de la Filtración

<b>Sustrato 1</b>		<b>Sustrato 2</b>	
Volumen Inicial (ml)	2880	Volumen Inicial (ml)	2730
Volumen Final (ml)	2595	Volumen Final (ml)	2455
Perdidas (ml)	285	Perdidas (ml)	275

Fuente: Elaboración propia, 2018

Se pudo constatar la presencia de una considerable cantidad de partículas en suspensión en ambos sustratos, las mismas que le brindaban una consistencia densa, pastosa y alteraban el volumen real de los sustratos, al finalizar la operación el volumen de ambos sustratos se redujo debido a la presencia de las partículas y la absorción de humedad al separarlas.

### **3.2.3.3.- RESULTADOS OBTENIDOS EN LA DETERMINACION DE AZUCARES REDUCTORES EN LOS SUSTRATOS DE FERMENTACION**

Se emplearon aproximadamente 500 ml de cada sustrato para la cuantificación de los azucares reductores presentes, en la siguiente tabla se muestran los resultados.

Tabla III-12: Resultados de la Determinación de Azúcares Reductores en los Sustratos de Fermentación

<b>Sustrato 1</b>			
<b>Parámetro</b>	<b>Técnica de Ensayo</b>	<b>Unidad</b>	<b>Resultado</b>
Azúcares Reductores	Reducción de Cobre	g/l	8,080
<b>Sustrato 2</b>			
<b>Parámetro</b>	<b>Técnica de Ensayo</b>	<b>Unidad</b>	<b>Resultado</b>
Azúcares Reductores	Reducción de Cobre	g/l	8,700

Fuente: Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID), 2018

### 3.2.3.4.- RESULTADOS OBTENIDOS EN LA CORRECCION DEL SUSTRATO

Siguiendo lo establecido en el diseño experimental el pH fue ajustado a 3,5 y 4,5 empleando cantidades de hidróxido de sodio sólido, las cantidades obtenidas se detallan a continuación:

Tabla III-13: Corrección del Sustrato

<b>Sustrato</b>	<b>Inicial</b>		<b>NaOH Añadido (g)</b>	<b>Final</b>	
	<b>Volumen (ml)</b>	<b>pH</b>		<b>Volumen (ml)</b>	<b>pH</b>
1	1047	0,05	57,15	1073	3,50
1	1047	0,05	57,27	1074	4,51
2	1000	0,01	64,72	1030	3,51

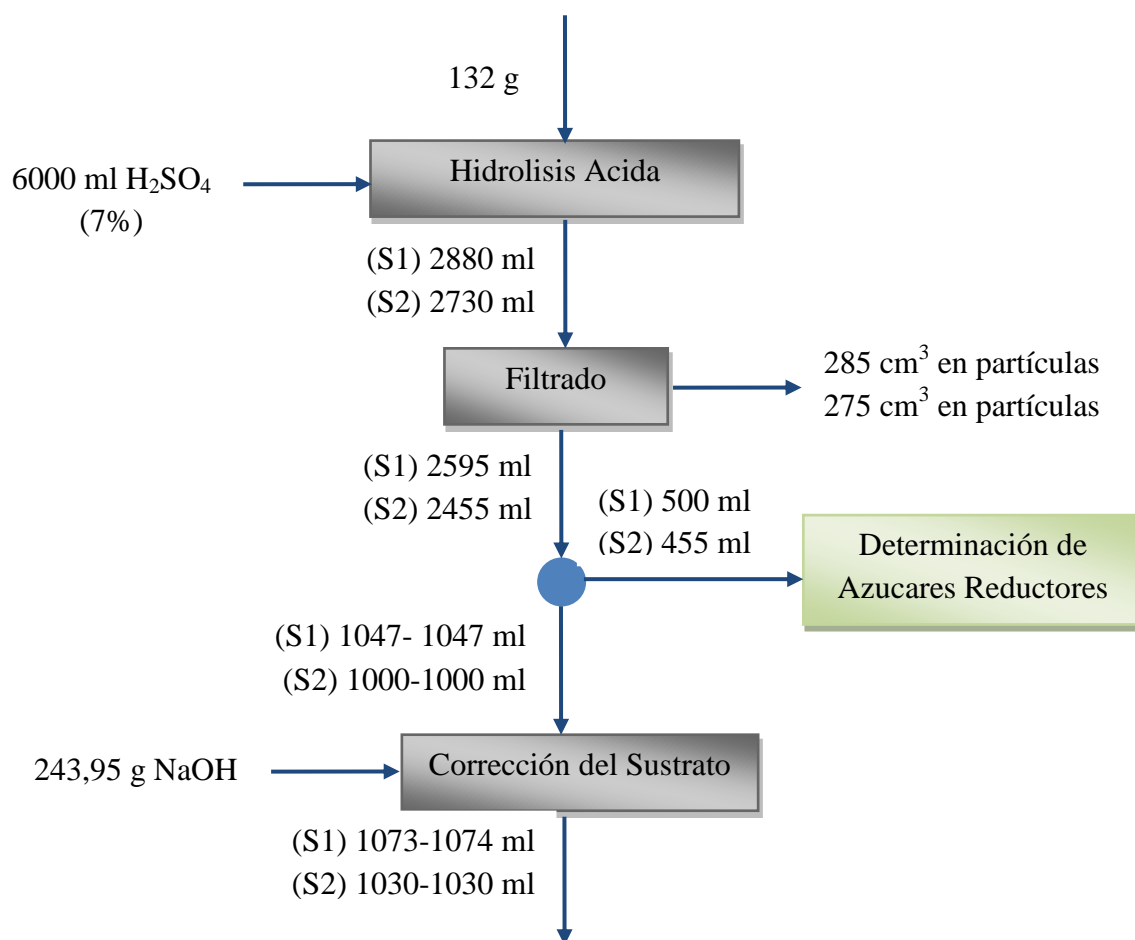
2	1000	0,01	64,81	1030	4,52
---	------	------	-------	------	------

Fuente: Elaboración propia, 2018

Debido al pH altamente ácido se tuvo que utilizar hidróxido de sodio sólido con una pureza del 93%, desde 57,15 a 64,81g con la finalidad de crear las condiciones adecuadas para el desarrollo de las levaduras en la fermentación alcohólica.

Los datos obtenidos se pueden apreciar más fácilmente en el siguiente diagrama de bloques:

Figura III-9: Diagrama de Bloques de las Cantidades Obtenidas desde Hidrolisis Ácida hasta Corrección de Sustrato



Fuente: Elaboración propia, 2018

### 3.2.4.- RESULTADOS OBTENIDOS EN LA FERMENTACION ALCOHOLICA

Los resultados obtenidos consisten en el consumo de los sustratos por parte de las levaduras, los cuales estarán representados en la disminución de los sólidos solubles (°Brix), los datos se muestran a continuación.

Tabla III-14: Consumo de Sustratos en la Fermentación Alcohólica

Sustrato		°Brix/día						
		Inicio	1	2	3	4	5	6
S1	pH 3,5	12,0	10,3	9,7	9,5	9,2	9,1	9,1
S1	pH 3,5	12,0	10,9	10,4	9,8	9,6	9,4	9,4
S1	pH 4,5	12,0	9,8	9,2	9,1	8,9	8,8	8,7
S1	pH 4,5	12,0	10,4	9,8	9,3	9,2	8,9	8,9
S2	pH 3,5	12,9	11,0	10,1	8,9	8,7	8,6	8,5
S2	pH 3,5	12,9	11,5	10,7	9,3	9,0	8,9	8,9
S2	pH 4,5	12,9	10,5	9,4	8,6	8,4	8,2	8,2
S2	pH 4,5	12,9	10,1	9,2	8,4	8,1	8,0	8,0

Fuente: Elaboración propia, 2018

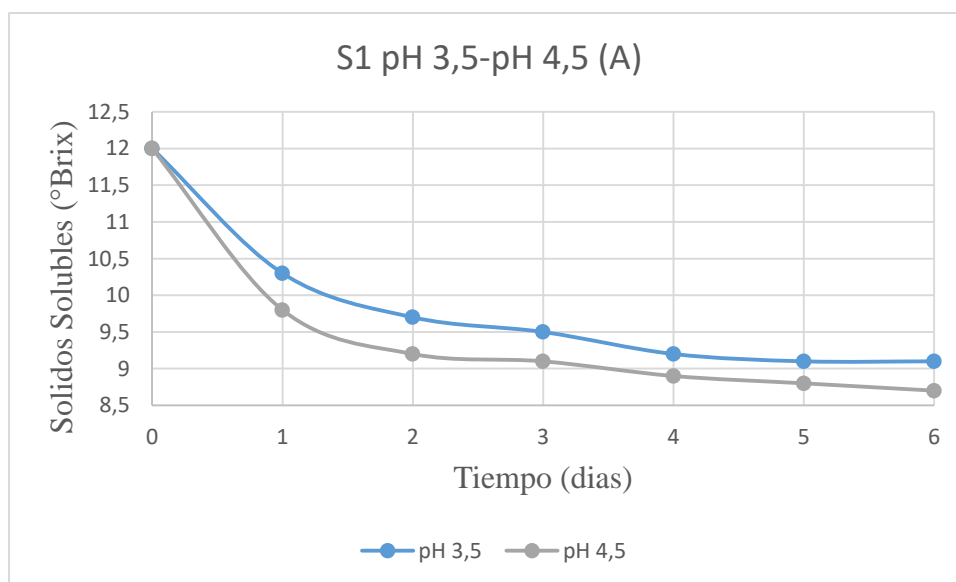
La tabla anterior refleja el proceso de fermentación en el cual los azúcares fermentables son convertidos en etanol y dióxido de carbono, tal y como se reporta en bibliografía los hidrolizados lignocelulosicos contienen gran cantidad de sólidos solubles de naturaleza proteica y azúcares no fermentables provenientes de la



hemicelulosa, razón por la cual se observa el fin de la fermentación con grados Brix remanentes.

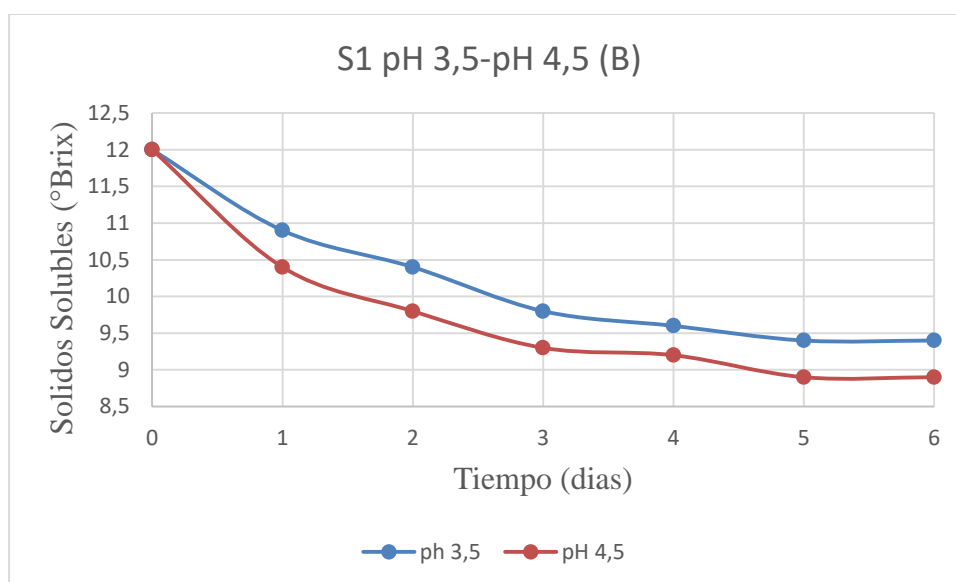
La variación de los grados Brix con el transcurso del tiempo para un mismo sustrato en distintas condiciones queda representada en las siguientes figuras:

Figura III-10: Consumo del Sustrato 1 a pH 3,5 y 4,5 (A)



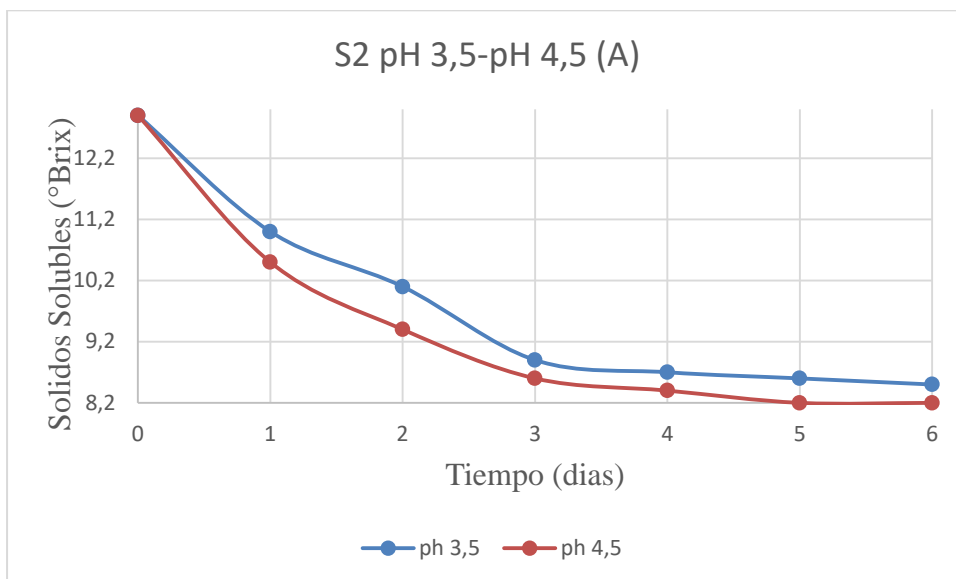
Fuente: Elaboración propia, 2018

Figura III-11: Consumo del Sustrato 1 a pH 3,5 y 4,5 (B)



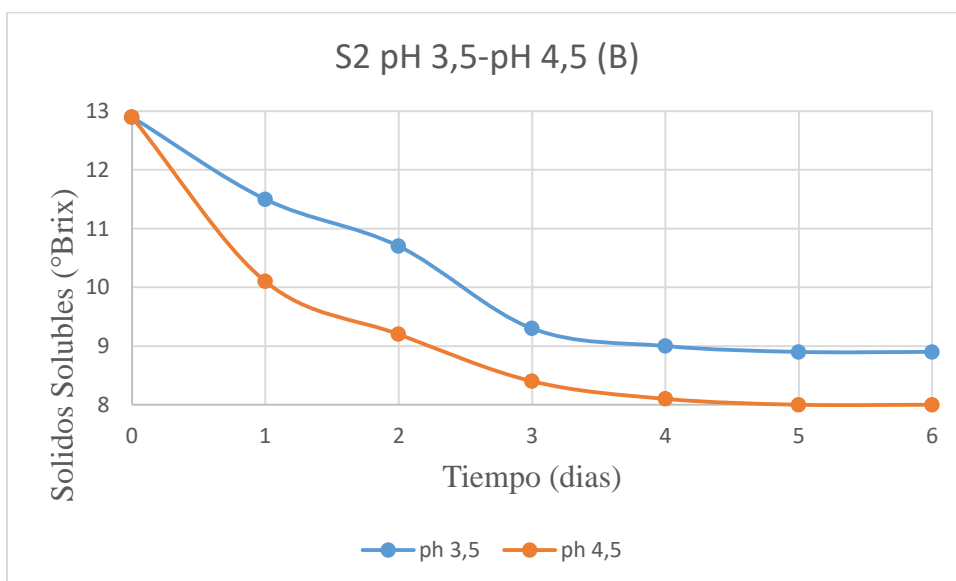
Fuente: Elaboración propia, 2018

Figura III-12: Consumo del Sustrato 2 a pH 3,5 y 4,5 (A)



Fuente: Elaboración propia, 2018

Figura III-13: Consumo del Sustrato 2 a pH 3,5 y 4,5 (B)



Fuente: Elaboración propia, 2018

En las figuras anteriores, se puede observar el comportamiento de las levaduras en cuanto al consumo de los sustratos en el tiempo. En los primeros días de la fermentación el consumo del sustrato es más rápido, esto debido a la mayor disponibilidad de nutrientes y azúcares en los sustratos que provocan un rápido crecimiento celular y producción de etanol de la levadura cervecera, en los últimos días del procedimiento la actividad de los microorganismos fue disminuyendo hasta que no hubo variación en la medición de los sólidos solubles (°Brix), esto se debe mayormente a la disminución de los nutrientes disponibles y también aunque en menor intensidad al efecto inhibitorio que tiene el etanol sobre las levaduras, situación que causa la muerte de las levaduras y el fin del proceso fermentativo.

En cuanto a las condiciones del medio se pudo constatar que existe una mayor actividad en ambos sustratos en iguales condiciones de temperatura (37 °C) a un pH de 4,5 puesto que el decrecimiento de los grados Brix fue más rápido y elevado en comparación a los medios con un pH 3,5.

En esta etapa también se pudo evidenciar la disminución en la densidad mediante la determinación de la densidad del jarabe al inicio de la fermentación y del vino obtenido al finalizar dicha operación. A continuación, se detallan los resultados.

Tabla III-15: Medición de la Densidad en la Fermentación Alcohólica

	Condiciones		Densidad (g/ml)	
	T (°C)	pH	Inicio	Final
S1	37	3,5	1,154	1,132
S1	37	3,5	1,154	1,131
S1	37	4,5	1,158	1,134
S1	37	4,5	1,158	1,133

S2	37	3,5	1,169	1,146
S2	37	3,5	1,169	1,148
S2	37	4,5	1,175	1,150
S2	37	4,5	1,175	1,150

Fuente: Elaboración propia, 2018

La reducción en la densidad determinada se puede entender como la pérdida de masa en el sustrato debido a la conversión de los nutrientes y azúcares presentes a etanol y dióxido de carbono que escapa del fermentador, tal y como se espera los vinos con menor densidad son aquellos que sufrieron mayor consumo por parte de las levaduras a un pH de 4,5

### **3.3.- RESULTADOS OBTENIDOS DEL PRODUCTO FINAL**

#### **3.3.1.- RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD REALIZADO EN EL PRODUCTO OBTENIDO**

Una vez finalizada la fermentación alcohólica, se procedió a realizar el correspondiente control de calidad sobre el vino obtenido, que consistió en la determinación del grado alcohólico por el método de destilación, debido a que los demás componentes sólidos presentes en el vino al finalizar la fermentación no son de interés (fosfato de amonio, sales de neutralización y remanentes de levadura) y fueron fácilmente separados en la destilación no se consideró su determinación en el control de calidad del producto final, los resultados se muestran a continuación:

Tabla III-16: Determinación del Grado Alcohólico del Vino Obtenido

Muestra	Volumen Fermentado (ml)		° Brix Final	° G.L	Contenido de Agua (%)
	Inicio	Final			
S1	536	525	9,1	5,0	95,0
S1	536	522	9,4	5,0	95,0
S1	537	521	8,7	6,0	94,0
S1	537	520	8,9	6,0	94,0
S2	515	497	8,6	7,0	93,0
S2	515	502	8,7	6,5	93,5
S2	515	500	8,2	7,5	92,5
S2	515	500	8,0	7,5	92,5

Fuente: Elaboración propia, 2018

Según los datos anteriores las pruebas con mayor grado alcohólico fueron las provenientes del sustrato 2 cuya fermentación se llevó a cabo a un pH de 4,5, mientras que a un pH 3,5 el grado alcohólico alcanzado fue menor en ambos sustratos, sin embargo, no existe una diferencia significativa en el porcentaje máximo de etanol alcanzado en los sustratos 1 y 2.

En la siguiente tabla se muestran los resultados en la determinación del grado alcohólico en los destilados del vino:

Tabla III-17: Determinación del Grado Alcohólico del Destilado

<b>Muestra</b>	<b>Volumen de Destilado (ml)</b>	<b>° G.L</b>	<b>Contenido de Agua (%)</b>
S1	126	20,0	80,0
S1	131	20,0	80,0
S1	121	26,0	74,0
S1	127	24,5	73,5
S2	120	29,0	71,0
S2	114	28,5	71,5
S2	115	32,5	67,5
S2	122	31,0	69,0

Fuente: Elaboración propia, 2018

El mayor contenido de alcohol se obtuvo en las dos últimas pruebas, la cuales proceden de las mejores experiencias realizadas en la fermentación alcohólica.

Seguidamente se evaluaron y cuantificaron las características más relevantes del producto obtenido tales como pH, acidez, olor y color correspondientes a la prueba con mayor grado alcohólico alcanzado (7 %), los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla III-18: Resultados de las Pruebas de Calidad del Bioetanol Obtenido

<b>Característica</b>	<b>Unidad</b>	<b>Especificación</b>
Color	-	Incoloro
Acidez Total	mg/l	48,79
pH	-	4,330
Olor	-	Levemente aromático

Fuente: Elaboración propia, 2018

El olor y pH ligeramente ácido se debe a que la cascara de naranja presenta una gran cantidad de compuestos aromáticos entre ellos los aceites esenciales que en el momento de la destilación son arrastrados hacia el producto final lo que genera un descenso del pH, por otra parte las condiciones de fermentación no fueron controladas de manera adecuada debido a deficiencias en los laboratorios, razón por la cual el medio no fue totalmente anaerobio como se recomienda, lo que causó una leve oxidación del etanol a ácido acético afectando la acidez total, y olor característico.

### **3.3.2- DETERMINACION DE RENDIMIENTOS**

Se obtuvieron los datos de rendimiento tanto para la etapa de hidrólisis ácida como para la etapa de fermentación alcohólica.

#### **3.3.2.1.- DETERMINACION DE RENDIMIENTO DE HIDROLISIS ACIDA**

Para obtener los resultados de rendimiento se utilizaron los sólidos solubles (°Brix) provenientes de la parte experimental del proyecto de la siguiente manera:

Datos:

Inicial °Brix<sub>o</sub> = 5,5

Final °Brix  $f = 8,1$

El rendimiento se calcula mediante la siguiente expresión matemática:

$$\eta = \frac{^{\circ}\text{Brix}f - ^{\circ}\text{Brix}o}{^{\circ}\text{Brix}o} * 100$$

Reemplazando se tiene que:

$$\eta = \frac{8,1 - 5,5}{5,5} * 100$$

$$\eta = 47,272\%$$

Lo anterior quiere decir que los 5,5 °Brix iniciales se incrementan en un 47,272 % al finalizar el procedimiento de hidrolisis acida hasta alcanzar los 8,1 °Brix.. Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla.

Tabla III-19: Determinación del Rendimiento de Hidrolisis Acida

Muestra	N°	°Brix o	°Brix f	Rendimiento (%)
C.N (4% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	M1	5,5	8,1	47,272
	M2	5,6	8,2	46,428
	M3	5,4	8,6	59,259
	M4	5,6	8,9	58,928
C.N (7% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	M5	10,0	11,9	19,000
	M6	10,4	12,1	16,346
	M7	10,3	12,8	24,272
	M8	10,2	12,6	23,529

Fuente: Elaboración propia, 2018



En los datos anteriores se muestran los resultados de rendimiento de las 8 experiencias de hidrolisis realizadas en base al incremento de los grados Brix , según las cifras mostradas las condiciones de mayor rendimiento alcanzado fueron aquellas en las que se empleó ácido sulfúrico al 4% por 4 y 8 horas; 47,272 % y 59,259 correspondientemente, mientras que en las condiciones empleando ácido sulfúrico al 7% por 4 y 8 horas los grados Brix resultantes fueron mayores pero en contraparte alcanzaron rendimientos de hidrolisis notablemente más bajos; 19,000 y 24,272 respectivamente, esto se debe a que empleando una concentración mayor de ácido sulfúrico la eficiencia en la reacción inmediata entre el ácido y la biomasa empleada (2 g por muestra) es más alta que la eficiencia de hidrolisis, causando que la mayor cantidad de la celulosa y hemicelulosa sea transformada de manera rápida al inicio de la operación.

### **3.3.2.2.- DETERMINACION DE RENDIMIENTOS EN LA FERMENTACION ALCOHOLICA**

Se realizó la determinación de los rendimientos teórico y real en la fermentación alcohólica en base a las cantidades de etanol obtenido y solidos solubles de los sustratos utilizados.

#### **a) RENDIMIENTO TEORICO DE LA FERMENTACION ALCOHOLICA**

Los datos iniciales son los siguientes:

$$V = 536 \text{ ml} \qquad \text{° Brix} = 12,0 \qquad \rho = 1,154 \text{ g/ml}$$

V: Volumen

$\rho$  = Densidad

Calculando la masa de sustrato

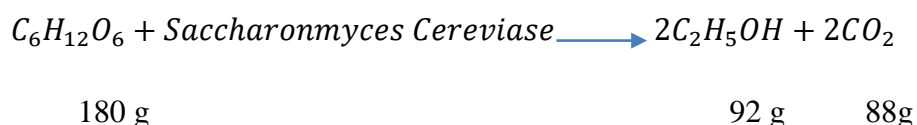
$$\rho = \frac{m}{v} ; m = \rho * v$$

$$m = 1,154 \frac{\text{g}}{\text{ml}} * 536 \text{ ml} = 618 \text{ g}$$

Se tiene 12,0 g de solido por 100 g de sustrato, entonces:

$$12,0 \text{ g solido} * \left( \frac{618 \text{ g sustrato}}{100 \text{ g sustrato}} \right) = 74,160 \text{ g solido}$$

Considerando idealmente que la totalidad de materia s3lida disuelta en el sustrato corresponde a azucares fermentables por la levadura cervecera, podemos calcular la cantidad de alcohol que se obtendr3a te3ricamente mediante la siguiente relaci3n estequiometrica.



$$74,160 \text{ g azucar} \left( \frac{92 \text{ g } C_2H_5OH}{180 \text{ g azucar}} \right) = 37,904 \text{ g } C_2H_5OH \text{ Rendimiento Teorico}$$

### **b) DETERMINACION DEL RENDIMIENTO REAL DE LA FERMENTACION ALCOHOLICA**

Para determinar el rendimiento real se emple3 los resultados en la medici3n de los grados Gay Lussac del producto obtenido.

Los datos finales son:

$$^{\circ}\text{G.L} = 5$$

$$\rho_{\text{Etanol}} = 0,789 \text{ g/ml}$$

$^{\circ}\text{G.L}$  = Grados Gay Lussac

$\rho$  = Densidad

Por definici3n se tienen 5 ml de etanol puro en 100 ml de mezcla etanol-agua

$$525 \text{ ml mezcla} \left( \frac{5 \text{ ml etanol}}{100 \text{ ml mezcla}} \right) = 26,25 \text{ ml etanol}$$

Mediante el dato de la densidad podemos calcular la masa a partir del volumen obtenido

$$\rho = \frac{m}{v}; m = \rho * v$$

$$m = 0,789 \frac{g}{ml} * 26,25 ml = 20,711 g C_2H_5OH \text{ Rendimiento Real}$$

**c) RENDIMIENTO DE LA FERMENTACION ALCOHOLICA**

El rendimiento se representa mediante la siguiente expresión matemática:

$$\eta = \frac{\eta_{REAL}}{\eta_{TEORICO}} * 100$$

$$\eta = \frac{20,711 g C_2H_5OH}{37,904 g C_2H_5OH} * 100$$

$$\eta = 54,641 \%$$

Tabla III-20: Determinación del Rendimiento en la Fermentación Alcohólica

<b>Sustrato</b>	<b>Solidos Solubles (°Brix)</b>	<b>Grado Alcohólico (°G.L)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
1	12,0	5,0	54,641
1	12,0	5,0	54,329
1	12,0	6,0	64,756
1	12,0	6,0	64,631
2	12,9	7,0	69,155
2	12,9	6,5	64,862
2	12,9	7,5	74,174
2	12,9	7,5	74,174

Fuente: Elaboración propia, 2018

Según los datos presentados las pruebas que alcanzaron una mayor conversión de azúcar en etanol fueron las correspondientes al sustrato 2 a un pH de 4,5, verificándose así que a un pH más neutro la actividad de las levaduras es más intensa frente a un pH de 3,5.

Es importante hacer notar que los rendimientos alcanzados no fueron completamente satisfactorios, sin embargo, tomando en cuenta el hecho de que no todos los sólidos solubles en el sustrato corresponden a azúcares asimilables por las levaduras, sino que además los mismos contienen componentes de naturaleza proteica provenientes de la cascara de naranja que no son de interés ni afectan el proceso de obtención de bioetanol, la eficiencia de la fermentación puede considerarse bastante aceptable.

### **3.3.2.3.- RENDIMIENTO GLOBAL DEL PROCESO DE OBTENCION DE BIOETANOL A PARTIR DE MATERIA RESIDUAL DE NARANJA**

Tomando en cuenta los resultados más elevados en la determinación del grado alcohólico se calculará el rendimiento global de la mejor prueba según los criterios que se explican a continuación:

Para el cálculo de la cantidad de etanol se emplearán los siguientes datos:

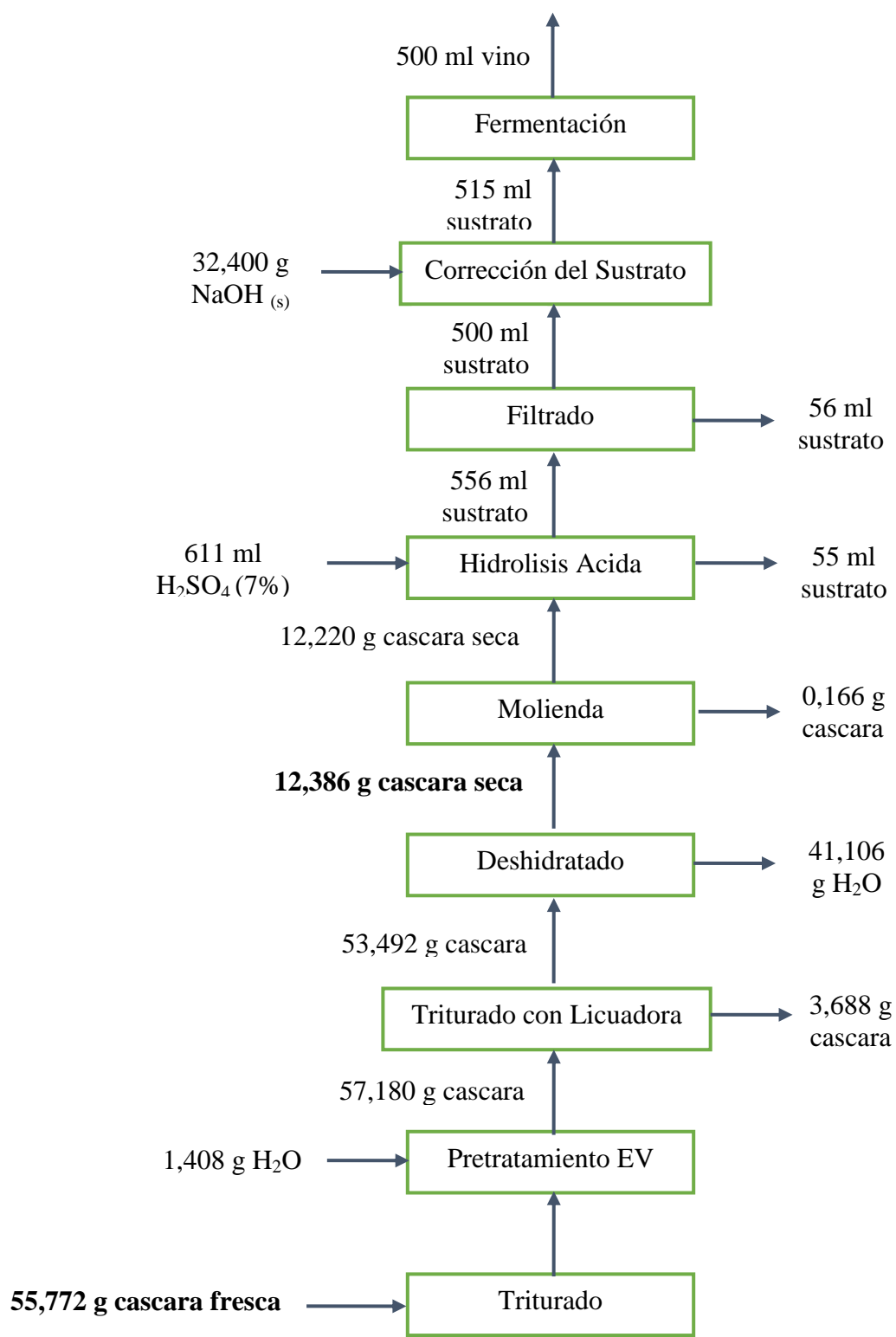
$$V = 115 \text{ ml} \qquad \text{°G.L} = 32,5$$

Por definición se tienen 7,5 ml de etanol en 100 ml de mezcla, entonces:

$$115 \text{ ml mezcla} \left( \frac{32,5 \text{ ml etanol}}{100 \text{ ml mezcla}} \right) = 37,375 \text{ ml etanol obtenidos}$$

Asumiendo los datos experimentales registrados en cada etapa del proceso y a partir de la cantidad de sustrato utilizada en la mejor prueba de fermentación realizada, se calculará la cantidad de materia prima procesada. En la siguiente figura se especifican las corrientes de materia entrantes y salientes implicadas.

Figura III-14: Diagrama de Bloques del Proceso Correspondiente a la Mejor Experiencia



El rendimiento global del proceso quedara definido mediante la siguiente expresión:

$$\eta_{Global} = \frac{\text{Volumen } C_2H_5OH \text{ (ml)}}{\text{masa empleada de cascara de naranja (g)}}$$

El volumen de etanol por masa de cascara de naranja seca será:

$$\eta_{Global} = \frac{37,375 \text{ ml } C_2H_5OH}{12,386 \text{ g cascara de naranja seca}}$$

$$\eta_{Global} = \mathbf{3,017} \frac{\mathbf{ml } C_2H_5OH}{\mathbf{g cascara de naranja seca}}$$

El resultado anterior significa que se obtuvieron 3,017 ml de etanol por cada gramo de cascara de naranja seca procesada.

El volumen de etanol por masa de cascara de naranja fresca será:

$$\eta_{Global} = \frac{37,375 \text{ ml } C_2H_5OH}{55,772 \text{ g cascara de naranja fresca}}$$

$$\eta_{Global} = \mathbf{0,670} \frac{\mathbf{ml } C_2H_5OH}{\mathbf{g cascara de naranja fresca}}$$

El resultado anterior significa que se obtuvieron 0,670 ml de etanol por cada gramo de cascara de naranja fresca procesada.

### 3.4.- VARIABLES Y CONDICIONES DE OPERACIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL

A partir de los resultados obtenidos en las 8 experiencias realizadas en la etapa de hidrólisis ácida y las 8 de la fermentación alcohólica, se pueden establecer las condiciones óptimas de las principales variables involucradas en el proceso de obtención de bioetanol a partir de cascara de naranja en base a los mejores datos y rendimientos alcanzados.

A continuación, se detallan las condiciones y variables de operación que afectan el proceso investigado:

- **Etapa de Triturado**

*Materiales:* Tijeras, bolsas de polietileno, recipientes plásticos.

*Parámetros de Influencia Identificados:* Tamaño de partícula.

*Condiciones:* Cortado de las cascara de naranja hasta obtener trozos de aproximadamente  $1\text{ cm}^2$  de superficie.

- **Etapa de Pre Tratamiento**

*Equipos:* Autoclave

*Materiales:* Recipientes de plástico y de acero inoxidable.

*Parámetros de Influencia Identificados:* Tamaño de partícula, temperatura y tiempo de retención.

*Condiciones:* En esta etapa no se estableció un diseño experimental, razón por la cual se utilizaron las mismas condiciones de operación para la totalidad de la materia prima.

Cascara de naranja en trozos ( $1\text{ cm}^2$ ) sometidas a vapor saturado a  $125^\circ\text{C}$  y 2 bares de presión por 15 minutos.

De acuerdo a los resultados de los análisis de materia prima realizados, la eficiencia del pre tratamiento (EV) se considera aceptable, sin embargo, se requieren emplear mayores temperaturas para mejorar el rendimiento del proceso.

- **Etapas de Triturado con Licuadora**

*Equipos:* Licuadora con una velocidad máxima aproximada de 3600 rpm.

*Parámetros de Influencia Identificados:* Tamaño de partícula.

*Condiciones:* Triturado a 3600 rpm para obtener partículas del menor tamaño posible.

- **Etapas de Deshidratado**

*Equipos:* Secador de convección a presión atmosférica, balanza analítica

*Materiales:* Recipientes metálicos, espátula, desecador.

*Parámetros de Influencia Identificados:* Temperatura y tiempo de deshidratado.

*Condiciones:* Materia triturada colocada sin compactar en recipientes metálicos, introducidos en un secador de convección a 105 °C, por un tiempo aproximado de 2,5 horas.

- **Etapas de Molienda**

*Materiales:* Mortero con pilón de cerámica, balanza analítica, espátula.

*Parámetros de Influencia Identificados:* Tamaño de partícula.

*Condiciones:* Molido del material seco para obtener partículas más finas y de menor tamaño.

- **Etapas de Hidrolisis Ácida**

*Equipos:* Balanza analítica, agitador magnético con calentador, barra imantada.

*Materiales:* Vasos de precipitado (100 ml), matraz Erlenmeyer (2000 ml, 1000 ml), vidrio reloj, termómetro, probeta, pipetas volumétricas,

*Parámetros de Influencia Identificados:* temperatura.

*Variables del Proceso:* Concentración del ácido y tiempo de reacción

*Condiciones:* Según lo realizado los mejores resultados son:

*Dilución:* Empleo de 2 g de materia seca añadida a 100 ml de ácido sulfúrico.

Hidrolisis con ácido diluido al 7% a una temperatura de 85 °C y con una velocidad de agitación de 300 rpm durante un tiempo de reacción de 6 horas.

- **Etapas de Fermentación Alcohólica**



*Equipos:* Autoclave, termostato, balanza analítica.

*Materiales:* Matraces Kitasato (1000 ml), termómetro, vasos de precipitado (50 ml), probeta (50 ml), matraz Erlenmeyer (50 ml).

*Parámetros de Influencia Identificados:* Temperatura.

*Variables del Proceso:* Acidez del medio y tiempo de reacción.

*Condiciones:* Según lo realizado los mejores resultados son:

*Inoculo:* Empleo de 1 g de levadura cervecera (*Saccharomyces Cerevisiae*), adicionado a 20 ml de sustrato con 0,5 g de sacarosa y 2 g de fosfato de amonio como nutriente disueltos a una temperatura de 37 °C.

*Fermentación:* Operación realizada con adición del inoculo a 495 ml del sustrato con un pH de 4,5 y 12,9 °Brix, a una temperatura de 37 °C durante un tiempo de reacción de 3 días.

#### - **Etapa de Destilación Simple**

*Equipos:* Rota-vapor marca HEIDOLPH.

*Materiales:* Probeta (500, 100 ml), vasos de precipitado (250, 50 ml), termómetro, alcoholímetro, agua destilada.

*Parámetros de Influencia Identificados:* Temperatura.

*Condiciones:* En esta etapa no se estableció un diseño experimental, razón por la cual las condiciones descritas a continuación se aplicaron también en la medición del grado alcohólico de los vinos obtenidos.

Destilación simple del vino a una temperatura constante de 75 °C y presión atmosférica, una vez finalizado el procedimiento las muestras se enfriaron a 20 °C para determinación de % v/v de etanol del destilado, posteriormente se completó al volumen inicial con agua destilada para determinar el grado alcohólico del vino.

### **3.5.- ANALISIS ESTADISTICO DE LAS VARIABLES DEL PROCESO**

Para realizar el correspondiente análisis estadístico de las variables investigadas en proceso se utilizó el programa SPSS, tanto para la hidrolisis acida como también para la fermentación alcohólica.

### 3.5.1.- ANALISIS ESTADISTICO DE LA HIDROLISIS ACIDA

Se realizó a partir de los datos en la tabla siguiente:

Tabla III-21: Diseño Factorial de la Hidrolisis Acida

Prueba	Variables Independientes		Variable de Respuesta
	Tiempo	Concentración del Acido	Solidos Solubles (°Brix)
1	-1	-1	8,1
2	-1	-1	8,2
3	1	1	12,8
4	1	1	12,6
5	-1	1	11,9
6	-1	1	12,1
7	1	-1	8,6
8	1	-1	8,9

Fuente: Elaboración propia, 2018

Los resultados del análisis de varianza realizado mediante el programa SPSS statistic 17.0, se muestran en la siguiente tabla:

Tabla III-22: Prueba de Efectos Inter-Sujetos – Hidrolisis Acida

Variable dependiente: Brix

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	31,270 <sup>a</sup>	3	10,423	463,259	,000
Intersección	865,280	1	865,280	38456,889	,000
Concenc	30,420	1	30,420	1352,000	,000
Tiempo	,845	1	,845	37,556	,004

Concenc * Tiempo	,005	1	,005	,222	,662
Error	,090	4	,023		
Total	896,640	8			
Total corregida	31,360	7			

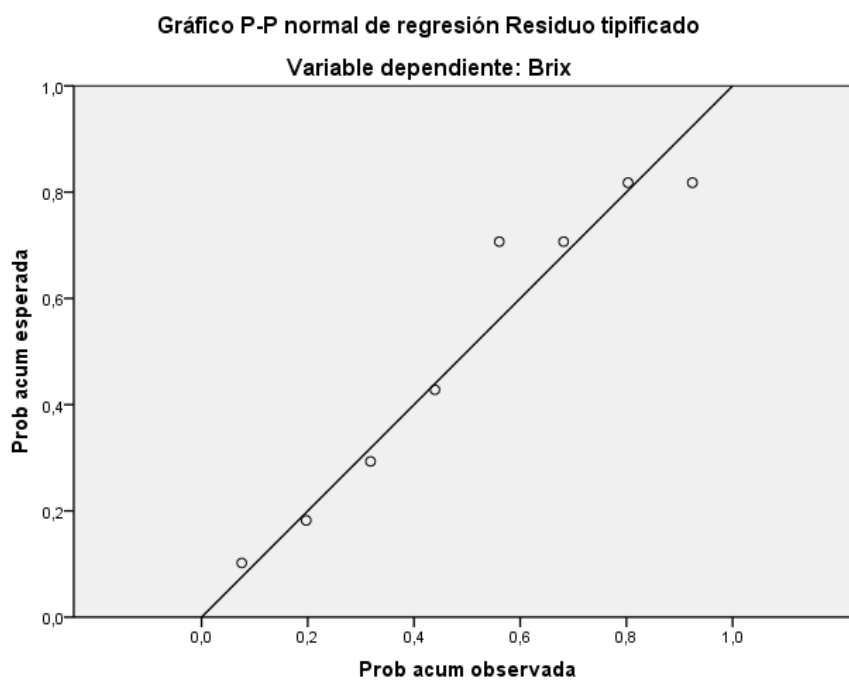
a. R cuadrado = ,997 (R cuadrado corregida = ,995)

Fuente: Elaboración propia, 2018

De acuerdo al análisis estadístico F (Fisher) los valores de significación  $\leq 0,05$  indican que son variables significativas, por lo tanto, tomando en cuenta el criterio anterior se puede observar que las variables elegidas para el proceso son significativas ya que tanto para CONCENTRACION y TIEMPO la significancia es  $< 0,05$ , mientras que para la interacción CONCENTRACION\*TIEMPO la significancia es  $> 0,05$  razón por la cual NO es una variable significativa. Por lo tanto, para la determinación del modelo matemático para la ecuación Brix = f (variables) se tomará en cuenta las variables de CONCENTRACION y TIEMPO.

Para la determinación del modelo matemático se aplicó regresión lineal empleando el programa estadístico anteriormente mencionado, los resultados se muestran a continuación.

Figura III-15: Datos Ajustados en Regresión Lineal – Hidrolisis Acida



Fuente: Elaboración propia, 2018

Tabla III-23: ANOVA Datos y Resultados Obtenidos Aplicando Regresión lineal – Hidrolisis Acida

ANOVA <sup>b</sup>						
Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	
1	Regresión	31,265	2	15,633	822,763	,000 <sup>a</sup>
	Residual	,095	5	,019		
	Total	31,360	7			

a. Variables predictoras: (Constante), Cocenc, Tiempo

b. Variable dependiente: Brix

Coeficientes <sup>a</sup>							
Modelo	Coeficientes no Estandarizados		Coeficientes Tipificados	t	Sig	Intervalo de confianza de 95,0% para B	
	B	Error Tip.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1. (Constante)	10,400	,049		213,403	,000	10,275	10,525
Tiempo	,325	,049	,164	6,669	,001	,200	,450
Concen.	1,950	,049	,985	40,013	,000	1,825	2,075

a. Variable dependiente: Brix

Fuente: Elaboración propia, 2018

El modelo matemático para °Brix = f(variables) con un 95% de confianza es:

$$\bullet \text{Brix} = 10,400 + 0,325 * \text{Tiempo} + 1,950 * \text{Concentracion}$$

### 3.5.2.- ANALISIS ESTADISTICO DE LA FERMENTACION ALCOHOLICA

Se realizó a partir de los datos en la tabla siguiente:

Tabla III-24: Diseño Factorial de la Hidrolisis Acida

Prueba	Variables Independientes		Variable de Respuesta
	Sustrato	pH	G.L
1	-1	1	6,0
2	-1	1	6,0
3	1	-1	7,0
4	1	-1	6,5
5	1	1	7,5

6	1	1	7,5
7	-1	-1	5,0
8	-1	-1	5,0

Fuente: Elaboración propia, 2018

Los resultados del análisis de varianza realizado mediante el programa SPSS statistic 17.0, se muestran en la siguiente tabla:

Tabla III-25: Prueba de Efectos Inter-Sujetos – Fermentación Alcohólica

Variable dependiente:G.L

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	9,375 <sup>a</sup>	3	3,125	25,000	,005
Intersección	325,125	1	325,125	2601,000	,000
pH	3,125	1	3,125	25,000	,007
Sustrato	6,125	1	6,125	49,000	,002
pH * Sustrato	,125	1	,125	1,000	,374
Error	,500	4	,125		
Total	335,000	8			
Total corregida	9,875	7			

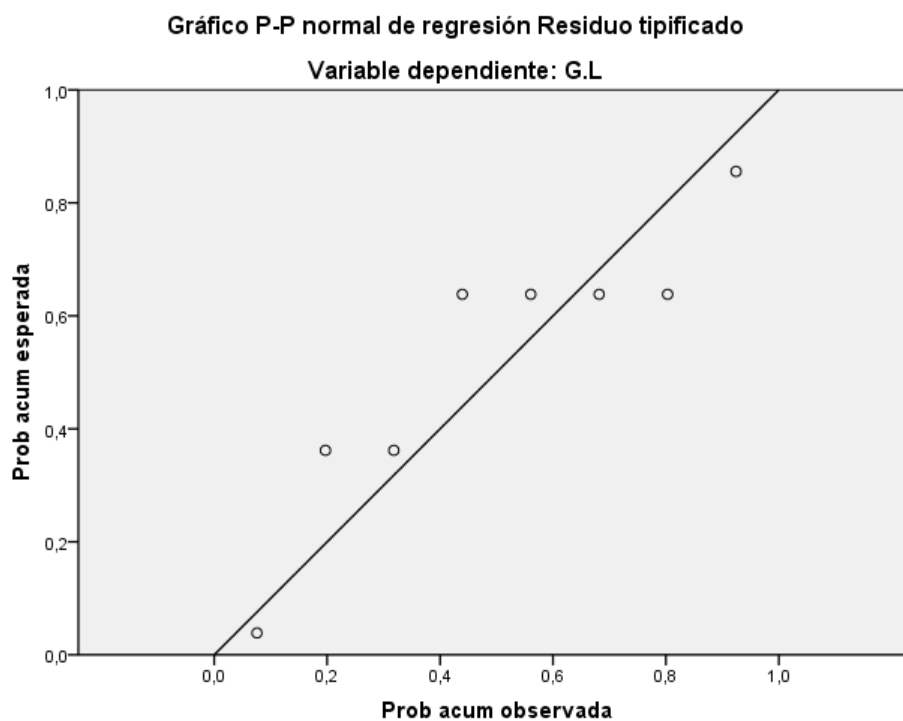
a. R cuadrado = ,949 (R cuadrado corregida = ,911)

Fuente: Elaboración propia, 2018

De acuerdo al análisis estadístico F (Fisher) los valores de significación  $\leq 0,05$  indican que son variables significativas, por lo tanto, tomando en cuenta el criterio anterior se puede observar que la variable SUSTRATO posee una significancia  $< 0,05$  considerada variable significativa, mientras que para variable pH se tiene una significancia  $> 0,05$  por lo que se afirma que NO es una variable significativa, de igual manera para la interacción pH\*SUSTRATO se tiene una significancia  $> 0,05$  razón por la cual NO es una interacción significativa y el modelo matemático para la ecuación °G.L = f (variables) solo se tomara en cuenta la variable SUSTRATO.

Para la determinación del modelo matemático se aplicó regresión lineal empleando el programa estadístico anteriormente mencionado, los resultados se muestran a continuación:

Figura III-16: Datos Ajustados en Regresión Lineal – Fermentación Alcohólica



Fuente: Elaboración propia, 2018

Tabla III-26: ANOVA Datos y Resultados Obtenidos Aplicando Regresión lineal-

**ANOVA<sup>b</sup>**

Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1 Regresión	9,250	2	4,625	37,000	,001 <sup>a</sup>
Residual	,625	5	,125		
Total	9,875	7			

a. Variables predictoras: (Constante), pH, Sustrato

b. Variable dependiente: G.L

**Coefficientes<sup>a</sup>**

Modelo	Coeficientes no Estandarizados		Coeficientes Tipificados	t	Sig	Intervalo de confianza de 95,0% para B	
	B	Error Tip.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1. (Constante)	6,375	,125		51,000	,000	6,054	6,696
Sustrato	,875	,125	,788	7,000	,001	,554	1,196

**Fermentación Alcohólica**

a. Variable dependiente: G.L

Fuente: Elaboración propia, 2018

Por tanto el modelo matemático para la ecuación °G.L = f (variables) con un 95% de confianza es:

$$\bullet G.L = 6,375 + 0,875 * SUSTRATO$$



## **CAPITULO IV**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### 4.1.- CONCLUSIONES

Una vez culminadas la investigaciones y experimentaciones con el respectivo análisis de los resultados obtenidos acerca del proceso llevado a cabo para la obtención de bioetanol a partir de cascara de naranja, se concluye lo siguiente:

- A través del trabajo de investigación realizado a escala de laboratorio, es posible la obtención de bioetanol, ya que el proceso no ofrece demasiadas dificultades, y el rendimiento global obtenido es aceptable (0,670 ml de etanol/g de cascara de naranja fresca),demostrándose así su obtención a través del proceso conformado por las etapas seleccionadas, de acuerdo a diversos factores de evaluación, tomando en cuenta según bibliografía las variables más influyentes en las mismas y las condiciones en las que se puede manejar cada una de ellas en el laboratorio del que se dispone.
- Dentro de las características fisicoquímicas de interés en la materia prima se puede concluir que: las cascara de naranja poseen un elevado contenido de humedad libre y ligada (74,990%), mientras que en lo que se refiere al contenido de azúcares reductores y totales (88,22 y 127,60 g/l) los resultados fueron favorables en ambos casos para establecer la viabilidad del proceso investigado para la obtención de bioetanol a partir de este material.
- La eficiencia del pre tratamiento (EV) realizado fue aceptable, como se pudo constatar en los resultados obtenidos en la determinación de azúcares totales en las cascara de naranja deshidratadas antes de realizar la etapa de hidrólisis de azúcares.
- El rendimiento máximo alcanzado en la etapa de hidrólisis acida fue del 59,259 % correspondiente a la prueba realizada con ácido al 4% por 8 horas, sin embargo, dicho ensayo no alcanzo el mayor contenido de azúcares reductores como en el caso de la hidrólisis al 7%, que en contraparte tuvo una eficiencia del 24,272 %.
- Los azúcares obtenidos en la hidrólisis acida fueron expresados en función de los sólidos solubles (°Brix), los mismos que varían entre 5,4 y 12,8 °Brix, siendo las condiciones seleccionadas para la elaboración de los sustratos de fermentación las correspondientes a las pruebas m6 y m7 con 12,1 y 12,8 °Brix. Este nivel alcanzado de solidos solubles puede considerarse como bastante favorable, tomando en cuenta

que solo se empleó 2 g de cascara de naranja deshidratada por cada 100 ml de solución de ácido utilizada.

- En la preparación de los sustratos para la fermentación, se pudo observar que el pH al finalizar la etapa de hidrólisis es sumamente ácido alrededor de 0,05, razón por la cual a la hora de acondicionar los mismos para la etapa de fermentación alcohólica se tuvo que emplear hidróxido de sodio sólido, lo cual genera un gasto económico adicional encareciendo el proceso.
- El rendimiento y productividad de la levadura cervecera del tipo *Sacharomyces Cerevisiae* fue aceptable, según las experiencias realizadas se evidencio que: el microorganismo no necesita de un tiempo de adaptación al medio razón por la cual la mayor tasa de producción de etanol sucedió en los primeros 3 días a un pH de 4,5 y 37 °C. De igual manera se pudo verificar que la resistencia de la levadura cervecera a agentes tóxicos (furfural y compuestos fenólicos entre otros) como los que están presentes en los hidrolizados es muy buena, siendo esta la razón principal que se consideró para su uso.
- El rendimiento más alto conseguido en la fermentación alcohólica fue del 74,174 %, el mismo que es medianamente bajo, esto se debe a que solo una parte de la totalidad de los sólidos solubles (°Brix) corresponde a azúcares fermentables, mientras que el resto proviene de pectina, derivados proteicos y otros azúcares no fermentables por la levadura, de tal forma que la medición de los °Brix no fue suficientemente exacta para el caso, sin embargo, al no existir disponibilidad de equipos de medición más detallados en el laboratorio de operaciones unitarias se optó por trabajar con el refractómetro.
- El bioetanol obtenido presentó concentraciones en vino comprendidas entre 5 y 7,5 °G.L, alcanzando los mejores resultados (7,5 °G.L) con el sustrato 2 a un pH de 4,5 frente al sustrato 1 en iguales condiciones (6 °G.L). Mientras que en el destilado se logró una concentración máxima de 32,5 °G.L, haciéndose necesaria una mayor purificación para su uso comercial. Es importante aclarar que no se llevó a cabo un proceso de deshidratación para alcanzar una mayor pureza *debido a que las pretensiones de la presente investigación solo se limitan a su obtención, razón por la cual se empleó la destilación simple como medio de separación.*

- En el análisis estadístico para la etapa de fermentación alcohólica se concluye que la única variable significativa es la correspondiente al sustrato que se encuentra en función de los °Brix, por lo tanto, es determinante en el proceso.

#### **4.2.- RECOMENDACIONES**

- Se recomienda realizar un estudio con otras clases de residuos agroindustriales, para brindar alternativas útiles de aprovechamiento de materia-problema proveniente de las industrias, las cuales a menudo causan un gran impacto negativo sobre el medio ambiente.
- En la etapa de pre tratamiento se recomienda emplear un tamaño menor de partícula y equipos en los cuales se puedan emplear temperaturas de trabajo más altas debido a que mientras más eficiente sea esta operación, mayor será la obtención de azúcares fermentables.
- En la etapa de hidrólisis ácida, se recomienda con la finalidad de mejorar la eficiencia en la obtención de azúcares fermentables, emplear temperaturas más elevadas debido a que por razones de disponibilidad técnica, solamente se pudo trabajar a 85 °C. Así mismo se recomienda realizar un estudio acerca de la manera de recuperar el ácido sulfúrico empleado, debido a que es un reactivo con alto costo y de comercialización controlada.
- En la etapa de fermentación alcohólica, se recomienda emplear una levadura con mayor rendimiento en producción de etanol y que al mismo tiempo resista las condiciones tóxicas del medio, aspecto a tomar en cuenta en posteriores investigaciones.
- En las etapas de hidrólisis ácida y de fermentación alcohólica, debido a que no solamente existen azúcares fermentables disueltos en los sustratos de fermentación obtenidos en la hidrólisis ácida, se recomienda realizar la medición específicamente de azúcares simples, ya que por razones técnicas se empleó un refractómetro digital con el cual solamente se obtuvieron datos aproximados.
- Se recomienda realizar la investigación del proceso de deshidratación del bioetanol obtenido a partir de cascara de naranja, juntamente con el análisis de costos de todo el proceso, con la finalidad de poder establecer la rentabilidad del proceso de obtención de bioetanol comercial (concentración mayor al 68% v/v).

