



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

TEMA

Estudio comparativo de la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol de primera generación (1G) obtenido del jugo de naranja Thompson (*Citrus sinensis*) a diferentes concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)

AUTOR

Hugo Andrés García Espinoza

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial con mención en Agronegocios.

TUTOR

Ing. Jesús Ramón Meléndez Rangel, Ph.D.

Guayaquil, Ecuador

26 de septiembre del 2022



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente **Trabajo de Titulación**, fue realizado en su totalidad por **Hugo Andrés García Espinoza**, como requerimiento para la obtención del título de **Ingeniero Agroindustrial con mención en Agronegocios**.

TUTOR

f. _____
Ing. Jesús Ramón Meléndez Rangel, Ph.D.

DIRECTOR DE LA CARRERA

f. _____
Ing. John Eloy Franco Rodríguez, Ph.D.

Guayaquil, a los 26 del mes de septiembre del año 2022



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, **Hugo Andrés García Espinoza**

DECLARO QUE:

El Trabajo de Titulación: **Estudio comparativo de la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol de primera generación (1G) obtenido del jugo de naranja Thompson (*Citrus sinensis*) a diferentes concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)**, previo a la obtención del título de **Ingeniero Agroindustrial con mención en Agronegocios**, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Guayaquil, a los 26 del mes de septiembre del año 2022

EL AUTOR

f. _____
Hugo Andrés García Espinoza



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

AUTORIZACIÓN

Yo, Hugo Andrés García Espinoza

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la **publicación** en la biblioteca de la institución el trabajo de titulación: **Estudio comparativo de la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol de primera generación (1G) obtenido del jugo de naranja Thompson (*Citrus sinensis*) a diferentes concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

Guayaquil, a los 26 del mes de septiembre del año 2022

EL AUTOR

f. _____
Hugo Andrés García Espinoza



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL CERTIFICADO URKUND

La Dirección de las Carreras Agropecuarias revisó el Trabajo de Titulación: **Estudio comparativo de la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol de primera generación (1G) obtenido del jugo de naranja Thompson (*Citrus sinensis*) a diferentes concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)**, presentado por el estudiante **Hugo Andrés García Espinoza**, de la carrera de **Ingeniería Agroindustrial con mención en Agronegocios**, donde obtuvo del programa URKUND, el valor de 0 % de coincidencias, considerando ser aprobada por esta dirección.

Document Information	
Analyzed document	Trabaja Hugo Garcia URKUND.docx (234433295)
Submitted	9/18/2022 9:42:00 AM
Submitted by	
Submitter email	Hugo.garcia@ucsg.edu.ec
Similarity	0%
Analysis address	noelia.caicedo@ucsg@sanatga.orkund.com

Fuente: URKUND-Usuario Caicedo Coello, 2022

Certifican,

Ing. John Franco Rodríguez, Ph.D.
Director Carreras Agropecuarias
UCSG-FETD

Ing. Noelia Caicedo Coello, M. Sc.
Revisora - URKUND

AGRADECIMIENTO

Las palabras no me alcanzan para las gracias infinitas que le debo a cada una de las personas que me acompañaron durante este proceso de formación, agradezco a todos los docentes que me encontré en el camino tanto de la Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo, como todos los amigos de la universidad quienes también ayudaron a formar mi carácter y criterio.

Agradezco a mi tutor el Dr. Jesús Ramón Meléndez Rangel, PH.D, un excelente profesional que siempre supo darme las pautas y los consejos necesarios para avanzar con este proyecto de investigación.

Mi especial agradecimiento a Ing. Ana Escobar Mayorga e Ing. Danilo Santana Aragone que me abrieron las puertas de los laboratorios de la Universidad Técnica de Babahoyo para poder realizar mi proyecto practico que se efectúo con éxito.

DEDICATORIA

Muy en especial a mi madre Zoila Espinoza Yáñez, por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional en todo momento, mi padre Vladimir García Jíbaja, mi modelo a seguir, mi hermano Vladimir, mi mano derecha para todo, y mi hermana Angie García que durante mi estadía en Guayaquil siempre me apoyo en todo.

Una dedicatoria muy especial a mis abuelos que han sido un pilar fundamental en mi formación.

Por su amor, por los consejos, por la confianza, por los valores y principios inculcados durante el transcurso de mi vida.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Ing. Jesús Ramón Meléndez Rangel, Ph.D.

TUTOR

Ing. John Eloy Franco Rodríguez, Ph.D.

DIRECTOR DE LA CARRERA

Ing. Noelia Carolina Caicedo Coello, M. Sc.

COORDINADOR DE UTE



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

CALIFICACIÓN

Ing. Jesús Ramón Meléndez Rangel, Ph.D.

TUTOR

ÍNDICE GENERAL

1	
INTRODUCCIÓN.....	2
1.1. Objetivos.....	4
1.1.1 Objetivo General.	4
1.1.2 Objetivos Específico.....	4
1.2. Hipótesis.....	5
2 MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Bioetanol.....	6
2.2. Biocombustibles.....	7
2.2.1 Biocombustible de primera generación.....	8
2.2.2 Biocombustibles de segunda generación.....	9
2.2.3 Biocombustibles de tercera generación.....	9
2.3. Proceso industrial para producir bioetanol de primera generación (1G).....	10
2.4 Producción mundial de bioetanol.....	12
2.4.1 Métodos de obtención de bioetanol.	13
Licuefacción.	13
Sacarificación... ..	13
Fermentación... ..	14
Destilación.	14
2.5. Fermentación Biológica.....	14
2.6. Microorganismos fermentadores de bioetanol.....	15
2.6.1 Levadura.....	16
2.7. Uso del bioetanol.....	17
2.8. Naranja.....	18
2.8.1 Componente nutricional (fruto).....	18
2.8.2 Producción en Ecuador.... ..	20
2.8.3 Tipos y variedades de naranjas	20
3 MARCO METODOLÓGICO.....	22
3.1. Ubicación.....	22
3.1.1 Características climatológicas... ..	22
3.2. Metodología de la Investigación.....	23

3.3. Materiales a utilizar.....	24
3.3.1 Materia prima.....	24
3.3.2 Reactivos.....	24
3.3.3 Materiales y equipos.....	24
3.4. Diseño experimental.....	25
3.4.1 Factores.....	25
3.4.2 Tratamientos.....	26
3.4.3 Interacciones de tratamientos.....	26
3.4.4 Sistema de hipótesis.....	27
3.4.5 Análisis de varianza.....	27
3.4.6 Modelo matemático.....	27
3.5. Descripción de procedimiento experimental.....	
283.6. Parámetros físicos y químicos de la materia prima (naranja Thompson).....	30
3.6.1 pH.....	31
3.6.2 Índice de madurez.....	31
3.7. Análisis microbiológico del jugo de naranja.....	32
3.8. Análisis físicos del producto final (bioetanol).....	32
3.9. Relación costo/beneficio del producto terminado.....	33
4 RESULTADOS.....	34
4.1. Características físicas, químicas y microbiológicas de la materia prima (jugo de naranja).....	34
4.2. Análisis de eficiencia volumétrica del bioetanol.....	35
4.2.1 Análisis de varianza de eficiencia volumétrica del bioetanol.....	36
4.2.2 Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks.....	37
4.3. Análisis de eficiencia alcohólica.....	38
4.3.1 Análisis de varianza de eficiencia alcohólica del bioetanol.....	39
4.3.2 Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks.....	40
4.4. Correlación volumétrica y alcohólica del bioetanol obtenido de las diferentes concentraciones de levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>).....	41
4.5. Características físicas del bioetanol de 1G obtenido.....	42

4.5.1	pH	del	bioetanol	
1G.....				42
4.5.2	Densidad del bioetanol obtenido.....			42
4.6.	Comparativa entre tratamientos.....			43
4.7.	Relación costo /beneficio del producto terminado.....			44
5	DISCUSIÓN.....			46
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....			48
6.1.	Conclusiones.....			48
6.2.	Recomendaciones.....			49
7	REFERENCIAS			
8	ANEXOS			

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Producción de bioetanol a partir del jugo de la caña de azúcar primera (Método de generación).....	10
Gráfico 5. Ubicación de la Universidad Técnica de Babahoyo.....	22
Gráfico 6. Diagrama de flujo del proceso de Bioetanol.....	30
Gráfico 7. Representación lineal de los tratamientos eficiencia volumétrica.....	36
Gráfico 8. Representación lineal de los tratamientos de eficiencia alcohólica.....	39
Gráfico 10. Comparativa de tratamientos.....	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos, procesos y tecnologías aplicadas en los biocombustibles	8
Tabla 2. Cálculos de rendimiento potencial de bioetanol por hectárea cultivada de diversas materias.....	9
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
Tabla 4. Composición nutricional de la naranja.....	19
Tabla 5. Tratamientos del diseño experimental.....	26
Tabla 6. Interacción de tratamientos.....	26
Tabla 7. Esquema de análisis de varianza.....	28
Tabla 8. Métodos de ensayo: parámetros físico y químico de la materia prima.....	31
Tabla 9. Métodos de análisis físicos del producto final (bioetanol).....	32
Tabla 10. Resultados físicos, químicos y microbiológicos de la materia prima.....	34
Tabla 11. Medición de volumen del bioetanol.....	35
Tabla 12. Promedio de análisis de varianza de medición volumétrica.....	36
Tabla 13. Análisis de varianza para la medición Volumétrica.....	37
Tabla 14. Normalidad de medición volumétrica.....	38
Tabla 15. Medición de alcohol.....	38
Tabla 16. Promedio de análisis de varianza de la eficiencia alcohólica.....	39
Tabla 17. Análisis de varianza para la medición alcohólica.....	40
Tabla 18. Normalidad de eficiencia alcohólica.....	41
Tabla 19. Medición de pH del bioetanol 1G.....	42

Tabla 20. Medición de la densidad del bioetanol 1G	42
Tabla 21. Costo directo o primario.....	44
Tabla 22. Costo indirecto de producción	44
Tabla 23. Otros gastos	45
Tabla 24. Costo total de producción	45

RESUMEN

La presente Investigación tiene como propósito determinar la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol obtenido a base del jugo de naranja Thompson. El estudio se llevó a cabo bajo una metodología experimental donde se realizaron tres tratamientos diferentes en base a la inoculación del *Saccharomyces cerevisiae* en diferentes concentraciones (0.1 %, 0.5 % y 1%) y con volumen de jugo de naranja de 250 mL. Los tratamientos realizados en base a las distintas combinaciones y repeticiones, permitieron obtener bioetanol de 1G. De acuerdo a las cantidades obtenidas, se realizaron diversos análisis para medir tanto la eficiencia volumétrica como la alcohólica del bioetanol. Los resultados alcanzados evidencian que tratamientos del 1 % de *Saccharomyces cerevisiae* registraron la mayor cantidad volumétrica con un promedio de 56.25 mL de bioetanol. La eficiencia alcohólica a partir de las concentraciones de 0.5 % de *Saccharomyces cerevisiae* generaron un 20 % de alcohol, siendo el mayor grado registrado. El costo total considerando los gastos de reactivos, movilización, materia prima determinan un índice de USD 1.822 por 1mL de bioetanol producido.

Palabras Claves: Alcohólica, bioetanol, eficiencia, *Saccharomyces cerevisiae*, volumétrica

ABSTRACT

The purpose of this research is to determine the volumetric and alcoholic efficiency of bioethanol obtained from Thompson orange juice. The study was carried out under an experimental methodology where three different treatments were carried out based on the inoculation of *Saccharomyces cerevisiae* in different concentrations (0.1%, 0.5% and 1%) and with a volume of orange juice of 250 mL. The treatments carried out based on the different combinations and repetitions, allowed to obtain 1G bioethanol. According to the quantities obtained, various analyzes were carried out to measure both the volumetric and alcoholic efficiency of bioethanol. The results obtained show that treatments of 1% of *Saccharomyces cerevisiae* registered the highest volumetric quantity with an average of 56.25 mL of bioethanol. Alcoholic efficiency from concentrations of 0.5% of *Saccharomyces cerevisiae* generated 20% alcohol, being the highest degree recorded. The total cost considering the expenses of reagents, mobilization, and raw material determine an index of USD 1,822 per 1mL of bioethanol produced.

Keywords: Alcoholic, bioethanol, efficiency, *Sacchoromyces cerevisiae*, volumetric.

1 INTRODUCCIÓN

La aceleración del consumo de combustibles fósiles y la incertidumbre sobre el calentamiento global han aumentado inevitablemente el interés comercial por los combustibles renovables en los últimos tiempos. Además, debido a los niveles de contaminación alcanzados en el medio ambiente, se han buscado alternativas al uso de combustibles fósiles, como la biomasa y el bioetanol. En este aspecto, el bioetanol ha sido considerado como la mejor opción para reducir los gases de efecto invernadero y ofrecer un combustible alternativo que disminuya el consumo de hidrocarburos.

En este sentido, el bioetanol presenta algunas ventajas respecto a la gasolina, ya que tiene un mayor número de octanos, unos límites de inflamabilidad en el aire más altos, amplios y un calor de vaporización más elevado. Estas propiedades permiten una mayor relación de compresión, un pequeño lapso de encendido y un menor tiempo de inyección de alcohol debido a la rápida velocidad de vaporización del etanol (Balat, 2007).

Según, Meléndez et al. (2021), otras ventajas de obtener bioetanol como combustible, es que se trata de un producto renovable, además, la tecnología necesaria para su producción no es compleja, lo que permite a cualquier país del mundo desarrollarla y explotarla. Otras de las ventajas en la obtención de bioetanol es la reducción de la dependencia de los combustibles fósiles, ya que es una de las principales ventajas del uso del bioetanol, especialmente en los países no productores de petróleo, donde las condiciones políticas suelen ser inestables y estar influidas por las fluctuaciones del mercado (Balat, 2007).

Sin embargo, hoy en día, la producción de bioetanol se ha enfrentado a diversos problemas como es el caso de las fluctuaciones en los suministros de materia primas, los costos operativos, el pretratamiento, las enzimas u otras cuestiones logísticas. En este aspecto, se han realizado muchas investigaciones sobre el uso de diferentes recursos como materiales directos para la producción de biocombustible con la finalidad de sobrellevar los

problemas anteriormente expuestos. Es así que, el uso de productos agrícolas tiene un gran valor para la transformación de otros productos como es el caso del bioetanol, esto permitirá un mejor aprovechamiento de productos agrícolas añadiéndoles valor.

En este sentido la gestión agroindustrial abarca la producción de biocombustibles mediante la transformación industrial de materias primas agrícolas. En este marco, el bioetanol de primera generación puede obtenerse mediante la fermentación de diversos sustratos procedentes de distintos azúcares, siendo el tipo de biocombustible más desarrollado del mundo. Además, para producir bioetanol se pueden utilizar diferentes materiales orgánicos que contengan azúcar, carbohidratos fermentables, celulosa o hemicelulosa (Jiménez y Anaya, 2014).

Estos biocombustibles se derivan de los cultivos alimentarios y su producción puede, por tanto, competir con los alimentos por los recursos. Muchos países han adoptado políticas para fomentar la producción de biocombustibles por razones de seguridad energética y medioambiental. Tal es el caso del *Citrus sinensis*, más conocido como naranja, este fruto es un cultivo común en las zonas de clima tropical, en Ecuador el cultivo de la naranja es importante y se produce en diferentes partes del país.

Según INEC (2013), el cultivo de la naranja abarca 6 529 hectáreas de terreno, generando cerca de 23 000 toneladas de naranjas. La naranja contiene una gran cantidad de pectinas, celulosa y polisacáridos (conjunto de moléculas de azúcar enlazadas) que, cuando se fermentan y se someten a rigurosos procesos de destilación, dan lugar a alcoholes adecuados para su uso específico.

Bajo este panorama, actualmente se está investigando mucho para obtener combustible a partir de estos azúcares, sin embargo, debido a la falta o al desconocimiento de las técnicas o prácticas que procesan de manera conveniente esta producción, resulta necesario y beneficioso realizar el siguiente trabajo de investigación que tiene como finalidad efectuar un estudio

comparativo de la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol de primera generación (1G) del jugo de naranja (*Citrus sinensis*) Thompson de métodos extracción basados en diferentes concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), debido a que estas materias primas han sido analizadas ampliamente por su eficiencia en la fermentación alcohólica

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo General.

Realizar estudio comparativo de la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol de primera generación (1G) obtenido del jugo de naranja Thompson (*Citrus sinensis*) a diferentes concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*).

1.1.2 Objetivos Específicos.

- Caracterizar física, química y microbiológicamente el jugo de naranja.
- Obtener bioetanol a partir del método de destilación simple a diferentes concentraciones de levadura.
- Caracterizar físicamente el producto final.
- Determinar la correlación volumétrica y alcohólica del bioetanol de los tres tratamientos elaborados en las diferentes concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*).
- Establecer la relación costo/ beneficio del producto terminado.

1.2 Hipótesis

Ho₁ El aumento de la concentración de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre el jugo de naranja no tiene efecto en la eficiencia volumétrica del bioetanol obtenido.

Ha₁ El aumento de la concentración levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre el jugo de naranja tiene efecto en la eficiencia volumétrica del bioetanol obtenido.

Ho₂ El aumento de la concentración levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) no tiene efecto en la eficiencia alcohólica del bioetanol obtenido.

Ha₂ El aumento de la concentración levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) tiene efecto en la eficiencia alcohólica del bioetanol obtenido.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Bioetanol

El bioetanol se ha convertido en una alternativa viable desde el punto de vista medioambiental, ya que reduce considerablemente las emisiones de gases de efecto invernadero, en comparación con los combustibles derivados del petróleo; en base a lo citado, varios países del mundo han realizado investigaciones y estudios sobre la eficiencia y rendimiento de la generación de biocombustibles a partir de diferentes tipos de materia primas.

En este sentido, en un estudio realizado por, Llangari (2018), comparó el rendimiento del bioetanol obtenidos a partir de la biomasa del plátano, este análisis lo efectuó bajo dos parámetros, dando como resultado que mediante la prueba de hidrólisis el rendimiento de la muestra llegó a un 88.09 % y que mediante la fermentación el rendimiento de la muestra alcanzó un 40 %. Sin embargo, en el análisis de eficiencia volumétrica del bioetanol obtenido los resultados fueron inferiores a 40 mL para cada uno de las muestras, en cual este estudio llega a la conclusión que la biomasa del plátano tiene una gran potencia para la obtención de bioetanol a gran rendimiento.

De igual manera en otro estudio realizado por, Santos y Zabala (2016), evalúan la producción de bioetanol a partir de diferentes mezclas de distintos residuos orgánicos, los resultados obtenidos en esta investigación demostraron que la cantidad alcanzada de bioetanol fue muy baja con un 9.63 g de etanol/kg de sustrato, proveniente de la mezcla de limón y lulo, logrando un rendimiento de 86 %. Este estudio llega a la conclusión que los rendimientos alcanzados de las diferentes muestras son muy bajos, obteniendo valores desde 4.78 a 9.63 g de etanol/kg de sustrato.

En este mismo aspecto, Decheco (2019) realizó un estudio para la obtención del bioetanol mediante la fermentación de *Saccharomyces cerevisiae* a partir de cáscaras de plátano de seda, basándose en la hidrólisis enzimática y posteriormente la fermentación de la materia orgánica, obtuvo como resultado que al nivel de 20° Brix presento el mayor aumento alcohólico

(7°A), con un porcentaje de bioetanol de 56.3 % y un rendimiento de 33.7 %. Concluyendo que, la hidrólisis enzimática con celulosa fúngica y posterior fermentación con la levadura se obtiene un producto con un alto valor agregado.

A la par, en un estudio realizado por, Espinosa (2017), por medio de hidrólisis y fermentación de azúcares obtuvo bioetanol a partir de la malanga; mediante la hidrólisis enzimática y temperaturas constantes, la autora obtuvo soluciones de 14, 18 y 22° Brix, las cuales fueron fermentadas utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, generando mediante la destilación el bioetanol. Como resultado a esta metodología obtuvo volúmenes máximos de bioetanol puro de 4.94 mL, y una concentración de 6.34 % V/V. Así mismo, como resultado de esta investigación se detalla que el rendimiento de bioetanol a partir de malanga fue de 2 049 g/kg de almidón de malanga y con un porcentaje en volumen de alcohol del 13 %.

2.2 Biocombustibles

Los tipos de biocombustibles más utilizados en Latinoamérica corresponden a biodiesel y bioetanol, esto gracias a sus accesibles costos de fabricación y gran utilidad en las distintas regiones de los países (CEPAL, 2011).

A continuación, en la Tabla 1, se muestran los distintos tipos de procesos y tecnologías que son aplicadas para la elaboración de biocombustibles de primera generación:

Tabla 1. Tipos, Procesos y Tecnologías aplicadas en los biocombustibles

Tipo	Proceso de conversión	Tecnología aplicada
Biocombustibles 1ra G.	Fermentación	Comercial
Bioetanol (Caña de azúcar y almidones)	Fermentación	Comercial
Biodiesel (Oleaginosas, microalgas, grasas vegetales y animales)	Esterificación	Comercial e I+D

Fuente: CEPAL (2011)

Elaborado por: El Autor

2.2.1 Biocombustible de primera generación

Se denominan así a todos aquellos que su metodología de generación es sencilla, estos biocombustibles se producen a partir de azúcar, almidón, aceites vegetales o grasas animales y se consideran alternativas medioambientales ya que su ciclo de siembra y cosecha puede continuar indefinidamente con el respectivo manejo del suelo. Así mismo, contribuyen a la lucha por un mejor planeta, en el cuidado contra el cambio climático y reducción de los contaminantes ambientales (Cavieres, 2022).

Los biocombustibles de primera generación (bioetanol, biodiésel y biogás) son los que se obtienen a partir de la biomasa, especialmente de los cultivos agrícolas destinados al consumo humano, para diferenciarlos de los de segunda generación, que no compiten con la producción de alimentos. En la actualidad, las tecnologías de producción de los biocombustibles de primera generación son más sencillas y menos costosas, se diferencian de los de segunda generación en el tipo de biomasa que se obtienen en la tecnología de procesamiento (Fraire, 2018).

Como se observa en la Tabla 2, los rendimientos potenciales de bioetanol por Ha cultivada, se expresan de la siguiente manera: Producción de bioetanol (g de etanol/100 mL o 100 g de materia prima), rendimiento de

cultivo (ton ha-1/L ton-1) y utilidad potencial de bioetanol (kg de etanol*ha cultivada).

Tabla 2. Cálculos de rendimiento potencial de bioetanol por hectárea cultivada

Materia prima	Producción de bioetanol	Rendimiento del cultivo	Utilidad potencial del bioetanol
Jugo de uva	7.0	11.8a/800b_	660
Jugo de manzana	6.3	9.2a/700b_	405
Jugo de piña	3.2	42a/480c-	645
Jugo de caña	7.0	76a/580d	3085

Fuente: Zamora et al., (2014)

Elaborado por: El Autor

2.2.2 Biocombustibles de segunda generación

Se producen a partir de materias primas no alimentarias, como los residuos agroindustriales y las hierbas de biomasa de alto rendimiento, su producción es mucho más compleja que la de las materias primas de primera generación y aún no se comercializan. Se clasifican según el proceso utilizado para convertir la biomasa en: bioquímicos obtenidos por hidrólisis enzimática, fermentación y termoquímicos. Existen tecnologías para convertir la biomasa en biocombustibles de segunda y tercera generación, pero aún no se aplican a la producción a gran escala (Fraire, 2018).

2.2.3 Biocombustibles de tercera generación

Los combustibles de tercera generación se producen a partir de biomásas distintas a las utilizadas para los biocombustibles de primera y segunda generación, basadas en tecnologías emergentes que prometen un alto nivel de combustible por unidad de superficie y menores costos de producción. Estos biocombustibles se producen a partir de materias primas que han sido modificadas genéticamente para facilitar su uso energético. Los

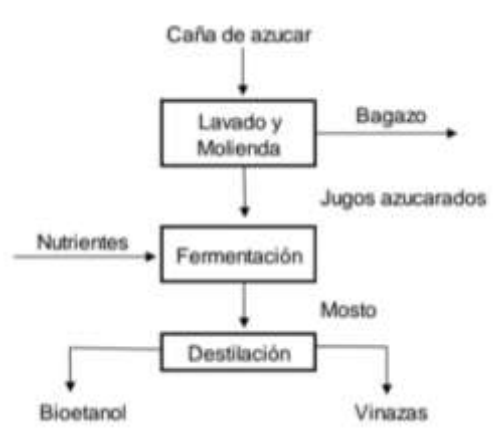
agentes de conversión (microorganismos, algas) también se modifican genéticamente para que el proceso sea más eficiente (Fraire, 2018).

2.3 Proceso industrial para producir bioetanol de primera generación (1G)

Según Vargas y Giraldo (2015), para producir bioetanol de primera generación, se realiza un proceso de obtención mediante el jugo de la caña de azúcar donde pasa por dos procesos básicos: fermentación y destilación en el que representan el proceso de obtención de bioetanol a partir del jugo de la caña de azúcar.

En el Gráfico 1, observamos el proceso de producción de bioetanol a partir del jugo de la caña de azúcar.

Gráfico 1. Producción de bioetanol a partir del jugo de la caña de azúcar (Método de primera generación).



Fuente: Vargas y Giraldo (2015)

De acuerdo con, Nogues y García (2010) se presenta un modelo para la producción de bioetanol empleando el jugo de la caña de azúcar como materia prima, pasa por un proceso de fermentación utilizando levadura de los azúcares (glucosa) contenidos en la materia prima o mediante una transformación de hidrólisis, a continuación, se describe el desarrollo:

- Se inicia con el lavado de la caña, para luego ser triturada hasta llegar a los molinos donde, aplicando presión se extrae el jugo y se almacena en tanques, mientras que el bagazo se desecha, en esta etapa se le agrega agua para potenciar la extracción de sacarosa e instaurar los jugos.

- El jugo azucarado se calienta a baja temperatura para que la densidad sea apropiada, pueda pasar por el regulador y poder prevenir el crecimiento de microorganismos. Se le añade un ingrediente químico para promover la formación de flóculos y eliminar mediante precipitación los cúmulos solidificados (también conocido como torta de filtro), sales de cal y material proteico que resultan tóxicos para la fermentación.

- Luego, por efecto biológico de la levadura se realiza la fermentación, donde los azúcares que están en el jugo se transforman en alcohol etílico y gas carbónico, obteniendo un vino con un 8 % de etanol en peso aproximadamente, que es enviado por medio de una bomba hacia las columnas de destilación, el etanol y vapor de agua entran a la rectificadora, donde los líquidos residuales (vinazas) salen por el fondo de la columna.

- En la rectificadora el alcohol es transformado hasta el punto azeotrópico con un 96 % de bioetanol y 4 % de agua en volumen y se traslada a la torre en forma de vapor saturado para ingresar a la fase de deshidratación hasta obtener un grado de 99.6 % de alcohol que se considera de alta pureza.

El bioetanol es un compuesto químico utilizado comercialmente como sustituto de la gasolina tras ser deshidratado hasta alcanzar un 99.4 % de pureza. Se obtiene de dos formas, la primera de ellas es la fermentación directa de azúcares como la glucosa o la fructosa que se encuentran en las frutas, mientras que la otra se refiere a la descomposición de azúcares que se

encuentran en granos como el trigo, el maíz, entre otros (Santos y Zabala, 2016).

Independientemente de cuál de las dos rutas se siga, el proceso de producción de bioetanol se centra en la fermentación a la que se somete la materia prima. La diferencia entre los métodos radica en los procesos que preceden a la fermentación, ya que, para obtener bioetanol a partir de materias primas como la caña de azúcar o la remolacha azucarera, sólo es necesario extraer el jugo de las mismas y luego fermentar, mientras que, en la descomposición del maíz y el trigo, el primer paso es moler, licuar y sacarificar los almidones que contienen para obtener azúcares simples con los que se inicia el proceso de fermentación (Santos y Zabala, 2016).

2.4 Producción mundial de bioetanol

El bioetanol es un combustible que se utiliza principalmente para mejorar la gasolina, cuya ventaja más evidente es que es totalmente renovable por naturaleza, ya que el dióxido de carbono que se libera al quemarse se devuelve a las plantas que lo utilizan durante la fotosíntesis, contribuyendo también a la formación de la biomasa utilizada para producir bioetanol (Giron, 2013).

La industria de bioetanol tuvo su apogeo a partir de la década de los 70's del siglo XX, mismo que sirvió en su momento como aporte y solvente para la crisis petrolera que se vivía en ese entonces; por lo que se tenía como objetivo reducir que solo se dependa del combustible fósil. Sin embargo, con el pasar del tiempo, el bioetanol pasó a ser de tan solo un componente, a ser el biocombustible más solicitado con el 65% de producción a nivel global (Rath y Singh, 2014).

Según, Sarris y Papanikolau (2015), en Norteamérica, especialmente en Estados Unidos, se hacía uso principalmente de aditivos oxigenantes como parte de los compuestos para la gasolina, dentro de los cuales el bioetanol era parte de dichos compuestos. Por lo que, a partir del año 1999, se hacía uso

de estos con una producción de 21 millones galones a nivel mundial, convirtiendo a Estados Unidos de Norteamérica como uno de los principales productores de estos compuestos que contenían bioetanol como parte de su mezcla.

Así mismo, en Latinoamérica en países como Colombia, la producción de bioetanol resulta de aproximadamente 1 200 000 litros diarios, los cuales reemplazan el 8.5 % del combustible de gasolina que el país consume habitualmente. El bioetanol y sus mezclas a través de sus compuestos en los países de Latinoamérica se ha ido extendiendo a medida en que se iban integrando nuevas plantas operativas (Giral y Mancera, 2018).

Dentro del mismo contexto, a nivel nacional la producción de bioetanol en Ecuador, es aproximadamente de 100 millones de L/día, y se espera que para los próximos años se alcance un nivel de producción de 800 millones de litros al año (Albarracín y Albuja, 2015).

2.4.1 Métodos de obtención de bioetanol

Licuefacción.

Este proceso consiste en convertir los gránulos de almidón de la suspensión concentrada en glucosa, la temperatura a la que debe calentarse la solución para la licuefacción depende de la fuente de la enzima, y la utilizada es la α -amilasa (Morales y Sánchez, 2004).

Sacarificación.

Se convierte la solución licuada de la etapa de licuefacción en glucosa con el mayor rendimiento posible. Utilizando glucoamilisa, es posible lograr una conversión prácticamente del almidón en glucosa, ya que hidroliza los enlaces α 1 \rightarrow 6 glicosídicos presentes en la amilopectina (Morales y Sánchez, 2004).

Fermentación.

Es una reacción redox interna equilibrada en la que algunos átomos de la fuente de energía (donante de electrones) se reducen mientras que otros se oxidan y la energía se produce por fosforilación en el sustrato. Una vía bioquímica muy utilizada para la fermentación de la glucosa es la glucólisis, también conocida como la vía Embden-Meyerhof, en honor a sus descubridores (Giron y Funes, 2013).

Según Giron y Funes (2013), el proceso para la fermentación se lo simplifica de la siguiente manera: Azúcares + levaduras -----> alcohol etílico + CO₂ + calor + otras sustancias.

Destilación.

La destilación es un proceso unitario que consta de las siguientes etapas: separación de los componentes de una mezcla líquida, por evaporación y condensación sucesivas. La separación se basa en la diferencia entre las volatidades absolutas de los componentes, lo que lleva a la formación de un vapor cuya composición es diferente al líquido que procede (Murgas y Vasquez, 2012).

2.5 Fermentación Biológica

La fermentación biológica es un proceso anaeróbico formado por la actividad de microorganismos que transforman carbohidratos, es decir, azúcares como el almidón, la fructosa y la glucosa, en alcohol, mejor dicho, en bioetanol (Sanchez, 2010).

De acuerdo a Tortora et al. (2018), considera que la fermentación tiene diferentes perspectivas fuera de la función de producir alcohol, a partir de aplicaciones relacionadas con la gastronomía, la industria, entre otras, donde intervienen factores como la cantidad de oxígeno en la materia reactiva. Así mismo, se considera que la fermentación consiste en:

- Cualquier proceso microbiano a gran escala en condiciones aeróbicas o anaeróbicas.
- Cualquier proceso metabólico que libere energía y que ocurra exclusivamente en condiciones anaeróbicas.
- Cualquier proceso metabólico que libera energía a partir de una molécula de azúcar u otra molécula orgánica, que no requiere la presencia de oxígeno ni de una cadena de transporte de electrones.

2.6 Microorganismos fermentadores de bioetanol

Los organismos utilizados para la obtención de bioetanol deben ser tolerantes a las altas temperaturas y a elevadas concentraciones de azúcar, tener un buen rendimiento de alcohol, una fermentación eficiente y una buena productividad (Zuzuarregui, 2005). En este sentido, las levaduras son ampliamente utilizadas para la producción de etanol por fermentación, tienen una alta capacidad para convertir azúcares en bioetanol, se separan bien después de la fermentación y resisten altas concentraciones de etanol (hasta 150 g-L⁻¹) (Claassen, 1999).

Los microorganismos más comúnmente usados en el proceso de fermentación son las levaduras, entre ellas están: *Saccharomyces cerevisiae*, *S. ellipsoideus*, *S. anamensis*, *S. carlsbergensis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida seudotropicalis*, *Candida bytyrii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Pichia stipitis* y *Pichia membranaefaciens* (Frazier y Westhoff, 2000).

En este sentido, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es la especie más utilizada para este proceso, las características que hacen de esta levadura el principal organismo fermentador son su alta resistencia al etanol, su consumo de grandes cantidades de sustratos en condiciones desfavorables y su alta resistencia a los inhibidores del medio (Lin y Tanaka, 2006). Sin embargo, debido a la falta de genes apropiados, esta especie es incapaz de metabolizar azúcares de cinco carbonos, este inconveniente condujo a la búsqueda de otros organismos de fermentación, en particular la bacteria *Zymomonas mobilis* (Lin y Tanaka, 2006).

2.6.1 Levadura.

La levadura *Saccharomyces cerevisiae*, es un tipo de levadura que conforma el grupo de microorganismo más estrechamente asociados con el desarrollo y bienestar de los seres humanos, su nombre deriva de *Saccharomyces* (azúcar) y *cerevisiae* (cerveza) (Hernández, 1999). Es una levadura heterótrofa que utiliza la glucosa como fuente de energía y tiene una gran capacidad de fermentación, pudiendo aislarse fácilmente en las plantas, suelo y los órganos digestivos y reproductores (Querol, 2003).

El uso más extendido de esta levadura es en la industria de panadería y producción de cerveza, vino y alcohol. Esta levadura es una de las especies consideradas como microorganismo GRAS y, por tanto, está autorizada como aditivo alimentario (Anadon et al., 2006). De igual manera, puede ser utilizada para la fermentación de azúcares en bioetanol, ya que transforma eficazmente los azúcares de seis carbonos en bioetanol, además de las hexosas como la glucosa (Villagómez, 2009).

Esta levadura no se puede utilizar como fuente de carbono en los azúcares de cinco carbohidratos, esto hace que disminuya el rendimiento del proceso, ya que se pierden algunos azúcares. Varios estudios se han basado en la modificación del metabolismo de la levadura mediante la introducción de genes, utilizando naturalmente pentosas como fuente de carbono para convertirlas en bioetanol (Villagómez, 2009).

A continuación, en la Tabla 3, se detalla la clasificación taxonómica de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*:

Tabla 3. Clasificación taxonómica

Reino	Hongo
División	Amastogomycota
Clase	Ascomicetas
Subclase	Hemiascomycetidae
Orden	Endomycetales
Familia	Saccharomycetaceae
Subfamilia	Saccharomycetidae
Genero	Saccharomyces
Especie	Cerevisiae

Fuente: Nieto (2009)

Elaborado por: El Autor

2.7 Uso del bioetanol

El bioetanol tiene como finalidad, elaborar combustible, bebidas y en la industria. Su uso como combustible representa el 61 % de la producción mundial, como aditivo para la mezcla de derivados del petróleo, cerca del 23 % se destina a la industria de transformación (cosmética, farmacéutica, química, entre otras) y el 16 % restante a la industria de las bebidas. (Espinosa, 2017). Del mismo modo, la producción y el uso de bioetanol como alternativa a los combustibles fósiles ha recibido mucha atención en el contexto de los esfuerzos para prevenir el calentamiento global y ampliar el suministro de energía (Olguin, 2015).

Según, Mosalves et al., (2006), el bioetanol tiene diversas aplicaciones en diferentes sectores tales como:

- Bebidas fermentadas para consumo humano (vinos, licores, entre otros)
- Separador de colorantes para la producción alimentaria y textil
- Disolventes de aceites.

2.8 Naranja

La naranja es un fruto dulce, miembro del género cítricos de la familia Rutáceas. Esta especie botánica citrus es el más extendido del mundo, su familia consta de unas 20 especies con frutos comestibles. La naranja originaria de zonas tropicales y subtropicales de Asia y del archipiélago malayo, que desde ahí fueron llevadas al norte de África y el sureste de Europa y posteriormente a América por los europeos alrededor del año 1500. Sus productos se consumen en fresco o en forma de extractos. De las flores se obtienen aceites esenciales utilizados en perfumería, también tienen usos medicinales y los subproductos como el bagazo son manipulados en la elaboración de piensos para animales (Pozo, 2011).

2.8.1 Componente nutricional (fruto).

También destaca su alto contenido en vitamina C (una naranja de tamaño medio aporta 82 mg de ácido ascórbico, mientras que la dosis diaria recomendada de esta vitamina es de 60 mg), donde la vitamina C favorece la absorción del hierro en los intestinos, sirve como antioxidante y ayuda al sistema inmune. La naranja tiene grandes cantidades de ácido fólico y, en menor grado provitamina A (Pozo, 2011).

El fruto de la naranja contiene los siguientes componentes activos:

- Hesperidina.
- Pectina.
- Ácidos: Acético, ascórbico, cítrico, ferúlico, glutámico, linoleico, oxálico, serina, entre otros.
- Aminoácidos: Arginina, alanina, asparagina, histidina, serina, prolina.
- Alcaloides: Betaina.
- Azúcares: “fructosa, galactosa, glucosa, sacarosa”.
- Esencias: Limonera.
- Vitaminas: B2, B1, A, B6, C.
- Minerales: Calcio, bario, cadmio, magnesio, fósforo, potasio, sodio.

- Metales: Aluminio, zinc, cromo, hierro, cobre
- Proteínas.

Las naranjas también aportan con alfa-caroteno, beta-caroteno y criptoxantina. Numerosos estudios epidemiológicos sugieren la importancia de estos carotenoides en la prevención de varios tipos de cáncer y en la protección contra las enfermedades cardiovasculares. También contiene otros carotenoides sin actividad de provitamina A, como la luteína y la zeaxantina, que están presentes en la retina y el cristalino del ojo y se asocian inversamente con el riesgo de cataratas y maculitis (Pozo, 2011).

A continuación, en la tabla 4, damos a conocer la composición nutricional de la naranja:

Tabla 4. Composición nutricional de la naranja

Parámetro	Unidad	Valor
Energía	Kcal	42
Proteína	g	0.8
Fibra	g	2
Hidratos de Carbono	g	8.6
Calcio	mg	36
Tiamina	mg	0.1
Vitamina B6	mg	0.06
Vitamina A	ug	40
Vitamina C	mg	50
Zinc	mg	0.18
Magnesio	mg	12
Sodio	mg	3
Potasio	mg	200
Hierro	mg	0.3

Fuente: Pozo (2011)

Elaborado por: El Autor

2.8.2 Producción en Ecuador.

La producción de naranja en diferentes regiones del Ecuador se debe principalmente a la situación geográfica del país, ya que cuenta con un clima adecuado para la siembra de este fruto. En 2013, FAOSTAT reportó una producción de 42 850 toneladas de naranjas en el territorio ecuatoriano. Ese mismo año, el INEN indicó 6 529 hectáreas sembradas de naranjos, de las cuales se cosecharon un total de 5 959 hectáreas; en consecuencia, se produjeron 22 607 toneladas de naranjas, de las cuales se vendieron un total de 4 720 a nivel nacional (INEC, 2013).

En la provincia del Guayas se sembraron 172 hectáreas con una producción de naranja de 259 toneladas métricas, mientras que en la provincia de Manabí 613 hectáreas que produjeron 1 521 toneladas métricas de naranja fresca. (INEC, 2013). A su vez, en el 2015, se cosecho aproximadamente 47 075 000 toneladas, un 3.81 % menos que en 2014, según los últimos datos mundiales publicados por el USDA (2012-2015), el pico se alcanza en 2013, con 52 082 000 toneladas, mientras que 2015 fue el año con menor producción durante el periodo analizado (MAG, 2015)

2.8.3 Tipos y variedades de naranjas.

Armas (2012) explica que, en Ecuador se cultivan las siguientes variedades de naranja: Thompson, Valencia común, Washington, Lime orange, Sour orange y Grapefruit orange. La variedad más consumida es la Valencia común, ya que es aceptada por los consumidores y tiene un alto contenido de azúcar.

- **Thompson.** La naranja Thompson tiene características similares a las de otros cítricos, se diferencia por su color intenso de la piel y la forma más redondeada del fruto, alcanzando una altura de unos dos metros, se mantiene al sol o en sombra parcial y no tolera los climas helados, no tiene grandes necesidades de suelo, donde soporta los calcáreos y no salinos, crece lentamente y su follaje es perenne, además florece a

principios de la primavera y sus flores son blancas. Miden entre 50 cm y 1 m de altura y tienen un periodo de injerto de un año (Campos, 2020).

- **Valencia común.** La naranja Valencia que es fruto de tamaño medio a grande, esférico, de color pálido y de corteza espesa pero fina tiene un sublime contenido de zumo con una acidez relativamente elevada es de aroma excelente y su sabor ligeramente ácido, lo que hace apto para la industrialización; posee pocas semillas, su fruto puede permanecer varios meses en el árbol sin perder su calidad debido a su vigorosidad (Hallo y Ramos , 2013).
- **Washington.** La variedad Washington, esta diversidad son de grandes y de corteza gruesa, se diferencian de las otras por tener ombligo o fruto secundario rudimentario en la parte basal. Contienen una cantidad moderada de jugo y, por lo general ninguna semilla, es de madurez temprana y se desprende con facilidad al madurar (Campos, 2020).

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 Ubicación

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias Agropecuarias en la Universidad Técnica de Babahoyo, coordenadas -1.7970885728611559, -79.48292673585556. En el Gráfico 5, se puede observar el lugar donde se llevó a cabo el trabajo investigativo.

Gráfico 5. Ubicación de la Universidad Técnica de Babahoyo



Fuente: Google Maps, 2022

3.1.1 Características climatológicas.

- Temperatura promedio de 26 °C
- Humedad relativa del 69 %
- Clima tropical

3.2 Metodología de la Investigación

El desarrollo de la metodología del presente trabajo se basó en un enfoque de investigación cuantitativa con un diseño experimental descriptivo y exploratorio, ya que se realizó varias pruebas y procesos para la obtención de los resultados. Por otro lado, las pruebas del diseño se llevaron a cabo bajo la dirección del investigador con la finalidad de obtener datos concretos en base a lo planteado por el autor y así lograr el objetivo principal.

Para Cortez y Neil (2018) la investigación cuantitativa permite captar la realidad de forma más imparcial, ya que los datos se recogen y analizan mediante conceptos y variables medibles, es así, que el objetivo de esta investigación es la adquisición de conocimientos básicos y la elección del modelo más adecuado que nos permita percibir la realidad de la forma más imparcial (Neil y Cortez, 2018). En este sentido, en el presente trabajo de investigación se busca comparar la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol de primera generación (1G) del jugo de naranja Thompson (*Citrus sinensis*) con diferentes concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), describiendo así los procesos y mediciones de las pruebas de laboratorio.

De igual manera según el autor, Arias (2012) define a la investigación experimental como un proceso que consiste en someter un objeto o a un grupo de objetos a determinadas condiciones, estímulos o tratamientos (variable independiente) para observar los efectos o reacciones producidas (variable dependiente). En este caso, para la investigación se sometió las muestras de levadura y jugo de naranja en diferentes concentraciones para comparar la eficiencia volumétrica y la alcohólica del bioetanol de primera generación.

3.3 Materiales a utilizar

3.3.1 Materia prima.

- Jugo de naranja (*Citrus sinensis*) Thompson.

3.3.2 Reactivos.

- Levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)
- Hidróxido de sodio 0.1 N
- Sacarosa (azúcar comercial).

3.3.3 Materiales y equipos.

- Matraz erlenmeyer
- Pipeta
- Mechero de bunsen
- Destilador
- Botellas de vidrio
- Airlock
- Agua destilada
- Medidor de pH
- Vaso de precipitación
- Alcoholímetro
- Densímetro
- Termo agitador
- Balanza digital
- Refractómetro

3.4 Diseño experimental

El diseño experimental de la investigación y análisis, se realizó mediante ANOVA multifactorial, ya que permite medir diferentes medidas de los números de réplicas por tratamiento, y el hecho de que las unidades experimentales sean completamente homogéneas. Estas medidas experimentales consisten en tres muestras 250 mL de jugo de naranja con cuatro repeticiones por tratamiento y con diferentes dosis de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) propuesta de (0.1 %, 0.5 %, 1 %) g/L, en un tiempo determinado de siete días de fermentación.

Se tomó como referencia la investigación de (Rath y Singh, 2014), donde argumenta que con las diferentes concentraciones de levadura de: 3 %, 6 %, 9 % y 12 % de *Saccharomyces cerevisiae* con el fin de lograr la producción máxima de bioetanol en un tiempo máximo de siete días de fermentación.

3.4.1 Factores.

Factor A: Concentración de naranja: 250 mL

Factor B: Concentraciones de levadura: 0.1 % - 0.25 gr (L1), 0.5 % - 0.5 gr (L2), 1% - 2.5 gr (L3)

Repeticiones: 4

FA x FB 0.1% x R 1,2,3,4

FA x FB 0.5% x R 1,2,3,4

FA x FB 1% x R 1,2,3,4

3.4.2 Tratamientos.

En la Tabla 5, se referencia los tratamientos que se llevaron a cabo en el diseño experimental.

Tabla 5. Tratamientos del diseño experimental

Tratamientos	Volumen del jugo de naranja	Concentraciones de levadura
1	250 mL	0.1 %
2	250 mL	0.5 %
3	250 mL	1%

Elaborado por: El Autor

3.4.3 Interacciones de tratamientos.

Para el desarrollo del ensayo se realizó un diseño experimental completamente al azar (DCA) AXB, con un arreglo factorial de 3T*4R, es decir, tres tratamientos y cuatro replicas con un total de 12 combinaciones. A continuación, en la Tabla 6 se expone la combinación de los tratamientos que se realizó.

Tabla 6. Interacción de tratamientos

Tratamientos	Repeticiones			
	R1	R2	R3	R4
T1	T1*R1	T1*R2	T1*R4	T4*R4
T2	T2*R2	T2*R2	T2*R4	T2*R4
T3	T3*R1	T3*R2	T3*R3	T3*R4

Elaborado por: El Auto

3.4.4 Sistema de hipótesis.

Mediante el análisis de varianza se constató si existe diferencia entre las medias de los tratamientos, donde:

- $H_0 (1,2) = \bar{x} T_1 = \bar{x} T_2 = \bar{x} T_3$
 - $H_a (1,2) = \bar{x} T_1 \neq \bar{x} T_2 = \bar{x} T_3$
- $H_i = H_a = \text{una } \bar{x} \text{ es diferente}$

Sí, las medias de los tratamientos son iguales se acepta la hipótesis nula (H_0), es decir no existe diferencia entre ellos con respecto a las variables propuestas. Sí, al menos una de las medias de los tratamientos es diferente, se rechaza la hipótesis nula aceptando la hipótesis alternativa (H_a), por lo tanto, existe diferencia entre los tratamientos con respecto a las variables propuestas.

3.4.5 Análisis de varianza.

El análisis estadístico de los datos se efectuó mediante la prueba ANOVA para determinar si existen diferencias significativas en el producto resultante del bioetanol de 1G, considerando las diferentes concentraciones de levadura que se empleó.

3.4.6 Modelo matemático.

$$T_i = \alpha_k + \gamma_l + \Sigma_{kl}$$

Donde:

T_i : Tratamientos

α_k : Factor A (concentración naranja)

γ_l : Factor B (concentración levadura)

Σ_{kl} : interacción AB

A continuación, en la Tabla 7 se detalla el esquema del análisis de varianza desarrollado en la presente investigación.

Tabla 7. Esquema de Análisis de Varianza

Fuente de Variación	Formula	GL
Tratamiento	$(a*b - 1)$	2
Factor A	$a-1$	1
Factor B	$b-1$	3
Interacción A*B	$(a-1) (b-1)$	3
Error Experimental	$(a*1) (r-1)$	9
Total	$a*b*r-1$	11

Elaborado por: El Autor

3.5 Descripción de procedimiento experimental

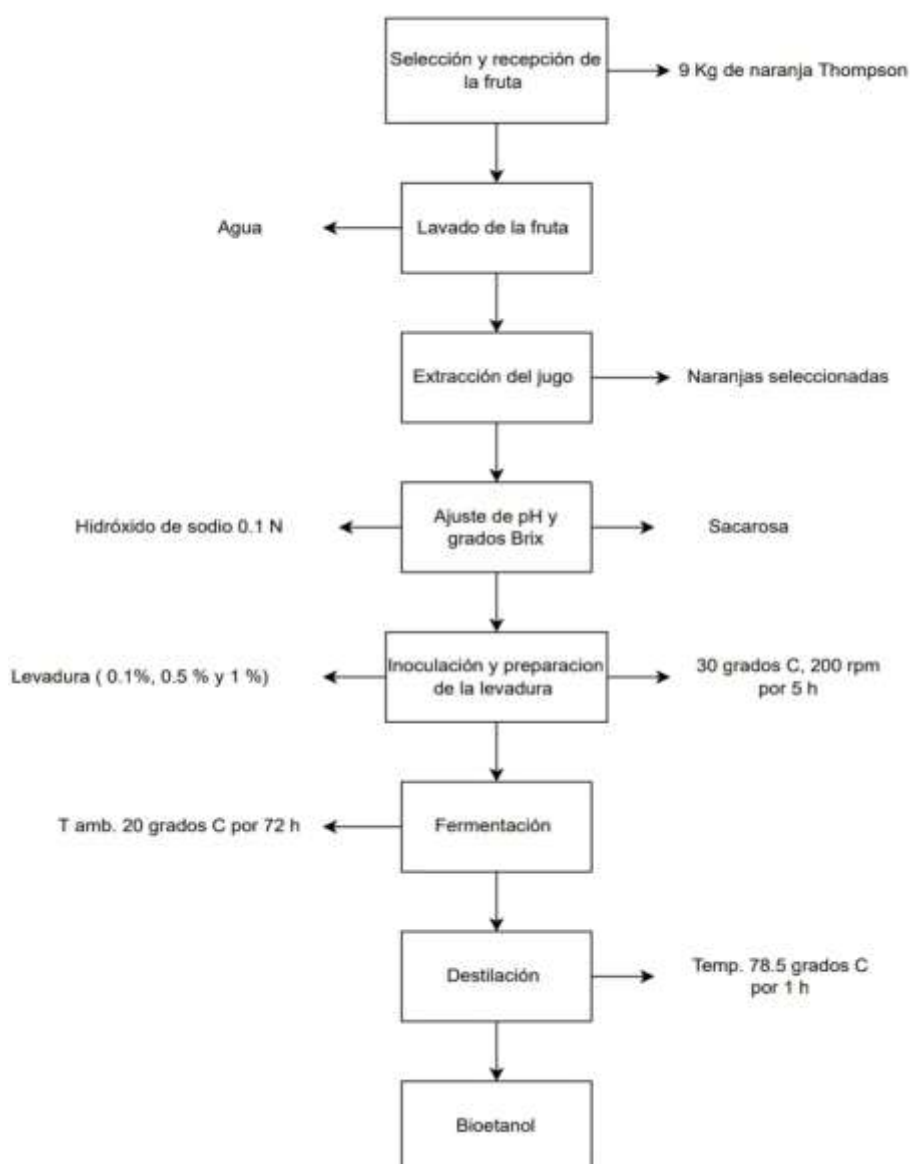
A continuación, detallo el proceso que realice para la obtención de bioetanol, utilizando como materia prima (jugo de naranja).

- **Recepción:** Se recibió la materia prima, en este caso 9 kg de fruta
- **Selección y lavado:** Una vez recibida la fruta, seleccionamos las de mejor estado y proseguí a lavarlas
- **Extracción:** S un extractor de jugo y extraje la mayor cantidad de jugo de naranja.
- **Filtración:** Obtenido el jugo de naranja procedí a filtrar para separar las impurezas.
- **Ajuste de pH e índice de madurez:** Al jugo o néctar de naranja se le ajustó el pH de 4.5 a 5, utilice Hidróxido de Sodio 0.1 N. En el índice de madurez se realizó usando sacarosa, ambas se procedió hacer un método de ensayo error.

- **Inoculación o preparación de levadura:** Usamos 250 mL de jugo de naranja en un vaso de precipitación e inoculé la levadura, se usó un termo agitador a 30°C a 200 rpm por 5 horas.
- **Fermentación:** Una vez rectificado el pH 4.5 con hidróxido de sodio, realice la fermentación en un envase de vidrio al que se le adiciono un airlock. Se dejó fermentar de 5 a 7 días, a temperatura ambiente (20°C).
- **Destilación:** Dado que se obtiene una mezcla de líquidos, bioetanol y agua, el proceso más adecuado y eficiente para separarlos es la destilación, debido a sus diferentes puntos de ebullición (78.4 °C).

A continuación, en el Gráfico 6, se observa el diagrama de flujo para la obtención del bioetanol a base de jugo de naranja, detallado anteriormente.

Gráfico 6. Diagrama de flujo del proceso de Bioetanol



Fuente: Tejeda (2015)

Elaborado por: El Autor

3.6 Parámetros físicos y químicos de la materia prima (naranja Thompson)

A continuación, en la Tabla 8, se detalla las normas técnicas que utilicé para determinar la característica física, química y microbiológica de la materia prima. Cabe señalar que estos análisis se los realizó en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Babahoyo, bajo la

responsabilidad del Ing. Danilo Santana Aragone, Analista de Laboratorio de Química.

Tabla 8. Métodos de ensayo: parámetro físico y químico de la materia prima

Materia Prima	Parámetro	Métodos de ensayo
Jugo de naranja	pH	NTE INEN-ISO 1 842 (2013)
	Índice de madurez	NTE INEN 2 337 (2008)

Elaborado por: El Autor

3.6.1 pH.

Este análisis se determinó por el método potenciométrico con un medidor de pH, modelo Q400MT, de la marca QUIMIS; donde se colocó 250 mL de cada muestra por tratamiento en un vaso de prestación de 500 mL. El potenciómetro ya se encontraba calibrado de 0 a 7 pH.

El electrodo del potenciómetro fue sumergido en cada muestra y el valor del pH fue registrado, luego se descontaminaba el electrodo del potenciómetro con agua destilada del laboratorio y con papel absorbente entre cada muestra

3.6.2 Índice de madurez.

El índice de madurez se determinó, estableciendo la cantidad de azúcar expresada en °Brix, proceso que corresponde con la acidez de la fruta y permite identificar el índice de madurez, basándose en que cuanto más madura está la fruta, disminuye su acidez y aumenta el °Brix.

Con una pipeta de vidrio de 1 mL, se llevó unas gotas de cada muestra al refractómetro para visualizar el valor de grados °Brix, entre cada muestra se lavó la pipeta con agua destilada y se secó con papel absorbente.

3.7 Análisis microbiológico del jugo de naranja

Los análisis microbiológicos se lo realizaron en un laboratorio particular situado en la ciudad de Guayaquil y acreditado por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE). Entre los parámetros microbiológicos que se realizaron a la muestra del jugo de naranja están: los Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales, Mohos, Levaduras y, Coliformes Fecales (INEN , 2008).

3.8 Análisis físicos del producto final (bioetanol)

Para obtener las propiedades físicas del bioetanol se realizó los siguientes ensayos:

- Determinación de la densidad (mg/L).
- Determinación del pH. se lo realizó con el método del potenciómetro utilizando un medidor de pH-metro modelo Q400MT, de la marca QUIMIS.

A continuación, en la Tabla 9 se detalla los métodos empleados para el análisis de los parámetros físicos del bioetanol. Es de resaltar que el análisis antes mencionado se lo realizó en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Babahoyo, bajo la responsabilidad del Ing. Agr. Danilo Santana Aragone, Analista de Laboratorio de Química.

Tabla 9. Métodos de análisis físicos del producto final (bioetanol)

Producto	Parámetro	Método de ensayo
Bioetanol 1G	pH	INEN 341 1 978-03 (2018)
	Densidad	INEN 349 1 978-03 (2018)

Elaborado por: El Autor

3.9 Relación costo/beneficio del producto terminado

Para el análisis costo/beneficio del producto final, se realizó un presupuesto tomando en cuenta los costos directos o primarios de la materia prima y costos indirectos como el uso de laboratorios, colocación de airlok en cada tapa de las botellas, compra de botellas, refractómetro y movilización, teniendo de esta manera un costo total de producción y dándome cuenta que aún no hay un beneficio económico, ya que en Ecuador la producción de bioetanol no resulta atractiva en lo financiero.

4 RESULTADOS

4.1 Características físicas, químicas y microbiológicas de la materia prima (jugo de naranja)

Del análisis realizado a la muestra de jugo de naranja, se registraron los resultados que se representan en la Tabla 10.

Tabla 10. Resultados físicos, químicos y microbiológicos de la materia prima

Materia prima	Parámetros	Unidad	Resultados	Valor de referencia	Método de ensayo
Jugo de naranja	pH	pH	3	3	NTE INEN-ISO 1 842 (2013)
	Índice de madurez	°Brix	10	9	NTE INEN 2 337 (2008)
	Aerobios mesófilos	Ufc/g	6.5×10^2	1.2×10^2	PEE.LASA.MB.03 BAM CAP 03 Ed (2005)
	Coliformes totales	NMP/g	2.40	<3	PEE.LASA.MB.01 BAM CAP 04 Ed (2017)
	Mohos	upc/g	<1.0	1.2×10^2	PEE.LASA.MB.04 BAM CAP 16 Ed (2005)
	Levaduras	ufc/g	1.2×10^2	1.2×10^2	PEE.LASA.MB.04 BAM CAP 18 Ed (2005)
	Coliformes fecales	NMP/g	<3	<3	PEE.LASA.MB.09 BAM CAP 4 Ed (2017)

Elaborado por: El Autor

4.2 Análisis de eficiencia volumétrica del bioetanol

Del volumen que se generó, se registraron los siguientes resultados de cada repetición que se realizó para la obtención de bioetanol a base de jugo naranja.

Como se puede apreciar en la Tabla 11, los datos registrados se determinaron que el tratamiento 3 con la aplicación del 1 % de *Saccharomyces cerevisiae* se obtuvo la mayor media de 56.25 mL en comparación a los demás tratamientos que registraron medias de menos el 46 mL.

De acuerdo a este resultado y a las hipótesis planteadas, donde:

$$H_{0(1,2)} = \bar{X} T_1 = \bar{X} T_2 = \bar{X} T_3$$

$$H_{a(1,2)} = \bar{X} T_1 \neq \bar{X} T_2 = \bar{X} T_3$$

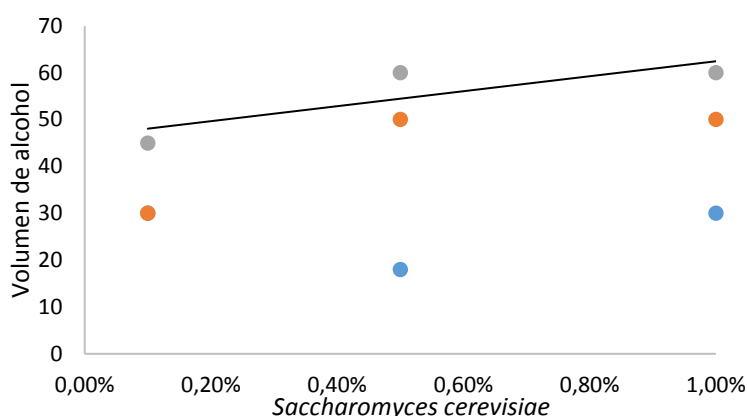
Tabla 11. Medición de volumen del bioetanol

Sc	R1 (mL)	R2 (mL)	R3 (mL)	R4 (mL)	Media $\bar{x} \pm$ (mL)	Desv. s
0.1%	30	18	30	30	27	6
0.5 %	30	50	50	50	45	10
1 %	45	60	60	60	56.25	7.5

Elaborado por: El Autor

Como se puede apreciar en el Grafico 7, el porcentaje de alcohol con mayor eficiencia se obtuvo del tratamiento a 0.5 % y 1 % de *Saccharomyces cerevisiae* con valores de 60 mL, de manera que, marca la línea de tendencia a mayor cantidad de concentración de levadura mejor eficiencia en volumen de bioetanol.

Gráfico 7. Representación lineal de los tratamientos eficiencia volumétrica



Elaborado por: El Autor.

4.2.1 Análisis de varianza de eficiencia volumétrica del bioetanol.

Para corroborar los resultados estadísticamente, se realizó un análisis de varianza a los tratamientos efectuados y así comprobar que existe diferencia significativa. A continuación, en las Tablas 12 y 13 se detallan los resultados determinados.

Tabla 12. Promedio de análisis de varianza de medición volumétrica

Tratamientos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
T1	4	108	27	36
T2	4	180	45	100
T3	4	225	56.25	56.25

Elaborado por: El Auto

Para determinar si los tratamientos tienen diferencias significativas se establece dos hipótesis, donde:

- $F(\text{Tabla}) > F(\text{calculado})$ se acepta H_0 (no hay diferencias entre los tratamientos con respecto a la eficiencia volumétrica).
- Sí $F(\text{tabla}) < F(\text{calculado})$ se rechaza la hipótesis H_0 , aceptando H_a (si existe diferencia entre los tratamientos con respecto a la eficiencia volumétrica).

Como se puede apreciar en la Tabla 13, el F calculado es mayor que F de tabla, por lo que se determina estadísticamente que sí existe diferencia significativa entre los tratamientos.

Otra comprobación implica que si el p-valor es > 0.05 se acepta H_0 (no hay diferencias entre los tratamientos con respecto a la eficiencia volumétrica) y, si el p-valor es ≤ 0.05 se rechaza la hipótesis H_0 , aceptando H_a (si existe diferencia entre los tratamientos con respecto a la eficiencia volumétrica). Como se puede apreciar en la Tabla 13 el p-valor calculado fue ≤ 0.05 , por lo que se determina estadísticamente que sí existe diferencia significativa de eficiencia volumétrica entre los tratamientos. De igual forma en la tabla 12, se muestra que las medias $27 \text{ mL} \neq 45 \text{ mL} \neq 56,25 \text{ mL}$, por lo que se rechaza la hipótesis nula, aceptando la hipótesis alternativa ya que hay diferencia entre las medias de los tratamientos.

Tabla 13. Análisis de varianza para la medición volumétrica

Origen de las Varianzas	Sc	gl	CM	F (calculado)	p-valor	Valor crítico para F (Tabla)
Tratamiento	1 741.5	2	870.75	13.59	0.0019	4.25
Error residual	576.75	9	64.08			
Total	2 318.25	11				

Elaborado por: El Autor

4.2.2 Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks.

Según Novales (2010), este test se emplea para contrastar la normalidad cuando el tamaño de una muestra es menor a 50 observaciones y en muestras grandes es equivalente al test Kolmogorov-Smirnow. El método consiste en comenzar ordenando la muestra de mayor a menor valor, obteniendo el nuevo vector muestral. Cuando la muestra es como máximo de tamaño 50, se puede contrastar la normalidad con la prueba de Shapiro-Wilks, procediéndose a calcular la media y la varianza muestral.

Tabla 14. Normalidad de medición volumétrica

Variable	n	Media	D.E	W	p (Unilateral D)
RDUO vol	12	0	7.24	0.67	< 0.0001

Elaborado por: El Autor

4.3 Análisis de eficiencia alcohólica.

De la medición de alcohol al producto obtenido, se registra los siguientes resultados de los tratamientos y repeticiones realizadas Tabla 15.

Como se puede apreciar en la Tabla 15, el tratamiento con 0.5 % de *Saccharomyces cerevisiae* registró la mejor media de las repeticiones con 19 % de eficiencia alcohólica del bioetanol obtenido, esto en comparación con los otros dos tratamientos que registraron valores menores a 15 % de eficiencia. El resultado se puede comparar con los valores obtenidos por, Hernández (2017) quién en su ensayo para la producción de bioetanol a partir de residuos de naranja, obtuvo un % de eficiencia alcohólica de 1.7 %.

De acuerdo a este resultado y a las hipótesis planteadas, donde:

$$H_{0(1,2)} = \bar{x} T_1 = \bar{x} T_2 = \bar{x} T_3$$

$$H_{a(1,2)} = \bar{x} T_1 \neq \bar{x} T_2 = \bar{x} T_3$$

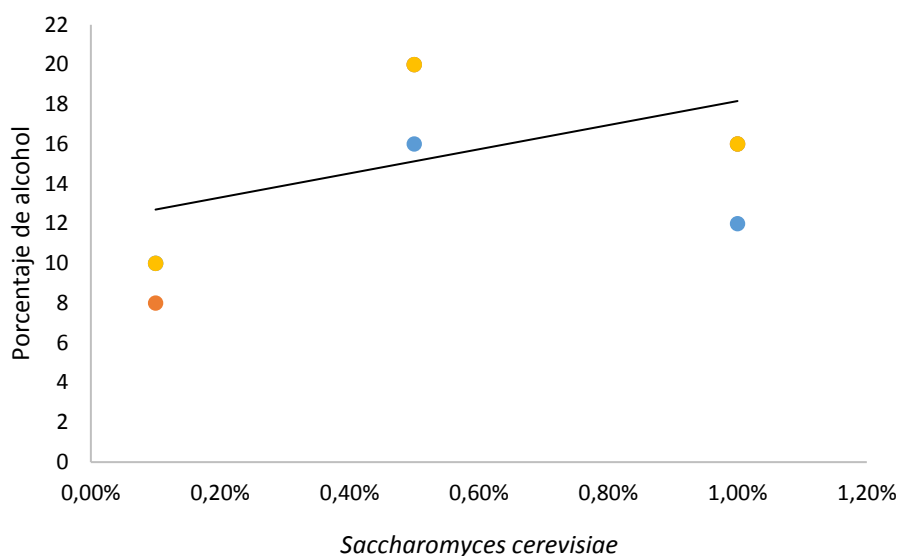
Tabla 15. Medición de Alcohol

SC	R1 (%)	R2 (%)	R3 (%)	R4 (%)	Media \bar{x}	Desv. s
0.1 %	10	8	10	10	9.5	1
0.5 %	16	20	20	20	19	2
1%	12	16	16	16	15	2

Elaborado por: El Autor

La representación lineal de los tratamientos indica que, existe una tendencia de eficiencia alcohólica al aumentar el porcentaje de *Saccharomyces cerevisiae*, siendo el tratamiento a 0.5 % de Sc, coexistiendo la más eficaz en todas las repeticiones realizadas.

Gráfico 8. Representación lineal de los tratamientos de eficiencia alcohólica



Elaborado por: El Autor.

4.3.1 Análisis de varianza de eficiencia alcohólica del bioetanol.

De igual manera, para determinar diferencias significativas entre los tratamientos con respecto a la eficiencia alcohólica, se realizó el análisis de varianza entre los resultados registrados. A continuación, en las Tablas 16 y 17 se muestran los resultados del análisis de varianza realizada con los datos obtenidos en la medición alcohólica del bioetanol.

Tabla 16. Promedio de análisis de varianza de la eficiencia alcohólica

Tratamientos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
T1	4	38	9.5	1
T2	4	76	19	4
T3	4	60	15	4

Elaborado por: El Autor

Así mismo, para determinar si los tratamientos tienen diferencias significativas se estable dos hipótesis, donde:

- $F(\text{tabla}) > F(\text{calculado})$ se acepta H_0 (no hay diferencias entre los tratamientos con respecto a la eficiencia alcohólica).
- Si $F(\text{tabla}) < F(\text{calculado})$ se rechaza la hipótesis H_0 , aceptando H_a (si existe diferencia entre los tratamientos con respecto a la eficiencia alcohólica).

Como se puede apreciar en la Tabla 17, el F calculado es mayor que F de tabla, por lo que se determina estadísticamente que sí existe diferencia significativa de eficiencia alcohólica entre los tratamientos realizados.

Se determina que, las medias $9.5\% \neq 19\% \neq 15\%$, por lo que se rechaza la hipótesis nula, aceptando la hipótesis alternativa ya que hay diferencia entre las medias de los tratamientos. En el Gráfico 8 expuesto anteriormente se detalla la tendencia de la eficiencia alcohólica del producto obtenido.

Tabla 17. Análisis de varianza para la medición alcohólica

Origen de las Varianzas	Sc	gl	CM	F (calculado)	P-valor	Valor crítico para F (Tabla)
Tratamiento	182	2	91	30.33	0.0001	4.25
Error residual	27	9	3	30.33		
Total	209	11				

Elaborado por: El Autor

4.3.2 Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks.

Según Novales (2010), este método consiste en comenzar ordenando la muestra de mayor a menor valor, obteniendo el nuevo vector muestral.

Cuando la muestra es como máximo de tamaño 50, se puede contrastar la normalidad con la prueba de Shapiro-Wilks, procediéndose a calcular la media y la varianza muestral. En la Tabla 28 se puede observar la normalidad de la eficiencia alcohólica.

Tabla 18. Normalidad de eficiencia alcohólica

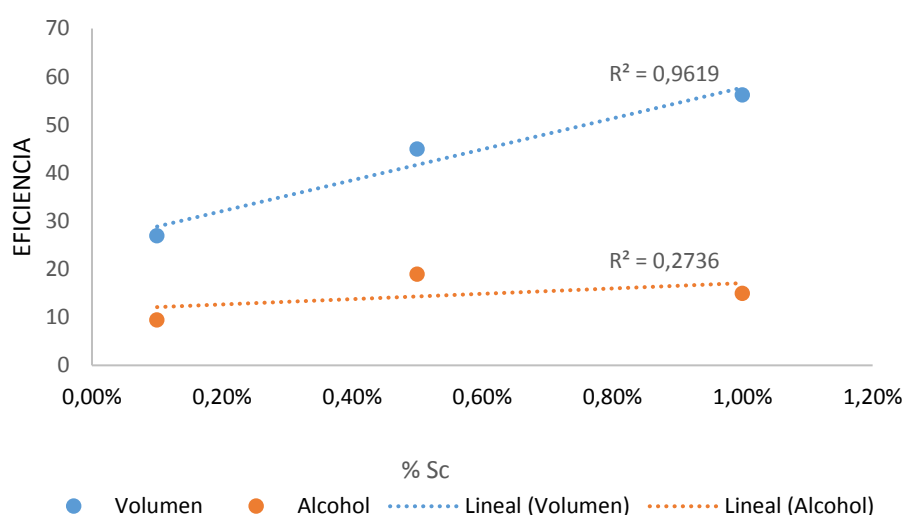
Variable	n	Media	D.E	W	p (Unilateral D)
RDUO vol	12	0	1.57	0.65	< 0.0001

Elaborado por: El Autor

4.4 Correlación volumétrica y alcohólica del bioetanol obtenido de las diferentes concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)

A continuación, en el Gráfico 9, se detalla el coeficiente de correlación entre la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol obtenido en diferentes concentraciones de *Saccharomyces cerevisiae*.

Gráfico 9. Correlación entre medias de eficiencia volumétrica y alcohólica en diferentes niveles



Elaborado por: El Autor.

Como se puede apreciar en el Gráfico 9, la correlación de la eficiencia volumétrica es de 0.9619, se la considera una semejanza alta entre los

tratamientos, en comparación con la correlación de la eficiencia alcohólica que es muy baja entre las muestras.

4.5 Características físicas del bioetanol de 1G obtenido

4.5.1 pH del bioetanol 1G.

Del análisis al pH del bioetanol 1G obtenido, se registran los resultados que se muestran en la Tabla 19.

Tabla 19. Medición de pH del bioetanol 1G

Sc	R1	R2	R3	R4	Media \bar{x}
0.1 %	5	5.5	5.5	5.5	5.375
0.5 %	4.2	4.5	4.5	4.5	4.425
1 %	4.7	4.7	4.7	4.5	4.65

Elaborado por: El Autor

De los resultados establecidos en el análisis del pH, se puede determinar diferencias significativas en las medias de los tres tratamientos encontrando el valor más alto en el tratamiento 1 (0.1 % de Sc) con 5.37. El valor más bajo, lo obtuvo el tratamiento 2 (0.5 % de Sc) con un pH de 4.425.

4.5.2 Densidad del bioetanol obtenido.

Del análisis del bioetanol 1G obtenido, se registran los resultados que se muestran en la Tabla 20.

Tabla 20. Medición de la densidad del bioetanol 1G

Sc	R1 (mg/L)	R2 (mg/L)	R3 (mg/L)	R4 (mg/L)	Media \bar{x} (mg/L)
0.1 %	10	10	10	19	12.25
0.5 %	17	17	35	17	21.5

1 % 14 29 29 29 25.25

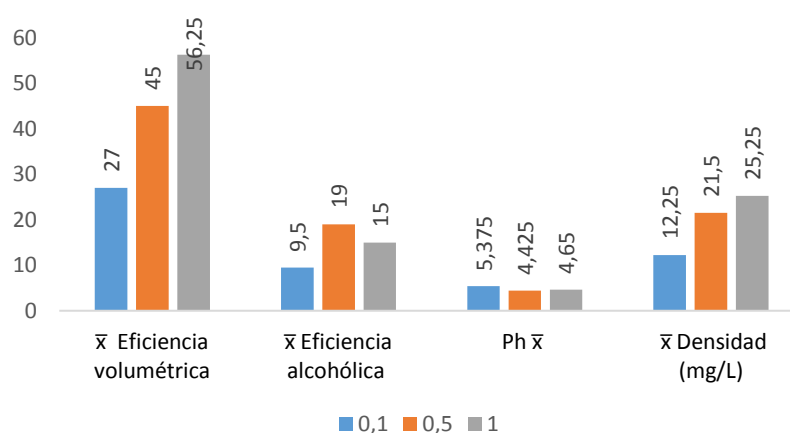
Elaborado por: El Autor

De los resultados establecidos de la medición de la densidad, se puede determinar diferencias significativas en las medias de los tres tratamientos encontrados, el valor más alto en el tratamiento 3 (1 % de Sc) con 25.25 mg/L. El valor más bajo, lo obtuvo el tratamiento 1 (0.1 % de Sc) con una densidad de 12.25 mg/L.

4.6 Comparativa entre tratamientos

A continuación, en el Gráfico 10 comparamos los diferentes parámetros analizados al bioetanol 1G generado a base del jugo de naranja.

Gráfico 10. Comparativa de tratamientos



Elaborado por: El Autor.

Como se muestra en el Gráfico 10, el tratamiento 3 (1 % SC) obtuvo los mejores resultados en la eficiencia volumétrica con 56.25 mL, y con una eficiencia alcohólica de 15 %, en cuanto a la densidad asimismo el tratamiento 3 alcanzó resultados favorables con un 25.25 mg/L y, con un pH de 4.65.

4.7 Relación costo /beneficio del producto terminado.

Mediante los costos directos o primarios y, los costos indirectos se obtuvieron el costo/beneficio del producto generado. A continuación, en la Tablas 21, 22 y 23 se detallan los costos de cada rubro.

Tabla 21. Costo directo o primario

Material	Cantidad	USD
Naranjas	50 unidades	30.00
Levadura	1 lb	2.50
Sacarosa	2 lb	2.50
Total		35.00

Elaborado por: El Autor

Como se aprecia en la Tabla 21, la mayor parte de los costos primarios la genera la materia prima como la naranja con un valor total de USD 30.00. A continuación en la Tabla 22 se detallan los costos indirectos de la producción.

Tabla 22. Costo indirecto de producción

Material	Cantidad	USD
Reactivos	3	100.00
Envases de vidrio de 1 L	20	200.00
Refractómetro	1	45.00
Airlock	12	80.00
Uso de laboratorio	1	300.00
Total		725.00

Elaborado por: El Autor

En la Tabla 22 se detalla que los costos indirectos de producción su valor asciende a USD 725.00.

En la Tabla 23 detallamos otros gastos que están relacionados con la movilización.

Tabla 23. Otros gastos

Otros gastos	Cantidad	USD
Movilización	1	175,00

Elaborado por: El Autor

A continuación, en la Tabla 24 se detalla el consolidado de los costos de producción que se generó con la elaboración del bioetanol de 1G a base de jugo de naranja Thompson.

Tabla 24. Costo total de producción

Rubro	USD
Costo total primario	35
Costo total de inversión	725
Costo de movilización	175
Costo total de producción	935

Elaborado por: El Autor

El costo total considerando los costos de reactivos, movilización, materias primas determinan un índice de 1.822 centavos de dólar/ 1ml de bioetanol producido.

5 DISCUSIÓN

Mediante los estudios realizados a las características físicas, químicas y microbiológicas de la muestra de 1 L de jugo de naranja, se pudo determinar que, después de realizar un ajuste de pH a la muestra los resultados fueron de 4.5 con un índice de madurez de 20 °Brix. Estos valores, son mayores a los obtenidos por Rodríguez et al., (2020), en su investigación sobre la determinación de parámetros físicos y químicos en jugos de frutas cítricas, donde registraron valores de pH de 3.6, para el índice de madurez de 12.76 °Brix y 10.71 para la sacarosa.

En relación con los resultados de eficiencia volumétrica, se registraron valores de 27 mL para el tratamiento con 0.1 % de *Saccharomyces cerevisiae*, 45 mL para el tratamiento con 0.5 % de *Saccharomyces cerevisiae* y 56.25 mL para el tratamiento con 1 % de *Saccharomyces cerevisiae*. A lo que indicamos que a mayor porcentaje de levadura *Saccharomyces cerevisiae* será mejor la eficiencia volumétrica a obtener. Estos resultados coinciden con los indicados por Rath et al., (2014), donde indica que al aumentar el porcentaje de la levadura Sc a 3 %, 7 %, 9 % la producción de bioetanol aumenta considerablemente.

Con respecto a la eficiencia alcohólica se registraron valores de 9.5 % para el tratamiento con 0.1 % de *Saccharomyces cerevisiae*, donde la concentración con 0.5 % de *Saccharomyces cerevisiae* se obtuvo 19 % de eficiencia alcohólica y con el 1 % de *Saccharomyces cerevisiae* se obtuvo 15 % de bioetanol, indicando un descenso en la eficiencia conforme va aumentado la cantidad de levadura. Estos resultados, son superiores a los obtenidos por Monsalve et al., (2006), donde la fermentación realizada con *Saccharomyces cerevisiae* lograron una concentración de bioetanol de 7.92 %.

En cuanto a los parámetros físicos del bioetanol que se registraron para los valores de pH entre 4.4 y 5.3 a los tratamientos, así mismo, para la densidad se obtuvieron resultados de 12.25 mg/L y 25.25 mg/L en las

concentraciones. Estos resultados, son mayores a los obtenidos por Llangari (2018), donde en su proyecto de investigación registró valores para la densidad de 0.9 mg/L.

Se considera que los costos de reactivos, movilización, materias primas determinan un índice de 1.822 centavos de dólar/1ml de bioetanol producido.

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

- El tratamiento de 1 %, es decir 2.5 g de *Saccharomyces cerevisiae* tuvo mayor eficiencia volumétrica que las demás concentraciones
- La concentración de 0.5 %, es decir 1.25 g de *Saccharomyces cerevisiae* resultó mejor tratamiento en relación a la eficiencia alcohólica.
- El proceso de fermentación de jugo de naranja con *Saccharomyces cerevisiae* en diversas concentraciones se lo realizó de manera satisfactoria obteniéndose un producto final con concentración de bioetanol de 20 %.
- Mediante la línea de regresión, existe una fuerte correlación entre los tratamientos en dependencia de la eficiencia volumétrica, es decir mientras más *Saccharomyces cerevisiae* se utilice más volumen de bioetanol se obtendrá. Con respecto a la eficiencia alcohólica, se determinó que existe una baja correlación entre los tratamientos, es decir, el grado de alcohol no depende de la cantidad de *Saccharomyces cerevisiae* que se utilice.
- En relación a los costos de producción, el procedimiento realizado resultó más sencillo y con menor valor, ya que se efectuó mediante un proceso de fermentación y destilación simple, sin involucrar algún tipo de proceso químico que incremente los costos.

6.2. Recomendaciones

- Utilizar otros porcentajes de *Saccharomyces Cerevisiae* con el propósito de obtener mejores rendimientos en la obtención del bioetanol, ya que se comprobó que genera una mejor eficiencia volumétrica con el aumento de la levadura.
- Se recomienda llevar el procedimiento para la obtención del bioetanol a escala industrial lo que permitirá conocer cuáles son sus ventajas y desventajas al aplicar este proceso, sobre todo en sus costos.
- Realizar futuros estudios de obtención de bioetanol, con el uso tanto de bagazo como del jugo de naranja, esto con el objetivo de aprovechar todo el fruto sin generar desperdicios.

7 REFERENCIAS

- Albarracín, J., y Albuja. (2015). Bioetanol Anhidro a partir de paja (Stipaichu). *Revista Politécnica*, 109-109. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1429
- Anadon, A., Martínez, M., y Martínez, M. (2006). Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment. . *Regulatory Toxicol and Pharmacol*, 91-95. doi:10.1016/j.yrtph.2006.02.004
- Armas, A. (2012). *Diseño de una Planta Modular para la Elaboración*. Guayaquil: *Escuela Superior Politécnica Del Litoral*. <https://doi.space.espol.edu.ec/handle/123456789/31026>
- Balat, M. (2007). Global bio-fuel processing and production trends. . *Energy Exploration and exploitation* 25, 195 - 218. <https://doi.org/10.1260%2f01445980778200204>
- Campos, G. (2020). *Situación actual de los productores de naranja (Citrus sinensis) en el Ecuador*. <http://doi.dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/8500/E-UTB-FACIAG-ING-AGROP-000102.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- CEPAL. (2011). *Estudio regional sobre la economía de los biocombustibles en 2010: temas clave para los países de América Latina y el Caribe*. COMUNIICA (IICA). http://doi.repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/3906/LCW412_es.pdf?sequence=1
- Claassen, P. (1999). Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52(6), 741 - 755. <https://doi.org/10.1007/s0025300516>
- Decheco, A. (2019). *Obtención de Etanol por vía fermentación de Saccharomyces cerevisiae a partir de cáscaras de plátano de seda (Musa paradisiaca L.)*. <http://doi.repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/5152/Dechecoegusquiza-FIPA-2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Devaux, y otros. (2018). "Agricultural Innovation and Inclusive Value-Chain Development: A Review.". *Journal of Agribusiness in Developing and Emerging Economies* 8(1), 99–123. <https://doi.org/10.1108/JADEE-06-2017-0065>.
- Electro Industria. (2022). Biocombustible de primera generación. *Electro Industria*, 1-10. <https://doi.emb.cl/electroindustria/articulo/articulo.mvc?xid=959>
- Espinosa, M. (2017). *Obtención de bioetanol a partir de malanga por medio de hidrólisis y fermentación de azúcares*. <http://doi.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9777/1/T-UCE-0017-006-2017.pdf>
- Ferreira, M., y Otros. (2009). Fermentación alcohólica de jugo de naranja con *S. cerevisiae*. *Ciencias Exactas y naturales*, 143-158. <https://doi.org/10.1108/JADEE-06-2017-0085>
- Fraire, A. (2018). *Evaluación de lirio acuático (Eichhornia crassipes) como sustrato potencial en la elaboración de bioetanol*. Villahermosa: Instituto Tecnológico de Villahermosa. https://doi.villahermosa.tecnm.mx/docs/departamentos/tesis/repositorio_de_tesis_2014-
- Frazier, W., Westhoff, D. (2000). *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza: Acribia.
- Giron, M., y Funes L. (2013). *Obtención de alcohol etílico por medio de fermentación alcohólica de las cascavas de Musa paradisíaca (plátano) utilizando como microorganismo productor Saccharomyces cerevisiae (levadura)*. Tesis de grado. Repositorio institucional Universidad de el Salvador. <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/4719/1/16103389.pdf>
- Hallo, J., y Ramos, P. (2013). *Estudio físico-químico y cromatográfico comparativo del fruto de naranja variedades valencia (Citrus sinensis) y tangelo (Citrus paradisi x citrus reticulata) en dos estados de madurez proveniente del cantón "las naves. Las Naves*.

- Hernández, C. (2017). *Obtención de bioetanol a partir de Hidrolizados de Residuos de fruta*. Tesis de Maestría. Repositorio institucional Universidad de Oviedo https://doi.digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/43613/TFM_CeliaHernandezGalindo.pdf?sequence=6&isAllowed=y
- Hernández, D. (1999). Efecto de un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* en consumo, digestibilidad y variables ruminales en borregos alimentados con pasto ovillo (*Dactylis glomerata*) . *Colegio de Posgraduados, Montecillo*, 1 - 17.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) (2013). *Visualizador de estadísticas agropecuarias del Ecuador ESPAC. Cultivos permanentes, naranja-fruta freca, superficie, resumen general*. <http://200.110.88.44/lcds-samples/testdrive-remoteobject/main.html#app=dbb7&9270-selectedIndex=1>
- Servicio Ecuatoriano de Normalización (INEC) (2008). *Jugos, pulpas, concentrados de frutras y vegetales requisitos*. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2337.pdf>
- Jiménez, I., y Anaya, J. (2014). *Elementos de sostenibilidad para la producción del etanol como combustible*. Tesis de grado. Repositorio institucional Cartagena: Universidad tecnologica de bolivar. <https://biblioteca.utb.edu.co/notas/tesis/0067153.pdf>
- Lin, Y., y Tanaka, S. (2006). Ethanol fermentación from biomass resources: current state prospects. *Appl. Microbiol. Biotechnol* 69, 627 - 642. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0229-x>
- Llangari, A. (2018). Comparación del rendimiento y calidad de bioetanol obtenido a partir de la biomasa. *Tesis de grado Universidad Politécnica Salesiana*. https://rrae.cedia.edu.ec/Record/UPS_2fc123d1ce811443e5edc982659fc87e

- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). (2015). *Sistema de información pública agropecuaria*. <http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/comercio-exterior>
- Melendez, R., Velasquez, J., El Salous, A., y Peñalver, A. (2021). Gestión para la Producción de biocombustibles 2G: revisión del escenario tecnológico y económico. *Revista Venezolana de Gerencia*, 26(3), 78–91. <https://doi.org/10.52080/rvg93.07>
- Monsalve, G., Medina, V., y Ruiz, A. (2006). Producción de etanol a partir de la cáscara de banano y almidón de yuca. *Dyna* (150), 21-27. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0012-73532006000300002&lng=en&tlng=es
- Morales, Y., y Sánchez, I. (2004). *Diseño conceptual y comparación técnica de los procesos de hidrólisis ácida y enzimática para la producción de glucosa a partir del almidón de yuca*. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander,. Obtenido de Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga.
- Murgas, J., y Vasquez, M. (2012). *Evaluación de la obtención de bioetanol a partir del almidón de ñame (Dioscorea rotundata, Dioscorea alata y Dioscorea trifida) mediante la hidrólisis enzimática y posterior fermentación*. Cartagena: Universidad de San Buenaventura. <https://bibliotecadigital.usb.edu.co/entities/publication/1c32929c-e799-4a70-8f59-6c04069c47f1>
- Narvaez, B. (2020). *Estudio comparativo del rendimiento de la producción de bioetanol mediante métodos de extracción de primera y segunda generación a partir de la caña de azúcar (Saccharum officinarum)*. Tesis de grado. Repositorio institucional Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/15511>
- Neil, D., y Cortez, L. (2018). *Procesos y fundamentos de la investigación científica*. Machala: UTMACH. <https://repositorio.utmachala.ec/>

bistream/48000/12498/1/Procesos-y-fundamentosDelainvestigación
cientifica.pdf

Nieto, H. (2009). *“Evaluación de las condiciones de la fermentación alcohólica utilizando Saccharomyces cerevisiae y jugo de caña de azúcar como sustrato para obtener etanol”*. Sangolqui: Escuela Politécnica del Ejército.

Nogues, F., y Garcia, D. (2010). Energías Renovables. *Energía de la biomasa Vol.2. Zaragoza*., 1 - 17.

Novales , A. (2010). *Análisis de regresión*. Madrid: *Universidad Complutense Departamento de Economía Cunitativa*.
<https://www.ucm.es/data/cont/docs/518-2013-11-13>

Olguin, E. (2015). *Estudio para optimizar la obtención de bioetanol a partir de harina de semillas de ramón*.
https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/386/1/PCE_R_M_Tesis_2015_Olguin_Edgar.pdf

Pozo, S. (2011). Valor nutricional de las naranjas. *Fundación Española de la Nutrición*.
<https://fen.org.es/storage/app/media/imgpublicaciones/432011819.pdf>

Querol, A. (2003). Molecular evolution in yeast of biotechnological interest. *Int. Microbiol.* <https://doi.org/10.1007/s10123-003-0134-z>.

Rath, S., y Singh, A. y. (2014). Bioethanol production from waste potatoes as an environmental waste management and sustainable energy by using cocultures *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Advanced Research* 2(4), 553-563.

Rodríguez, J., Florido, A., y Hernández, M. (2020). Determinación de parámetros fisicoquímicos en jugos de frutas cítricas. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* 5(1), 233 - 238.

Sanchez, A. (2010). Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Revista Tumbaga* 5, 61 - 91.

- Santos, J., y Zabala, D. (2016). *Evaluación de la producción de etanol a partir de residuos orgánicos y sus diferentes mezclas*. Obtenido de <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/546/1/6102511-2016-2-IQ.pdf>
- Sarris, D., y Papanikolaou, S. (2015). *iotechnological Production of Ethanol : Biochemistry, Processes and Technologies, Eng. In Life Sciences, .* <https://doi.org/10.1002/elsc.201400199>.
- Solano, R. (2018). *Cadena Comercial de Naranja*. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/36382/1/Solano-Robinzon-Hugo-oberto.pdf>
- Tortora , G., Funke, B., y Caso , C. (2018). *Microbiology: an introduction*. <https://lib.hpu.edu.vn/handle/123456789/33526>
- Vargas, J., y Giraldo, J. (2015). “Modelo de Entrenamiento En Toma de Decisiones Relacionadas Con Gestión de Producción y Operaciones de Un Sistema de Fabricación de Bioetanol.” . *Iteckne 12 (1)*, 7-16.
- Villagómez, D. y. (2009). *Obtención de bioetanol a partir de residuos de naranja “Citrus sinensis”*. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/2597/T-ESPE-IASA%20I-004168.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Zuzuarregui, A. (2005). *Caracterización fisiológicas y moleculares de cepas vínicas de Saccharomyces sp. Influencia entre su comportamiento de vinificación*. España: Universidad de Valencia.

8 ANEXOS



Anexo 1. Naranja Thompson seleccionada para el proceso



Anexo 2. Medición de pH del jugo de naranja



Anexo 3. Refractómetro 3090 marca J&G SC



Anexo 4. Ácido cítrico 99.5 % e Hidróxido de Sodio



Anexo 5. Pesaje de *Saccharomyces cerevisiae* y de NaOH



Anexo 6. Proceso de fermentación



Anexo 7. Medición de alcohol



Anexo 8. Bioetanol obtenido



Anexo 9. Filtración de mosto fermentado



Anexo 10. Peso concentración de naranja con sacarosa



Anexo 11. Determinación de ° Brix del jugo de naranja

Medición de Alcohol

T1	T2	T3	X
10	16	12	
8	20	16	
10	20	16	
10	20	16	
1,00	2,00	2,00	
9,5	19	15	

RESUMEN

Tratamientos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
T1	4	38	9,5	1
T2	4	76	19	4
T3	4	60	15	4

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Tratamiento	182	2	91	30,333	0,00010011	4,2564947
Error residual	27	9	3			
Total	209	11				

Anexo 12. ANOVA eficiencia alcohólica

	Medición de Volumen		
	T1	T2	T3
R1	30	30	45
R2	18	50	60
R3	30	50	60
R4	30	50	60
	6	10	7,5

RESUMEN				
Tratamientos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
T1	4	108	27	36
T2	4	180	45	100
T3	4	225	56,25	56,25

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Tratamiento	1741,5	2	870,75	13,588	0,00191083	4,2564947
Error residual	576,75	9	64,08333			
Total	2318,25	11				

Anexo 13. ANOVA eficiencia alcohólica

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO ALCOHOL	12	0,00	1,57	0,65	<0,0001

Anexo 14. Estadística de normalidad de alcohol de Shapiro-Wilks

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO vol	12	0,00	7,24	0,67	<0,0001

Anexo 15. Estadística de normalidad de Volumen de Shapiro-Wilks

Preparo Hidróxido Sódico
 $P_m = 39,8$
 $Pura = 98\%$
 $N = 0,1 \text{ — } S$
 $V = 250 \text{ ml } H_2O \text{ destilada.}$

$$g_1 = \frac{n \times P_m \times V}{\% \text{ Purezza}}$$

$$g_1 = 0,1 \times 39,8 \times 250 \text{ ml} / 98$$

$$g_1 = 995 / 98$$

$$g_1 = 10,15$$

Anexo16. Calculo experimental del NaOH



**Presidencia
de la República
del Ecuador**



**Plan Nacional
de Ciencia, Tecnología,
Innovación y Saberes**



DECLARACIÓN Y

AUTORIZACIÓN

Yo, **Hugo Andrés García Espinoza**, con C.C: #1206359364 autor del **Trabajo de Titulación: Estudio comparativo de la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol de primera generación (1G) obtenido del jugo de naranja Thompson (*Citrus sinensis*) a diferentes concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)**, previo a la obtención del título de **Ingeniero Agroindustrial con mención en Agronegocios** en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, **26 de septiembre del 2022**

f. _____

Nombre: **Hugo Andrés García Espinoza**

C.C: **1206359364**



REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA:	Estudio comparativo de la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol de primera generación (1G) obtenido del jugo de naranja Thompson (<i>Citrus sinensis</i>) a diferentes concentraciones de levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>).		
AUTOR:	Hugo Andrés García Espinoza		
REVISOR:	Dr. Jesús Ramón Meléndez Rangel, PhD		
INSTITUCIÓN:	Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
FACULTAD:	Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo		
CARRERA:	Ingeniería Agroindustrial		
TÍTULO OBTENIDO:	Ingeniero Agroindustrial con Mención en Agronegocios		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	26 de septiembre del 2022	No. DE PÁGINAS:	63
ÁREAS TEMÁTICAS:	Innovación de Producto, Desarrollo del Producto, Rentabilidad del Producto		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	Eficiencia, Bioetanol, <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> , Volumétrica, Alcohólica.		
RESUMEN:	<p>La presente Investigación tiene como propósito determinar la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol obtenido a base del jugo de naranja Thompson. El estudio se llevó a cabo bajo una metodología experimental donde se realizaron tres tratamientos diferentes en base a la inoculación del <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en diferentes concentraciones (0.1 %, 0.5 % y 1%) y con volumen de jugo de naranja de 250 mL. Los tratamientos realizados en base a las distintas combinaciones y repeticiones, permitieron obtener bioetanol de 1G. De acuerdo a las cantidades obtenidas, se realizaron diversos análisis para medir tanto la eficiencia volumétrica como la alcohólica del bioetanol. Los resultados alcanzados evidencian que tratamientos del 1 % de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> registraron la mayor cantidad volumétrica con un promedio de 56.25 mL de bioetanol. La eficiencia alcohólica a partir de las concentraciones de 0.5 % de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> generaron un 20 % de alcohol, siendo el mayor grado registrado</p>		
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR:	Teléfono: +593967909415	E-mail: hugog97@outlook.es	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN (COORDINADOR DEL PROCESO UTE):	Nombre: Ing. Noelia Caicedo Coello, M. Sc.		
	Teléfono: +593-967909475		
	E-mail: noelia.caicedo@cu.ucsg.edu.ec		
SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA			
Nº. DE REGISTRO (en base a datos):			
Nº. DE CLASIFICACIÓN:			
DIRECCIÓN URL (tesis en la web):			