

**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO**

**CARRERA INGENIERÍA AGROINDUSTIAL**

**TEMA:**

**Estudio de la eficiencia volumétrica y alcohólica con el método de extracción ácida para la producción de bioetanol en el material lignocelulósico de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*)**

**AUTOR:**

Jackson Steveen Pérez Chang

**Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de  
Ingeniero Agroindustrial.**

**TUTOR:**

Ing. Jesús Ramón Meléndez Rangel, Ph. D.

**Guayaquil, 20 de septiembre del 2022**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**CERTIFICACIÓN**

Certificamos que el presente **Trabajo de Titulación**, fue realizado en su totalidad por **Pérez Chang Jackson Steeven**, como requerimiento para la obtención del título de **Ingeniero Agroindustrial con mención en Agronegocios**.

Guayaquil, 20 de septiembre del 2022

**TUTOR**

f. \_\_\_\_\_

Ing. Jesús Ramón Meléndez Rangel, Ph. D.

**DIRECTOR DE LA CARRERA**

f. \_\_\_\_\_

Ing. John Franco Rodríguez, Ph. D.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD**

Yo, **Jackson Steven Pérez Chang**

**DECLARO QUE:**

El **Trabajo de Titulación**, Estudio de la eficiencia volumétrica y alcohólica con el método de extracción ácida para la producción de bioetanol en el material lignocelulósico de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), 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, 20 de septiembre del 2022**

**EL AUTOR**

f. \_\_\_\_\_

**Jackson Steven Pérez Chang**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

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

**AUTORIZACIÓN**

Yo, **Jackson Steveen Pérez Chang**

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la publicación en la biblioteca de la institución del trabajo de trabajo de titulación Estudio de la eficiencia volumétrica y alcohólica con el método de extracción ácida para la producción de bioetanol en el material lignocelulósico de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

**Guayaquil, 20 de septiembre del 2022**

**EL AUTOR:**

f. \_\_\_\_\_

**Jackson Steveen Pérez Chang**



# 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 de la eficiencia volumétrica y alcohólica con el método de extracción ácida para la producción de bioetanol en el material lignocelulósico de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Presentado por el estudiante Pérez Chang Jackson Steeven de la carrera de **Ingeniería Agroindustrial**, donde obtuvo del programa URKUND, el valor de 0 % de coincidencias, considerando ser aprobada por esta dirección.

| Ouriginal            |  |
|----------------------|--|
| Document Information |  |
| Analyzed document    | JACKSON PEREZ TESIS URKUND.docx (D144331443) |
| Submitted            | 2022-09-19 09:35:00                          |
| Submitted by         |  |
| Submitter email      | jackson.perez@cu.ucsg.edu.ec                 |
| Similarity           | 0%   |
| Analysis address     | noelia.caicedo.ucsg@analysis.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**

Quiero agradecer a Dios que me ayudo y acompaño en todo momento y aún más en momentos difíciles. También agradecer a mi familia, mi esposa y mi hijo que son mi base mi fuente de motivación para seguir adelante en todo lo que me propongo.

También quisiera agradecer a la Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo, ya que gracias a ello conocí a las personas que se volvieron como hermanos me ayudaron mucho en todo momento tanto profesional como personal, a los docentes de la Facultad que con el tiempo llegué a considerarlos mis amigos a mi tutor Dr. Jesús Ramón Meléndez que me ayudo y me guió en cada momento durante el desarrollo de este proyecto.

## DEDICATORIA

Quiero dedicar este logro a todas las personas que me apoyaron en todo momento que no permitieron que me rindiera y que más amo, a mis padres Jaime Freddy Pérez Paredes y Sandra Pilar Chang Valenzuela, siempre me apoyaran, amaran y cuidaran en todo momento. A mi esposa Kathleen Paola Moreno Sánchez y mi hijo Jackson Martin Pérez Moreno, por amarme, darme fuerzas y alegría para seguir cada día, cambiar mi vida para mejor, seguir mejorando tanto laboral como en lo personal.

A mis abuelas Coralia Paredes y Chabela Valenzuela por su amor, alegría, consejos y estar a mi lado incondicionalmente en momentos buenos y malos. A mi hermana Naomi Pérez que confía, cree y apoya a todos mis proyectos. A mi tía Sara Chang quien quiero como a otra madre que siempre está pendiente de mí y que puedo contar con ella para cualquier cosa.



**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 Franco Rodríguez, Ph. D.**

DIRECTOR DE LA CARRERA

---

**Ing. Noelia 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

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUCCIÓN .....</b>                                     | <b>2</b>  |
| 1.1      | Objetivo general .....  | 3         |
| 1.2      | Objetivos específicos .....                                   | 3         |
| 1.3      | Formulación del problema.....                                 | 4         |
| 1.4      | Pregunta de investigación.....                                | 6         |
| 1.5      | Hipótesis .....   | 6         |
| <b>2</b> | <b>MARCO TEÓRICO .....</b>                                    | <b>7</b>  |
| 2.1      | Biomasa lignocelulósica.....                                  | 7         |
| 2.2      | Celulosa.....   | 8         |
| 2.2.1    | Hemicelulosa. ....  | 9         |
| 2.2.2    | Lignina. ....   | 10        |
| 2.3      | Levadura ( <i>Saccharomyces cerevisae</i> ).....              | 11        |
| 2.4      | Caña de azúcar.....   | 11        |
| 2.5      | Bioetanol.....  | 13        |
| 2.5.1    | Propiedades físico y químicas del bioetanol. ....             | 17        |
| 2.6      | Conversión de biomasa en etanol.....                          | 17        |
| 2.7      | Generalidades.....  | 18        |
| 2.8      | Materia prima .....   | 18        |
| 2.9      | Cosecha.....  | 19        |
| 2.10     | Pretratamiento .....  | 19        |
| 2.11     | Hidrólisis de primera etapa .....                             | 20        |
| 2.12     | Hidrólisis de segunda etapa.....                              | 21        |
| 2.13     | Fermentación .....  | 21        |
| 2.14     | Destilación .....   | 21        |
| 2.15     | Método por hidrólisis ácida del material lignocelulósico..... | 21        |
| 2.16     | Norma NTE INEN 2 478:2009.....                                | 22        |
| <b>3</b> | <b>MARCO METODOLÓGICO .....</b>                               | <b>23</b> |
| 3.1      | Ubicación .....   | 23        |
| 3.2      | Materiales, insumos, reactivos y equipos.....                 | 23        |
| 3.2.1    | Materia prima. ....   | 23        |
| 3.2.2    | Reactivos. ....   | 23        |
| 3.2.3    | Materiales y equipos. ....                                    | 24        |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 3.3      | Diseño metodológico .....                          | 24        |
| 3.3.1    | Modalidad de la investigación. ....                | 24        |
| 3.3.2    | Tipo de la investigación. ....                     | 24        |
| 3.3.3    | Investigación descriptiva. ....                    | 25        |
| 3.3.4    | Materia prima utilizada. ....                      | 25        |
| 3.4      | Procedimiento de extracción de bioetanol .....     | 25        |
| 3.4.1    | Descripción del proceso de extracción. ....        | 26        |
| 3.4.1.1  | Recepción de la materia prima. ....                | 26        |
| 3.5      | Diseño experimental del proceso de extracción..... | 28        |
| 3.5.1    | Factores.....                                      | 28        |
| 3.6      | Tratamientos.....                                  | 28        |
| 3.6.1    | Interacciones de tratamientos.....                 | 29        |
| 3.6.2    | Análisis estadístico. ....                         | 29        |
| 3.6.3    | Hipotesis. ....                                    | 29        |
| 3.7      | Etapas de operación .....                          | 30        |
| 3.7.1    | Preparación de los sustratos.....                  | 30        |
| 3.7.2    | Hidrólisis ácida.....                              | 30        |
| 3.7.3    | Neutralización de la muestra.....                  | 30        |
| 3.7.4    | Preparación de levadura.....                       | 31        |
| 3.7.5    | Fermentación. ....                                 | 31        |
| 3.7.6    | Destilación. ....                                  | 31        |
| 3.8      | Análisis físico y químico .....                    | 32        |
| 3.8.1    | Materia prima. ....                                | 32        |
| 3.8.2    | Alcohol. ....                                      | 32        |
| <b>4</b> | <b>RESULTADOS.....</b>                             | <b>33</b> |
| 4.1      | Volumen de alcohol .....                           | 33        |
| 4.2      | Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks.....         | 34        |
| 4.3      | Grados de alcohol.....                             | 35        |
| 4.4      | Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks.....         | 37        |
| 4.5      | Prueba de Kruskal Wallis .....                     | 37        |
| 4.6      | Características físicas y químicas.....            | 37        |
| <b>5</b> | <b>DISCUSIÓN .....</b>                             | <b>42</b> |
| <b>6</b> | <b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>         | <b>44</b> |

|     |                       |    |
|-----|-----------------------|----|
| 6.1 | Conclusiones.....     | 44 |
| 6.2 | Recomendaciones ..... | 45 |

**REFERENCIAS**

**ANEXOS**

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 1.</b> Contenido de celulosa, hemicelulosa, hemicelulosa y lignina  | 8  |
| <b>Tabla 2.</b> Composición química del bagazo de caña.....                  | 12 |
| <b>Tabla 3.</b> Mezclas comunes de etanol y gasolina.....                    | 14 |
| <b>Tabla 4.</b> Producción de etanol de primera generación.....              | 15 |
| <b>Tabla 5.</b> Propiedades físicas y químicas del bioetanol .....           | 17 |
| <b>Tabla 6.</b> Requisitos del etanol anhidro grado carburante.....          | 22 |
| <b>Tabla 7.</b> Tratamientos del diseño experimental .....                   | 29 |
| <b>Tabla 8.</b> Interacción de tratamientos.....                             | 29 |
| <b>Tabla 9.</b> Especificaciones técnicas del bagazo de caña de azúcar ..    | 32 |
| <b>Tabla 10.</b> Especificaciones técnicas del bioetanol .....               | 32 |
| <b>Tabla 11.</b> Promedio de la eficiencia volumétrica .....                 | 33 |
| <b>Tabla 12.</b> Promedio de análisis de t–Student medición volumétrica .    | 34 |
| <b>Tabla 13.</b> Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks.....                  | 35 |
| <b>Tabla 14.</b> Promedio de la eficiencia alcohólica .....                  | 35 |
| <b>Tabla 15.</b> Promedio de análisis de t – Student eficiencia alcohólica . | 36 |
| <b>Tabla 16.</b> Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks.....                  | 37 |
| <b>Tabla 17.</b> Prueba de Kruskal Wallis .....                              | 37 |
| <b>Tabla 18.</b> Valores de pH del volumen de alcohol.....                   | 37 |
| <b>Tabla 19.</b> Promedio de análisis de t – Student medición de pH.....     | 38 |
| <b>Tabla 20.</b> Valores de densidad del volumen de alcohol.....             | 38 |
| <b>Tabla 21.</b> Promedio de análisis de t–Student medición de densidad      | 39 |
| <b>Tabla 22.</b> Consumo de NaOH: 5 N para ajuste de pH .....                | 39 |
| <b>Tabla 23.</b> Promedio de análisis de t–Student consumo de NaOH: ...      | 39 |
| <b>Tabla 24.</b> Acidez total en el bioetanol .....                          | 40 |
| <b>Tabla 25.</b> Promedio de análisis de t – Student acidez total .....      | 40 |
| <b>Tabla 26.</b> Grados brix en el bioetanol .....                           | 40 |
| <b>Tabla 27.</b> Promedio de análisis de t – Student °brix en el bioetanol . | 41 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Producción de biomasa-etanol de segunda generación....   | 18 |
| <b>Figura 2.</b> Diferentes métodos de pretratamiento. ....               | 20 |
| <b>Figura 3.</b> Ubicación del lugar de estudio.....                      | 23 |
| <b>Figura 4.</b> Diagrama de flujo para la extracción de bioetanol.....   | 26 |
| <b>Figura 5.</b> Diagrama de flujo de recepción de materia prima. ....    | 27 |
| <b>Figura 6.</b> Diagrama de flujo del proceso de hidrólisis ácida.....   | 27 |
| <b>Figura 7.</b> Diagrama de flujo de pH, preparación de levadura. ....   | 27 |
| <b>Figura 8.</b> Diagrama de flujo de fermentación y destilación. ....    | 28 |
| <b>Figura 9.</b> Representación lineal de la eficiencia volumétrica. .... | 33 |
| <b>Figura 10.</b> Representación lineal de la eficiencia alcohólica.....  | 36 |

## RESUMEN

El bioetanol líquidos o gaseosos se produce a partir de fracciones de productos biodegradables, residuos forestales, y de desechos. El objetivo de este trabajo es establecer un estudio de la eficiencia volumétrica y alcohólica con el método de extracción ácida para la producción de bioetanol en el material lignocelulósico de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). La investigación será de tipo experimental, con nivel exploratorio, descriptiva, y correlacional. Los factores por estudiar son A, material lignocelulósico (bagazo de caña de azúcar) y B, concentraciones de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (2 % y 4 %). Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) AxB lo que da un resultado de 2 tratamientos y 4 repeticiones para cada evaluación en volumen y alcohol, para un 8 factorial por evaluación. El análisis estadístico de los datos que se efectuaron mediante la prueba de la t de Student, para determinar si existen diferencias significativas en el producto resultante del bioetanol de 2G, considerando las diferentes concentraciones de levadura que se aplicarán. Los resultado de la eficiencia volumétrica se sitúan en un volumen de alcohol obtenido de 59.5 mL con el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % el cual fue estadísticamente superior sobre el promedio (36.25 mL) del tratamiento con *S. cerevisiae* al 2 %. Los valores representativos del grado de alcohol obtenido alcanzo 25.5° con el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % el cual fue estadísticamente superior sobre el promedio 18° del tratamiento con *S. cerevisiae* al 2 %. Se concluye que las propuestas experimentales son determinantes para evaluar la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol según los resultados validados estadísticamente.

**Palabras clave:** Bioetanol, caña de azúcar, *Saccharomyces cerevisiae*, eficiencia volumétrica, eficiencia alcohólica, extracción ácida.

## ABSTRACT

Liquid or gaseous bioethanol is produced from fractions of biodegradable products, forest residues and wastes. The objective of this work is to establish a study of the volumetric and alcoholic efficiency with the acid extraction method for the production of bioethanol from sugarcane (*Saccharum officinarum*) lignocellulosic material. The research will be experimental, exploratory, descriptive and correlational. The factors to be studied are A, lignocellulosic material (sugarcane bagasse) and B, concentrations of *Saccharomyces cerevisiae* yeast (2 % and 4 %). An AxB Completely Randomized Design (ACD) was used, resulting in 2 treatments and 4 replicates for each evaluation in volume and alcohol, for an 8 factorial per evaluation. The statistical analysis of the data was carried out using Student's t-test to determine if there are significant differences in the product resulting from the 2G bioethanol, considering the different washing concentrations to be applied. The results of the volumetric efficiency are located in a volume of alcohol obtained of 59.5 mL with the treatment with *S. cerevisiae* at 4 %, which was statistically superior to the average (36.25 mL) of the treatment with *S. cerevisiae* at 2 %. The representative values of the alcohol content obtained reached 25.5° with the 4% *S. cerevisiae* treatment, which was statistically superior to the average of 18° for the 2% *S. cerevisiae* treatment. It is concluded that the experimental proposals are determinant to evaluate the volumetric and alcoholic efficiency of bioethanol according to the statistically validated results.

**Key words:** Bioethanol, sugarcane, *Saccharomyces cerevisiae*, volumetric efficiency, alcoholic efficiency, acid extraction.

## 1 INTRODUCCIÓN

La producción de bioetanol celulósico ha estado plagada de desafíos, como las fluctuaciones en el suministro de materias primas, los costes de manipulación, el pretratamiento, las enzimas y otros problemas logísticos. La mayoría de los estudios sobre la producción de bioetanol lignocelulósico se han centrado en un solo tipo de biomasa; sin embargo, la utilización plena de varias fuentes de biomasa lignocelulósica podría mejorar la producción de bioetanol y la viabilidad económica de la biorrefinerías (Nguyen et al., 2016).

En todo el mundo se reconoce que los residuos agrícolas son una de las mejores opciones para sustituir a los granos en la producción de bioetanol combustible, sin poner en peligro la seguridad alimentaria, aunque todavía existen muchos desafíos para su conversión comercial, debido a su recalcitrancia a la degradación, así como a su composición química única (Zhao et al., 2012).

Según los aportes de Osotos (2019) la biomasa lignocelulósica para la producción de bioetanol proviene principalmente de residuos agrícolas como residuos de clasificación, rastrojo, residuos de madera, maíz, paja de trigo o arroz, bagazo (residuos de caña de azúcar y sorgo), entre otros.

Además, el bioetanol es uno de los componentes más importantes del biodiesel como combustible utilizado en motores de encendido por chispa. El bioetanol puede obtenerse a partir de fuentes de celulosa, azúcar y almidón en productos agrícolas y utilizarse como combustible en su forma pura o mezclado con otras sustancias (Salehi et al., 2018).

La producción de bioetanol a partir de la caña de azúcar se discute como fuente de energía alternativa para reducir la dependencia de las economías regionales de los combustibles fósiles. Aunque la producción de bioetanol a partir de la caña de azúcar se considera una estrategia beneficiosa y rentable de mitigación de gases de efecto invernadero (GEI), sigue siendo

objeto de controversia debido a la insuficiente información sobre el balance total de GEI de este sistema (Cardoso et al., 2011).

El presente trabajo de investigación se lo realizó con la finalidad de determinar la eficiencia volumétrica y alcohólica con el método de extracción ácida.

### **1.1 Objetivo general**

Establecer un estudio de la eficiencia volumétrica y alcohólica con el método de extracción ácida para la producción de bioetanol en el material lignocelulósico de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*).

### **1.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar física y química el material lignocelulósico en la fase inicial de selección del proceso de producción del bioetanol.
- Establecer el método de extracción ácido aplicado en el material lignocelulósico de la caña de azúcar para la producción de bioetanol.
- Caracterizar física y químicamente los productos obtenidos en el proceso general de extracción.
- Determinar la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol obtenido según el tratamiento de extracción aplicado.

### 1.3 Formulación del problema

La reciente evolución económica en muchos países del mundo ha aumentado la necesidad de recursos energéticos alternativos debido a los inconvenientes bien documentados de los combustibles fósiles: (1) su suministro finito, (2) la emisión de gases de efecto invernadero y el calentamiento global y (3) el aumento del precio y las fluctuaciones inesperadas. Todos estos puntos débiles han reforzado el interés por un combustible alternativo, renovable, sostenible y económicamente viable como el bioetanol (Haghighi et al., 2013).

La energía desempeña un papel crucial en el desarrollo económico, humano y en las mejoras sociales. Sin embargo, la preocupación por el agotamiento de los combustibles fósiles y el creciente ritmo de consumo energético e industrialización han animado a los investigadores a buscar fuentes de energía alternativas. Debido al suministro fiable de los combustibles necesarios para el transporte y la contaminación ambiental, el combustible a base de celulosa es una respuesta a los problemas actuales (Rezania et al., 2020).

La industria energética busca constantemente recursos energéticos renovables y respetuosos con el medio ambiente. Entre las soluciones sugeridas, el bioetanol ha surgido recientemente como una solución eficaz para hacer frente a las preocupaciones derivadas de la limitación de los combustibles fósiles, junto con las consecuencias negativas de las transmisiones de gases de efecto invernadero. La producción a escala industrial de bioetanol lignocelulósico a partir de biomasa lignocelulósica se ha investigado durante muchos años. La biomasa disponible a partir de residuos y desechos agrícolas se genera a partir de la cosecha y el procesamiento de los cultivos. Es más barata que el almidón y no compite con las fuentes de alimentos, lo que la hace atractiva para su utilización en la bioconversión (Nguyen et al., 2016).

La biomasa agroindustrial, como el bagazo de la caña de azúcar, la paja del arroz y del trigo, el rastrojo del maíz y la hierba de conmutación, se

denomina biomasa lignocelulósica, que es barata, abundante y renovable, y constituye un recurso natural único para la producción de bioenergía a gran escala y de forma rentable (Rezania et al., 2020).

Con la creciente demanda mundial de energía, la escasez de ésta será un problema global. El bioetanol se considera un importante combustible renovable que sustituye en parte a los combustibles fósiles. La producción mundial de bioetanol aumentó de 50 millones de m<sup>3</sup> en 2007 a más de un aproximado de 100 millones de m<sup>3</sup> en 2012: Brasil y Estados Unidos representan aproximadamente el 80 % del suministro mundial, utilizando principalmente maíz o caña de azúcar. En las economías en desarrollo, la materia prima alimentaria se sustituye preferentemente por materias primas no alimentarias, como el sorgo dulce o la yuca. El empleo de material orgánico "biomasa" ha demostrado el aumento significativo en la producción de bioetanol. Situación que contribuye a desarrollar investigaciones en esta área. Los aportes de Kang et al. (2014) han propuesto la producción de biocombustible específicamente bioetanol de segunda generación con métodos de conversión y de rendimientos de más del 92 %, y biotecnología combinadas para complementar la eficiencia productiva.

La biomasa lignocelulósica puede transformarse en bioetanol a través de un enfoque en el método de extracción ácida con diferentes concentraciones de levadura. Ambas rutas implican la degradación de la estructura recalcitrante de la pared celular de la lignocelulosa en fragmentos de lignina, hemicelulosa y celulosa. Por lo cual, existe la necesidad de elaborar un estudio comparativo para determinar la eficiencia volumétrica y alcohólica en la producción de bioetanol a partir de un método de extracción ácida aplicado en el bagazo de la caña de azúcar.

#### 1.4 Pregunta de investigación

¿Cuáles son las principales diferencias volumétricas y alcohólicas que podrían obtenerse en un proceso de producción de bioetanol empleando el método de extracción ácida a diferentes concentraciones de levadura en el material lignocelulósico de la caña de azúcar?

#### 1.5 Hipótesis

**Ho<sub>1</sub>** = El aumento de *Saccharomyces cerevisiae* no tiene efecto en la eficiencia volumétrica del bioetanol obtenido por el método de hidrólisis ácida aplicado al material lignocelulósico de la caña de azúcar.

**Ha<sub>1</sub>** = El aumento de *Saccharomyces cerevisiae* tiene efecto en la eficiencia volumétrica del bioetanol obtenido por el método de hidrólisis ácida aplicado al material lignocelulósico de la caña de azúcar.

**Ho<sub>2</sub>** = El aumento de *Saccharomyces cerevisiae* no tiene efecto en la eficiencia alcohólica del bioetanol obtenido por el método de hidrólisis ácida aplicado al material lignocelulósico de la caña de azúcar.

**Ha<sub>2</sub>** = El aumento de *Saccharomyces cerevisiae* tiene efecto en la eficiencia alcohólica del bioetanol obtenido por el método de hidrólisis ácida aplicado al material lignocelulósico de la caña de azúcar.

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1 Biomasa lignocelulósica

La biomasa lignocelulósica está compuesta principalmente por las paredes celulares de las plantas, con los carbohidratos estructurales celulosa y hemicelulosa y el polímero fenólico heterogéneo lignina como componentes principales. Sin embargo, su contenido varía sustancialmente en función de la especie, la variedad, el clima, la fertilidad del suelo y las prácticas de fertilización, pero, por término medio, en el caso de los residuos agrícolas como el rastrojo de maíz, la paja de trigo y la de arroz, las paredes celulares contienen aproximadamente un 40 % de celulosa, un 30 % de hemicelulosa y un 15 % de lignina en peso seco (Abril y Navarro, 2012).

La característica distintiva de las paredes celulares de las plantas es su estructura en dos partes, como se ilustra en el Figura 1. Una pared celular primaria se desarrolla con la división celular, y se amplía durante el crecimiento de la célula a una estructura similar a la fibra de vidrio, con microfibrillas de celulosa cristalina incrustadas en una matriz de polisacáridos como las hemicelulosa. La pared primaria de las células adyacentes se mantiene unida por una capa pegajosa, llamada lámina media, compuesta por pectinas, para formar el sistema de tejido conductor dispuesto en numerosos haces vasculares (Zhao et al., 2012).

La biomasa vegetal se compone principalmente de tres polímeros: celulosa, hemicelulosa y lignina, junto con cantidades menores de pectina, proteínas, extractivos y cenizas. La composición de estos componentes puede variar de una especie vegetal a otra. Las maderas duras, por ejemplo, tienen mayores cantidades de celulosa, mientras que la paja y las hojas de trigo tienen más hemicelulosa (Bajpai, 2016).

**Tabla 1.** Contenido de celulosa, hemicelulosa, hemicelulosa y lignina

| <b>Materia Vegetal</b> | <b>Celulosa</b> | <b>Hemicelulosa</b> | <b>Lignina</b> |
|------------------------|-----------------|---------------------|----------------|
| Maderas duras          | 40-55           | 24-40               | 18-25          |
| Maderas blandas        | 45-50           | 25-35               | 25-35          |
| Paja de trigo          | 30              | 50                  | 15             |
| Mazorcas de maíz       | 45              | 35                  | 15             |
| Pastos                 | 25-40           | 35-50               | 10-30          |
| Pasto de varilla       | 45              | 31.4                | 12             |

**Fuente:** Bajpai (2016)

**Elaborado por:** El Autor

## 2.2 Celulosa

La celulosa ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>x</sub>, el principal constituyente de la biomasa lignocelulósica, es un polisacárido que consiste en una cadena lineal de D-glucosa unida por enlaces  $\beta$ -(1,4)-glicosídicos entre sí. Las cepas de celulosa se asocian entre sí para formar fibrillas de celulosa. Las fibras de celulosa están unidas por una serie de enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares. Por ello, la celulosa es insoluble en agua y en la mayoría de los disolventes orgánicos (Mood et al., 2013).

El grado de polimerización de las cadenas de celulosa en la naturaleza oscila entre las 10 000 unidades de glucopiranososa de la madera y las 15 000 del algodón nativo. La unidad de repetición de la cadena de celulosa es el disacárido celobiosa, a diferencia de la glucosa en otros polímeros de glucano. Las cadenas de celulosa (20-300) se agrupan para formar microfibrillas, que se agrupan para formar fibras de celulosa. Los polímeros de celulosa de cadena larga están unidos entre sí por enlaces de hidrógeno y de Van der Waals, que hacen que la celulosa se empaquete en microfibrillas (Bajpai, 2016).

Aunque se ha documentado la polimorfía de la celulosa, la celulosa nativa se presenta como celulosa I, que es una mezcla de dos polimorfos I $\alpha$  e I $\beta$ . La celulosa I $\alpha$  se sintetiza simultáneamente con la extensión de la red de microfibrillas, por lo que es dominante en las plantas inferiores para formar la pared primaria, y también en algunas bacterias. Mientras que la celulosa I $\beta$  se

deposita en la pared secundaria de las plantas superiores para darle resistencia. El desciframiento de la estructura cristalina indica que la celulosa  $I_{\alpha}$  se caracteriza por la unidad triclnica que contiene una cadena, mientras que hay dos cadenas en la unidad monoclnica de la celulosa  $I_{\beta}$  que proporcionan ms enlaces de hidrgeno intramoleculares, haciéndola ms estable. Por lo tanto, se necesitan condiciones duras para transformar la celulosa  $I_{\beta}$  de la biomasa vegetal en polimorfos amorfos que puedan ser atacados ms eficazmente por las celulasas (Zhao et al., 2012).

### **2.2.1 Hemicelulosa.**

Las hemicelulosas  $(C_5H_8O_4)_m$ , situadas en las paredes celulares secundarias, son biopolmeros ramificados heterogneos que contienen pentosas ( $\beta$ -D-xilosa,  $\alpha$ -L-arabinosa), hexosas ( $\beta$ -D-manosa,  $\beta$ -D-glucosa,  $\alpha$ -D-galactosa) y/o cidos urgnicos ( $\alpha$ -D-glucurnico,  $\alpha$ -D-4-O-metilgalacturnico y  $\alpha$ -D-galacturnico). Son relativamente fciles de hidrolizar debido a su estructura amorfa y ramificada (con cadena lateral corta), as como a su menor peso molecular. Para aumentar la digestibilidad de la celulosa, deben eliminarse grandes cantidades de hemicelulosas, ya que cubren las fibrillas de celulosa limitando su disponibilidad para la hidrlisis enzimtica. Las hemicelulosas son relativamente sensibles a las condiciones de operacin, por lo que parmetros como la temperatura y el tiempo de retencin deben ser controlados para evitar la formacin de productos no deseados como furfurales e hidroximetil furfurales que posteriormente inhiben el proceso de fermentacin (Moodet et al., 2013).

La hemicelulosa es el segundo polmero ms abundante que contiene alrededor del 20-50 % de la biomasa lignocelulsica. La columna vertebral de la hemicelulosa es un homopolmero o un heteropolmero con ramas cortas unidas por enlaces beta-(1,4)-glicosdicos y, ocasionalmente, enlaces beta-(1,3)-glicosdicos. Adem s, las hemicelulosas pueden tener alg un grado de acetilacin, por ejemplo, en el heteroxilano. Las hemicelulosas tienen un peso molecular inferior al de la celulosa y se ramifican con cadenas laterales cortas que se hidrolizan fcilmente (Bajpai, 2016).

A diferencia de la celulosa, que es cristalina y resistente a la degradación, las hemicelulosas son aleatorias y amorfas, por lo que se hidrolizan fácilmente a azúcares monoméricos. Sin embargo, las hemicelulosas están incrustadas e interactúan con la celulosa y la lignina, lo que aumenta significativamente la resistencia y la dureza de las paredes celulares de las plantas (Zhao et al., 2012).

### **2.2.2 Lignina.**

La lignina  $[C_9H_{10}O_3(OCH_3)_{0,9-1,7}]_n$  es un polímero aromático sintetizado a partir de precursores fenilpropanoides. Las principales unidades químicas fenilpropanoides de la lignina, que consisten principalmente en siringilo, guayacol y p-hidroxifenol, están unidas entre sí por un conjunto de enlaces para formar una matriz complicada (Mood et al., 2013).

La lignina es el tercer polímero más numeroso en la naturaleza. Es una estructura molecular compleja y de gran tamaño que contiene polímeros reticulados de monómeros fenólicos. Está presente en las paredes celulares de las plantas y confiere una resistencia rígida e impermeable al ataque microbiano y al estrés oxidativo. Está presente en la pared celular primaria e imparte soporte estructural, impermeabilidad y resistencia contra el ataque microbiano (Bajpai, 2016).

Aunque la lignina es un polímero no basado en el azúcar y no puede utilizarse como materia prima para la producción de bioetanol mediante fermentación microbiana, ejerce un impacto significativo en el rendimiento económico de los procesos de bioconversión correspondientes, ya que la mayoría de los inhibidores del crecimiento microbiano y la fermentación proceden de este compuesto durante el pretratamiento necesario para hacer que la celulosa sea susceptible de ataque enzimático. Mientras tanto, como segundo componente más abundante en la biomasa después de la celulosa, la lignina produce más energía cuando se quema, y por lo tanto es una buena selección para la producción combinada de calor y electricidad (CHP) en un modo ecológico y respetuoso con el medio ambiente de la biorrefinería.

Además, la lignina es un excelente material de partida para diversos productos, incluidos los combustibles para el transporte y los productos químicos de valor añadido, que pueden añadir créditos a los procesos de bioconversión y hacer que el bioetanol sea más competitivo económicamente (Zhao et al., 2012).

### **2.3 Levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)**

*Saccharomyces cerevisiae*, es una levadura que constituye el grupo de microorganismos más íntimamente asociado al progreso y bienestar de la humanidad; su nombre deriva del vocablo Saccharo que es lo que conocemos como azúcar, myces es el término que se le da al hongo y *cerevisiae* que quiere decir cerveza. Se la considera como una levadura heterótrofa, que adquiere energía a partir de glucosa y posee una elevada capacidad fermentativa. Puede separarse con simplicidad en plantas y tierra, así como del tracto gastrointestinal y genital humano. Es un producto del proceso de producción de alcohol, que a su vez forma una valiosa fuente de proteínas y vitaminas para la alimentación animal. Se ha manifestado que la crema de levadura *S. cerevisiae* concentrada, alcanza valores de materia seca (MS) de 18-20 % y un contenido de proteína bruta (PB) de 32-36 % sobre base seca. Por otro lado, algunos autores sostienen que la composición promedio de proteína verdadera es de 40.20 %, mientras que otros, registraron valores algo inferiores en el entorno de 39 % (Suarez et al., 2016).

### **2.4 Caña de azúcar**

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), es una hierba perenne perteneciente a la familia de las poáceas que se utiliza para producir azúcar, representando casi el 70 % de la producción mundial. En las industrias agrícolas, la caña de azúcar se tritura para extraer el jugo con el fin de producir azúcar o se fermenta para obtener bioetanol. El bagazo es el residuo lignocelulósico que queda después de la extracción del jugo. La producción mundial anual de caña de azúcar es de alrededor de 1 600 millones de toneladas, y genera 279 millones de toneladas métricas (MMT) de bagazo que, en su mayoría, quedan sin utilizar y se dejan a la degradación natural o

se queman en el campo, causando una grave agresión ambiental y el desperdicio del recurso (Verardi et al., 2016).

Según los datos aportados por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (OCDE/FAO, 2017) estiman que la industria azucarera genera aproximadamente 493 millones de toneladas métricas de bagazo en todo el mundo. Sin embargo, hay varias variaciones en la composición química del bagazo, como se muestra en la Tabla 2, que se atribuyen a la especie de caña de azúcar en particular, a la aparición de híbridos, a las condiciones ambientales, a los sistemas de cosecha y a la edad de los cultivos. En general, el bagazo se compone principalmente de celulosa, hemicelulosas y lignina en una proporción aproximada de 4:3:3, e incluye algunos otros compuestos menores diversos, como sílice y extractivos (Khattab y Watanabe, 2019).

**Tabla 2.** Composición química del bagazo de caña

| <b>Composición química (% , masa seca)</b> |                 |                     |                |                    |               |
|--|-----------------|---------------------|----------------|--------------------|---------------|
| <b>Rango</b>                               | <b>Celulosa</b> | <b>Hemicelulosa</b> | <b>Lignina</b> | <b>Extractivos</b> | <b>Ceniza</b> |
| <b>Mínimo</b>                              | 36.1            | 22.9                | 14.1           | 2.7                | 0.8           |
| <b>Máximo</b>                              | 47.3            | 31.8                | 32.4           | 14.1               | 8.8           |
| <b>Media</b>                               | 41.75           | 26.66               | 22.39          | 6.8                | 2.52          |

**Fuente:** Khattab y Watanabe (2019)

**Elaborado por:** El Autor

La caña de azúcar pertenece a la familia de las poáceas, que son hierbas. Los tejidos de este tipo de plantas están compuestos por células con paredes celulares de tipo II, lo que significa que las fibras de celulosa están dentro de una matriz de glucurono-arabino-xilano con altos niveles de hidroxycinamatos. A medida que la caña de azúcar madura, se crean paredes celulares secundarias entre la pared celular primaria y la membrana plasmática, que consisten en celulosa, hemicelulosa (principalmente glucuronoarabinoxilano) y lignina (Khattab y Watanabe, 2019).

## **2.5 Bioetanol**

El bioetanol puede mezclarse con la gasolina o utilizarse como combustible único utilizando motores específicos; además, tiene un calor de vaporización y un número de octano superiores a los de la gasolina. El bioetanol ya se mezcla con la gasolina y las ayudas de los fabricantes de vehículos han dado lugar a vehículos que pueden utilizar hasta un 85 % de mezcla de bioetanol y 15 % de gasolina. De hecho, la gasolina puede utilizar bioetanol como combustible oxigenado para aumentar su contenido de oxígeno, lo que provoca una mejor oxidación de los hidrocarburos y disminuye los gases de efecto invernadero (Haghighi et al., 2013).

Las principales razones para el mayor desarrollo del bioetanol son su uso como combustible renovable favorable y casi neutro en carbono, reduciendo así las emisiones de CO<sub>2</sub> y el cambio climático asociado; su uso como potenciador de octanaje en la gasolina sin plomo; y su uso como mezcla de combustible oxigenada para una combustión más limpia de la gasolina, reduciendo así las emisiones contaminantes del tubo de escape y mejorando la calidad del aire ambiente. El mayor uso del bioetanol es como combustible y aditivo para motores, con los tipos comunes de mezclas de combustible disponibles (Kang et al., 2014), que se enumeran en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Mezclas comunes de etanol y gasolina

| <b>Código</b> | <b>Composición</b>                           | <b>Países</b>         | <b>Observaciones</b>              |
|---------------|--|-----------------------|-----------------------------------|
| <b>E5</b>     | Máx. 5 % etanol anhidro, mín, 95 % gasolina  | Europa Occidental     | Mezclas para vehículos normales   |
| <b>E10</b>    | Máx. 10 % etanol anhidro, mín, 90 % gasolina | USA, Europa           |                                   |
| <b>E15</b>    | Máx. 15 % etanol anhidro, mín, 85 % gasolina | USA, vehículos >2 000 |                                   |
| <b>E25</b>    | Máx. 25 % etanol anhidro, mín, 75 % gasolina | Brazil                |                                   |
| <b>E85</b>    | Máx. 85 % etanol anhidro, mín, 15 % gasolina | Usa, Europa           | Vehículos de combustible flexible |
| <b>E100</b>   | Etanol anhidro (~5.3 wt % agua)              | Brazil                |                                   |

**Fuente:** Kang et al. (2014)

**Elaborado por:** El Autor

Las materias primas del bioetanol pueden clasificarse en tres tipos: (i) materias primas que contienen sacarosa (por ejemplo, remolacha azucarera, sorgo dulce y caña de azúcar), (ii) materiales amiláceos (por ejemplo, trigo, maíz y cebada) y (iii) biomasa lignocelulósica (por ejemplo, madera, paja y hierbas) (Sánchez, 2010).

Los procesos de bioetanol de primera generación (bioetanol 1G) utilizan azúcares solubles o almidón. En 2014 había más de 200 plantas de bioetanol a base de almidón en funcionamiento en Estados Unidos, con una capacidad media de 260.000 m<sup>3</sup> de bioetanol producidos al año a partir de maíz y sorgo. Los combustibles generados a partir de estas materias primas se utilizan fácilmente en los motores de gasolina actuales (Dias et al., 2011).

Otro punto a tener en cuenta es que, las principales materias primas para los biocombustibles de primera generación son las fuentes de alimentación, lo que puede provocar cierta competencia. Sólo el 2 % de la tierra cultivable del mundo se utiliza para cultivar materia prima de biomasa para la producción de biocombustibles de primera generación, lo que puede contribuir al aumento de los precios de los productos básicos para la alimentación humana y animal. Sin embargo, el impacto directo o indirecto de

los biocombustibles en el aumento de los precios de los alimentos sigue sin ser concluyente (Bertrand et al., 2016).

La producción de bioetanol 1G en diferentes países productores y las principales materias primas utilizadas se describen en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Producción de etanol de primera generación

| <b>País</b>           | <b>Principales cultivos de azúcar y almidón como materia prima</b> | <b>Producción de etanol al año (mil millones de litros)</b> | <b>Costo (USD \$/L)</b> |
|-----------------------|--|---|-------------------------|
| <b>China</b>          | Melaza, sorgo dulce  | -   | 0.32, 0.29              |
| <b>Tailandia</b>      | Yuca   | 1.0   | 0.18                    |
| <b>Bélgica</b>        | Trigo  | 0.4   | -                       |
| <b>Unión Europea</b>  | Cereales y remolacha azucarera                                     | 4.5   | -                       |
| <b>Francia</b>        | Remolacha azucarera  | 1.0   | 0.6-0.68                |
| <b>España</b>         | Cebada, trigo  | 0.4   | -                       |
| <b>Suecia</b>         | Trigo  | -   | 0.4-0.45                |
| <b>Polonia</b>        | Centeno  | 0.2   | 0.55-0.65               |
| <b>Estados Unidos</b> | Maíz   | 50.3  | 0.25-0.40               |
| <b>Canadá</b>         | Trigo  | 1.8   | -                       |
| <b>Brasil</b>         | Caña de azúcar   | 25.5  | 0.16-0.22               |
| <b>Argentina</b>      | Caña de azúcar   | 0.5   | -                       |
| <b>Australia</b>      | Caña de azúcar   | 0.3   | -                       |

**Fuente:** Bertrand et al. (2016)

**Elaborado por:** El Autor

Según los aportes de Zabed et al. (2016) En el año 2016 los combustibles fósiles representaban el 80 % en la participación de la demanda global de energía, y de esta cifra alrededor del 60 % el consumo del sector transporte consumía este volumen, por lo que se evidencia una demanda en crecimiento de los combustibles, es allí donde la producción de biocombustibles juega un papel importante para complementar esta demanda.

Es por ello que la producción de bioetanol de segunda generación, aunque no produce los mismos volúmenes como el bioetanol 1G, podría representar una alternativa viable de producción. La disponibilidad de la materia prima, la 2G tiene un potencial gigantesco si se implanta a nivel mundial. Además, los expertos han pronosticado que la producción de segunda generación sustituirá a la de primera en un futuro próximo (Aditiya et al., 2016). Los biocombustibles de segunda generación son los fabricados a partir de cultivos no alimentarios, como la biomasa lignocelulósica y los biorresiduos (Rastogi y Shrivastava, 2017).

Las materias primas lignocelulósicas pueden proporcionar materias primas alternativas para la producción sostenible de bioetanol y otros productos bioquímicos con una amplia gama de beneficios económicos y ambientales. Según Melendez et al. (2022) los biocombustibles de segunda generación (2G) emplean biomasa lignocelulósica procedente de productos de descarte de los procesos de producción industrial y artesanal de alimentos de la agricultura, la pesca, los residuos municipales y otros. Esta materia prima también incluye cultivos no alimentarios, paja, hierba, serrín y astillas de madera, como residuos de operaciones de molienda de la caña de azúcar. La composición química de cada uno de estos compuestos orgánicos influirá en el potencial de producción de bioetanol. La biomasa lignocelulósica es una materia prima prometedora para la producción de biocombustibles, debido a su bajo costo, gran abundancia y sostenibilidad (Rocha et al., 2017).

Es por ello que la adopción de tecnología para la producción eficiente de biocombustibles 2G representa el punto de quiebre para alcanzar niveles de eficiencias en la producción, con equilibrio ecológico y sin causar impactos importantes en la seguridad alimentaria de los países productores de energía a base de materias lignocelulósicas. Países como los Estados Unidos han establecido planes para producir 60 000 millones de litros de biocombustible de segunda generación, es decir, alrededor del 20 % de su combustible líquido para el transporte, para el año 2022 (Melendez et al., 2021).

Estas políticas de biocombustibles han impulsado el desarrollo de los biocombustibles de segunda generación, principalmente en países latinoamericanos, como Colombia, Brasil y México, y otros países como los Estados Unidos, mantienen un liderazgo en la producción de bioetanol celulósico (Vallejos et al., 2017).

### 2.5.1 Propiedades físico y químicas del bioetanol.

De forma química se le conoce como etanol o alcohol etílico, posee la siguiente fórmula química:  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ . Se caracteriza por ser un líquido incoloro e inflamable, con sabor a quemado y olor agradable. Generalmente al mezclarse con agua en cualquier proporción da una mezcla azeotrópica (Cobeña, 2016). En la Tabla 5 se observa sus propiedades físicas y químicas.

**Tabla 5.** Propiedades físicas y químicas del bioetanol

| <b>Propiedades Físicas y Químicas del Bioetanol</b> |                          |
|---|--------------------------|
| Apariencia  | Líquido claro            |
| Olor  | Alcohol concentrado      |
| Gravedad específica (20 °C)                         | 0.78 g/cm <sup>3</sup> . |
| Punto de Ebullición, a 760 mm Hg (1atm)             | 78 °C                    |
| Densidad Relativa de vapor:                         | 1.6 (Aire = 1)           |
| Solubilidad en agua:                                | Miscible en agua         |
| pH a 10 g/l H <sub>2</sub> O (20°C)                 | 7.0                      |
| Flash point <sup>6</sup> :                          | 13 °C                    |
| Temperatura de auto ignición:                       | 363 °C                   |
| Límite inferior de inflamabilidad                   | 3.5 (% Vol. en aire)     |
| Límite superior de inflamabilidad                   | 19 (% Vol. en aire)      |
| Punto de Fusión                                     | -117 °C                  |
| Densidad relativa mezclas vapor/aire                | 1.03 (aire = 1, a 20 °C) |

**Fuente:** Cobeña (2016)

**Elaborado por:** El Autor

### 2.6 Conversión de biomasa en etanol

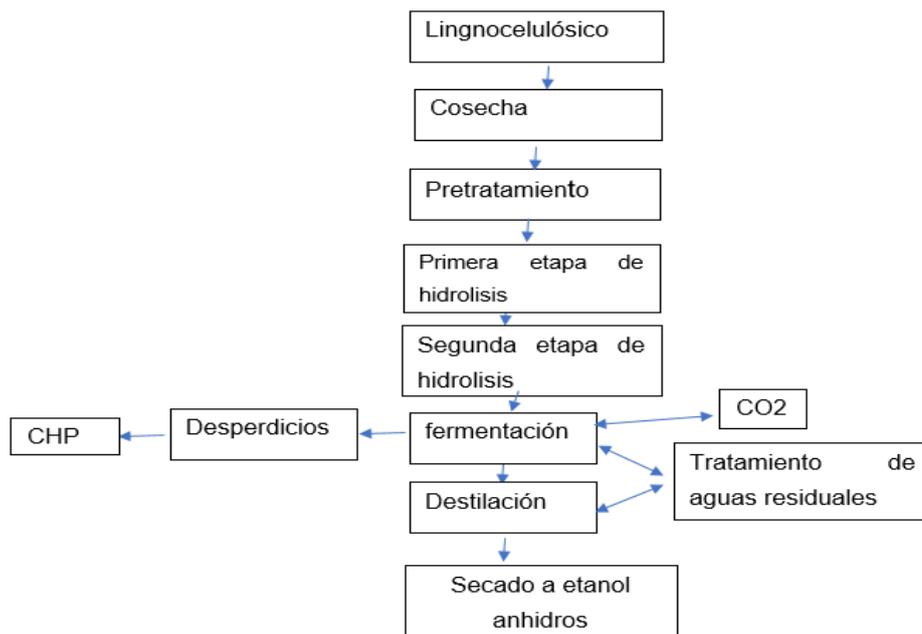
El proceso de bioconversión de biomasa a etanol consta de varios pasos, que incluyen el pretratamiento de la biomasa, la hidrólisis enzimática e hidrólisis ácida para la fermentación y la recuperación del producto. La combinación adecuada de cada paso es importante para lograr un mayor

rendimiento de bioetanol de una manera rentable y sostenible (Saini et al., 2014).

## 2.7 Generalidades

Las principales etapas se resumen en el Figura 1, que ofrece un diagrama de flujo de producción general.

**Figura 1** Producción de biomasa-etanol de segunda generación.



**Fuente:** Kang et al. (2014)

## 2.8 Materia prima

La biomasa lignocelulosa de residuos vegetales tiene un gran potencial para su uso en la producción de bioetanol, pero debido a su compleja estructura, requiere un pretratamiento para mejorar el rendimiento de azúcares reductores en el hidrolizado durante la hidrólisis enzimática a partir de celulosa y hemicelulosa (Robak y Balcerek, 2018).

## **2.9 Cosecha**

El bagazo de caña de azúcar es un desecho agro-industrial con escaso valor para aprovecharlo como combustible o como alimento animal, pero posee concentraciones adecuadas de celulosa y hemicelulosa, las mismas que son fuentes de carbohidratos simples importantes para producir alcoholes, ácidos orgánicos y proteína unicelular (Ferrer et al., 2002).

## **2.10 Pretratamiento**

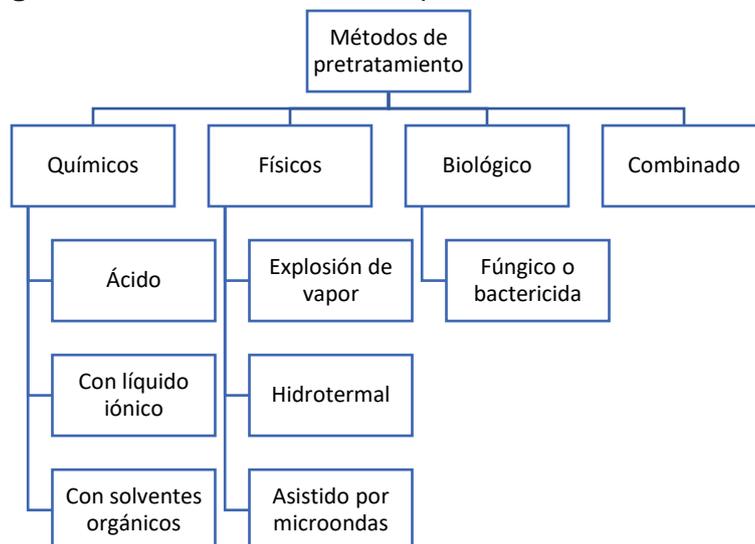
El pretratamiento es uno de los pasos más importantes en la conversión de la biomasa lignocelulósica en biocombustibles desde el punto de vista económico. Sin embargo, la naturaleza rebelde y la complicada estructura jerárquica de la biomasa lignocelulósica han hecho que el pretratamiento sea el paso más crítico durante la conversión de la biomasa en biocombustibles. Cabe destacar que la eficiencia del pretratamiento es una cuestión importante para obtener un mayor rendimiento de combustible. Ampliar la superficie de la biomasa, disolver la hemicelulosa y/o la lignina y reducir el tamaño de las partículas de la biomasa son los objetivos más importantes de la etapa de pretratamiento. Esto puede hacerse mediante la modificación química o física de la estructura de la biomasa lignocelulósica. Posteriormente, la hidrólisis de la celulosa mejora al aumentar la accesibilidad de los ácidos o enzimas a la superficie de la celulosa. Los pretratamientos físicos, químicos, biológicos y combinados son los métodos más utilizados en los estudios anteriores (Kruyeniski, 2018).

Se han desarrollado varias estrategias de pretratamiento para potenciar la reactividad de la celulosa y mejorar los azúcares fermentables resultantes. Los principales objetivos del pretratamiento son: (1) reducir la cristalinidad y el grado de polimerización de la celulosa, así como aumentar la porosidad de las lignocelulosas para mejorar el rendimiento de los azúcares durante la hidrólisis enzimática, (2) evitar la degradación de los azúcares (especialmente las pentosas), así como los derivados de la hemicelulosa, (3) minimizar la formación de productos inhibidores para los procesos de fermentación posteriores, (4) recuperar la lignina para convertirla en valiosos

coproductos, y (5) minimizar los insumos energéticos para que sea rentable y fácil de operar. La elección del proceso de pretratamiento varía según el tipo de materia prima debido a las diferencias en sus características físicas y composición química. La eliminación de los compuestos tóxicos (como los fenólicos, los furanos, los ácidos alifáticos y los compuestos inorgánicos) generados durante el proceso también se suma al coste del pretratamiento (Rastogi y Shrivastava, 2017).

Un esquema general respecto a los principales métodos de pretratamiento se muestra en el Figura 2.

**Figura 2.** Diferentes métodos de pretratamiento.



**Fuente:** Rezania et al. (2020)

**Elaborado por :** El Autor

### 2.11 Hidrólisis de primera etapa

El pretratamiento implica la deslignificación de la materia prima para hacer que la celulosa sea más accesible en la etapa de hidrólisis, mediante tratamiento físico, fisicoquímico, químico y biológico. El ácido carbónico y la extracción alcalina tienen el mejor rendimiento. Sin embargo, los métodos más comunes son la explosión de vapor y la prehidrólisis ácida diluida, seguidas de la hidrólisis enzimática. A menudo se añade ácido sulfúrico o dióxido de carbono para reducir la producción de inhibidores y mejorar la solubilidad de la hemicelulosa (Kang et al., 2014).

### **2.12 Hidrólisis de segunda etapa**

En la hidrólisis de la segunda etapa, la celulosa liberada de la biomasa se convierte en glucosa, que nuevamente es catalizada por ácido diluido, ácido concentrado o preferiblemente por enzimas celulosa, ya sea producidas en un reactor separado o compradas externamente a proveedores industriales (Kang et al., 2014).

### **2.13 Fermentación**

La biomasa es hidrolizada por enzimas celulíticas en azúcares fermentables (pentosas o hexosas), que son fermentados a bioetanol por varios microorganismos. Para que la producción de bioetanol sea comercialmente viable, un microorganismo ideal debería utilizar una amplia gama de sustratos, con alto rendimiento, título y productividad de bioetanol, y debería tener una alta tolerancia al bioetanol, la temperatura y los inhibidores presentes en el hidrolizado (Saini et al., 2014).

### **2.14 Destilación**

Para la destilación se somete a la materia prima fermentada a una temperatura establecida en los rangos de 80 °C a 85 °C, provocando así la evaporación y posterior destilación del bioetanol (Hernández et al., 2018).

### **2.15 Método por hidrólisis ácida del material lignocelulósico**

Se han desarrollado diversos tratamientos para hacer los materiales lignocelulósicos más aptos a la sacarificación, que incorporan los tratamientos físicos, químicos y enzimáticos. Como procedimiento físico, la molienda disminuye el índice de cristalinidad y el grado de polimerización de la celulosa, aunque permite acrecentar la superficie de contacto con reactivos y enzimas. De la misma manera, la molienda húmeda ayuda la hidrólisis enzimática de la celulosa (Ferrer et al., 2002).

## 2.16 Norma NTE INEN 2 478:2009

La norma **NTE INEN 2 478:2009** es aplicada para determinar el etanol anhidro grado carburante y etanol anhidro grado carburante desnaturalizado que se obtenga de procesos de fermentación utilizado en mezclas con combustibles líquidos (INEN, 2010).

En la Tabla 6 se presenta los requisitos del etanol anhidro grado carburante.

**Tabla 6.** Requisitos del etanol anhidro grado carburante.

| REQUISITOS              | UNIDAD            | Mínimo | Máximo | Método de ensayo |
|-------------------------|-------------------|--------|--------|------------------|
| etanol                  | %                 | 99.6   | --     | INEN 340         |
| Acidez total            | mg/100 mL         | --     | 3.0    | INEN 341         |
| Conductividad eléctrica | μS/m              | --     | 500    | ASTM D 1125      |
| Densidad a 20°C         | kg/m <sup>3</sup> | --     | 791.5  | ASTM D 4052      |
| cloruros                | mg/L              | --     | 32     | ASTM D 512*      |
| agua                    | %                 | --     | 0.3    | ASTM E 203       |
| cobre                   | mg/kg             | --     | 0.1    | ASTM D 1688**    |
| evaporación             | mg/ 100 mL        | --     | 5.0    | ASTM D 381       |

Fuente: INEN (2010)

Elaborado por: El Autor

### 3 MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 Ubicación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Química de la Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, coordenadas 2°10'59.81" S y 79°54'11.84" O, que se presenta en el Figura 3.

**Figura 3.** Ubicación del lugar de estudio.



Fuente: Google Maps (2022)

#### 3.2 Materiales, insumos, reactivos y equipos

##### 3.2.1 Materia prima.

- Material lignocelulósico de caña de azúcar
- Levadura.

##### 3.2.2 Reactivos.

- Peptona (15 g/L)
- Glucosa (10 g/L)
- Hidróxido de sodio (NaOH) (5 N)
- Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 3 %

### **3.2.3 Materiales y equipos.**

- Tamiz malla N°10
- Botellas pyrex
- Airlock
- Botella de vidrio grande
- Matraz Erlenmeyer
- Pipeta
- Mechero de Bunsen
- Destilador
- Balanza analítica
- Baño térmico
- Termómetro
- Incubadora
- Agitador
- Vasos de precipitación
- Balón de destilación
- Condensador
- Alcoholímetro

## **3.3 Diseño metodológico**

### **3.3.1 Modalidad de la investigación.**

El desarrollo de la metodología del proyecto se basó mediante un enfoque de investigación cuantitativo, con nivel exploratorio, y correlacional (Hernandez-Sampieri y Mendoza, 2018), sobre un diseño basado en la comparación del volumen y el grado alcohólico del producto principal, en este caso el bioetanol, por el método ácido con diferentes concentraciones de levadura, 2 % y 4 %. A partir de la comprobación de las hipótesis, se establecerá el método más eficiente.

### **3.3.2 Tipo de la investigación.**

En este documento se estableció una investigación experimental, con nivel de investigación exploratorio y descriptivo, observando que, para la producción de bioetanol a partir de material lignocelulósico, existen diversas

fuentes de información, en la cual se investigó para incluir en la metodología, para luego ser estudiadas estadísticamente y enfatizar el mejor tratamiento.

### **3.3.3 Investigación descriptiva.**

En La investigación descriptiva se pueden sugerir otros estudios, los mismos tienen un fin en sí mismos. Aunque es obvio que las mismas frecuentemente suelen servir de base para futuras investigaciones constituyendo un elemento generador de hipótesis (Tinto, 2013).

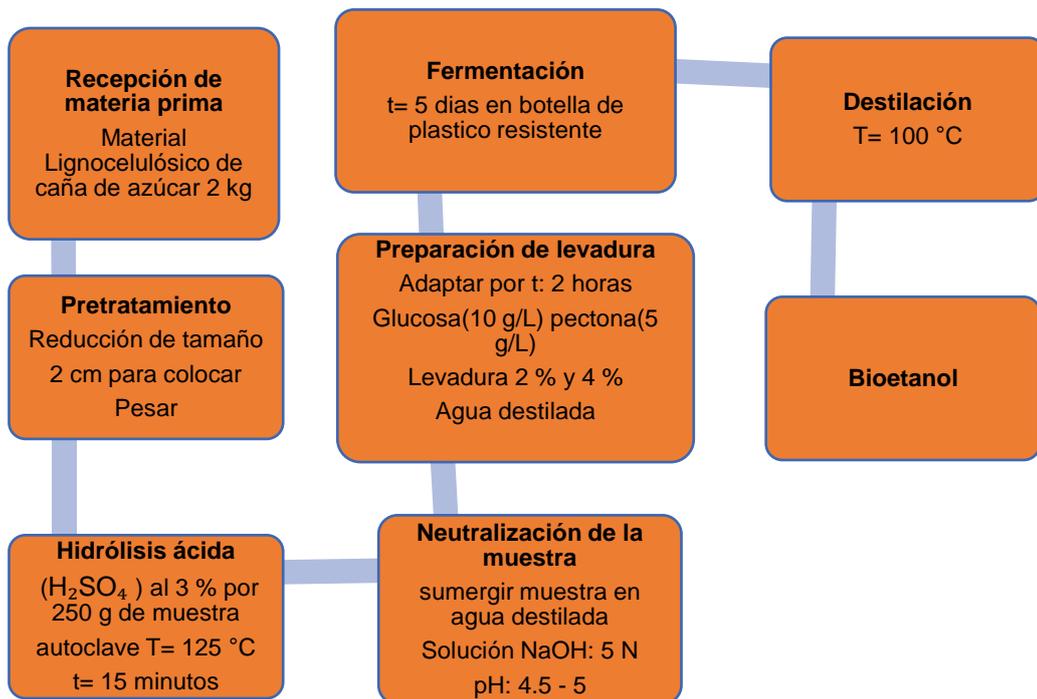
### **3.3.4 Materia prima utilizada.**

- Material lignocelulósico de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*).
- Levadura activa (*Saccharomyces cerevisiae*).

### **3.4 Procedimiento de extracción de bioetanol**

Para este procedimiento se aplicó las siguientes investigaciones para la extracción de bioetanol que se presenta en el Figura 4.

**Figura 4.** Diagrama de flujo para la extracción de bioetanol.



**Fuente:** Gámez (2022); Tejada *et al.* (2010); Vásquez (2019)

**Elaborado por:** El Autor

### 3.4.1 Descripción del proceso de extracción.

A continuación, se realiza la descripción de los procesos de pretratamiento, hidrólisis ácida y fermentación que se aplicaron para la materia prima (bagazo de caña de azúcar), lo cual se puede examinar en los Figuras 5, 5, 7 y 8.

#### 3.4.1.1 Recepción de la materia prima.

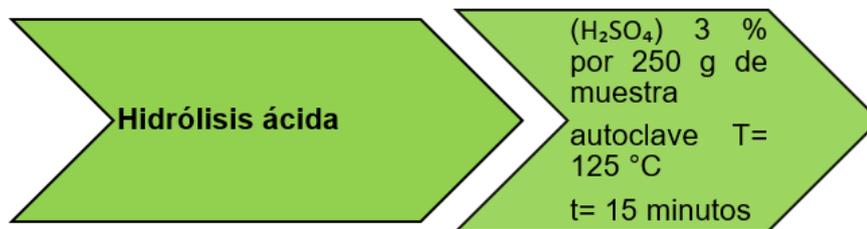
Para el acondicionamiento de la materia prima, se considerará el empleo teórico de 2 kg de bagazo de caña de azúcar, como gasto experimental.

**Figura 5.**Diagrama de flujo de recepción de materia prima.



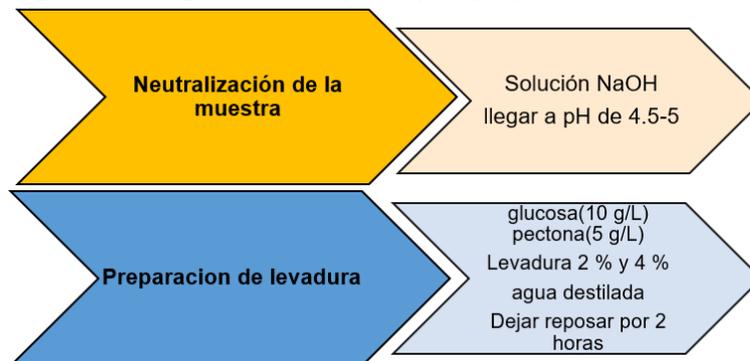
**Fuente:** Gámez (2022)  
**Elaborado por:** El Autor

**Figura 6.** Diagrama de flujo del proceso de hidrólisis ácida.



**Fuente:** Tejada et al. (2010)  
**Elaborado por:** El Autor

**Figura 7.** Diagrama de flujo de pH, preparación de levadura.



**Fuente:** Gámez (2022)  
**Elaborado por:** El Autor

**Figura 8.** Diagrama de flujo de fermentación y destilación.



**Fuente:** Vásquez (2019)

**Elaborado por:** El Autor

### 3.5 Diseño experimental del proceso de extracción

Para el diseño experimental de este trabajo de investigación se realizó el análisis de la prueba de la t de Student, porque permite medir diferentes números de repeticiones por tratamiento. Las unidades experimentales están conformadas por lignocelulósico de caña de azúcar (250 g) y concentraciones de *Saccharomyces cerevisiae* propuesta (2 % y 4 %) en un tiempo determinado de 5 días.

#### 3.5.1 Factores.

- **Factor A:** Lignocelulósico de caña de azúcar: 2 kg.
- **Factor B:** Concentraciones de *Saccharomyces cerevisiae*: 2 % y 4 %.
- **Repeticiones:** 4.
- **FA x FB<sub>2%</sub> x R<sub>1,2,3,4</sub>**
- **FA x FB<sub>4%</sub> x R<sub>1,2,3,4</sub>**

### 3.6 Tratamientos

En la Tabla 7, se referencia los tratamientos que se llevaron a cabo en el diseño experimental:

**Tabla 7.** Tratamientos del diseño experimental

| No. Tratamiento | Lignocelulósico de caña de azúcar |       |       |       | Concentraciones de lavadura |
|-----------------|-----------------------------------|-------|-------|-------|-----------------------------|
|                 | R1                                | R2    | R3    | R4    |                             |
| 1               | 250 g                             | 250 g | 250 g | 250 g | 2 %                         |
| 2               | 250 g                             | 250 g | 250 g | 250 g | 4 %                         |

Elaborado por: El Autor

### 3.6.1 Interacciones de tratamientos.

Para el desarrollo del ensayo se utilizó un diseño experimental completamente al azar con dos tratamientos y cuatro repeticiones. A continuación, en la Tabla 8 se presenta la combinación de los tratamientos realizados.

**Tabla 8.** Interacción de tratamientos

| Tratamientos | Repeticiones |       |       |       |
|--------------|--------------|-------|-------|-------|
|              | R1           | R2    | R3    | R4    |
| T1           | T1xR1        | T1xR2 | T1xR3 | T1xR4 |
| T2           | T2xR1        | T2xR2 | T2xR3 | T2xR4 |

Elaborado por: El Autor

### 3.6.2 Análisis estadístico.

El análisis estadístico de los datos se desarrolló mediante la prueba de la t de Student, para determinar si existen diferencias significativas en el producto resultante del bioetanol de 2G, considerando las diferentes concentraciones de lavadura que se aplicaron en cada tratamiento.

### 3.6.3 Hipótesis.

- $H_0 = \mu_1 = \mu_2$
- $H_A = \mu_1 \neq \mu_2$

$H_{o1}$  = El aumento de *Saccharomyces cerevisiae* no tiene efecto en la eficiencia volumétrica del bioetanol obtenido por el método de hidrólisis ácida aplicado al material lignocelulósico de la caña de azúcar.

**Ha<sub>1</sub>** = El aumento de *Saccharomyces cerevisiae* tiene efecto en la eficiencia volumétrica del bioetanol obtenido por el método de hidrólisis ácida aplicado al material lignocelulósico de la caña de azúcar.

**Ho<sub>2</sub>** = El aumento de *Saccharomyces cerevisiae* no tiene efecto en la eficiencia alcohólica del bioetanol obtenido por el método de hidrólisis ácida aplicado al material lignocelulósico de la caña de azúcar.

**Ha<sub>2</sub>** = El aumento de *Saccharomyces cerevisiae* tiene efecto en la eficiencia alcohólica del bioetanol obtenido por el método de hidrólisis ácida aplicado al material lignocelulósico de la caña de azúcar.

### **3.7 Etapas de operación**

A continuación se establece la descripción de las etapas de la operación total para la obtención del bioetanol a partir del material lignocelulósico de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*).

#### **3.7.1 Preparación de los sustratos.**

- Se colocaron en bandejas el bagazo de caña de azúcar.
- Se cortaron a 2 cm el bagazo de caña de azúcar.
- Luego se pesaron 250 gr de muestra por 8 repeticiones 2 kg total.

#### **3.7.2 Hidrólisis ácida.**

- La mezcla obtenida del sustrato se sometió al ácido sulfúrico diluido al 3 % es decir 15 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, la disolución está compuesta por 485 mL de agua destilada y 15 mL del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para cada 250 g de sustrato o materia prima previamente evaluada.
- Se ubicó el sustrato en la autoclave a una temperatura de 125 °C durante 15 minutos.
- Se enfrió la muestra hasta alcanzar la temperatura ambiente.

#### **3.7.3 Neutralización de la muestra.**

- Se dejó enfriar la muestra hasta llegar a una temperatura ambiente.
- Se colocó agua destilada hasta tapar cada muestra de sustrato.

- Se realizó la medición de grados brix.
- Se ajustó el pH a 4.5 – 5.0 con NaOH con 5 N.
- Al igual que se tomó muestras y se midió el pH en cada repetición.

#### **3.7.4 Preparación de levadura.**

- En la preparación de levadura se procedió a pesar: Glucosa (10 g/L), Peptona (5 g/L) y Levadura 2 %, 4 %.
- Se utilizó agua destilada para la preparación para cada repetición.
- Se mantuvo reposando la levadura a temperatura ambiente por 2 horas.

#### **3.7.5 Fermentación.**

- Se colocó la preparación de levadura con las concentraciones, 2 % y 4 % para las diferentes muestras de sustrato obtenido.
- Se ubicó los airlock en las botellas de plástico resistentes durante 5 días.
- Luego se separó la disolución de la levadura, una vez culminado el tiempo de fermentación.
- Se pasó por tamiz y se separó las impurezas del proceso.
- Se tomó muestras fermentadas, de cada repetición según los porcentajes de levadura descritos en el experimento.
- Luego se tomó la lectura del pH en cada muestra obtenida.
- Se verificó el volumen alcanzado en cada muestra obtenida.

#### **3.7.6 Destilación.**

- Se preparó la secuencia del proceso de destilación, considerando un proceso de destilación individual para cada repetición del experimento según el porcentaje de levadura.
- Se destiló la solución a 100 °C baño maría, verificando la temperatura mediante un termómetro de alcohol.
- Se dejó enfriar la solución obtenida a una temperatura de 28 °C.
- Se tomó la lectura del pH en cada muestra obtenida.

- Se midió el volumen alcanzado en cada muestra destilada por separado.
- Se determinó la cantidad de porcentaje de alcohol mediante un alcoholímetro.
- Se determinó la densidad del alcohol mediante un densímetro en cada muestra destilada por separado.

### 3.8 Análisis físico y químico

#### 3.8.1 Materia prima.

A continuación, en la Tabla 9 se presenta las especificaciones técnicas del bagazo de caña de azúcar

**Tabla 9.** Especificaciones técnicas del bagazo de caña de azúcar

| <b>Materia prima</b> | <b>Valores referenciales</b> |
|----------------------|------------------------------|
| °brix                | 15                           |
| Densidad             | 0.1656 g/cm <sup>3</sup>     |
| pH                   | 4.84                         |
| Acidez               | 15 mg/L                      |

**Fuente:** Cobeña (2016)

**Elaborado por:** El Autor

#### 3.8.2 Alcohol.

A continuación, en la Tabla 10 se presenta las especificaciones técnicas del bioetanol

**Tabla 10.** Especificaciones técnicas del bioetanol

| <b>Bioetanol</b> | <b>Valores referenciales</b> |
|------------------|------------------------------|
| °brix            | 12                           |
| Densidad         | 791.5 kg/m <sup>3</sup>      |
| pH               | 6.5                          |
| Acidez           | 30 mg/L                      |

**Fuente:** Cobeña (2016)

**Elaborado por:** El Autor

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Volumen de alcohol

La determinación del volumen de alcohol que se obtuvo mediante el proceso de destilación individual en cada repetición del experimento, se puede observar en la Tabla 11.

**Tabla 11.** Promedio de la eficiencia volumétrica

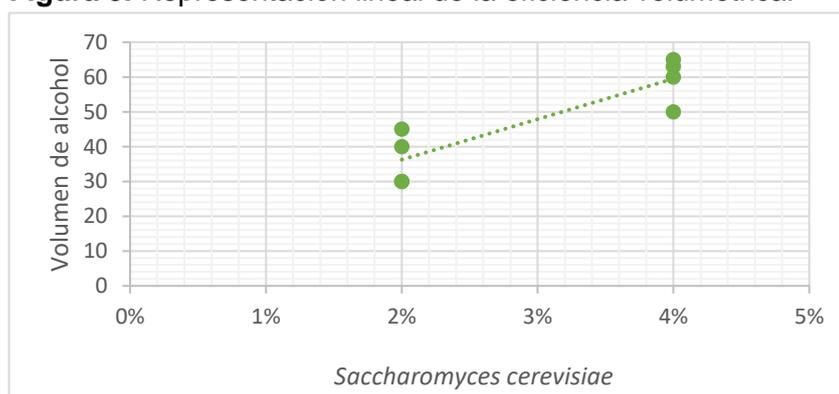
| <b><i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> | <b>R1<br/>mL</b> | <b>R2<br/>mL</b> | <b>R3<br/>mL</b> | <b>R4<br/>mL</b> | <b>Media <math>\mu</math><br/>mL</b> |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|--------------------------------------|
| <b>2 %</b>                             | 30               | 30               | 45               | 40               | 36.25                                |
| <b>4 %</b>                             | 65               | 60               | 63               | 50               | 59.5                                 |

**Elaborado por:** El Autor

En relación al promedio del volumen de alcohol obtenido (59.5 mL) con el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % se obtuvo una media superior sobre el promedio (36.25 mL) del tratamiento con *S. cerevisiae* al 2 %.

Respecto al volumen de alcohol obtenido mediante regresión lineal se demuestra que la distribución de los tratamientos con *S. cerevisiae* al 4 % fue mayor que los valores de los tratamientos con *S. cerevisiae* al 2 % como se puede observar en el Figura 9.

**Figura 9.** Representación lineal de la eficiencia volumétrica.



**Elaborado por:** El Autor

Mediante la aplicación de la t-Student al 0.05 % de probabilidad, se realizó la comparación de las medias obtenidas de las repeticiones para la determinación del volumen de alcohol.

**Tabla 12.** Promedio de análisis de t–Student medición volumétrica

| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Media<br>$\mu$ | Varianza | Grado de libertad | T     | p-valor | $\sigma$ |
|---------------------------------|----------------|----------|-------------------|-------|---------|----------|
| 2 %                             | 36.25 b        | 56.25    | 6                 | -4.64 | 0.0036  | 7.5      |
| 4 %                             | 59.50 a        | 44.33    | 6                 | -4.64 | 0.0036  | 6.65     |

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) t-Student

Elaborado por: El Autor

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

- $H_0 = \mu_1 = \mu_2$
- $H_A = \mu_1 \neq \mu_2$

Donde 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  $\leq 0.05$  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 12, el p-valor calculado fue  $\leq 0.05$ , por lo que se determina estadísticamente que sí existe diferencia significativa de eficiencia volumétrica entre los tratamientos.

#### 4.2 Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks

Se usa para contrastar la normalidad de un conjunto de datos. Si el valor p es menor que o igual al nivel de significancia, la decisión es rechazar la hipótesis nula y concluir que sus datos no siguen una distribución normal. Si el valor p es mayor que el nivel de significancia, la decisión es que no se puede rechazar la hipótesis nula. En este caso si se debe usar una prueba paramétrica, para comprobar la normalidad en la eficiencia volumétrica se utilizó la prueba de Shapiro-Wilks los datos que se obtuvieron los podemos observar en la Tabla 13.

**Tabla 13.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks

| <b>Variable</b> | <b>n</b> | <b>Media</b> | <b>D.E.</b> | <b>W*</b> | <b>p(UnilateralD)</b> |
|-----------------|----------|--------------|-------------|-----------|-----------------------|
| V1              | 4        | 36.25        | 7.50        | 0.83      | 0.1795                |
| V2              | 4        | 59.50        | 6.66        | 0.88      | 0.3598                |

**Elaborado por:** El Autor

### 4.3 Grados de alcohol

La determinación de los grados de alcohol se obtuvo del volumen adquirido de la destilación individual en cada repetición del experimento, el mismo que se puede observar en la siguiente Tabla 14:

**Tabla 14.** Promedio de la eficiencia alcohólica

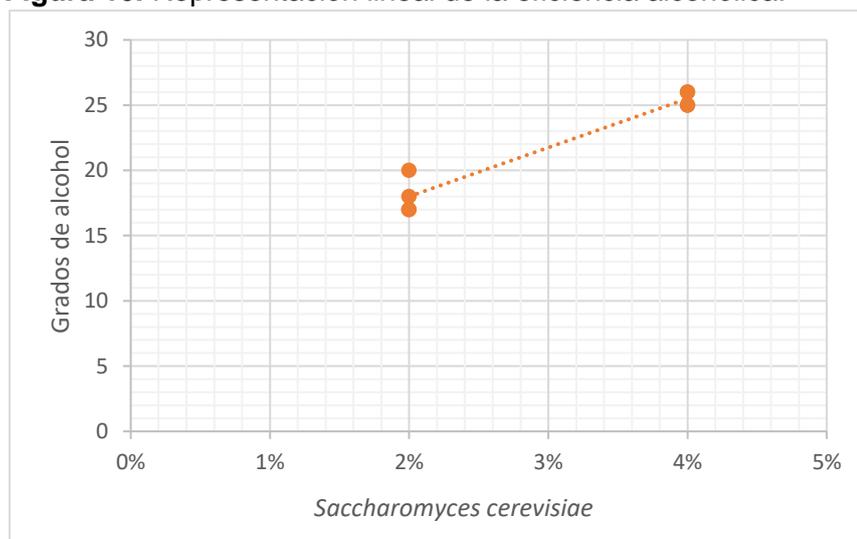
| <b><i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> | <b>R1</b> | <b>R2</b> | <b>R3</b> | <b>R4</b> | <b>Media <math>\mu</math></b> |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------------------------|
| <b>2 %</b>                             | <b>%</b>  | <b>%</b>  | <b>%</b>  | <b>%</b>  | <b>%</b>                      |
| 2 %                                    | 17        | 18        | 17        | 20        | 18                            |
| 4 %                                    | 26        | 25        | 25        | 26        | 25.5                          |

**Elaborado por:** El Autor

En referencia al promedio de grados de alcohol obtenido (25.5) con el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % registró la mejor media sobre el promedio (18) del tratamiento con *S. cerevisiae* al 2 %.

Mediante regresión lineal aplicada a los grados de alcohol se demuestra que la distribución de los tratamientos con *S. cerevisiae* al 4 % fue superior que los valores de los tratamientos con *S. cerevisiae* al 2 %, lo cual puede observarse en el Figura 10.

**Figura 10.** Representación lineal de la eficiencia alcohólica.



**Elaborado por:** El Autor

Mediante la aplicación de la t – Student al 0.05 % de probabilidad, se realizó la comparación de las medias obtenidas de las repeticiones para la determinación de los grados de alcohol.

**Tabla 15.** Promedio de análisis de t – Student eficiencia alcohólica

| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Media<br>$\mu$ | Varianza | Grado de libertad | T     | p-valor | $\sigma$ |
|---------------------------------|----------------|----------|-------------------|-------|---------|----------|
| 2 %                             | 18.00 b        | 2.00     | 6                 | -9.82 | 0.0001  | 1.41     |
| 4 %                             | 25.50 a        | 0.33     | 6                 | -9.82 | 0.0001  | 0.57     |

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) t-Student

**Elaborado por:** El Autor

De la misma manera, para determinar si los tratamientos tienen diferencias significativas se establecieron dos hipótesis:

- $H_0 = \mu_1 = \mu_2$
- $H_A = \mu_1 \neq \mu_2$

Donde si p-valor es  $> 0.05$  se acepta  $H_0$  (no hay diferencias entre los tratamientos con respecto a la eficiencia alcohólica) y, si el p-valor es  $\leq 0.05$  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 15, el p-valor calculado fue  $\leq 0.05$ , por lo que se determina estadísticamente que sí existieron diferencias significativas de eficiencia alcohólica entre los tratamientos.

#### 4.4 Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks

Para comprobar la normalidad en la eficiencia alcohólica se utilizó la prueba de Shapiro-Wilksy los datos que se obtuvieron los podemos observar en la Tabla 16.

**Tabla 16.** Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks

| Variable | n | Media | D.E  | W*   | p(UnilateralD) |
|----------|---|-------|------|------|----------------|
| A1       | 4 | 18.00 | 1.41 | 0.82 | 0.1574         |
| A2       | 4 | 25.50 | 0.58 | 0.70 | 0.0118         |

Elaborado por: El Autor

#### 4.5 Prueba de Kruskal Wallis

Bajo la evidencia de los datos de estos valores que son eficaces, esta prueba se realizó para la distribución de la normalidad como se muestra en la Tabla 17.

**Tabla 17.** Prueba de Kruskal Wallis

| Variable | TRAT | N | Medias | D.E. | Medianas | gl | C    | H    | P      |
|----------|------|---|--------|------|----------|----|------|------|--------|
| A        | T1   | 4 | 18.00  | 1.41 | 17.50    | 1  | 0.96 | 5.33 | 0.0286 |
| A        | T2   | 4 | 25.50  | 0.58 | 25.50    |    |      |      |        |

Elaborado por: El Autor

#### 4.6 Características físicas y químicas

A continuación, se muestran los análisis de pH que fueron realizados al volumen de alcohol que se obtuvo luego del proceso de destilación individual en cada repetición del experimento Tabla 18.

**Tabla 18.** Valores de pH del volumen de alcohol

| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | R1  | R2  | R3  | R4  | Media $\mu$ |
|---------------------------------|-----|-----|-----|-----|-------------|
| 2 %                             | 5   | 5.4 | 5.5 | 5.5 | 5.35        |
| 4 %                             | 4.1 | 4.5 | 4.5 | 4.6 | 4.43        |

Elaborado por: El Autor

El valor promedio de pH (5.35) con *Saccharomyces cerevisiae* al 2 % mostró una disminución en el valor de pH (4.43) con *S. cerevisiae* al 4 %.

Mediante la aplicación de la t–Student al 0.05 % de probabilidad, se realizó la comparación de las medias obtenidas de las repeticiones para la determinación del pH del volumen de alcohol en la siguiente Tabla 19.

**Tabla 19.** Promedio de análisis de t – Student medición de pH

| <b><i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> | <b>Media</b> | <b>Varianza</b> | <b>Grado de libertad</b> | <b>T</b> | <b>p-valor</b> | <b><math>\sigma</math></b> |
|--|--------------|-----------------|--------------------------|----------|----------------|----------------------------|
| <b>2 %</b>                             | 5.35 a       | 0.06            | 6                        | 5.69     | 0.0013         | 0.23                       |
| <b>4 %</b>                             | 4.43 b       | 0.05            | 6                        | 5.69     | 0.0013         | 0.22                       |

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) t-Student

Elaborado por: El Autor

En la Tabla 20 se reflejan los análisis de densidad que fueron realizados al volumen de alcohol que se obtuvo luego del proceso de destilación individual en cada repetición del experimento.

**Tabla 20.** Valores de densidad del volumen de alcohol

| <b><i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> | <b>R1<br/>mg/L</b> | <b>R2<br/>mg/L</b> | <b>R3<br/>mg/L</b> | <b>R4<br/>mg/L</b> | <b>Media <math>\mu</math><br/>mg/L</b> |
|--|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--|
| <b>2%</b>                              | 15                 | 17                 | 17                 | 18                 | 16.75                                  |
| <b>4%</b>                              | 35                 | 19                 | 32                 | 24                 | 27.50                                  |

Elaborado por: El Autor

El valor promedio de densidad (27.50 mg/L) con *S. cerevisiae* al 4 % mostró un aumento en relación al valor de densidad (16.75 mg/L) con *S. cerevisiae* al 2 %.

Mediante la aplicación de la t–Student al 0.05 % de probabilidad, se realizó la comparación de las medias obtenidas de las repeticiones para la determinación de la densidad del volumen de alcohol como podemos ver en la Tabla 21.

**Tabla 21.** Promedio de análisis de t–Student medición de densidad

| <b><i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> | <b>Media</b> | <b>Varianza</b> | <b>Grado de libertad</b> | <b>T</b> | <b>p-valor</b> | <b><math>\sigma</math></b> |
|--|--------------|-----------------|--------------------------|----------|----------------|----------------------------|
| <b>2 %</b>                             | 16.75        | 1.58            | 3                        | -2.89    | 0.0629         | 1.25                       |
| <b>4 %</b>                             | 27.50        | 53.67           | 3                        | -2.89    | 0.0629         | 7.32                       |

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) t-Student

Elaborado por: El Autor

Dentro del proceso de neutralización de la muestra en cada tratamiento se generó un consumo de NaOH: 5 N, para ajustar el pH a 5.0, los mismos que se muestran en la Tabla 22:

**Tabla 22.** Consumo de NaOH: 5 N para ajuste de pH

| <b><i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> | <b>R1<br/>mL</b> | <b>R2<br/>mL</b> | <b>R3<br/>mL</b> | <b>R4<br/>mL</b> | <b>Media <math>\mu</math><br/>mL</b> |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|--------------------------------------|
| <b>2 %</b>                             | 100              | 105              | 100              | 110              | 103.75                               |
| <b>4 %</b>                             | 110              | 100              | 95               | 100              | 101.25                               |

Elaborado por: El Autor

Se evidencia que existió un menor consumo promedio de NaOH: 5 N en el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % (101.25 mL) en relación al consumo promedio de NaOH: 5 N con *S. cerevisiae* al 2 % (103.75 mL).

Mediante la aplicación de la t–Student al 0.05 % de probabilidad, se realizó la comparación de las medias obtenidas de las repeticiones para la determinación del análisis del consumo de NaOH 5 N, lo cual se presenta en la Tabla 23.

**Tabla 23.** Promedio de análisis de t–Student consumo de NaOH:

| <b><i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> | <b>Media</b> | <b>Varianza</b> | <b>Grado de libertad</b> | <b>T</b> | <b>p-valor</b> | <b><math>\sigma</math></b> |
|--|--------------|-----------------|--------------------------|----------|----------------|----------------------------|
| <b>2 %</b>                             | 103.75       | 22.92           | 6                        | 0.63     | 0.5504         | 4.78                       |
| <b>4 %</b>                             | 101.25       | 39.58           | 6                        | 0.63     | 0.5504         | 6.29                       |

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) t-Student

Elaborado por: El Autor

En referencia a la acidez total presente en el bioetanol producido en el ensayo, se obtuvieron los siguientes valores que se presentan en la Tabla 24:

**Tabla 24.** Acidez total en el bioetanol

| <b><i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> | <b>R1</b>    | <b>R2</b>    | <b>R3</b>    | <b>R4</b>    | <b>Media <math>\mu</math></b> |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------------------------|
|  | <b>mg/mL</b> | <b>mg/mL</b> | <b>mg/mL</b> | <b>mg/mL</b> | <b>mg/mL</b>                  |
| <b>2 %</b>                             | 9.58         | 10.21        | 7.69         | 9.24         | 9.18                          |
| <b>4 %</b>                             | 11.78        | 12.35        | 10.50        | 13.12        | 11.94                         |

**Elaborado por:** El Autor

Se establece que se presentó mayor promedio de acidez total en el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % (11.94 mg/mL) en relación al promedio de acidez total con *S. cerevisiae* al 2 % (9.18 mg/mL).

Mediante la aplicación de la t–Student al 0.05 % de probabilidad, se realizó la comparación de las medias obtenidas de las repeticiones para la determinación de la acidez total en el bioetanol, como se observa en la Tabla 25.

**Tabla 25.** Promedio de análisis de t – Student acidez total

| <b><i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> | <b>Media</b> | <b>Varianza</b> | <b>Grado de libertad</b> | <b>T</b> | <b>p-valor</b> | <b><math>\sigma</math></b> |
|--|--------------|-----------------|--------------------------|----------|----------------|----------------------------|
| <b>2 %</b>                             | 9.18 b       | 1.15            | 6                        | -3.58    | 0.0116         | 1.07                       |
| <b>4 %</b>                             | 11.94 a      | 1.22            | 6                        | -3.58    | 0.0116         | 1.10                       |

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) t-Student

**Elaborado por:** El Autor

Los grados brix presentes en el bioetanol producido se muestran en la siguiente tabla 26:

**Tabla 26.** Grados brix en el bioetanol

| <b><i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> | <b>R1</b> | <b>R2</b> | <b>R3</b> | <b>R4</b> | <b>Media <math>\mu</math></b> |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------------------------|
| <b>2 %</b>                             | 6         | 7         | 5         | 7         | 6.25                          |
| <b>4 %</b>                             | 3         | 2         | 4         | 3         | 3                             |

**Elaborado por:** El Autor

El mayor promedio de grados brix en el bioetanol se presentó con el tratamiento con *S. cerevisiae* al 2 % (6.25) en relación al promedio de grados brix con *S. cerevisiae* al 4 % (3).

Mediante la aplicación de la t–Student al 0.05 % de probabilidad, se realizó la comparación de las medias obtenidas de las repeticiones para la determinación del °brix en el bioetanol, lo cual se evidencia en la Tabla 27.

**Tabla 27.** Promedio de análisis de t – Student °brix en el bioetanol

| <b><i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> | <b>Media</b> | <b>Varianza</b> | <b>Grado de libertad</b> | <b>T</b> | <b>p-valor</b> | <b><math>\sigma</math></b> |
|--|--------------|-----------------|--------------------------|----------|----------------|----------------------------|
| <b>2 %</b>                             | 6.25 a       | 0.92            | 6                        | 5.17     | 0.0021         | 0.95                       |
| <b>4 %</b>                             | 3.00 b       | 0.67            | 6                        | 5.17     | 0.0021         | 0.81                       |

**Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) t-Student**

**Elaborado por:** El Autor

## 5 DISCUSIÓN

Basado en los resultados obtenidos en la presente investigación se puede indicar que el uso de concentraciones de 4 % de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) tiene una eficiencia volumétrica y alcohólica con el método de extracción ácida para la producción de bioetanol en el material lignocelulósico de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), como lo cual es corroborado por Osotos, (2019) lo cual registra que la producción de bioetanol a partir del material lignocelulósica proviene principalmente de los residuos agrícolas de la caña de azúcar.

El análisis realizado mostró que todos los factores evaluados y sus respectivas interacciones de la concentración de levadura tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la producción de bioetanol, en la cual el promedio del volumen de alcohol obtenido 59.5 mL con el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % fue superior sobre el promedio 36.25 mL del tratamiento con *S. cerevisiae* al 2 %, lo cual es corroborado por Suarez (2016), señala que la producción de bioetanol utilizando la levadura *S. cerevisiae*, registra valores de 50.5 g/L a las 24 h, con un inicio de 100 g/L teniendo un rendimiento del 97.2 %, bajo condiciones de fermentación, lo cual ha permitido conocer el tiempo en el que se consume el sustrato, así como la producción de bioetanol.

En el presente estudio se pudo demostrar que en base al material lignocelulósico de la caña de azúcar se obtuvo un bioetanol de segunda generación, que puede ser utilizado como un reemplazo a futuro del bioetanol de primera generación, lo cual es asertivo con Aditiya et al. (2016), que indica la disponibilidad de la materia prima, de la 2G tiene un potencial gigantesco si se implanta a nivel mundial. Además, los expertos han pronosticado que la producción de segunda generación sustituirá a la de primera en un futuro próximo.

Se encontró que una concentración de sacarosa al 4 % hace mucho más eficiente el contenido de grados de alcohol 25.5 en el volumen de

bioetanol obtenido a partir del bagazo de caña de azúcar, aumenta los grados de alcohol en la producción de bioetanol, debido a la tolerancia de este tipo de levadura a diferentes niveles de alcohol lo que hace producir más alcohol con mayor grado alcohólico.

Para poder establecer el pH en un valor adecuado se registró un bajo consumo promedio de NaOH: 5 N en el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % 101.25 mL respecto al consumo promedio de NaOH: 5 N con *S. cerevisiae* al 2 % 103.75 mL, lo cual se atribuye a la concentración alta de levadura mitigando el consumo de NaOH: 5 N para ajustar el pH.

Se evidencio que los valores de pH 4.43 con una concentración de *S. cerevisiae* al 4 % disminuyeron en relación al valor de pH 5.35 con *S. cerevisiae* al 2 %.

Se detectó un promedio alto de acidez total en el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % 11.94 mg/mL en relación al promedio de acidez total con *S. cerevisiae* al 2 % 9.18 mg/mL, debido a los ácidos orgánicos presentes en el bagazo de la caña de azúcar, siendo estos los que generan mayor proporción de acidez titulable del bioetanol (Quezada, 2022).

Se observó un aumento significativo en la densidad 27.50 mg/L con *S. cerevisiae* al 4 % en relación al valor de densidad 16.75 mg/L con *S. cerevisiae* al 2 %, en la cual Martínez et al. (2014) hace referencia que la densidad del bioetanol aumenta durante el proceso de fermentación debido a altas concentraciones de levadura.

## 6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1 Conclusiones

El promedio del volumen de alcohol obtenido 59.5 mL con el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % fue estadísticamente superior sobre el promedio 36.25 mL del tratamiento con *S. cerevisiae* al 2 %.

El volumen de alcohol obtenido mediante regresión lineal demuestra que la distribución de los tratamientos con *S. cerevisiae* al 4 % es mayor que los valores de los tratamientos con *S. cerevisiae* al 2 %

En referencia al promedio de grados de alcohol obtenido (25.5) con el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % fue estadísticamente superior sobre el promedio 18° del tratamiento con *S. cerevisiae* al 2 %.

Mediante regresión lineal aplicada a los grados de alcohol se demostró que la distribución de los tratamientos con *Saccharomyces cerevisiae* al 4 % fue superior que los valores de los tratamientos con *Saccharomyces cerevisiae* al 2 %.

Analizando los promedios de las variables volumen y grados de alcohol se puede concluir que el componente con mayor porcentaje *Saccharomyces cerevisiae* permite una mayor producción de bioetanol en el bagazo de caña de azúcar con el método de extracción ácida.

El valor promedio de pH 5.35 con *S. cerevisiae* al 2 % mostro una disminución en el valor de pH 4.43 con *S. cerevisiae* al 4%.

El valor promedio de densidad 27.50 mg/L con *S. cerevisiae* al 4 % presentó un aumento en relación al valor de densidad 16.75 mg/L con *S. cerevisiae* al 2 %.

Existió un menor consumo promedio de NaOH: 5 N en el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % 101.25 mL en relación al consumo promedio de NaOH: 5 N con *S. cerevisiae* al 2 % 103.75 mL.

Se presentó mayor promedio de acidez total en el tratamiento con *S. cerevisiae* al 4 % 11.94 mg/mL en relación al promedio de acidez total con *S. cerevisiae* al 2 % 9.18 mg/mL.

En el tratamiento con *S. cerevisiae* al 2 % 6.25 se registra el mayor promedio de grados brix en relación al promedio obtenido con *S. cerevisiae* al 4 % (3).

## **6.2 Recomendaciones**

Para el proceso de fermentación se debería aplicar concentraciones altas de levadura para aumentar la producción del volumen y grados de alcohol.

Se debería realizar más investigaciones acerca de otro tipo de desechos lignocelulósicos para la producción de bioetanol con el método de extracción ácida.

Se establece como recomendación realizar un estudio más detallado sobre la hidrólisis ácida, para mejorar la temperatura la cual permita el rompimiento de la estructura celular; principalmente de la celulosa, que es la que aporta más azúcares fermentables y buscar un microorganismo más enérgico para que fomente una mayor fermentación de los múltiples azúcares que se producen por la hidrólisis ácida del bagazo de caña de azúcar.

Se recomienda realizar un estudio más detallado sobre el pH, °brix, densidad, acidez de la fermentación en función a la concentración de levadura que se utilice.

## 7 REFERENCIAS

- Abril, A. y Navarro, E. (2012). Etanol a partir de biomasa lignocelulósica. *Aleta*.
- Aditya, H., Mahlia, T., Chong, W., Nur, H., y Sebayang, A. (2016). Second generation bioethanol production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 66, 631-653. doi: 10.1016/j.rser.2016.07.015
- Bajpai, P. (2016). Structure of Lignocellulosic Biomass. En *Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production*, 7-12. doi:10.1007/978-981-10-0687-6\_2
- Bertrand, E., Vandenberghe, L., Sccol, C., Sigoillot, J. y Faulds, C. (2016). First Generation Bioethanol. *Green Energy and Technology*, 175–212. doi:10.1007/978-981-15-3761-5\_7
- Cardoso, C., Butterbach, K., Mauder, M. y Kiese, R. (2011). Bioethanol production from sugarcane and emissions of greenhouse gases – known and unknowns. *GCB Bioenergy*, 277-292. doi.org/10.1111/j.1757-1707.2011.01095.x
- Cobeña, J. (2016). Caracterización físico-química del jugo de cinco variedades de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en la hacienda el jardín (Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Ecuador). <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/264/1/TAI105.pdf>
- Dias, M., Pereira, M., Maciel, R., Bonomi, A., Jesus, C. y Rossell, C. (2011). Simulation of integrated first and second generation bioethanol production from sugarcane: comparison between different biomass

- pretreatment methods. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 38(8), 955-966. doi: 10.1007/s10295-010-0867-6
- Ferrer, J., Páez, G., Arenas de Moreno, L., Chandler, C., Mármol, Z. y Sandoval, L. (2002). Cinética de la hidrólisis ácida de bagacillo de caña de azúcar. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 19, 23-33. doi: 10.1016/j.rser.2013.06.034
- Ferrer, J., Páez, G., Arenas de Moreno, L., Chandler, C., Mármol, Z. y Sandoval, L. (2002). Cinética de la hidrólisis ácida de bagacillo de caña de azúcar. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 19 (1), 55-69. doi: 10.1007/s10295-010-0867-6
- Gámez, C.(2022). *bdigital.zamorano.edu*. Obtenido de [https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/e2060d89-  
ea73-4818-9902-9fe3fa0ccff1/content](https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/e2060d89-<br/>ea73-4818-9902-9fe3fa0ccff1/content)
- Haghighi Mood, S., Hossein Golfeshan, A., Tabatabaei, M., Salehi Jouzani, G., Hassan Najaf, G., Gholam, M. y Ardjmand, M. (2013). Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 77-93. doi: 10.1016/j.rser.2013.06.033
- Hernández, P., Mafla, C., Benavides, I. y Ramires, F. (2018). Análisis de factibilidad técnica para la producción de bioetanol a partir de residuos de maíz en Ecuador. *INNOVA Research Journal*, 36-52. doi.org/10.33890/innova.v3.n7.2018.578
- Hernandez-Sampieri, R., y Mendoza Torres, C. P. (2018). Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. Mc Graw Hill.

[http://www.biblioteca.cij.gob.mx/Archivos/Materiales\\_de\\_consulta/Drogas\\_de\\_Abuso/Articulos/SampieriLasRutas.pdf](http://www.biblioteca.cij.gob.mx/Archivos/Materiales_de_consulta/Drogas_de_Abuso/Articulos/SampieriLasRutas.pdf)

Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). (2010). Etanol Anhidro. Requisitos, Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 478:2009 (Archivo PDF). <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2478.pdf>

Kang, Q., Appels, L., Tan, T. y Dewil, R. (2014). Bioethanol from Lignocellulosic Biomass: Current Findings Determine Research Priorities. *Hindawi*, 13. doi:10.1155/2014/298153

Khatab, S. y Watanabe, T. (2019). Bioethanol From Sugarcane Bagasse: Status and Perspectives. *Bioethanol Production from Food Crops*, 187-212. doi:10.1016/B978-0-12-813766-6.00010-2

Kruyeniski, J. (2018). *Influencia del pretratamiento de residuos forestoindustriales sobre la producción de bioetanol* (Tesis Ph. D., Universidad Nacional de Misiones, Posadas). [https://rid.unam.edu.ar/bitstream/handle/20.500.12219/2388/KRUYENISKI%20Julia\\_2017\\_%20Influencia%20del%20pretratamiento%20de%20residuos%20forestoindustriales....pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://rid.unam.edu.ar/bitstream/handle/20.500.12219/2388/KRUYENISKI%20Julia_2017_%20Influencia%20del%20pretratamiento%20de%20residuos%20forestoindustriales....pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Melendez, Jesus R., Bence Mátyás, Sufia Hena, Daniel A. Lowy. y Ahmed El Salous. (2022). Perspectives in the Production of Bioethanol: A Review of Sustainable Methods, Technologies, and Bioprocesses. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 160, 112-260. doi: 10.1016/j.rser.2022.112260.

Melendez, J. R., Velasquez-Rivera, J., El Salous, A., & Peñalver, A. (2021). Gestión para la Producción de biocombustibles 2G: revisión del

escenario tecnológico y económico. *Revista Venezolana De Gerencia*, 26(93), 78-91. <https://doi.org/10.52080/rvg93.07>.

Martínez, P., Rodríguez, I., Pérez, G. y Mas, L. (2014). Caracterización y evaluación del bagazo de caña de azúcar como biosorbente de hidrocarburos. *Afinidad* LXXI, 565, 1-6. [doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.225](https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.225)Get rights and content

Mood, S., Golfeshan, A., Tabatabaei, M., Jouzani, G., Najaf, G., Gholami, M. y Ardjmand, M. (2013). Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 77-93. doi: 10.1016/j.rser.2013.06.033

Nguyen, Q., Yang, J. y Bae, H.-J. (2016). Bioethanol production from individual and mixed agricultural biomass residues. *Industrial Crops and Products*, 18, 718-725. doi: 10.17113/ftb.56.03.18.5546

Nieto, E. (2018). *Core* (Archivo PDF).

<https://core.ac.uk/download/pdf/250080756.pdf>

Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (OCDE/FAO). (2017). "Biocombustibles", en OCDE-FAO *Perspectivas Agrícolas 2017-2026*, OECD, Publishing, París. doi: [http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2017-13-es](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2017-13-es)

Osotos, F. (2019). *Mejora de trigo y triticale para la producción de bioetanol lignocelulósico usando herramientas clásicas y moleculares* (Tesis Ph. D., UCOPress, Cordova).

<https://core.ac.uk/download/pdf/222767743.pdf>

- Portero. (2020). *Etanol celulósico: desarrollado de una tecnología óptima para la producción semi-continua* (Tesis de grado, Universidad de Valladolid, Valladolid. <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/39472?locale-attribute=es>
- Quezada, J. (2022). Estudio de las características de las diferentes variedades de caña de azúcar (ECU-01); EC-06; EC-08) considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol (Tesis de grado, Universidad de las Fuerzas Armadas, Ecuador. <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/28876/1/T-ESPESD-003185.pdf>
- Rastogi, M. y Shrivastava, S. (2017). Recent advances in second generation bioethanol production: An insight to pretreatment, saccharification and fermentation processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 80, 330-340. doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.225 Get rights and content
- Recalde. (2010). *Elaboración de una bebida alcohólica de Jicama (Smallanthus sonchifolius) y manzana (Pyrus malus L.)* (Tesis de grado, Escuela Politécnica Nacional, Quito). <https://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/2465>
- Rezania, S., Oryani, B., Cho, J., Talaiekhosani, A., Sabbagh, F., Hashemi, B., . . . Mohammadi, A. (2020). Different pretreatment technologies of lignocellulosic biomass for bioethanol production: An overview. *Energy* 199, 375-387. doi.org/10.1016/j.energy.2020.117457
- Robak, K. y Balcerek, M. (2018). *ncbi* (Archivo PDF). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6117988/>

- Rocha, L., Raud, M., Orupöld, K. y Kikas, T. (2017). Second-generation bioethanol production: A review of strategies for waste valorisation. *Agronomy Research*, 15 (3), 830-847. doi.org/10.3390/su12010272
- Saini , R., Jitendra, K., y Tewari , L. (2014). Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments. *Agronomy Research*, 5(4), 337-353. doi: 10.1007/s13205-014-0246-5
- Saini, J. K., Saini, R. y Tewari, L. (2014). Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments. *Biotech*, 337-353. doi.org/10.15446/rfnam.v73n3.85316
- Salehi, R., Taghizadeh-Alisaraei, A., Jahanbakhshi, A. y Shahidi, F. (2018). Evaluation and measurement of bioethanol extraction from melon waste (Qassari cultivar). *AgricEngInt: CIGR Journal*, 127-131. doi.org/10.51260/revista\_espamciencia.v11i2.193
- Sánchez, A. (2010). Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*.
- Suarez, Garrido, y Guevara. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *ICIDCA*, 50(1), 10. doi.org/10.51260/revista\_espamciencia.v11i2.193
- Tejada, L., Candelaria , A., Alvear , M., Castillo , C., Henao, D., Marimón, W. y Tarón, A. (2010). Producción de bioetanol a partir de la fermentación alcohólica de jarabes glucosados derivados de la cáscaras de naranja y piña. *Educación en Ingeniería*, 3-4. doi.org/10.26507/rei.v5n10.104

- Tinto, J. A. (2013). El análisis de contenido como herramienta de utilidad para la realización de una investigación descriptiva. Un ejemplo de aplicación práctica utilizado para conocer las investigaciones realizadas sobre la imagen de marca de España y el efecto país de orig. *Provincia*, 29, 135-173. doi.org/10.15359/ree.26-1.10
- Vallejos, M., Kruyeniski, J., y Area, M. (2017). Second-generation bioethanol from industrial wood waste of South American species. *Biofuel Research Journal*, 654-667. doi: 10.18331/BRJ2017.4.3.4
- Vásquez, S. (2019). Trabajo de titulacion. *Obtención de bioetanol a partir de biomasa lignocelulosica presente en la cascarilla del arroz para ser utilizados en equipos motorizados* (Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana SEDE Cuenca, Ecuador). <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17633/4/UPS-CT008382.pdf>
- Verardi, A., Blasi, A., De Bari, I. y Calabrò, V. (2016). Steam pretreatment of *Saccharum officinarum* L. bagasse by adding of impregnating agents for advanced bioethanol production. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 293-300. doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.07.034
- Zabed, H., J. N. Sahu, A. N. Boyce, and G. Faruq. (2016). Fuel Ethanol Production from Lignocellulosic Biomass: An Overview on Feedstocks and Technological Approaches. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 66:751–74. doi: 10.1016/j.rser.2016.08.038.
- Zhao, X.Q., Zi, L.H. Bai, F.W., Lin, H.L., Hao, X.M., Yue, G.J., y Ho, N. (2012). Bioethanol from Lignocellulosic Biomass. *Adv Biochem Engin/Biotechnol*, 25-51. doi: 10.1007/10\_2011\_129

## 8 ANEXOS

### *Anexo 1. Lugar de recolección de caña de azúcar*



### *Anexo 2. Selección de tallos de caña de azúcar*



**Anexo 3. Obtención de bagazo de caña de azúcar**



**Anexo 4. Recepción de materia prima del bagazo de caña de azúcar**



### Anexo 5. Reducción de tamaño



### Anexo 6.Reducción de tamaño a 2 cm del bagazo de caña de azúcar



**Anexo 7.** Pesado del bagazo de caña de azúcar en balanza analítica



**Anexo 8.** Muestras de 250 gr con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3 % en autoclave T=125 °C por 15 minutos



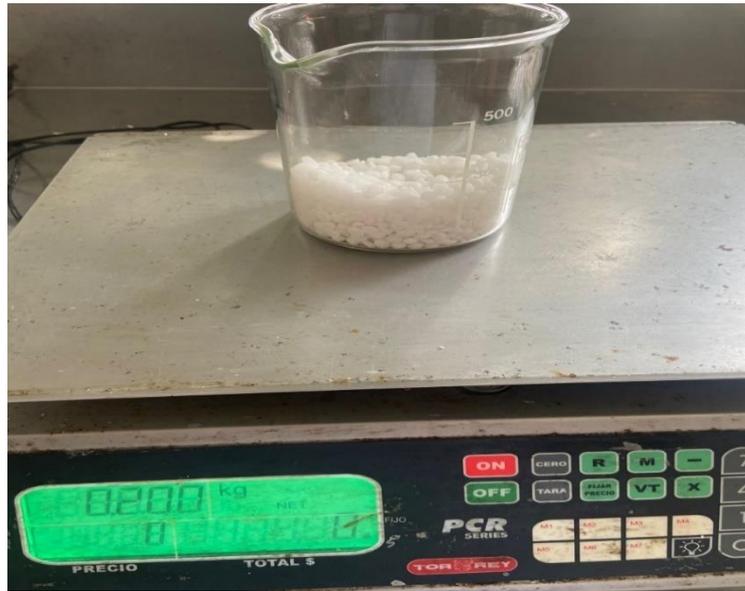
**Anexo 9.** Muestras con hidrólisis ácida en botellas de plástico con levadura al 2 % y 4 % fermentado por 5 días



**Anexo 10.** Neutralización de la muestra con NaOH= 5 N



**Anexo 11.**Preparación y reposo de 2 horas de lavadura con glucosa y peptona



**Anexo 12.** Solución extraída para el proceso de destilación



### Anexo 13. Medición del pH en la solución extraída



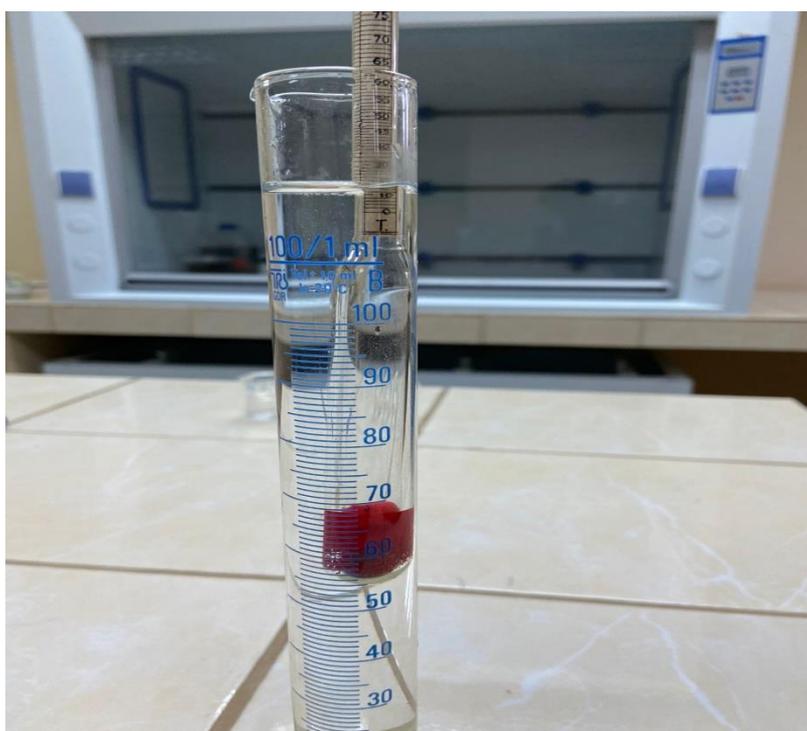
### Anexo 14. Proceso de destilación



**Anexo 15.** Volumen de alcohol adquirido del proceso de destilación



**Anexo 16.** Medición de los grados de alcohol



## Anexo 17. Medición de la densidad



## Anexo 18. Promedio de análisis de T – Student medición volumétrica

### Prueba T para muestras Independientes

Variable:V - Clasific:TRAT - prueba:Bilateral

|                      | Grupo 1 Grupo 2 |       |
|----------------------|-----------------|-------|
|                      | T1              | T2    |
| n                    | 4               | 4     |
| Media                | 36,25           | 59,50 |
| Varianza             | 56,25           | 44,33 |
| Media (1) -Media (2) | -23,25          |       |
| LI (95)              | -35,52          |       |
| LS (95)              | -10,98          |       |
| pHomVar              | 0,8495          |       |
| T                    | -4,64           |       |
| gl                   | 6               |       |
| p-valor              | 0,0036          |       |

**Anexo 19.** Estadística de la normalidad shapiro-wilks medición volumétrica

**Shapiro-Wilks (modificado)**

| Variable | n | Media | D.E. | W*   | p(Unilateral D) |
|----------|---|-------|------|------|-----------------|
| V1       | 4 | 36,25 | 7,50 | 0,83 | 0,1795          |
| V2       | 4 | 59,50 | 6,66 | 0,88 | 0,3598          |

**Anexo 20.** Promedio de análisis de T – Student eficiencia alcohólica

Variable:A - Clasific:TRAT - prueba:Bilateral

|                      | Grupo 1 | Grupo 2 |
|----------------------|---------|---------|
|                      | T1      | T2      |
| n                    | 4       | 4       |
| Media                | 18,00   | 25,50   |
| Varianza             | 2,00    | 0,33    |
| Media (1) -Media (2) | -7,50   |         |
| LI (95)              | -9,37   |         |
| LS (95)              | -5,63   |         |
| pHomVar              | 0,1753  |         |
| T                    | -9,82   |         |
| gl                   | 6       |         |
| p-valor              | 0,0001  |         |

**Anexo 21.** Estadística de la normalidad shapiro-wilks eficiencia alcohólica

**Shapiro-Wilks (modificado)**

| Variable | n | Media | D.E. | W*   | p(Unilateral D) |
|----------|---|-------|------|------|-----------------|
| A1       | 4 | 18,00 | 1,41 | 0,82 | 0,1574          |
| A2       | 4 | 25,50 | 0,58 | 0,70 | 0,0118          |

**Anexo 22.** Estadística de la prueba de Kruskal-Wallis eficiencia alcohólica.

**Prueba de Kruskal Wallis**

| Variable | TRAT | N | Medias | D.E. | Medianas | gl | C    | H    | p      |
|----------|------|---|--------|------|----------|----|------|------|--------|
| A        | T1   | 4 | 18,00  | 1,41 | 17,50    | 1  | 0,96 | 5,33 | 0,0286 |
| A        | T2   | 4 | 25,50  | 0,58 | 25,50    |    |      |      |        |



## **DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN**

Yo, **Pérez Chang Jackson Steven** con C.C: # 1207259068 autor del **Trabajo de Titulación: Estudio de la eficiencia volumétrica y alcohólica con el método de extracción ácida para la producción bioetanol del material lignocelulósico de la caña de azúcar (*saccharum officinarum*)** 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, **20 de septiembre de 2022**

f. \_\_\_\_\_

**Pérez Chang Jackson Steven**

**C.C: 1207259068**



## REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

### FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN

|  |   |                                     |    |
|--|---|-------------------------------------|----|
| <b>TEMA Y SUBTEMA:</b>   | Estudio de la eficiencia volumétrica y alcohólica con el método de extracción ácida para la producción bioetanol del material lignocelulósico de la caña de azúcar ( <i>saccharum officinarum</i> )   |                                     |    |
| <b>AUTOR(ES)</b>   | Pérez Chang Jackson Steveen   |                                     |    |
| <b>REVISOR(ES)/TUTOR(ES)</b>                                       | Ing. Jesús Ramón Meléndez Rangel, Ph.D.   |                                     |    |
| <b>INSTITUCIÓN:</b>  | Universidad Católica de Santiago de Guayaquil   |                                     |    |
| <b>FACULTAD:</b>   | Facultad De Educación Técnica para el desarrollo  |                                     |    |
| <b>CARRERA:</b>  | Ingeniería agroindustrial   |                                     |    |
| <b>TÍTULO OBTENIDO:</b>  | Ingeniero Agroindustrial con mención en Agronegocios  |                                     |    |
| <b>FECHA DE PUBLICACIÓN:</b>                                       | 20 de septiembre de 2022  | <b>No. DE PÁGINAS:</b>              | 63 |
| <b>ÁREAS TEMÁTICAS:</b>  | Industria alcohólica, Bioetanol segunda generación, Biomasa   |                                     |    |
| <b>PALABRAS CLAVES/<br/>KEYWORDS:</b>                              | Bioetanol, caña de azúcar, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , eficiencia volumétrica, eficiencia alcohólica, extracción ácida.   |                                     |    |
| <b>RESUMEN/ABSTRACT:</b>   | <p>El bioetanol líquidos o gaseosos se produce a partir de fracciones de productos biodegradables, residuos forestales, y de desechos. El objetivo de este trabajo es establecer un estudio de la eficiencia volumétrica y alcohólica con el método de extracción ácida para la producción de bioetanol en el material lignocelulósico de la caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i>). La investigación será de tipo experimental, con nivel exploratorio, descriptiva, y correlacional. Los factores por estudiar son A, material lignocelulósico (bagazo de caña de azúcar) y B, concentraciones de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (2 % y 4 %). Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) AxB lo que da un resultado de 2 tratamientos y 4 repeticiones para cada evaluación en volumen y alcohol, para un 8 factorial por evaluación. El análisis estadístico de los datos que se efectuaron mediante la prueba de la t de Student, para determinar si existen diferencias significativas en el producto resultante del bioetanol de 2G, considerando las diferentes concentraciones de levadura que se aplicarán. Los resultado de la eficiencia volumétrica se sitúan en un volumen de alcohol obtenido de 59.5 mL con el tratamiento con <i>S. cerevisiae</i> al 4 % el cual fue estadísticamente superior sobre el promedio (36.25 mL) del tratamiento con <i>S. cerevisiae</i> al 2 %. Los valores representativos del grado de alcohol obtenido alcanzo 25.5° con el tratamiento con <i>S. cerevisiae</i> al 4 % el cual fue estadísticamente superior sobre el promedio 18° del tratamiento con <i>S. cerevisiae</i> al 2 %. Se concluye que las propuestas experimentales son determinantes para evaluar la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol según los resultados validados estadísticamente.</p> |                                     |    |
| <b>ADJUNTO PDF:</b>  | <input checked="" type="checkbox"/> SI  | <input type="checkbox"/> NO         |    |
| <b>CONTACTO CON AUTOR/ES:</b>                                      | <b>Teléfono:</b> +593989568602  | E-mail:jacksonperez0324@hotmail.com |    |
| <b>CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN (COORDINADOR DEL PROCESO UTE)::</b> | <b>Ing. Noelia Caicedo Coello, M. Sc.</b>   |                                     |    |
|  | <b>Teléfono:</b> +593-987361675   |                                     |    |
|  | <b>Noelia.caicedo@cu.ucsg.edu.ec</b>  |                                     |    |
| <b>SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA</b>                              |   |                                     |    |
| <b>Nº. DE REGISTRO (en base a datos):</b>                          |   |                                     |    |
| <b>Nº. DE CLASIFICACIÓN:</b>                                       |   |                                     |    |
| <b>DIRECCIÓN URL (tesis en la web):</b>                            |   |                                     |    |