

EFICIENCIA VOLUMÉTRICA Y ALCOHÓLICA DEL BIOETANOL DE PRIMERA GENERACIÓN (1G) OBTENIDO DEL JUGO DE NARANJA THOMPSON (CITRUS SINENSIS) A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LEVADURA (SACCHAROMYCES CEREVISIAE)

VOLUMETRIC AND ALCOHOLIC EFFICIENCY OF FIRST GENERATION BIOETHANOL (1G) OBTAINED FROM THOMPSON ORANGE JUICE (CITRUS SINENSIS) AT DIFFERENT CONCENTRATIONS OF YEAST (SACCHAROMYCES CEREVISIAE)

Hugo Andrés García Espinoza¹
Dayaneth Fabiola Rivera Troya²
Danilo Xavier Santana Aragone³
Juan Andrés Villamarin Barreiro⁴
Omar Ivan Brunis Velásquez⁵

Resumen

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

Recepción: 01 de noviembre de 2023/ Evaluación: 22 de diciembre de 2023 / Aprobado: 18 de enero de 2024

¹ Ingeniero Agroindustrial con Concentración en Agronegocios por la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Email: garciahugo650@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-9538-2532>

² Magister en Producción y Operaciones Industriales por la Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador. Docente en la Facultad de Ciencias Agropecuarias - Universidad Técnica de Babahoyo Km 7,5 vía Babahoyo-Montalvo, Ecuador. Email: dayanethr@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7837-8423>

³ Ingeniero Agrónomo por la Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador. Magister en Agronomía mención en Protección Vegetal. Analista de Laboratorio en la Facultad de Ciencias Agropecuarias - Universidad Técnica de Babahoyo Km 7,5 vía Babahoyo-Montalvo, Ecuador. Email: dsantana@utb.edu.ec. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9895-9217>

⁴ Master en Agronomía Mención en Protección Vegetal por la Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador. Docente en la Facultad de Ciencias Agropecuarias - Universidad Técnica de Babahoyo Km 7,5 vía Babahoyo-Montalvo, Ecuador. Email: jvillamarinb@utb.edu.ec. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5615-0209>

⁵ Magister en Sanidad Vegetal por la Universidad Agraria del Ecuador, Ecuador. Docente en la Facultad de Ciencias Agropecuarias - Universidad Técnica de Babahoyo Km 7,5 vía Babahoyo-Montalvo, Ecuador. Email: omarbrunis@hotmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-1723-3113>

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

Abstract

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

Keywords: Alcoholic, bioethanol, efficiency, *Saccharomyces cerevisiae*, volumetric

Introducción

La aceleración del consumo de combustibles fósiles y la incertidumbre sobre el calentamiento global han aumentado inevitablemente el interés comercial por los combustibles renovables en los últimos tiempos. Además, debido a los niveles de contaminación alcanzados en el medio ambiente, se han buscado alternativas al uso de combustibles fósiles, como la biomasa y el bioetanol. En este aspecto, el bioetanol ha sido considerado como la mejor opción para reducir los gases de efecto invernadero y ofrecer un combustible alternativo que disminuya el consumo de hidrocarburos (Vargas y Giraldo, 2015).

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

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

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

problemas anteriormente expuestos. Es así que, el uso de productos agrícolas tiene un gran valor para la transformación de otros productos como es el caso del bioetanol, esto permitirá un mejor aprovechamiento de productos agrícolas añadiéndoles valor (Sarris y Papanikolaou, 2015).

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

Estos biocombustibles se derivan de los cultivos alimentarios y su producción puede, por tanto, competir con los alimentos por los recursos. Muchos países han adoptado políticas para fomentar la producción de biocombustibles por razones de seguridad energética y medioambiental. Tal es el caso del *Citrus sinensis*, más conocido como naranja, este fruto es un cultivo común en las zonas de clima tropical, en Ecuador el cultivo de la naranja es importante y se produce en diferentes partes del país (Rodríguez *et al.*, 2020).

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

Bajo este panorama, actualmente se está investigando mucho para obtener combustible a partir de estos azúcares, sin embargo, debido a la falta o al desconocimiento de las técnicas o prácticas que procesan de manera conveniente esta producción, resulta necesario y beneficioso realizar el siguiente trabajo de investigación que tiene como finalidad efectuar un estudio comparativo de la eficiencia volumétrica y alcohólica del bioetanol de primera generación (1G) del jugo de naranja (*Citrus sinensis*) Thompson de métodos extracción basados en diferentes concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), debido a que estas materias primas han sido analizadas ampliamente por su eficiencia en la fermentación alcohólica.

Bioetanol

El bioetanol se ha convertido en una alternativa viable desde el punto de vista medioambiental, ya que reduce considerablemente las emisiones de gases de efecto invernadero, en comparación con los combustibles derivados del petróleo; en base a lo citado, varios países del mundo han realizado investigaciones y estudios sobre la eficiencia y rendimiento de la generación de biocombustibles a partir de diferentes tipos de materia primas (Rath y Singh, 2014).

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

llega a la conclusión que la biomasa del plátano tiene una gran potencia para la obtención de bioetanol a gran rendimiento.

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

En este mismo aspecto, Decheco (2019) realizó un estudio para la obtención del bioetanol mediante la fermentación de *Saccharomyces cerevisiae* a partir de cáscaras de plátano de seda, basándose en la hidrólisis enzimática y posteriormente la fermentación de la materia orgánica, obtuvo como resultado que al nivel de 20° Brix presento el mayor aumento alcohólico (7°A), con un porcentaje de bioetanol de 56.3 % y un rendimiento de 33.7 %. Concluyendo que, la hidrólisis enzimática con celulosa fúngica y posterior fermentación con la levadura se obtiene un producto con un alto valor agregado.

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

Biocombustible de primera generación

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

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

Métodos de obtención de bioetanol

Licuefacción

Este proceso consiste en convertir los gránulos de almidón de la suspensión concentrada en glucosa, la temperatura a la que debe calentarse la solución para la

licuefacción depende de la fuente de la enzima, y la utilizada es la α -amilasa (Hernandez, 2017).

Sacarificación

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

Fermentación

Es una reacción redox interna equilibrada en la que algunos átomos de la fuente de energía (donante de electrones) se reducen mientras que otros se oxidan y la energía se produce por fosforilación en el sustrato. Una vía bioquímica muy utilizada para la fermentación de la glucosa es la glucólisis, también conocida como la vía Embden-Meyerhof; al igual el proceso para la fermentación se lo simplifica de la siguiente manera: Azúcares + levaduras \rightarrow alcohol etílico + CO_2 + calor + otras sustancias.

Destilación

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

Fermentación Biológica

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

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

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

Microorganismos fermentadores de bioetanol

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

fermentación y resisten altas concentraciones de etanol (hasta 150 g-L⁻¹) (Narváez, 2020).

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

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

Levadura

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

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

Esta levadura no se puede utilizar como fuente de carbono en los azúcares de cinco carbohidratos, esto hace que disminuya el rendimiento del proceso, ya que se pierden algunos azúcares. Varios estudios se han basado en la modificación del metabolismo de la levadura mediante la introducción de genes, utilizando naturalmente pentosas como fuente de carbono para convertirlas en bioetanol (Meléndez et al., 2021).

Uso del bioetanol

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

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

- Bebidas fermentadas para consumo humano (vinos, licores, entre otros)

- Separador de colorantes para la producción alimentaria y textil
- Disolventes de aceites

Naranja

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

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

Las naranjas también aportan con alfa-caroteno, beta-caroteno y criptoxantina. Numerosos estudios epidemiológicos sugieren la importancia de estos carotenoides en la prevención de varios tipos de cáncer y en la protección contra las enfermedades cardiovasculares. También contiene otros carotenoides sin actividad de provitamina A, como la luteína y la zeaxantina, que están presentes en la retina y el cristalino del ojo y se asocian inversamente con el riesgo de cataratas y maculitis (Solano, 2018).

Metodología

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias Agropecuarias en la Universidad Técnica de Babahoyo, coordenadas -1.7970885728611559, -79.48292673585556. Las **características climatológicas son:** temperatura promedio de 26 °C, humedad relativa del 69 % y clima tropical.

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

Dentro del desarrollo de la investigación se utilizaron materia prima: Jugo de naranja (*Citrus sinensis*) Thompson; reactivos: Levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), Hidróxido de sodio 0.1 N, Sacarosa (azúcar comercial); materiales y equipos: Matraz Erlenmeyer, Pipeta, Mechero de bunsen, Destilador, Botellas de vidrio, Airlock, Agua destilada, Medidor de pH, Vaso de precipitación, Alcoholímetro, Densímetro, Termo agitador, Balanza digital, Refractómetro.

El diseño experimental de la investigación y análisis, se realizó mediante ANOVA multifactorial, ya que permite medir diferentes medidas de los números de réplicas por tratamiento, y el hecho de que las unidades experimentales sean completamente homogéneas. Estas medidas experimentales consisten en tres muestras 250 mL de jugo de naranja con cuatro repeticiones por tratamiento y con diferentes dosis de levadura (*Saccharomyces*

cerevisiae) propuesta de (0.1 %, 0.5 %, 1 %) g/L, en un tiempo determinado de siete días de fermentación. Se tomó como referencia la investigación de (Rath y Singh, 2014), donde argumenta que con las diferentes concentraciones de levadura de: 3 %, 6 %, 9 % y 12 % de *Saccharomyces cerevisiae* con el fin de lograr la producción máxima de bioetanol en un tiempo máximo de siete días de fermentación.

Discusión

De acuerdo a lo expuesto en el planteamiento del problema se optó por determinar las propuestas de mejora orientadas a lograr un eficiente control de cochinillas en cultivo de banano, el cual se encuentra deficiente en las haciendas bananeras.

Para el adecuado uso del plan de mejora se utilizó como punto inicial un análisis descriptivo en base al diagnóstico de mecanismos de control para las cochinillas en el cultivo de banano.

El diseño de la investigación es del tipo no experimental, en la cual se realizó una recopilación de información de varias fuentes bibliográficas, la misma que permitió establecer los mejores resultados en relación al plan de mejora para el control de cochinillas en el cultivo de banano.

Este trabajo de plan de mejora se realizó dentro de la finca San Luis, que tiene una superficie de 186 ha. Tiene una productividad de trece contenedores por semana con un promedio de conversión de 1,40 cajas por racimo y 14000 cajas semanales y es proveedora de la transnacional Dole, ubicada en la región de la Zona Caracol, a 10 metros sobre el nivel del mar dentro de la provincia de Los Ríos, Ecuador.

En la Tabla 1, se referencia los tratamientos que se llevaron a cabo en el diseño experimental.

Tabla 1. Tratamientos del diseño experimental

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

Elaborado por: El Autor

Para el desarrollo del ensayo se realizó un diseño experimental completamente al azar (DCA) AXB, con un arreglo factorial de 3T*4R, es decir, tres tratamientos y cuatro replicas con un total de 12 combinaciones. A continuación, en la Tabla 2 se expone la combinación de los tratamientos que se realizó.

Tabla 2. Interacción de tratamientos

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

Elaborado por: El Auto

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

El proceso que se realizó para la obtención de bioetanol, utilizando como materia prima (jugo de naranja).

- **Recepción:** Se recibió la materia prima, en este caso 9 kg de fruta
- **Selección y lavado:** Una vez recibida la fruta, seleccionamos las de mejor estado y proseguí a lavarlas
- **Extracción:** S un extractor de jugo y extraje la mayor cantidad de jugo de naranja.
- **Filtración:** Obtenido el jugo de naranja procedí a filtrar para separar las impurezas.
- **Ajuste de pH e índice de madurez:** Al jugo o néctar de naranja se le ajustó el pH de 4.5 a 5, utilice Hidróxido de Sodio 0.1 N. En el índice de madurez se realizó usando sacarosa, ambas se procedió hacer un método de ensayo error.
- **Inoculación o preparación de levadura:** Usamos 250 mL de jugo de naranja en un vaso de precipitación e inoculé la levadura, se usó un termo agitador a 30°C a 200 rpm por 5 horas.
- **Fermentación:** Una vez rectificado el pH 4.5 con hidróxido de sodio, realice la fermentación en un envase de vidrio al que se le adiciono un airlock. Se dejo fermentar de 5 a 7 días, a temperatura ambiente (20°C).
- **Destilación:** Dado que se obtiene una mezcla de líquidos, bioetanol y agua, el proceso más adecuado y eficiente para separarlos es la destilación, debido a sus diferentes puntos de ebullición (78.4 °C).

A continuación, en la Tabla 3, se detalla las normas técnicas que se utilizaron para determinar la característica física, química y microbiológica de la materia prima.

Tabla 3. Métodos de ensayo: parámetros físico y químico de la materia prima

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

Elaborado por: El Autor

Para analizar el pH se determinó por el método potenciométrico, modelo Q400MT, de la marca QUIMIS; donde se colocó 250 mL de cada muestra por tratamiento en un vaso de prestación de 500 mL. El potenciómetro ya se encontraba calibrado de 0 a 7 pH. El electrodo del potenciómetro fue sumergido en cada muestra y el valor del pH fue registrado, luego se descontaminaba el electrodo del potenciómetro con agua destilada del laboratorio y con papel absorbente entre cada muestra.

El índice de madurez se determinó, estableciendo la cantidad de azúcar expresada en °Brix, proceso que corresponde con la acidez de la fruta y permite identificar el índice de madurez, basándose en que cuanto más madura está la fruta, disminuye su acidez y aumenta el °Brix. Con una pipeta de vidrio de 1 mL, se llevó unas gotas de cada muestra al refractómetro para visualizar el valor de grados Brix, entre cada muestra se lavó la pipeta con agua destilada y se secó con papel absorbente.

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

Para determinar los análisis físicos del producto final (bioetanol) se realizó los siguientes ensayos:

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

A continuación, en la Tabla 4 se detalla los métodos empleados para el análisis de los parámetros físicos del bioetanol.

Tabla 4. Métodos de análisis físicos del producto final (bioetanol)

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

Elaborado por: El Autor

Resultados

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

Del análisis realizado a la muestra de jugo de naranja, se registraron los resultados que se representan en la Tabla 5.

Tabla 5. Resultados físicos, químicos y microbiológicos de la materia prima

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

Elaborado por: El Autor

Análisis de eficiencia volumétrica del bioetanol

Del volumen que se generó, se registraron los siguientes resultados de cada repetición que se realizó para la obtención de bioetanol a base de jugo naranja. Como se puede apreciar en la Tabla 6, los datos registrados se determinaron que el tratamiento 3 con la aplicación del 1 % de *Saccharomyces cerevisiae* se obtuvo la mayor media de 56.25 mL en comparación a los demás tratamientos que registraron medias de menos el 46 mL.

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

$$H_0 = \bar{x} T1 = \bar{x} T2 = \bar{x} T3$$

$$H_i \neq H_a = \text{una } \bar{x} \text{ es diferente}$$

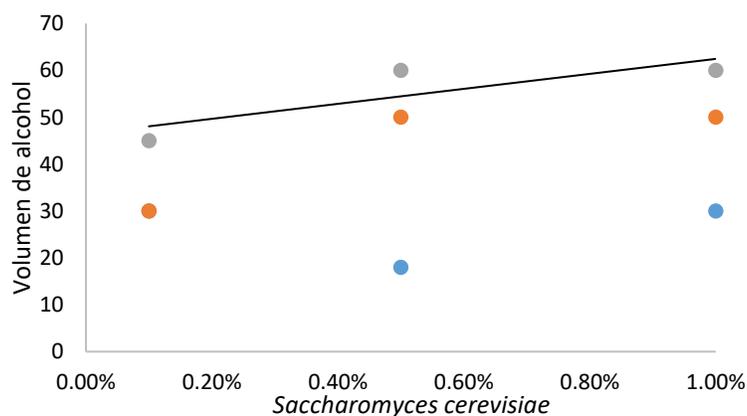
Tabla 6. Medición de volumen del bioetanol

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

Elaborado por: El Autor

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

Gráfico 1. Representación lineal de los tratamientos eficiencia volumétrica



Elaborado por: El Autor.

Análisis de varianza de eficiencia volumétrica del bioetanol.

Para corroborar los resultados estadísticamente, se realizó un análisis de varianza a los tratamientos efectuados y así comprobar que existe diferencia significativa. A continuación, en las Tablas 7 y 8 se detallan los resultados determinados.

Tabla 7. Promedio de análisis de varianza de medición volumétrica

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

Elaborado por: El Autor

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

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

Como se puede apreciar en la Tabla 8, el F calculado es mayor que F de tabla, por lo que se determina estadísticamente que sí existe diferencia significativa entre los tratamientos.

Otra comprobación implica que si el p-valor es > 0.05 se acepta H_0 (no hay diferencias entre los tratamientos con respecto a la eficiencia volumétrica) y, si el p-valor es ≤ 0.05 se rechaza la hipótesis H_0 , aceptando H_a (si existe diferencia entre los tratamientos con respecto a la eficiencia volumétrica). Como se puede apreciar en la Tabla 8 el p-valor calculado fue ≤ 0.05 , por lo que se determina estadísticamente que sí existe diferencia significativa de eficiencia volumétrica entre los tratamientos. De igual forma en la Tabla 7, se muestra que las medias $27 \text{ mL} \neq 45 \text{ mL} \neq 56,25 \text{ mL}$, por lo que se rechaza la hipótesis nula, aceptando la hipótesis alternativa ya que hay diferencia entre las medias de los tratamientos.

Tabla 8. Análisis de varianza para la medición volumétrica

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

Elaborado por: El Autor

Análisis de varianza de eficiencia alcohólica del bioetanol

De igual manera, para determinar diferencias significativas entre los tratamientos con respecto a la eficiencia alcohólica, se realizó el análisis de varianza entre los resultados registrados. A continuación, en las Tablas 9 y 10 se muestran los resultados del análisis de varianza realizada con los datos obtenidos en la medición alcohólica del bioetanol.

Tabla 9. Promedio de análisis de varianza de la eficiencia alcohólica

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

Elaborado por: El Autor

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

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

Como se puede apreciar en la Tabla 10, el F calculado es mayor que F de tabla, por lo que se determina estadísticamente que sí existe diferencia significativa de eficiencia alcohólica entre los tratamientos realizados. Se determina que, las medias $9.5\% \neq 19\% \neq 15\%$, por lo que se rechaza la hipótesis nula, aceptando la hipótesis alternativa ya que hay diferencia entre las medias de los tratamientos. En el Gráfico 2 expuesto anteriormente se detalla la tendencia de la eficiencia alcohólica del producto obtenido.

Tabla 10. Análisis de varianza para la medición alcohólica

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

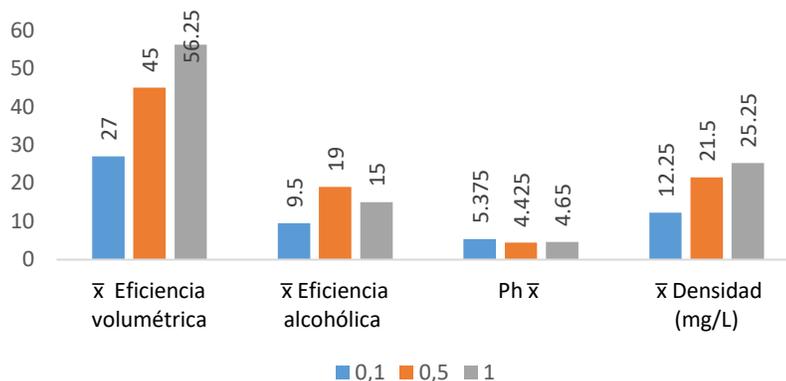
Elaborado por: El Autor

Características físicas del bioetanol de 1G obtenido

Comparativa entre tratamientos

A continuación, en el Gráfico 2 comparamos los diferentes parámetros analizados al bioetanol 1G generado a base del jugo de naranja.

Gráfico 2. Comparativa de tratamientos



Elaborado por: El Autor.

Como se muestra en el Gráfico 2, el tratamiento 3 (1 % SC) obtuvo los mejores resultados en la eficiencia volumétrica con 56.25 mL, y con una eficiencia alcohólica de 15 %, en cuanto a la densidad asimismo el tratamiento 3 alcanzó resultados favorables con un 25.25 mg/L y, con un pH de 4.65.

Resultados

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

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

Con respecto a la eficiencia alcohólica se registraron valores de 9.5 % para el tratamiento con 0.1 % de *Saccharomyces cerevisiae*, donde la concentración con 0.5 % de *Saccharomyce cerevisiae* se obtuvo 19 % de eficiencia alcohólica y con el 1 % de *Saccharomyce cerevisiae* se obtuvo 15 % de bioetanol, indicando un descenso en la eficiencia conforme va aumentada la cantidad de levadura. Estos resultados, son superiores a los

obtenidos por Monsalve *et al.* (2006), donde la fermentación realizada con *Saccharomyces cerevisiae* lograron una concentración de bioetanol de 7.92 %.

En cuanto a los parámetros físicos del bioetanol que se registraron para los valores de pH entre 4.4 y 5.3 a los tratamientos, así mismo, para la densidad se obtuvieron resultados de 12.25 mg/L y 25.25 mg/L en las concentraciones. Estos resultados, son mayores a los obtenidos por Llangari (2018), donde en su proyecto de investigación registró valores para la densidad de 0.9 mg/L.

Conclusiones

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

Referencias bibliográfica

- Albarracín, J., y Albuja. (2015). Bioetanol Anhidro a partir de paja (Stipaichu). Revista Politécnica, 109-109. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1429
- Balat, M. (2007). Global bio-fuel processing and production trends. . *Energy Exploration and exploitation* 25, 195 - 218. <https://doi.org/10.1260/2f01445980778200204>
- Claassen, P. (1999). Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52(6), 741 - 755. <https://doi.org/10.1007/s0025300516>
- Deheco, A. (2019). *Obtención de Etanol por vía fermentación de Saccharomyces cerevisiae a partir de cáscaras de plátano de seda (Musa paradisiaca L.)*. <http://doi.repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/5152/DECHECO%20EGUSQUIZA%20-%20FIPA%20-%202019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Espinosa, M. (2017). *Obtención de bioetanol a partir de malanga por medio de hidrólisis y fermentación de azúcares*. <http://doi.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9777/1/T-UCE-0017-006-2017.pdf>
- Fraire, A. (2018). *Evaluación de lirio acuático (Eichhornia crassipes) como sustrato potencial en la elaboración de bioetanol*. Villahermosa: Instituto Tecnológico de Villahermosa. https://doi.villahermosa.tecnm.mx/docs/departamentos/tesis/repositorio_de_tesis_2014-
- Frazier, W., Westhoff, D. (2000). *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza: Acribia.

- Giron, M. y. (2013). *Obtención de alcohol etílico por medio de fermentación alcohólica de las cascavas de Musa paradisíaca (plátano) utilizando como microorganismo productor Saccharomyces cerevisiae (levadura)*. San Salvador: Universidad de el Salvador. <https://doi.ri.ues.edu.sv/id/eprint/4719/1/16103389.pdf>
- Hernández, D. (1999). Efecto de un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* en consumo, digestibilidad y variables ruminales en borregos alimentados con pasto ovilla (*Dactylis glomerata*). *Colegio de Posgraduados, Montecillo*, 1 - 17.
- INEC. (2013). *Visualizador de estadísticas agropecuarias del Ecuador ESPAC. Cultivos permanentes, naranja-fruta freca, superficie, resumen general*. Obtenido de <http://200.110.88.44/lcds-samples/testdrive-remoteobject/main.html#app=dbb7&9270-selectedIndex=1>
- Jiménez, I., y Anaya, J. (2014). *Elementos de sostenibilidad para la producción del etanol como combustible*. Cartagena: Universidad tecnológica de bolívar . doi:<https://biblioteca.utb.edu.co/notas/tesis/0067153.pdf>
- Lin, Y., y Tanaka, S. (2006). Ethanol fermentation from biomass resources: current state prospects. *Appl. Microbiol. Biotechnol* 69, 627 - 642. doi: 10.1007/s00253-005-0229-x
- Llangari, A. (2018). Comparación del rendimiento y calidad de bioetanol obtenido a partir de la biomasa. *Tesis de grado Universidad Politécnica Salesiana*. https://rraae.cedia.edu.ec/Record/UPS_2fc123d1ce811443e5edc982659fc87e
- Melendez, R., Velasquez, J., El Salous, A., y Peñalver, A. (2021). Gestión para la Producción de biocombustibles 2G: revisión del escenario tecnológico y económico. *Revista Venezolana de Gerencia* 26(3), 1 - 15. doi: 10.52080/rvg93.07
- Monsalve, G., Medina, V., y Ruiz, A. (2006). Producción de etanol a partir de la cáscara de banano y almidón de yuca. *Dyna* (150), 21-27. <https://doi.scielo.org.co/pdf/dyna/v73n150/a02v73n150.pdf>
- Morales, Y., y Sánchez, I. (2004). *Diseño conceptual y comparación técnica de los procesos de hidrólisis ácida y enzimática para la producción de glucosa a partir del almidón de yuca*. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander,. Obtenido de Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga.
- Murgas, J., y Vasquez, M. (2012). *Evaluación de la obtención de bioetanol a partir del almidón de ñame (Dioscorea rotundata, Dioscorea alata y Dioscorea trifida) mediante la hidrólisis enzimática y posterior fermentación*. Cartagena: Universidad de San Buenaventura. https://bibliotecadigital.usb.edu.co/entities/publication/1c32929c-e799-4*70-8f59-6c04069c47f1
- Narvaez, B. (2020). *Estudio comparativo del rendimiento de la producción de bioetanol mediante métodos de extracción de primera y segunda generación a partir de la caña de azúcar (Saccharum officinarum)*. Tesis de grado. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/15511/1/T-UCSG-PRE-TEC-CIA-68.pdf>
- Olguin, E. (2015). *Estudio para optimizar la obtención de bioetanol a partir de harina de semillas de ramón*. https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/386/1/PCER_M_Tesis_2015_Olguin_Edgar.pdf

- Pozo, S. (2011). Valor nutricional de las naranjas. *Fundación Española de la Nutrición*. <https://doi.fen.org.es/storage/app/media/imgpublicaciones/432011819.pdf>
- Querol, A. (2003). Molecular evolution in yeast of biotechnological interest. *Int. Microbiol.* doi:10.1007/s10123-003-0134-z.
- Rath, S., y Singh, A. y. (2014). Bioethanol production from waste potatoes as an environmental waste management and sustainable energy by using cocultures *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Advanced Research* 2(4), 553-563.
- Rodríguez, J., Florido, A., y Hernández, M. (2020). Determinación de parámetros fisicoquímicos en jugos de frutas cítricas. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* 5(1), 233 - 238.
- Sanchez, A. (2010). Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Revista Tumbaga* 5, 61 - 91.
- Santos, J., y Zabala, D. (2016). *Evaluación de la producción de etanol a partir de residuos orgánicos y sus diferentes mezclas*. Obtenido de <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/546/1/6102511-2016-2-IQ.pdf>
- Sarris, D., y Papanikolaou, S. (2015). *iotechnological Production of Ethanol : Biochemistry, Processes and Technologies, Eng. In Life Sciences*, . Recuperado el 06 de 06 de 2022, de doi:10.1002/elsc.201400199.
- Tortora , G., Funke, B., y Caso , C. (2018). *Microbiology: an introduction*. doi:<https://lib.hpu.edu.vn/handle/123456789/33526>
- Vargas, J., y Giraldo, J. (2015). “Modelo de Entrenamiento En Toma de Decisiones Relacionadas Con Gestión de Producción y Operaciones de Un Sistema de Fabricación de Bioetanol.” . *Iteckne* 12 (1), 7-16.
- Villagómez, D. y. (2009). *OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE RESIDUOS DE NARANJA “Citrus sinensis”*. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/2597/T-ESPE-IASA%20I-004168.pdf?sequence=1&isAllowed=y>