

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO

FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**“OBTENCIÓN EXPERIMENTAL DE BIOETANOL DE LOS
RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS DE LA EXPLOTACIÓN DEL
BANANO”**

Por:

ISMAEL MONTES FLORES

**Modalidad de graduación: INVESTIGACIÓN APLICADA. Presentado a
consideración de la UNIVERSIDAD AUTÓNOMA “JUAN MISAEL
SARACHO”, como requisito para optar el grado académico de Licenciatura en
Ingeniería Química.**

Agosto de 2018

TARIJA-BOLIVIA

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente. Por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mi familia por ser un apoyo constante. Por ser la fuerza interna que me motiva a seguir siempre adelante; por enseñarme que aún estando vencido, nunca darme por vencido.

A los docentes por impartir conocimiento, consejos y su siempre acertada colaboración.

A mis tribunales por su paciencia, colaboración, consejos brindados para la conclusión de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

Página

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes.....	1
1.2 Biocombustibles.....	1
1.2.1 Bioetanol.....	3
1.2.2 Materia prima para la producción de etanol	4
1.2.3 Bioetanol de material lignocelulósico	4
1.2.4 Producción de bioetanol de celulosa	5
1.2.5 Producción de bioetanol a nivel mundial	5
1.2.6 Producción de bioetanol en Bolivia	7
1.3 Objetivos.....	8
1.3.1 Objetivo general.....	8
1.3.2 Objetivos específicos.....	8
1.4 Justificación	8

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 El Plátano.....	10
2.2 Aspecto botánico del banano	10
2.3 Constituyentes de los residuos lignocelulósicos del banano	11
2.3.1 Celulosa	11
2.3.1.1 Reacciones de la celulosa	13

2.3.2 Hemicelulosa	13
2.3.3 Lignina.....	14
2.3.4 Otras sustancias.....	15
2.4 Producción de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica.....	16
2.4.1 Pretratamiento de residuos lignocelulósicos.....	16
2.4.1.1 Pretratamientos físicos.....	16
2.4.1.2 Pretratamiento físico-químico.....	17
2.4.1.2.1 Autohidrólisis (explosión de vapor)	17
2.4.1.2.2 Proceso AFEX.....	17
2.4.1.2.3 Explosión con CO ₂	18
2.4.1.3 Pretratamiento químico	18
2.4.1.3.1 Ozonólisis	18
2.4.1.3.2 Prehidrolisis ácida	18
2.4.1.3.3 Prehidrolisis alcalina	19
2.4.1.4 Pretratamiento biológico.....	20
2.5 Hidrólisis	20
2.5.1 Hidrólisis con ácido concentrado.....	20
2.5.2 Hidrólisis con ácido diluido.....	21
2.5.3 Hidrólisis enzimática.....	23
2.6 Obtención de etanol	24
2.6.1 Fermentación	24
2.6.1.1 Fermentación de la glucosa: oxidación y producción de ATP	25
2.6.1.2 Fermentación de la glucosa: etapa reductora.....	26

2.6.2 Levaduras.....	28
2.6.2.1 Introducción	28
2.6.2.2 Saccharomyces cerevisiae	28
2.6.2.3 Morfología de la levadura.....	29
2.6.2.3.1 Forma y tamaño.....	29
2.6.2.3.2 Estructura celular.....	29
2.6.2.4 Fisiología de las levaduras.....	29
2.6.2.4.1 Requerimientos nutricionales.....	29
2.6.3 Parámetros a controlar en el proceso de fermentación.....	30
2.6.3.1 Temperatura.....	30
2.6.3.2 Aireación.....	30
2.6.3.3 pH.....	31
2.6.3.4 Nutrientes.....	31
2.6.4 Destilación	31
2.6.4.1 Destilación simple	32
2.6.4.2 Diferencial o abierta	32
2.6.4.3 Cerrada o de equilibrio	32
2.6.4.4 Destilación por rectificación.....	33

CAPÍTULO III

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Descripción y análisis de materias primas	35
3.1.2 Recolección de muestras	36
3.1.3 Análisis físico-químico de la materia prima.....	37
3.2 Descripción del método de investigación.....	37

3.2.1 Pretratamiento alcalino	37
3.2.2 Hidrólisis acida	38
3.2.3 Fermentación	39
3.2.4 Destilación	40
3.3 Diseño factorial.....	43
3.4 Procedimientos empleados para la obtención de bioetanol.....	45
3.4.1 Lavado,troceado y secado.....	45
3.4.2 Pretratamiento alcalino	46
3.4.3 Hidrólisis ácida	48
3.4.4 Fermentación	51
3.4.5 Destilación	52

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados lavado, troceado y secado	53
4.1.1 % humedad en el material lignocelulósico	53
4.2 Resultados pretratamiento alcalino	54
4.3 Resultados de la Hidrólisis ácida	54
4.3.1 °Brix obtenidos en la hidrólisis ácida.....	54
4.3.2 Azúcares reductores y azúcares totales	55
4.3.3 Diseño factorial.....	56
4.3.3.1 Análisis estadístico del diseño factorial del proceso de hidrólisis ácida	56
4.3.3.2 Variable respuesta porcentaje de azúcares reductores	58
4.3.3.3 Análisis de regresión lineal múltiple.....	59

4.4 Resultados de la fermentación	61
4.4.1 Evolución de los °Brix durante la fermentación	62
4.4.2 Evolución del pH durante la fermentación	63
4.5 Resultados de la destilación.....	64
4.5.1 Destilación del fermento	64
4.5.2 Cálculo del rendimiento de alcohol obtenido	65
4.6 Balance de materia	67
4.6.1 Balance parcial de materia en el proceso de obtención de bioetanol a partir de material lignocelulósico	67
4.6.1.1 Balance parcial en la etapa de troceado, secado	67
4.6.1.2 Balance parcial en la etapa de pretratamiento alcalino	67
4.6.1.3 Balance parcial en la hidrólisis	68
4.6.1.4 Balance parcial en la fermentación y destilación	70
4.6.2 Balance de masa general en el proceso de obtención bioetanol a partir de material lignocelulósico	72
4.6.3 Balance parcial de energía en el proceso de obtención de bioetanol a partir de material lignocelulósico	73
4.6.1.1 Balance parcial de energía en la etapa de fermentación.....	73
4.6.1.2 Balance parcial de energía en la etapa de destilación	74

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones	76
5.2 Recomendaciones	77
Bibliografía.....	79

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla I-1 Principales tipos de biocombustibles.....	2
Tabla I-2 Procesos de obtención de biocombustibles	2
Tabla I-3 Propiedades físicas y termodinámicas del etanol	3
Tabla I-4 Producción y consumo de bioetanol en latino América (millones de litros) ..	6
Tabla I-5 Exportación alcohol etílico sin desnaturalizar	7
Tabla II-1 Contenido de celulosa, hemicelulosa y lignita en diferentes residuos	15
Tabla II-2 Fuentes para producir bioetanol.....	23
Tabla II-3 Clasificación taxonómica de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25
Tabla II-4 Clasificación taxonómica de <i>Saccharomyces</i>	29
Tabla III-1 Composición proximal de la materia prima	37
Tabla III-2 Parámetros para el proceso de hidrólisis	43
Tabla III-3 Diseño factorial para el proceso de hidrólisis	44
Tabla III-4 Datos para el diseño factorial para el proceso	44
Tabla III-5 Relación entre sustrato y volumen ácido.....	48
Tabla III-6 Diseño factorial para determinar % azúcares reductores	49
Tabla IV-1 Cantidad de agua presente en el material lignocelulósico	53
Tabla IV-2 Masa que se retira en el pretratamiento alcalino	54
Tabla IV-3 °Brix obtenidos en el proceso de hidrólisis del material lignocelulósico ..	55
Tabla IV-4 % Azúcares reductores y totales obtenidos en el proceso de hidrólisis del material lignocelulósico	56
Tabla IV-5 Datos para el análisis de varianza.....	57
Tabla IV-6 Datos para el análisis de varianza	58

Tabla IV-7Análisis de varianza ANOVA (porcentaje de azúcares reductores	58
Tabla IV-8Variables introducidas/eliminadas	60
Tabla IV-9Variables introducidas/eliminadas ^b	60
Tabla IV-10ANOVA ^b	60
Tabla IV-11Coeficientes ^a	61
Tabla IV-12Característica modelo para la fermentación para muestra 1.....	62
Tabla IV-13 % Reducción de los °Brix a medida que avanza la fermentación	62
Tabla IV-14Evolución del pH durante la fermentación.....	63
Tabla IV-15 Producto obtenido para las diferentes muestras	64
Tabla IV-16Rendimiento de alcohol (%) para las diferentes muestras	66

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1 Evolución producción biocombustibles a nivel mundial	5
Figura 1.2 Volumen de etanol exportado (kg) en los últimos años	7
Figura 2-1 Esquema de la planta de banano	10
Figura 2-2 Estructura molecular de la celulosa	12
Figura 2-3 Enlaces de hidrógeno que permiten al polímero de celulosa un ordenamiento paralelo	12
Figura 2-4 Estructura molecular plana de la hemicelulosa	13
Figura 2-5 Estructura molecular de la lignina	14
Figura 2.6 Efecto del pretratamiento de la biomasa lignocelulósica	16
Figura 2.7 Vía de Embden-Meyerhof, secuencia de reacciones enzimáticas en la conversión de la glucosa a piruvato y luego a productos de fermentación	27
Figura 3-1 Exportaciones de banana 2004-2013 y octubre 2014	35
Figura 3-2 (arriba) Plantaciones de banano en la zona. (abajo) Desechos que quedan después de la cosecha del banano	36
Figura 3-3 Diagrama de flujo para la producción de bioetanol	42
Figura 3-4 Reducción de tamaño del material lignocelulósico	45
Figura 3-5 Arriba: material lignocelulósico después del pretratamiento. Abajo material lignocelulósico después del pretratamiento seco	47
Figura 3-6 Sustrato después de la hidrólisis ácida	49
Figura 3-7 Equipo autoclave usado para la hidrólisis ácida	50
Figura 3-8 Prueba cualitativa del reactivo de Fehling para la determinación de azúcares reductores	50

Figura 3-9Activación de la levadura, la cual se usará para la fermentación	52
Figura 3-10Equipo usado para la destilación del material lignocelulósico.....	52
Figura 4-1Evolución de los °Brix versus horas hasta estabilizarse	63

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	85
Anexo 2	86
Anexo 3	87
Anexo 4	88
Anexo 5	89
Anexo 6	90

RESUMEN

El presente trabajo consiste en obtener bioetanol (alcohol etílico) a través del proceso de fermentación alcohólica, para lo cual se sigue un conjunto de etapas que se describen a lo largo del mismo. La materia prima que se usa para tal fin, son los desechos remanentes de la producción del banano.

Procesos tanto físicos y químicos fueron aplicados a la materia prima. En principio procesos físicos como: lavado, reducción de tamaño de las muestras, secado, fueron aplicados al material lignocelulósico; luego al final del trabajo, la destilación. Entre los procesos químicos se puede mencionar: el pretratamiento alcalino, la hidrólisis ácida y la fermentación alcohólica (proceso bioquímico).

Tras un acondicionamiento de la materia prima en el que se incluye la operación de reducción de tamaño, el material lignocelulósico es llevado al proceso de *deslignificado* mediante el uso de hidróxido de sodio en una concentración de 2 mol/L a temperaturas de 93 °C por aproximadamente 1 hora, el hidróxido de sodio ayuda a aflojar el material lignocelulósico y deja expuesta a la celulosa, luego una buena parte de lignina es eliminada mediante lavado. Posteriormente el material celulósico es llevado al proceso de *hidrólisis* (en equipo autoclave) mediante el uso de ácido sulfúrico con concentraciones de 5 y 10 %v/v (105 °C, 121 °C de temperatura y presión de 2.30 bar), una vez concluido el proceso hidrolítico obtenemos una disolución de azúcares, que se caracteriza por su contenido de azúcares reductores totales y en D-glucosa, y un residuo sólido que contiene lignina, celulosa, hemicelulosa, cenizas y humedad. Luego se lleva al proceso de *fermentación alcohólica* utilizando la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*, para la cual se acondiciona un recipiente de plastro como medio ambiente para proporcionar el calor requerido (33 °C) para llevar a cabo la fermentación y también se acondicionan envases de plástico y vidrio con dos salidas, una para la expulsión de dióxido de carbono y la otra para extraer muestra para hacer mediciones de azúcar con un refractómetro. Finalmente las soluciones fermentadas son llevados al proceso

de *destilación*; se destila a temperatura de 70 °C en el equipo rotavapor del laboratorio.

Una vez concluido todo el proceso de obtención de bioetanol, se hace la medición del grado alcohólico mediante alcoholímetro Gas-Lussac y también se emplea el índice de refracción con el refractómetro de laboratorio. En cuanto al rendimiento en la fermentación, se obtiene un rendimiento de 65.60 % como promedio.

La obtención de biocombustibles de segunda generación es factible, pero a la vez, es algo complicado su obtención. Como se verá a lo largo de este trabajo de graduación, lo complicado radica en llevar la biomasa, que contiene lignina, celulosa, hemicelulosa, necesariamente a procesos previos a su fermentación, en cual hay pérdidas considerables de masa y también están los rendimientos en la conversión a azúcares como también en la fermentación los cuales influyen en el aprovechamiento máximo de la materia prima. Las pérdidas de masa se producen en las etapas de secado inicial o deshidratación y en el deslignificado del material lignocelulósico. El proceso de obtención de bioalcohol a partir de material lignocelulósico necesariamente tiene que pasar por la etapa de secado del material inicialmente empleado, es en esta etapa donde se pierde gran cantidad de masa, teniendo en cuenta que la humedad es de 85.03 % en promedio. Luego en el deslignificado con el pretratamiento alcalino también hay pérdida de masa de 48.68 % en promedio. A partir de la siguiente etapa las pérdidas de masa ya no son considerables. En la etapa de conversión a azúcares del material lignocelulósico se tiene una conversión en promedio 37.30%. Finalmente en la fermentación se tiene un rendimiento promedio de 65.60%. En consecuencia, la producción de bioetanol a partir de material lignocelulósico mediante la utilización de ácidos y bases empleado en este trabajo de graduación, no es muy aceptado, como se indicó antes, debido a que no es aprovechable la materia prima en su totalidad.

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Los requerimientos de energía del mundo industrializado, la incapacidad de satisfacer tales demandas con energía proveniente de recursos no renovables como los combustibles fósiles, los crecientes niveles del efecto invernadero producto de la combustión de combustibles fósiles; han agravado el riesgo de una crisis energética y una advertencia sobre el calentamiento global. (Balat and Balat, 2009).

El alto consumo de fuentes no renovables, como son los combustibles fósiles, su alto costo, su agotamiento, su creciente dependencia y sobre todo su contribución a la contaminación ambiental ha influido para la búsqueda de recursos alternativos como la biomasa, que es un producto biodegradable, libre de azufre y algo muy importante es que como el carbono en su cadena es de origen vegetal, al ser liberado durante la combustión no contribuye en el balance neto de producción de dióxido de carbono, ya que fue captado previamente por las plantas durante su crecimiento; es decir, el CO₂ forma parte de un flujo de circulación natural entre la atmósfera y la vegetación por lo que no representa un incremento en las emisiones de CO₂.

La biomasa ha sido desde siempre la mayor fuente de energía para el ser humano y se ha estimado que actualmente contribuye entre un 10% y 14% al abastecimiento de la energía mundial (Mc Kendry, 2002).

1.2 Biocombustibles

El término biomasa hace referencia a toda materia orgánica que tienen como origen las plantas (incluyendo algas, árboles y cultivos). Las plantas transforman la energía radiante del sol en energía química a través de la fotosíntesis, y parte de esta energía queda almacenada en forma de materia orgánica.

La biomasa es una excelente alternativa energética por dos razones. La primera es que, a partir de ella se pueden obtener una gran diversidad de productos; la segunda, se adapta perfectamente a todos los campos de utilización actual de los combustibles tradicionales. Así, mediante procesos específicos, se puede obtener toda una serie de

combustibles sólidos, líquidos o gaseosos que pueden ser aplicados para cubrir las necesidades energéticas de confort, transporte, cocinado, industria y electricidad, o servir de materia prima para la industria (Fernández, 2015).

Tabla I-1 Principales tipos de biocombustibles.

Sólidos	Líquidos	Gaseosos
paja	Alcoholes	Gas de gasógeno
leña	biohidrocarburos	biogás
astillas	Aceite vegetales	hidrógeno
briquetas	Aceites de pirolisis	
Carbón vegetal		

Fuente: Fernández, 2015.

Tabla I-2 Procesos de obtención de biocombustibles.

	Mecánicos	Termoquímicos		Biotecnológicos		Extractivos
Técnicas	Astillado Trituración Compactación	Pirolisis	Gasificación	Fermentación	Digestión anaerobia	Extracción físico-química
Productos	Leñas Astillas Briquetas Aserrín	Carbón Aceites	Gas de gasógeno	Etanol Varios	Biogás	Aceites Ésteres Hidrocarburos
Aplicaciones	Calefacción Electricidad	Calefacción Electricidad Transporte Industria química	Calefacción Electricidad Transporte Industria química	Transporte Industria química	Calefacción Electricidad	Transporte Industria química

Fuente: Salinas Callejas y Gazca Quezada, 2009.

1.2.1 Bioetanol

El bioetanol es considerado como el biocombustible más importante que se obtiene a partir de recursos renovables. Es usado en ámbitos de: los combustibles, la medicina, la fabricación de cosméticos, la industria química, entre otros.

El etanol es un alcohol primario, una cadena de dos átomos de carbono unido por un enlace simple, donde uno de los carbonos está unido a un grupo hidroxilo. (Wade, 2004).

Tabla I-3 Propiedades físicas y termodinámicas del etanol.

Fórmula molecular	C ₂ H ₅ OH
Punto de ebullición	78,3 °C
Punto de fusión	- 130 °C
Punto de congelación	-114,1 °C
Punto de inflamación	12 °C
Temperatura de autoignición	793 °C
Calor específico	2,42 J/g °C (a 20 °C)
Calor de combustión	29677,69 J/g (a 20°C)
Calor de fusión	104,6 J/g
Calor de vaporización	839,31 J/g
Densidad	0,78983 (a 20 °C)
Viscosidad	1,17 cp (a 20 °C)
Conductividad térmica	0,17 W/m K (a 20 °C)
Presión crítica	63,116 atm
Temperatura crítica	243,1 °C
Volumen crítico	0,167 l/mol
Solubilidad	agua, éter, metanol, cloroformo, acetona

Fuente: Wikipedia, 2016.

1.2.2 Materia prima para la producción de etanol

El bioetanol es un biocombustible producido mediante la fermentación alcohólica de diversos hidratos de carbono provenientes de la materia orgánica, principalmente:

- Azúcares de plantas ricas en sacarosa (como la caña de azúcar, remolacha, melaza de fruta).
- Fuentes ricas en almidón (maíz, trigo, cebada, patata).
- Material lignocelulósico (madera, paja, pasto, residuos agrícolas)

1.2.3 Bioetanol de material lignocelulósico

Hay un creciente interés a nivel mundial sobre la investigación y búsqueda de recursos renovables, los cuales puedan proporcionar carbohidratos al menor precio para la producción de bioetanol. En la actualidad la producción de bioetanol está enfocado en la fermentación de azúcares provenientes de cultivos, tales como: cereales, caña de azúcar, soya (Balat & Balat, 2009).

La producción de biocombustibles de segunda generación (biocombustible de biomasa considerada desechos) es un modo de prevenir la producción de combustibles de primera generación (biocombustibles de biomasa, principalmente cultivos agrícolas destinados a la alimentación humana) (Seema, Suhag, Dhaka et al., 2012).

Esta materia prima que está siendo usada para producir bioetanol de segunda generación (2G)

Los residuos agrícolas son los desechos que resultan de la cosecha como: tallos, hojas rastrojos, cortezas, vainas, semillas, etc; los cuales no son destinados al consumo. Estos remanentes son producidos en gran cantidad en todo el mundo y representan una “fuente de biomasa lignocelulósica” abundante, barata y de fácil acceso. De estas enormes cantidades de residuo, una pequeña cantidad es destinada al consumo animal o como combustible para hogares; la mayor parte es quemada en los campos contaminando el medio ambiente (Carchi, 2014).

1.2.4 Producción de bioetanol de celulosa

Hay dos métodos para extraer etanol de la celulosa:

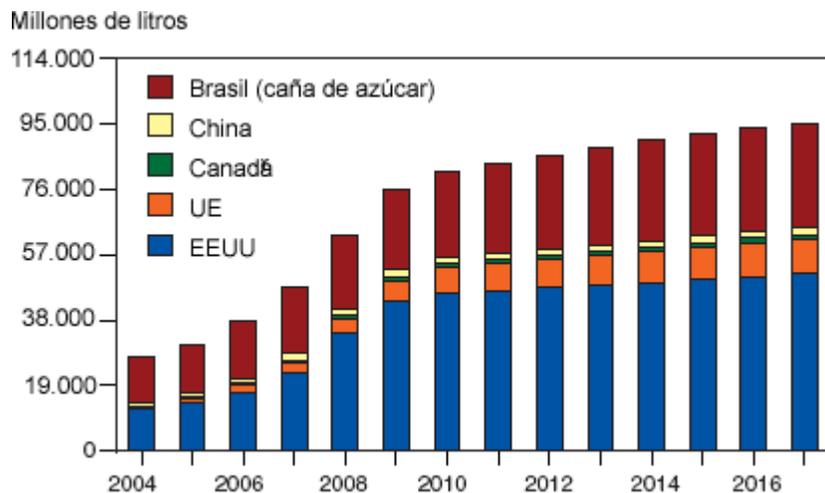
- Hidrólisis y fermentación por separado, el cual puede subdividirse en:
 - Hidrólisis acida y fermentación
 - Hidrólisis enzimática y fermentación
- Sacarificación y fermentación simultánea

Ambos métodos son, luego, llevados a procesos de destilación para poder extraer el etanol. Así, el proceso de producir bioetanol sigue las fases de hidrólisis, fermentación y destilación

1.2.5 Producción de bioetanol a nivel mundial

La utilización de los biocombustibles líquidos es tan antigua como la de los mismos combustibles de origen fósil y los motores de combustión interna. Las crisis energéticas que sacudieron el siglo XX, y la preocupación mundial por la conservación del medio ambiente fueron el motor para incentivar la búsqueda de nuevas fuentes energéticas como el etanol (Fernandez, 2015).

Figura 1.1 Evolución producción biocombustibles a nivel mundial.



Fuente: Global bioenergy, 2015.

Los países de Latinoamérica y el Caribe no han estado ajenos al boom del desarrollo de los biocombustibles. Además del notorio rol de Brasil, el otro país que tiene una participación importante en el mercado global del bioetanol es Colombia (Desarrollo peruano, 2013).

Tabla I-4 Producción y consumo de bioetanol en latino América (millones de litros).

	Pais	Materia Prima	Producción	Consumo
1	Brasil	Caña de azúcar, residuos lignocelulósicos	26,102	22,822
2	Colombia	Caña de azúcar, mandioca	302	337
3	El Salvador	Caña de azúcar	128	0
4	Paraguay	Caña de azúcar, maíz, arroz, sorgo, mandioca, nabo forrajero residuos lignocelulósicos	122	110
5	Guatemala	Caña de azúcar	93	0
6	Bolivia	Caña de azúcar	87	0
7	Costa Rica	Caña de azúcar	70	29
8	Nicaragua	Caña de azúcar	58	0
9	Perú	Caña de azúcar, sorgo	52	0
10	Argentina	Caña de azúcar, maíz, sorgo azucarado, residuos <i>lignocelulósicos</i>	35	0
11	Cuba	Caña de azúcar	20	18
12	Uruguay	Caña de azúcar, maíz, arroz, sorgo, sorgo azucarado, boniato, residuos lignocelulósicos	2	0

Fuente: Desarrollo peruano, 2013.

1.2.6 Producción de bioetanol en Bolivia

Desde hace algunos años, ciertas organizaciones empresariales vienen sosteniendo la necesidad de producir biocombustibles en el país, argumentando supuestos beneficios económicos y sociales. Desde el 2007 el sector empresarial cruceño, a través de la Cámara de Comercio Exterior (IBCE), viene sosteniendo una amplia campaña de alcance nacional, proponiendo la producción de biocombustibles en el país. El etanol producido en la actualidad en Bolivia, no es para usar como combustible, sino más bien sirve como materia prima para otros productos.

La siguiente tabla muestra las cantidades de alcohol etílico producido por los principales departamentos productores de alcohol (en kilos brutos y dólares estadounidenses).

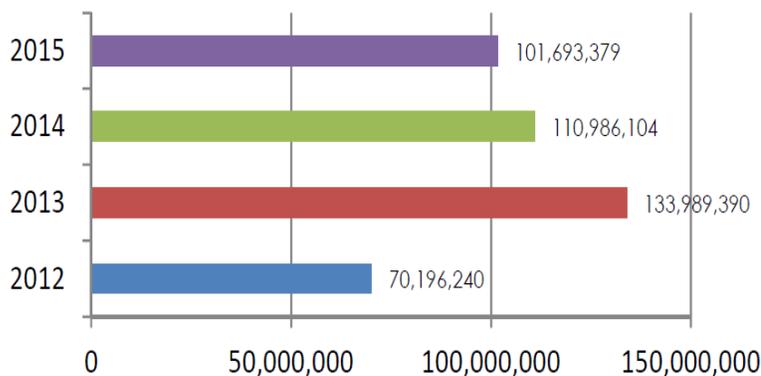
Tabla I-5 Exportación alcohol etílico sin desnaturalizar.

	Volumen (kg brutos)	Valor (\$ us)
Tarija	3,736,360	2,074,075
Santa Cruz	55,921,511	30,321,727

Fuente: IBCE, 2017.

A Continuación se muestra el volumen de litros exportados en los últimos años por Bolivia.

Figura 1.2 Volumen de etanol exportado (kg) en los últimos años.



Fuente: Cámara de Exportadores de San Cruz, 2016.

Cabe recordar, Bolivia consume actualmente sólo el 5% de la producción nacional de etanol. Casi el 70% de la producción nacional de este producto está destinada para el mercado europeo (Francia, Italia y Países Bajos). Dentro de Latinoamérica, Chile y Colombia son los principales consumidores (IBSE, 2016).

1.3Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- Obtener experimentalmente Bioetanol a partir de los residuos lignocelulósicos de la explotación del Banano en la región del Chapare-Cochabamba.

1.3.2 Objeticos específicos

- Caracterizar la materia prima para obtener experimentalmente Bioetanol a partir de los residuos de la explotación del Banano.
- Seleccionar el proceso para obtener experimentalmente Bioetanol a partir de los residuos de la explotación del Banano.
- Realizar la parte experimental para la obtención de Bioetanol a partir de los residuos de la explotación del Banano.
- Presentar, analizar los resultados de la obtención experimental de Bioetanol a partir de los residuos de la explotación del Banano.
- Realizar balance de masa y energía para obtener experimentalmente Bioetanol a partir de los residuos de la explotación del Banano.

1.4Justificación

La generación, el transporte y el consumo de las energías convencionales tienen, como toda actividad antrópica, un impacto sobre el medio, y puede argumentarse que están en el origen de algunos de los mayores problemas ambientales que sufre el planeta como el cambio climático y la lluvia acida. Sin llegar a decir que esos efectos no existen en las energías renovables, sí es cierto, en cambio, que son infinitamente menores y siempre reversibles (Merino, L. 2015).

Desarrollar el aparato productivo de una determinada región, implica generalmente la implementación de determinadas técnicas, tecnologías. Con emprendimientos como éste, se considera como aprovechar al máximo los recursos naturales como materia prima para la producción de biocombustibles; y a la vez poder ser parte de esa continua investigación de fuentes de energía alternativas.

Los desechos de cualquier índole, como desechos tienen poco, o ningún valor monetario. Pero si estos se tratan como materia prima para producir un determinado producto, los desechos se convierten eventualmente en materia prima que proporcionaría réditos económicos. Es una buena oportunidad, el aprovechar la biomasa remanente de actividades agrícolas, considerando la demanda creciente de biocombustibles.

Si hay materia prima disponible, más aún si ésta se encuentra sin ningún uso, ¿por qué no usarla? En Bolivia la producción de banano se va incrementando a través de los años, y por consiguiente, también se va incrementando los desechos, producto de la misma. Una alternativa a estos desechos es darle valor agregado mediante la conversión de esta materia prima de relativo bajo costo en bioetanol.

El país tiene que adecuarse a la tendencia global del uso de biocombustibles, mediante decretos, leyes, etc., los cuales permitan hacer uso de estos combustibles de manera sostenida. En la actualidad casi todos los países de sudamérica tienen reglamentaciones para el uso de estas energías alternativas, y así evitar dependencia exclusiva de los combustibles fósiles.

Mediante el presente proyecto de graduación se busca contribuir a la búsqueda de fuentes alternativas de sustentabilidad energética mediante la producción de bioetanol a través del uso de recursos renovables y consecuente disminución de contaminación medioambiente.

CAPÍTULO II
MARCO TEÓRICO

MARCO TEÓRICO

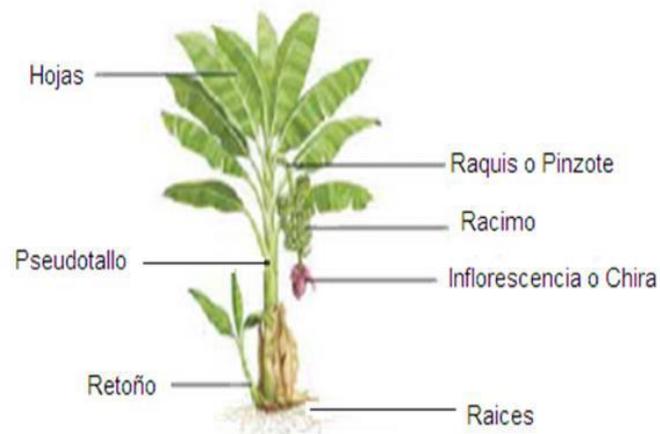
2.1 El Plátano

El nombre científico “*musa paradisiaca*” y los nombres comunes banano, banana, plátano, cambur, topocho, maduro y guineo hacen referencia a un gran número de plantas herbáceas del género *Musa*, tanto híbridos obtenidos horticulturalmente a partir de las especies silvestres del género *Musa acuminata* y *Musa balbisiana* como cultivares genéticamente puros de estas especies (wikipedia. 2016).

2.2 Aspecto botánico del banano

La planta de banano está conformada por raíz, pseudotallo, raquis, hojas, racimo, e inflorescencia como se describe en la Figura.

Figura 2-1 Esquema de la planta de banano.



Fuente: Espinoza, 2013.

El pseudotallo del plátano mide 2-5 m, y su altura puede alcanzar 8 m con las hojas. Los frutos son bayas falsas sin semillas, cilíndricos distribuidos en manos de racimos de 30-70 plátanos que miden 20-40 cm de largo y 4-7 cm de diámetro, las partes de la platanera: hojas, frutos, rachis, bellota y pseudotallo se pueden observar en la figura (Espinoza, 2013).

2.3 Constituyentes de los residuos lignocelulósicos del banano

Celulosa, hemicelulosa y lignina son los tres mayores componentes de la biomasa lignocelulósica; con cantidades que pueden variar según el tipo de biomasa (Chundawat, 2011).

Los componentes lignocelulósicos se caracterizan por estar formados mayoritariamente por polisacáridos (celulosa, hemicelulosas) y lignina. Son un conjunto de materiales, de origen vegetal, que poseen similitudes en su composición química. Considerados como materias primas, los materiales lignocelulósicos destacan por su abundancia, bajo coste y carácter renovable (Rivera, 2012).

2.3.1 Celulosa

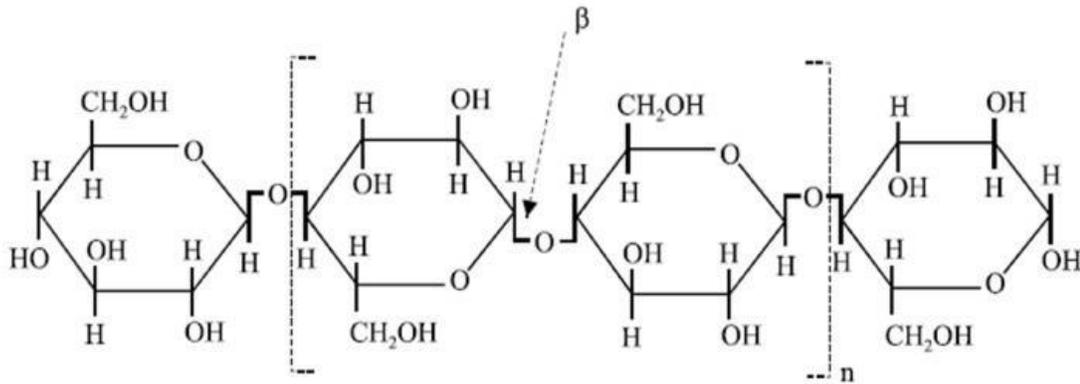
La celulosa es una macromolécula compleja, compuesta de cadenas β -1,4-glucosídicos lineales que están empaquetadas dentro de microfibras (3 a 5 nm de diámetro) mantenidas fuertemente unidas mediante enlaces intermoleculares (Chundawat et al., 2011).

La celulosa es el principal componente de las paredes celulares de los árboles y otras plantas. Es una fibra vegetal que al ser observada en el microscopio es similar a un cabello humano, cuya longitud y espesor varía según el tipo de árbol o planta. Las fibras de Algodón, por ejemplo, tienen una longitud de 20-25 mm., las de Pino 2-3 m. y las de Eucalipto 0.6-0.8 mm. De igual manera, el contenido de celulosa varíe según el tipo de árbol o planta que se considere.

Desde el punto de vista bioquímico, la celulosa $(C_6H_{10}O_5)_n$ con un valor mínimo de $n = 200$, es un polímero natural, constituido por una larga cadena de carbohidratos polisacáridos. La estructura se forma por la unión de moléculas de β -glucosa a través de enlaces β -1,4-glucosídico, lo que hace que sea insoluble en agua. La celulosa tiene estructura lineal o fibrosa, en la que se establece múltiples puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de distintas cadenas yuxtapuestas de glucosa, haciéndolas muy resistentes e insolubles al agua. De esta manera, se originan fibras compactas que

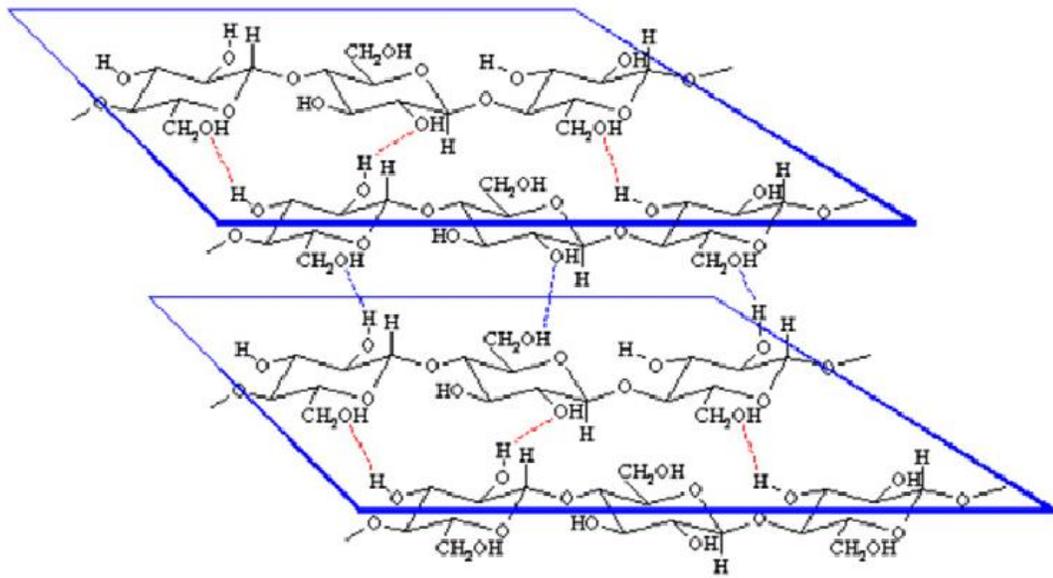
constituyen la pared celular de las células vegetales, dándoles así la necesaria rigidez (Química y tecnología de macromoléculas, 2016).

Figura 2-2 Estructura molecular de la celulosa.



Fuente:Química y tecnología de macromoléculas. (2016).

Figura 2-3 Enlaces de hidrógeno que permiten al polímero de celulosa un ordenamiento paralelo.



Fuente:Harmsen, Huijgen, Bermudez et al., 2010.

2.3.1.1 Reacciones de la celulosa

Hemos visto que las uniones glicosídicas de la celulosa se rompen por la acción de un ácido, con lo que cada una de sus moléculas genera muchas de D-(+)-glucosa. Aquí se verán brevemente las reacciones de la celulosa que dejan su cadena esencialmente intacta. Cada unidad de glucosa tiene en la celulosa tres grupos -OH libres: son éstas las posiciones donde ocurren las reacciones.

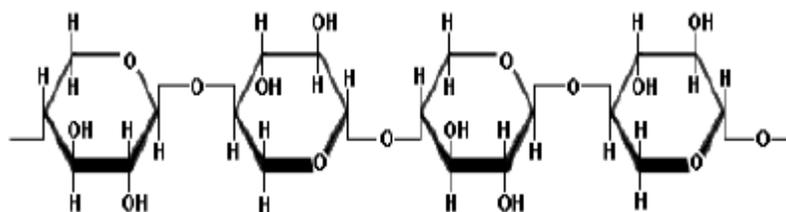
Estas reacciones de la celulosa, que se realizan para modificar las propiedades de un polímero asequible, barato y ya terminado, son de enorme importancia industrial (Morrison y Boyd, 1998).

2.3.2 Hemicelulosa.

La hemicelulosa son carbohidratos de estructura compleja constituidos por diferentes tipos de polímeros de pentosas (como xilosa y arabinosa), hexosas (manosa, glucosa y galactosa) y otros. La hemicelulosa se encuentra en la pared celular de las plantas, tienen diferente composición y estructura dependiendo de su fuente. Un aspecto importante de la composición de la hemicelulosa, es la carencia de estructuras cristalinas debido a la estructura sumamente ramificada y también a la presencia de grupos acetilo conectados a la cadena del polímero (Harmsen, Ramirez y Petter, et al. 2010).

En contraste con la celulosa, la cual es cristalina, fuerte y resistente a la hidrólisis, las hemicelulosas son estructuras aleatorias, amorfas con pequeña solidez; de acuerdo a (Chundawat et al., 2011) fácilmente hidrolizables en ácidos o bases diluïdos.

Figura 2-4 Estructura molecular plana de la hemicelulosa.



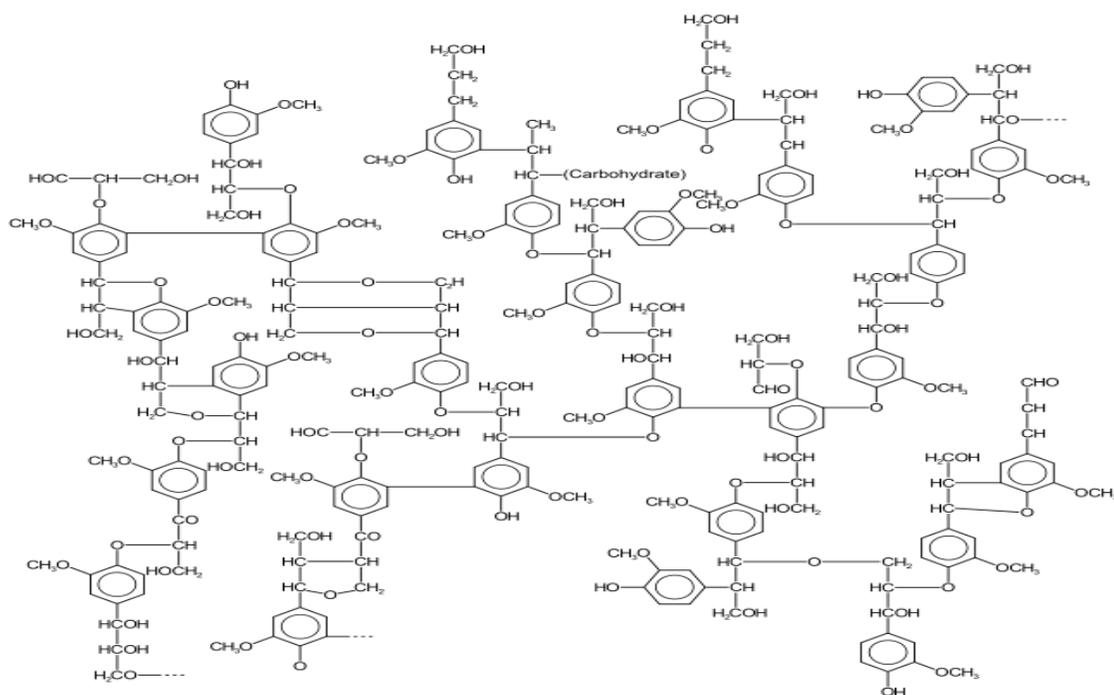
Fuente: Espinoza, 2013.

2.3.3 Lignina

La lignina es el polímero natural más complejo. Puede considerarse una red polimérica tridimensional al azar, formada por unidades de fenilpropano unidas entre sí en diferentes posiciones (Harmsen, Ramirez y Petter, et al. 2010).

La lignina es uno de los biopolímeros más abundantes en las plantas y junto con la celulosa y la hemicelulosa conforma la pared celular de las mismas en una disposición regulada a nivel nano-estructural, dando como resultado redes de lignina-hidratos de carbono. La composición o distribución de los tres componentes en esas redes varía dependiendo del tipo de planta. (Sustainable Forestry for Bioenergy & Bio-based Products, 2007).

Figura 2-5 Estructura molecular de la lignina



Fuente: Espinoza, 2013.

2.3.4 Otras sustancias

No forman parte de la estructura de la pared vegetal, y la mayoría son solubles en solventes neutros. Los componentes solubles en solventes neutros, representan entre el 4-10% del peso seco de la madera. Hay una gran variedad de compuestos orgánicos, grasas, ceras, alcaloides, proteínas, fenoles simples y complejos, azúcares simples, pectinas, mucílagos, gomas, resinas, terpenos, etc. Actúan como intermediarios metabólicos, reserva de energía o parte de los mecanismos de defensa contra los ataques microbianos. Contribuyen al color, olor y resistencia al marchitamiento. Las cenizas, son residuos inorgánicos que permanecen después de quemar la biomasa a altas temperaturas, suelen ser menos del 2% de peso seco de los residuos lignocelulósicos.

Tabla II-1 Contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina en diferentes residuos.

Residuo lignocelulósico	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)
Madera dura	40 - 55	24 - 40	18 - 25
Madera blanda	45 - 50	25 - 35	25 - 35
Cascara de nuez	25 - 30	25 - 30	30 - 40
Mazorca de maíz	45	35	15
Pasto	25 - 40	35 - 50	10,0 - 30
Papel	85 - 99	0	0 - 15
Paja de trigo	30	50	15
Hojas	15 - 20	80 - 85	0
periódicos	40 - 55	25 - 40	18 - 30
Waste papers from chemical puls	60 - 70	10,0 - 20	5,0 - 10

Fuente: Saha, 2003.

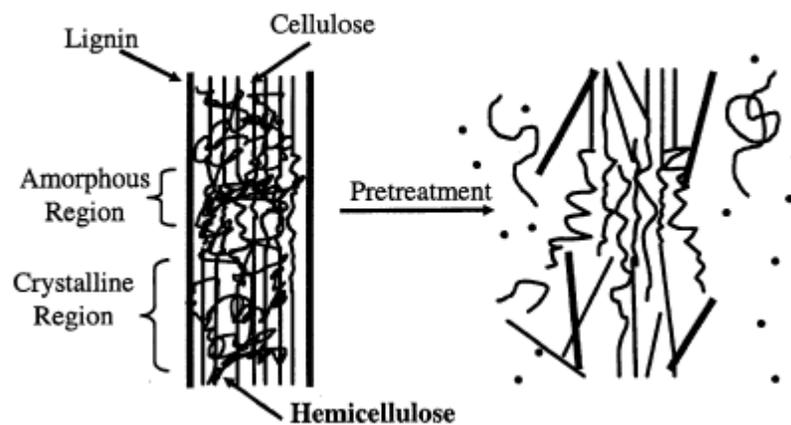
2.4 Producción de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica.

El bioetanol es el mayor biocombustible renovable reconocido como un potencial sustituto a los combustibles derivados del petróleo. El bioetanol puede ser producido a partir de material lignocelulósico por diferentes métodos; pero, que conllevan etapas parecidas: pretratamiento (a veces no es necesario), hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa a monómeros de glucosa, fermentación y recuperación del producto. La mayor diferencia entre los métodos, tiene que ver con la fase de la hidrólisis; la cual puede ser realizada con ácido diluido, ácido concentrado o enzimáticamente (Verardi, De Bari y Ricca, et al.2010).

2.4.1 Pretratamiento de residuos lignocelulósicos.

La siguiente figura muestra los efectos del pretratamiento en el material lignocelulósico.

Figura 2.6 Efecto del pretratamiento de la biomasa lignocelulósica.



Fuente: Harmsen, Huijgen, Bermudez et al., 2010.

2.4.1.1 pretratamientos físicos

El primero en considerarse es la molturación, mediante el cual se produce la reducción de tamaño del residuo y con ello la cristalinidad de la celulosa, a la vez que se incrementa la superficie de ataque hidrolítico. Mediante este proceso se consigue incrementar la digestibilidad de la biomasa pero conlleva un consumo de energía que

es tanto mayor cuanto más dura es el residuo lignocelulósico y más pequeño el tamaño final. (Sun, & Cheng, 2002; Romero, 2006).

La pirólisis también se ha utilizado como pretratamiento, al calentar el residuo a temperaturas mayores de 300 °C se producen gases combustibles y un residuo carbonoso. La descomposición es mucho más lenta y productos menos volátiles son formados a bajas temperaturas (Sun, Y. & Cheng J., 2002). El proceso de pirólisis puede mejorarse si se añade $ZnCl_2$ o Na_2CO_3 . (Romero, 2006).

2.4.1.2 Pretratamiento físico-químico

2.4.1.2.1 Autohidrólisis (explosión de vapor)

El método consiste en tratar, la biomasa molturada, con vapor saturado a alta presión durante algún tiempo; luego la presión se reduce rápidamente, con lo cual se produce la explosión de las fibras del material lignocelulósico. En la explosión de vapor, el material, es generalmente llevado a una temperatura de 160-260 °C (correspondiendo a una presión de 0.60-4.83 MPa) por muchos segundos o algunos minutos antes de que la presión sea reducida a la atmosférica. El proceso provoca la degradación de la hemicelulosa y la transformación de la lignina debido a la alta temperatura; así, mejorando la realización de la hidrólisis (Sun, & Cheng, 2002).

Las ventajas del proceso:

- Menor consumo de energía comparado al método mecánico.
- No produce desechos que dañen al medio ambiente.

Las desventajas del proceso:

- Destrucción de una parte de los xilanos del material lignocelulósico.
- No rompe completamente la estructura lignina-celulosa.
- Puede generar agentes inhibidores para la posterior hidrólisis y fermentación.

2.4.1.2.2 Proceso AFEX

AFEX es otro tipo de pretratamiento físico-químico, en el cual el material lignocelulósico es expuesto a amoníaco líquido a temperaturas y presiones elevadas

por un determinado tiempo, para luego bajar la presión rápidamente. El proceso es semejante al de “explosión de vapor” (Sun, & Cheng, 2002).

2.4.1.2.3 Explosión con CO₂

El proceso es similar a los dos anteriores. Explosión con CO₂ también es usado para el pretratamiento de material lignocelulósico.

El rendimiento es relativamente bajo comparado con el proceso de “explosión de vapor” o “AFEX” ; pero definitivamente mejor, a uno que no tiene pretratamiento alguno. (Sun, & Cheng, 2002).

2.4.1.3 Pretratamiento químico

2.4.1.3.1 Ozonólisis

El ozono se emplea para oxidar la lignina de los diferentes materiales lignocelulósicos y es capaz de eliminar la mayor parte de la lignina aunque también ataca levemente a la hemicelulosa. Este proceso tiene las siguientes ventajas e inconvenientes:

- Elimina lignina
- No origina productos inhibidores de la hidrólisis y fermentación.
- El proceso tiene lugar a presión y temperatura ambiente.
- Se requiere una gran cantidad de ozono, lo que encarece el proceso.

También pueden deslignificarse los residuos por oxidación de la lignina con otros agentes oxidantes o mediante o mediante enzimas lignolíticas. (Sun, & Cheng, 2002; Romero, 2006).

2.4.1.3.2 Prehidrolisis ácida

Hidrólisis de masa lignocelulósica en ácidos minerales es uno de los métodos importantes, empleado para separar lignina y monosacaridos de la masa lignocelulósicos. El proceso depende de la concentración del ácido y de la temperatura (Horst, Ramirez, & Petter, 2011)

En ocasiones, previo a la hidrólisis enzimática, se realiza una hidrólisis ácida que se considera como pretratamiento.

Los ácidos sulfúrico y clorhídrico, en disoluciones concentradas, son muy efectivos para el tratamiento de los residuos lignocelulósicos pero son peligrosos y deben ser recuperados para hacer el proceso rentable y proteger el medio ambiente.

La utilización de éstos ácidos concentrados a bajas temperaturas conlleva altas conversiones de las fibras en sus azúcares individuales pero se obtienen bajas concentraciones de éstos porque son degradados por acción del ácido, por ello es más efectivo el tratamiento con disoluciones diluidas y altas temperaturas.

Cuando solo se desea disolver la hemicelulosa se emplean disoluciones diluidas y condiciones suaves. Los pretratamientos con ácidos diluidos pueden ser de dos tipos; alta temperatura (mayor 160 °) en procesos continuos y contenido de sólidos entre el 5 y el 10% y baja temperatura (menor de 160 °C) en procesos discontinuos y contenido de sólidos entre el 10 y el 40%.

El proceso de prehidrólisis ácida tiene una rentabilidad menor que los pretratamientos anteriores y requiere neutralizar el ácido. (Sun, & Cheng, 2002; Romero, 2006).

2.4.1.3.3 Prehidrolisis alcalina

Algunas bases pueden ser usadas para pretratamiento de material lignocelulósico, el efecto del pretratamiento alcalino depende del contenido de lignina de la biomasa. Se cree que el mecanismo de la hidrólisis alcalina tiene que ver con la saponificación de los enlaces intermoleculares de los ésteres existentes entre la hemicelulosa de xilanos y otros componentes; por ejemplo, entre lignina y otras hemicelulosas. Tratar el material lignocelulósico con NaOH diluido, causa hinchazón; llevando esto a un aumento del área de la superficie interna, una disminución en el grado de polimerización, una disminución de la materia cristalina, separación de los enlaces estructurales entre la lignina y carbohidratos, y desbaratar la estructura de la lignina(Sun & Cheng, 2002).

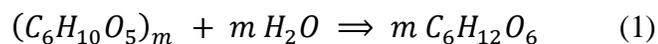
2.4.1.4 Pretratamiento biológico

En este tratamiento el material lignocelulósico se somete a la acción de determinadas enzimas ó micro organismos, como los hongos de podredumbre blanca, marrón o blanda. El objetivo es degradar la lignina y la hemicelulosa, eliminando las barreras que protegen la celulosa y haciendola más accesible al posterior ataque enzimático, por lo que generalmente se hace necesario hacer primero un tratamiento con hongos y posteriormente con enzimas(Sánchez et al., 2010).

2.5 Hidrólisis

Los polímeros de carbohidrato en el material lignocelulósico necesitan ser convertidos a azúcares simples (monómeros de glucosa) antes del proceso de fermentación, a esta etapa se le denomina “hidrólisis”. Muchos productos pueden resultar de la hidrólisis. Hay muchos métodos de hidrolizar materia lignocelulósica. Los métodos comúnmente aplicados pueden dividirse en dos grupos: hidrólisis química e hidrólisis enzimática. Celulosa y hemicelulosa pueden ser convertidos a etanol, mientras que la lignina permanece como residuo(Taherzadeh y Karimi, 2007).

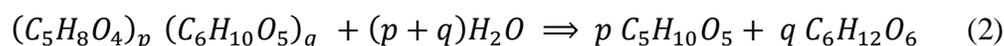
Ecuación simplificada de la hidrólisis de la celulosa (Wade, Jr.,2004).



Celulosa

D-glucosa

Ecuación simplificada de la hidrólisis de la hemicelulosa(Wade. Jr..2004).



hemicelulosa

pentosas

hexosas

2.5.1 Hidrólisis con ácido concentrado

Hidrólisis de material lignocelulósico por acción de ácido sulfúrico o ácido clorhídrico es relativamente un proceso antiguo. En 1819 fue descubierto que la

celulosa puede ser convertido en azúcares fermentables mediante el empleo de ácido concentrado.

Procesos de hidrólisis con ácido concentrado son generalmente reportados de proporcionar un alto rendimiento de azúcar (ejemplo, 90% de la glucosa teórica) y buena producción de etanol posteriormente; esto, comparado con el empleo de ácido diluido. Además, los procesos con ácido concentrado pueden operar a bajas temperaturas (40 °C), el cual es una clara ventaja a los procesos de ácido diluido. Sin embargo, la concentración del ácido es muy alta en este método (30-70%), disolver y calentar el ácido concentrado durante el proceso de hidrólisis hace que sea extremadamente corrosivo. El proceso requiere de material con alta capacidad anticorrosiva, los cuales resultan en precios elevados. La recuperación del ácido es un proceso que demanda gasto de energía. Además, el impacto ambiental limita el uso de ácidos (Taherzadeh y Karimi, 2007).

2.5.2 Hidrólisis con ácido diluido

Entre los métodos de hidrólisis química, hidrólisis con ácido diluido es probablemente el de mayor uso. Es un método que bien puede ser usado como un pretratamiento que precede a la hidrólisis enzimática; o bien, como método de hidrolizar el material lignocelulósico a azúcares simples.

Una desventaja importante en los procesos de hidrólisis con ácido diluido, particularmente en el proceso de una sola etapa, es la formación de subproductos indeseables. Esto, no solamente disminuye la producción de azúcares simples; sino también que estos subproductos inhiben la formación de etanol durante el proceso de fermentación. Algunos de estos potenciales inhibidores son: furfural, ácido levulínico, ácido fórmico, ácido urónico, ácido vanílico, fenol, formaldehído, etc.

Para evitar la degradación de los monosacáridos a altas temperaturas y formación de inhibidores, hidrólisis con ácido diluido es llevado a cabo en dos etapas. En la primera etapa es llevada a cabo bajo condiciones relativamente suaves, hemicelulosa es convertida a azúcares simples. Esta etapa es equivalente a una “etapa de

pretamiento con ácido diluido”. En la segunda etapa el sólido residual es hidrolizado bajo condiciones relativamente más severas, permitiendo a la celulosa ser hidrolizada (Tahezadeh y Karimi, 2007).

El proceso de hidrólisis en dos etapas es usualmente preferido; y no tanto así la hidrólisis en una sola etapa, éstas las razones:

- Las etapas separadas para la hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa debería resultar en mayor rendimiento de azúcares simples. Producto con un alto contenido de azúcar de hexosas puede ser obtenido en la segunda etapa de hidrólisis, el cuál, fácilmente puede ser convertido a etanol. Mezcla de pentosas y hexosas son frecuentemente problemáticas para la fermentación, debido a la dificultad que presentan las pentosas en la fermentación.
- El consumo de energía se minimiza, debido a que el líquido se desecha antes de la segunda hidrólisis.
- La resultante disolución de azúcares simples es más concentrada.
- Menos componentes inhibidores son formados durante el proceso de hidrólisis por dos etapas.

Tabla II-2 Comparación entre método de hidrólisis con ácido concentrado e hidrólisis con ácido diluido.

Método de hidrólisis	Ventajas	Desventajas
Proceso con ácido concentrado	<ul style="list-style-type: none"> • Operado a baja temperatura • Buena producción de azúcar 	<ul style="list-style-type: none"> • Alto consumo de ácido • Equipo resistente a la corrosión • Tiempo de reacción largo (2-6 h)
Proceso con ácido diluido	<ul style="list-style-type: none"> • Bajo consumo de ácido • Tiempo de residencia corto 	<ul style="list-style-type: none"> • Operado a alta temperatura • Menor producción de azúcar • Equipo resistente a la corrosión

Fuente: Horst, Ramirez, & Petter, 2011.

2.5.3 Hidrólisis enzimática

Otro método básico de hidrólisis es la hidrólisis enzimática.

La hidrólisis enzimática de la celulosa es realizada por las enzimas celulasas, las cuales son altamente específicas. El producto de la hidrólisis son los azúcares reductores incluyendo la glucosa. El costo de las utilidades de la hidrólisis enzimática es bajo comparado con la hidrólisis ácida o hidrólisis básica, esto debido a que la hidrólisis enzimática se lleva a cabo en condiciones suaves; pH 4.8, 50 °C, y no presenta problemas de corrosión. Tanto las bacterias como los hongos pueden producir celulasas para la hidrólisis del material lignocelulósico. Estos

microorganismos pueden ser aeróbios o anaeróbios, mesófilos o termófilos (Sun & Cheng,2002).

Entre las ventajas de hidrólisis enzimática podemos mencionar:

- Bajo consumo de energía
- No es necesario recipientes anticorrosivos
- Buena producción de azúcar
- No produce desechos nocivos

Algunas desventajas a considerar:

- Esterilización de equipos, herramientas para manipular los microorganismos
- Conocimiento para cultivar los microorganismos.

2.6 Obtención de etanol

El alcohol se obtiene a partir de procesos de fermentación; o también, mediante el proceso de síntesis de compuestos encontrados en el petróleo. Este trabajo se enfoca en los procesos de fermentación.

2.6.1 Fermentación

Una fermentación se define como un proceso mediante el cual materia orgánica (sustrato) sufren un conjunto de cambios químicos (reducciones y oxidaciones) que producen energía. Al finalizar la fermentación, se presenta una acumulación de varios productos, unos más oxidados y otros más reducidos que el sustrato, con un balance de energía positivo. Esta energía es empleada en el metabolismo de los microorganismos (Espinoza, 2013).



La descomposición del sustrato (azúcares simples) es llevada a cabo por enzimas que son producidas por microorganismos. *Sacharomyces Cerevisiae* (levadura) es un organismo usado ampliamente en convertir azúcar en etanol, el cual se emplea para la producción de biocombustibles y bebidas. A pesar de la importancia de este

microorganismo, restricciones fisiológicas, que limitan el máximo rendimiento del microorganismo *Saccharomyces Cerevisiae*, no están completamente comprendidas.

Los azúcares se pueden encontrar como monosacáridos en dilución o como polisacáridos en forma sólida. Los primeros son directamente fermentables por las levaduras, mientras los segundos deben liberarse previamente de la estructura cristalina para poder ser fermentables (Romero, 2006).

Tabla II-3 Fuentes para producir bioetanol.

Fuentes importantes de:		
Azúcares	Almidón	Celulosa y hemicelulosa
caña de azúcar	cereales	madera
melaza de frutas	patatas	residuos agrícolas
remolacha azucarera	verduras	residuos de papel
		residuos sólidos urbanos

Fuente: Romero, 2006.

2.6.1.1 Fermentación de la glucosa: oxidación y producción de ATP

“La degradación de la glucosa se la puede dividir en tres etapas. La etapa I es un conjunto de reacciones de re-acomodación que no implica reacciones de oxidoreacción y no hay liberación de energía, pero que conduce a la producción de dos moléculas de un compuesto intermedio, el gliceraldehído-3-fosfato. Posteriormente en la etapa II, hay reacción óxido-reducción, se produce un enlace fosfato alto en energía en forma de ATP y se forman dos moléculas de piruvato. En la etapa III, se produce una segunda reacción óxido-reducción; en esta etapa se forman los productos de la fermentación (etanol y dióxido de carbono). La vía metabólica de la glucosa a piruvato se denomina glucólisis.(ruptura de la glucosa) que también se le llama vía de Embder-Mayerhof, por su descubridor (Nieto, 2009).

Inicialmente la glucosa es fosforilada por el ATP produciendo glucosa-6-fosfato, éste se convierte en un isómero, y una segunda fosforilación conduce a la formación fructosa-1,6-difosfato, que es el producto intermedio. La enzima aldosa cataliza la

división de la fructosa-1,6-difosfato en dos moléculas de tres carbonos, el gliceraldehido-3-fosfato y su isómero de la dihidroxiacetona fosfato. Hasta el momento no ha habido reacciones de óxido reacción; todas las reacciones incluyen el consumo de ATP, han precedido sin transferencia de electrones. La única reacción de oxidación de la glicólisis ocurre en la conversión de gliceraldehido-3-fosfato al ácido 1,3-difosfoglicérico. En esta reacción (que ocurre dos veces en cada molécula), una enzima que actúa en la coenzima NAD^+ acepta dos átomos de hidrógeno y se convierte en NADH. Simultáneamente cada molécula de gliceraldehido-3-fosfato se fosforila por adición de una molécula fosfato inorgánico se ha convertido en orgánico, sienta las bases para el siguiente, el paso en el cual el ATP es formado realmente. La formación de enlaces de alta energía es posible debido a cada uno de los fosfatos de una molécula de ácido 1,3-difosfoglicérico representa un fosfato de alta energía. La síntesis del ATP tiene lugar cuando cada molécula de ácido 1,3-difosfoglicérico, se convierte en ácido 3-fosfoglicérico, y posteriormente, vía enzima enolasa se produce el fosfoenolpiruvato, luego cada molécula de fosfoenolpiruvato se convierte en piruvato.

En la glicólisis se consumen dos moléculas de ATP en las dos fosforilaciones de la glucosa y se sintetizan cuatro de ATP (dos moléculas a partir de cada ácido 1,3-difosfoglicérico que se convierte en piruvato). Así la ganancia neta para el organismo es de dos moléculas de ATP por molécula de glucosa fermentada” (Nieto, 2009).

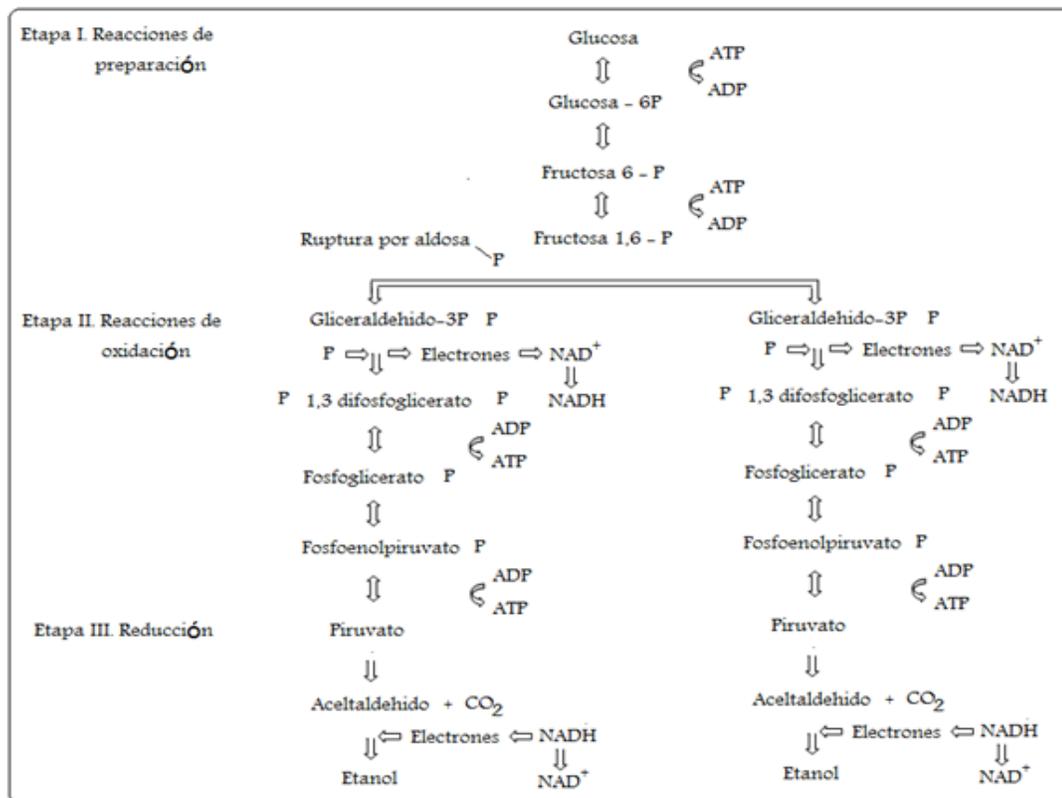
2.6.1.2 Fermentación de la glucosa: etapa reductora

“Durante la formación de las dos moléculas de ácido 1,3-difosfoglicérico se redujeron dos NAD^+ a NADH. Sin embargo la célula tiene un suministro ilimitado de NAD^+ , y si todo se convierte en NADH, se detendría la oxidación de la glucosa; la solución continuada el gliceraldehido-3-fosfato sólo puede proceder si hay una molécula de NAD^+ que pueda aceptar los electrones liberados. Este impedimento se salva en la fermentación por la reoxidación de NAD^+ y NADH a través de las reacciones que incluyen la reducción del piruvato a los diversos productos de la fermentación, en el caso de la levadura, el piruvato se reduce a etanol con liberación de dióxido de

carbono. Existen muchas rutas para reducir el piruvato pero el resultado es el mismo; el NADH debe regresar a la forma oxidada NAD^+ para que las reacciones productoras de energía de la fermentación continúen. Como una coenzima difusible, el NADH se puede separar de la enzima que oxida el gliceraldehído-3-fosfat, unirse a una enzima que reduzca el piruvato a ácido láctico, y difundirse de nuevo para continuar la conversión a NAD^+ a fin de repetir una vez más el ciclo.

En cualquier proceso que produzca energía, la reacción debe balancear la reducción y debe haber un aceptor de electrones por cada electrón eliminado. En este caso, la reducción del NAD^+ en una etapa enzimática se acopla a otra. El producto final debe estar en equilibrio de oxidación-reducción en el sustrato inicial, la glucosa. Por esto el etanol y dióxido de carbono están en equilibrio eléctrico con la glucosa” (Nieto, 2009).

Figura 2.7 Vía de Embden-Meyerhof, secuencia de reacciones enzimáticas en la conversión de la glucosa a piruvato y luego a productos de fermentación.



Fuente: Nieto, 2009.

2.6.2 Levaduras

2.6.2.1 Introducción

las levaduras por definición son hongos unicelulares, usualmente de forma ovalada, con estados vegetativos que se reproducen predominantemente por gemación o fisión, dando como resultado un crecimiento unicelular; aunque algunas pueden ser dimorfas o bifásicas y crecer como micelio bajo condiciones ambientales apropiadas (Ochoa y Vázquez-Juarez, 2004).

2.6.2.2 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae es la especie de levadura más estudiada y químicamente mejor comprendida. Es bien conocido por el papel que desempeña en la producción de etanol a nivel industrial. Esta levadura convierte los azúcares fermentables en etanol, dióxido de carbono, y una variedad de compuestos incluyendo alcoholes, ésteres, aldehídos y ácidos (Yalcin & Ozbas, 2008).

Son organismos que no representan grandes riesgos a la hora de ser manipulados; no es exigente en cuanto a su cultivo, no representa alto costo, tolera altas concentraciones de etanol. En la fermentación produce bajos niveles de subproductos, es osmotolerante, capaz de utilizar altas concentraciones de azúcares. Presenta alta viabilidad celular para el reciclado y características de floculación y sedimentación para el proceso posterior (Fajardo y Sarmiento, 2007).

Tabla II-4 Clasificación taxonómica de *Saccharomyces*

Reino	Hongo
División	Amastogomycota
Clase	Ascomycetes
Subclase	Hemiascomycetidae
Orden	Endomycetales
Familia	Saccharomycetaceae
Subfamilia	Saccharomycetidae
Género	<i>Saccharomyces</i>
Especie	<i>Cerevisiae</i>

Fuente: Fajardo y Sarmiento, 2007

2.6.2.3 Morfología de la levadura

2.6.2.3.1 Forma y tamaño

son esféricas, elípticas y cilíndricas su tamaño varía notablemente; en cuanto a la *Saccharomyces Cerevisae*, su diámetro oscila entre 2 a 8 micras (Nieto, 2009).

2.6.2.3.2 Estructura celular

Una célula de levadura está incluida en una pared celular y por una membrana citoplasmática en la que contienen un núcleo, una vacuola y numerosos gránulos y glóbulos de grasa. No contiene flagelos u otros órganos de locomoción. La pared celular está integrada por polímeros de glucosa y manosa, con cantidades pequeñas de proteínas, lípidos y quitina (Nieto, 2009).

2.6.2.4 Fisiología de las levaduras

2.6.2.4.1 Requerimientos nutricionales

Saccharomyces cerevisiae requiere ciertos algunos nutrientes y algunas condiciones ambientales para un adecuado crecimiento y reproducción. Algunos nutrientes son básicamente necesarios como el carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y fósforo (Fajardo y Sarmiento, 2007).

La concentración de nutrientes puede afectar tanto a la velocidad de crecimiento, como también al rendimiento del crecimiento del organismo. El efecto que tienen la concentración de los nutrientes sobre la producción de las células se puede comprender de la siguiente manera: el nutriente se convierte en material celular, cuanto más nutrientes haya, mayor será la producción de células. La razón para reducir la velocidad de crecimiento a concentraciones muy bajas de nutriente, es porque no se puede transportar ese nutriente al interior de la célula con suficiente rapidez para satisfacer las demandas metabólicas del nutriente y la velocidad de crecimiento es proporcional a la concentración de dichos nutrientes: sin embargo, a estas concentraciones bajas, el nutriente es utilizado para la proliferación (Nieto, 2009).

2.6.3 Parámetros a controlar en el proceso de fermentación

2.6.3.1 Temperatura

Los microorganismos tienen un intervalo de temperaturas donde pueden desarrollarse de manera pésima, intermedia u óptima. A temperaturas bajas, el metabolismo celular es lento y las células paran de crecer; algunas veces suelen morir. Sin embargo, cuando la temperatura es superior a la óptima, se produce la muerte celular rápidamente; si posteriormente se baja la temperatura, los microorganismos no logran recuperar su capacidad de reproducirse.

Las levaduras pertenecen a la familia de los microorganismos mesófilos, el rango de temperatura en el cual pueden llevar a cabo el proceso de fermentación alcohólica está entre 15-35 °C aproximadamente. A mayor temperatura, mayor será la velocidad del proceso; pero se corre el riesgo de que las levaduras se agoten antes; pero, a menores temperaturas el rendimiento suele ser mayor. Arriba de 33-35°C se corre el riesgo de una contaminación bacteriana. (Romero, 2006).

2.6.3.2 Aireación

El oxígeno es importante, es necesario para poder sintetizar esteroides y ácidos grasos insaturados que son componentes principales de la membrana celular; sin estos componentes la levadura no puede salir de su estado de inactividad, ni multiplicarse.

Saccharomyces es una levadura que posee alta actividad metabólica, por lo que en un proceso fermentativo en fase aerobia produce biomasa; mientras que en un proceso anaerobio produce etanol.

La absorción de oxígeno disuelto por parte de la levadura es un proceso rápido, la absorción de azúcares es un proceso mucho más lento.

Cuando el oxígeno ya no está disponible, las levaduras se ven forzadas a hacer uso del metabolismo anaerobio, con el cual es inherente a la producción de alcohol (Curry, 2009).

2.6.3.3 pH

La concentración de iones hidrógeno es un factor importante que afecta en velocidad de crecimiento de células. En un intervalo de pH entre 4.0 a 6.0 las levaduras, tanto la velocidad de crecimiento, como también el rendimiento, se ven óptimamente favorecidas. Un cambio el pH del medio puede afectar la composición y la naturaleza de la superficie microbiana al disociarse ácidos y bases (Fajardo y Sarmiento, 2007).

2.6.3.4 Nutrientes

El medio de cultivo tiene que tener todos los nutrientes necesarios. Las levaduras necesitan los azúcares para su catabolismo (obtener energía); a la vez, también requieren otros sustratos para su anabolismo (nitrógeno, fósforo, carbono, azufre, potasio, magnesio, calcio y vitaminas (Romero, 2006).

2.6.4 Destilación

La destilación es una operación unitaria que consiste en la separación de los componentes de una mezcla líquida (en la que todos los compuestos son más o menos volátiles) por evaporación y condensación sucesivas. La separación se basa en la diferencia de volatilidades absolutas de los componentes, lo que tiene como

consecuencia la formación de un vapor de composición diferente a la del líquido del que procede (Ocon, J. 2005).

Lógicamente, cuanto mayor sea la diferencia de volatilidades mayor será la separación que se puede conseguir (Ocon, J. 2005).

Los distintos métodos empleados en la destilación se pueden clasificar en los siguientes:

2.6.4.1 destilación simple

Consiste en la evaporización parcial de una mezcla con producto de vapor más rico en componentes más volátiles que la mezcla líquida inicial quedando un residuo líquido más rico en componente menos volátiles; se puede llevar a cabo de dos maneras (Ocon, J. 2005).

2.6.4.2 Diferencial o abierta

Este método de destilación es el que se efectúa normalmente en los laboratorios cuando se trabaja sin reflujo. llenando continuamente los vapores producidos hasta un condensador. La operación se realiza calentando la mezcla líquida inicial hasta su temperatura de ebullición y retirando continuamente los vapores producidos. A medida que transcurre la operación el líquido se empobrece en componente más volátil elevándose continuamente la temperatura de ebullición de la mezcla; del mismo modo los vapores producidos son cada vez más pobre en componente más volátil y su temperatura de condensación aumenta continuamente (Ocon, J. 2005).

2.6.4.3 Cerrada o de equilibrio

En este caso el líquido se lleva a una temperatura intermedia entre la de principio y fin de ebullición, dejando que la fase vapor formada alcance el equilibrio con la fase líquida a aquella temperatura. Por aplicación de un balance de materia aplicado a todo el sistema y al componente más volátil, llegamos a la expresión (Ocon, J. 2005).

$$L/V = (y - x_o) / (x_o - x)$$

que nos da la relación entre las cantidades de líquido residual L y la cantidad de vapor V , en función de la composición inicial del líquido x_o y la composición del líquido y vapor en equilibrio a la temperatura y presión dada, x y y .

Sobre el diagrama de ebullición, construido a la presión de la operación, se leen directamente las composiciones del líquido y de vapor en equilibrio, en función de la composición del líquido inicial y de la temperatura de trabajo (Ocon, J. 2005).

También podemos mencionar otros métodos de destilación simple que son:

- Condensación parcial.
- Condensación diferencial o abierta.

2.6.4.4 Destilación por rectificación

La operación por rectificación consiste en hacer circular en contracorriente el vapor de una mezcla con el condensado procedente del mismo vapor, en un aparato denominado columna de rectificación (Ocon, J. 2005).

Las partes esenciales de una columna de rectificación son; la columna propiamente dicha, que es donde se verifica el contacto íntimo entre el líquido y el vapor; calderín, situado en la base de la columna en donde se hace hervir la mezcla a separar; y el condensador de reflujo situado en la cúspide de la columna, que se encarga de suministrar el líquido descendiente para su contacto con el vapor (Ocon, J. 2005).

Para lograr el íntimo contacto entre las fases líquidas y vapor al objeto de establecer el intercambio de materia entre ambas fases interesa que la superficie y el tiempo de contacto sean suficientes; en la práctica este contacto se logra con dos dispositivos diferentes: el de los platos de borboteo que retiene el líquido a través del cual se va a obligar a pasar el vapor, y el de los cuerpos de relleno, que llenan el interior de la columna verificándose el contacto entre las fase sobre la superficie de estos cuerpos de relleno (Ocon, J. 2005).

Podemos mencionar los siguientes procesos de destilación por rectificación:

- Rectificación continúa.

- Rectificación descontinua.
- Destilación con arrastre de vapor.

CAPÍTULO III
PARTE EXPERIMENTAL

PARTE EXPERIMENTAL

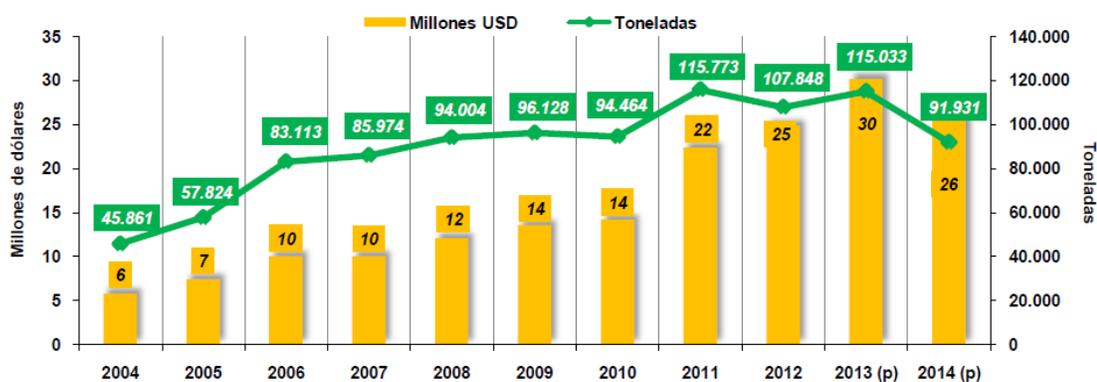
El presente trabajo de investigación aplicada ha sido desarrollado en las instalaciones del Laboratorio de Operaciones Unitarias (LOU), dependiente del Departamento de Procesos Industriales Biotecnológicos y Ambientales (DPIBA) de la Facultad de Ciencias y Tecnología.

3.1 Descripción y análisis de materias primas

La banana (*Musa Cavendishii*), más conocida en el territorio boliviano como plátano comestible crudo es una planta herbácea originaria del sudeste de Asia en las selvas de Malasia, Indonesia o Filipinas. En Bolivia se produce principalmente en el trópico de Cochabamba (Chapare), en el Norte de La paz y Santa Cruz; Este producto tradicionalmente crece en las zonas tropicales, se cree que existen casi 1000 variedades de banano en el mundo, subdivididos en 50 grupos (Ministerio de Desarrollo Productivo y Economía Plural, 2014).

La banana tarda entre 80 y 180 días en desarrollarse por completo.

Figura 3-1 Exportaciones de banana 2004-2013 y octubre 2014.



Fuente: Instituto Nacional de Estadística (INE), 2014.

La producción de banano genera gran cantidad de excedentes biomásicos (ricos en lignina, celulosa y hemicelulosa). Una planta de banano al momento de su cosecha debe tener un peso promedio de 100 kg, los cuales están repartidos en 15 kg de hojas,

50 kg de pseudotallo, 33 kg de banano y 2 kg de raquis. Esto lógicamente indica que el 67% del volumen total de producción lo constituyen los desechos que no aprovecha el hombre sistemáticamente, sino más bien es un foco de contaminación (Espinoza Cajas, 2013).

3.1.2 Recolección de muestras

Las muestras se recolectaron en el municipio de Chimoré, región del chapare cochabambino.

Figura 3-2 (arriba) Plantaciones de banano en la zona. (abajo) Desechos que quedan después de la cosecha del banano.



Fuente. Realización propia, 2016.

Los desechos provenientes de la producción del banano, es lo que constituye la materia prima para la obtención de bioetanol.

3.1.3 Análisis físico-químico de la materia prima

Tabla III-1 Composición proximal de la materia.

Parámetro	Composición %
Acidez (como ac. cítrico)	0,02
Fibra	1,97
pH (20 °C)	7,04
Azúcares totales	0,51

Fuente. CEANID, 2016.

3.2 Descripción del método de investigación.

El método a emplear en este trabajo constará de: pretratamiento alcalino, hidrólisis ácida, fermentación y destilación.

3.2.1 Pretratamiento alcalino

Para llegar a esta etapa de pretratamiento alcalino, antes se debe: lavar nuestra materia prima, reducir de tamaño, secar y el tratamiento con hidróxido de sodio.

Se debe lavar la materia prima, para deshacerse de partículas de tierras, y si las habría, algunos compuestos químicos como herbicidas por ejemplo. Luego se lo deja secando (hasta eliminar sólo el agua destilada que se usó para este fin).

Una vez retirado el agua de lavado de la materia prima, se procederá a reducir de tamaño y posteriormente se llevará a la deshidratación de la materia prima.

Para el lavado inicial, se emplea agua destilada. Para el troceado, se emplea cuchillo y tijeras. Para el secado se emplea el horno mufla del laboratorio (L.O.U) de la facultad.

Una vez que se tiene la materia prima seca, se procede al pretratamiento del material lignocelulósico con hidróxido de sodio. Una vez que se procede con el deslignificado, que es el pretratamiento, se lleva al lavado y posteriormente al secado.

Materiales y equipos

- NaOH
- Agua destilada
- Horno mufla
- Vasos de precipitación de 500 ml
- Varilla de vidrio
- Vidrio reloj
- Balanza de precisión
- Matraz de 100 ml
- Refractómetro [Rango: 0-80 °Brix; resolución: 0.1% Brix]
- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Papel filtro
- Pizeta
- Cuchillo
- Tijeras
- Jarra de plástico de 2 litros
- Recipiente metálico de 2 litros
- Estufa

3.2.2 hidrólisis ácida

Una vez que se separa la lignina (en el pretratamiento alcalino) de nuestra muestra, se procede a la hidrólisis ácida.

La hidrólisis de biomasa lignocelulósica con ácido mineral es uno de los principales métodos empleados para extraer los monosacáridos (sacarificación) de la biomasa lignocelulósica. Este proceso mucho depende de la concentración del ácido y la temperatura aplicadas. (Sun & Cheng, 2002 y Horst, Ramirez & Petter, 2011).

Para ese fin se usa H_2SO_4 en concentraciones diluidas y temperaturas elevadas. La hidrólisis se realiza en la autoclave del laboratorio.

En este proceso se realiza el diseño factorial de tres variables de dos niveles, utilizando concentración, temperatura y tiempo como variables independientes.

Materiales y equipos

- H_2SO_4
- Agua destilada
- Autoclave
- Vasos de precipitación de 500 ml
- Envases de vidrio de 800 ml
- Probeta de 250 ml
- Varilla de vidrio
- Balanza de precisión
- Refractómetro [Rango: 0-80 °Brix; resolución: 0.1% Brix]
- Peachímetro [Rango: 0-14]

3.2.3 Fermentación

El producto hidrolizado es llevado a filtración (para eliminar los residuos más grandes que podrían haber quedado) para posteriormente ser llevado a neutralización con hidróxido de sodio. El parámetro importante a controlar en nuestra solución a fermentar, es el pH.

El proceso de fermentación, es llevado a cabo por el microorganismo *Saccharomyces Cerevisae*.

Para la fermentación se usa un fermentador casero (ver anexo 1). Se adapta un recipiente de plastoforno (conservadora) como lugar donde se alcance temperaturas adecuadas para la fermentación con un foco de 40 watt como fuente de calor. Material de vidrio de laboratorio de 500 ml con salidas para el gas dióxido de carbono fueron empleados; más un recipiente de plástico con dos salidas, uno para los gases y

la otra como salida de muestra para la verificación de los diferentes parámetros a ser controlados durante el proceso de fermentación.

Materiales y equipos

- Levadura *Saccharomyces Cerevisiae*
- Equipo baño Maria
- Envase de plastoforno (adecuadas para ambiente de fermentación)
- Autoclave
- Fermentador casero 1.5, 3L
- Balón de vidrio de 500 ml
- Matraz kitasato de 500 ml
- Vaso de precipitación de 100 ml
- Refractómetro [Rango: 0-80 °Brix; resolución: 0.1% Brix]
- Termómetro [Rango: -10 a 200 °C]
- Pehachímetro
- Balanza de precisión
- Varilla de vidrio
- Manguerita de goma
- Tapones de goma
- Recipiente de plástico
- Envase de vidrio de 800 ml
- Tubo de ensayo

3.2.4 destilación

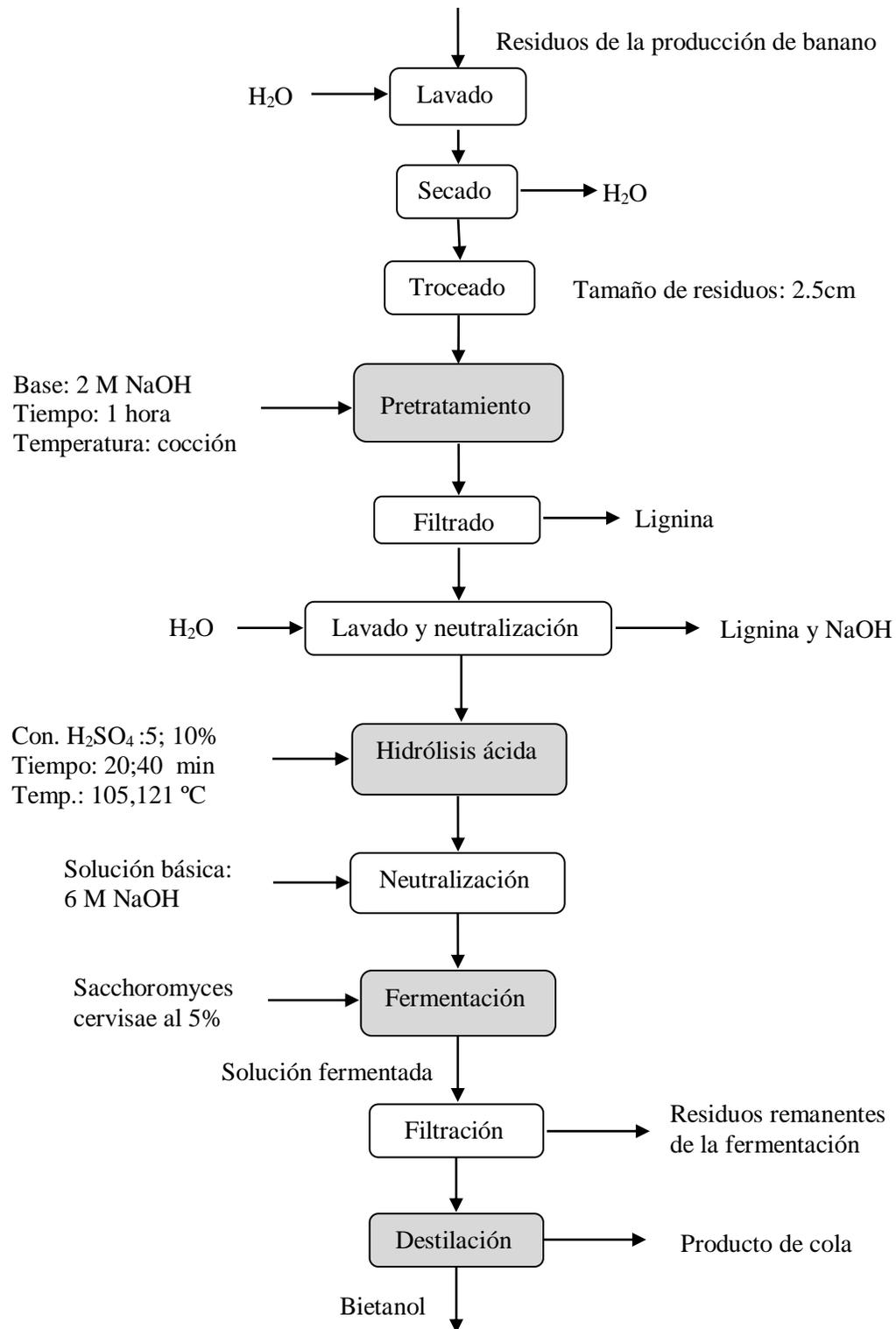
La destilación, que es el proceso físico que se emplea para separar mezclas homogéneas en fase líquida, se lleva a cabo en el rotavapor del laboratorio de operaciones unitarias de la carrera (L.O.U.)

Materiales y equipos

- Envases cerrados de plástico de 500ml

- Rotavapor
- Probeta de 50 ml
- Probeta de 250 ml
- Alcoholímetro Gay Lussac
- Equipo para obtener índice de refracción (refractómetro de laboratorio)
- Gráfica índice refractario versus grado alcohólico

Figura 3-3 Diagrama de flujo para la producción de bioetanol.



3.3 Diseño factorial

Para determinar las variables significativas en el presente trabajo experimental se plantea el diseño factorial de dos niveles y tres variables o parámetros.

Según Sun & Cheng (2002) y Horst, Ramirez & Petter(2011) la concentración del ácido y la temperatura son parámetros importantes a considerar en el proceso de sacarificación de la biomasa lignocelulósica.

En base al marco teórico realizado, en este trabajo se considera concentraciones diluidas (5 y 10% v/v), temperaturas elevadas (105 y 121 °C) y tiempo de residencia para el proceso de hidrólisis (20 y 40 min)

Tabla III-2 Parámetros para el proceso de hidrólisis

Nivel	Conc. H ₂ SO ₄ [% v/v]	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
Superior	10	121	40
Inferior	5	105	20

Fuente: Realización propia.

Para poder determinar las variables significativas en este trabajo experimental, se considera un diseño factorial de dos niveles y tres variables o parámetros.

Nº de variables: 3

Niveles: 2

Nº de experimentos: $2^3 = 8$

Considerando las combinaciones de estas variables y niveles se determinará cuál de ellas es la más significativa.

-1 = Es el valor bajo con el que se trabaja

+1 = Es el valor alto con el que se trabaja

Tabla III-3 Diseño factorial para el proceso de hidrólisis.

Pruebas	Temp. (°C)	Conc. H₂SO₄ [%v/v]	Tiempo (min)	% azúcares reductores
1	-1	-1	-1	
2	-1	+1	-1	
3	+1	-1	-1	
4	+1	+1	-1	
5	-1	-1	+1	
6	-1	+1	+1	
7	+1	-1	+1	
8	+1	+1	+1	

Fuente: Realización propia.

En la tabla III-3 se muestran las ocho pruebas con las tres variables independientes con sus valores bajos y altos, además de la variable respuesta (% azúcares reductores).

Tabla III-4Datos para el diseño factorial para el proceso.

Pruebas	Temp. (°C)	Conc. H₂SO₄ [%v/v]	Tiempo (min)	% azúcares reductores
1	105	5	20	
2	105	10	20	
3	121	5	20	
4	121	10	20	
5	105	5	40	
6	105	10	40	
7	121	5	40	
8	121	10	40	

Fuente: Realización propia.

En la tabla III-4 se muestra las variables con sus respectivos datos concretos para el diseño factorial en el proceso de hidrólisis.

3.4 Procedimientos empleados para la obtención de bioetanol

3.4.1 Lavado, troceado y secado

Se empieza haciendo una ligera lavada a nuestra materia prima, para luego trocearlo hasta una medida de 2.5 cm o menos. Después de la reducción de tamaño, se procede al secado a 40 °C por 72 horas.

Figura 3-4 Reducción de tamaño del material lignocelulósico:
a) tallo floral, b) raquis, c) pseudotallo, d) hojas





Fuente: Realización propia.

En principio la materia prima tiene una humedad entre 80 - 90 % como promedio. Después del secado su humedad se reduce al 5- 10 %; y su aspecto físico es parecida a la leña seca. En vista de que hay un gran porcentaje de humedad, esta etapa tiene que ver más que todo con la eliminación de agua.

3.4.2 Pretratamiento alcalino

El pretratamiento consiste en el aflojamiento de la estructura del material lignocelulósico. La lignina es uno de los componentes de la biomasa lignocelulósica que se encarga de dar rigidez a la misma. La lignina puede ser aislada del material lignocelulósico mediante proceso de pretratamiento alcalino y de esta manera poder aflojar el material lignocelulósico, el cual permitirá luego aprovechar los residuos sólidos como sustrato para obtener monosacáridos en un proceso posterior.

De acuerdo a Carchi, D. (2014), para el deslignificado del material lignocelulósico se emplea NaOH al 15 % (p/v); en cambio Espinoza, J. (2014) emplea concentraciones entre 1-2.5 M.

La relación a emplear entre sustrato y la solución básica es 1:10. Se pesa 100 g de material lignocelulósico seco. Se prepara 1 litro de solución básica de NaOH 2 M. En un embase metálico de 2 litros se introduce los 100 g de material lignocelulósico y la solución alcalina. Se lleva a temperatura 93 °C por 60 minutos moviendo constantemente la misma.

Después de este tiempo se deja enfriar. Después se lo filtra y el remanente se lava con agua hasta un pH neutro.

Luego se hace secar a 70 °C por 12 horas en el horno mufla del laboratorio de operaciones unitarias de la carrera (L.O.U.). Después de este tiempo nuestro sustrato estará listo para el subsiguiente proceso, que es la hidrólisis ácida.

Figura 3-5 Arriba: material lignocelulósico después del pretratamiento.
Abajo: material lignocelulósico después del pretratamiento seco.





Fuente: Realización propia.

3.4.3 Hidrólisis ácida

Para la hidrólisis ácida, se emplea ácido sulfúrico en concentraciones de 5 y 10 %. En este proceso se elabora el diseño factorial, que además tiene como variables a la temperatura y al tiempo de hidrólisis; y además, al % de azúcares reductores como variable respuesta.

La relación entre masa y ácido sulfúrico diluido que se emplea es 1:8 (p/v)

Tabla III-5 Relación entre sustrato y volumen ácido.

Muestra	Sustrato seco (g)	Vol. ácido (ml)
1	50,1	400
2	50,0	400
3	50,1	400
4	50,0	400
5	50,2	400
6	50,1	400
7	50,0	400
8	49,8	400
Promedio	50,04	400

Fuente: Realización propia.

Tabla III-6 Diseño factorial para determinar % azúcares reductores.

Pruebas	Temp. (°C)	Conc. H ₂ SO ₄ [%v/v]	Tiempo (min)	% azúcares reductores
1	105	5	20	
2	105	10	20	
3	121	5	20	
4	121	10	20	
5	105	5	40	
6	105	10	40	
7	121	5	40	
8	121	10	40	

Fuente: Realización propia.

Se preparan 8 muestras de acuerdo al diseño factorial, para las cuales se utilizará el equipo autoclave del laboratorio de operaciones unitarias de la carrera (L.O.U.)

Figura 3-6 Sustrato después de la hidrólisis ácida.

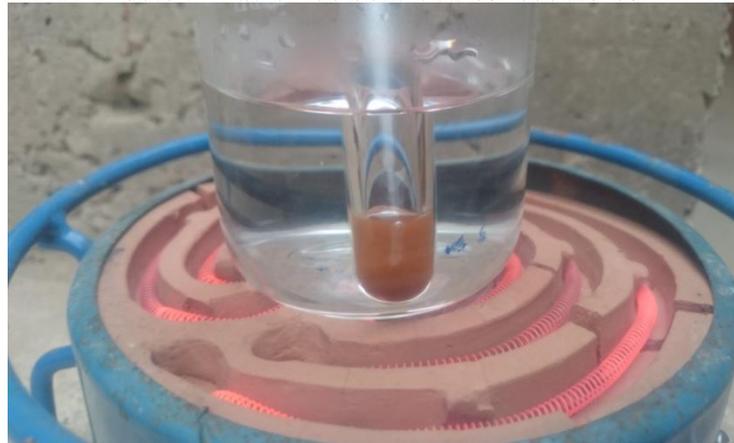
Fuente: Realización propia.

Figura 3-7 Equipo autoclave usado para la hidrólisis ácida



Fuente. Realización propia.

Figura 3-8 Prueba cualitativa del reactivo de Fehling para la determinación de de azúcares reductores.



Fuente. Realización propia.

Nota: La figura 3-8 representa pruebas preliminares de carácter cualitativo que se realizó para asegurarse que el proceso de obtención de azúcares se estaba haciendo de

manera aceptable. Las pruebas cuantitativas se realizan más adelante en el laboratorio de CEANID.

3.4.4 Fermentación

El sustrato procedente de la hidrólisis ácida, se vierte en un recipiente para posteriormente regular el pH a 5.9 para llevar al proceso de fermentación. Para regular el pH se emplea NaOH 6 M; el cual, cabe recalcar, dicha solución marca un °Brix importante.

Se esteriliza los materiales a usar. Debido a la variedad de células vegetales diferentes y de esporas que proceden del agua, aire; estos organismos son eliminados. Los materiales de vidrio son sometidos a temperatura de 105 °C durante 15 min; y el material de plástico, es llevado a agua hirviendo por 15 min.

Para la activación de la levadura se usa 2 gr de sacarosa (azúcar común), 1 gr de cloruro de sodio, 5 gr de levadura *saccharomyces cerevisiae* en 50 ml de agua destilada a una temperatura de 30 °C. Después de unos dos minutos aproximadamente, la levadura está activada por la presencia de burbujas de CO₂ y el aumento de volumen de la misma.

A la solución a fermentar también se añadió 0.2 g de bisulfito de potasio (para evitar que el etanol se convierta a ácido acético) y también nitrato de amonio como nutriente para los microorganismos encargados de la fermentación.

El proceso de fermentación dura 5 días. Puede considerarse que la fermentación llega a su punto culminante cuando el °Brix marca cero o permanece constante.

La temperatura que se ha empleado para la fermentación fue 33 °C, con ligeras variaciones.

A medida que la fermentación avanza, el pH se reduce; si hay una reducción considerable, se debe readecuar el pH de la fermentación mediante una base débil.

Figura 3-9 Activación de la levadura, la cual se usará para la fermentación.



Fuente. Realización propia.

3.4.5 Destilación

Después de terminado la fermentación, la solución fermentada es llevada al equipo de destilación, se vierte todo el contenido y se procede a destilar al vacío a 70 °C el producto etanol.

El destilado se vierte en una probeta para la lectura de volumen, posteriormente se hace la lectura del grado alcohólico; ya sea, mediante uso del alcoholímetro Gay-Lussac o mediante uso del equipo de refractometría (ver anexo 3).

Figura 3-10 Equipo usado para la destilación del material fermentado.



Fuente. Realización propia.

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nota: los cálculos modelo se realizaron para la muestra 1.

4.1 Resultados lavado, troceado y secado

4.1.1 % humedad en el material lignocelulósico

Para sacar el % humedad la materia prima se pesa antes y después del secado.

$$\% \text{ humedad} = \frac{(P_i - P_f)}{P_i} * 100 \text{(Ecuación 4-1)}$$

$$\% \text{ humedad} = \frac{(700.0 - 104.5)}{700.0} * 100$$

$$\% \text{ humedad} = 85.08$$

Tabla IV-1 Cantidad de agua presente en el material lignocelulósico

Muestra	Masa inicial (g)	Masa final (g)	% Humedad
1	700,0	104,5	85,08
2	700,3	100,0	85,72
3	700,0	106,0	84,86
4	700,9	110,0	84,31
5	700,8	98,0	86,02
6	700,0	115,0	83,57
7	700,2	102,0	85,43
8	700,0	103,3	85,24
		Promedio	85,03

Fuente. Realización propia.

En la tabla IV-1 se puede apreciar como el peso inicial del material lignocelulósico disminuye al ser secado en promedio 85.03 % para la posterior etapa de deslignificado.

4.2 Resultados pretratamiento alcalino

En el pretratamiento alcalino se usa material lignocelulósico en base seca.

Tabla IV-2 Masa que se retira en el pretratamiento alcalino.

Muestra	Masa seca antes de deslignificado	Masa seca después de deslignificado	Masa que es retirada en el deslignificado
1	104,5	57,8	46,70
2	100,0	54,0	46,00
3	106,0	55,3	50,70
4	110,0	51,2	58,80
5	98,0	53,6	44,40
6	115,0	55,4	59,60
7	102,0	52,2	49,80
8	103,3	51,0	52,30
Promedio	104.85	53.81	51.04

Fuente. Realización propia.

En la tabla IV-2 se puede ver como a medida que el proceso avanza, hay reducción de material en promedio de 48.68 % de nuestro material seco inicialmente empleado. Cuando se lava el material con agua con el fin de neutralizar, es donde se pierde esa cantidad de material. Para la hidrólisis ácida, se adecua las cantidades a 50 g,

4.3 Resultados de la Hidrólisis ácida

4.3.1 °Brix obtenidos en la hidrólisis ácida

La siguiente tabla muestra los °Brix obtenidos después de la hidrólisis ácida.

Tabla IV-3 °Brix obtenidos en el proceso de hidrólisis del material lignocelulósico.

Muestra	Temp. (°C)	Conc. H₂SO₄ [%v/v]	Tiempo (min)	° Brix
1	105	5	20	15,5
2	105	10	20	19,6
3	121	5	20	15,1
4	121	10	20	19,2
5	105	5	40	14,9
6	105	10	40	20,1
7	121	5	40	13,6
8	121	10	40	18,2

Fuente. Realización propia.

Estos datos son obtenidos después de la hidrólisis, es decir, siendo la solución aún ácida.

4.3.2 Azúcares reductores y azúcares totales

Después de la hidrólisis, la “solución azucarada” (la solución que viene de la hidrólisis ácida tiene aspecto físico: color café, olor a azúcar quemada) es neutralizada con NaOH, posteriormente es llevada al CEANID para la determinación de azúcares reductores y totales.

En la tabla IV-3 se puede apreciar que los °Brix son mayores cuando mayor es la concentración del ácido; sin embargo, en la tabla IV-4 se observa mayor concentración de azúcares cuando la concentración del ácido es menor; ésto se debe a que cuando se usa menor concentración de ácido, menor también es la solución básica que se usa para neutralizar la solución azucarada, ocurriendo lo contrario cuando se usa mayor concentración de ácido.

Tabla IV-4 % Azúcares reductores y totales obtenidos en el proceso de hidrólisis del material lignocelulósico.

Muestra	% Azúcares reductores	% Azúcares totales
1	1,2	1,6
2	0,41	1,7
3	1,37	2,18
4	0,49	1,9
5	1,24	2,36
6	0,84	1,55
7	1,29	2,37
8	0,73	1,24
Promedio	0,95	1,88

Fuente. CEANID

En la tabla IV-4 para la muestra 1, dice que hay 1.6 g de azúcares totales por cada 100 ml de solución azucarada; en 1 litro (cantidad después de neutralizar la solución ácida) habría 16 g de azúcares totales. Considerando la masa inicial de 50.1 g (tabla III-5), se tendría una conversión a azúcares de 37.30%; y como promedio tendríamos 36.85% (conversión de polímeros a monómeros).

4.3.3 Diseño factorial

Para valorar los resultados del diseño factorial se usarán los datos respectivos y un programa de análisis estadístico.

4.3.3.1 Análisis estadístico del diseño factorial del proceso de hidrólisis ácida

El análisis estadístico se realizó mediante SPSS 17.0 (Statistical package for the Social Sciences), el mismo que permite un tratamiento integrado de todas las fases del análisis de datos obtenidos y resultados más representativos y confiables.

Con el análisis de varianza ANOVA se determina la influencia de los factores concentración de ácido, temperatura, tiempo y sus respectivas interacciones sobre la variable respuesta (azúcares reductores).

Tabla IV-5 Datos para el análisis de varianza.

Muestra	Factores			Variable respuesta
	Temp. (°C)	Conc. H ₂ SO ₄ [%v/v]	Tiempo (min)	% Azúcares reductores
1	-1	-1	-1	1,2
2	-1	+1	-1	0,41
3	+1	-1	-1	1,37
4	+1	+1	-1	0,49
5	-1	-1	+1	1,24
6	-1	+1	+1	0,84
7	+1	-1	+1	1,29
8	+1	+1	+1	0,73

Fuente. SPSS 17.0

Las repeticiones no se realizaron debido a siguientes factores: no disponibilidad de reactivos químicos, la corrosión que se produce (producto de los procesos donde se emplea bases y ácidos) en los diferentes instrumentos y equipos de laboratorio; recursos limitados para la compra de reactivos químicos, como también para pagar el costo de análisis de laboratorio.

En la tabla IV-6 se muestra los datos introducidos al programa SPSS 17.0 de acuerdo al diseño factorial que se ha planteado, cada factor tiene un nivel superior (+1) y un nivel inferior (-1)

Tabla IV-6 Datos para el análisis de varianza.

		N
temp	-1,00	4
	1,00	4
concent	-1,00	4
	ác. 1,00	4
tiempo	-1,00	4
	1,00	4

Fuente. SPSS 17.0

4.3.3.2 Variable respuesta porcentaje de azúcares reductores

En la tabla IV-6 se puede observar el análisis de varianza para la variable dependiente o variable respuesta porcentaje de azúcares reductores, tomando en cuenta los factores concentración de ácido, temperatura y tiempo de residencia así como sus interacciones.

temp: temperatura a la que se llevó la hidrólisis

concent: concentración del ácido, para la hidrólisis

tiempo: tiempo de residencia durante la hidrólisis

Tabla IV-7 Análisis de varianza ANOVA (porcentaje de azúcares reductores).

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1,002 ^a	6	,167	272,537	,046
Intersección	7,163	1	7,163	11694,878	,006

temp	,005	1	,005	7,367	,225
concent	,865	1	,865	1411,612	,017
tiempo	,050	1	,050	81,000	,070
temp * concent	,008	1	,008	12,755	,174
concent * tiempo	,063	1	,063	102,878	,063
temp * tiempo	,012	1	,012	19,612	,141
Error	,001	1	,001		
Total	8,165	8			
Total corregida	1,002	7			

a. R cuadrado = .999 (R cuadrado corregida = .996)

Fuente. SPSS 17.0

A partir del análisis de VARIANZA señalar que las variables significativas con un nivel de confianza de 90%, o que es lo mismo cuando los valores de significación son menores a 0.10. Para el caso, las variables significativas están constituidas por la concentración de ácido con un valor de significancia de 0.017, el tiempo 0.07 y la interacción de concentración y tiempo 0.063.

4.3.3.3 Análisis de regresión lineal múltiple

El modelo de regresión establece el modelo matemático que relaciona las variables más significativas con la variable respuesta. Para el análisis de regresión, se introdujo al SPSS las variables tiempo y concentración.

Tabla IV-8 Variables introducidas/eliminadas.

Modelo	Variables introducidas	Variables eliminadas	Método
1	concenttiempo, tiempo, concent ^a	.	Introducir

a. Todas las variables solicitadas introducidas.

Fuente. SPSS 17.0

Tabla IV-9 Variables introducidas/eliminadas^b.

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	,987 ^a	0,975	0,956	0,07898

a. Variables predictoras: (Constante), tiempo, concentración.

b. Variable dependiente: azúcares reductores

Fuente. SPSS 17.0

Tabla IV-10 ANOVA^b.

Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1 Regresión	0,977	3	0,326	52,224	,001 ^a
Residual	0,025	4	0,006		
Total	1,002	7			

a. Variables predictoras: (Constante), tiempo, concentración.

b. Variable dependiente: azucares reductores

Fuente. SPSS 17.0

Tabla IV-11 Coeficientes ANOVA^a.

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.	Intervalo de confianza de 90% para B	
	B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	0,946	0,028		33,888	0	0,869	1,024
concent	-0,329	0,028	-0,929	-11,773	0	-0,406	-0,251
tiempo	0,079	0,028	0,222	2,82	0,048	0,001	0,156
concenttiempo	0,089	0,028	0,251	3,178	0,034	0,011	0,166

a. Variable dependiente: azúcares reductores

Fuente. SPSS 17.0

Por lo tanto a partir de los valores proporcionados por el ANOVA en la tabla IV-11 la ecuación matemática es la siguiente:

$$\% \text{ azúcares reductores} = 0.946 - 0.329 * A + 0.079 * B + 0.089 * A * B$$

Donde A es la concentración a la cuál se lleva el proceso de hidrólisis y B es el tiempo de residencia durante la hidrólisis; a partir de ésta ecuación se puede inferir que a menor concentración de ácido mayor es la obtención de azúcares reductores; por el contrario, a mayor tiempo de residencia mayor es la conversión de azúcares reductores, y a mayor tiempo de interacción concentración y tiempo mayor es la concentración de azúcares, todo ello relacionado en el proceso de hidrólisis ácida.

4.4 Resultados de la fermentación

Después de un lapso de tiempo que dura la fermentación, éstos son los resultados obtenidos.

Tabla IV-12 Característica modelo para la fermentación para muestra 1.

Volumen	500 ml
pH	5,9
°Brix	15.7
temperatura	33 °C
tiempo	120 h
densidad	1,085

Fuente. Realización propia.

4.4.1 Evolución de los °Brix durante la fermentación

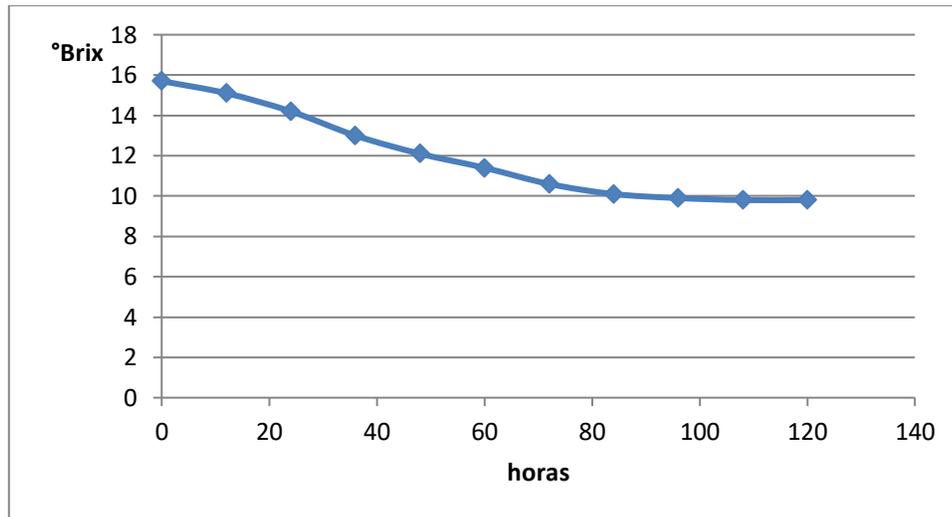
Una referencia importante que se toma a la hora de monitorear la fermentación es mediante la disminución de los °Brix hasta cero o hasta que permanezca constante. Los °Brixal ser una variable que mide el contenido de azúcar disuelta en un líquido, es importante su uso para el proceso de fermentación.

Tabla IV-13 % Reducción de los °Brix a medida que avanza la fermentación.

Horas	°Brix
0	15.7
12	15,1
24	14,2
36	13.0
48	12.1
60	11.4
72	10.6
84	10.1
96	9.9
108	9.8
120	9.8

Fuente. Realización propia.

Figura 4-1 Evolución de los °Brix versus horas hasta estabilizarse.



Fuente. Realización propia.

En la tabla IV-7 y figura 4-1 se muestran la evolución del proceso de fermentación, los °Brix frente al tiempo transcurrido. Se puede ver cómo en la etapa final de la fermentación, el valor de los °Brix tiene menos variación con el anterior valor, tendiendo así a permanecer constante.

4.4.2 Evolución del pH durante la fermentación

Ha medida que la fermentación avanza, hay una considerable disminución del pH. En algunas ocasiones es necesario volver a subir el pH con una base débil.

Tabla IV-14 Evolución del pH durante la fermentación.

Horas	pH
0	5,9
24	5,1
48	4,5
72	4,3
96	4,3
108	4.2
120	4.2

Fuente. Realización propia.

La fermentación es la oxidación de carbohidratos orgánicos bajo condiciones anaeróbicas. Durante la fermentación alcohólica, los azúcares fermentables dan como producto etanol y dióxido de carbono. Una buena parte del dióxido de carbono es liberado al aire mediante burbujas; pero, otra parte del dióxido de carbono es disuelto en la solución acuosa, el dióxido de carbono disuelto en el agua produce ácido carbónico.

De esta manera, la formación de ácido carbónico en la solución acuosa dará como resultado la disminución del pH en la solución.

4.5 Resultados de la destilación

4.5.1 Destilación del fermento

La destilación se lleva a cabo en destilación al vacío a temperatura de 70 °C. El destilado obtenido es vertido en probeta, luego ésta es llevada al refractómetro para hacer la medición del grado alcohólico

Tabla IV-15 Producto obtenido para las diferentes muestras.

Muestra	Volumen fermentado (ml)	Volumen Destilado producto de cabeza (ml)	Grado alcohólico producto de cabeza (°GL)	Volumen de alcohol obtenido (ml)
1	500	23	12	2,76
2	450	25	10	2,50
3	490	43	13	5,59
4	450	28	11	3,08
5	480	40	13	5,20
6	425	30	9	2,70
7	485	48	12	5,76
8	420	32	8	2,56

Fuente. Realización propia.

4.5.2 Cálculo del rendimiento de alcohol obtenido

El rendimiento del alcohol obtenido del proceso de fermentación de la muestra 1.

Para obtener el volumen de alcohol obtenido se hace los siguientes cálculos:

$$^{\circ}\text{GL} = 12 \%$$

$$V_{\text{destilado al vacío}} = 23 \text{ ml}$$

$$V_d * ^{\circ}\text{GL} = V_{\text{alcohol}} \text{ (Ecuación 4 - 2)}$$

$$V_{\text{alcohol}} = \frac{12}{100} * 23 \text{ ml}$$

$$V_{\text{alcohol}} = 2.76 \text{ ml}$$

Obtención de alcohol en unidades de masa:

$$\rho_{\text{alcohol}} = 0.80 \text{ g/ml}$$

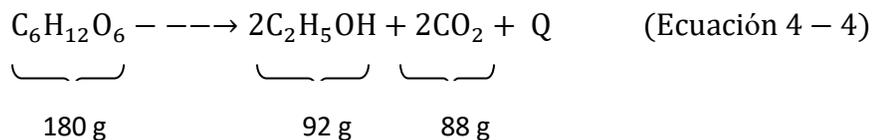
$$V_{\text{alcohol}} = 2.76 \text{ ml}$$

$$\rho_{\text{alcohol}} = \frac{m_{\text{alcohol}}}{V_{\text{alcohol}}} \quad \text{(Ecuación 4 - 3)}$$

$$m_{\text{alcohol}} = \frac{0.80 \text{ g}}{\text{ml}} * 2.76 \text{ ml}$$

$$m_{\text{alcohol real}} = 2.21 \text{ g}$$

Para obtener masa teórica:



% azúcares totales expresados en glucosa = 1.6 (1.6 g por cada 100 ml de solución azucarada)

Como a la fermentación fue 500 ml, entonces este valor multiplicamos por 5.

Entonces tenemos: $1.6 * 5 = 8 \text{ g}$ masa que dará un valor de masa de alcohol teórico:

$$m_{\text{alcohol teórico}} = 8 \text{ g C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 * \frac{92 \text{ g C}_2\text{H}_5\text{OH}}{180 \text{ g C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6}$$

$$m_{\text{alcohol teórico}} = 4.09 \text{ g}$$

Finalmente se obtiene el rendimiento:

$$\text{Rendimiento \%} = \frac{\text{masa sustancia real}}{\text{masa sustancia teórico}} * 100 \quad (\text{Ecuación 4 - 5})$$

$$\text{Rendimiento \%} = \frac{2.21 \text{ g}}{4.09 \text{ g}} * 100$$

$$\text{Rendimiento \%} = 54.03 \%$$

Tabla IV-16 Rendimiento de alcohol (%) para las diferentes muestras.

Muestra	Rendimiento de alcohol (%)
1	54,03
2	51,15
3	78,70
4	56,38
5	65,07
6	64,15
7	78,43
8	76,94
Rendimiento promedio	65,60

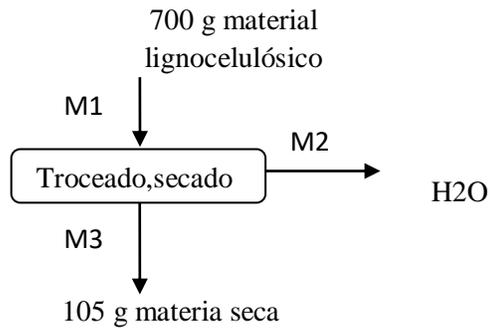
Fuente. Realización propia.

4.6 Balance de materia

Nota: el balance modelo se realizó para la muestra 1.

4.6.1 Balance parcial de materia en el proceso de obtención de bioetanol a partir de material lignocelulósico

4.6.1.1 Balance parcial en la etapa de troceado, secado

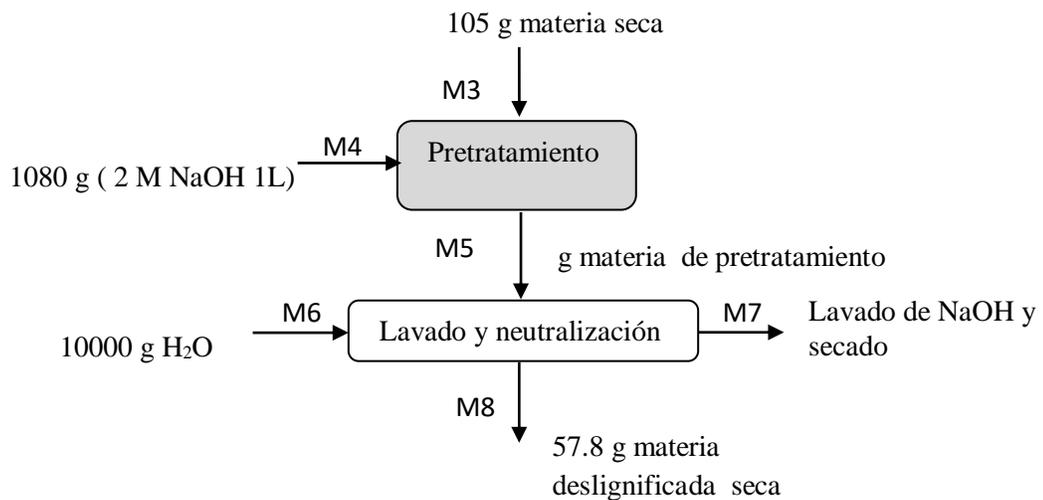


$$M1 = M2 + M3 \quad (\text{Ecuación 4 - 6})$$

$$M2 = (700 - 105) \text{ g}$$

$$M2 = 595 \text{ g}$$

4.6.1.2 Balance parcial en la etapa de pretratamiento alcalino



$$M5 = M3 + M4 \quad (\text{Ecuación 4 - 7})$$

$$M5 = 105 + 1080$$

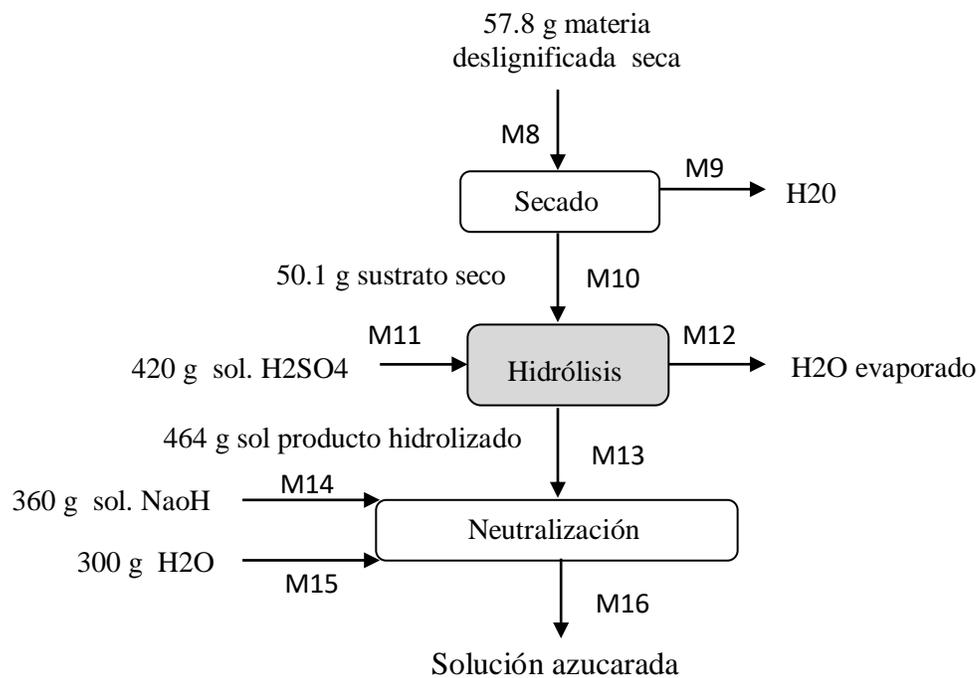
$$M5 = 1185 \text{ g}$$

$$M5 + M6 = M7 + M8 (\text{Ecuación 4 - 8})$$

$$M7 = (10000 + 1185) - 57.8$$

$$M7 = 11127.2 \text{ g lavado NaOH y secado}$$

4.6.1.3 Balance parcial en la hidrólisis



$$M8 = M9 + M10 (\text{Ecuación 4 - 9})$$

$$M9 = (57.8 - 50.1) \text{ g}$$

$$M9 = 7.7 \text{ g}$$

Para la solución ácida:

$$\rho_{5\% \text{ H}_2\text{SO}_4} = 1.05 \text{ g/ml}$$

$$V = 400 \text{ ml}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (\text{Ecuación 4 - 9a})$$

$$m = 1.05 \frac{\text{g}}{\text{ml}} * 400 \text{ ml}$$

$$m_{5\% \text{ H}_2\text{SO}_4} = 420 \text{ g}$$

Solución básica para la neutralización:

$$\rho_{6 \text{ M NaOH}} = 1.2 \text{ g/ml}$$

$$V = 300 \text{ ml}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (\text{Ecuación 4 - 9b})$$

$$m = 1.2 \frac{\text{g}}{\text{ml}} * 300 \text{ ml}$$

$$m = 360 \text{ g}$$

$$M10 + M11 = M12 + M13 \quad (\text{Ecuación 4 - 10})$$

$$M12 = (50.1 + 420 - 464) \text{ g}$$

$$M12 = 6.1 \text{ g H}_2\text{O evaporado}$$

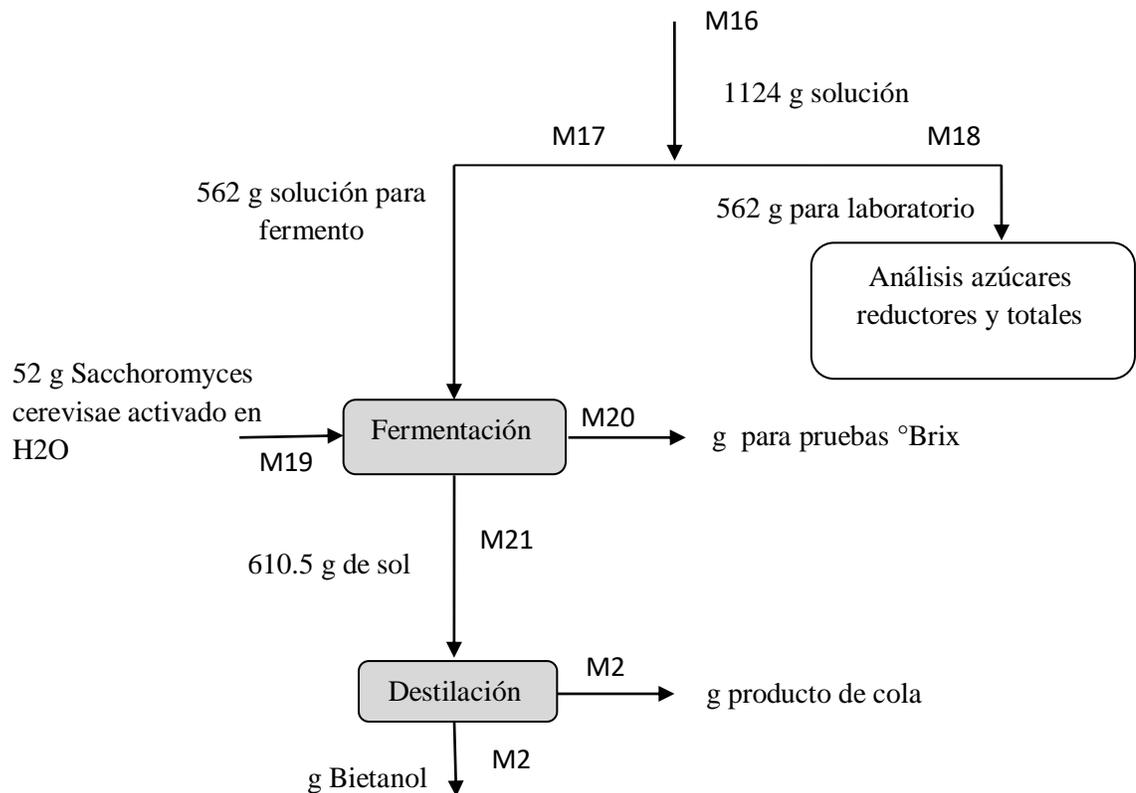
$$M13 + M14 + M15 = M16 \quad (\text{Ecuación 4 - 11})$$

$$M16 = (464 + 360 + 300) \text{ g}$$

$$M16 = 1124 \text{ g solución azucarada}$$

4.6.1.4 Balance parcial en la fermentación y destilación

La solución azucarada (denominación dada por el autor a la solución con contenido de azúcares fermentables que se usará para la fermentación) se divide en dos partes (de esta manera los 50 g de sustrato seco que fue llevado a la hidrólisis se divide en dos).



$$M17 = M18 = \frac{M16}{2} \quad (\text{Ecuación 4 - 12})$$

$$M17 = M18 = \frac{1124 \text{ g}}{2}$$

$$M17 = M18 = 562 \text{ g}$$

$$M17 + M19 = M20 + M21 \quad (\text{Ecuación 4 - 13})$$

$$(562 + 52 - 610.5)\text{g} = M20$$

$$M20 = 3.5 \text{ g para pruebas } ^\circ\text{Brix}$$

Obtener volumen a partir de los grados Gay Lussac:

$$^\circ\text{GL} = 12 \%$$

$$V_{\text{destilado al vacio}} = 23 \text{ ml}$$

$$V_T * ^\circ\text{GL} = V_{\text{alcohol}} \quad (\text{Ecuación 4 - 14})$$

$$V_{\text{alcohol}} = \frac{12}{100} * 23 \text{ ml}$$

$$V_{\text{alcohol}} = 2.76 \text{ ml}$$

Finalmente la obtención de alcohol en unidades de masa.

$$\rho_{\text{alcohol}} = 0.798 \text{ g/ml}$$

$$V_{\text{alcohol}} = 2.76 \text{ ml}$$

$$\rho_{\text{alcohol}} = \frac{m_{\text{alcohol}}}{V_{\text{alcohol}}} \quad (\text{Ecuación 4 - 15})$$

$$m_{\text{alcohol}} = \frac{0.798 \text{ g}}{\text{ml}} * 2.76 \text{ ml}$$

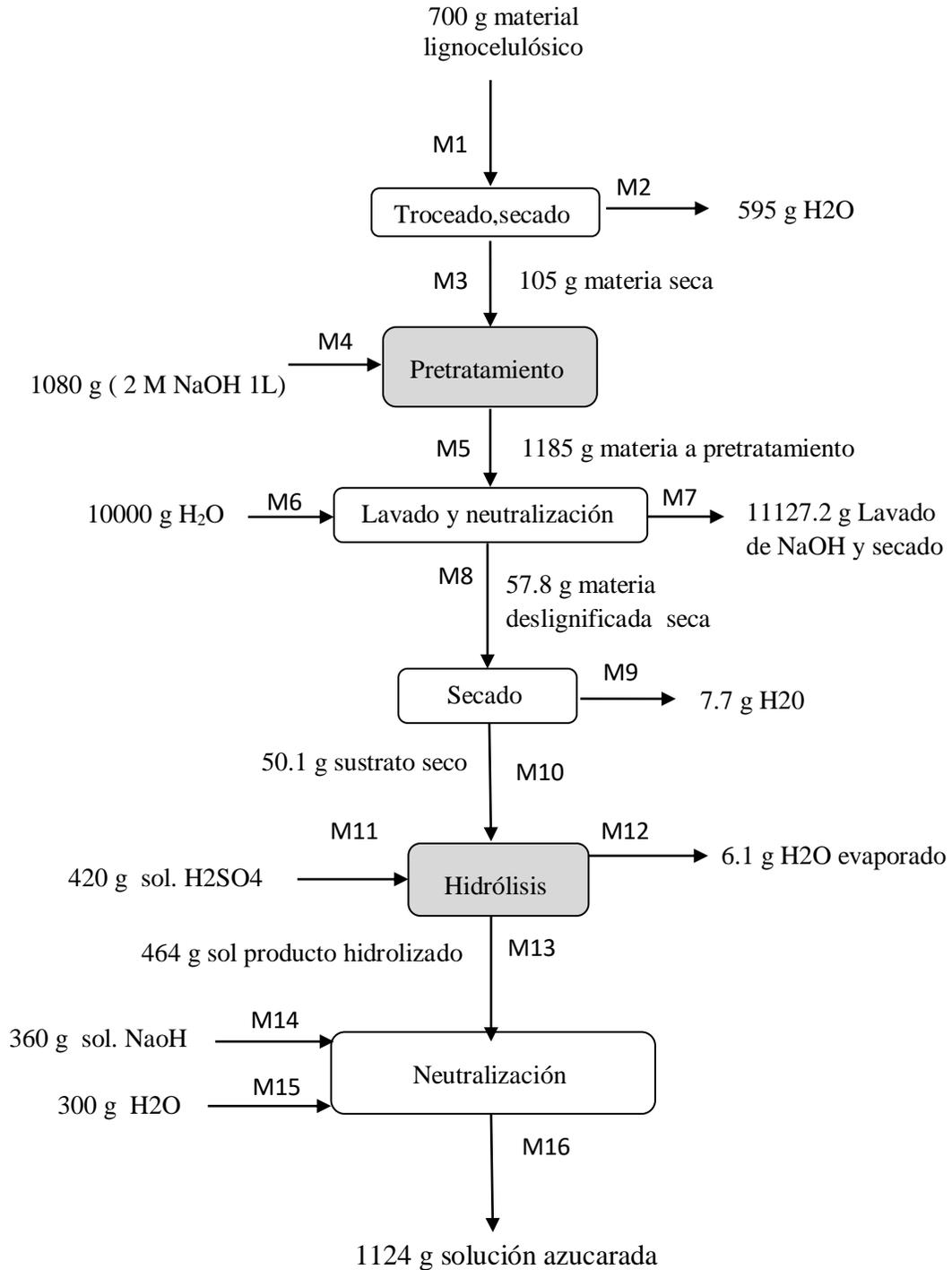
$$m_{\text{alcohol}} = 2.21 \text{ g}$$

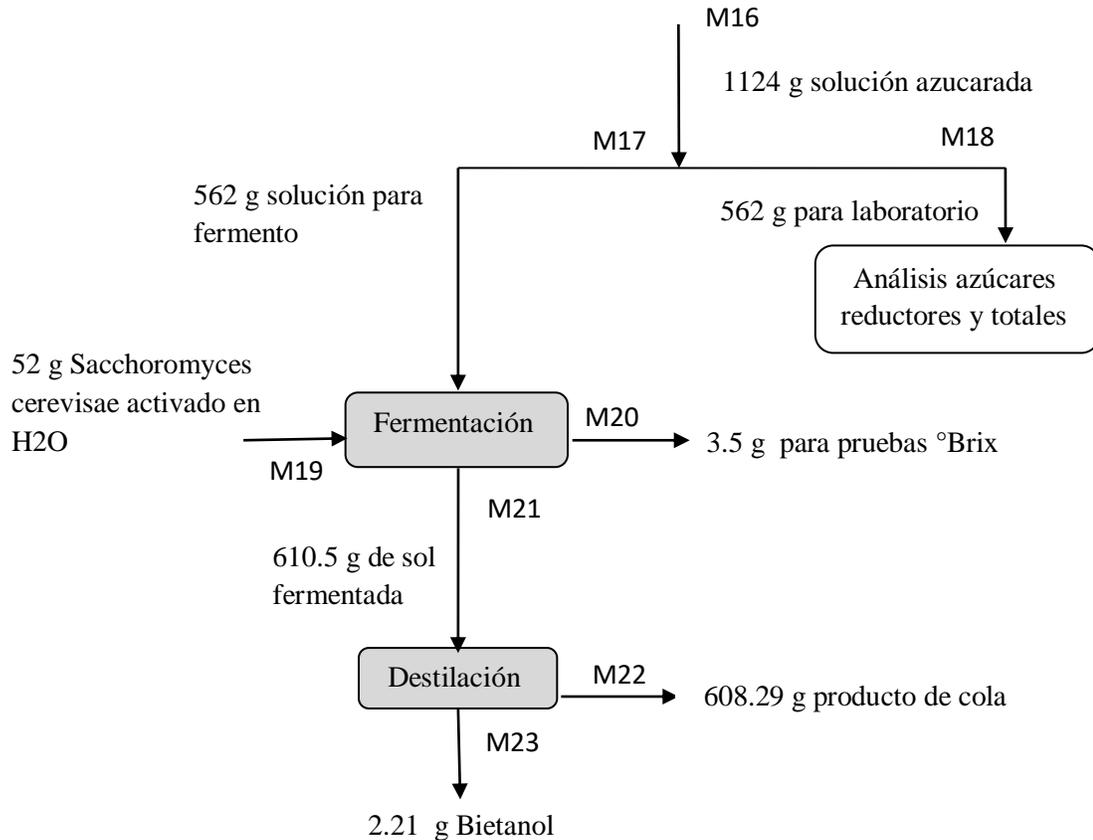
$$M21 = M22 + M23 \quad (\text{Ecuación 4 - 16})$$

$$M22 = (610.5 - 2.21)\text{g}$$

$$M22 = 608.29 \text{ g}$$

4.6.2 Balance de masa general en el proceso de obtención bioetanol a partir de material lignocelulósico





4.6.3 Balance parcial de energía en el proceso de obtención de bioetanol a partir de material lignocelulósico

4.6.1.1 Balance parcial de energía en la etapa de fermentación

P_{bombilla} : potencia de la bombilla (w)

t: tiempo de fermentado (s)

$$P = \frac{Q}{t} \quad (\text{Ecuación 4 - 17})$$

$$Q = 40 \frac{\text{j}}{\text{s}} * 120\text{h} * \frac{3600 \text{ s}}{1\text{h}}$$

$$Q = 17280.00 \text{ kJ}$$

4.6.1.2 Balance parcial de energía en la etapa de destilación

Los datos del C_p del agua son datos que se recogen de la bibliografía. Datos de la temperaturas de salida como de entrada, masa del agua que se emplea son datos que se obtienen de manera experimental.

Calor sensible:

$$Q_{\text{sens}} = m_{\text{agua}} * C_p * (t_2 - t_1) \quad (\text{Ecuación 4 - 18})$$

Q_{sens} : Calor sensible

m_{agua} : masa de agua que se suministra al recipiente del rotavapor (lugar donde se genera calor)

C_p : calor específico del agua ($\text{J/g}^\circ\text{C}$)

t_2 : temperatura a la cual se llevó la destilación ($^\circ\text{C}$)

t_1 : temperatura del agua al inicio del proceso ($^\circ\text{C}$)

$$Q_{\text{sens}} = 2500 \text{ g} * 4.180 \frac{\text{J}}{\text{g}^\circ\text{C}} * (70 - 23)^\circ\text{C}$$

$$Q_{\text{sensible}} = 491.150 \text{ kJ}$$

$$P = \frac{491.150 \text{ kJ}}{10 \text{ min}} * \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ s}}$$

$$P = 0.818 \frac{\text{kJ}}{\text{s}}$$

Calor latente que toma destilar:

$$Q_{\text{latente}} = P * t_{\text{destilado}} \quad (\text{Ecuación 4 - 19})$$

$$Q_{\text{latente}} = 0.818 \frac{\text{kJ}}{\text{s}} * 1.2 \text{ h} * \frac{3600 \text{ s}}{1 \text{ h}}$$

$$Q_{\text{latente}} = 3536.280 \text{ kJ}$$

Calor absorbido por el condensador:

Q_{cond} : calor que absorbe el condensador

m_{agua} : masa de agua que pasa por el condensador

C_p : calor específico del agua ($\text{J/g}^\circ\text{C}$)

t_2 : temperatura de salida del condensador ($^\circ\text{C}$)

t_1 : temperatura de entrada del condensador ($^\circ\text{C}$)

$$Q_{\text{cond}} = m_{\text{agua}} * C_p * (t_2 - t_1)$$

$$Q_{\text{cond}} = 215000 \text{ g} * 4.180 \frac{\text{J}}{\text{g}^\circ\text{C}} * (26 - 23)^\circ\text{C}$$

$$Q_{\text{cond}} = 2696.100 \text{ kJ}$$

Calor total empleado en la destilación:

$$Q_{\text{total}} = Q_{\text{sensible}} + Q_{\text{latente}} - Q_{\text{condensador}} \quad (\text{Ecuación 4 - 20})$$

$$Q_{\text{total}} = (491.150 + 3536.280 - 2696.10) \text{ kJ}$$

$$Q_{\text{total}} = 1331.295 \text{ kJ}$$

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- ✓ El proceso de obtención de bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos es una alternativa frente a otras fuentes de energía; pero también, es más complejo su obtención. Las sustancias azucaradas pueden liberar fácilmente azúcares reductores o fermentables. Por ejemplo, la caña de azúcar, la remolacha azucarera, liberan los azúcares en contacto con agua. En cambio, el material lignocelulósico tiene que pasar por complejas etapas, antes de obtener los azúcares fermentables necesarios para la fermentación.
- ✓
- ✓ Las investigaciones recientes de fuentes alternativas para la producción de bioetanol dirigen la mirada hacia el material lignocelulósico; por ser ésta, más barata y menos atentada contra las reservas alimentarias de la población. La producción de biocombustibles de segunda generación (biomasa considerada desechos) es una manera de prevenir la producción de biocombustibles de primera generación (cultivos destinados a la alimentación humana).
- ✓ Este trabajo presentado en este proyecto, dirige hacia una mejor comprensión de la posibilidad que se tiene acerca de la producción de bioetanol a partir de material lignocelulósico con medios de tratamientos químicos, en vez, de tratamientos biológicos. Se cumplieron con los planes de investigación que se propusieron al comienzo de este trabajo, llegando las mismas a un final expectante. Al ser éste un trabajo de investigación del que escasamente se encuentra trabajos previos, las distintas etapas para la producción de bioetanol de material lignocelulósico, fueron sorteadas con alguna relativa dificultad. La etapa más crítica, por llamarlo de alguna manera, fue la hidrólisis; porque la hidrólisis es la etapa final del proceso químico que tiene que ver con la conversión de cadenas largas de glucosa (celulosa) en unidades de glucosa. Comparando el proceso de hidrólisis ácida con el proceso de hidrólisis enzimática (biológico) del cual se tiene información de proyectos con temas

parecidos; la hidrólisis ácida después de llevarse a cabo, necesita aún otro reactivo químico, haciendo así todo proceso de obtención de bioetanol, aún más complejo. Lo anterior se pudo apreciar en la variación de los °Brix por ejemplo. En el proceso de fermentación hay que neutralizar con una base fuerte, así, se forma una buena cantidad de sulfato de sodio. En cuanto al rendimiento, como se puede ver en el capítulo de resultados, se podría decir que está dentro del rango aceptable. En el diseño factorial, se puede apreciar que a menor concentración de ácido, mayor es la obtención de azúcares reductores; y que a mayor tiempo de residencia, mayor es la conversión de azúcares; también, a mayor interacción tiempo de residencia y concentración de ácido, mayor es el grado de conversión de azúcares; todo ello relacionado al proceso de hidrólisis ácida.

✓

- ✓ Tal vez, la producción de bioetanol a partir de material lignocelulósico sea una tanto compleja, lo es más cuando se emplea medios químicos; pero es una alternativa a la creciente investigación acerca de fuentes renovables para la producción de biocombustibles.

5.2 Recomendaciones

- ✓ En el proceso de pretratamiento básico tener el sustrato del menor tamaño, así se dispondrá de un área de contacto más amplio.
- ✓ El material pretratado cuando se lleva al secado en el horno mufla, evitar llevar a temperaturas altas y por prolongados tiempos, ya que ello llevaría a que parte del material lignocelulósico quede chamuscado.
- ✓ Se debe estudiar una mejor manera de hacer la hidrólisis ácida. Disponer de una buena cantidad de reactivos a usar, es muy conveniente.
- ✓ El proceso de fermentación es una actividad antigua y bastante extenso, por lo que se sugiere una investigación más profunda en lo que concierne a los diversos tipos de fermentación y sus condiciones para así poder llegar a mejores rendimientos de alcohol.

- ✓ Se recomienda realizar un estudio económico, para poder conocer cuál es el costo real para implementar una planta para la producción de bioetanol. Saber si es factible económicamente la fabricación de bioetanol en Bolivia.
- ✓ Se recomienda que se realice un estudio de mercado, la aplicación del producto en el uso de motores por ejemplo, para que la aplicación de este trabajo sea plasmado en el ámbito industrial.

✓

BIBLIOGRAFÍA

- . **Alvear, M. R., Castillo, D. L., Henao, W., Marimón, W., Tejada, C.N., Tejada, L. P. y Villabona, A. (2009).** *Estudio de la hidrólisis ácida de cascaras ácidas de naranja citrus sinensis para la obtención de etanol.* Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería, sede Piedra de Bolívar, Cartagena de Indias, Colombia. Extraído el 4 diciembre de 2016, desde:
<http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/eventos/siquia20130510/siquia2009pos1.pdf>.
- . **Ashgar, U., Nadeen, M., Irfan, M., Syed, Q., Nelefor, R. & Iram, Mehvish. (2016).** *Effect of NaOH on delignification of saccharum spontaneum.* Environmental Progress & Sustainable Energy, vol. 35, No. 1. Recuperado el 2 de octubre de 2016, desde:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ep.12211/pdf>
- . **Balat, M. & Balat H. (2009, April).** *Recent trends in global production and utilization of fuel-ethanol fuel.* El Sevier, 86, pp.:2273-2282. Recuperado el 10 de Julio de 2016, desde:
- . **Carchi Maurat, D. (2014).** *Aprovechamiento de los residuos agrícolas provenientes del cultivo de banano para obtener nanocelulosa.* Tesis para la obtención de título de Ingeniero Químico, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador. Recuperado el 12 de agosto de 2016, desde: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/5292/1/tesis.pdf>
- . **Chandel, A. K. et al. (2011, January).** *Bioconversion of pentose sugars into ethanol: A review and future directions.* Biotechnology and Molecular Review,5(6), pp.: 008-020. Recuperado el 11 de agosto de 2016, desde:
http://www.academicjournals.org/article/article1380114379_Chandel%2520et%2520al.pdf
- . **Chávez-Sifontes, M. y Domine, M. (2013, Octubre-Diciembre).** *Lignina, estructura y aplicaciones: Métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industria.* Avances en ciencia y tecnología,Nº4. Volumen 4, pp. 15-46. Recuperado el 11 de octubre de 2016, desde:

http://www.exeedu.com/publishing.cl/av_cienc_ing/2013/Vol4/Nro4/3-ACI1184-13-full.pdf

. **Chundawat, S.P.S., Beckham, G. T., Himmel, M. E. & Dale, B.E. (2011, enero 27).** *Deconstruction of lignocellulosic biomass to fuels and chemicals*. Recuperado el 21 de octubre de 2016, desde:

http://bioenergycenter.org/besc/publications/chundawat_deconstruction.pdf

. **Curry, J. (2009, april 19).** *Yeast and fermentation*. Dukes of Ale BJCP Preparation Course 2009. Recuperado el 23 de marzo de 2016, desde:

<http://www.mgriesmeyer.com/doatest/bjcp/yeastAndFermentation.pdf>

. **Desarrollo peruano. (2013).** *Producción bioetanol en sudamérica*. [Presentación en línea]. Fecha de consulta 26 de mayo de 2015. Desde:

<http://desarrolloperuano.blogspot.com/2011/04/el-peru-en-el-ranking-latinoamericano.html>

. **Espinoza, F. J. (2013).** *Obtención de etanol mediante hidrólisis alcalina, enzimática y fermentación a partir de excedente orgánico del banano variedad Musa Paradisiaca*. Tesis de grado para la obtención del título de Ingeniero Químico, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. Recuperado el 3 de septiembre de 2016, desde:

<http://dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1821/T-UCE-0017-44.pdf>

. **Fajardo, E. y Sarmiento S. (2007).** *Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Sacharomyces cerevisiae**. Trabajo de grado para obtener título de Microbiólogo Industrial, Pontificia Universidad Javeriana, Bogota, Colombia. Recuperado el 3 de agosto de 2016, desde:

<http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis/26.pdf>

. **Fernández, J. (2015).** *Energía de la Biomasa*. Recuperado el 20 de octubre de 2016, desde: <https://www.fenercom.com/pdf/publicaciones/cuadernos-energias-renovables-para-todos-biomasa.pdf>

. **Galbe, M., Lidén, G., & Zacchi, G. (2005).** *Production of ethanol from biomass*, volumen 64, pp. 905-919. Recuperado el 14 de octubre de 2016, desde:

[http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/5387/1/JSIR%252064\(11\)%2520905-919.pdf](http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/5387/1/JSIR%252064(11)%2520905-919.pdf)

- . **Gerónimo, F. G., Ibarra, Q. R., Navia, M. y Aguirre, G. (2013, Noviembre).** *Caracterización morfológica del plátano (Musa Paradisiaca L.) en la Provincia Nor Yungas de La Paz y Provincia Chapare Cochabamba, Bolivia.* Agrociencias Amazonia, vol1(2), pp.: 35-41. Extraído el 21 de junio de 2016, desde: <http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/rcaa/v1n2/v1n2a04.pdf>
- . **Guevara, A. y Marulanda, A. (2012).** *Evaluación de la factibilidad de producción de etanol a partir de desechos de Musáceas (plátano y banano) comerciales.* Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Agroindustrial, universidad de San Buenaventura, Santiago de Cali, Colombia. Recuperado el 3 de junio de 2016, desde: http://bibliotecadigital.usb.edu.co/bitstream/10819/1119/1/Evaluaci%25C3%25B3n_PI%25A1tano_Banano_Guevara_2012.pdf
- . **Guevara, C., Arenas, H., Mejía, A. y Pélaez, C. (2012).** *Obtención de Etanol y Biogás a Partir de Banano de Rechazo.* Información Tecnológica; Vol. 23 (2), pp.: 19-30. Extraído el 3 de octubre de 2016, desde: <http://www.scielo.cl/pdf/infotec/v23n2/art04.pdf>
- . **Harmsen, P.F.H., Huijgen, W. J. J., Bermudez, L. M., et al. (2010, September).** *Literature review of physical and chemical pretreatment processes fro lignocellic biomass.* Recuperado el 11 de octubre de 2016, desde: <http://www.ecn.nl/docs/library/report/2010/e10013.pdf>
- . **Horst, D., Ramirez, J. & Petter, R. (2011).** *Analysis of hydrolysis yieds by using different acids for bioethanol production from Brazilian woods.* Recuperado el 13 de octubre de 2016, desde: http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep2011_TI_ST_143_902_17745.pdf
- . **Instituto Boliviano de Comercio Exterior (IBSE). 2018.** *IBSE cifra.* Fecha de consulta 26 de mayo de 2018, Desde: <http://ibce.org.bo/images/publicaciones/ce-259-Cifras-del-Comercio-Exterior-Boliviano-2017.pdf>
- . **Joshi, B. et al. (2011).** *Lignocellulosic ethanol production: Current practices and recent developments.* Biotechnology and Molecular Biology Review, 6 (8), pp.: 172-

182. Recuperado el 10 de octubre, desde:

<http://www.academicjournals.org/journal/BMBR/article-full-text-pdf>

. **Mc Kendry, P. (2002, Julio 6)**. *Energy production from biomass (part 1): overview of biomass*. Bioresource Technology, 83, 37-46. Recuperado el 31 de agosto de 2016, desde: <http://faculty.washington.edu/stevehar/Biomass-Overview.pdf>

. **Merino, L. (2015)**. *Las Energías Renovables*. Recuperado el 20 de octubre de 2016, desde:

. **Ministerio de Desarrollo Productivo y Economía Plural. (2014, Noviembre)**. *Perfil producto banana*. Recuperado el 3 de octubre de 2016, desde:

http://www.promueve.gob.bo/DocPDF/PerfilPais/2015/PERFIL_BANANA.pdf

. **Morrison R. y Boyd R. (1998)**. *Química orgánica*. Editorial Addison Wesley Longman, 5ª ed. Mexico.

. **Nieto, H. (2009)**. *Evaluación de las condiciones de fermentación alcohólica utilizando Saccharomyces cerevisiae y jugo de caña de azúcar como sustrato para obtener etanol*. Proyecto de grado para obtener el título de Ingeniero en Biotecnología, Escuela Politécnica del Ejercito, Departamento de Ciencias de la Vida Ingeniería en Biotecnología, Sangolquí, Ecuador. Extraído el 2 de junio de 2017, desde: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/990/1/T-ESPE-026782.pdf>.

. **OCDE/FAO. (2013)**. *OCDE/FAO Perspectivas Agrícolas 2013-2022, Texcoco*,

. **Ochoa, J. L. & Vázquez-Juares, R. (2004, Octubre 28)**. *Las levaduras marinas como herramientas científica y biotecnológica*. Universidad y ciencia, número especial, pp.: 39-50. Recuperado el 4 de julio de 2016. Desde:

<http://universidadyciencia.ujat.mx/sistema/php/pdf>

. **Ocon, j. y Tojo, G. (2005)**. *Problemas de Ingeniería Química*. Editorial Warren I. McCabe. company Inc., 7º ed. España.

. **Por Qué Biotecnología; Los biocombustibles. (2015)**. *El hombre y la energía*. Fecha de consulta 22 de Mayo de 2016 desde:

<http://www.porquebiotecnologia.com.ar/index.php%3Faction%3Dcuaderno.%26opt%3D5%26tipo%3D1%26note%3D58>

. **Química y Tecnología de Macromoléculas. (2016).** *Celulosa*. [presentación en línea]. Recuperado el 13 de junio de 2016, desde:

<http://www.eis.uva.es/~macromol/curso08-09/pls/celulosa.htm>

. **Rivera, A. (2012).** *Aprovechamiento integral de variedades de leucaena para la obtención de productos de alto valor añadido y compost*. Tesis doctoral, Universidad Internacional de Andalucía. Huelva (España). Recuperado el 10 de octubre de 2016, desde: http://dspace.unia.es/bitstream/handle/10334/3488/0637_Rivera.pdf

. **Romero, I. (2003).** *Hidrólisis ácida y enzimática del residuo de poda de olivo. Fermentación de hidrolizados con PachysolenTannophylus*. Tesis doctoral, Universidad de Jaén, Andalucía, España. Recuperado el 2 de julio de 2016, desde: <http://ruja.ujaen.es/bitstream/10953/431/1/8484392880.pdf>.

. **Saha, B. (2003, april 16).** *Hemillulose bioconversion*. J. Ind. Microbiol Biotechnol, 30, pp.: 279-291. Recuperado el 26 de marzo de 2016, desde: <http://marno.lecture.ub.ac.id/files/2012/05/BIOKONVERSI-HEMISELULOSE.pdf>

. **Salinas Callejas, E. &Gazca Quezada, V. (2009, septiembre-ocubre).** Los biocombustibles. *El Cotidiano*, 157, 75-82. Recuperado el 31 de agosto de 2016, desde: <http://www.redalyc.org/pdf/325/32512739009.pdf>

. **Sánchez, A. M., Gutierrez, A. I., Muñoz, J. A. et al. (2010).** *Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos*. Recuperado el 13 de octubre, desde: <http://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3628225.pdf>

. **Seema, D., Suhag, M., Dhaka, A. &Singh, J. (2012, January 27).** *Biochemical Conversion Process of Producing Bioethanol from Lignocellulosic Biomass*. International Journal of Microbial Resource Technology, Vol. 1, No. 1, pp.: 28-32. Recuperado el 28 de junio de 2016, desde: http://inpressco.com/wp-content/uploads/2012/05/Ms_5.pdf

- . **Soto, R., Russell, I., Narendranath, N., Power, R. & Dowson, K. (2005).** *Estimation of ethanol yield in corn mash fermentations using mass of ash as a marker.* J. Inst. Brew. 111(2), 137-143. Recuperado el 4 septiembre de: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/j.2050-0416.2005.tb00659.x>
- . **Sun, Y. & Cheng, J. (2002).** Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *BioresourceTechnology*, **83**, 1-11. Recuperado el 1 de agosto de 2016, de: <http://stl.bee.oregonstate.edu/courses/ethanol/restricted/SunCheng2002.pdf>
- . **Sustainable Forestry for Bioenergy & Bio-based Products. (2017).** Recuperado el 11 de octubre de 2016, desde: <http://www.forestbioenergy.net/training-materials/trainig-curriculum-notebook/BiomassTrainNotebook.pdf>
- . **Taherzadeh, J.M. & Karimi, K. (2007).** Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. *Bioresources*, 2(3), pp. 472-499. Recuperado el 10 de octubre, desde: http://www.ncsu.edu/bioresources/BioRes_02_3_472_499_Taherzadeh_K_BioEthanol_Review.pdf
- . **Verardi, A., De Bari, I., Ricca, E., et al. (2010).** *Hydrolysis of lignocellulosic biomass: Current status of processes and technologies and future perspectives.* Recuperado el 12 de octubre de 2016, desde: <http://cdn.intechopen.com/pdfs/27352.pdf>.
- . **Wikipedia. (2016).** *Musa x paradisiaca.* Recuperado el 21 de octubre de 2016, desde: https://es.wikipedia.org/wiki/Musa_%C3%97_paradisiaca
- . **Yalcin, S. K. & Ozbas, Z. Y. (2008, April 28).** *Effects of pH and temperatura on growth and glicerol production kinetics of two indigenous wine strains of sacch aromyces from turkey.* Brazilian Journal of Microbiology, 39, pp.: 325-332. Recuperado el 12 de agosto de 2016, de: <http://scielo.br/pdf/bjm/v39n2/a24.pdf>
- Estado de México, Universidad Autónoma Chapingo.* Recuperado el 13 de julio de 2016, desde: <http://fao.org/docrep/018/i3307s/i3307s.pdf>
- <http://www.google.com.bo/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://fenercom/pdf>

ANEXO 1

Equipos utilizados para la fermentación y determinación alcohólica del destilado

Equipo casero para fermentación alcohólica.



Fuente: Realización propia.

Equipo refractómetro de laboratorio.



Fuente: Realización propia.

ANEXO 2

Procedimiento para la determinación cualitativa de azúcares reductores durante el proceso de hidrólisis acida

Material y reactivos:

- ✓ Tubos de ensayo.
- ✓ Vaso de precipitación de 600ml.
- ✓ Estufa eléctrica.
- ✓ Reactivos de Fehling A y B.
- ✓ 5 ml de solución hidrolizada.

Procedimiento:

- ✓ Se vierte 3 ml de reactivo de Fehling A sobre el tubo de ensayo. Luego se vierte 3 ml de reactivo de Fehling B encima.
- ✓ Se pone 300 ml de agua en el vaso de precipitación y se lleva a calentar.
- ✓ Se hace calentar un poco el tubo de ensayo, luego se vierte 5ml de solución hidrolizada.
- ✓ Se deja calentar durante 5 min aproximadamente, si hay azúcares reductores, la solución cambiará a color ladrillo.

Reactivos de Fehling A y B usados



Fuente: Realización propia.

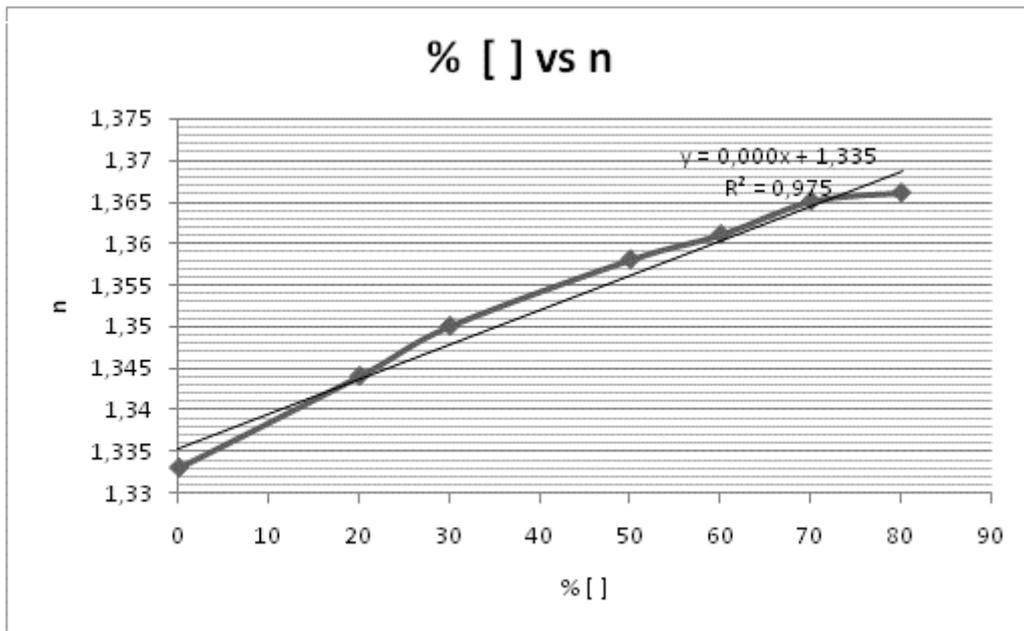
ANEXO 3

Gráfica para la determinación del grado alcohólico.

n = índice refractario

% [] = grado alcohólico

Gráfica índice refractario versus grado alcohólico.



ANEXO 4

Tablas usadas para sacar los cálculos en el balance de materia

Propiedades físicas y químicas para NaOH

Sodium Hydroxide, 6.0N (6.0M)
Safety Data Sheet

according to Federal Register / Vol. 77, No. 58 / Monday, March 26, 2012 / Rules and Regulation

SECTION 9: Physical and chemical properties

9.1. Information on basic physical and chemical properties

Physical state	: Liquid
Appearance	: Clear, colorless liquid.
Colour	: clear Colourless
Odour	: odourless
Odour threshold	: No data available
pH	: ≥ 14
Melting point	: No data available
Freezing point	: No data available
Boiling point	: No data available
Flash point	: No data available
Relative evaporation rate (butylacetate=1)	: No data available
Flammability (solid, gas)	: Non flammable.
Vapour pressure	: No data available
Relative vapour density at 20 °C	: No data available
Relative density	: No data available
Density	: 1.2 g/ml
Solubility	: No data available
Log Pow	: No data available

Propiedades físicas y químicas para H₂SO₄**Sulfuric Acid, 5% v/v**

Safety Data Sheet

according to Federal Register / Vol. 77, No. 58 / Monday, March 26, 2012 / Rules and Regulation

SECTION 9: Physical and chemical properties

9.1. Information on basic physical and chemical properties

Physical state	: Liquid
Appearance	: Clear, colorless liquid.
Colour	: Colourless
Odour	: None.
Odour threshold	: No data available
pH	: No data available
Relative evaporation rate (butylacetate=1)	: No data available
Melting point	: No data available
Freezing point	: No data available
Boiling point	: No data available
Flash point	: No data available
Auto-ignition temperature	: No data available
Decomposition temperature	: No data available
Flammability (solid, gas)	: No data available
Vapour pressure	: No data available
Relative vapour density at 20 °C	: No data available
Relative density	: No data available
Density	: 1.05 g/ml
Solubility	: Solubility in water of cc

ANEXO 5

Análisis físico-químico de la materia prima.

CEANID- FOR-43
Versión 01

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
Laboratorio Oficial del "SENASAG"

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Ismael Montes Flores		
Solicitante:	Ismael Montes Flores		
Dirección:	Av. Los Molles N° 63 - Barrio San Martín		
Teléfono/Fax:	74501419	Correo-e	Código MO 006/16

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Material lignocelulósico		
Fecha y hora de muestreo:	2016-09-09 Hrd. 07:15		
Procedencia:	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia		
Lugar de muestreo:	Lugar de elaboración		
Responsable de muestreo:	Ismael Montes Flores		
Código de la muestra:	710 FQ.465	Fecha de recepción de la muestra:	2016-09-09
Cantidad recibida:	200 g	Fecha de análisis de la muestra:	Del 2016-09-09 al 2016-09-16

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO
Acidez (como ac. cítrico)	NB 36002:02	%	0,02
Fibra	Gravimétrico	%	1,97
pH (20°C)	SM 4500-H-B		7,04
Azúcares totales	NB 38033: 06	%	0,51

NB: Norma Boliviana

%: Porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 16 de septiembre de 2016


Ing. Adalid Aceituno Cáceres
JEFE DEL CEANID



cc/Arch.

Fuente: CEANID.

ANEXO 6

Análisis de azúcares reductores y totales.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGÍA"
CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
Laboratorio Oficial del "SENASAG"



CEANID-FOR-88
Versión 01
Fecha de emisión: 2016-10-31

INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Ismael Montes Flores			
Solicitante:	Ismael Montes Flores			
Dirección:	Av. Los Molles N° 63 - Barrio San Martín			
Teléfono/Fax:	***	Correo-e	*****	Código MO 008/17

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Solución azucarada para fermentación			
Código de muestreo:	M 3	Fecha de vencimiento:	*****	Lote: ****
Fecha y hora de muestreo:	2017-10-09			
Procedencia (Localidad/Prov/ Dpto)	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia			
Lugar de muestreo:	Lugar de elaboración			
Responsable de muestreo:	Ismael Montes Flores			
Código de la muestra:	1835 FQ 1419	Fecha de recepción de la muestra:	2017-10-10	
Cantidad recibida:	450 ml	Fecha de análisis de la muestra:	Del 2017-10-10 al 2017-10-23	

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LIMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LIMITES
				Min.	Max.	
Azúcares reductores	Volumetría	%	1,20	Sin Referencia	Sin Referencia	
Azúcares totales	Volumetría	%	1,60	Sin Referencia	Sin Referencia	

NB: Norma Boliviana

%: Porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 23 de octubre de 2017


Ing. Agnoid Aceituno Cáceres
JEFE DEL CEANID



Original: Cliente
Copia: CEANID

Dirección: Campus Universitario Facultad de Ciencias y Tecnología Zona "El Tejar" Tel. (591) (4) 6645648
Fax: (591) (4) 6643403 - Email: ceanid@uajms.edu.bo - Casilla 51 - TARIJA - BOLIVIA

Página 1 de 1

Fuente: CEANID.

Nota: El orden es correlativo al diseño factorial



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGÍA"
CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
Laboratorio Oficial del "SENASAG"



COPIA

CEANID-FOR-88
Versión 01
Fecha de emisión: 2016-10-31

INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Ismael Montes Flores				
Solicitante:	Ismael Montes Flores				
Dirección:	Av. Los Molles N° 63 - Barrio San Martín				
Teléfono/Fax:	74501419	Correo-e	*****	Código	MO 007/17

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Solución azucarada para fermentación				
Código de muestreo:	A	Fecha de vencimiento:	*****	Lote:	****
Fecha y hora de muestreo:	2017-09-19				
Procedencia (Localidad/Prov/ Dpto)	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia				
Lugar de muestreo:	Lugar de elaboración				
Responsable de muestreo:	Ismael Montes Flores				
Código de la muestra:	1731 FQ 1353	Fecha de recepción de la muestra:	2017-09-19		
Cantidad recibida:	450 ml	Fecha de análisis de la muestra:	Del 2017-09-19 al 2017-09-29		

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LÍMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LÍMITES
				Min.	Max.	
Azúcares reductores	Volumetría	%	0,41	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia

NB: Norma Boliviana
% Porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 29 de septiembre de 2017


Ing. Rogalid Aceituno Cáceres
JEFE DEL CEANID



Original: Cliente
Copia: CEANID

Dirección: Campus Universitario Facultad de Ciencias y Tecnología Zona "El Tejar" Tel. (591) (4) 6645648
Fax: (591) (4) 6643403 - Email: ceanid@uajms.edu.bo - Casilla 51 - TARIJA - BOLIVIA

Página 1 de 1

Fuente: CEANID.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGÍA"
CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
Laboratorio Oficial del "SENASAG"

CEANID-FOR-88
Versión 01
Fecha de emisión: 2016-10-31



INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliete:	Ismael Montes Flores		
Solicitante:	Ismael Montes Flores		
Dirección:	Av. Los Molles N° 63 - Barrio San Martín		
Teléfono/Fax:***	Correo-e	*****	Código MO 008/17

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Solución azucarada para fermentación		
Código de muestreo:	M 5	Fecha de vencimiento:	*****
Fecha y hora de muestreo:	2017-10-09		
Procedencia (Localidad/Prov/ Dpto)	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia		
Lugar de muestreo:	Lugar de elaboración		
Responsable de muestreo:	Ismael Montes Flores		
Código de la muestra:	1837 FQ 1421	Fecha de recepción de la muestra:	2017-10-10
Cantidad recibida:	450 ml	Fecha de análisis de la muestra:	Del 2017-10-10 al 2017-10-23

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LÍMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LÍMITES
				Min.	Max.	
Azúcares reductores	Volumetría	%	1,37	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Azúcares totales	Volumetría	%	2,18	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia

NB Norma Boliviana
N: Porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 23 de octubre de 2017

Ing. Róbalid Aceituno Cáceres
JEFE DEL CEANID



Original: Cliente
Copias: CEANID

Dirección: Campus Universitario Facultad de Ciencias y Tecnología Zona "El Tejar" Tel. (591) (4) 6645648
Fax: (591) (4) 6643403 - Email: ceanid@uajms.edu.bo - Casilla 51 - TARIJA - BOLIVIA

Página 1 de 1

Fuente: CEANID.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAE SARACHO"
FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGIA"
CENTRO DE ANALISIS, INVESTIGACION Y DESARROLLO "CEANID"
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
Laboratorio Oficial del "SENASAG"



CEANID-FOR-88
Versión 01
Fecha de emisión: 2016-10-31

INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Ismael Montes Flores				
Solicitante:	Ismael Montes Flores				
Dirección:	Av. Los Molles N° 63 - Barrio San Martín				
Teléfono/Fax:	74501419	Correo-e	*****	Código	MO 007/17

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Solución azucarada para fermentación				
Código de muestreo:	B	Fecha de vencimiento:	*****	Lote:	****
Fecha y hora de muestreo:	2017-09-19				
Procedencia (Localidad/Prov/ Dpto)	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia				
Lugar de muestreo:	Lugar de elaboración				
Responsable de muestreo:	Ismael Montes Flores				
Código de la muestra:	1732 FQ 1354	Fecha de recepción de la muestra:	2017-09-19		
Cantidad recibida:	450 ml	Fecha de análisis de la muestra:	Del 2017-09-19 al 2017-09-29		

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LIMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LIMITES
				Min.	Max.	
Azúcares reductores	Volumetría	%	0,49	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia

NB: Norma Boliviana

N: Porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 29 de septiembre de 2017


Ing. Walid Aceituna Cáceres
JEFE DEL CEANID



Original: Cliente
Copia: CEANID

Dirección: Campus Universitario Facultad de Ciencias y Tecnología Zona "El Tejar" Tel. (591) (4) 6645648
Fax: (591) (4) 6643403 - Email: ceanid@uajms.edu.bo - Casilla 51 - TARIJA - BOLIVIA

Página 1 de 1

Fuente: CEANID.



UNIVERSIDAD AUTONOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGIA"
CENTRO DE ANALISIS, INVESTIGACION Y DESARROLLO "CEANID"
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
Laboratorio Oficial del "SENASAG"



CEANID-FOR-88
Versión 01
Fecha de emisión: 2016-10-31

INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Ismael Montes Flores		
Solicitante:	Ismael Montes Flores		
Dirección:	Av. Los Molles N° 63 - Barrio San Martín		
Teléfono/Fax:***	Correo-e	*****	Código MO 008/17

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Solución azucarada para fermentación		
Código de muestreo:	M 4	Fecha de vencimiento:	*****
Fecha y hora de muestreo:	2017-10-09	Lote:	****
Procedencia (Localidad/Prov/ Depto)	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia		
Lugar de muestreo:	Lugar de elaboración		
Responsable de muestreo:	Ismael Montes Flores		
Código de la muestra:	1836 FQ 1420	Fecha de recepción de la muestra:	2017-10-10
Cantidad recibida:	450 ml	Fecha de análisis de la muestra:	Del 2017-10-10 al 2017-10-23

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LIMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LIMITES
				Min.	Max.	
Azucres reductores	Volumetria	%	1,24	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Azucres totales	Volumetria	%	2,36	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia

NI: Norma Boliviana
%: Porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 23 de octubre de 2017


Ing. Abelid Aceituno Cáceres
JEFE DEL CEANID



Original: Cliente
Copia: CEANID

Dirección: Campus Universitario Facultad de Ciencias y Tecnología Zona "El Tejar" Tel. (591) (4) 6645648
Fax: (591) (4) 6643403 - Email: ceanid@uajms.edu.bo - Casilla 51 - TARIJA - BOLIVIA

Página 1 de 1

Fuente: CEANID.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGÍA"
CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
Laboratorio Oficial del "SENASAG"

CEANID-FOR-88
Versión 01
Fecha de emisión: 2016-10-31



INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Ismael Montes Flores				
Solicitante:	Ismael Montes Flores				
Dirección:	Av. Los Molles N° 63 - Barrio San Martín				
Teléfono/Fax:	***	Correo-e	*****	Código	MO 008/17

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Solución azucarada para fermentación				
Código de muestreo:	M 7	Fecha de vencimiento:	*****	Lote:	****
Fecha y hora de muestreo:	2017-10-09				
Procedencia (Localidad/Prov/Dpto)	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia				
Lugar de muestreo:	Lugar de elaboración				
Responsable de muestreo:	Ismael Montes Flores				
Código de la muestra:	1839 FQ 1423	Fecha de recepción de la muestra:	2017-10-10		
Cantidad recibida:	450 ml	Fecha de análisis de la muestra:	Del 2017-10-10 al 2017-10-23		

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LÍMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LÍMITES
				Min.	Max.	
Azúcares reductores	Volumetría	%	0,84	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Azúcares totales	Volumetría	%	1,55	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia

NB: Norma Boliviana
%: Porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 23 de octubre de 2017

Ing. Abalid Aceituno Cáceres
JEFE DEL CEANID



Original: Cliente
Copia: CEANID

Dirección: Campus Universitario Facultad de Ciencias y Tecnología Zona "El Tejar" Tel. (591) (4) 6645648
Fax: (591) (4) 6643403 - Email: ceanid@uajms.edu.bo - Casilla 51 - TARIJA - BOLIVIA

Página 1 de 1

Fuente: CEANID.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAE SARACHO"
FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGIA"
CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
Laboratorio Oficial del "SENASAG"



CEANID-FOR-88
Versión 01
Fecha de emisión: 2016-10-31

INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Ismael Montes Flores		
Solicitante:	Ismael Montes Flores		
Dirección:	Av. Los Molles N° 63 - Barrio San Martín		
Teléfono/Fax:	***	Correo-e	*****
		Código	MO 008/17

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Solución azucarada para fermentación		
Código de muestreo:	M 6	Fecha de vencimiento:	*****
Fecha y hora de muestreo:	2017-10-09	Lote:	****
Procedencia (Localidad/Prov/ Dpto)	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia		
Lugar de muestreo:	Lugar de elaboración		
Responsable de muestreo:	Ismael Montes Flores		
Código de la muestra:	1838 FQ 1422	Fecha de recepción de la muestra:	2017-10-10
Cantidad recibida:	450 ml	Fecha de análisis de la muestra:	Del 2017-10-10 al 2017-10-23

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LIMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LIMITES
				Min.	Max.	
Azúcares reductores	Volumetría	%	1,29	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Azúcares totales	Volumetría	%	2,37	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia

NI: Norma Boliviana
%: Porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 23 de octubre de 2017


Ing. Abalid Aceituno Cáceres
JEFE DEL CEANID



Original: Cliente
Copia: CEANID

Dirección: Campus Universitario Facultad de Ciencias y Tecnología Zona "El Tejar" Tel. (591) (4) 6645648
Fax: (591) (4) 6643403 - Email: ceanid@uajms.edu.bo - Casilla 51 - TARIJA - BOLIVIA

Página 1 de 1

Fuente: CEANID.