

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

**SEDE CUENCA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
INGENIERA AMBIENTAL**

**TRABAJO EXPERIMENTAL:**

**“COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CALIDAD DE  
BIOETANOL OBTENIDO A PARTIR DE LA BIOMASA  
LIGNOCELULOSICA DE LOS PSEUDOTALLOS DE BANANO”**

**AUTORA:**

**ANDREA MARIBEL LLANGARI SIBRI**

**TUTOR:**

**ING. JORGE BRAULIO AMAYA PINOS**

**CUENCA - ECUADOR**

**2018**

## **CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR**

Yo, Andrea Maribel Llangari Sibri, con documento de identificación N° 0105357222, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación “COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CALIDAD DE BIOETANOL OBTENIDO A PARTIR DE LA BIOMASA LIGNOCELULOSICA DE LOS PSEUDOTALLOS DE BANANO”, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de Ingeniera Ambiental en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

**Cuenca, junio del 2018**



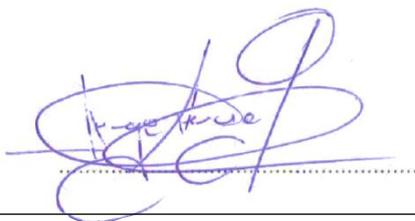
Andrea Maribel Llangari Sibri

C.I. 0105357222

## CERTIFICACIÓN

Yo declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CALIDAD DE BIOETANOL OBTENIDO A PARTIR DE LA BIOMASA LIGNOCELULOSICA DE LOS PSEUDOTALLOS DE BANANO”, realizado por la autora, Andrea Maribel Llangari Sibri, obteniendo el Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

**Cuenca, junio del 2018**



Ing. Jorge Braulio Amaya Pinos

C.I.0103444923

## **DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD**

Yo, Andrea Maribel Llangari Sibri, con número de cédula 0105357222, autora del trabajo de titulación “COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CALIDAD DE BIOETANOL OBTENIDO A PARTIR DE LA BIOMASA LIGNOCELULOSICA DE LOS PSEUDOTALLOS DE BANANO” declaro que el total contenido del trabajo experimental es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

**Cuenca, junio del 2018**



Andrea Maribel Llangari Sibri

C.I. 0105357222

## AGRADECIMIENTO

*Por tus bendiciones y alegrías en mi vida te agradezco mi Dios, por la oportunidad de realizar este proyecto como una meta más, por escucharme y ser mi todo.*

*1 Tesalonicenses 5:18*

*Mis padres y hermanos quienes con su apoyo han sabido comprenderme, su exigencia y el sentimiento de creer en mí, han hecho que cada día me esfuerce por ser mejor.*

*Amigos, aquellos que me acompañaron toda la carrera universitaria, que soportaron mis berrinches y caprichos, gracias! Porque ustedes siempre estuvieron ahí, luchando juntos.*

*“Vamos, tu puedes, ánimos..!!” siempre recordaré cuando me alentabas a seguir, cuando quería tirar la toalla, a ti gracias mi compañero incondicional, mi persona especial, Ismael.*

*Ing. Jorge Amaya por ser un gran tutor, una persona muy respetuosa y exigente, quien confió en mí para la realización de este trabajo.*

*Docentes de la Universidad quienes transmitieron sus conocimientos, por su paciencia para enseñar, sus consejos y valores durante la carrera universitaria, gracias, por enseñarme a crecer profesionalmente y cumplir un sueño más.*

## RESUMEN

El presente trabajo tiene como finalidad determinar el rendimiento y calidad de bioetanol obtenido a partir de a partir de la biomasa lignocelulósica de los pseudotallos de banano.

Se inició con el desarrollo de 3 tipos de hidrólisis: Endógena, Exógena y Química, que utilizan concentraciones de ácido sulfúrico y celulasa con el fin de romper los enlaces lignocelulósicos, una vez realizado este proceso se comprueba con reacciones de Fehling, determinándose un total de 61 muestras positivas. Luego se realiza la fermentación con la ayuda de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en tres tipos de cultivos, Agar dextrosa, Agua peptona y Agua destilada con azúcar, tomando a consideración factores tales como la temperatura que no debe variar entre 30 y 35°C y pH entre 4.0 y 4.7.

La medición de los grados Brix es de suma importancia durante la fermentación, ya que actúa como indicador de que la muestra está lista para la destilación alcohólica. Esta destilación alcohólica es de carácter simple.

Por consiguiente, el volumen de destilación de cada muestra es medido para conocer la cantidad del mismo con exactitud, luego analizado mediante picnometría para conocer su densidad y por tanto la obtención del grado alcohólico aplicando la Normativa Ecuatoriana INEN 360, como también su grado alcohólico probable mediante tablas descritas por el equipo de refractometría.

Finalmente, se analiza su rendimiento mediante aplicación de ecuaciones tanto para la fermentación como para la hidrólisis. En cuanto al poder calorífico, se determina para cada muestra mediante calorimetría, estos resultados son comparados con tablas, hallándose diferentes tipos de biocombustibles obtenidos: metanol, etanol, propanol y butano.

# INDICE

1. CAPITULO I.....	1
INTRODUCCION.....	1
1.1 Problemática.....	2
1.2 Objetivos.....	5
1.2.1 Objetivo General.....	5
1.2.2 Objetivos Específicos.....	5
2. CAPITULO II.....	6
MARCO TEÓRICO.....	6
2.1 Banano y sus características.....	6
2.1.1 Raquis del banano o “pinzotes”.....	6
2.1.2 Composición de materiales lignocelulósicos del banano.....	7
2.2 Tipos de Hidrólisis.....	9
2.2.1 Hidrólisis Enzimática.....	9
2.2.2 Hidrólisis Química.....	10
2.2.2 Hidrólisis Endógena.....	11
2.2.3 Hidrólisis Exógena.....	11
2.3 Determinación de Azúcares Reductores mediante el Método Dinitrosalísílico (DNS)	11
2.3.1 Espectrofotometría (Técnica UV visible).....	12
2.3.2 Método Beer Lamber.....	13
2.4 Prueba de Fehling.....	15
2.5 Fermentación Alcohólica.....	16
2.5.1 Clases de microorganismos usados en la fermentación.....	18
2.5.2 Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	20
2.6 Refractometría.....	22
2.6.1 Grados Brix.....	22
2.6.1.1 Tablas de conversión de los Grados Brix.....	22
2.6.2 Refractómetro de mano.....	23
2.7 Destilación.....	24
2.8 Cromatografía de Gases.....	26
2.8.1 Cromatografía de Gas Sólido (Cromatografía de adsorción_ CGS).....	30
2.8.2 Cromatografía de Gas Líquido (Cromatografía de partición_ CGL).....	30
2.9 Biocombustibles.....	30
2.9.1 Clasificación de los combustibles.....	32

2.9.2.	Propiedades de los combustibles .....	34
2.9.3.	Bioetanol.....	36
2.9.3.1	Propiedades Físico Químicas del Bioetanol .....	37
2.9.3.2	Fuentes para la obtención del Bioetanol.....	37
2.9.3.3.	Aplicaciones del Bioetanol .....	38
2.9.3.4.	Caracterización del Bioetanol .....	39
2.9.3.4.1.	Picnómetro .....	39
2.9.3.4.2.	Densidad.....	39
2.9.3.4.3.	Grados Alcohólicos (NTE INEN 360).....	41
2.9.3.4.4.	Calorimetría.....	43
2.9.3.4.4.1.	Calor Específico.....	44
2.9.3.4.4.2.	Poder Calorífico.....	45
3.	CAPITULO III.....	47
	ESTADO DEL ARTE .....	47
4.	CAPITULO IV .....	49
	METODOLOGÍA .....	49
4.1	Pre tratamiento.....	49
4.2	Primera Etapa .....	50
4.2.1.	Hidrólisis Endógena .....	50
4.2.2.	Hidrólisis Exógena.....	51
4.2.3.	Hidrólisis Química.....	55
4.3	Segunda Etapa.....	60
4.3.1	Prueba Fehling.....	60
4.3.2	Azúcares Reductores.....	61
4.3.3	Fermentación .....	63
4.3.4	Medición de Grados Brix.....	64
4.4	Tercera Etapa .....	65
4.4.1	Destilación de Bioetanol.....	65
4.4.2	Cromatografía .....	66
4.5	Cuarta Etapa .....	66
4.5.1	Densidad.....	66
4.5.2	Calorimetría.....	68
4.5.3	Rendimiento del Bioetanol obtenido: .....	69
5.	CAPITULO V.....	70
	ANALISIS Y RESULTADOS .....	70
5.1	Azúcares Reductores.....	70

5.1.1.	Azúcares Reductores de la Hidrólisis Endógena .....	70
5.1.2.	Azúcares Reductores de la Hidrólisis Exógena.....	72
5.1.3.	Azúcares Reductores de la Hidrólisis Química.....	74
5.2	Prueba de Fehling.....	80
5.3	Refractometría. Medición de Grados Brix (Grados Alcohólicos).....	84
5.4	Destilación Alcohólica .....	88
5.4.1	Características de las muestras destiladas .....	88
5.5	Caracterización del Bioetanol .....	92
5.5.1	Rendimiento del Biocombustible .....	92
5.5.1.1.	Rendimiento de las Hidrólisis.....	93
5.5.1.2.	Rendimiento de la Fermentación .....	97
5.5.2	Análisis de los Grados Alcohólicos.....	101
5.5.3	Calidad del Biocombustible.....	106
5.5.3.1.	Cálculo del Poder Calorífico. ....	106
6.	CAPITULO V.....	119
	CONCLUSIONES.....	119
	RECOMENDACIONES.....	121
	BIBLIOGRAFÍA.....	123
	APENDICES.....	127

## FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Principales productos de exportación del Ecuador. ....	3
<b>Figura 2.</b>	Destino Nacional del Banano en el Ecuador. ....	4
<b>Figura 3.</b>	Morfología del Banano. ....	7
<b>Figura 4.</b>	Estructura química de la celulosa de la fibra de banano (Unidad de celobiosa).....	8
<b>Figura 5.</b>	Composición química de la Hemicelulosa.....	8
<b>Figura 6.</b>	Estructura molar de la lignina.....	9
<b>Figura 7.</b>	Interacción enzima – sustrato. ....	10
<b>Figura 8.</b>	Diagrama esquemático de un Espectrofotómetro de barrido de doble luz. ....	12
<b>Figura 9.</b>	Esquema de utilización del Reactivo de Fehling .....	16
<b>Figura 10.</b>	Diagrama general para la producción de etanol a partir de materiales lignocelulósicos. .....	17
<b>Figura 11.</b>	Ruta bioquímica de producción de etanol a partir de la glucosa. ....	18
<b>Figura 12.</b>	Vía de la Glucólisis y Fermentación alcohólica (simplificadas), seguida por <i>S. cerevisiae</i> para la producción de etanol.....	18
<b>Figura 13.</b>	Cultivo de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . ....	21

<b>Figura 14.</b> Refractómetro Abbe de laboratorio para mesa (ATAGO 1T - Liquid) .....	23
<b>Figura 15.</b> Destilación Simple en laboratorio.....	26
<b>Figura 16.</b> Diagrama esquemático de un cromatógrafo de gases .....	27
<b>Figura 17.</b> Curvas de van Deemter en cromatografía de gases de n-C <sub>17</sub> H <sub>36</sub> a 175°C, usando N <sub>2</sub> , He y H <sub>2</sub> en una columna de 0.25mm de diámetro y 25m de longitud, de pared recubierta de fase estacionaria OV-111.....	28
<b>Figura 18.</b> Técnica de inyección “sandwich”.....	29
<b>Fuente 19.</b> Aplicaciones del Bioetanol.....	38
<b>Figura 20.</b> Modelos de Picnómetro .....	39
<b>Figura 21.</b> Calorímetro de laboratorio.....	43
<b>Figura 22.</b> Obtención de licores clarificado de la Hidrólisis Endógena.....	51
<b>Figura 23.</b> Obtención licores clarificados de la Hidrólisis Exógena, antes de la mezcla con la enzima celulasa Cellozise.....	52
<b>Figura 24.</b> Obtención del licores clarificados de la Hidrólisis Química .....	56
<b>Figura 25.</b> Licor obtenido de la Hidrólisis Química al 1% de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	57
<b>Figura 26.</b> Licor obtenido de la Hidrólisis Química Solución 1 Normal H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	58
<b>Figura 27.</b> Licor obtenido de la Hidrólisis Química Solución 2 Normal H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	59
<b>Figura 28.</b> Pasos para la realización de la Prueba Fehling.....	60
<b>Figura 29.</b> Reactivo Dinitrosalisílico (DNS).....	61
<b>Figura 30.</b> Solución Patrón Glucosa.....	61
<b>Figura 31.</b> Procedimiento de la obtención de la Curva Patrón Glucosa.....	63
<b>Figura 32.</b> Jugos clarificados con levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> colocados en la estufa para iniciar la fermentación.....	64
<b>Figura 33.</b> Medición de los grados Brix de la muestra N° 38 (Hidrólisis Química), lista para la destilación alcohólica.....	65
<b>Figura 34.</b> Destilación Simple de las muestras para la obtención de bioetanol .....	66
<b>Figura 35.</b> Medición de la densidad de las muestras por medio del picnómetro.....	67
<b>Figura 36.</b> Peso del calorímetro vacío (izquierda) y calentamiento de la muestra a analizar (derecha).....	68
<b>Figura 37.</b> Comparación de la glucosa obtenida a partir de la Hidrólisis Endógena con las diferentes concentraciones de volumen de sustrato .....	71
<b>Figura 38.</b> Comparación de la glucosa obtenida a partir de la Hidrólisis Exógena con las diferentes concentraciones de volumen de sustrato .....	73
<b>Figura 39.</b> Comparación de la glucosa obtenida a partir de la Hidrólisis Química (30,35,60 y 80% de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) con las diferentes concentraciones de volumen de sustrato.....	75
<b>Figura 40.</b> Comparación de la glucosa obtenida a partir de la Hidrólisis Química (1%, 1N y 2N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) con las diferentes concentraciones de volumen.....	76
<b>Figura 41.</b> Días de Fermentación para obtención de biocombustibles.....	90
<b>Figura 42.</b> Grado Alcohólico obtenido VS Densidad .....	91
<b>Figura 43.</b> Datos Anómalos de la influencia entre los Días de Fermentación VS Densidad y Grado Alcohólico.....	92
<b>Figura 44.</b> Rendimiento de las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química .....	95
<b>Figura 45.</b> Muestras de Hidrólisis con rendimiento mayores al 70% .....	95
<b>Figura 46.</b> Influencia de % celulosa en el Rendimiento de las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química.....	96
<b>Figura 47.</b> Correlación de los datos en el Rendimiento de las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química (simetría) .....	97
<b>Figura 48.</b> Rendimiento de la Fermentación para las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química ..	99

<b>Figura 49.</b> Muestras de Hidrólisis con rendimiento mayores al 50% .....	99
<b>Figura 50.</b> Comportamiento de la Fermentación de las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química. .....	100
<b>Figura 51.</b> Correlación de datos de la Fermentación en las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química. ....	101
<b>Figura 52.</b> Análisis del alcohol obtenido, mediante fórmulas, manual (tablas) y experimental (laboratorio).....	103
<b>Figura 53.</b> Muestras con mayor grado de alcohol tanto obtenido mediante cálculo manual y observación de tablas como experimentalmente. ....	104
<b>Figura 54.</b> Correlación de datos para los grados alcohólicos probables (fórmula y observación de tablas) como grados alcohólicos experimentales (laboratorio _INEN 360).....	105
<b>Figura 55.</b> Capacidad Calorífica de los Biocombustibles obtenidos.....	108
<b>Figura 56.</b> Poder Calorífico de los Biocombustibles obtenidos .....	109
<b>Figura 57.</b> Biocombustibles pertenecientes a Metanol con un margen de error del 5 y 10% .....	109
<b>Figura 58.</b> Biocombustibles pertenecientes a Etanol con un margen de error del 5 y 10% .....	110
<b>Figura 59.</b> Biocombustibles pertenecientes a Propanol con un margen de error del 5 y 10% .....	111
<b>Figura 60.</b> Biocombustibles pertenecientes a Butanol con un margen de error del 5 y 10% .....	111
<b>Figura 61.</b> Resumen de los biocombustibles analizados .....	112
<b>Figura 62.</b> Análisis estadístico de los biocombustibles analizados (Poder Calorífico).....	113
<b>Figura 63.</b> Análisis estadístico de dispersión de datos entre los biocombustibles analizados (Poder Calorífico) VS biocombustibles de comparación Muñoz & Rovira (2014).....	114
<b>Figura 64.</b> Reacciones metabólicas producidas por bacterias que afectan la Fermentación Alcohólica. ....	118

## TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Taxonomía de la Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . ....	21
<b>Tabla 2.</b> Propiedades Físicas y Químicas del Bioetanol.....	37
<b>Tabla 3.</b> Tabla comparativa de las características de la gasolina con otros combustibles para MEP .....	47
<b>Tabla 4.</b> Pre tratamiento de los raquis de banano.....	50
<b>Tabla 5.</b> Cálculo de la Densidad de las muestras previo a la obtención de la enzima celulasa Cellozise.....	53
<b>Tabla 6.</b> Cálculo de la Densidad y Enzima celulasa Cellozise en la hidrólisis de prueba.....	55
<b>Tabla 7.</b> Cálculo de la Solución 1 Normal del Ácido Sulfúrico para la Hidrólisis Química.....	57
<b>Tabla 8.</b> Cálculo de la Solución 2 Normal del Ácido Sulfúrico para la Hidrólisis Química.....	59
<b>Tabla 9.</b> Creación de Curva Patrón Glucosa .....	62
<b>Tabla 10.</b> Análisis Estadístico de la Glucosa (Hidrólisis Endógena) .....	72
<b>Tabla 11.</b> Análisis Estadístico de la Glucosa (Hidrólisis Exógena) .....	74
<b>Tabla 12.</b> Análisis Estadístico de la Glucosa por Concentraciones (Hidrólisis Química).....	77
<b>Tabla 13.</b> Análisis Estadístico de la Glucosa por Soluciones Normales (Hidrólisis Química) Parte 1 .....	78
<b>Tabla 14.</b> Análisis Estadístico de la Glucosa por Soluciones Normales (Hidrólisis Química) Parte 2 .....	79

<b>Tabla 15.</b> Resumen del total de muestras realizadas la Prueba de Fehling .....	81
<b>Tabla 16.</b> Grados Alcohólicos obtenidos mediante cálculo Manual y Observación de Tablas.....	85
<b>Tabla 17.</b> Características de las muestras destiladas .....	89
<b>Tabla 18.</b> Influencia de los Días de Fermentación VS Cantidad de volumen de destilación obtenido .....	91
<b>Tabla 19.</b> Rendimiento de las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química.....	94
<b>Tabla 20.</b> Rendimiento de Fermentación para la Hidrólisis Endógena, Exógena y Química .....	98
<b>Tabla 21.</b> Resumen de los Grados Alcohólicos obtenidos a partir de fórmulas teóricas y experimentales.....	102
<b>Tabla 22.</b> Resumen de valores obtenidos del Poder Calorífico .....	107
<b>Tabla 23.</b> Resumen de las muestras de Hidrólisis positivo para Etanol con sus respectivas características. ....	115
<b>Tabla 24.</b> Factores que afectan a la Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en la Fermentación Alcohólica. ....	116

## ANEXOS

<b>Apéndice A.</b> Cálculo de Glucosa (ml) a partir de las hidrólisis realizadas de los raquis de Banano (H. Endógena, Exógena y Química).....	127
<b>Apéndice B.</b> Pruebas de Fehling positivas .....	134
<b>Apéndice C.</b> Medición °Brix_ Comportamiento de muestras durante el tiempo de Fermentación .....	141
<b>Apéndice D.</b> Análisis Estadístico de las características de los biocombustibles obtenidos.....	148
<b>Apéndice E.</b> Análisis Estadístico del Rendimiento de las Hidrólisis, Fermentación Endógena, Exógena y Química. ....	153
<b>Apéndice F.</b> Análisis Estadístico de los Grados Alcohólicos (Fórmulas, Observación Tablas y Experimentalmente). ....	156
<b>Apéndice G.</b> Propiedades más importantes de los combustibles más habituales .....	158
<b>Apéndice H.</b> Análisis Estadístico de los biocombustibles analizados (Poder Calorífico) comparados con Metanol, Etanol, Propano y Butano .....	159
<b>Apéndice I.</b> Pruebas de Cetonas y Aldehídos.....	164
<b>Apéndice J.</b> Tablas de transformación de los Grados Alcohólicos Probables .....	165
<b>Apéndice K.</b> Transformación de los Grados Alcohólicos según la Normas INEN 360.....	172

## 1. CAPITULO I

### INTRODUCCION

Hoy en día, se busca frenar la lucha a componentes políticos, económicos y de salud, para proteger el medio ambiente, disminuyendo el uso de recursos renovables como no renovables y aplicando nuevas alternativas energéticas de las materias primas y subproductos, en producción de energía.

Los llamados subproductos o residuos en su mayoría contienen biomasa lignocelulósica que, mediante reacciones químicas como físicas o biológicas pueden llegar a ser transformados a etanol (Ramírez & Solórzano, 2012).

El banano es una fruta muy nutritiva, que contiene grandes cantidades de potasio, calcio y bajos niveles de sodio, que gracias a sus características se ha convertido en el mayor producto de exportación en el Ecuador ubicándose como el líder mundial en junio del 2010, alcanzando un volumen expresado en dólares correspondiente a \$2,1 mil millones, siendo los principales países consumidores: Mar del Norte (Báltico), países del Mediterráneo, Estados Unidos y Rusia (Ramírez & Solórzano, 2012).

En la cosecha de una planta de banano se tiene un peso de 150 y 200 kilogramos, de estos, 23 kg conciernen al racimo, 3.25 kg al raquis, 127 kg al conjunto de pseudotallos, hojas, flor y corona. Además, el peso de flor y corona es 0.35 kg por racimo. (Laprade, 2006). Los ya mencionados raquis de banano están compuestos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina que por medio de procesos químicos y fermentación se puede obtener alcohol.

El bioetanol tiene varias aplicaciones como son las bebidas fermentadas para consumo humano como vinos, aguardiente, vodka, ron, brandy, etc., en la industria como:

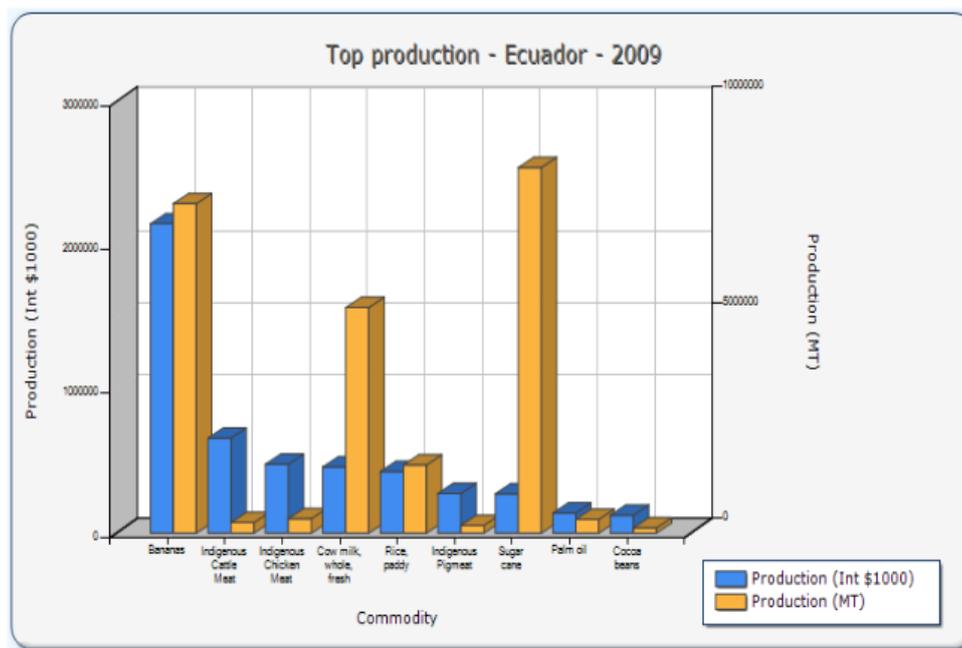
disoluciones, disolvente de colorantes, disolvente de resinas, jabón, aceites, ceras, etc., y oxidación en la elaboración de ácido acético, vinagre, acetaldehído. También puede ser mezclado con la gasolina, para mejorar sus propiedades<sup>1</sup>, recomendándose una mezcla en proporción del 10 al 25%, obteniendo un octano entre 70 y 75, mayor que el de la gasolina sin mezclar (Monsalve, Medina, & Ruiz, 2006).

### **1.1 Problemática**

De acuerdo a Food American Organization (FAO) hasta el año 2009 el principal producto de exportación que genera los mayores ingresos de divisas para el Ecuador es el banano, tal como se muestra en la Figura 1. A esto cabe añadir, que el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MAGAP) publicó en su página web que en el año 2010 las plantaciones de la región Costa de mayor producción son las de la provincia de Los Ríos con el 49%, El Oro con el 24% y Guayas con el 20%, de la producción total; lo cual, esto con lleva a un gran porcentaje de desperdicio debido al estricto control de calidad por parte de los principales países importadores.

---

<sup>1</sup> La mezcla de bioetanol en la gasolina mejora sus propiedades, dando como resultado aumentar la compresión en el motor, un funcionamiento mayor, un recalentamiento menor y el aumento de mayor número de revoluciones. (Monsalve, Medina, & Ruiz, 2006)

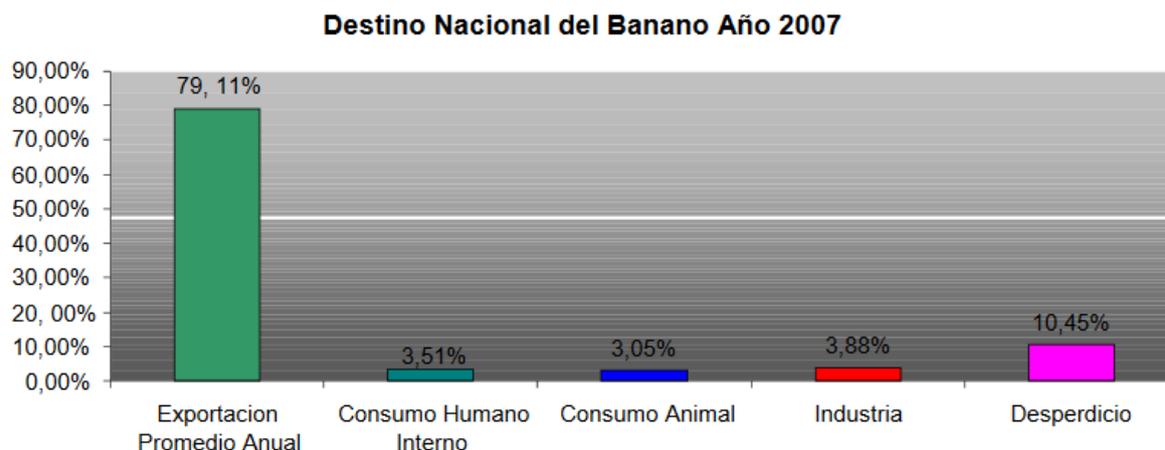


**Figura 1.** Principales productos de exportación del Ecuador.

**Fuente:** Food American Organization (FAO, 2009), tomado de (Carriazo & Tarras, 2012)

La falta de conocimiento, conciencia, comunicación, entre otros, han sido una de las causas que ha generado problemas para el Ecuador en cuanto a los desechos del banano, desde que se inició su manufactura. La mayoría de la producción del banano, se destina básicamente a la exportación. En la Figura 2, se observa, que entre los años 1987 – 2007, el promedio anual que se vendió al exterior fue del 79.1% del total de la producción. Un 3.51% se destinó al consumo Humano Interno; otro 3.05% al Consumo Animal; el 3.88% para la Industrial y un 10.45% se desperdicia, se pierde en las fincas, empacadoras, guardarrayas y cuentas de las carreteras.

Considerando la estimación de producción total de banano que es 6'278.260 toneladas a nivel nacional, 35% representa la producción de la Provincia de Los Ríos la cual es 2'197.391 toneladas, de las cuales el 10.45% (229.627 toneladas) representa los desperdicios (Ayerve & Rosado, 2012).



**Figura 2.** Destino Nacional del Banano en el Ecuador.

**Fuente:** Banco Central del Ecuador, 2007 (Ayerve & Rosado, 2012)

Expuesto lo anterior, se pretender buscar soluciones al problema ambiental creando fuentes de energía renovable, como es el bioetanol, ayudando no solo a demostrar la reutilización de subproductos sino también incitar a una economía sustentable y sostenible con el medio ambiente.

Cabe mencionar, que la producción de bioetanol, podría sustituir las divisas con la importación de derivados de petróleo, tanto así que incluso se propuso el “Programa de Formulación de gasolina Extra con Bioetanol Anhidro”. Aquel programa plantea dos etapas:

- La primera etapa se debe tomar en cuenta 800mil litros diarios de gasolina extra que debe adoptar el 5% de bioetanol necesitarían 40mil litros de biocombustible.
- La segunda etapa es seguir con la anterior desarrollando gradualmente hasta avanzar el 10% de bioetanol, dando como resultado un crecimiento de bioetanol a nivel nacional, alrededor de 590mil litros por día (215miles de m<sup>3</sup> por año) (Ruiz, 2007).

Finalmente, La FAO estima que para el periodo 2012-2022 el etanol acrecentará en un 70%, donde ocuparía el 12% de la producción mundial de los cereales secundarios y 29% de la caña de azúcar. De acuerdo, a la Organización Latinoamericana de Energía (OLADE), señala el Estado Actual de los Biocombustibles en América Latina y el Caribe para 2018, prediciendo un aporte de los biocombustibles sobre la demanda total de la energía que será el 3%, por lo que es preciso establecer mecanismos que aprueben el desarrollo sostenible de este recurso energético mediante la implementación de políticas públicas y normatividad (Cuji, 2017).

## **1.2 Objetivos.**

### **1.2.1 Objetivo General**

Obtener bioetanol a partir de la biomasa lignocelulósica de los raquis de banano para la comparación de rendimiento y calidad del mismo, mediante reacciones químicas de hidrólisis y fermentación.

### **1.2.2 Objetivos Específicos**

- Realizar el proceso de hidrólisis (endógena, exógena y química) de los raquis del banano para la extracción de jugos.
- Ejecutar un proceso de fermentación alcohólica a partir de los jugos extraídos de las hidrólisis de los raquis del banano para la obtención de bioetanol.
- Determinar el rendimiento, cantidad y calidad de alcohol producido a partir de los raquis del banano en los diferentes procesos de hidrólisis de los raquis de banano.
- Establecer una comparación del alcohol extraído tanto en rendimiento, cantidad y calidad, mediante las tres formas de hidrólisis y fermentación realizadas anteriormente.

## **2. CAPITULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 Banano y sus características**

Denominado, así como nombre común, banana o plátano. Su especie es originaria del Sureste asiático, pero también sus cultivos se han extendido a países de clima tropical. Su tallo es anual, muere cuando el fruto madura y vuelve su brote a partir de las yemas del rizoma. Estos tallos con el medio normal de transmisión y creación de nuevas plantaciones; su desarrollo es tan rápido que el fruto suele estar diez meses después del plantío de aquellos brotes.

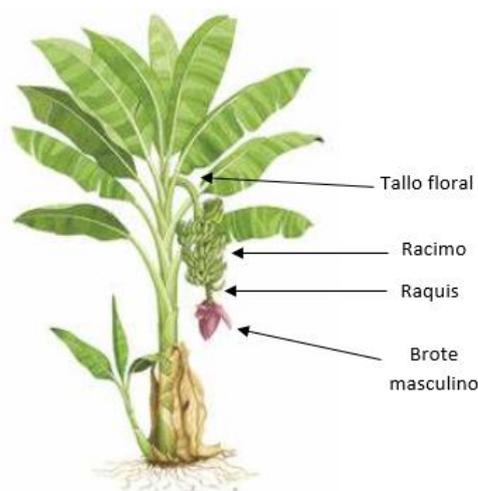
En sí, la plantación de banano sus tallos pueden llegar a medir entre 3 y 12m de altura con hojas ovales de hasta 3m de longitud. Las flores, en espiral nacen desde el centro de la copa foliar tanto femeninas (espiga) como masculinas (ápice). El fruto puede llegar a crecer entre los 10 y 30cm, y por lo tanto su racimo a unos 11kg aproximadamente.

El fruto llamado plátano maduro se puede utilizar para cocinar, es mayor, más basto y menos dulce que el de las variedades que suelen consumirse en crudo. Contiene por término medio un 75% de agua, un 21% de hidratos de carbono y un 1% de grasas, proteínas, fibra y cenizas. Las hojas y tallos tienen abundantes fibras que se usan en la fabricación de papel y cuerdas. Su clasificación científica: pertenece al género *Musa*, de la familia de las Musáceas (*Musaceae*). (Funez, 2009)

##### **2.1.1 Raquis del banano o “pinzotes”**

El raquis es el tallo de la inflorescencia, va desde el primer fruto hasta la yema masculina. Puede estar desnudo o cubierto con brácteas persistentes. La unión de las

brácteas, también se conocen como nódulos. (Vézina & Baena, 2016), es decir, es denominado al tallo del racimo del banano, como se observa en la Figura 3. Es un material rico en fibra (8% de su peso) y se estima que cada año la industria bananera en la zona del Caribe genera alrededor de 111 millones de pinzotes (33 000 T de fibra). Actualmente un 15% del raquis producido es utilizado para elaborar fibra para papel (Mendez, 2012).



**Figura 3.** Morfología del Banano.

**Fuente:** (Fagiani & Tapia, *s.f.*); modificado por autora, 2018.

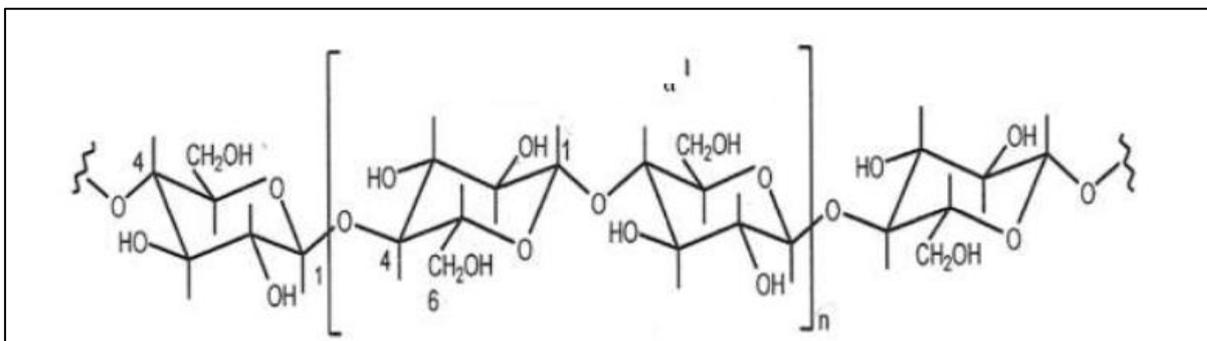
### 2.1.2 Composición de materiales lignocelulósicos del banano.

El banano está compuesto principalmente de tres tipos diferentes de polímeros: celulosa, hemicelulosa y lignina (Fengel & Wegener, 1984), envueltos en una compleja estructura. Este tipo de materiales son los más abundantes en la naturaleza.

#### ○ Celulosa

Está conformada por subunidades de D-glucosa, unidas por  $\beta$ 1, 4 glicosídicos (Fengel & Wegener, 1984), monosacárido muy importantes para la fermentación. La celulosa ostenta dos estructuras, una cristalina (organizada) y otra amorfa. La celulosa está “empaquetada” mediante las denominadas fibrillas de celulosa. Estas fibrillas son en su

mayoría independientes y débiles unidos a través de uniones de hidrógeno, como se observa en la Figura 4 (Laureano, Teymouri, Alizadeh, & Dale, 2005).

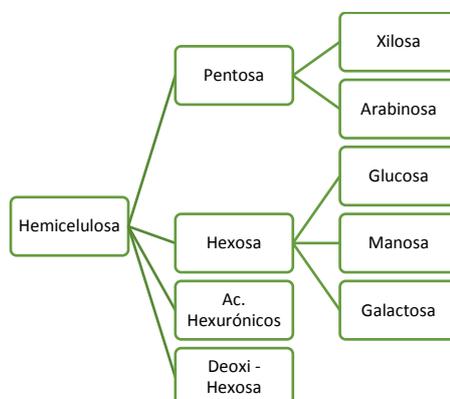


**Figura 4.** Estructura química de la celulosa de la fibra de banano (Unidad de celobiosa).

**Fuente:** (Escalante & Fuentes, 2013)

#### ○ Hemicelulosa

Carbohidrato complejo y heterogéneo ya que su estructura posee diferentes polímeros (Figura 5) como pentosas (como xilosa y arabinosa), hexosas (como manosa, glucosa y galactosa), azúcar y ácidos, entrelazadas entre sí glucosídicamente. La mayoría de ellas, en la degradación hidrolítica, dan, junto a la glucosa, manosa, galactosa, etc. (Palacios, 1956). La hemicelulosa sirve de conexión entre la lignina y las fibras de celulosa y da toda la rigidez a la red de celulosa, hemicelulosa y lignina. (Laureano, Teymouri, Alizadeh, & Dale, 2005).

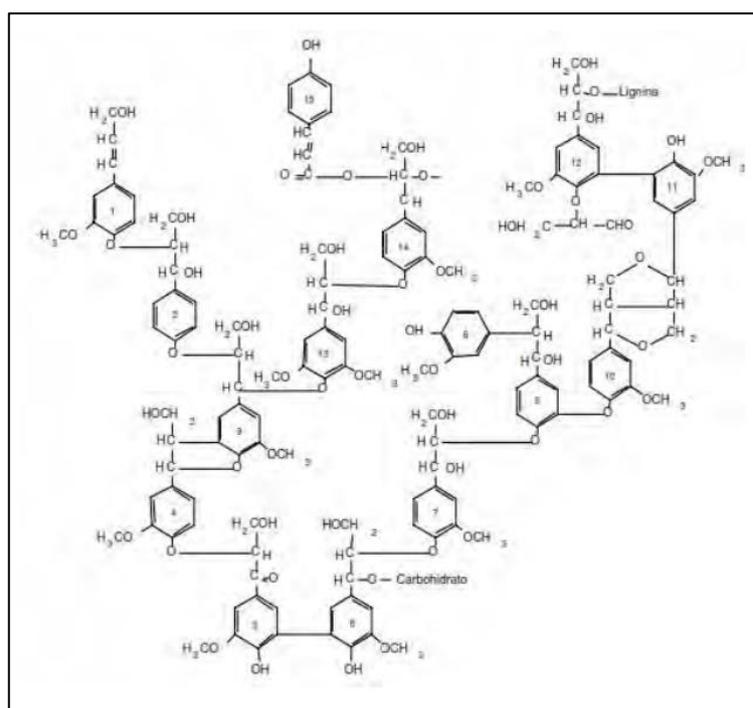


**Figura 5.** Composición química de la Hemicelulosa.

**Fuente:** (Escalante & Fuentes, 2013)

○ *Lignina*

Heteropolímero amorfo que consta de tres diferentes unidades de fenilpropano (p-coumari, coniferil y sinapol alcohol) que se mantienen unidos por diferentes enlaces. El heteropolímero amorfo no es soluble en agua y ópticamente inactivo; por lo tanto, la lignina hace que su degradación sea muy complicada, en la Figura 6, se puede observar aproximación de dicha estructura (Fengel & Wegener, 1984)



**Figura 6.** Estructura molar de la lignina.

**Fuente:** (Escalante & Fuentes, 2013)

## 2.2 Tipos de Hidrólisis

### 2.2.1 Hidrólisis Enzimática

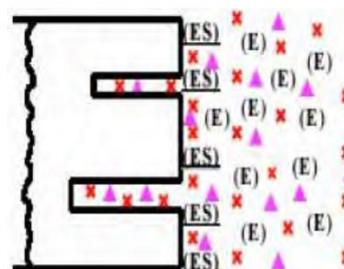
Es el proceso de transformación de estructuras química complejas (rotura de enlaces) a estructuras más simples, cómo, por ejemplo, la amilosa y amilopectina en azúcares fermentables que posteriormente pueden ser convertidos a etanol por levaduras y bacterias.

(Mojovic, Nikolic, Rakin, & Vukasinovic, 2006). Tiene las siguientes etapas (medio heterogéneo) (Figura 7):

- Transferencia de las moléculas de enzima (E) de la solución acuosa a la superficie de sustrato de celulosa (S)
- Formación del complejo enzima – sustrato (ES), previa adsorción de las moléculas de enzima sobre la celulosa.
- Transferencia de las moléculas de agua hacia los centros activos del complejo ES.
- Reacción en la superficie del sustrato y transferencia de los productos solubles (P), glucosa y celobiosa, desde la superficie de la celulosa hacia el medio dispersante acuoso.
- Descomposición de la celobiosa en glucosa por medio de  $\beta$  – glucosidasas (Bohorquéz & Losada, 2004)

Adsorción:  $(S) + (E) \leftrightarrow [(ES)]$

Reacción:  $[(ES)] \rightarrow (E) + (P)$



*Figura 7.* Interacción enzima – sustrato.

**Fuente:** (Bohorquéz & Losada, 2004)

Entre las hidrólisis más comunes tenemos:

### 2.2.2. Hidrólisis Química

Es una reacción a base de sustancias químicas con alta concentración, la más conocida y utilizada es el ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), sirve como agente para hidrolizar la celulosa, pero es muy peligroso por su toxicidad o ya sea por ser corrosivo. Una vez realizada la hidrólisis es necesario neutralizar su pH para evitar su inhibición. Cabe mencionar que

existe otro agente para este tipo de hidrólisis como es el ácido clorhídrico (HCl) (Escalante & Fuentes, 2013)

### **2.2.2 Hidrólisis Endógena**

Utiliza una solución acuosa de carbonato de calcio  $\text{Ca}(\text{CO})_2$  que tiene varios usos, en este caso para la solubilización del sustrato, de tal forma que sus enlaces sean preparados a un proceso de rotura de enlaces que van de complejos a simples.

### **2.2.3 Hidrólisis Exógena**

Bajo procesos previos de autoclave a presión y temperatura conocidas, se utiliza una enzima que ayuda a la descomposición de dichos enlaces complejos para fácilmente utilizarlos en procesos de transformación de azúcares.

## **2.3 Determinación de Azúcares Reductores mediante el Método Dinitrosalicílico (DNS)**

Un azúcar reductor es un carbohidrato que tiene uno o más carbonos anoméricos<sup>2</sup> disponibles para oxidación con un agente oxidante suave; es decir, el carbono tiene un alcohol y un grupo éter unidos a él. (S & A)

El método DNS es una técnica colorimétrica que emplea 3,5-ácido dinitrosalicílico para la hidrólisis de polisacáridos presentes en una muestra, seguido de la determinación espectrofotométrica a 540nm de los azúcares reductores. Esta técnica sirve para cuantificar los azúcares reductores producidos durante una fermentación o para cuantificar los productos de una reacción enzimática. (Bibián L), por tanto, con sus características ya descritas anteriormente, se tomó a consideración usar este método en el presente trabajo de titulación.

---

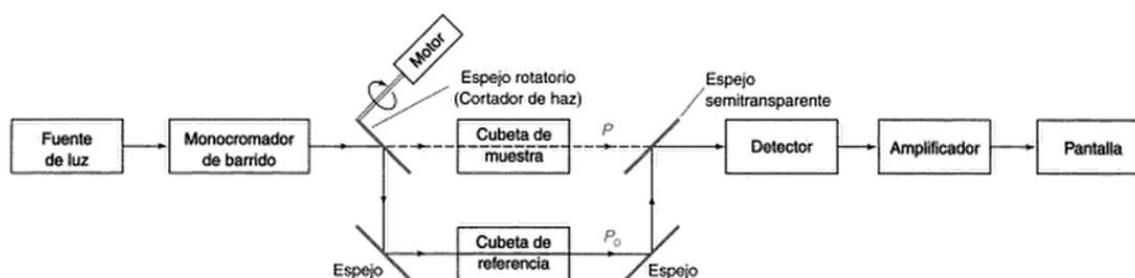
<sup>2</sup> Anoméricos: mayor a 5 átomos de carbono que puede tomar una forma cíclica de dos formas: alfa y beta.

### 2.3.1 Espectrofotometría (Técnica UV visible)

#### ➤ Concepto

Un espectrofotómetro es un espectrómetro que mide fotones por medio de la luz, es decir, como se observa la Figura 8 consiste en la medida de la radiación que llega a un detector tras producirse un fenómeno de absorción de luz por parte de una sustancia absorbente (Silva & García, 2006). Entre sus componentes más importantes están:

1. La fuente de energía radiante
2. Un filtro (de corte o de banda) o monocromador para aislar la banda estrecha de energía radiante
3. Un detector para medir la energía radiante transmitida a través de la muestra.



**Figura 8.** Diagrama esquemático de un Espectrofotómetro de barrido de doble luz.

**Fuente:** (Olsen, 1990)

#### ➤ Ventajas

Entre algunas de sus ventajas se tiene:

- Una mejor sensibilidad (máxima), que este equipo proporciona luz de tan sólo una región de longitudes de onda en su máximo de absorción.
- Mayor selectividad porque puede eliminar longitudes de onda que podrían ser atraídas por sustancias diferentes.
- Disminuye la fatiga ocular y la ceguera parcial (Olsen, 1990)

➤ Muestra

En cuanto, a la muestra, la limpieza tanto interna como externa de la cubeta cual sostiene a la muestra debe ser muy importante. Para eso es necesario lavar las cubetas con el disolvente, secar las partes externas y evidenciar su absorbancia (Olsen, 1990).

➤ Aplicaciones

Entre la espectrofotometría ultravioleta y visible, tenemos:

- Análisis Cuantitativo: soluciones patrón
- Análisis Cualitativo: relacionado al número total de identidades espectrales
- Determinación de Estructuras: datos de identificación de grupos cromóforos e identificación de estructuras de compuestos orgánicos.
- Valoraciones fotométricas: valoraciones que tiene lugar un cambio de color
- Otros: estudio de enlaces de puente de hidrógeno, determinación de configuraciones estéricas, diferenciación entre isómeros cis y trans, radicales libres.

### 2.3.2 Método Beer Lambert

Se inicia preparando la muestra, colocando soluciones de forma creciente de 1 a 10mL (glucosa), luego aumentados con soluciones de dinitrosalicílico en forma decreciente de 10ml a 1mL y finalmente 1mL de agua destilada por cada tubo de ensayo, es decir, cada muestra tendrá una concentración diferente, pero con volúmenes iguales.

Luego son llevados a baño maría durante 30min, demostrando el cambio de color para cada uno de ellos desde la solución con menor concentración hasta un color sumamente oscuro para los tubos de ensayo con mayor concentración.

Finalmente son traspasados a cubetas donde serán medidos su absorbancia mediante el espectrofotómetro a 540nm. Los resultados son valores que son representados mediante gráficas de glucosa. Es recomendable realizar la medición de su absorbancia 3 veces, de tal

manera evitar resultados no deseados (Quesada, 2007), por tanto el proceso de cálculo, es el siguiente:

a. Toma de Datos

Inicia con el número de muestra (10 muestras aproximadamente) para la curva de calibración, la dilución de la glucosa (ml) debe ir de 0 a 1ml (forma creciente), finalmente, medir su absorbancia en el espectrofotómetro a 540nm.

Para las muestras realizadas también se realiza un total de 3 muestras por hidrólisis las cuales su función es actuar como glucosa (sustitución) para luego ser medidas en el espectrofotómetro a 540nm.

Cabe mencionar que las muestras deben ser completadas con agua destilada hasta 1ml de volumen total para cada uno de ellos, y 1ml por cada uno con 3,5 dinitro salicílico (DNS).

b. Construcción de la Curva de Calibración

La concentración tanto inicial como final es una parte fundamental para la realización de la curva de calibración, por tanto Quesada (2007), indica que la concentración inicial ( $C_1$ ) es igual a la concentración final ( $C_2$ ), la cual será la incógnita del cálculo, así:

$$V_1 C_1 = V_2 C_2$$

$$C_2 = \frac{V_1 C_1}{V_2}$$

**Donde:**

**V<sub>1</sub>:** Volumen inicial (mL)

**V<sub>2</sub>:** Volumen final (mL)

**C<sub>1</sub>:** Concentración inicial (ppm)

**C<sub>2</sub>:** Concentración final (ppm)

Por último, se realiza el gráfico de la curva de concentración siendo las ordenadas, la absorbancia ya antes medida (espectrómetro) y las abscisas es la concentración calculada ( $C_2$ ). Por supuesto se realizar una línea de regresión lineal a esta curva graficada con el fin

de verificar que los datos están correlacionados ( $R=0,9$  aproximadamente), como también la obtención de la ecuación de dicha curva de calibración ajustada (ecuación de la recta).

c. Determinación de Azúcares Reductores (glucosa)

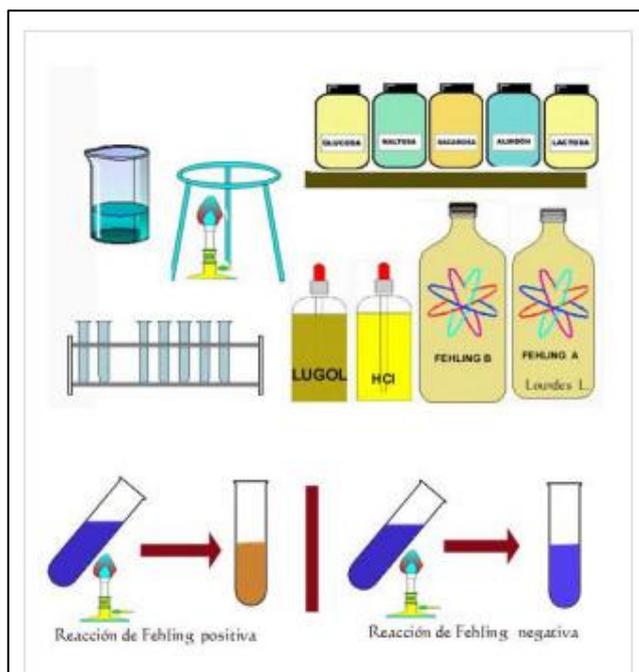
La ecuación ajustada obtenida de la curva de calibración es despejada la variable “x”, que representa la cantidad de glucosa de la muestra, mientras que “y”, será la absorbancia medida anteriormente. Finalmente se calcula la cantidad de glucosa (azúcar) de cada una de las hidrólisis.

## **2.4 Prueba de Fehling**

El reactivo de Fehling, también conocido como Licor de Fehling, en honor al químico alemán Herman von Fehling y que se utiliza como reactivo para la determinación de azúcares reductores, sirve para demostrar la presencia de glucosa, así como para detectar derivados de ésta tales como la sacarosa o la fructosa. El licor de Fehling, consiste en dos soluciones acuosas:

- Sulfato de cobre cristalizado, 35g y agua destilada hasta 1.000mL.
- Sal de segnette o Tartrato mixto de potasio y sodio 150g, solución de hidróxido de sodio al 40%, 3g y agua hasta 1.000mL.

El ensayo con el licor de Fehling se basa en el poder reductor del grupo carbonilo de los aldehídos. Éste se oxida a ácido y reduce la sal de cobre en medio alcalino a óxido de cobre, formando un precipitado de color rojo (Figura 9).



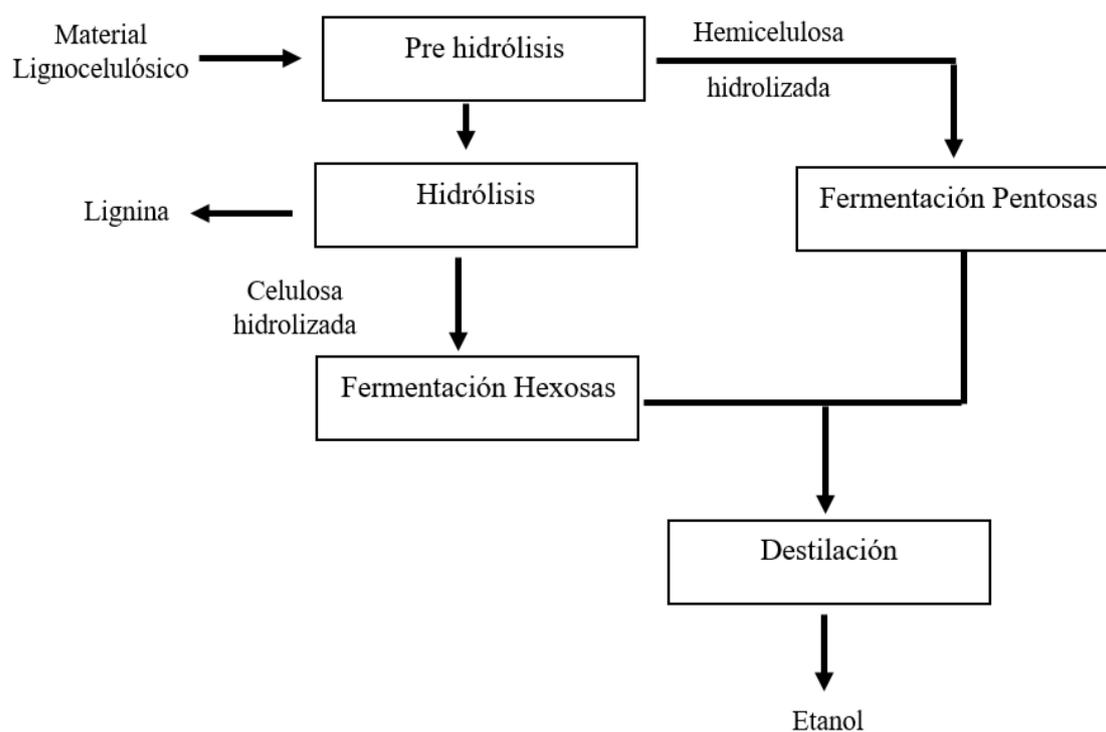
**Figura 9.** Esquema de utilización del Reactivo de Fehling

**Fuente:** (Lorén, 2011)

Cabe mencionar que la forma aldehído puede descubrirse fácilmente, aunque exista en muy pequeña cantidad. Si un azúcar reduce el licor de Fehling a óxido de cobre rojo, se dice que es un azúcar reductor. Esta reacción se produce en medio alcalino fuerte, tal que si algunos compuestos no reductores como la fructosa que contiene un grupo cetona, puede transformarse en aldehído dando lugar a un falso positivo. Al reaccionar con monosacáridos se torna verdoso y si lo hace con disacáridos toma el color del ladrillo. (Lorén, 2011)

## 2.5 Fermentación Alcohólica

La fermentación alcohólica es un proceso biológico (en plena ausencia de aire), originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general azúcares: por ejemplo, la glucosa, la fructuosa, la sacarosa, el almidón, etc.), en bioetanol como se observa en la Figura 10.



**Figura 10.** Diagrama general para la producción de etanol a partir de materiales lignocelulósicos.

**Fuente:** (Sánchez, Gutierrez, Muñoz, & Rivera, 2010)

El proceso de obtención de etanol nace a partir de procesos biológicos como es la fermentación alcohólica, ya antes mencionada. Ésta transcurre por la misma ruta enzimática de la glucólisis (Figura 11), pero necesita dos etapas adicionales (Inga, 2009):

- Primera etapa

El átomo de carbono  $\alpha$  del piruvato es atacado por el pirofosfato de tiamina y experimenta una descarboxilación, o sea pérdida de  $CO_2$ ; la coenzima queda en la forma de 2-hidroxietyl – derivado que puede considerarse una forma del acetaldehído activado o ligado a la coenzima.





utilizado, su pH, entre otros; como también, su estructura y procesos de pre tratamiento. A esto se añade el mejoramiento en técnicas y usos de dichos microorganismos, tales como:

➤ Bacterias empleadas en la fermentación

Entre algunas empleadas en productividad tenemos: *Zimomonas mobilis*, *Erwinia amilovora*, *Spirocheta aurantia*, *Streptococcus lactis*, *Spirocheta litorales* y *Spirocheta stenostrepta*, en cuanto a la degradación de la celulosa se han utilizado de géneros: *Clostridium* (*sporogenes*, *indolicus*, *sphnoides*, *saccharobutyricum*, *Thermohydrosulfuricum* y *Thermocellum*), y finalmente, cabe mencionar que ya existen bacterias genéticamente modificadas para reacciones en específico como las hexosas y pentosas (carácter de resistencia) (Karimi K., 2006)

➤ Levaduras empleadas en la fermentación

Como se sabe, son microorganismos que se caracterizan por ser los más utilizados en la producción de etanol, aunque su proceso de fermentación lo hacen muy lento, su ventaja está en la facilidad que tienen para su separación después de la fermentación, como su alta eficiencia, capaces de trabajar en temperatura mayores a los 40°C, de entre las más importantes tenemos los géneros: *Candida* (*seudotropicalis*), *Saccharomyces* (*ceresviceae*, *ellipsoideus*, *anamensisi*, *carlsbergensis*) y *Kluyveromyces marxianus* y *fragilis*. (Krishna, Reddy, & Chowdary, 2001), también existen otras levaduras de género *Candida bytyrii*, *Pichia stiptis*, *Schizosaccharomyces pombe* y *Pichia membranaefaciens*.

Cabe mencionar, que se han desarrollado investigaciones en las que se han modificado genéticamente, una de ellas se obtuvo en la Universidad Nacional de Colombia (2007), de una cepa de la especie *Kluyveromyces marxianus*, obtenida por mutagénesis química y posterior selección, demostrando ser competente de fermentar la glucosa con buenos rendimientos y otra ha sido citada por Patrouilleau (2007) quien señala “la introducción de

plásmidos con genes de xilosa reductasa y xilitol deshidrogenasa de *P. stiptis* en *Saccharomyces sp.* Para la co-fermentación eficiente de glucosa y xilosa” (Patrouilleau, Lacoste, Yapura, & Casanova, 2007)

➤ Cultivos fúngicos empleados en la fermentación

Los cultivos fúngicos no son tan reconocidos como las bacterias y levaduras para la fermentación (a nivel industrial) ya que su principal desventaja está en los tiempos de residencia que se necesita tanto para su crecimiento como para emplearlos en la producción de bioetanol, pero en cambio ofrecen ventajas como la reducción de costos, fácil adquisición, entre otros; dentro de este grupo tenemos hongos como *Mucor racemosus*, del género *Rizhopus* y *Aspergillus*. Sin embargo, cabe mencionar que Karimi (2006) compara la obtención de etanol a partir del hidrolizado de hemicelulosa de cascarilla de arroz utilizando la levadura *Pichia stiptis* y el hongo *Mucor indicus*, encontrando mayor transformación de xilosa a etanol en condiciones aerobias (Karimi K., 2006).

### **2.5.2 Levadura *Saccharomyces cerevisiae***

➤ Concepto

Conocida también como la “levadura de la cerveza” porque en la antigüedad se obtenía de los residuos de la fermentación los mostos de cerveza, mientras que hoy en día se obtiene de la melaza. (Bisio, 2016). Es un microorganismo altamente utilizado en la industria, como es también para la obtención de bioetanol.

➤ Características

Este microorganismo es una célula de alrededor de 5µm de diámetro. Bajo condiciones nutricionales óptimas, puede dividirse cada 90 minutos por brotación, observables en la

Figura 13 (Passarge, 2007); su temperatura óptima de crecimiento varía entre los 22 y los 29°C, y no sobrevive a más de 53°C, como también, se puede almacenar a temperaturas de 7°C o menores. Fermenta una solución de azúcar con una concentración inferior al 12%, se inactiva cuando la concentración de azúcar supera el 15%, por la presión osmótica del medio (Alfaro & Arrieta, 2003), es decir, fermentan glucosa, galactosa, sacarosa, maltosa y rafinosa.

### ➤ Taxonomía

De acuerdo a la **Tabla 1**, taxonómicamente esta levadura, tiene las siguientes características:

**Tabla 1.** Taxonomía de la Levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Taxonomía	
Reino	Fungi
División	Amastogomycota
Clase	Ascomycetes
Subclase	Hemiascomycetidae
Orden	Endomycetales
Familia	Saccharomycetaceae
Subfamilia	Saccharomycetidae
Género	Saccharomyces
Especie	<i>S. cerevisiae</i>

**Fuente:** (Inga, 2009)



**Figura 13.** Cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

**Fuente:** Autor, 2018.

### ➤ Usos

Según Inga (2009) indica que la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, tiene entre algunas aplicaciones industriales lo siguiente:

- Panadería, bebidas alcohólicas (cerveza, vino y otros), elaboración de quesos y para la producción de proteínas heterólogas.

- Producción de alcohol industrial (Bioetanol), en ésta la levadura produce por fermentación etanol y CO<sub>2</sub> de sustratos tales como jugos azucarados, melazas, jugos de remolacha, maíz u otros.
- Usado también como fuentes de vitaminas del complejo B (por ejemplo: tiamina), en algunas fases de la producción de antibióticos y hormonas esteroides y como alimentos para animales y seres humanos (Inga, 2009).

## **2.6 Refractometría**

### **2.6.1 Grados Brix**

Los grados Brix, son muy importantes porque proporcionan una medida objetiva de la concentración de azúcar disuelto en un producto y da una idea del nivel de dulzura del mismo (Rolle, 2007), como también los grados alcohólicos que presenta dicha muestra medida teóricamente. Existen de varios tipos ya sea para líquido o sólido.

#### **2.6.1.1 Tablas de conversión de los Grados Brix**

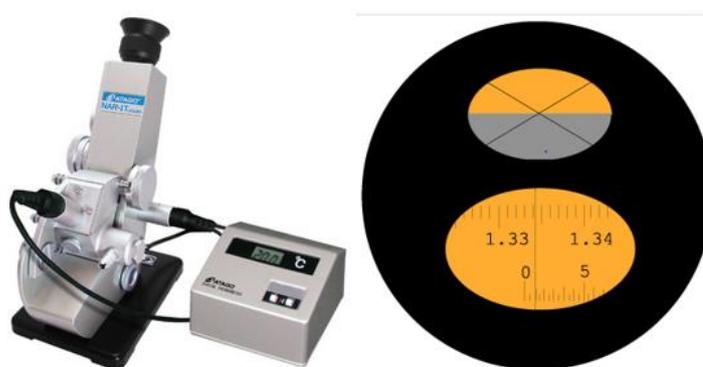
Una vez observado los grados Brix en el refractómetro (porcentaje en masa de sacarosa), se puede obtener los grados alcohólicos probables de las muestras, mediante la aplicación de la siguiente fórmula (PCE, Refractómetro de mano, s.f.):

$$\% \text{ vol} = (0.6757 \times \text{°Brix}) - 2.0839$$

O también se lo puede calcular, mediante la tabla de conversión de los grados Brix (Anexos\_ *Apéndice J*).

### 2.6.2 Refractómetro de mano

Los refractómetros (Figura 14) son instrumentos óptimos de precisión que miden en Brix (%), es decir, miden el contenido de azúcar, de alcohol o de sal (según el tipo) de pruebas de fluidos. Todos los equipos cuentan con una compensación de temperatura automática a 20°C y están capacitados para cantidades muy pequeñas (PCE, Refractómetro de mano, s.f.).



**Figura 14.** Refractómetro Abbe de laboratorio para mesa (ATAGO 1T - Liquid)

*Fuente:* (ATAGO, s.f.)

#### ➤ Manejo

- Limpiar y secar con cuidado la tapa y el prisma antes de comenzar la medición.
- Poner entre 1-2 gotas de la prueba en el prisma, al cerrar la tapa, la prueba se reparte homogéneamente entre tapa y prisma, (puede utilizar una pipeta para poner la prueba sobre el prisma principal)
- Evitar la formación de burbujas de aire, ya que se podría tener un efecto negativo en el resultado de medición.
- Se debe sostener el refractómetro bajo la luz solar, para poder observar la escala a través del ocular. El valor se podrá leer entre el límite claro /

oscuro, esto se debe realizar girando el ocular para precisar y ajustar la escala.

- Finalmente, limpiar y secar cuidadosamente el prisma y la tapa después de cada medición para evitar que queden restos que pudieran afectar a futuras mediciones, como también mantener el cuidado que el prisma se produzca ralladuras. (PCE, Refractómetro de mano, s.f.).

#### ➤ Calibración

Se inicia colocando 1 – 2 gotas de agua destilada en el prisma, luego observar el límite claro/oscuro que debe estar en 0% (línea de agua), si no lo está, se deberá ajustarlo con ayuda del tornillo de calibración que está a los costados del espectrómetro.

#### ➤ Importante

- Mantener limpios tanto la tapa con el prisma, la suciedad puede influir negativamente sobre la precisión en la medición.
- Evite ralladuras sobre el prisma, también pueden influir negativamente en la medición
- En la limpieza utilice sólo un paño húmedo y evite limpiadores agresivos, seque perfectamente el aparato tras su limpieza.
- Limpiar el aparato simplemente con un paño húmedo y nunca bajo el agua, ya que ésta podría penetrar en el aparato.
- Guardar el aparato en un lugar seco.

## 2.7 Destilación

Como se sabe, la destilación es la separación de una mezcla bajo cierto punto de ebullición, en donde los compuestos más volátiles como el alcohol se evaporan y se concentran en fase de vapor (Escalante & Fuentes, 2013). Entre algunos tipos de destilación tenemos:

a. Destilación Simple

Inicia con la vaporización de un material, bajo influencia de calor; esta destilación es muy utilizado en la industria de volumen moderado y pequeño, con el fin de obtener separaciones parciales de los componentes más volátiles de mezclas de líquidos miscibles.

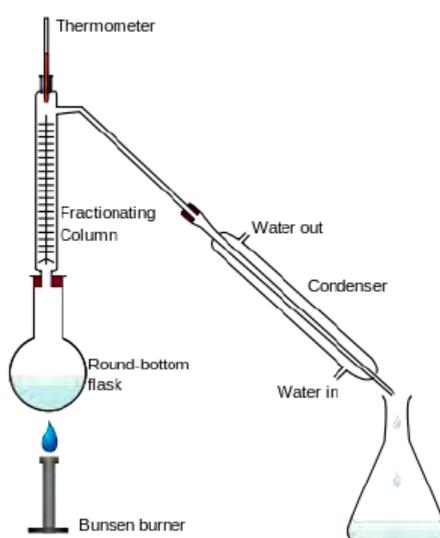
La mezcla líquida de la muestra es contenida en recipiente y llevada a ebullición. Los vapores que se desprenden continuamente, condensándose y recolectándose sin retornar al recipiente donde se lleva a cabo el calentamiento y ebullición de la mezcla.

Finalmente, la primera porción del destilado será más rica en el componente más volátil y conforma continúa la destilación, el producto evaporado se va empobreciendo. Por lo tanto, el destilado se puede recolectar en diferentes recipientes, llamados fracciones, para obtener una serie de productos destilados (Guerra, Mallén, Struck, Varela, & Zitlalpopoca, 2008)

b. Destilación Fraccionada

Como se observa en la Figura 15, ésta destilación contiene una columna de fraccionamiento de un tubo de vidrio que permite el intercambio de calor, entre el vapor ascendente (más caliente) y el condensado descendente (más frío), permitiendo equilibrio líquido – vapor y multitud de vaporizaciones y condensaciones con el objetivo que a medida que se asciende en la columna, el vapor es cada vez más rico en uno de los componentes, mientras que el residuo se enriquece en el otro.

Con la columna suficientemente larga, los productos de la destilación fraccionada (destilado y residuo) pueden ser componentes puros o un componente puro y un azeótropo, según que la mezcla sea ideal o no ideal (Guerra, Mallén, Struck, Varela, & Zitlalpopoca, 2008).



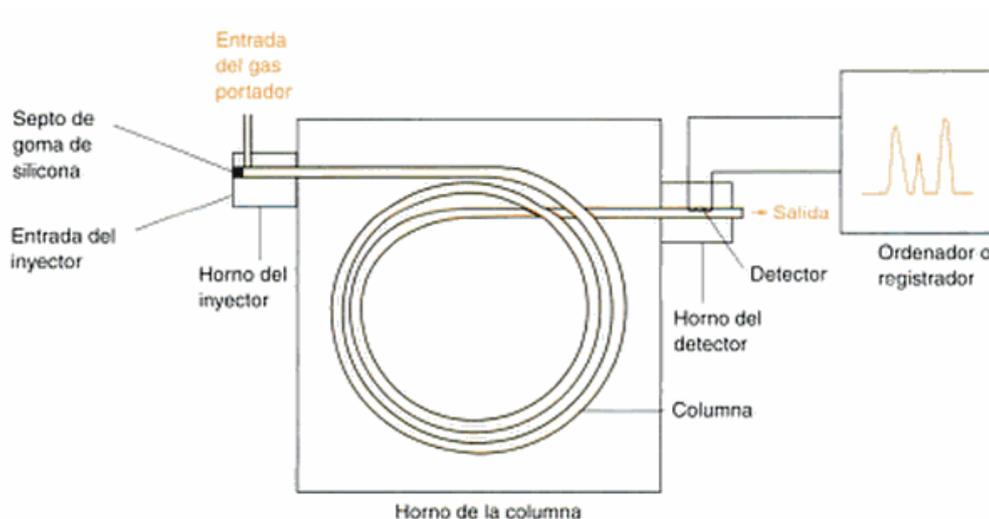
*Figura 15.* Destilación Simple en laboratorio

**Fuente:** (Escalante & Fuentes, 2013)

## 2.8 Cromatografía de Gases

Conocida muy ampliamente por ser una técnica analítica de separación que dio su inicio en los años cincuenta, no sólo para resolver problemas a nivel industrial sino también en biología y análisis ambiental.

Como se observa en la Figura 16, la muestra de un líquido volátil o de un gas se inyecta a través de un septo (diafragma de silicona), en un inyector caliente, que en su interior se evapora gran velocidad. Este vapor es arrastrado a través de la columna por el gas portador, que puede ser He, N<sub>2</sub> o H<sub>2</sub>, y los analitos después de separados llegan al detector, dando su análisis y/o respuesta apareciendo en la pantalla de un ordenador o en un registrador (Valcárcel & Gómez, 1988).



**Figura 16.** Diagrama esquemático de un cromatógrafo de gases

**Fuente:** (Valcárcel & Gómez, 1988)

Entre algunos de sus aplicaciones, la cromatografía de gases se destaca (Barquero, 2006):

- Análisis de mezclas complejas de hidrocarburos
- Pesticidas en suelo
- Pesticidas es productos vegetales
- Drogas en sangre
- Solventes de uso industrial
- Sustancias ecotóxica derivadas de los pesticidas (contaminante ambiental)
- Aromas y saborizantes empleados en alimentos
- Fragancias empleadas en la industria de perfumes
- Ciencias forenses
- Identificación de sustancias inflamables causantes de incendios.

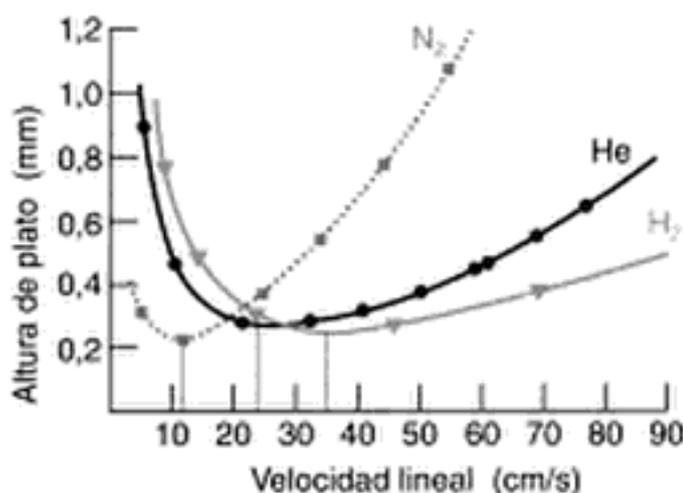
Existen dos tipos de cromatografía de gases, que son: la cromatografía de gas sólido (CGS) y la cromatografía de gas líquido (CGL), la diferencia entre ambas está en la volatilidad de la mezcla de los solutos cromatografiados y en su capacidad para ser adsorbidos por los sólidos activos, mientras para el segundo en volatilidad y solubilidad de la mezcla de los solutos a separar.

Por lo tanto, es necesario conocer entre algunos elementos más importantes de un cromatógrafo ya sea de líquidos o sólidos, lo siguiente:

➤ Gas Portador

El gas portador más común utilizado en cromatografía de gases es el Helio (He), al ser el más compatible con la mayoría de detectores, en cambio el  $N_2$  da un límite de detección menor que el He. Como se observa en la Figura 17, los gases  $H_2$ , He y  $N_2$  dan prácticamente la misma altura de plato óptima (0.3mm) a caudales significativamente diferentes. Las separaciones más rápidas se consiguen usando  $H_2$  como gas portador, aunque se pierde un poco de resolución.

Cabe mencionar que existen problemas cuando se usa  $H_2$ , ya que puede reaccionar catalíticamente con compuestos no saturados sobre superficies metálicas y no puede ser usado con un detector de espectrometría de masas, ya que descomponen el aceite de la bomba de vacío del detector. Otra razón de no usar  $H_2$ , es porque forma mezclas explosivas con el aire cuando la proporción de  $H_2$  es mayor al 4% (Valcárcel & Gómez, 1988).

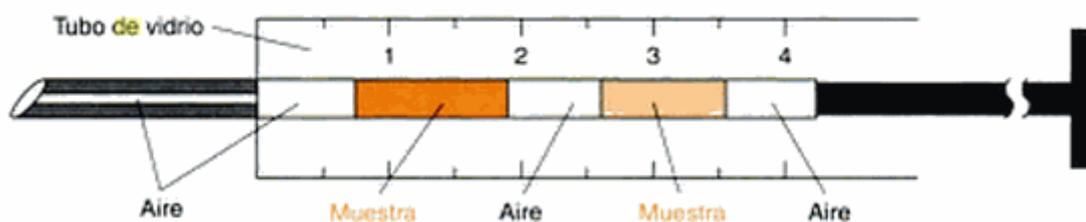


**Figura 17.** Curvas de van Deemter en cromatografía de gases de n-C17H36 a 175°C, usando  $N_2$ , He y  $H_2$  en una columna de 0.25mm de diámetro y 25m de longitud, de pared recubierta de fase estacionaria OV-111

**Fuente:** (Valcárcel & Gómez, 1988)

➤ Inyección de la muestra

Una de las técnicas recomendadas es limpiar la jeringa varias veces con el disolvente, se aspira aire, después disolvente, luego aire, la muestras y finalmente más aire (Figura 18). Una de las ventajas de esta técnica es que, al introducir la aguja a través del septo de silicona en el inyector caliente del cromatógrafo, la muestra no se evapora inmediatamente, porque en la aguja no hay muestra.



**Figura 18.** Técnica de inyección “sandwich”

Fuente: (Valcárcel & Gómez, 1988)

➤ Detectores

Se destaca 2 análisis:

○ Análisis Cualitativo

Un pico puede analizarse comparando su espectro con los de una librería de espectros guardados en un ordenador. O también se lo puede identificar con su tiempo de retención con el de la muestra auténtica del compuesto que se analiza. La identificación es sólo aceptable cuando se lo realiza en una columna, pero es más fiable si se emplea varias columnas con diferentes concentraciones.

○ Análisis Cuantitativo

Emplea en cambio el área del pico cromatográfico, es decir, cuando el área de pico es proporcional a la cantidad de ese componente, cabe mencionar que si se tiene áreas muy grandes pueden ser sustituidas por la altura.

En la mayoría de ordenadores de los cromatógrafos se puede medir automáticamente el área del pico a analizar, a esto se añade que se requiere un buen criterio para dibujar la línea base debajo de los picos analizados y decir entre qué límites se mide el área (Valcárcel & Gómez, 1988).

### **2.8.1 Cromatografía de Gas Sólido (Cromatografía de adsorción\_ CGS)**

Una de las técnicas más comunes, es la cromatografía de adsorción por su eficacia en la separación de mezclas en sus componentes puros, purificación de un compuesto y comparación de compuestos que se creen idénticos, entre otras aplicaciones.

Se basa en el diferente grado de adsorción de cada compuesto orgánico sobre la superficie de una sustancia químicamente inerte, denominada adsorbente, de tal manera que el compuesto se ve atraído a zonas polares de la superficie del adsorbente (fuerzas electrostáticas), quedando reversiblemente ligado a la misma (Molina P., 1991). Tiene diferentes modalidades: cromatografía en columna, en capa fina, en papel, entre otros.

### **2.8.2 Cromatografía de Gas Líquido (Cromatografía de partición\_ CGL)**

El soporte principal de la cromatografía de partición líquido – líquido es la distribución de los solutos entre una fase móvil líquida y otra estacionaria inmisible soportada sobre un sólido inerte (Valcárcel & Gómez, 1988).; es decir, diferencias en solubilidad. Esta fase debe ser estable y no volátil a las temperaturas utilizadas en el análisis, también su naturaleza debe ser similar a las muestras que se desea separar en ella (Barquero, 2006).

## **2.9 Biocombustibles**

Los biocombustibles o denominados también combustibles alternativos de sustitución, son combustibles que nacen a partir de varios procesos, cuya materia prima es la biomasa, con el objetivo de sustituir los carburantes fósiles (carbón y petróleo) y disminuir las

emisiones de gases contaminantes de efecto invernadero (consecuencia de la emisión de CO<sub>2</sub> proveniente de combustibles fósiles) (Roldán & Toleda, 2012), y su dependencia en la economía, es decir, conseguir procesos de combustión más respetuosos con el medioambiente. Entre algunas ventajas y desventajas que presentan, tenemos:

a. Ventajas

- Brinda energía de fuentes reciclables y por tanto inagotables
- Su obtención favorece en el suministro de combustibles
- Reducen la dependencia de combustibles de origen fósil
- Son menos contaminantes que los combustibles tradicionales
- Ayudan a reducir el efecto invernadero
- Su cultivo favorece a los agricultores
- Pueden aprovecharse terrenos de poco valor agrícola que se hayan abandonado por su baja productividad
- Crecimiento de mano de obra en el campo y en la industria de transformación.

b. Desventajas

- El uso de productos agrícolas para fabricar biocombustibles puede llegar a subir los precios incontroladamente dando lugar también a su escasez.
- Su cultivo prioritario puede llegar a pérdidas de la biodiversidad y a ciertos recursos naturales de la zona.
- El proceso de obtención de los biocombustibles es costoso y poco competitivo a comparación con los combustibles tradicionales
- Los biocombustibles derivados a partir de palma aceitera, caña de azúcar y soja pueden sobrellevar impactos sociales y medioambientales en la zona.

- Se necesita grandes superficies para estos cultivos.

### 2.9.1 Clasificación de los combustibles

Existen combustibles alternativos de sustitución no renovables (gas natural, GLP<sup>3</sup>, el gasificación del carbón y el hidrógeno obtenido por reformado de hidrocarburos) y renovables<sup>4</sup> (Muñoz & Rovira, 2014) tales como:

- Materia lignocelulósica:

La lignocelulosa es el principal componente de la materia orgánica vegetal. Contiene celulosa, hemicelulosa y lignina (todas ellas polímeros) formando la madera y los tallos de los vegetales. Normalmente se han utilizado como combustible a nivel doméstico agrícola.

Hoy en día es sin embargo, se ha dado por obtenerse diversos combustibles mediante distintos procesos químicos, tales como: etanol (mediante hidrólisis), gas síntesis (mediante oxidación parcial), dimetil éter (mediante hidrólisis) y otros combustibles sintéticos (por medio de reacciones Fischer-Tropsch). Una de sus ventajas es la nula contribución de emisiones de CO<sub>2</sub> (Muñoz & Rovira, 2014).

- Los alcoholes:

Se destacan por ser hidrocarburos que contienen, al menos un grupo –OH (es decir, son combustibles oxigenados). Su aplicación se basa principalmente, en motores de combustión interna alternativos. Los más utilizados son el metano y el etanol ya que son muy convenientes en motores de encendido provocado debido a su volatilidad. El etanol no también puede trabajar en motores diésel en mezcla con gasóleo o ésteres FAME o FAEE, en proporciones del hasta 5% (Muñoz & Rovira, 2014).

---

<sup>3</sup> GLP: Gas Licuado de Petróleo

<sup>4</sup> Combustibles alternativo de sustitución: (materia lignocelulosa, alcoholes, éteres, aceites vegetales, ésteres FAME y los FAEE, biogás, gasificación de biomasa, y el hidrógeno obtenido de fuentes renovables y energía renovables) (Muñoz & Rovira, 2014).

- El metano:

Al ser de origen orgánico se puede obtener mediante gas de síntesis (procedente de la biomasa). Éste gas de síntesis a su vez se obtenido mediante pirolisis o mediante oxidación parcial de la biomasa, reflejando más económico la primera de ellas (Muñoz & Rovira, 2014).

- El etanol

Denominado también como bioetanol, se obtiene a partir de procesos de fermentación de azúcares de la biomasa. Es aplicable a cultivos ricos en azúcares o en almidón. Cabe mencionar que si se realiza una fermentación para el almidón debe aplicarse un proceso previo de hidrólisis para transformar el almidón en glucosa y fructosa para que puedan ser fermentados. El bioetanol puede obtenerse también por hidrólisis de la materia lignocelulósica (una vez pre tratado), denominándose *bioetanol de segunda generación*, por tener un balance de CO<sub>2</sub> más favorable.

El etanol al ser biodegradable, sus vertidos accidentales tienden a ser menos contaminantes que los vertidos de metanol (que además es tóxico), por lo tanto, el etanol es producido en mayor cantidad que el metanol y es más utilizado como combustible. (Muñoz & Rovira, 2014)

- *MTBE* (metil terbutil éter) y *ETBE* (etil terbutil éter):

Son éteres sintéticos procedentes, respectivamente, del metanol y del etanol caracterizados al ser líquidos de propiedades casi similares a la gasolina. Son utilizados como aditivo antidetonante de la gasolina en mezclas de hasta el 15%. Cabe mencionar que el MTBE no es biodegradable y su proceso a partir de la biomasa no existe, sino que se logra en las refinerías, mientras que el ETBE, si son biodegradables y se puede obtenerse a

partir de fuentes vegetales en grandes cantidades. No obstante, en ambos no son tratados como biocombustible al 100% ya que requieren isobutileno (derivado del petróleo) para su obtención. Se calcula que la proporción de biocombustible del ETBE es 47% y la del MTBE el 36% (Muñoz & Rovira, 2014).

## 2.9.2. Propiedades de los combustibles

### a. Propiedades relacionadas a la composición del combustible

- I. Humedad: puede afectar directamente en la forma que pierda su calidad el combustible. Por ejemplo, en el caso de alcoholes y aceites vegetales al exceder un grado de humedad puede perderse la utilidad de los mismos para obtener ésteres metílicos o etílicos (FAME y FAEE).
- II. Contenido en volátiles: es una peculiaridad de los combustibles sólidos. Indica la composición en peso de los componentes más volátiles del combustible, esenciales para facilitar la ignición.
- III. Contenido en carbono fijo: es una peculiaridad de los carbones. Indica la cantidad en peso de combustibles (que no forma parte de evaporación, las cenizas, escoria o humedad). Se puede calcular mediante el pesado del carbón antes y después de un calentamiento en un ensayo normalizado.
- IV. Contenido en cenizas y escoria: es característico del carbón. El principio de las cenizas y escorias son las impurezas del combustible (arena y otros elementos no quemables) o también el carbón no volatilizado, no quemado o descompuesto por las altas temperaturas. Cabe mencionar que las cenizas forman parte del humo de la combustión mientras que la escoria está formada por materia más pesada permaneciendo como residuo en el hogar de la combustión.

- V. Contenido en azufre: especial de los combustibles fósiles. Es el principal responsable de la lluvia ácida. No es recomendable tener contenido de azufre en combustibles, ya que su combustión puede obtenerse  $\text{SO}_2$  emitido a la atmósfera (percursor de la lluvia ácida).
- VI. Contenido en oxígeno: es peculiar de los combustibles derivados de la biomasa (alcoholes, los éteres, los aceites vegetales y los ésteres). Se caracteriza por que el oxígeno trabaja como un comburente y no como combustible, por lo tanto mayor sea su composición en el combustible, menor será el poder calorífico y mayor el dosado estequiométrico (Muñoz & Rovira, 2014).

*b. Propiedades físicas del combustible*

- I. Volatilidad: denominada al cambio físico de una sustancia líquida a vaporizarse bajo condiciones de temperatura y presión. Es medido por la presión de vapor (depende sólo de la temperatura), por lo tanto, cuanto mayor sea, mayor será la tendencia que tenga el combustible a evaporarse.
- II. Calor latente de vaporización: es el calor que debe absorber el combustible del entorno para transformarse de líquido a gaseoso.
- III. Viscosidad: son de gran importancia en los gasóleos y fuelóleos utilizados en motores de encendido por compresión o motores a diésel por el diseño del sistema de alimentación.
- IV. Punto de cristalización: conocido también como punto de niebla. Son los cristales sólidos del combustible que aparecen al someterlo a un enfriamiento (variación de temperatura).

- V. Estabilidad térmica: mide la resistencia que tiene un combustible al degradarse a una alta temperatura (Muñoz & Rovira, 2014).

c. *Propiedades químicas del combustible*

- I. Poder calorífico: es denominada a la cantidad de calor por unidad de masa liberado al quemar el combustible (combustión completa) en condiciones estándar. Se subdivide en:
- i. Poder calorífico superior: cual cuantifica la cantidad de energía en forma de calor, (condiciones estándar) y el agua fruto de la combustión en estado líquido.
  - ii. Poder calorífico inferior: cual cuantifica la cantidad de energía en forma de calor (condiciones estándar) y el agua fruto de la combustión en estado de vapor.

Cabe mencionar, que la diferencia de ambos poderes caloríficos es el calor latente de vaporización del agua a presión atmosférica.

- II. Dosado estequiométrico: es la relación másica de combustión y aire preciso para que la reacción de combustión se produzca estequímicamente, tomando en cuenta que no debe sobrar aire ni combustible.
- III. Poder calorífico volumétrico de la mezcla estequiométrica: es la cantidad de calor por unidad de masa de combustible (Muñoz & Rovira, 2014).

### 2.9.3. Bioetanol

El bioetanol es un biocombustible de origen vegetal que se origina a partir de la fermentación de materia orgánica rica en azúcar (caña, remolacha, entre otros). La

producción de bioetanol se fundamenta en un proceso bien conocido que es la fermentación alcohólica, partiendo del almidón o celulosa, luego hidrolizada para obtener glucosa y finalmente sometida a fermentación para la obtención del etanol (Gracia, s.f.) Hoy en día es utilizado en motores de explosión como aditivo o sustitutivo de la gasolina<sup>5</sup> (mejora sus propiedades).

### 2.9.3.1 Propiedades Físico Químicas del Bioetanol

Químicamente se le conoce como etanol o alcohol etílico, su fórmula química:  $CH_3CH_2OH$ . Es un líquido incoloro e inflamable, con sabor a quemado y olor agradable. Al mezclarse con agua en cualquier proporción da una mezcla azeotrópica (Parés I., 1997). En la **Tabla 2** se observa sus propiedades físicas y químicas.

**Tabla 2.** Propiedades Físicas y Químicas del Bioetanol

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

Fuente: (QUIMPAC, 2016)

### 2.9.3.2 Fuentes para la obtención del Bioetanol.

<sup>5</sup> Para la mezcla de etanol y gasolina, se recomienda una mezcla en proporción del 10 al 25%, ya que se logra un índice de octano entre 70 y 75, mayor que el de la gasolina sin mezclar. Cabe mencionar, que las mezclas de etanol – gasolina permiten aumentar la compresión en el motor, dan un funcionamiento más regular, su recalentamiento es menor y por tanto se puede utilizar a un mayor número de revoluciones. (Monsalve, Medina, & Ruiz, 2006)

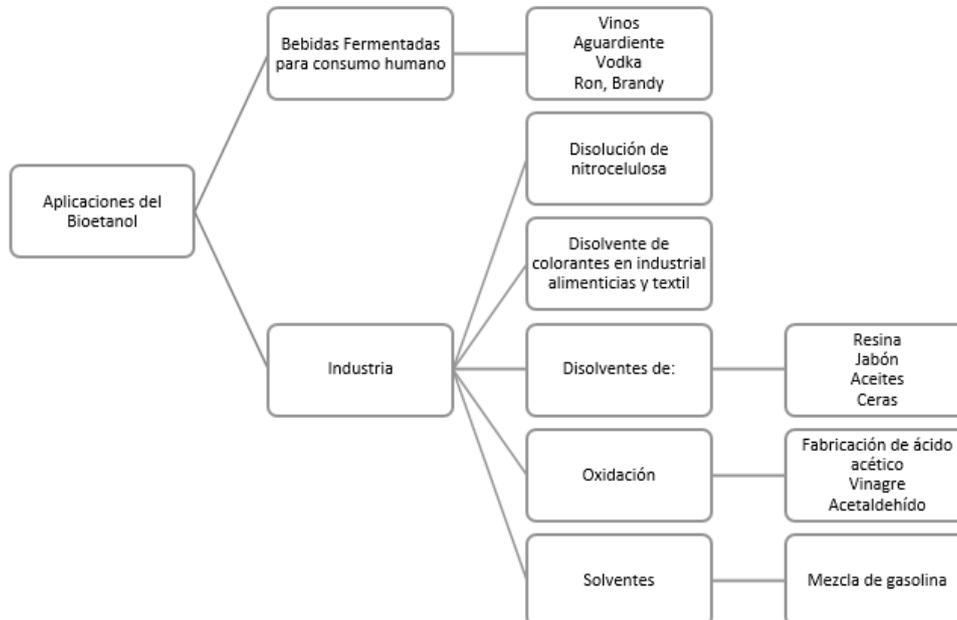
<sup>6</sup> **Flash point:** punto de inflamabilidad o punto de destello (es el conjunto de condiciones de presión, temperatura, mezcla de gases, entre otros; que incitan al peligro de explosión)

En la producción de bioetanol se pueden clasificar en tres familias de materias primas principales (Parés I., 1997):

- Azúcares: procedentes de la caña de azúcar, remolacha azucarera y sorgo dulce
- Cereales: mediante la fermentación de los azúcares del almidón (trigo, maíz, cebada, yuca)
- Biomasa: por fermentación de los azúcares contenidos en la celulosa y hemicelulosa (desechos agrícolas y forestales)

### 2.9.3.3. Aplicaciones del Bioetanol

Tiene innumerables aplicaciones (Monsalve, Medina, & Ruiz, 2006), observables en la Figura 19, tales como:



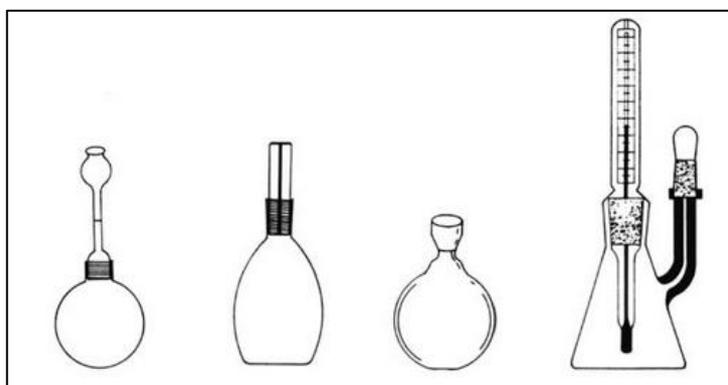
**Fuente 19.** Aplicaciones del Bioetanol

**Fuente:** (Monsalve, Medina, & Ruiz, 2006)

### 2.9.3.4. Caracterización del Bioetanol

#### 2.9.3.4.1. Picnómetro

Los picnómetros son frasquitos normalmente de vidrio con tapón esmerilado, de diversas formas (Figura 20), que tienen un volumen perfectamente definido (suele ser de 5 a 15cm<sup>3</sup>). Son muy utilizados cuando se tiene pequeñas cantidades de líquido o cuando se necesita gran precisión de medición (una unidad en la cuarta cifra decimal para manipulaciones más frecuentes) (Levitt, 1979). Muy utilizados para la medición de densidades (Jover & García, 2004).



*Figura 20.* Modelos de Picnómetro

**Fuente:** (Jover & García, 2004)

#### 2.9.3.4.2. Densidad

La densidad llamado también peso específico de un líquido es denominado, a la unidad de masa por el volumen del líquido. Sabiendo, que:

- La densidad relativa es la relación entre el peso de un volumen determinado de la sustancia y el peso de un volumen igual de agua a la misma temperatura
- La densidad de la sustancia es la densidad relativa por la densidad de agua a la misma temperatura.

Por regla general, la densidad de los líquidos es medida mediante un volumen conocido de líquido en un picnómetro, o bien calculado por el empuje que ejerce sobre un determinado objeto sumergible introducido en el líquido (Principios de Arquímedes<sup>7</sup>). Cuando se tiene suficiente cantidad de líquido, la densidad se puede determinar, en forma aproximada, por medio de los hidrómetros (Levitt, 1979).

➤ Procedimientos de Medición

- 1) Evidenciar que el picnómetro está perfectamente limpio. Llenar con agua destilada, sin el tapón; al colocar, éste rebasará el líquido que habrá que secar pues el enrase es el final del capilar
- 2) Determinar la masa del picnómetro lleno del agua, mediante una balanza analítica.
- 3) Vaciar el picnómetro y secarlo exteriormente e interiormente. Determinar la masa del picnómetro vacío.
- 4) Llenar el picnómetro del líquido problema, enrasarlo hasta el final y determinar la masa (Solano, Perez, & Tomas, 1991)

➤ Cálculos

a. Densidad Relativa

Se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$dr = \frac{m1 - m3}{m1 - m2}$$

**Donde:**

*dr*: densidad relativa

*m1*: masa del picnómetro lleno de agua destilada

---

<sup>7</sup> El principio de Arquímedes (empuje de un determinado objeto sumergible) son pequeñas *variaciones* de densidad calculadas mediante la medida de la *velocidad* de ascenso o descenso de “boyas” de cuarzo de pequeño tamaño sumergidas en el líquido (Levitt, 1979).

**m2:** masa del picnómetro vacío

**m3:** masa del picnómetro lleno del líquido problema

### b. Densidad Absoluta

Se calcula mediante la siguiente fórmula

$$d = dr * d_a$$

**d:** densidad absoluta

**dr:** densidad relativa

**Donde:**

**d<sub>a</sub>:** densidad del agua a la temperatura ambiente

#### 2.9.3.4.3. Grados Alcohólicos (NTE INEN 360)

La Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 360, define a los grados alcohólicos como el volumen de alcohol etílico, expresado en centímetros cúbicos, contenido en 100cm<sup>3</sup> de vinos a 20°C. Su objetivo principal es establecer el método para determinar el grado alcohólico en vinos. Su procedimiento es el siguiente (INEN 360, 1978):

- 1) La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra.
- 2) Determinar y anotar la temperatura a la que se encuentra la muestra que debe analizarse
- 3) Colocar el equipo de destilación y los núcleos de ebullición
- 4) Destilar la muestra, obteniendo un volumen aproximadamente igual a tres cuartas partes del volumen inicial de la muestra
- 5) Desechar el líquido restante, lavando el equipo con cinco porciones de agua destilada
- 6) Lavar el picnómetro con agua corriente y en forma rápida con mezcla sulfocrómica.

Después, lavar varias veces con agua destilada y finalmente con éter etílico

- 7) Dejar secar el picnómetro tanto por dentro como por fuera perfectamente y finalmente taparlo
- 8) Pesar el picnómetro vacío, limpio y seco con aproximación al 0.1mg
- 9) Colocar cuidadosamente la muestra destilada en el picnómetro hasta la marca, evitando la formación de burbujas de aire y luego taparlo.
- 10) Pesar el picnómetro lleno de la muestra con aproximación al 0.1mg
- 11) Vaciar el picnómetro y limpiarlo nuevamente como se describió en el literal 6, sin la mezcla sulfocrómica.
- 12) Nuevamente llenar el picnómetro con agua destilada hasta la marca respectiva, evitando la formación de burbujas de aire.
- 13) Pesar el picnómetro con agua destilada con aproximación al 0.1mg.
- 14) Determinar la densidad relativa, de acuerdo a la siguiente ecuación:

**Donde:**

$$dr = \frac{m2 - m1}{m3 - m1}$$

*dr*: densidad relativa

*m1*: masa del picnómetro vacío, en gramos

*m2*: masa del picnómetro con la muestra, en gramos

*m3*: masa del picnómetro con agua destilada, en gramos.

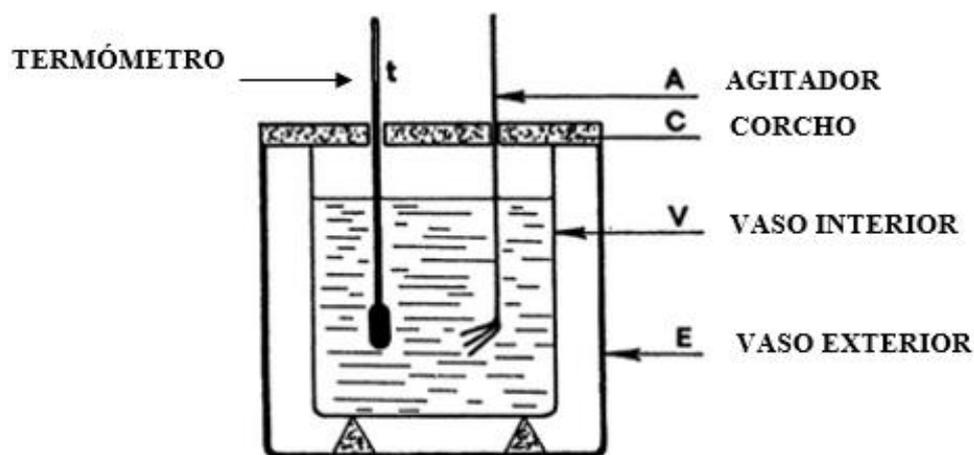
- 15) Establecer el grado alcohólico, basándose en la densidad calculada anteriormente, no olvidar utilizar las tablas correspondientes (Anexos\_ *Apéndice K*)

Finalmente, el informe de resultados, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación. Debe incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.

### 2.9.3.4.4. Calorimetría

Los calorímetros de laboratorio (Figura 21) están compuestos por:

- Dos vasos de latón; el vaso interior **V** es de latón de muy poco espesor (pulido exteriormente) y el vaso exterior **E** que evita pérdidas de calor por radiación. A esto se añade pedazos pequeños de corcho para evitar el calor por conducción
- Una tapa de corcho **C** que limita los cambios de calor por convección con el medio exterior
- El agitador **A** que permite uniformar la temperatura en el seno de la masa de agua, completando este dispositivo el termómetro **t** (Rapin & Jacquard, 1997).



*Figura 21.* Calorímetro de laboratorio

**Fuente:** (Rapin & Jacquard, 1997).

El uso de los calorímetros es variado, entre ello tenemos:

- Permiten determinar los calores específicos de los cuerpos
- Determinación de características físicas de los cuerpos tales como:
  - Poder calorífico de los combustibles
  - Potencias frigoríficas o caloríficas de los elementos de refrigeración o calefacción.

### 2.9.3.4.4.1. Calor Específico

El calor específico<sup>8</sup> de un cuerpo es la cantidad de calor  $c$  que hace falta suministrar para elevar su temperatura 1k (1°C). En efecto, para elevar su temperatura desde  $\theta_1$  a  $\theta_2$  °C, nos será dada por l fórmula:

$$Q = c m (\theta_2 - \theta_1)$$

#### Donde:

$m$ : es la masa del cuerpo en kilogramos

$Q$ : calor en Julios

$C$ : constante agua en J/mol K

$\theta_1$ : temperatura inicial °C o °K

$\theta_2$ : temperatura final °C o °K

En esta relación expresa también la cantidad de calor (Joule<sup>9</sup>) que será cedida por la masa  $m$  de este cuerpo si se enfría desde  $\theta_2$  a  $\theta_1$  °C. El calor molar de un cuerpo también se define como la cantidad de calor necesaria para elevar la temperatura 1°K a un mol de gas. Expresándose en fórmula.

---

#### <sup>8</sup> NOTAS:

1. Los calores específicos pueden ser expresados en julios por kilogramo – kelvin (J/kg ·K). Sin embargo, a fin de evitar el empleo del factor  $10^3$ , se puede expresar simplificadaamente en kilojulios (KJ).
2. De todos los cuerpos, el agua es el que tiene mayor calor específico, lo que explica el valor elevado de los calores específicos de los productos alimenticios que son materias orgánicas que contienen en sí una gran cantidad de agua.
3. Por definición, el agua tiene como calor específico 4,185KJ/Kg ·K. (Rapin & Jacquard, 1997)

<sup>9</sup> El julio (también se puede escribir joule en español) es la unidad de medida de la energía en el Sistema Internacional. Recibe su nombre del físico británico James Prescott Joule (1818-1898).

$$Q = n C (\theta_2 - \theta_1)$$

**Donde:**

$n$ : número de mol

$Q$ : en Julios

$C$ : en J/mol K

$\theta_1$ : temperatura inicial °C o °K

$\theta_2$ : temperatura final °C o °K

Finalmente el calor específico es independiente de la presión y temperatura tanto en sólidos como en líquidos, mientras que para los gases si varía con los mismos (Rapin & Jacquard, 1997).

#### 2.9.3.4.4.2. Poder Calorífico

Se llama poder calorífico de los combustibles, la cantidad de calor, en calorías, que 1kg. De ellos puede proporcionar quemándolos completamente en presencia de la cantidad necesaria de oxígeno, para dar, como producto de la combustión, anhídrido carbónico y agua. (Angiolani, 1960)

El poder calorífico representa la cantidad de calor necesaria para producir combustión completa de 1kg de combustible (ya sea sólido o líquido) o un 1m<sup>3</sup> de combustible gaseoso, bajo condiciones de presión y temperatura (estándar), cabe mencionar que el calor liberado de dicha combustión va a depender de condiciones como presión y volumen constante (Rapin & Jacquard, 1997). Por lo tanto, se considera 4 tipos de poderes caloríficos (KJ/kg o KJ/m<sup>3</sup>).

- Poder Calorífico superior a presión constante (Pcs)<sub>p</sub> donde el agua condensada se rescata su calor latente de evaporación.
- Poder Calorífico inferior a presión constante (Pci)<sub>p</sub> donde el agua se mantiene en forma de vapor.
- Poder Calorífico superior a volumen constante (Pcs)<sub>v</sub> donde el agua está en estado condensado.

- Poder Calorífico inferior a volumen constante  $(Pci)_v$  donde el agua se reencuentra en estado de vapor.

Una de las características importantes del poder calorífico de un combustible es que nos permite saber la cantidad de energía que se abastece a un motor y, por lo tanto, establecer el rendimiento con que el motor transforma esa energía en trabajo. Cabe mencionar que los elementos como el carbono e hidrógeno afectan directamente a la masa específica como al poder calorífico de un combustible, por lo tanto, se debe aclarar que un combustible se compone de estos dos elementos ya mencionados y que pueden hacer variar un combustible pesado con masa ligera y su disminución en su poder calorífico por cada kilogramo (Kates & Luck, 2003).

Para calcular el poder calorífico de un combustible, bastará relacionar la cantidad de calor con el kilogramo del combustible en prueba. Si se han quemado  $m$  gramos de combustible, tendremos:

$$P = 4185,5 \frac{Q}{m} J/Kg$$

$$P = 4,1855 \frac{Q}{m} KJ/Kg$$

**Donde:**

$m$ : masa del combustible de prueba en kilogramos

$Q$ : calor en Julios

**4185,5**: constante de agua destilada  $KJ/Kg \cdot K$

Finalmente, cabe mencionar que existen grandes diferencias de los biocombustibles, que se puede observar en la **Tabla 3**, gracias a sus componentes, tales como: carbono, oxígeno e hidrógeno que apoyan a la liberación de calor cuando se queman. Si es mayor la proporción en peso de oxígeno, menor es el poder calorífico, cómo, por ejemplo, es menor del metano que el del etanol. (Pérez, 2016).

**Tabla 3.** Tabla comparativa de las características de la gasolina con otros combustibles para MEP

<b>COMBUSTIBLE</b>	<b>Poder Calorífico KJ/Kg</b>	<b>Densidad kg/dm3</b>	<b>RON</b>	<b>MON</b>
GASOLINA	43700	0.75	98	85
METANOL	19700	0.79	112	92
ETANOL	26800	0.79	120	99
ETBE	36000	0.74	117/119	99/104
GLP	45900	2.2	112	97
HIDROGENO	120000	0.089	-	-

**Fuente:** (Álvarez, y otros, 2005)

### 3. CAPITULO III

#### ESTADO DEL ARTE

De acuerdo, a la Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación Senescyt (2014) la primera biorrefinería<sup>10</sup> diseñada y levantada en el Ecuador dio paso a obtención de etanol en grandes cantidades (entre 40.000 y 60.000) litros anuales; mediante procesos físicos, químicos, bioquímicos y biológicos para la transformación de biomasa en altas tecnologías.

De manera similar, Santa Lucía es una isla que hospeda corporaciones bananeras internacionales (tres en total), las cuales según la ONU (2012), han desarrollado biocombustibles a partir de residuos de banano. Su objetivo principal no fue sólo obtener etanol para la industria de transporte sino también la capacidad de alimentar a la planta, lo cual disminuiría los costos de funcionamiento y asegurar la protección del medio ambiente con combustible más limpios.

<sup>10</sup> Biorrefinería Ecuatoriana: ubicada en el campus Nayón, de la Pontificia Universidad Católica de Ecuador (PUCE) (Senescyt, 2014)

En cuanto a su eficiencia, un trabajo realizado en laboratorio Guevara, Arenas & Mejía (2011) realizaron la obtención de bioetanol a partir del rechazo del banano donde se obtuvo resultado de un 95% de transformación de carbohidratos (hidrólisis ácida) para que fueran transformados en azúcares fermentables y posteriormente etanol con mayor grado de eficiencia

Escalante & Fuentes (2013), consiguieron un destilado del 92% de pureza en peso y un rendimiento etílico de 0,078g de etanol/g de biomasa, utilizando pretatamientos Steam Explosion (SE) y Liquid Hot Water (LHW).

Finalmente, a nivel global, Sugimoto, et al (2008), ha demostrado en Japón un proceso de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica con ozono, con excelentes resultados. Lindstedt (2003) obtuvo bioetanol a partir de una planta piloto en Suecia, con procesos que utilizan ácido sulfúrico y dióxido de azufre en dos etapas, demostrando buenos resultados. García, et al (2005) logró diseñar un reactor para hidrólisis de residuos provenientes de la industria papelera, agrícolas y municipales con el fin de obtener bioetanol, en la Universidad de Querétaro. Monsalve, et al. (2006) obtuvieron concentraciones cercanas al 8% de etanol mediante el uso de cáscaras de banano y almidón de yuca mediante hidrólisis ácida ( $H_2SO_4$ ) y uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y *Zymomonas mobilis*, Universidad Nacional de Colombia.

## 4. CAPITULO IV

### METODOLOGÍA

El desarrollo del presente trabajo de investigación está basado en una metodología experimental, debido a que se presentan varios procesos y pruebas que se realizarán bajo los términos del investigador, con la finalidad de cumplir el objetivo principal del proyecto.

Tiene como parte fundamental la utilización de los raquis de banano, esta muestra deberá ser troceada mediante un proceso manual, luego ser aplicada a diferentes tipos de hidrólisis y extracción de jugos y posteriormente fermentada con ayuda de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. El resultado es cuantificado por cromatografía de gases y luego analizado su rendimiento y calidad del bioetanol obtenido por medio de la densidad, grados alcohólicos y poder calorífico aplicado mediante diferentes fórmulas descritas por autores, como también normas técnicas ecuatorianas (INEN 360).

#### 4.1 Pre tratamiento

Los raquis de banano fueron obtenidos de la bananera “Nueva Esperanza” ubicada en la provincia de El Oro (Machala sector La Primavera Km 3). Se inicia con el troceado de los raquis con el fin de disminuir su tamaño hasta un aproximado de 1cm de ancho, luego son colocados en una estufa de marca Memmert a 37°C durante tres días para su secado hasta obtener un valor de humedad de 7%, finalmente, su trituración es obtenida en una licuadora industrial (Martínez, 2017). En la **Tabla 4**, se observa dichos procesos mencionados.

**Tabla 4.** Pre tratamiento de los raquis de banano

<p>raquis</p>		
<p>Raquis de la Bananera “Nueva Esperanza”</p>	<p>Troceado de raquis</p>	<p>Trituración de fibra en una licuadora industrial</p>

**Fuente:** (Martínez, 2017)

## 4.2 Primera Etapa

Tres procedimientos fueron empleados para la extracción de licor negro de los raquis de banano, que luego servirán para la fermentación y su posterior obtención de bioetanol, estos fueron:

### 4.2.1. Hidrólisis Endógena

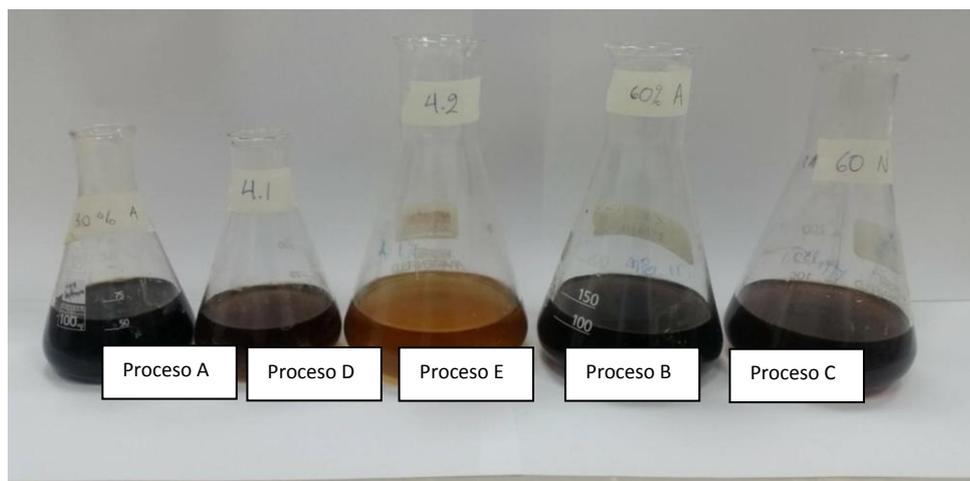
Para la realización de la hidrólisis endógena se procedió a mezclar carbonato de calcio<sup>11</sup>  $\text{Ca}(\text{CO})_2$  con 250gr de fibra de banano, dejando en reposo 15 min (Guevara, Arenas, & Mejía, 2011). Luego se propuso dividir 50gr por cada proceso realizado, así:

- A. Se mezcla (50gr) de fibra de banano con  $\text{Ca}(\text{CO})_2$  es sometido en autoclave a  $120^\circ\text{C}$  y 1atm, luego se añade ácido sulfúrico  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 30% dejándolo en reposo durante 4 horas.
- B. De la misma forma anterior. la mezcla (50gr) de fibra de banano con  $\text{Ca}(\text{CO})_2$  es sometido en autoclave a  $120^\circ\text{C}$  y 1atm, luego se añade ácido sulfúrico  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 60% dejándolo en reposo durante 4 horas.

<sup>11</sup> La relación de  $\text{Ca}(\text{CO})_2 \rightarrow$  por cada kg de banano agregar 300ml de  $\text{Ca}(\text{CO})_2$  al 10% de concentración.

- C. Se mezcla (50gr) de fibra de banano con  $\text{Ca}(\text{CO})_2$ , luego homogenizado directamente con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 60%, dejándolo en reposo durante 4 horas, sin ser sometido en autoclave.
- D. La mezcla (50gr) de fibra de banano con  $\text{Ca}(\text{CO})_2$ , es dejado en reposo durante 1 hora, luego es sometido a una centrifuga durante 30min a 5000 rpm, el licor resultante es mezclado con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 60% y dejado en reposo durante 3 horas.
- E. Finalmente, partiendo del anterior proceso (proceso D), la fibra de banano sometida a la centrifugadora mezclada con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 60% dejándolo en reposo durante 3 horas, luego autoclavado a  $120^\circ\text{C}$  y 1atm de presión.

Realizado estos procesos, son ajustados el pH entre 6,8 y 7,2, luego filtrados nuevamente para obtener un jugo clarificado, como se observa en la Figura 22.



**Figura 22.** Obtención de licores clarificado de la Hidrólisis Endógena.

**Fuente:** Autora, 2018

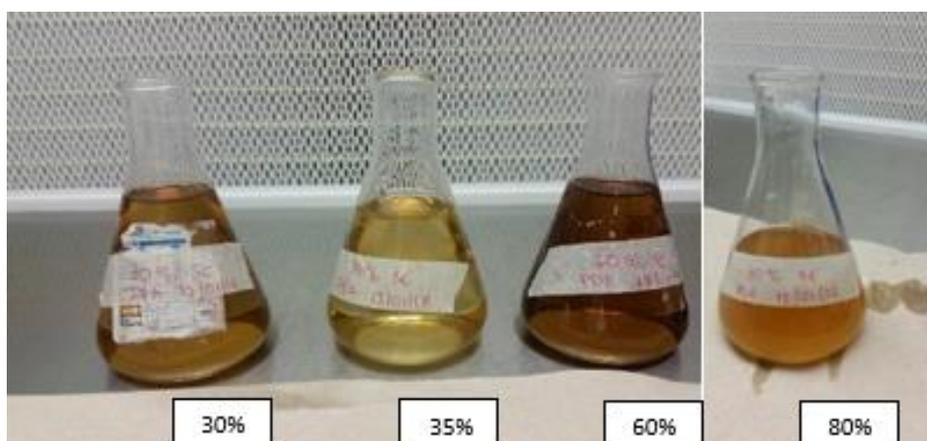
#### **4.2.2. Hidrólisis Exógena**

Inició con la mezcla de 200gr de fibra de banano con hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) al 10% calentando durante 3h a  $70^\circ\text{C}$ , luego centrifugado, el licor negro obtenido es desechado mientras que la fibra de banano nuevamente es mezclada con diferentes

concentraciones de  $H_2SO_4$  (ácido sulfúrico) con el fin de romper los enlaces lignocelulósicos (Guevara, Arenas, & Mejía, 2011), así:

- a. 50gr de fibra de banano con  $H_2SO_4$  al 30% de concentración
- b. 50gr de fibra de banano con  $H_2SO_4$  al 35% de concentración
- c. 50gr de fibra de banano con  $H_2SO_4$  al 60% de concentración
- d. 50gr de fibra de banano con  $H_2SO_4$  al 80% de concentración

Cada muestra fue calentada en un agitador magnético revolviendo constantemente durante 1 hora, posteriormente se dejó reposar durante 4h, luego se ajustó su pH ácido a neutro con rangos dentro de 6,8 a 7,2 con NaOH (hidróxido de sodio) concentrado. Partiendo de este proceso, cada muestra fue llevado a un equipo centrifugador a 5000rpm durante 30min, nuevamente filtrado para obtener un mejor jugo clarificado como se observa en la Figura 23.



**Figura 23.** Obtención licores clarificados de la Hidrólisis Exógena, antes de la mezcla con la enzima celulasa Celozise.

**Fuente:** Autora, 2018

Finalmente, cada muestra fue medida su densidad mediante un picnómetro para realizar la relación matemática de la enzima celulasa<sup>12</sup> (Cellozise), demostrado en la **Tabla 5**, que fue mezclada con el jugo clarificado obtenido anteriormente, para su posterior fermentación.

❖ Fórmula de obtención de la densidad

$$\text{Densidad (d)} = \frac{\text{picnómetro lleno} - \text{picnómetro vacío}}{\text{densidad total del picnómetro (10ml)}} \times \text{Volúmen de la muestra}$$

❖ Relación matemática de la enzima celulasa (Cellozise):

*Por cada 100g de fibra de banana se añadirá 30mg de celulasa*

**Tabla 5.** Cálculo de la Densidad de las muestras previo a la obtención de la enzima celulasa Cellozise.

Concentraciones de la Hidrólisis Exógena (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	CALCULO Densidad	Enzima celulasa Cellozise
30%	$d = \frac{30,2790 - 18,8242}{10 \text{ ml}} \times 50\text{ml}$ <p><b>d = 57,274 gr/ml</b></p>	$\text{enzima} = \frac{57,274 \text{ gr} \times 30 \text{ mg}}{100\text{g}}$ <p>enzima = 17,18mg <b>enzima ≅ 0,171 gr</b></p>
35%	$d = \frac{30,1671 - 18,8909}{10 \text{ ml}} \times 50\text{ml}$ <p><b>d = 112,76 gr/ml</b></p>	$\text{enzima} = \frac{112,76 \text{ gr} \times 30 \text{ mg}}{100\text{g}}$ <p>enzima = 33,82mg <b>enzima ≅ 0,338 gr</b></p>
60%	$d = \frac{30,1697 - 18,8478}{10 \text{ ml}} \times 50\text{ml}$ <p><b>d = 56,6005 gr/ml</b></p>	$\text{enzima} = \frac{56,6005 \text{ gr} \times 30 \text{ mg}}{100\text{g}}$ <p>enzima = 16,98mg <b>enzima ≅ 0,169 gr</b></p>
80%	$d = \frac{30,2775 - 18,8576}{10 \text{ ml}} \times 50\text{ml}$ <p><b>d = 114,19 gr/ml</b></p>	$\text{enzima} = \frac{114,19 \text{ gr} \times 30 \text{ mg}}{100\text{g}}$ <p>enzima = 34,25mg <b>enzima ≅ 0,342 gr</b></p>

**Fuente:** Autora, 2018

<sup>12</sup> **Celulasa:** son enzimas pertenecientes al grupo de las glicosil hidrolasas y son las responsables en la degradación de la celulosa (Marín, 2007), transformándola en múltiples monómeros de glucosa

Obtenido los cálculos de la enzima celulasa Cellozise necesaria para cada muestra de diferente concentración se procedió a mezclar con el jugo clarificado, dado por terminado la hidrólisis exógena y listo para la fermentación.

Como proyecto de investigación se realizó otra hidrólisis conjunta para observar la influencia del azúcar en las fermentaciones, así:

Se partió pesando 100gr de fibra de banano con NaOH al 10% dejando hervir durante 1h y en reposo por 2h, luego es filtrado de tal manera que se somete únicamente la biomasa al 15% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> haciéndolo hervir nuevamente durante 1h. Finalmente es centrifugado y filtrado para ser mezclado con las diferentes concentraciones de celulasa (Cellozise) mencionadas anteriormente **Tabla 6**, sea:

❖ Relación matemática de la enzima celulasa (Cellozise):

*Por cada 100g de fibra de banano se añadirá 10mg de celulasa*

*Por cada 100g de fibra de banano se añadirá 30mg de celulasa*

*Por cada 100g de fibra de banano se añadirá 60mg de celulasa*

**Tabla 6.** Cálculo de la Densidad y Enzima celulasa Celozise en la hidrólisis de prueba

CALCULO		
Concentración de la Hidrólisis Exógena (prueba científica) H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Densidad	Enzima Celulasa (Cellozise)
15%	$d = \frac{30,4125 - 18,6478}{10 \text{ ml}} \times 100\text{ml}$ $d = 117,647 \text{ gr/ml}$	10ppm $\text{enzima} = \frac{117,647 \text{ gr} \times 10 \text{ mg}}{100\text{g}}$ $\text{enzima} = 11,76\text{mg}$ $\text{enzima} \cong 0,117 \text{ gr}$
		30ppm $\text{enzima} = \frac{117,647 \text{ gr} \times 30 \text{ mg}}{100\text{g}}$ $\text{enzima} = 35,29\text{mg}$ $\text{enzima} \cong 0,352 \text{ gr}$
		60ppm $\text{enzima} = \frac{117,647 \text{ gr} \times 60 \text{ mg}}{100\text{g}}$ $\text{enzima} = 70,58\text{mg}$ $\text{enzima} \cong 0,70 \text{ gr}$

**Fuente:** Autora, 2018

### 4.2.3. Hidrólisis Química

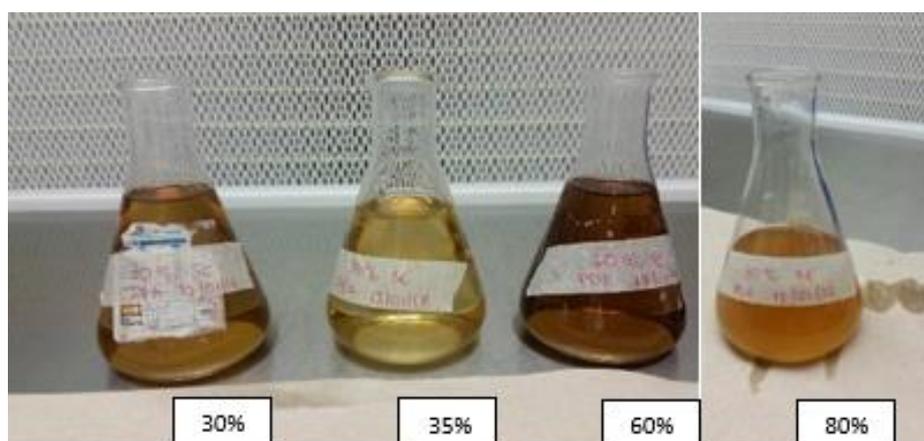
Para la realización de la Hidrólisis Química, se realizó una metodología propuesta de dos formas:

1. Procesos Químicos por medio de concentraciones de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

Al igual que la Hidrólisis Exógena, se procedió a mezclar 200gr de fibra de banano con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (ácido sulfúrico) con el fin de romper los enlaces lignocelulósicos, así:

- a. 50gr de fibra de banano con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 30% de concentración
- b. 50gr de fibra de banano con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 35% de concentración
- c. 50gr de fibra de banano con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 60% de concentración
- d. 50gr de fibra de banano con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 80% de concentración

Cada muestra es calentada en un agitador magnético revolviendo constantemente durante 1 hora, posteriormente se deja reposar durante 4h, luego se ajusta su pH ácido a neutro con rangos dentro de 6,8 a 7,2 con NaOH (hidróxido de sodio) concentrado. Una vez ajustado el pH, cada muestra es llevado a un equipo centrifugador a 5000rpm durante 30min, luego nuevamente es filtrado para obtener un mejor jugo clarificado, demostrado en la Figura 24.



**Figura 24.** Obtención del licor clarificado de la Hidrólisis Química

**Fuente:** Autora, 2018

2. Procesos Químicos por medio de soluciones y Normales con ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ )
  - a. Solución 1% ( $H_2SO_4$ )

Inicia con mezclar ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) al 1% con 100gr de fibra de banano, durante 15min en agitador magnético, el resultado es sometido a 1atm y 120°C durante 4 horas en autoclave (tomando a consideración que, a cada hora se debe tomar una muestra para pruebas de azúcares reductores), luego llevado a Baño María durante 1h a 90°C, finalmente la muestra es centrifugada y filtrada, lista para la fermentación, como se observa en la Figura 25.



**Figura 25.** Licor obtenido de la Hidrólisis Química al 1% de  $H_2SO_4$ .

**Fuente:** Autora, 2018

b. Solución 1 Normal ( $H_2SO_4$ )

Previamente, en la **Tabla 7** se calcula la solución 1 Normal del ácido sulfúrico, tomando a consideración la ecuación del *Volumen Total de la muestra*:

$$VT \text{ muestra} * EQ * \frac{NORMAL}{1000ml} = \text{Volument Total de la muestra}$$

$$EQ = \text{Peso Equivalente}$$

**Tabla 7.** Cálculo de la Solución 1 Normal del Ácido Sulfúrico para la Hidrólisis Química.

CALCULO		
Cálculo del Peso Molecular del ácido sulfúrico	Cálculo del Peso Equivalente <sup>13</sup>	Cálculo de la Solución 1 Normal
$(H_2SO_4)$ $H = 2 * 1 = 2$ $S = 1 * 32.06 = 32.06$ $H = 16 * 4 = 64$ $(H_2SO_4) = 98.06$	$Eq = \frac{98.06}{2}$ $Eq = 49.03 \text{ gr}$	$170ml * 49.03mg * \frac{1N}{1000ml} = 8.33ml$

**Fuente:** Autora, 2018.

<sup>13</sup> Peso Equivalente, también denominado Equivalente Químico (EQ) o Equivalente gramo, es la cantidad de una sustancia que reacciona para producir 1 mol de producto (Químicas, s.f.). Existen reglas para el cálculo del Equivalente Químico, entre ellas tenemos:

- EQ de un ácido:  $\frac{\text{Peso Molecular}}{N^\circ \text{ de } H^+}$  por ejemplo  $\rightarrow EQ \text{ de } (H_2SO_4) = \frac{98}{2} = 49 \text{ gramos}$
- EQ de una base:  $\frac{\text{Peso Molecular}}{N^\circ \text{ de } OH^-}$  por ejemplo  $\rightarrow EQ \text{ de } (NaOH) = \frac{40}{1} = 40 \text{ gramos}$
- EQ de una sal:  $\frac{\text{Peso Molecular}}{\text{Carga de catión o anión}}$  por ejemplo  $\rightarrow EQ \text{ de } (Na_2CO_3) = \frac{106}{2} = 53 \text{ gramos}$

El cálculo obtenido de la solución 1 Normal de  $H_2SO_4$  es ajustado con agua destilada a un volumen total de 170ml, luego se procede a mezclar con la fibra de banano, durante 15min en agitador magnético, el resultado es sometido a 1atm y 120°C durante 4 horas en autoclave (tomando a consideración que, a cada hora se debe tomar una muestra para pruebas de azúcares reductores), luego llevado a Baño María durante 1h a 90°C, finalmente, en la Figura 26 se observa la muestra ya centrifugada y filtrada, lista para la fermentación.



**Figura 26.** Licor obtenido de la Hidrólisis Química Solución 1 Normal  $H_2SO_4$ .

**Fuente:** Autora, 2018

c. Solución 2 Normal ( $H_2SO_4$ )

Al igual que la solución 1 Normal, en la **Tabla 8** se calcula la solución 2 Normal de ácido sulfúrico, tomando a consideración la ecuación del *Volumen Total de la muestra*:

$$VT \text{ muestra} * EQ * \frac{NORMAL}{1000ml}$$

*VT muestra*

= *Volumen Total de la muestra*

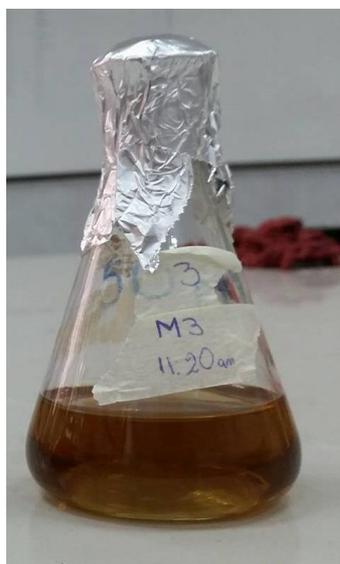
*EQ = Peso Equivalente*

**Tabla 8.** Cálculo de la Solución 2 Normal del Ácido Sulfúrico para la Hidrólisis Química.

CALCULO		
Cálculo del Peso Molecular del ácido sulfúrico	Cálculo del Peso Equivalente	Cálculo de la Solución 2 Normal
$(H_2SO_4)$ $H = 2 * 1 = 2$ $S = 1 * 32.06 = 32.06$ $H = 16 * 4 = 64$ $(H_2SO_4) = 98.06$	$Eq = \frac{98.06}{2}$ $Eq = 49.03 \text{ gr}$	$170ml * 49.03mg * \frac{2N}{1000ml} = 16.67ml$

**Fuente:** Autora, 2018.

El cálculo obtenido de la solución 2 Normal de  $H_2SO_4$  es ajustado con agua destilada a un volumen total de 170ml, luego se procede a mezclar con la fibra de banano, durante 15min en agitador magnético, el resultado es sometido a 1atm y 120°C durante 4 horas en autoclave (tomando a consideración que, a cada hora se debe tomar una muestra para pruebas de azúcares reductores), luego llevado a Baño María durante 1h a 90°C, finalmente la muestra es centrifugada y filtrada, lista para la fermentación, como se observa en la Figura 27.



**Figura 27.** Licor obtenido de la Hidrólisis Química Solución 2 Normal  $H_2SO_4$ .

**Fuente:** Autora, 2018

### 4.3 Segunda Etapa

En esta etapa se procede a realizar diferentes pruebas de la presencia de glucosa y azúcares que tiene cada hidrólisis realizada anteriormente, con el fin de demostrar que éstos son fermentables para la obtención de bioetanol, como también la confiabilidad de que las mismas son producto de buen trabajo realizado por parte de cada una de las hidrólisis ya mencionadas.

#### 4.3.1 Prueba Fehling

Como ya se sabe la Prueba de Fehling demuestra la presencia de glucosa que tiene dicho líquido, en este caso se realizó de la siguiente manera:

Previamente se prepara una solución patrón, o de comparación, añadiendo en un tubo de ensayo 1ml de glucosa, 1ml de sulfato de cobre cristalizado (Solución A) y 1ml de solución de tartrato sódico – potásico (Solución B). Luego en los otros tubos de ensayo se añade 1ml de muestra hidrolizada <Paso 1>, como se observa en la Figura 28, luego 1ml de Solución A <Paso 2> y 1ml de Solución B <Paso 3> . Una vez realizado la mezcla de soluciones en los tubos se los tapa y se coloca a baño maría de tal forma que se pueda observar el cambio de color azul a rojo ladrillo, indicativo de la presencia de glucosa.



*Figura 28.* Pasos para la realización de la Prueba Fehling.

**Fuente:** Autor, 2018.

### 4.3.2 Azúcares Reductores

Este método ayuda a la cuantificación de azúcares reductores producidos durante una fermentación o para cuantificar los productos de una reacción enzimática, por lo tanto, se empleó la Determinación de Azúcares Reductores por la Técnica de Miller (DNS), que se demuestra colorimétricamente por medio de longitud de ondas (espectrómetro), así como también nos ayuda a la obtención de una curva de calibración de los azúcares reductores. Se inicia con la preparación de los reactivos:

#### a. Reactivo DNS

Se mezcla 2.5g de DNS (ácido nítrico salicílico), 2.5 g de NaOH (hidróxido de sodio) y 0.125g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (sulfato de sodio) en 200ml de agua destilada y finalmente se afora a 250ml con agua destilada, como se observa en la Figura 29.

#### b. Solución Patrón Glucosa

Se disuelve 0.1g de glucosa en 90ml de agua destilada aforándolo a 100ml, es decir, se preparó una solución glucosa con una concentración de 1.0g/L, finalmente es etiquetado en un recipiente de vidrio (Figura 30) de uso exclusivo y almacenado en refrigeración después de cada uso.



**Figura 29.** Reactivo Dinitrosalisílico (DNS)

**Fuente:** Autora, 2018



**Figura 30.** Solución Patrón Glucosa

**Fuente:** Autora, 2018.

Luego de preparado los reactivos se procede a realizar la curva patrón, tomando en cuenta la concentración de la solución patrón glucosa y el agua destilada, descritas en la **Tabla 9**. Cabe mencionar que se debe realizar la curva patrón con 11 tubos de ensayos, previamente enumerados del 0 al 10, mientras que para las muestras hidrolizadas deberán ser 3 por cada muestra, enumerados también, de tal manera no confundir la curva patrón con las dichas muestras.

**Tabla 9.** Creación de Curva Patrón Glucosa

<b>Tubo de ensayo etiquetado</b>	<b>mL de solución Patrón Glucosa</b>	<b>mL de Agua Destilada</b>
0	0	1
1	0.1	0.9
2	0.2	0.8
3	0.3	0.7
4	0.4	0.6
5	0.5	0.5
6	0.6	0.4
7	0.7	0.3
8	0.8	0.2
9	0.9	0.1
10	1	0
<b>1.1 (muestra hidrolizada)</b>	0.3	0.9
<b>1.2 (muestra hidrolizada)</b>	0.6	0.6
<b>1.3 (muestra hidrolizada)</b>	0.9	0.3

**Fuente:** Autora, 2018

Posteriormente, una vez añadido las concentraciones de dichos reactivos, éstos tubos son tapados y sometidos a baño maría durante 1h, observando claramente el cambio de color de acuerdo a su concentración, finalmente son medidos mediante longitud de onda (546nm) en un equipo espectrofotómetro Figura 31.



**Figura 31.** Procedimiento de la obtención de la Curva Patrón Glucosa

**Fuente:** Autora, 2018

### 4.3.3 Fermentación

Para las fermentaciones se empleó levadura *Saccharomyces cerevisiae*, en diferentes medios de cultivo, así:

- ❖ Agua Peptona<sup>14</sup> → 99ml + 0.1gr de levadura
- ❖ Agua Destilada<sup>15</sup> → 100ml + 0.1gr de levadura + 1 cucharadita de azúcar
- ❖ Medio de cultivo PDA<sup>16</sup> (Papa Dextrosa Agar) y Sabouraud → Caja Petri + 0.1gr de levadura aproximadamente.

Una vez activada la levadura, éstas son mezcladas con los jugos clarificados de las hidrólisis obtenidos anteriormente añadiendo una solución  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (nitrato de amonio<sup>17</sup>) para mejorar la fermentación de los sustratos (nutrición de la levadura), finalmente son colocados en la estufa por un mínimo de 7 días a una temperatura de 30°C (Figura 32).

<sup>14</sup> Agua Peptona debe ser preparado y sometido en autoclave a 1atm y 120°C, con un mínimo de 24h para crecimiento de la levadura.

<sup>15</sup> Agua Destilada, la levadura debe hervir durante 30min para su respectiva activación.

<sup>16</sup> Cultivo PDA y Sabouraud buro es necesario un mínimo de 2 a 3 días para el crecimiento de la levadura a una temperatura de 30°C, para luego poder usarlo en la fermentación.

<sup>17</sup> Solución  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ : disolver 0.25gr de nitrato de amonio en 50ml de agua destilada



**Figura 32.** Jugos clarificados con levadura *Saccharomyces cerevisiae* colocados en la estufa para iniciar la fermentación

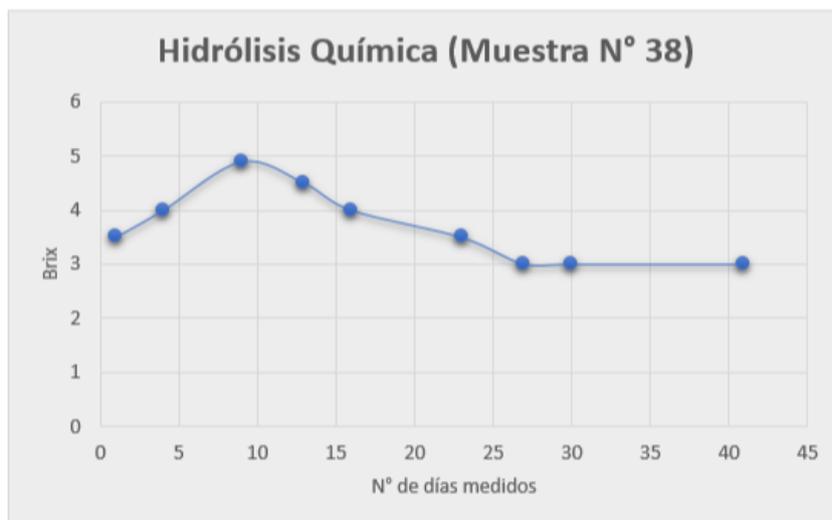
**Fuente:** Autora, 2018

#### 4.3.4 Medición de Grados Brix

Como se sabe, los Grados Brix miden los grados alcohólicos y azúcares presentes ya sea de cualquier sustrato que se esté trabajando, en este caso líquidos; por lo tanto, para este trabajo se procedió a medir las muestras varios días al mes de tal manera obtener una secuencia de comportamiento de cada una de ellas, observable por ejemplo en la Figura 33 (Muestra 38), con la finalidad de analizar las mediciones (en su mayoría descendían con el paso de los días), hasta que se estabilicen y se puedan determinar los fermentos óptimos para la destilación.

Sin embargo, algunas de las muestras presentaban problemas de fermentación, ya sea por mala activación de la levadura o por falta de nitrógeno, por lo tanto, los valores son exagerados en algunos casos, por lo tanto, la solución dada fue una nueva activación de levadura con agua destilada y azúcar. Por último, se describe la fórmula de la transformación de los grados brix a grados alcohólicos

$$\% vol = (0.6757 \times \text{Brix}) - 2.083$$



**Figura 33.** Medición de los grados Brix de la muestra N° 38 (Hidrólisis Química), lista para la destilación alcohólica.

**Fuente:** Autora, 2018

## 4.4 Tercera Etapa

### 4.4.1 Destilación de Bioetanol

Una vez elegida las muestras a destilar (por medio de los °Brix), se prepara el equipo de destilación. Previo a este proceso, la muestra debe ser una vez más filtrada, de tal manera que no exista percances para el equipo ni para el resultado que se desea obtener (bioetanol).

La destilación se realizó a una temperatura óptima (punto de ebullición de bioetanol) de entre 78 a 80°C como máximo, ya que si se ésta aumenta puede acrecentar el nivel de agua en la muestra. Por lo tanto, el tipo de destilación es fraccionada, ya que permite la separación del destilado a un lado y en el otro su residuo como se observa en la Figura 34, durante 2horas por cada muestra. Así mismo, el número de muestras a destilar crecía exponencialmente a medida que pasaba los días, por lo que se realizó en doble equipo de destilación.



**Figura 34.** Destilación Simple de las muestras para la obtención de bioetanol

**Fuente:** Autora, 2018

## 4.4.2 Cromatografía

Los biocombustibles presentes en el fermento son cuantificados por cromatografía de gases.

Previamente el equipo es encendido esperando su estabilización, luego es programado para que de tal manera analice los resultados con una solución patrón de comparación con las muestras obtenidas de la destilación. Por consiguiente, el resultado obtenido es una gráfica con picos que describe cuantitativamente el biocombustible analizado.

Finalmente, este análisis de cromatografía es verificado con los grados alcohólicos obtenidos mediante la densidad y medición de picnometría de la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 360) y poder calorífico.

## 4.5 Cuarta Etapa

### 4.5.1 Densidad

Una vez obtenido el destilado (alcohol) se procede a la medición de la densidad mediante un picnómetro (5ml de volumen total), para la obtención de los grados

alcohólicos de dichas muestras (Figura 35). Basándonos en la metodología de la Norma Técnica Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN 360). Bebidas Alcohólicas. Determinación del Grado Alcohólico en Vinos, tomando a consideración varios parámetros:

- Masa del picnómetro vacío (gramos)
- Masa del picnómetro lleno con agua destilada (gramos)
- Masa del picnómetro lleno con la muestra (gramos)
- Correcta lectura de las Tablas de transformación del grado alcohólico

La medición se la realiza por triplicado para disminuir márgenes de error en cálculo. Finalmente, se procede a calcular la densidad con los parámetros descritos de la Norma Técnica, así:

$$d = \frac{m_2 - m_1}{m_3 - m_1}$$

**Donde:**

$d$ = densidad relativa

$m_1$ = picnómetro vacío, en gramos

$m_2$ = picnómetro lleno de la muestra, en gramos

$m_3$ = picnómetro lleno de agua destilada, en gramos



**Figura 35.** Medición de la densidad de las muestras por medio del picnómetro

**Fuente:** Autora, 2018.

#### 4.5.2 Calorimetría.

Como se describió al principio del trabajo, la calorimetría analiza el poder calorífico en este caso de los biocombustibles obtenidos a partir de los procesos ya descritos, por lo tanto, la medición (Figura 36) se realiza de la siguiente forma:

1. Peso del calorímetro vacío (incluye tapa y termómetro) (**gr**) en balanza analítica.
2. Medición de la temperatura ambiente del agua destilada ( $^{\circ}\text{C}$ )
3. Peso del calorímetro con agua destilada (**gr**)
4. Calentamiento de la muestra a temperatura de  $70^{\circ}\text{C}$
5. Mezcla muestra calentada con el agua destilada dentro del calorímetro (mismo volumen)
6. Peso del calorímetro con la mezcla (**gr**)
7. Medición de la temperatura de la mezcla ( $^{\circ}\text{C}$ )



**Figura 36.** Peso del calorímetro vacío (izquierda) y calentamiento de la muestra a analizar (derecha).

**Fuente:** Autora, 2018

Por consiguiente, una vez anotado todos los valores en peso y en temperatura, se analiza en dos partes: el calor específico aplicando las fórmulas descritas por Rapin & Jacquard (1997) y el poder calorífico por Kates & Luck (2003), así:

$$Q = c_p m (\theta_2 - \theta_1)$$

$$P = 4185,5 \frac{Q}{m} \text{ J/Kg}$$

**Donde:**

$$P = 4,1855 \frac{Q}{m} \text{ KJ/Kg}$$

$m$ : es la masa del cuerpo en kilogramos

$Q$ : calor en Julios

$C_p$ : constante agua en J/mol K

$\theta_1$ : temperatura inicial °C o °K

$\theta_2$ : temperatura final °C o °K

**Donde:**

$m$ : masa del combustible de prueba en kilogramos

$Q$ : calor en Julios

**4185,5**: constante de agua destilada KJ/Kg ·K

Por su puesto, una vez obtenido los resultados de los cálculos pertinentes, es necesario comparar con una tabla de poderes caloríficos propuestos por Muñoz & Rovira (2014), con el fin de relacionar la confiabilidad de los cálculos como también conocer los biocombustibles obtenidos (Anexos \_ *Apéndice G*) y la obtención de la calidad de los mismos.

#### 4.5.3 Rendimiento del Bioetanol obtenido:

Para el cálculo del rendimiento se tomó a consideración las ecuaciones dadas por Escalante & Fuentes (2013), Malagón (2009) y Borrás (1987), las cuales analizan los rendimientos a partir de las hidrólisis realizadas, las fermentaciones y por combustión, así:

- a. Rendimiento de hidrólisis (Escalante & Fuentes, 2013):

*Rendimiento de la hidrólisis (%)*

$$= \frac{\text{°Brix hidrólisis} * \text{Peso de la muestra (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)} * \% \text{ celulosa}} * 100$$

b. Rendimiento de la fermentación (Malagón, 2009):

$$\text{Rendimiento de la fermentación (\%)} = \frac{^{\circ}\text{Brix iniciales} - ^{\circ}\text{Brix finales}}{^{\circ}\text{Brix iniciales}} * 100$$

## 5. CAPITULO V

### ANALISIS Y RESULTADOS

#### 5.1 Azúcares Reductores

Como se sabe, los azúcares reductores se denominan así, a la transformación de los azúcares complejos en azúcares simples, por medio de procesos químicos, en este caso de celulosa a glucosa, por hidrólisis. Dicho esto, los azúcares reductores se analizaron de acuerdo a cada una de las hidrólisis desarrolladas anteriormente (Endógena, Exógena y Química), descritas en la metodología. Cabe mencionar que se puede observar detalladamente las tablas de obtención de azúcares reductores en Anexos (*Apéndice A*):

Por otro lado, se analizó los datos mediante ANOVAS, los cuales, se describe 2 hipótesis:

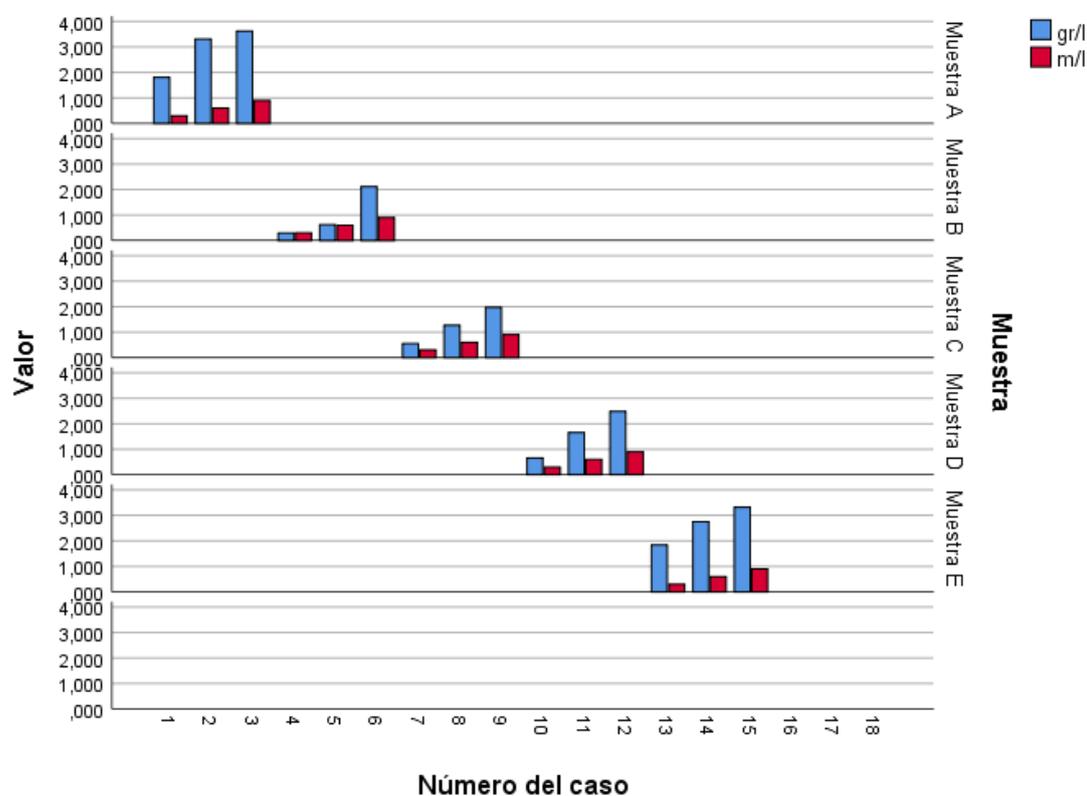
*H<sub>1</sub>: Los valores obtenidos en la H. Endógena, Exógena y Química son iguales para todos los casos del nivel de concentración de sustrato.*

*H<sub>2</sub>: Los valores obtenidos no son iguales para los diferentes niveles de concentración de sustrato tanto de la H. Endógena, Exógena y Química.*

##### 5.1.1. Azúcares Reductores de la Hidrólisis Endógena

Como se observa en la Figura 37, se obtuvo diferentes concentraciones de glucosa (g/l) de acuerdo al análisis de prueba de sustrato (3ml, 6ml y 9ml), demostrando mayor cantidad de azúcar (glucosa) presente en la Muestra A (3,61g/l) y Muestra E (3,31g/l), mientras que

la Muestra C, fue la que obtuvo menor cantidad de concentración, 0,55g/l de glucosa, siendo la menor de todas las muestras analizadas.



**Figura 37.** Comparación de la glucosa obtenida a partir de la Hidrólisis Endógena con las diferentes concentraciones de volumen de sustrato

**Fuente:** Autora, 2018.

Estadísticamente, realizando el ANOVA correspondiente con un margen de error del 5% (**Tabla 10**), se obtuvo una significancia de 0,033 lo que indica que se rechaza la hipótesis nula ( $H_2$ ), dando como resultado que los valores obtenidos en la hidrólisis endógena son significativos y que varían de acuerdo a su concentración de sustrato con una confiabilidad del 95%. Finalmente, las dispersiones de datos son coherentes tanto para concentraciones de sustrato de 3 y 9ml, mientras que para concentraciones de 6ml se aleja considerablemente, de acuerdo a su desviación estándar y varianza, de acuerdo al programa estadístico SPSS.

**Tabla 10.** Análisis Estadístico de la Glucosa (Hidrólisis Endógena)

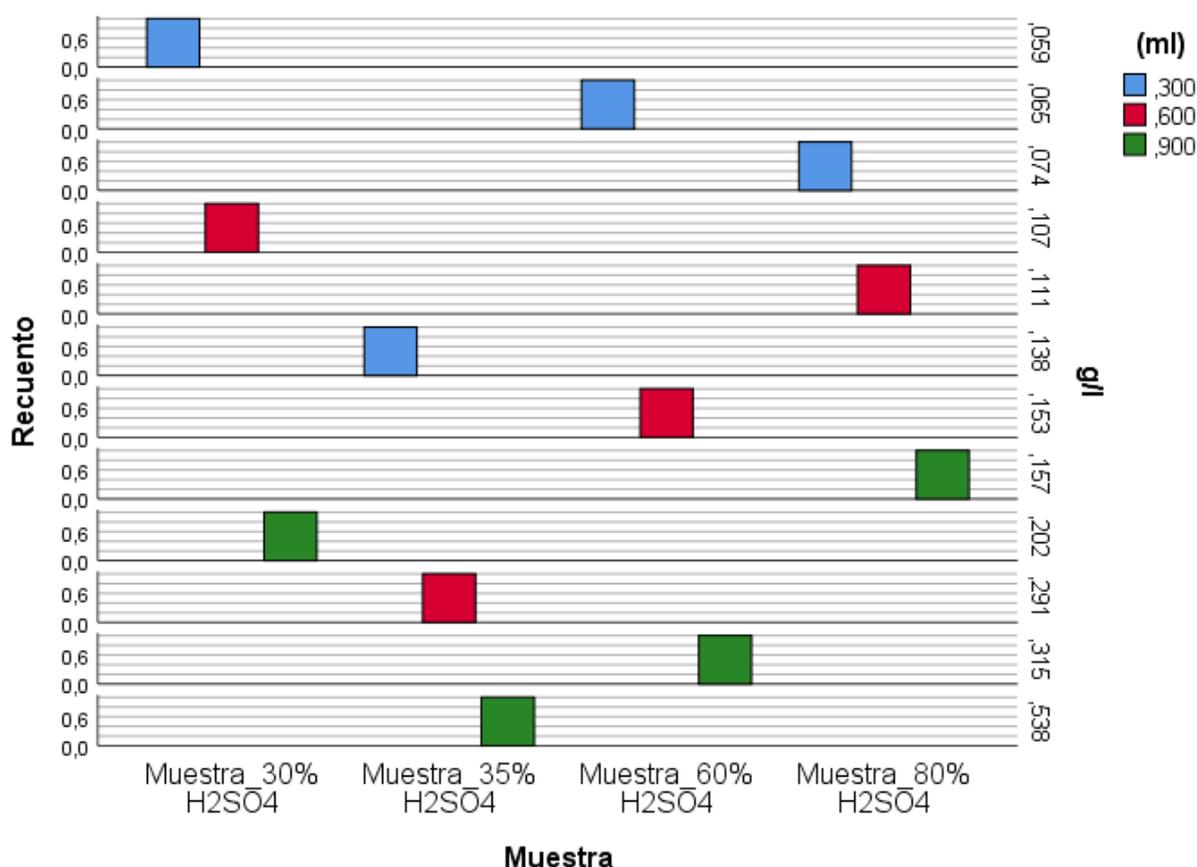
<b>Estadísticos Descriptivos</b>						
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación	
gr/l	15	0,291	3,616	1,88387	1,072530	
<b>ANOVA</b>						
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	
Entre grupos	6,997	2	3,498	4,609	0,33	
Dentro de grupos	9,108	12	0,759			
Total	16,104	14				
<b>Hidrólisis Endógena</b>						
Concentración	0,3		0,6		0,9	
Parámetros	Estadístico	Des. Error	Estadístico	Des. Error	Estadístico	Des. Error
Media	1,02880	0,329644	1,92240	0,489321	2,70040	0,327344
95% intervalo de confianza	Lim. Inferior	0,11301	0,56383		1,79155	
	Lim. Superior	1,94459	3,28097		3,60925	
Media recortada al 5%		1,02461	1,9767		2,68994	
Mediana		0,66400	1,65600		2,48400	
Varianza		0,544	1,197		0,536	
Desviación		0,737554	1,094155		0,731964	
Mínimo		0,291	0,624		1,973	
Máximo		1,842	3,305		3,616	
Rango		1,551	2,682		1,643	
Rango intercuartil		1,402	2,083		1,425	
Asimetría		0,480	0,913	0,236	0,913	0,429
Curtosis		-3,066	2,000	-1,745	2,000	-2,552

**Fuente:** Autora, 2018.

### 5.1.2. Azúcares Reductores de la Hidrólisis Exógena

Como se observa en la Figura 38, se obtuvo diferentes concentraciones de glucosa (g/l) de acuerdo al análisis de prueba de sustrato (3ml, 6ml y 9ml), demostrando mayor cantidad de azúcar (glucosa) presente en la muestra con 35% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,538g/l) y muestra con 60%

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,315g/l) mientras que muestra con 30% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, solamente se obtuvo 0,059g/l de glucosa, siendo la menor de todas las muestras analizadas. Cabe mencionar q los azúcares reductores obtenidos en esta hidrólisis no incluyen la mezcla de celulasa (proceso previo a la fermentación)



**Figura 38.** Comparación de la glucosa obtenida a partir de la Hidrólisis Exógena con las diferentes concentraciones de volumen de sustrato

**Fuente:** Autora, 2018

Estadísticamente, realizando el ANOVA correspondiente con un margen de error del 5% (**Tabla 11**), se obtuvo una significancia de 0,060 lo que indica que se acepta la hipótesis nula, dando como resultado que los valores obtenidos en la hidrólisis exógena son iguales para todos los casos del nivel de concentración de sustrato con un margen de error del 5%. Finalmente, las dispersiones de datos si son variables para las 3 concentraciones, de acuerdo a su desviación estándar y varianza.

**Tabla 11.** Análisis Estadístico de la Glucosa (Hidrólisis Exógena)

<b>Estadísticos Descriptivos</b>						
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación	
gr/l	12	0,059	0,538	0,18417	0,138564	
<b>ANOVA</b>						
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	
Entre grupos	0,098	2	0,049	3,897	0,060	
Dentro de grupos	0,113	9	0,013			
Total	0,211	11				
<b>Hidrólisis Exógena</b>						
Concentración	0,3		0,6		0,9	
Parámetros	Estadístico	Des. Error	Estadístico	Des. Error	Estadístico	Des. Error
Media	0,08400	0,018262	0,16550	0,043107	0,30300	0,085091
95% intervalo de confianza	Lim. Inferior		0,02831		0,03220	
	Lim. Superior		0,30269		0,57380	
Media recortada al 5%			0,1678		0,29806	
Mediana	0,06950		0,13200		0,25850	
Varianza	0,001		0,007		0,029	
Desviación	0,036524		0,086215		0,170182	
Mínimo	0,059		0,107		0,157	
Máximo	0,138		0,291		0,538	
Rango	0,079		0,184		0,381	
Rango intercuartil	0,062		0,149		0,314	
Asimetría	1,833	1,014	1,678	1,014	1,195	1,014
Curtosis	3,422	2,619	2,707	2,619	0,839	2,619

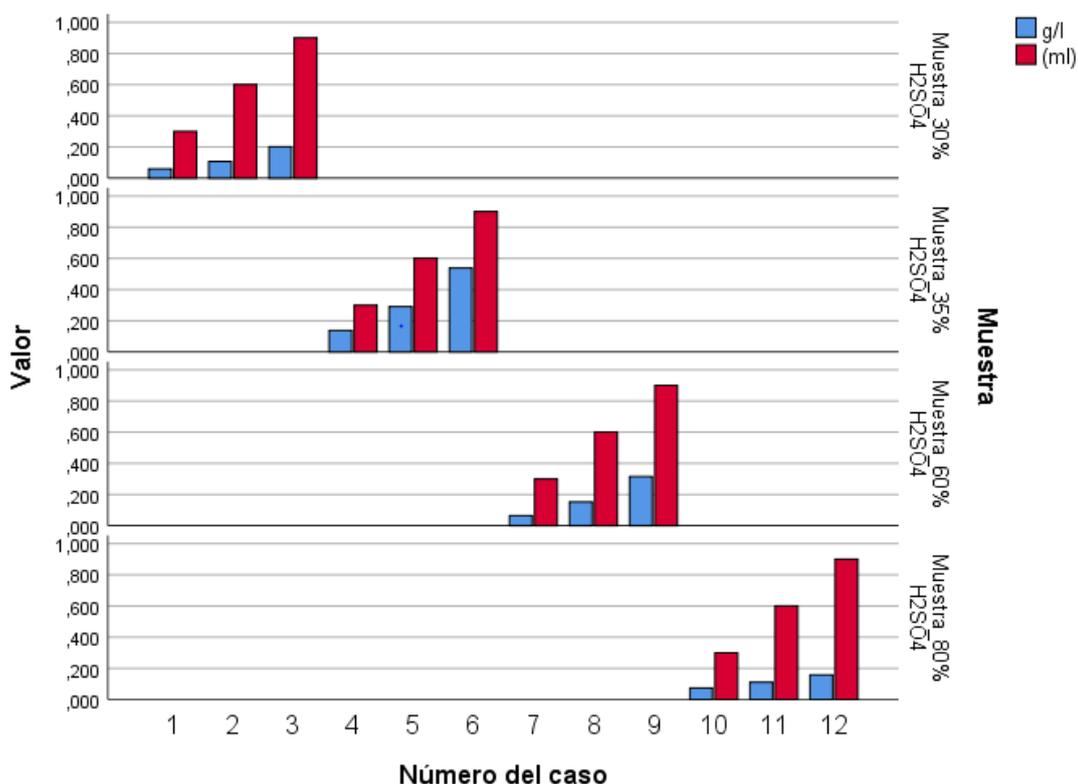
Fuente: Autora, 2018

### 5.1.3. Azúcares Reductores de la Hidrólisis Química

Para el análisis de los azúcares reductores de la Hidrólisis Química se subdividió en dos partes:

- Azúcares Reductores de la Hidrólisis Química con concentraciones de 30, 35, 60 y 80% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Como se observa en la Figura 39, se obtuvo diferentes concentraciones de glucosa (g/l) de acuerdo al análisis de prueba de sustrato (3ml, 6ml y 9ml), demostrando mayor cantidad de azúcar (glucosa) presente en la muestra con 35%  $H_2SO_4$  (0,538g/l), mientras que muestra con 80%  $H_2SO_4$ , solamente se obtuvo 0,157g/l de glucosa, siendo la menor de todas las muestras analizadas.



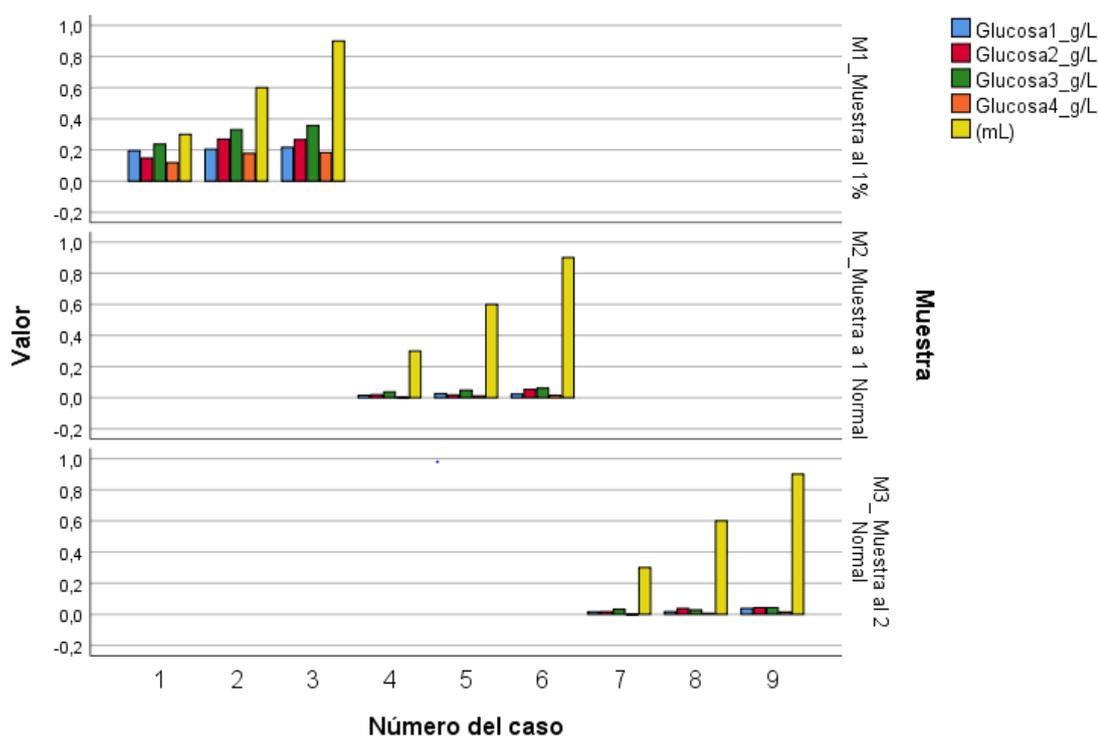
**Figura 39.** Comparación de la glucosa obtenida a partir de la Hidrólisis Química (30,35,60 y 80% de  $H_2SO_4$ ) con las diferentes concentraciones de volumen de sustrato.

**Fuente:** Autora, 2018.

Estadísticamente, se desarrolló el ANOVA correspondiente con un margen de error del 5% (**Tabla 12**), se obtuvo una significancia de 0,060 lo que indica que se acepta la hipótesis nula, dando como resultado que los valores obtenidos en la hidrólisis química son iguales para todos los casos del nivel de concentración de sustrato con un margen de error del 5%. Finalmente, las dispersiones de datos si son variables para las 3 concentraciones, de acuerdo a su desviación estándar y varianza.

- Azúcares Reductores de la Hidrólisis Química con Soluciones y Normales de  $H_2SO_4$ .

Como se especificó anteriormente en la metodología, en la hidrólisis química se tomó 4 muestras (autoclave) por cada reacción química realizada (1%, 1N<sup>18</sup> y 2N<sup>19</sup>) de  $H_2SO_4$ , para el cálculo de glucosa presente (g/L), así en la Figura 40 se obtuvo diferentes concentraciones de glucosa (g/l) de acuerdo al análisis de prueba de sustrato (3ml, 6ml y 9ml), demostrando mayor cantidad de azúcar (glucosa) presente en la muestra al 1%  $H_2SO_4$  (0,357g/l) en un período de 3h en autoclave, mientras que las muestras 1 Normal y 2 Normal presentaron valores muy bajos de glucosa de 0,015g/L en ambos casos en un periodo de 4h en autoclave.



**Figura 40.** Comparación de la glucosa obtenida a partir de la Hidrólisis Química (1%, 1N y 2N\_  $H_2SO_4$ ) con las diferentes concentraciones de volumen

**Fuente:** Autora, 2018.

<sup>18</sup> 1N: 1 Normal

<sup>19</sup> 2N: 2 Normal

**Tabla 12.** Análisis Estadístico de la Glucosa por Concentraciones (Hidrólisis Química)

<b>Estadísticos Descriptivos</b>						
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación	
gr/l	12	0,059	0,538	0,18417	0,138564	
<b>ANOVA</b>						
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	
Entre grupos	0,098	2	0,049	3,897	0,060	
Dentro de grupos	0,113	9	0,013			
Total	0,211	11				
<b>Hidrólisis Química</b>						
Concentración	0,3		0,6		0,9	
Parámetros	Estadístico	Des. Error	Estadístico	Des. Error	Estadístico	Des. Error
Media	0,08400	0,018262	0,16550	0,043107	0,30300	0,085091
95% intervalo de confianza	Lim. Inferior		0,02831		0,03220	
	Lim. Superior		0,30269		0,57380	
Media recortada al 5%			0,1678		0,29806	
Mediana	0,06950		0,13200		0,25850	
Varianza	0,001		0,007		0,029	
Desviación	0,036524		0,086215		0,170182	
Mínimo	0,059		0,107		0,157	
Máximo	0,138		0,291		0,538	
Rango	0,079		0,184		0,381	
Rango intercuartil	0,062		0,149		0,314	
Asimetría	1,833	1,014	1,678	1,014	1,195	1,014
Curtosis	3,422	2,619	2,707	2,619	0,839	2,619

**Fuente:** Autora, 2018

Estadísticamente, se desarrolló el ANOVA correspondiente con un margen de error del 5% (**Tabla 13 y 14**), se obtuvo una significancia mayores a 0,050 que indica que se acepta la hipótesis nula, dando como resultado que los valores obtenidos en la hidrólisis química son iguales para todos los casos del nivel de concentración de sustrato con un

margen de error del 5%. Finalmente, las dispersiones de datos si son variables para las 3 concentraciones, de acuerdo a su desviación estándar y varianza.

**Tabla 13.** Análisis Estadístico de la Glucosa por Soluciones Normales (Hidrólisis Química) Parte 1

<b>Estadísticos Descriptivos</b>					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación
Glucosa 1_g/l	9	0,016	0,217	0,08360	0,091584
Glucosa 2_g/l	9	0,017	0,270	0,09697	0,104978
Glucosa 3_g/l	9	0,028	0,357	0,13050	0,137340
Glucosa 4_g/l	9	-0,003	0,183	0,5847	0,78405

<b>ANOVA</b>						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
	Entre grupos	0,000	2	0,020	0,020	0,980
Glucosa 1 _ g/l	Dentro de grupos	0,067	6	0,011		
	Total	0,067	8			
	Entre grupos	0,006	2	0,003	0,217	0,811
Glucosa 2 _ g/l	Dentro de grupos	0,082	6	0,014		
	Total	0,088	8			
	Entre grupos	0,004	2	0,002	,0,084	0,920
Glucosa 3 _ g/l	Dentro de grupos	0,147	6	0,024		
	Total	0,151	8			
	Entre grupos	0,002	2	0,001	0,113	0,895
Glucosa 4 _ g/l	Dentro de grupos	0,047	6	0,008		
	Total	0,049	8			

**Fuente:** Autora, 2018

**Tabla 14.** Análisis Estadístico de la Glucosa por Soluciones Normales (Hidrólisis Química) Parte 2

<b>Hidrólisis Química</b>							
<b>Glucosa 1</b>							
<b>Concentración</b>		<b>0,3</b>		<b>0,6</b>		<b>0,9</b>	
<b>Parámetros</b>		<b>Estadístico</b>	<b>Des. Error</b>	<b>Estadístico</b>	<b>Des. Error</b>	<b>Estadístico</b>	<b>Des. Error</b>
Media		0,07540	0,059444	0,08284	0,060895	0,09255	0,062191
95% intervalo de confianza	Lim. Inferior	-0,18037		-0,17917		-0,17504	
	Lim. Superior	0,33117		0,34485		0,36013	
	Mediana	0,01609		0,02632		0,03840	
Varianza		0,011		0,011		0,012	
Desviación		0,102960		0,105474		0,107718	
Mínimo		0,016		0,018		0,023	
Máximo		0,194		0,205		0,217	
Rango		0,178		0,187		0,194	
Asimetría		1,732	1,225	1,719	1,225	1,691	1,225
<b>Glucosa 2</b>							
Media		0,06137	0,043051	0,10849	0,081048	0,12105	0,072675
95% intervalo de confianza	Lim. Inferior	-0,12387		-0,24023		-0,19164	
	Lim. Superior	0,24660		0,45721		0,43375	
	Mediana	0,01961		0,03797		0,05342	
Varianza		0,006		0,020		0,016	
Desviación		0,074567		0,140380		0,125877	
Mínimo		0,017		0,017		0,043	
Máximo		0,147		0,270		0,266	
Rango		0,130		0,253		0,223	
Asimetría		1,730	1,225	1,690	1,225	1,720	1,225
<b>Glucosa 3</b>							
Media		0,10204	0,067462	0,13580	0,097713	0,15367	0,101800
95% intervalo de confianza	Lim. Inferior	-0,18823		-0,28463		-0,28434	
	Lim. Superior	0,39230		0,55622		0,59168	
	Mediana	0,03758		0,04857		0,06141	
Varianza		0,014		0,029		0,031	
Desviación		0,116847		0,169244		0,176323	
Mínimo		0,032		0,028		0,043	
Máximo		0,237		0,331		0,357	
Rango		0,205		0,303		0,314	
Asimetría		1,727	1,225	1,703	1,225	1,710	1,225
<b>Glucosa 4</b>							
Media		0,03883	0,039930	0,06541	0,056232	0,07119	0,056055
95% intervalo de confianza	Lim. Inferior	-0,13298		-0,17654		-0,17000	
	Lim. Superior	0,21063		0,30735		0,31237	
	Mediana	0,00077		0,01117		0,01538	
Varianza		0,005		0,009		0,009	
Desviación		0,069161		0,097396		0,097090	
Mínimo		-0,003		0,007		0,015	
Máximo		0,119		0,178		0,183	
Rango		0,122		0,171		0,168	
Asimetría		1,726	1,225	1,729	1,225	1,732	1,225

Fuente: Autora, 2018

## 5.2 Prueba de Fehling

La prueba de Fehling se realizó, con el fin de demostrar que las hidrólisis desarrolladas anteriormente obtuvieran buenos resultados, es decir, si se transformó la celulosa en glucosa (azúcares fermentables), así en la **Tabla 15** se puede observar un resumen total de las pruebas tanto positivas como negativas para cada una de las muestras de cada hidrólisis ya mencionadas. Con dicha información se dice que:

- Se obtuvo un 60% de pruebas Fehling positivas para la Hidrólisis Endógena, es decir 9 muestras positivas y 6 negativas (40%).
- Un 62,5% de pruebas Fehling positivas para la Hidrólisis Exógena, es decir 15 pruebas positivas y 9 negativas (37,5%).
- Finalmente, un 47,62% de pruebas Fehling positivas para la Hidrolisis Química, es decir 10 pruebas positivas y 11 negativas (52,38%).

Cabe mencionar que en Anexos (*Apéndice B*) se puede verificar dicha información.

**Tabla 15.** Resumen del total de muestras realizadas la Prueba de Fehling

Tipo Hidrólisis	N° Muestra	Concentración H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Positivo	Negativo	Tipo de Cultivo en Fermentación				Total Positivos	Total Negativos
					Agar Dextrosa (PDA)	Agua de Peptona	Agua Destilada + azúcar	Agua Destilada		
ENDONGENA	47	A (30%, autoclave)	X				X			
	48	B (60% autoclave)	X				X			
	49	C (60% no autoclave)			x		x			
	50	D (60% filtrado_ fibra)	X				X			
	51	E (60% filtrado_ licor)	X				X			
	52	A (30%, autoclave)			x	x				
	53	B (60% autoclave)	X				X			
	54	C (60% no autoclave)			x	x		9	6	
	55	D (60% filtrado_ fibra)			x	x				
	56	E (60% filtrado_ licor)	X				X			
	57	A (30%, autoclave)			x	x				
	58	B (60% autoclave)			x	x				
	59	C (60% no autoclave)	X				X			
	60	D (60% filtrado_ fibra)	X				X			
	61	E (60% filtrado_ licor)	X				X			
	<b>Total Muestras</b>								<b>15</b>	
		1	15% y concentración de 10ppm de celulasa	X					X	
	2	35%			x		x			
	3	15% y concentración de 30ppm de celulasa			x			x		

EXOGENA

6	15% y concentración de 60ppm de celulasa	X			X			
7	30%			x		x		
10	60%	X			X			
11	30%	X			X			
12	60%			x		x		
18	80%			x		x		
22	35%	X			X			
25	60%	X				X	14	
26	80%	X				X	10	
28	15% y concentración de 30ppm de celulasa	X					X	
29	15% y concentración de 10ppm de celulasa	X					X	
30	15% y concentración de 60ppm de celulasa	X					X	
32	35%			x		x		
33	30%			x		x		
35	80%	X			X			
41	15% y concentración de 60ppm de celulasa			x	x			
42	15% y concentración de 10ppm de celulasa			x	x			
43	15% y concentración de 30ppm de celulasa			x	x			
44	15% y concentración de 60ppm de celulasa	X				X		
45	15% y concentración de 10ppm de celulasa	X				X		
46	15% y concentración de 30ppm de celulasa	X				X		
<b>Total Muestras</b>							<b>24</b>	



### 5.3 Refractometría. Medición de Grados Brix (Grados Alcohólicos).

Señalado anteriormente, las siguientes técnicas de medición y caracterización, se realizaron a base de las pruebas positivas de Fehling.

Los grados Brix ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) juegan un rol decisivo, no sólo como para obtener grados alcohólicos probables, sino que también su comportamiento demuestra que dicha muestra está lista para su destilación; por lo tanto los Grados Alcohólicos, son medidos a través de los grados brix ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) en un espectrómetro, obviamente el cálculo es la obtención de un grado alcohólico probable, mas no real (experimental), ya que influye varios parámetros que los cálculos no expresan, tales como: tiempo de fermentación, presión, temperatura, pH, entre otros. En la **Tabla 16** se observa el cálculo de dichos grados alcohólicos probables de la muestra (fórmula) como también el cálculo mediante observación de tablas de transformación alcohólica (Anexos\_ *Apéndice J*), demostrando similitud en los resultados. Cabe mencionar que el rendimiento de los  $^{\circ}\text{Brix}$ , está delimitado por el tiempo de fermentación, por lo que en Anexos (*Apéndice C*) se observa dicho comportamiento.

$$\% \text{ vol} = (0.6757 \times ^{\circ}\text{Brix}) - 2.083$$

**Tabla 16.** Grados Alcohólicos obtenidos mediante cálculo Manual y Observación de Tablas

Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	N° de muestra	° BRIX	Cálculo manual (Fórmula) %	Observación por Tablas Grados Alcohólico % a 20°C
<b>Hidrólisis Endógena</b>				
A	Muestra N° 47_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 30% sometido en Autoclave; en cultivo Agua Destilada.	9	3,997	4,40
B	Muestra N° 48_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60% sometido en Autoclave; en cultivo Agua Destilada. Muestra N° 53_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60% sometido en Autoclave; en cultivo Agua Peptona.	8,5 6	3,659 1,970	4,15 2,93
C	Muestra N° 59_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 30%, no autoclavado; en cultivo PDA.	13	6,700	6,79
D	Muestra N° 50_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60%, no autoclavado, en cultivo Agua Destilada. Muestra N° 60_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60%, no autoclavado, en cultivo PDA.	11,5 13,5	5,686 7,038	5,83 7,11
E	Muestra N° 51_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60%, sometido en Autoclave, en cultivo Agua Destilada. Muestra N° 56_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60%, sometido en Autoclave, en cultivo Agua Peptona. Muestra N° 61_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60%, sometido en Autoclave, en cultivo PDA.	6,5 7 13,2	2,308 2,646 6,835	3,17 3,42 6,92

<b>Hidrólisis Exógena</b>				
30%	Muestra N° 11_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 30% con celulasa en cultivo PDA	<b>15</b>	<b>8.051</b>	<b>8,08</b>
35%	Muestra N° 22_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 35% con celulasa en cultivo PDA	<b>9,1</b>	<b>4.064</b>	<b>4.44</b>
60%	Muestra N° 10_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60% con celulasa en cultivo PDA	<b>14</b>	<b>7.376</b>	<b>7.43</b>
60%	Muestra N° 25_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60% con celulasa en cultivo Agua Peptona	<b>5</b>	<b>1.294</b>	<b>2.44</b>
80%	Muestra N° 26_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 80% con celulasa en cultivo Agua Peptona	<b>9,1</b>	<b>4.065</b>	<b>4.44</b>
	Muestra N° 35_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 80% con celulasa en cultivo PDA	<b>10</b>	<b>4.673</b>	<b>4.89</b>
15% y concentración de 10ppm de celulasa	Muestra N° 1_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura y azúcar	<b>17</b>	<b>9.403</b>	<b>9.39</b>
	Muestra N° 29_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura sin azúcar	<b>14,5</b>	<b>7.714</b>	<b>7.76</b>
	Muestra N° 45_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% en cultivo Agua Peptona con azúcar	<b>6</b>	<b>1.970</b>	<b>2.93</b>
15% y concentración de 30ppm de celulasa	Muestra N° 28_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura sin azúcar	<b>13,5</b>	<b>7.038</b>	<b>7.11</b>
	Muestra N° 46_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% en cultivo Agua Peptona con azúcar	<b>5,9</b>	<b>1.913</b>	<b>2.88</b>
	Muestra N° 6_ Concentración de			

	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura con azúcar	<b>6</b>	<b>1.945</b>	<b>2.93</b>
15% y concentración de 60ppm de celulasa	Muestra N° 30_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura sin azúcar	<b>15,2</b>	<b>8.187</b>	<b>8.21</b>
	Muestra N° 44_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% en cultivo Agua Peptona con azúcar	<b>15,5</b>	<b>8.389</b>	<b>8.41</b>
<b>Hidrólisis Química</b>				
30%	Muestra N° 21_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 30% en cultivo Agua Peptona	<b>8</b>	<b>3.321</b>	<b>3.91</b>
	Muestra N° 38_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 30% en cultivo Agua Peptona	<b>14</b>	<b>7.376</b>	<b>7.43</b>
35%	Muestra N° 24_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 35% en cultivo Agua Peptona	<b>7,5</b>	<b>2.984</b>	<b>3.66</b>
	Muestra N° 36_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 35% en cultivo PDA	<b>11,5</b>	<b>5.686</b>	<b>5.83</b>
60%	Muestra N° 4_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60% en cultivo PDA	<b>20</b>	<b>11.430</b>	<b>11.40</b>
	Muestra N° 20_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60% en cultivo Agua Peptona	<b>5,5</b>	<b>1.632</b>	<b>2.69</b>
80%	Muestra N° 19_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 80% en cultivo Agua Peptona	<b>6,5</b>	<b>2.308</b>	<b>3.17</b>
	Muestra N° 31_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 80% en cultivo PDA	<b>10,6</b>	<b>5.078</b>	<b>5.26</b>
1%	Muestra N° 39_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 1% con activación directa de levadura en Agua Peptona	<b>3</b>	<b>0.057</b>	<b>1.46</b>
	Muestra N° 17_ Concentración de			

2N	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 2 Normal con activación directa de levadura en Agua Destilada con azúcar	8	3.321	3.91
----	--	---	-------	------

Fuente: Autora, 2018.

## 5.4 Destilación Alcohólica

Para la destilación alcohólica, se desarrolló una destilación simple en la que la muestra fermentada previamente filtrada es colocada en un balón de aforo de destilación con tapón que incluye un termómetro con un punto de calor, en este caso un mechero, se espera varios minutos hasta que la temperatura se estabilice a 78°C (punto de ebullición del etanol), luego se destilará por un tubo de refrigeración denominado condensador (cual fluye agua fría de abajo hacia arriba) que tiene un ángulo ligeramente direccionado hacia abajo.

Como se sabe, el punto de ebullición la muestra se transforma a estado gaseoso que luego pasa por el condensador cual función es transformarla de nuevo en líquido, así obteniendo una muestra de biocombustible líquida.

### 5.4.1 Características de las muestras destiladas

Una vez obtenido la destilación simple de las muestras, se midió su densidad con el fin de obtener los grados alcohólicos reales, así en la **Tabla 17** se puede apreciar dichos cálculos, cabe mencionar que los grados alcohólicos son obtenidos bajo criterio del Servicio Ecuatoriano de Normalización (INEN 360). A eso debe añadir, que solamente se destiló las muestras cuyas pruebas de Fehling marcaron positivo. Cabe mencionar que la Tabla no especifica que todas las muestras sean biocombustibles, solamente grados alcohólicos.

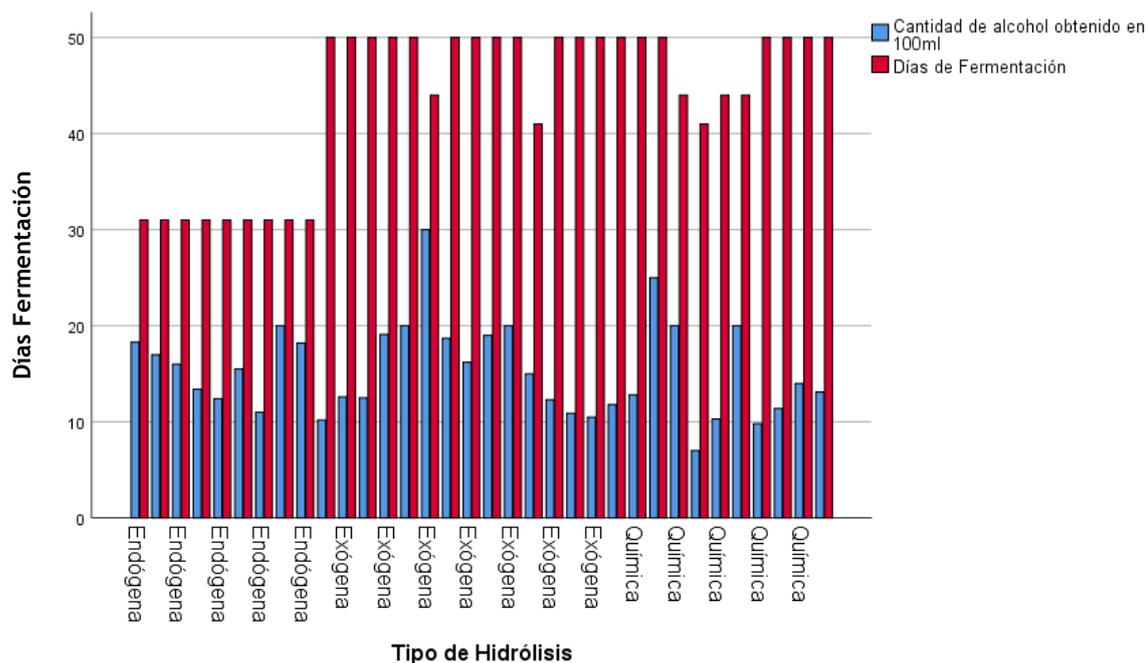
**Tabla 17.** Características de las muestras destiladas

<b>Tipo de Hidrólisis</b>	<b>N° Muestras</b>	<b>Días de Fermentación</b>	<b>Cantidad de alcohol obtenido en 100ml</b>	<b>Densidad</b>	<b>Grados Alcohólicos INEN</b>
<b>Endógena</b>	47	31	18,3	0,9956	8,92
	48	31	17	0,9977	7,84
	50	31	16	0,9931	11,36
	51	31	13,4	0,9957	8,92
	53	31	12,4	0,9974	7,84
	56	31	15,5	0,9931	11,36
	59	31	11	0,9839	26,06
	60	31	20	0,9920	12,69
	61	31	18,2	0,9952	8,92
<b>Exógena</b>	1	50	10,2	0,9960	8,92
	6	50	12,6	0,9956	8,92
	10	50	12,5	1,0542	6,22
	11	50	19,1	0,9963	8,92
	22	50	20	0,9976	7,84
	25	44	30	0,9986	6,71
	26	50	18,7	0,9946	10,16
	28	50	16,2	0,9971	7,84
	29	50	19	0,9980	7,84
	30	50	20	0,9989	6,71
	32	41	15	-	-
	35	50	12,3	0,9966	7,83
	44	50	10,9	0,9970	7,84
	45	50	10,5	0,9953	8,92
	46	50	11,8	0,9992	6,71
<b>Química</b>	4	50	12,8	0,9906	14,65
	17	50	25	0,9963	8,92
	19	44	20	0,9992	6,71
	20	41	7	0,9979	7,84
	21	44	10,3	0,9877	18,23
	24	44	20	0,9991	6,71
	31	50	9,8	0,9995	6,71
	36	50	11,4	0,9991	6,71
	38	50	14	0,9992	6,71
	39	50	13,1	0,9991	6,71

**Fuente:** Autora, 2018.

Finalmente, con estos resultados se demostró:

- De acuerdo a los días de Fermentación: mayor volumen de destilación en un sustrato de 100ml de fermentación para la hidrólisis exógena en un lapso de 40 días aproximadamente, seguido de la hidrólisis química con fermentaciones de entre 20 y 30 días (Figura 41).

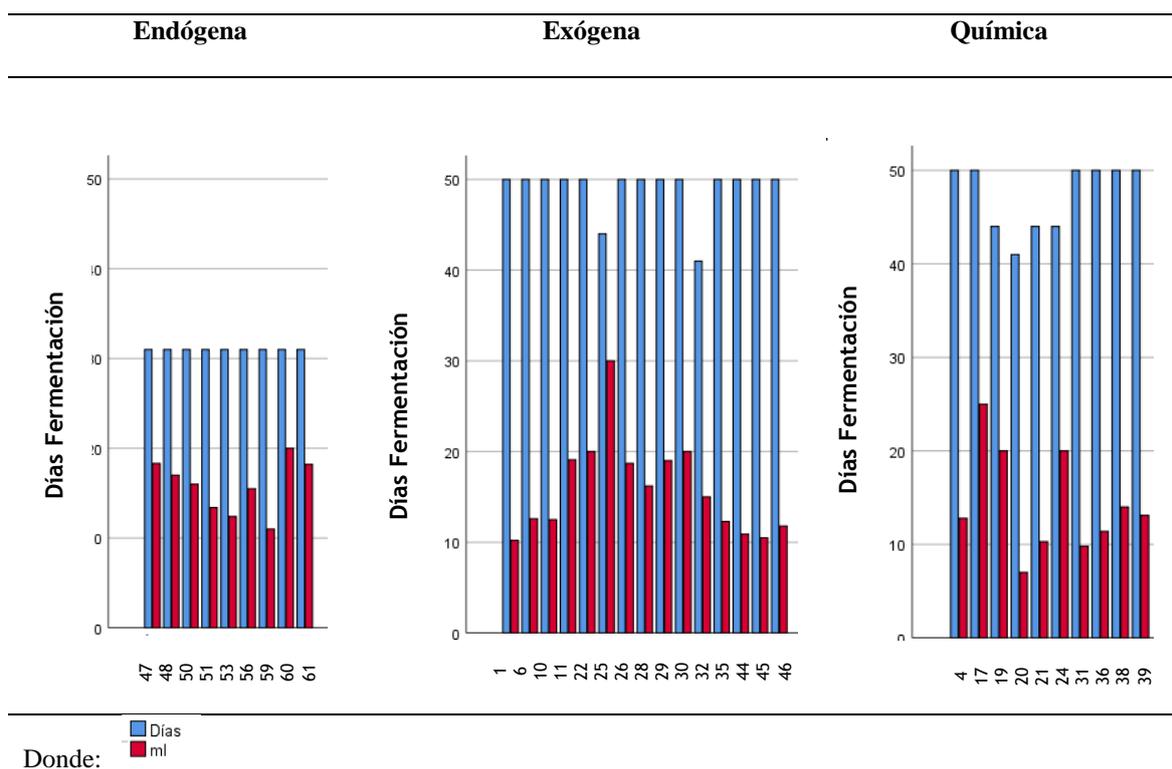


**Figura 41.** Días de Fermentación para obtención de biocombustibles

**Fuente:** Autora, 2018.

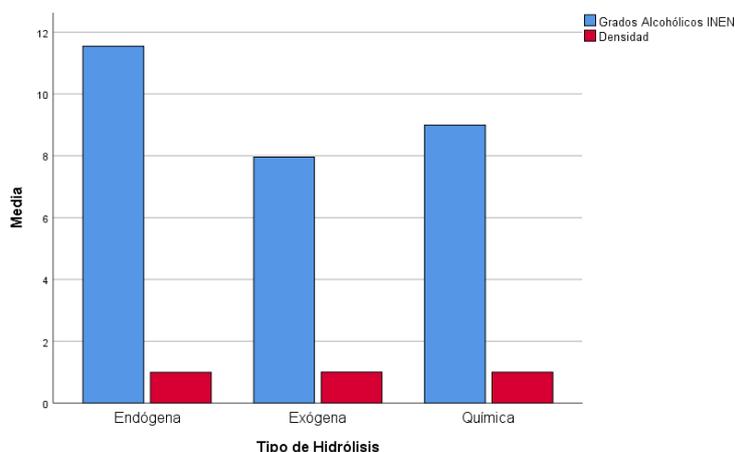
La muestra 37 resalta un total de 18,3ml de volumen de destilación obtenido en un lapso de 31 días para la hidrólisis Endógena, en la hidrólisis Exógena la muestra 25 obtiene un valor de 30ml en un lapso de 44 días y finalmente la muestra 20 con 19ml en un lapso de 44 días (**Tabla 18**).

**Tabla 18.** Influencia de los Días de Fermentación VS Cantidad de volumen de destilación obtenido



**Fuente:** Autora, 2018.

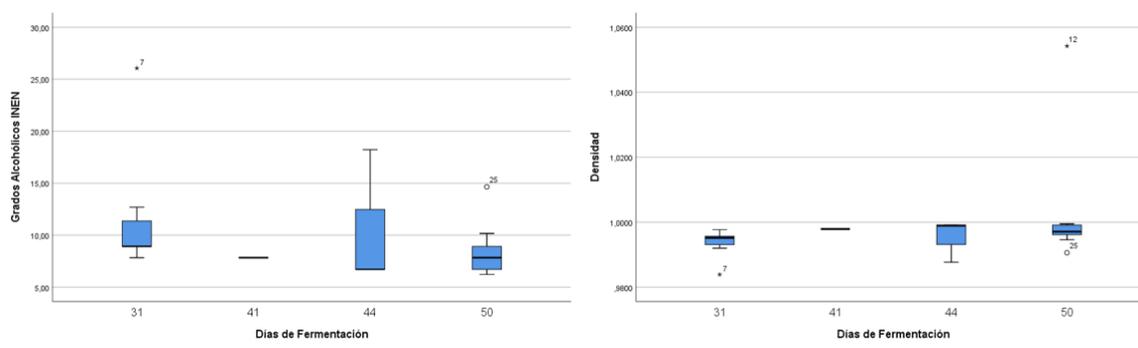
- Mayor grado alcohólico de las muestras destiladas VS Densidad: de acuerdo, a la Figura 42 se obtiene mayor grado alcohólico para la Hidrólisis Endógena, seguida de la Hidrólisis Química y finalmente la Hidrólisis Exógena; cabe mencionar que la densidad no difiere mayormente para ninguno de los 3 casos analizados.



**Figura 42.** Grado Alcohólico obtenido VS Densidad

**Fuente:** Autora, 2018.

Estadísticamente, la Figura 43 representa los datos anómalos analizados basándose en los grados alcohólicos obtenidos de los combustibles con la influencia de medición de la densidad y el tiempo de fermentación, los cuales su principal error pudo haber sido causado al ser mal tomado la medición de la densidad o que la muestra no se destiló a tiempo, lo que excedió el tiempo de fermentación.



**Figura 43.** Datos Anómalos de la influencia entre los Días de Fermentación VS Densidad y Grado Alcohólico

**Fuente:** Autora, 2018.

Cabe mencionar, que los datos estadísticos se pueden visualizar de mejor manera en Anexos (*Apéndice D*).

## 5.5 Caracterización del Bioetanol

Uno de los procesos más importantes después de la destilación de las muestras, es su caracterización, es decir, la determinación del tipo de biocombustible obtenido comparado con tablas en base al cálculo del poder calorífico, el cálculo del rendimiento en procesos de hidrólisis y fermentación (fórmulas descritas por autores) y finalmente la cantidad obtenida de dichos biocombustible

### 5.5.1 Rendimiento del Biocombustible

Para determinar el rendimiento de los biocombustibles obtenidos se analizó 2 procesos: hidrólisis y fermentación mediante expresiones matemáticas (fórmulas), así:

### 5.5.1.1. Rendimiento de las Hidrólisis

Para el obtener el rendimiento de las hidrólisis realizada, los cálculos se basaron en la expresión dada por Escalante & Fuentes (2013), en la que describe que el rendimiento de una hidrólisis se basa en el peso de la muestra, como la medición de los grados brix iniciales y el porcentaje teórico de la celulosa, así:

$$\text{Rendimiento de la hidrólisis (\%)} = \frac{\text{°Brix hidrólisis} * \text{Peso de la muestra (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)} * \% \text{ celulosa}} * 100$$

Por lo tanto, en la **Tabla 19** se calcula el rendimiento obtenido para cada una de las muestras de acuerdo a su hidrólisis.

En la Figura 44 se expresa el cálculo descrito anteriormente sobre el rendimiento de las hidrólisis con sus respectivas muestras, dando mejor resultado la hidrólisis exógena con valores mayores al 80%, seguida de la hidrólisis química y endógena con resultados de entre 60 y 80% aproximadamente.

**Tabla 19.** Rendimiento de las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química

<b>Tipo de Hidrólisis</b>	<b>N° Muestras</b>	<b>° Brix Inicial</b>	<b>Peso muestra (g)</b>	<b>% celulosa</b>	<b>Rendimiento %</b>
<b>Endógena</b>	47	19,3	100	30,87	62,52
	48	20,1	100	10,70	18,78
	50	24,1	100	16,96	14,21
	51	20,5	100	28,01	73,19
	53	20,1	100	10,70	18,79
	56	20,5	100	28,01	73,19
	59	24,1	100	13,43	17,94
	60	24,1	100	16,96	14,21
	61	20,5	100	28,01	73,19
<b>Exógena</b>	1	17,5	100	16,46	10,63
	6	15	100	16,46	91,13
	10	18	100	24,11	74,66
	11	20	100	16,46	12,15
	22	17,5	100	43,74	40,01
	25	18	100	24,11	74,66
	26	22	100	34,24	64,25
	28	14,5	100	16,46	88,09
	29	17,5	100	16,46	10,63
	30	15	100	16,46	91,13
	32	17,5	100	24,11	72,58
	35	22	100	34,24	64,25
	44	15	100	16,46	91,13
	45	12	100	16,46	72,90
46	14,5	100	16,46	8,15	
<b>Química</b>	4	18	100	24,11	74,66
	17	18,5	100	16,46	11,24
	19	22	100	34,24	64,25
	20	18	100	24,11	74,66
	21	20	100	16,46	12,15
	24	17,5	100	43,74	40,01
	31	22	100	34,24	64,25
	36	17,5	100	43,74	40,01
	38	20	100	16,46	12,15
39	18,5	100	16,46	11,24	

Fuente: Autora, 2018.

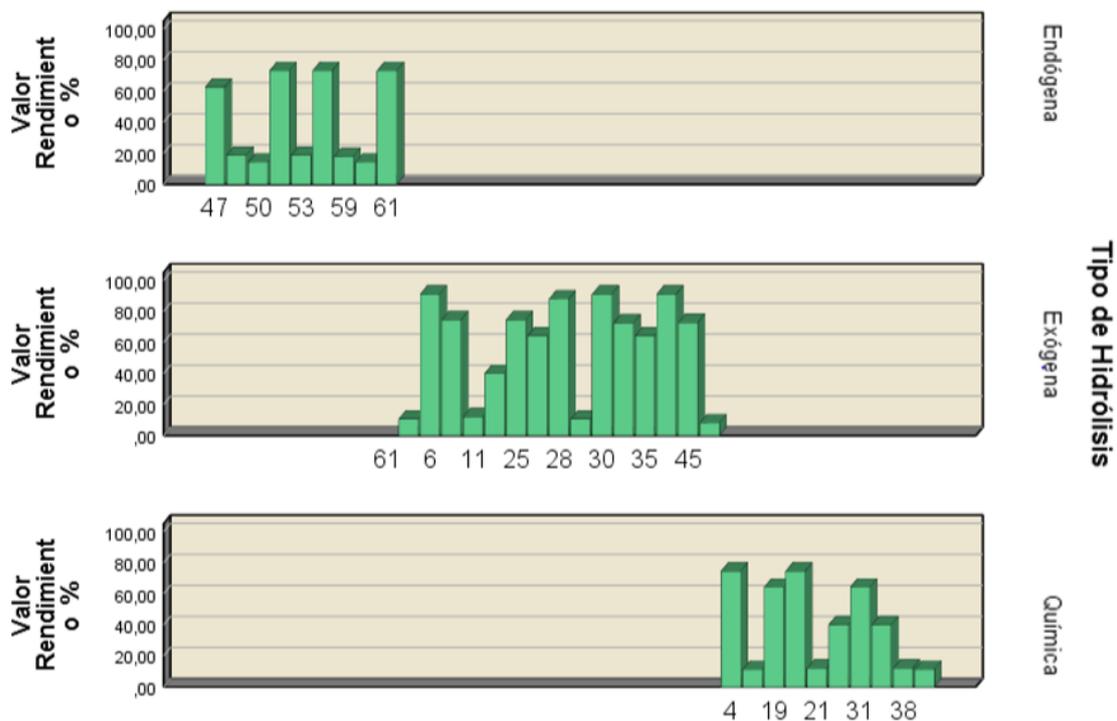


Figura 44. Rendimiento de las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química

Fuente: Autora, 2018.

Así mismo, en la Figura 45 se observa claramente que las muestras de mayor impacto de acuerdo a su rendimiento, son: 50, 56, 61, 6, 28, 30, 44, 4 con valores mayores al 70%. Cabe mencionar que la influencia del % celulosa si difiere en el rendimiento de dichas muestras como se observa en la Figura 46.

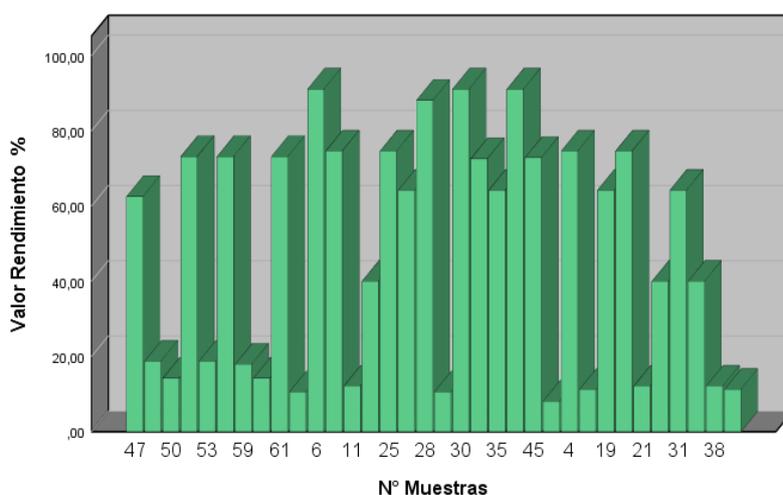
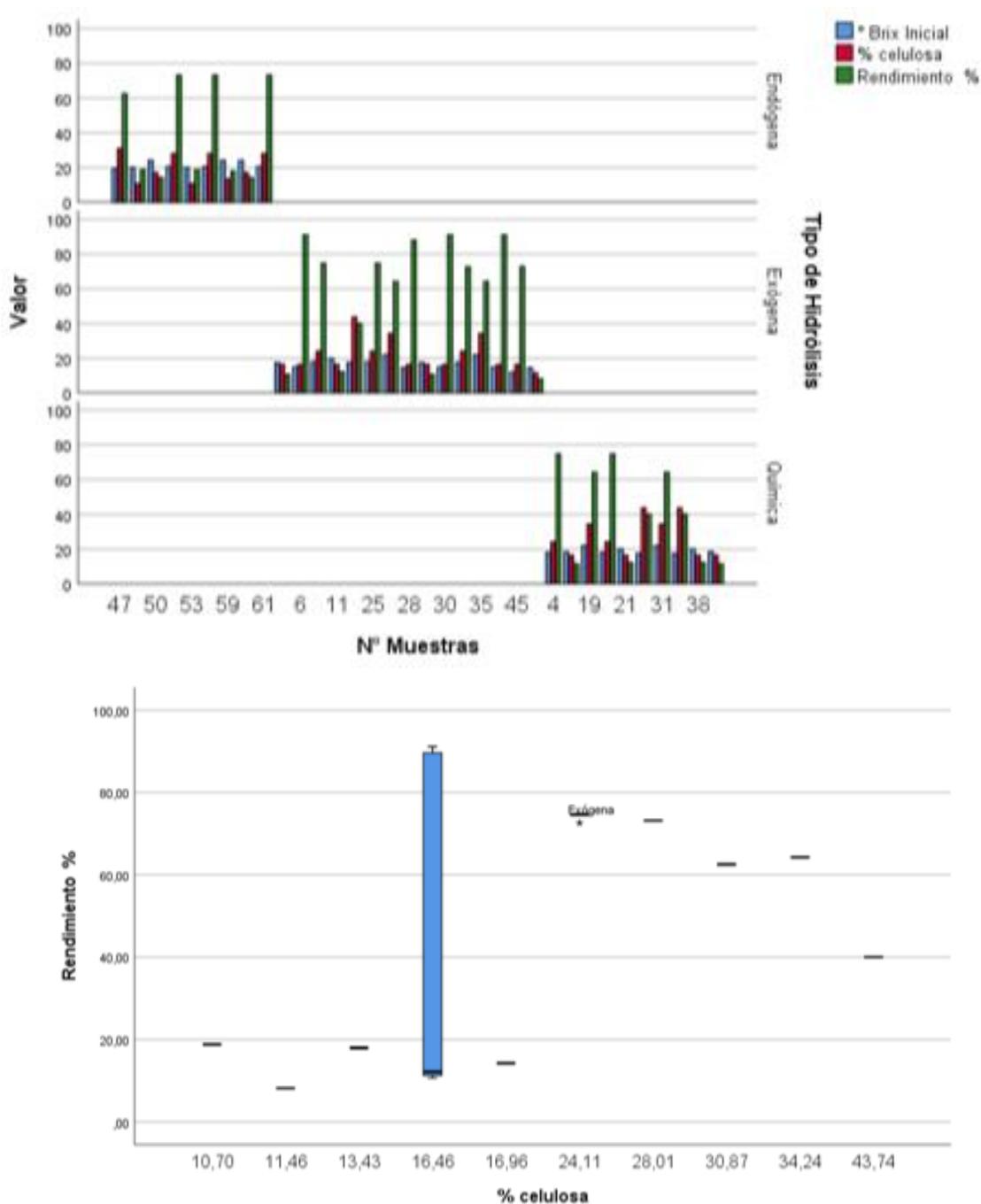


Figura 45. Muestras de Hidrólisis con rendimiento mayores al 70%

Fuente: Autora, 2018.

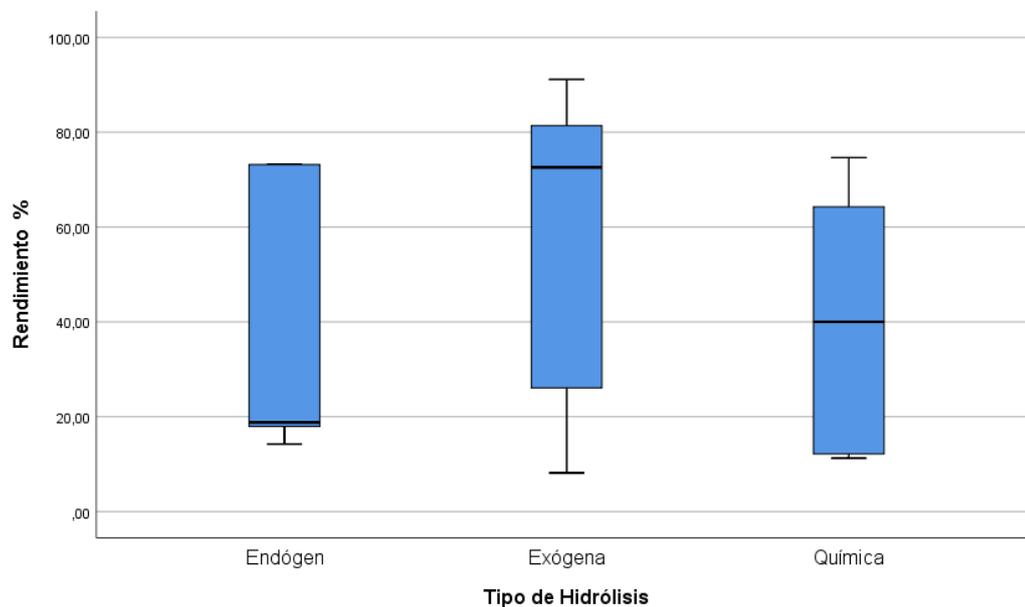


**Figura 46.** Influencia de % celulosa en el Rendimiento de las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química

**Fuente:** Autora, 2018.

Estadísticamente, el rendimiento de las tres hidrólisis mencionadas son representadas en la Figura 47, demostrando mayor correlación en los datos en la hidrólisis Química (simetría), mientras que para la Hidrólisis Endógena y Exógena no existe

simetría. Sin mención, que los cálculos estadísticos se los puede apreciar en Anexos (*Apéndice E*)



**Figura 47.** Correlación de los datos en el Rendimiento de las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química (simetría)

**Fuente:** Autora, 2018.

### 5.5.1.2. Rendimiento de la Fermentación

Malagón (2009), indica una expresión matemática mediante mediciones de grados Brix para demostrar el rendimiento de una fermentación, así:

$$\text{Rendimiento de la fermentación (\%)} = \frac{^{\circ}\text{Brix iniciales} - ^{\circ}\text{Brix finales}}{^{\circ}\text{Brix iniciales}} * 100$$

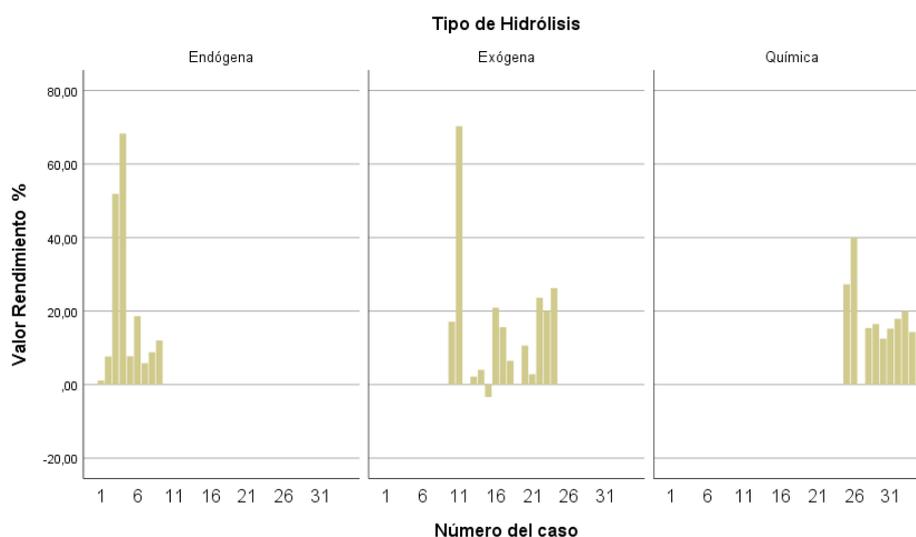
Por lo tanto, en la **Tabla 20** se puede apreciar dichos cálculos de acuerdo a cada muestra dependiendo de su hidrólisis realizada.

**Tabla 20.** Rendimiento de Fermentación para la Hidrólisis Endógena, Exógena y Química

<b>Tipo de Hidrólisis</b>	<b>N° Muestras</b>	<b>° Brix Inicial</b>	<b>° Brix Final</b>	<b>Rendimiento %</b>
<b>Endógena</b>	47	9,1	9	1,10
	48	9,2	8,5	7,61
	50	24,1	11,6	51,87
	51	20,5	6,5	68,29
	53	6,5	6	7,69
	56	8,6	7	18,60
	59	13,8	13	5,80
	60	14,8	13,5	8,78
	61	15	13,2	12,00
<b>Exógena</b>	1	20,5	17	17,07
	6	20,2	6	70,30
	10	11,8	11,8	0,00
	11	13,8	13,5	2,17
	22	10	9,6	4,00
	25	5,9	6,1	-3,39
	26	11	8,7	20,91
	28	16	13,5	15,63
	29	15,5	14,5	6,45
	30	15,2	15,2	0,00
	32	8,5	7,6	10,59
	35	10,6	10,3	2,83
	44	7,2	5,5	23,61
	45	7,5	6	20,00
46	8	5,9	26,25	
<b>Química</b>	4	16,5	12	27,27
	17	11	6,6	40,00
	19	6,5	6,5	0,00
	20	6,5	5,5	15,38
	21	8,5	7,1	16,47
	24	8	7	12,50
	31	12,5	10,6	15,20
	36	14	11,5	17,86
	38	17,5	14	20,00
39	3,5	3	14,29	

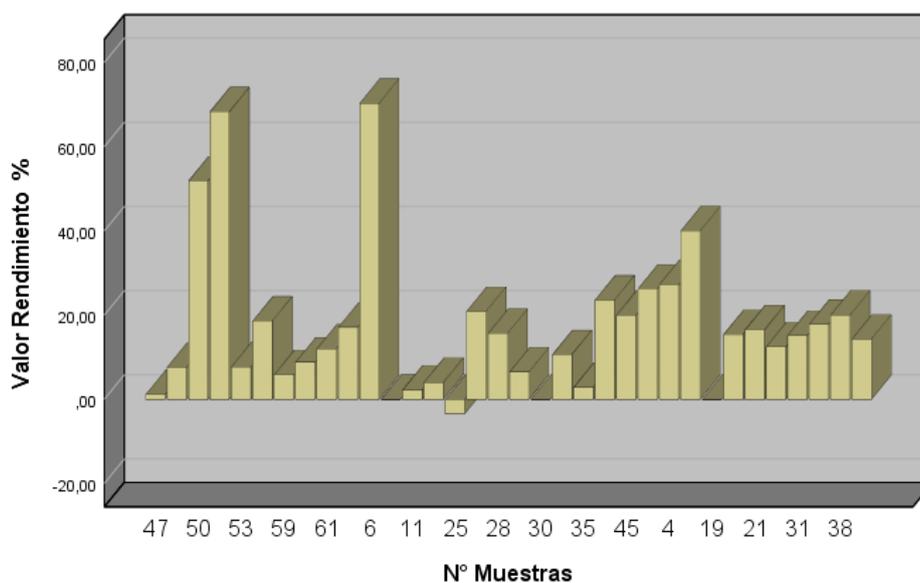
**Fuente:** Autora, 2018.

Con los resultados obtenidos de dichas tablas se puede analizar que el mejor rendimiento durante la fermentación es la hidrólisis Exógena y Endógena con un 80 %, mientras que el rendimiento para la hidrólisis Química disminuye a 40%, según la Figura 48 (valores promedio). Así mismo sobresale las muestras: 50, 51, 6 y 17 con rendimiento mayor al 50%, independientemente de las hidrólisis realizadas (Figura 49).



**Figura 48.** Rendimiento de la Fermentación para las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química

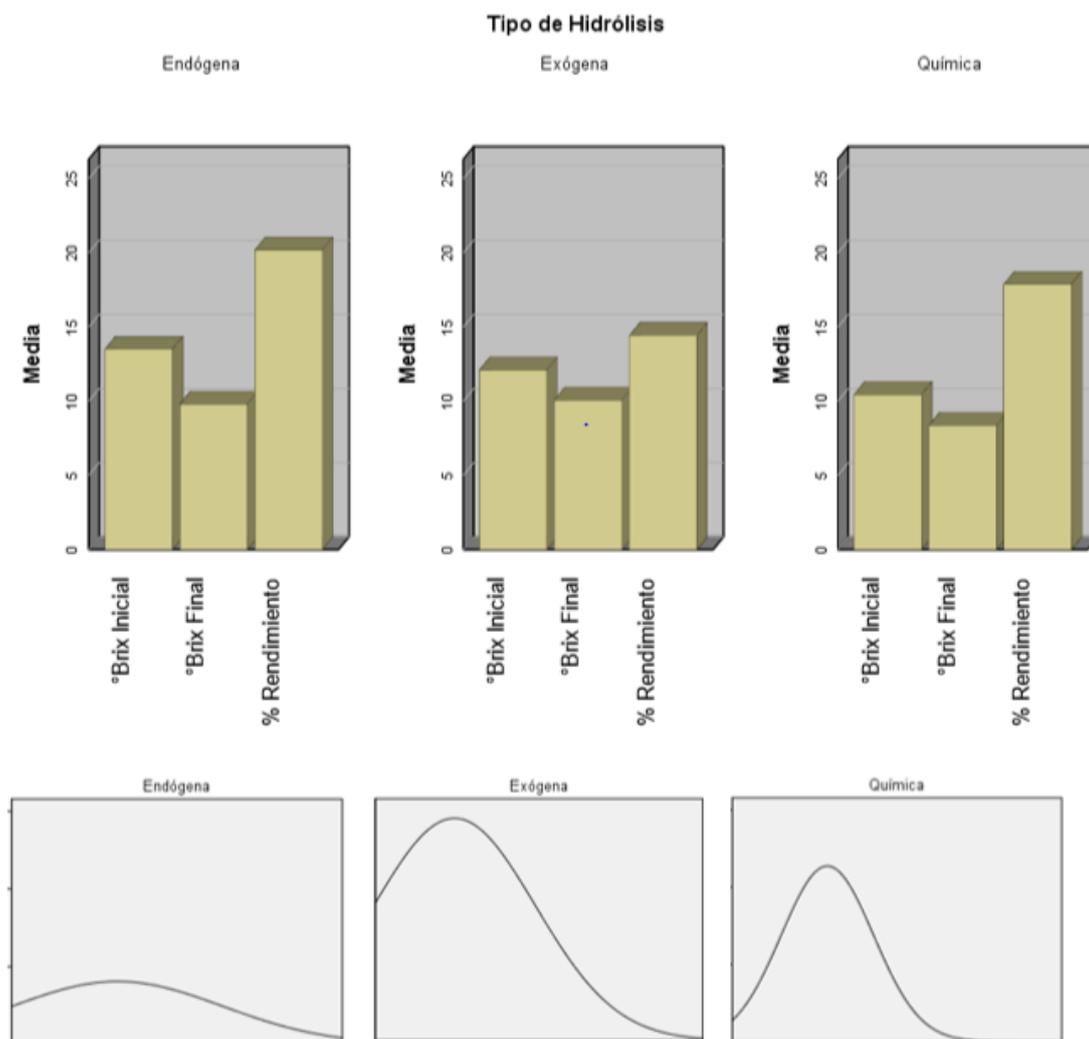
**Fuente:** Autora, 2018.



**Figura 49.** Muestras de Hidrólisis con rendimiento mayores al 50%

**Fuente:** Autora, 2018.

La fermentación al ser un proceso de mucha importancia influenciada por varios aspectos tales como el pH, temperatura, presión, tiempo de fermentación, su rendimiento puede variar, así en la Figura 50, se aprecia el rendimiento de cada una de las hidrólisis (comportamiento) como también las medias aritméticas de los °Brix iniciales y finales, demostrando mejor rendimiento para la hidrólisis Endógena y Química.

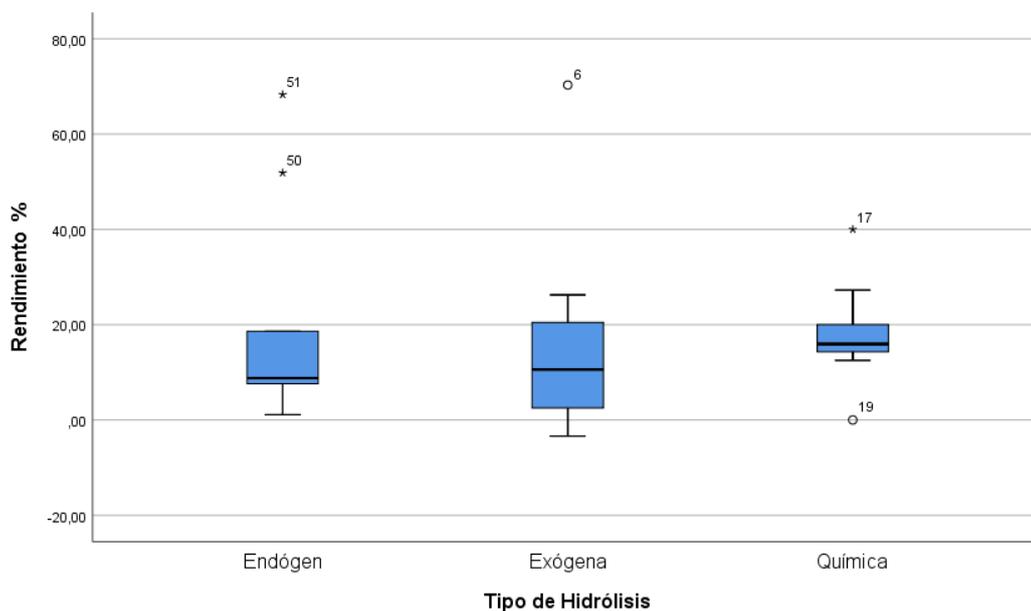


**Figura 50.** Comportamiento de la Fermentación de las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química.

**Fuente:** Autora, 2018.

Posterior a esto, los datos obtenidos son analizados estadísticamente, mediante graficas de barra que representan los datos anómalos como la correlación de los mismos

(Figura 51). Cabe mencionar que los datos estadísticos se pueden apreciar de mejor manera en Anexos (**Apéndice E**)



**Figura 51.** Correlación de datos de la Fermentación en las Hidrólisis Endógena, Exógena y Química.

**Fuente:** Autora, 2018.

### 5.5.2 Análisis de los Grados Alcohólicos.

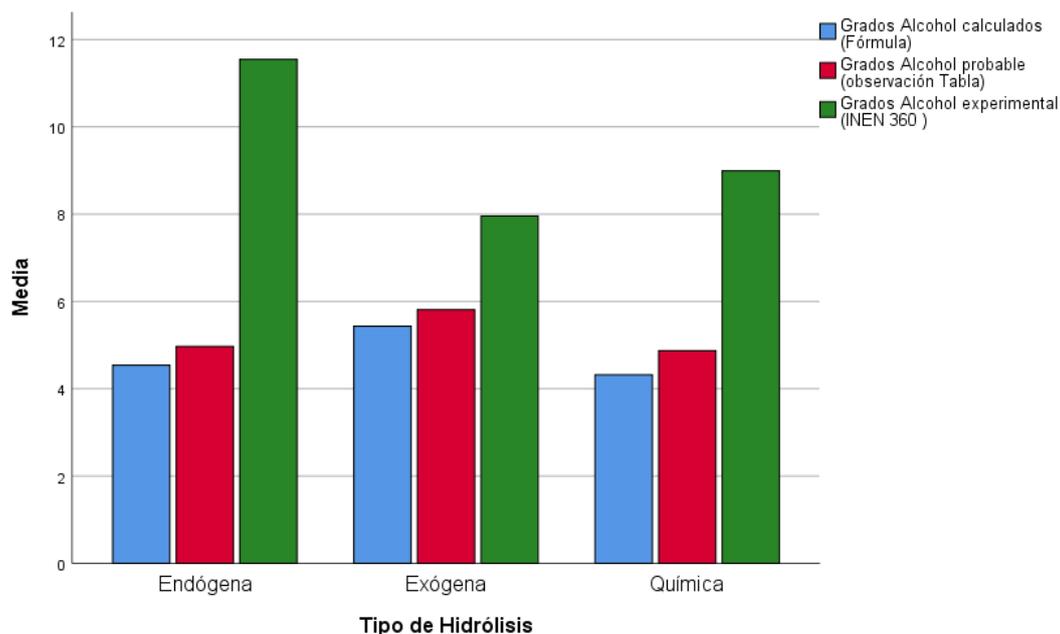
Es de suma importancia conocer el cálculo de los grados alcohólicos obtenidos mediante forma manual (teórica) como también experimental, así en la **Tabla 21** se presenta un resumen de los grados alcohólicos por los diferentes procesos mencionados anteriormente.

**Tabla 21.** Resumen de los Grados Alcohólicos obtenidos a partir de fórmulas teóricas y experimentales

<b>Tipo de Hidrólisis</b>	<b>N° Muestras</b>	<b>Grados Alcohol calculados (Fórmula)</b>	<b>Grados Alcohol probable (Tabla)</b>	<b>Grados Alcohol experimental (INEN 360 )</b>
<b>Endógena</b>	47	3,997	4,4	8,92
	48	3,659	4,15	7,84
	50	5,686	5,83	11,36
	51	2,308	3,17	8,92
	53	1,97	2,93	7,84
	56	2,646	3,42	11,36
	59	6,7	6,79	26,06
	60	7,038	7,11	12,69
	61	6,835	6,92	8,92
	<b>Exógena</b>	1	9,403	9,39
6		1,945	2,93	8,92
10		7,376	7,43	6,22
11		8,051	8,08	8,92
22		4,064	4,44	7,84
25		1,294	2,44	6,71
26		4,065	4,44	10,16
28		7,038	7,11	7,84
29		7,714	7,76	7,84
30		8,187	8,21	6,71
32		-	-	-
35		4,673	4,89	7,83
44		8,389	8,41	7,84
45		1,970	2,93	8,92
46		1,913	2,88	6,71
<b>Química</b>	4	11,43	11,40	14,65
	17	3,321	3,91	8,92
	19	2,308	3,17	6,71
	20	1,632	2,69	7,84
	21	3,321	3,91	18,23
	24	2,984	3,66	6,71
	31	5,078	5,26	6,71
	36	5,686	5,83	6,71
	38	7,376	7,43	6,71
	39	0,057	1,46	6,71

**Fuente:** Autora, 2018.

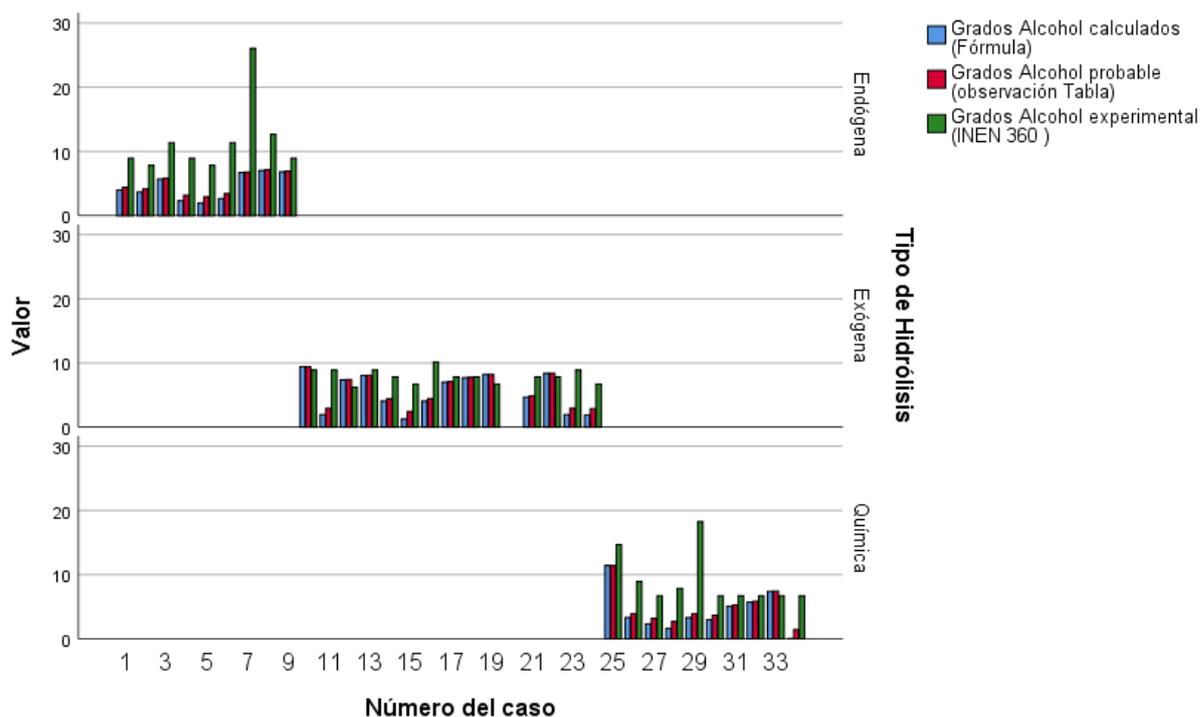
Con la tabla de resumen se puede expresar de mejor manera que existe variación entre lo calculado y lo experimental, así en la Figura 52, se dice que la H. Exógena presenta mayor grado de alcohol si sólo comparamos los alcoholes probables obtenidos mediante fórmula y observación de las Tablas, pero si se compara con un tercer parámetro que son los alcoholes obtenidos experimentalmente, se presenta la H. Endógena.



**Figura 52.** Análisis del alcohol obtenido, mediante fórmulas, manual (tablas) y experimental (laboratorio)

**Fuente:** Autora, 2018.

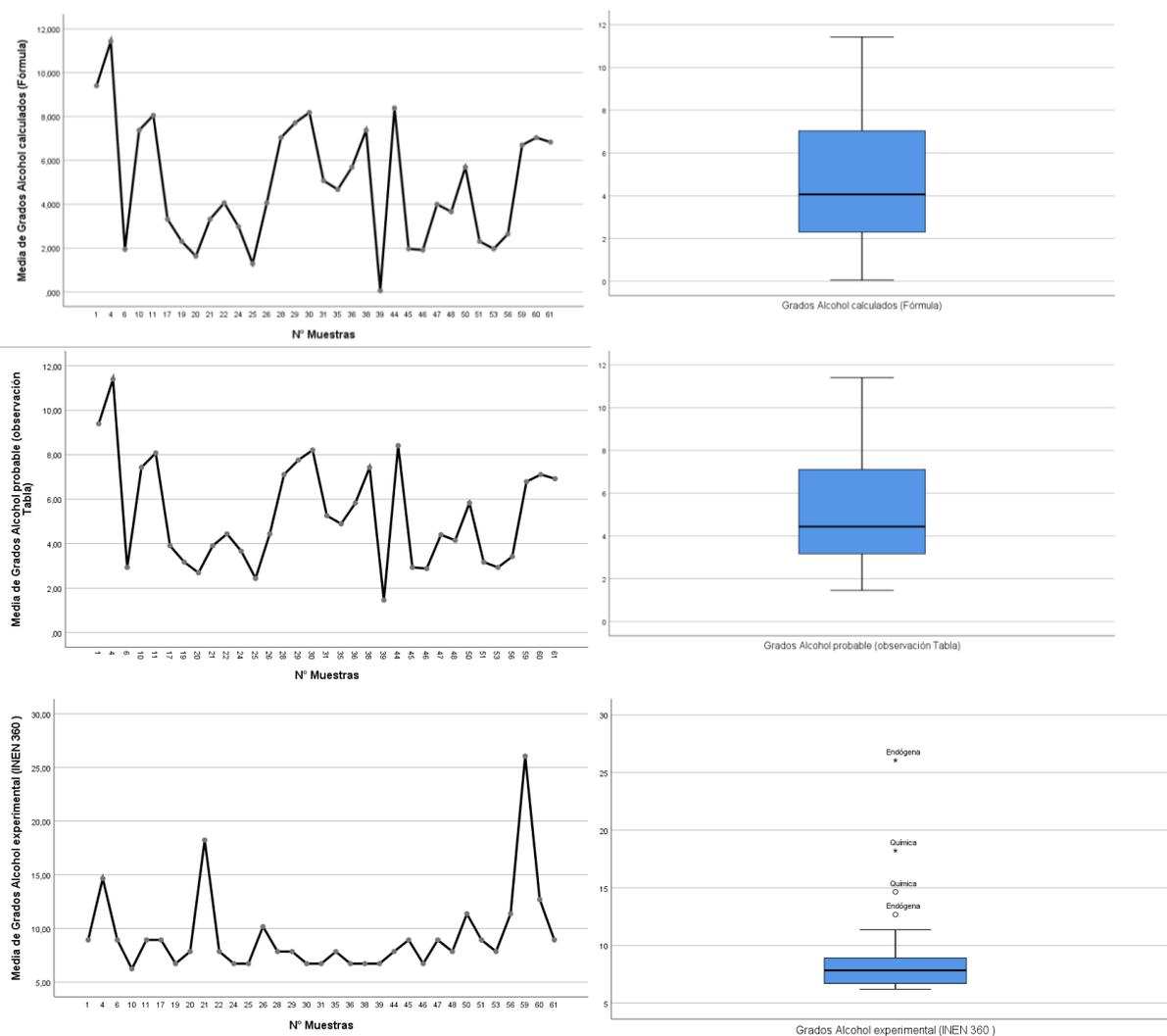
La Figura 53, se observa que en la H. Endógena la muestra la muestra 61 presenta mayor grado de alcohol tanto en cálculo manual como observación de tablas, mientras que la muestra 59 presenta mayor grado de alcohol experimentalmente, así mismo en la H. Exógena presenta mayor grado de alcohol por cálculo manual y observación de tabla, la muestra 1, mientras que la muestra 26 experimentalmente, finalmente, en la H. Química de acuerdo al cálculo manual y tablas la muestra 4 presenta mayor grado de alcohol, y la muestra 21 experimentalmente.



**Figura 53.** Muestras con mayor grado de alcohol tanto obtenido mediante cálculo manual y observación de tablas como experimentalmente.

**Fuente:** Autora, 2018.

Estadísticamente, en la Figura 54, se comparó la similitud de resultados obtenidos de los dos parámetros tanto grados alcohólicos probables (fórmula) y grados alcohólicos por observación de tablas, demostrando que su variabilidad es baja, es decir, la diferencia de dispersión de datos es casi nula (correlación). Mientras que para los grados alcohólicos obtenidos experimentalmente (INEN 360) si existió variación de correlación de datos como falta de simetría en los mismo, es decir, que en lo experimental influye varios factores tales como el pH, temperatura, presión, días de fermentación, entre otros, lo que permite que los resultados difieran a comparación con los grados alcohólicos probables (fórmulas y observación de tablas). Cabe mencionar que los análisis estadísticos se pueden observar en Anexos (*Apéndice F*)



**Figura 54.** Correlación de datos para los grados alcohólicos probables (fórmula y observación de tablas) como grados alcohólicos experimentales (laboratorio \_INEN 360).

**Fuente:** Autora, 2018.

Cabe añadir, que para la confiabilidad de dichos análisis estadísticos se realizó una prueba de comparación de medias (T Student “Muestras Emparejas”) con un margen de error del 7%, dando por validado nuestros datos con un 93% de confiabilidad (Anexo\_ *Apéndice F*), por tanto, el método más fiable es el experimental realizado en el laboratorio bajo Normas INEN 360, el cual toma a consideración parámetros, tales como densidad y temperatura, mientras que por fórmula y observación solamente demuestra resultados teóricos o probables.

### 5.5.3 Calidad del Biocombustible

Entre las etapas finales para la caracterización del biocombustible obtenido es la determinación de su calidad, que se la realizó mediante el cálculo del poder calorífico.

#### 5.5.3.1. Cálculo del Poder Calorífico.

Para obtener los cálculos necesarios, se basó en las fórmulas descritas por Rapin & Jacquard (1997) para el cálculo del calor específico y Kates & Luck (2003) para el poder calorífico, así:

$$Q = c m (\theta_2 - \theta_1)$$

$\theta_2$ : temperatura final °C o °K

$$P = 4185,5 \frac{Q}{m} \text{ J/Kg}$$

**Donde:**

$m$ : es la masa del cuerpo en kilogramos

$Q$ : calor en Julios

$C$ : constante agua en J/mol K

$\theta_1$ : temperatura inicial °C o °K

**Donde:**

$m$ : masa del combustible de prueba en kilogramos

$Q$ : calor en Julios

$4185,5$ : constante de agua destilada KJ/Kg ·K

Así, en la **Tabla 22** se presenta un resumen de los cálculos obtenidos para el Poder Calorífico, de acuerdo a cada una de las muestras dependiendo de su hidrólisis realizada. Ahora bien, este resultado del Poder Calorífico es comparado con los biocombustibles de Muñoz & Roviva (2014) en la que indica que de acuerdo a su valor pueden ser: metanol, etanol, propano y butano (Anexo\_ *Apéndice G*) con un margen de error del 5% y 10% que especifica dicho autor. Cabe mencionar que también se realizó una prueba de cromatografía de gases para comparar dichos valores, los cuales el propanol se asemeja al patrón de isopropanol a una concentración del 99,6% (muestra N° 61). Lamentablemente no se pudo realizar al resto de combustibles por falta de patrones de metanol, etanol y butanol.

Tabla 22. Resumen de valores obtenidos del Poder Calorífico

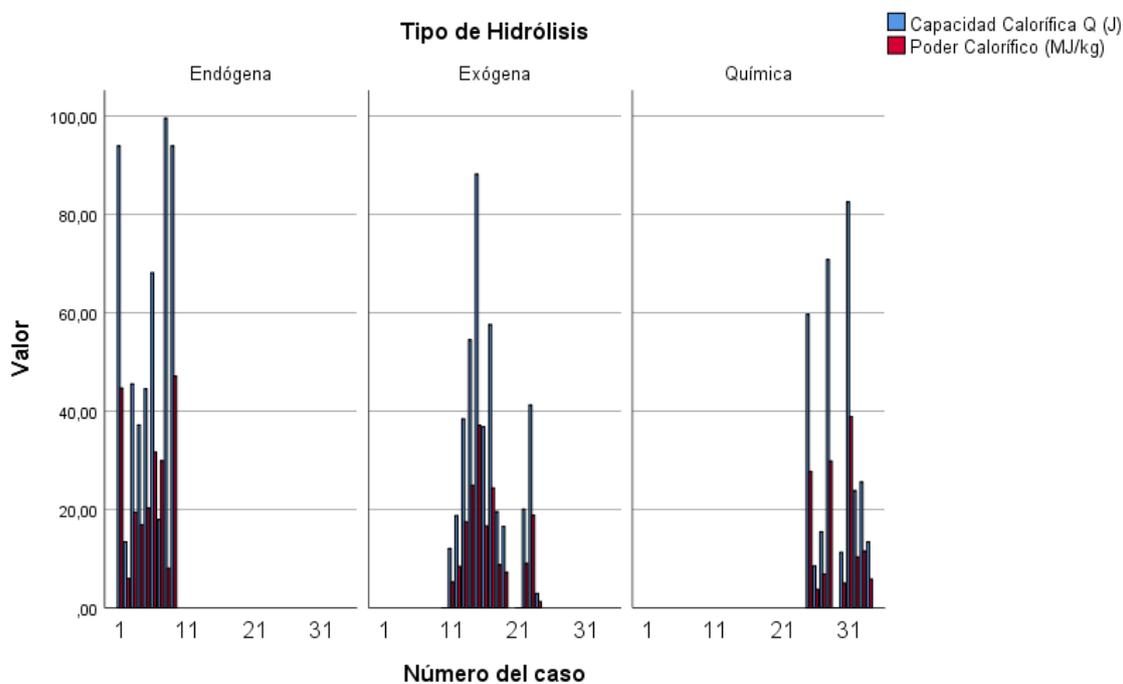
Tipo de Hidrólisis	N° Muestras	Calor Específico (J/kg °C)	Capacidad Calorífica Q (J)	Poder Calorífico (MJ/kg)	Cromatografía Gaseosa Isopropanol 99,6%
Endógena	47	4499,95	93,93	44,68	42,4
	48	4230,72	13,40	5,99	
	50	4040,77	45,54	19,45	
	51	4294,96	37,17	16,88	
	53	4313,68	44,54	20,31	
	56	4390,20	68,15	31,63	
	59	4244,33	17,96	29,92	
	60	4474,53	99,58	8,06	
	61	4499,95	93,93	47,10	
Exógena	1	8479,56	721,83	647,02*	
	6	4146,55	12,06	5,28	
	10	4248,88	18,75	8,42	
	11	4308,98	38,43	17,50	
	22	4327,82	54,50	24,93	
	25	3979,86	88,20	37,11	
	26	4285,67	36,84	16,69	
	28	4004,00	57,60	24,38	
	29	4239,78	19,59	8,78	
	30	4133,57	16,58	7,24	
	32	-	-	-	
	35	0*	0*	0*	
	44	4253,44	20,09	9,03	
	45	4318,38	41,27	18,84	
46	4177,17	2,93	1,29		
Química	4	4399,95	59,69	27,76	
	17	4217,21	8,50	3,79	
	19	4226,21	15,45	6,90	
	20	3987,87	70,83	29,86	
	21	10908,97	878,56	1013,12*	
	24	4212,72	11,30	5,03	
	31	4459,41	82,55	38,91	
	36	4103,58	23,86	10,35	
	38	4267,19	25,62	11,56	
39	4142,21	13,40	5,87		

Nota: \* Valores con masa de muestra muy pequeña para calcular el poder calorífico

Siendo  Metanol  Etanol  Propanol  Butanol

Fuente: Autora, 2018.

En la Figura 55 se analiza la capacidad calorífica de los biocombustibles, dando mejor resultado para la H. Endógena con un 90% (muestra 60), seguida de la H. Exógena con un 85% (muestra 25) y la H. Química con valores menores al 85% (muestra 31).



**Figura 55.** Capacidad Calorífica de los Biocombustibles obtenidos

**Fuente:** Autora, 2018.

La Figura 56 representa el Poder Calorífico de dichos biocombustibles así mismo, siendo mayor entre 40 y 50% para la H. Endógena, seguida de la H. Exógena y Química entre un 30 al 40% aproximadamente.

Ahora bien, como se mencionó anteriormente los cálculos del Poder Calorífico obtenido son comparados con los valores de la Tabla dadas por Muñoz & Roviva (2014), dando como resultado en la Figura 57, dos biocombustibles pertenecientes a metanol con un margen de error del 5% para la muestra 50 (H. Endógena) equivalente a 19,45 MJ/Kg y un margen de error del 10 % para la 45 (H. Exógena) equivalente 18,84 MJ/Kg aproximadamente.

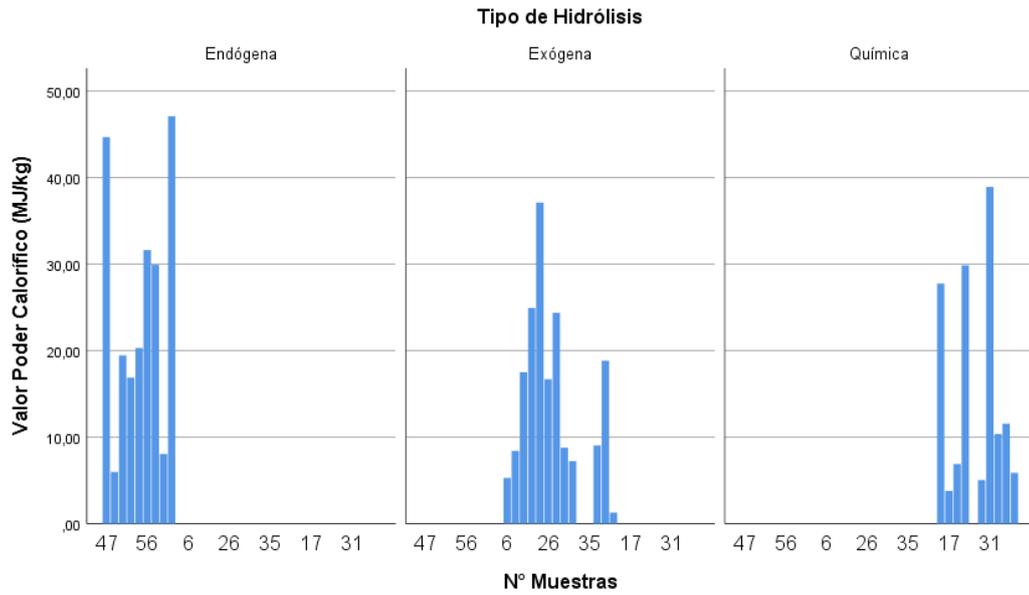


Figura 56. Poder Calorífico de los Biocombustibles obtenidos

Fuente: Autora, 2018.

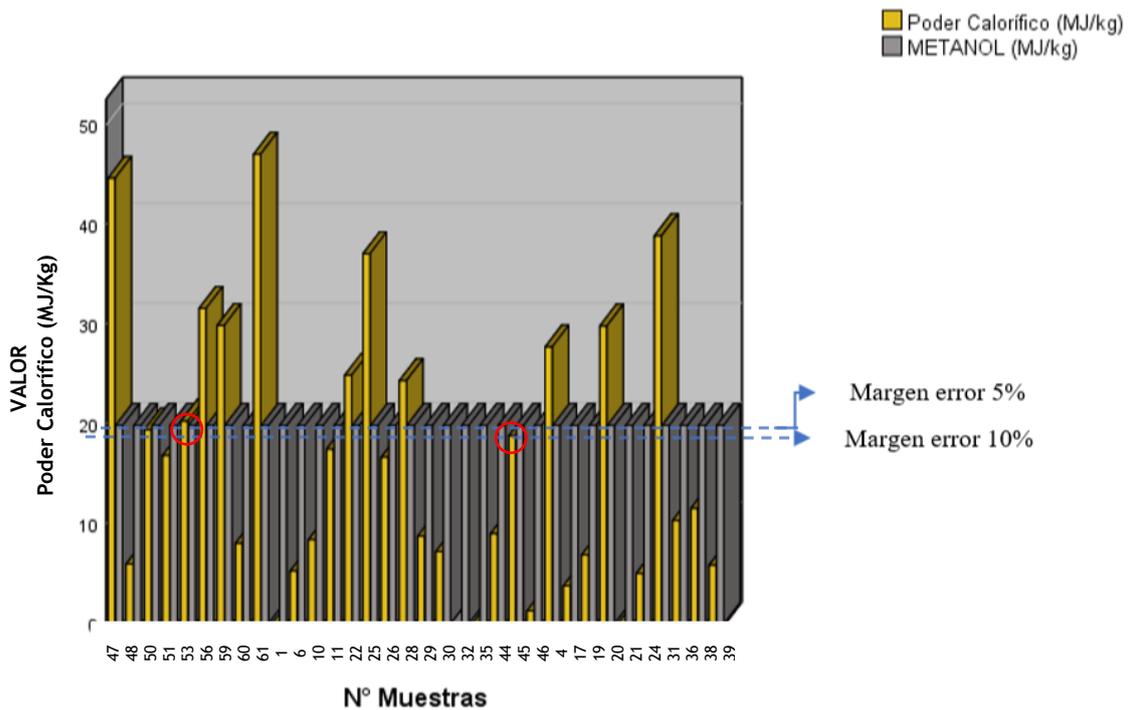
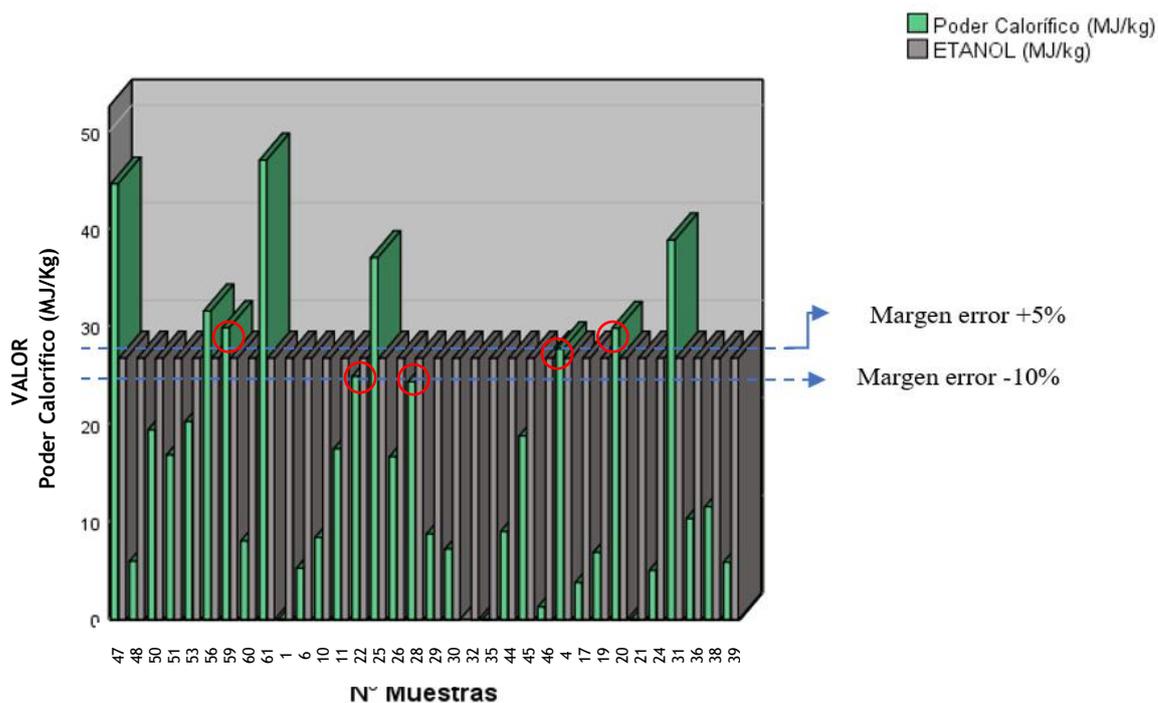


Figura 57. Biocombustibles pertenecientes a Metanol con un margen de error del 5 y 10%

Fuente: Autora, 2018.

Así mismo, en la Figura 58 se observa que para el etanol se obtuvo la muestra 4 (H. Química) con un margen de error de +5% equivalente a 27.76 MJ/Kg, la muestra 59 (H. Endógena) y la muestra 20 (H. Química) con un margen de error de +10% equivalente a 29.92 y 29.86 MJ/Kg aproximadamente, la muestra 22 Y 28 (H. Exógena) equivalente 24,93 y 24,38 MJ/Kg aproximadamente con un margen de error del 5 y 10%.



**Figura 58.** Biocombustibles pertenecientes a Etanol con un margen de error del 5 y 10%

**Fuente:** Autora, 2018.

La Figura 59 se observa que para el propanol se obtuvo la muestra 61 (H. Endógena) con un margen de error del +5% equivalente a 47.10MJ/Kg aproximadamente. Finalmente, la Figura 70 representa el butanol con la muestra 47 (H. Endógena) con un margen de error -5% equivalente a 44.68MJ/Kg aproximadamente.

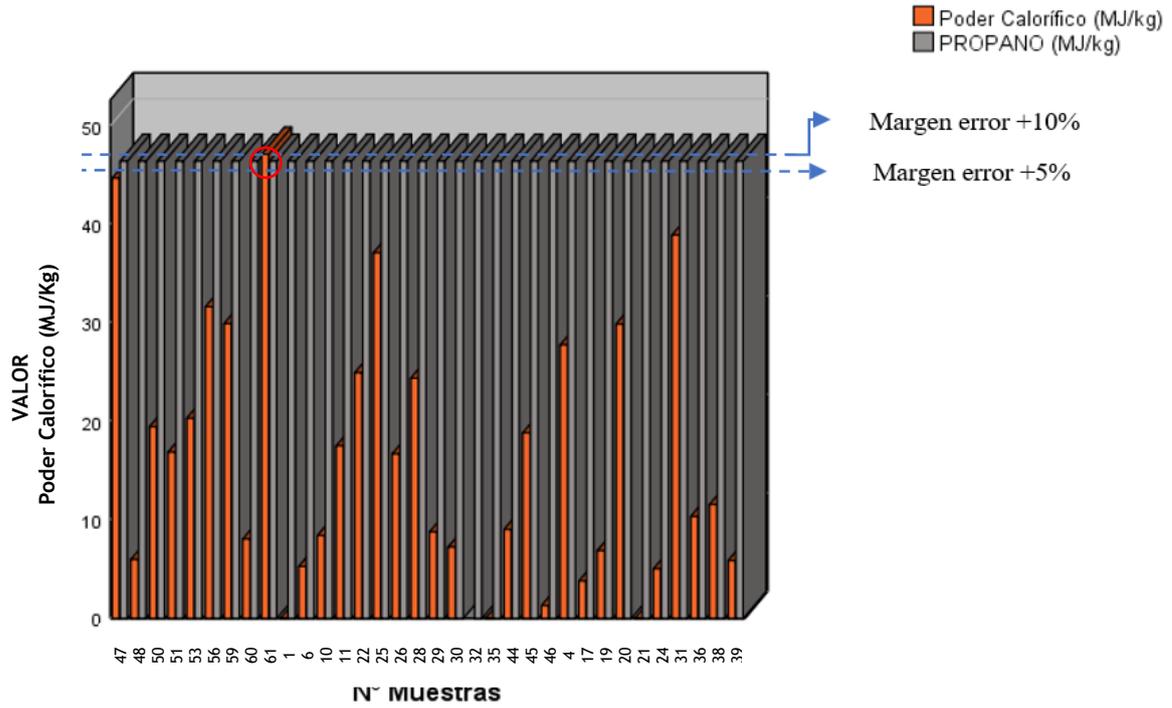


Figura 59. Biocombustibles pertenecientes a Propanol con un margen de error del 5 y 10%

Fuente: Autora, 2018.

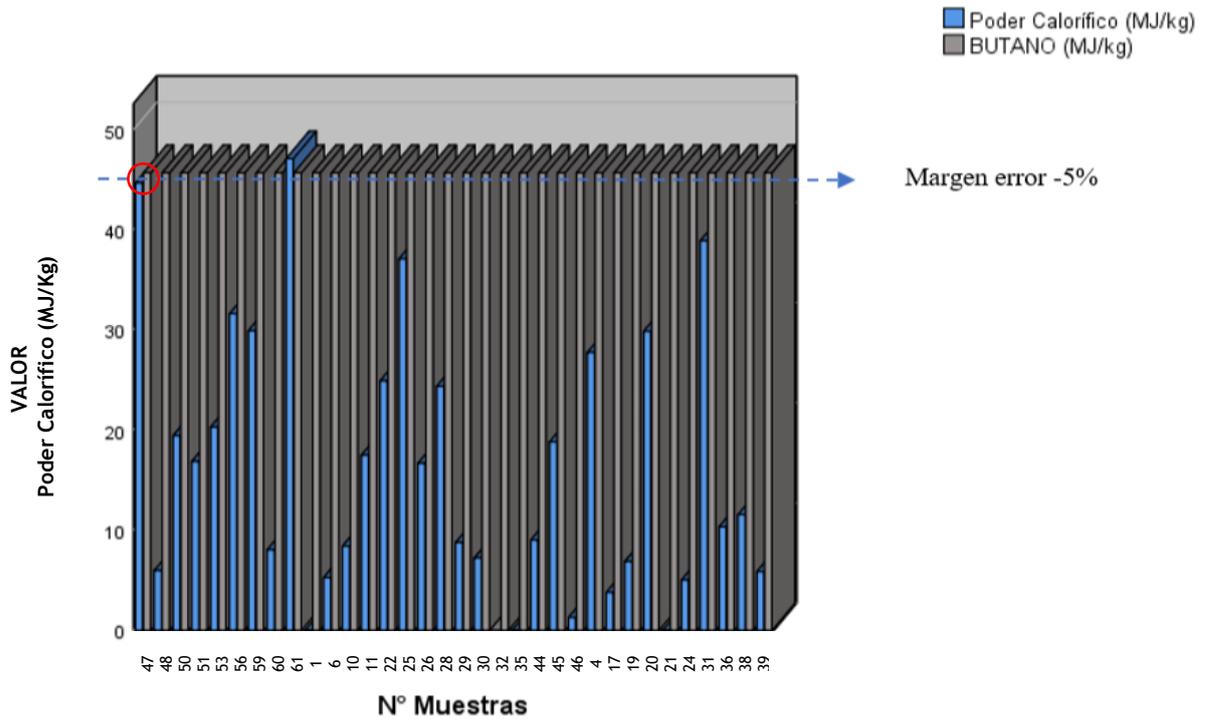
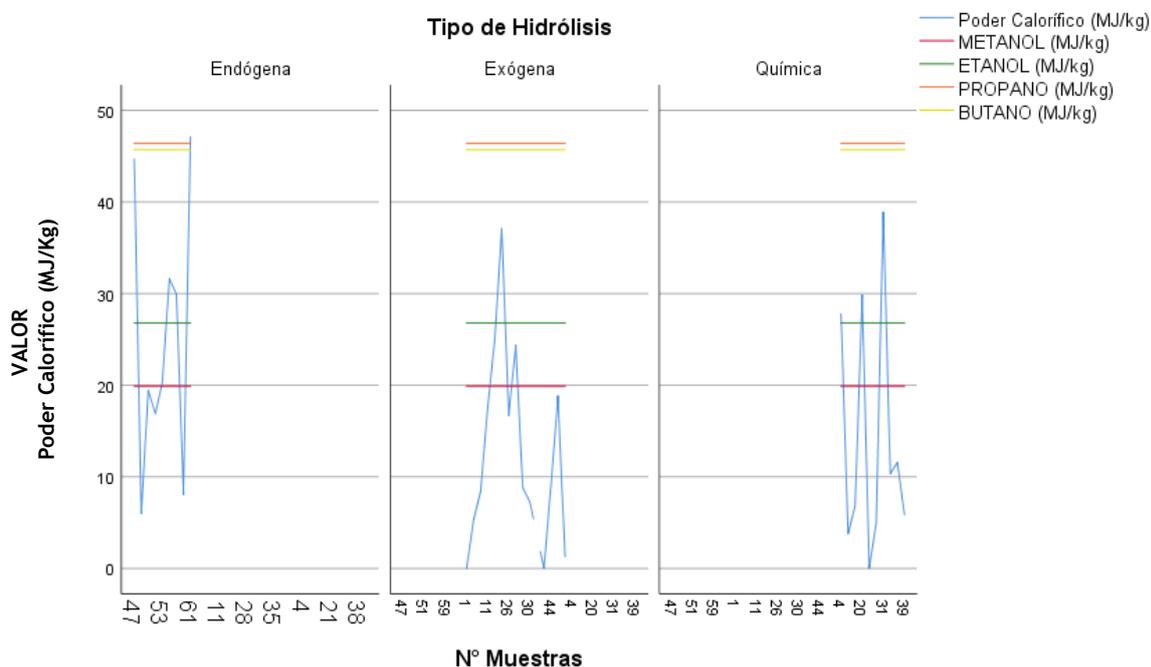


Figura 60. Biocombustibles pertenecientes a Butanol con un margen de error del 5 y 10%

Fuente: Autora, 2018.

Por lo tanto, en la Figura 61, se resume los poderes caloríficos más importantes comparando los 4 biocombustibles analizados, sea metanol, etanol, propano y butano.

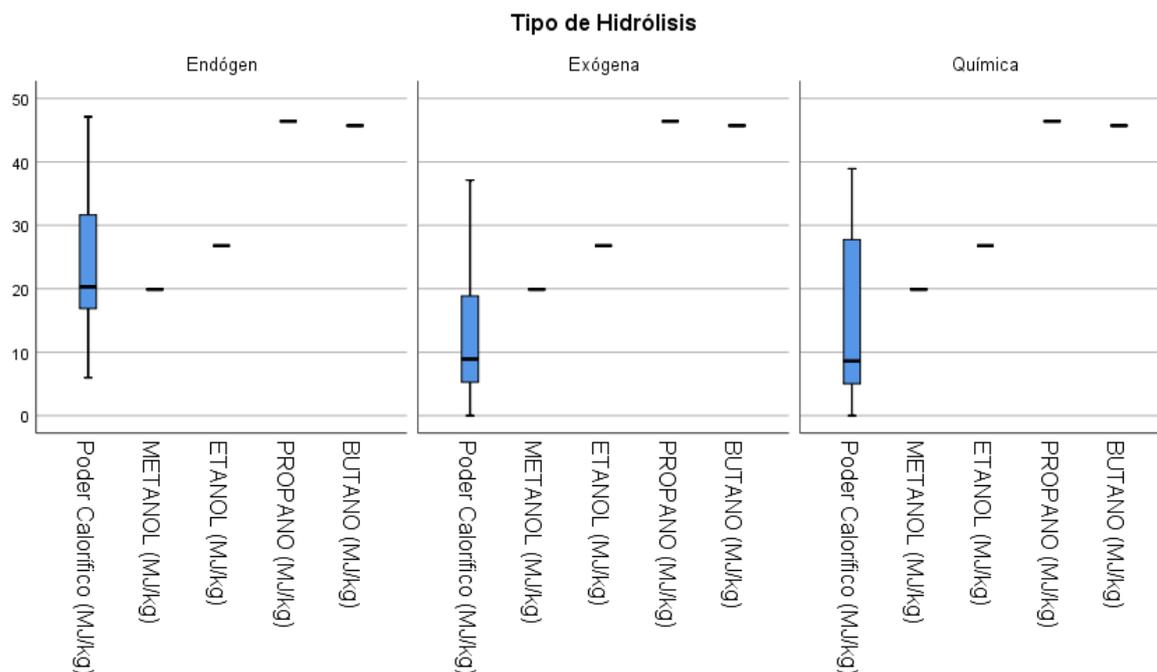


**Figura 61.** Resumen de los biocombustibles analizados

**Fuente:** Autora, 2018.

Estadísticamente, se realizó un análisis de variación de datos como también su simetría y correlación, así, en la Figura 62 se demuestra un resumen con los biocombustibles analizados dependiendo del tipo de hidrólisis, con un margen de error del 5%.

Su simetría es nula para los 3 casos de hidrólisis, pero en cambio su correlación está llevada de varios parámetros no tomados en cuenta, es decir, el autor no especifica otras variables para obtener dichos valores de biocombustibles (Poder Calorífico), en cambio nuestros valores si lo analizan como es el pH, temperatura, presión, entre otros; por lo tanto, su afección se ve reflejada en dicha imagen. El análisis estadístico respectivo para cada una de los biocombustibles se lo puede observar en Anexos (*Apéndice H*)

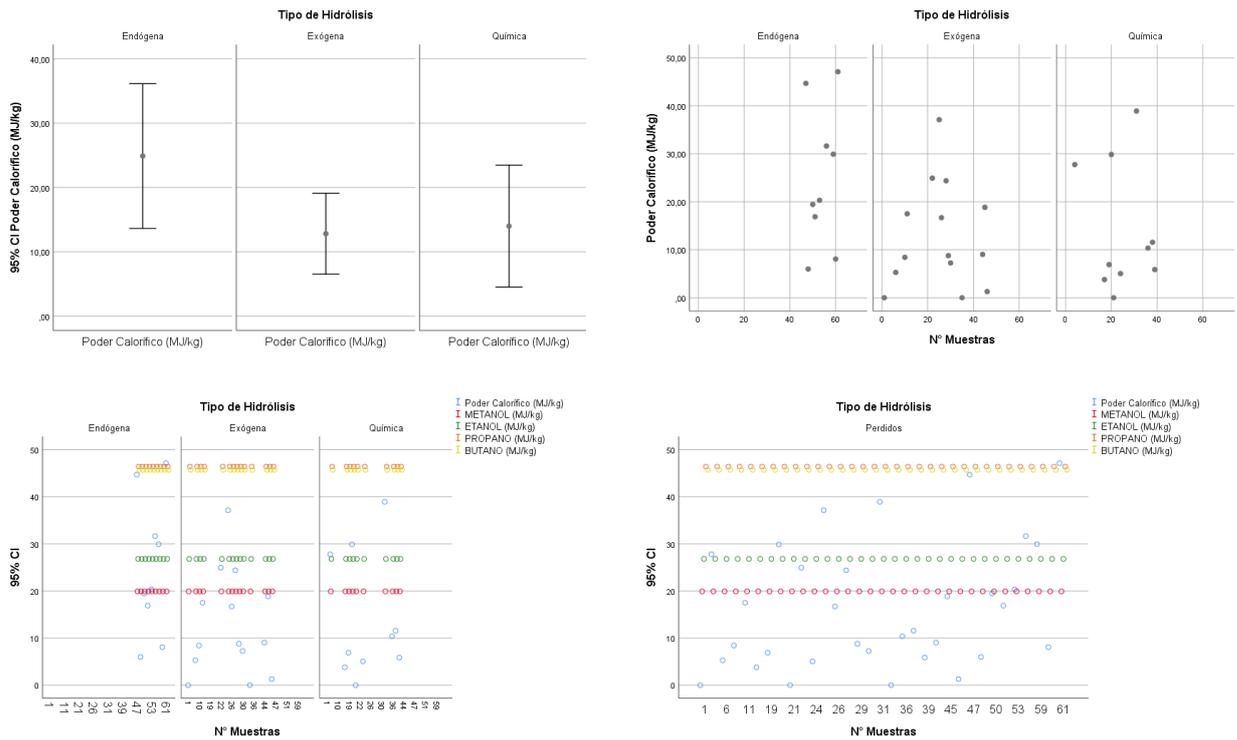


**Figura 62.** Análisis estadístico de los biocombustibles analizados (Poder Calorífico)

**Fuente:** Autora, 2018.

La Figura 63, representa la dispersión de datos de acuerdo a los biocombustibles obtenidos VS los biocombustibles de comparación propuestos por Muñoz & Rovira (2014) con un margen de error del 5%, de acuerdo a cada hidrólisis realizada como también a cada muestra analizada.

Sin embargo, en la **Tabla 23** se resume las muestras independientes de los tipos de hidrólisis las cuales presentan resultado de bioetanol como también características de los mismos, que en total fueron 5 muestras. Cabe mencionar que al inicio del proceso de las hidrólisis se tenía un total de 61 muestras las cuales el bioetanol representa el 1% del total, es decir, que influyeron parámetros de gran importancia en la afección de la muestra tal como el pH, temperatura, tiempo de fermentación, procesos de fermentación, presión, entre otros, por tanto, se realizaron pruebas de cetonas y aldehídos con el fin de comprobar que dichas muestras su transformación de biocombustible en acetaldehído (Reactivo de Tollens), y formación de resinas, se pueden observar en Anexos (*Apéndice I*)



**Figura 63.** Análisis estadístico de dispersión de datos entre los biocombustibles analizados (Poder Calorífico) VS biocombustibles de comparación Muñoz & Rovira (2014)

**Fuente:** Autora, 2018.

**Tabla 23.** Resumen de las muestras de Hidrólisis positivo para Etanol con sus respectivas características.

Tipo Hidrólisis	° N Muestra	Días de Fermentación	Volumen obtenido en 100ml	Densidad gr/ml	Grado Alcohólico	Rendimiento %	Poder Calorífico MJ/Kg	Calidad %
H. Endógena	59	31	11	0,9839	26,06	Hidrólisis: 17,94% Fermentación: 5,80%	29,92	21,86
	22	50	20	0,9976	7,84	Hidrólisis: 40,01% Fermentación: 40%	24,93	18,21
H. Exógena	28	50	16,2	0,9971	7,84	Hidrólisis: 88,09% Fermentación: 15,63%	24,38	17,81
	4	50	12,8	0,9906	14,65	Hidrólisis: 74,66% Fermentación: 27,27%	27,76	20,28
H. Química	20	41	7	0,9979	7,84	Hidrólisis: 74,67% Fermentación: 15,38%	29,86	21,82

**Fuente:** Autora, 2018.

No obstante, para validación de estos biocombustibles obtenidos, se describe a continuación en la **Tabla 24** las razones de dichos resultados, es decir, los factores que pudieron afectar a la levadura, y por tanto los resultados obtenidos, así:

**Tabla 24.** Factores que afectan a la Levadura *Saccharomyces cerevisiae* en la Fermentación Alcohólica.

<b>Factores</b>	<b>Causas</b>	<b>Respuesta</b>
<b>Materia Prima</b>	Obtenida por diferentes métodos de hidrólisis	La diferencia fundamental está en el contenido de sacarosa (glucosa y fructosa)
<b>Almacenamiento de la Materia Prima</b>	El jugo clarificado obtenido de las hidrólisis puede estar expuesto a contaminación bacteriana debido a que: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Poseen baja presión osmótica</li> <li>- Baja viscosidad</li> <li>- Alta concentración de azúcares</li> </ul>	Estas bacterias llegan al fermentador y compiten con la levadura por los azúcares y los nutrientes. El tiempo de duplicación de las bacterias está alrededor de 20 minutos, mientras que el de la levadura está entre dos y tres horas. (Gallego, 2007).
<b>Azúcares Fermentables</b>	Considerado a la sacarosa, compuesta de una molécula de glucosa y una de fructosa	La concentración de azúcares debe ser alta para mayor efectividad, tomando consideración en el límite máximo de inhibición de la levadura (aumento de la presión osmótica del medio de cultivo)
<b>Contenido de Materia Orgánica</b>	Representada por: proteínas, almidones, ácidos, azúcares no fermentables, xilosa, arabinosa y polímeros	Los azúcares no fermentables son: pentosas, xilosas y sólidos. Las concentraciones de dichos azúcares dependerán de la variedad de banano.
<b>Contenido de Materia Inorgánica y cenizas</b>	Las sales disueltas afectan la presión osmótica del medio de cultivo y por lo tanto también a la levadura	Los elementos que pertenecen a la materia inorgánica son: calcio, potasio, sílice, hierro, manganeso, óxidos, nitrados, compuestos clorados, entre otros.
<b>Contenido de sólidos sedimentables</b>	Son: sulfatos de calcio y magnesio, proteínas y células muertas	Producen problemas de precipitación de lodos, incluso incrustaciones en los equipos de destilación
<b>pH</b>	Debe mantenerse entre 4.0 y 4.7 para una óptima actividad	Su objetivo es reducir la presencia de actividad microbiana de bacterias indeseables
<b>Temperatura</b>	Debe mantenerse entre los 30 y 35°C aproximadamente	Es una reacción exotérmica (generación de alcohol). Si aumente la temperatura, la actividad de la fermentación será más lenta y producirá

		bacterias mesófilas indeseables
<b>Acidez Volátil Orgánica</b>	Se denomina a la presencia de ácido acético, propiónico, valérico, isovalérico, isobutírico, y butírico.	Estos ácidos son tóxicos, disminuyen su actividad y causan la muerte para la levadura Su presencia causa incremento del tiempo de fermentación (disminución de la eficiencia de la levadura)
<b>Contenido de Bacterias</b>	Denominado al número de unidades formadoras de colonias (UFC) por mL	Genera reacciones colaterales con el azúcar. El crecimiento de las bacterias es mucho más rápido que la levadura, compitiendo por el azúcar. Disminuyen el rendimiento del alcohol.
<b>Sodio</b>	Utilizado en la limpieza de los equipos	Los residuos de sodio pueden causar cambio de morfología en la levadura (más ovalada de lo normal), y cambios genéticos.
<b>Relación Carbono/Nitrógeno</b>	El nitrógeno como el carbono son necesarios para el desarrollo de proteínas constituyentes a las células, es decir, de la levadura.	El nitrógeno es aplicado al medio de cultivo como urea cuando el etanol obtenido es para consumo humano, y como Difosfato de Amonio (DAP) para uso industrial
<b>Tiempo de Retención</b>	Es el tiempo de permanencia que tiene una partícula en un proceso	Su incremento puede provocar una población bacteriana y por lo tanto acidez volátil. Si el tiempo de retención es muy bajo en cambio se produce una incompleta reacción de los azúcares, disminuyendo la eficiencia de la fermentación.
<b>Agitador en el Fermentador</b>	Mejora el intercambio de nutrientes entre el medio y la levadura	Produce sedimentación.
<b>Concentración de Etanol</b>	Dependerá del tipo de levadura	El etanol afecta negativamente la pared celular y las enzimas intracelulares de la levadura
<b>Tipo de Contaminantes en la Fermentación Alcohólica</b>	Produce pérdida de concentración de etanol, incremento de ácidos orgánicos volátiles, muerte de la levadura e incremento de la población bacteriana	Entre los contaminantes del proceso fermentativos tenemos: * <u>Bacterias Gram Positivas</u> : células en forma de cocos y bacilos, entre ellos tenemos: <i>Lactobacillus</i> , <i>Pedococcus</i> y <i>Leuconostoc</i> . * <u>Bacterias Gram Negativas</u> : en forma de bacilos, oxidan el etanol en ácido acético, entre ellos tenemos: <i>Acetobacter</i> , <i>Gluconobacter</i> y <i>Zymomonas</i> * <u>Bactrias Lácticas</u> : desarrolladas en ausencia de oxígeno (anaerobiosis), se manifiestan en la transformación de materia prima, ácido láctico, etanol y CO <sub>2</sub> .

**Fuente:** (Acevedo, 2015)

Por tanto, la concentración de contaminantes bacterianos se ve reflejado en el proceso de obtención de alcoholes, afectando la eficiencia de la fermentación (Figura 64), por ejemplo, el desarrollo de los *Lactobacillus* sp que producen ácido láctico o la presencia de bacterias mesófilas. (Gallego, 2007)

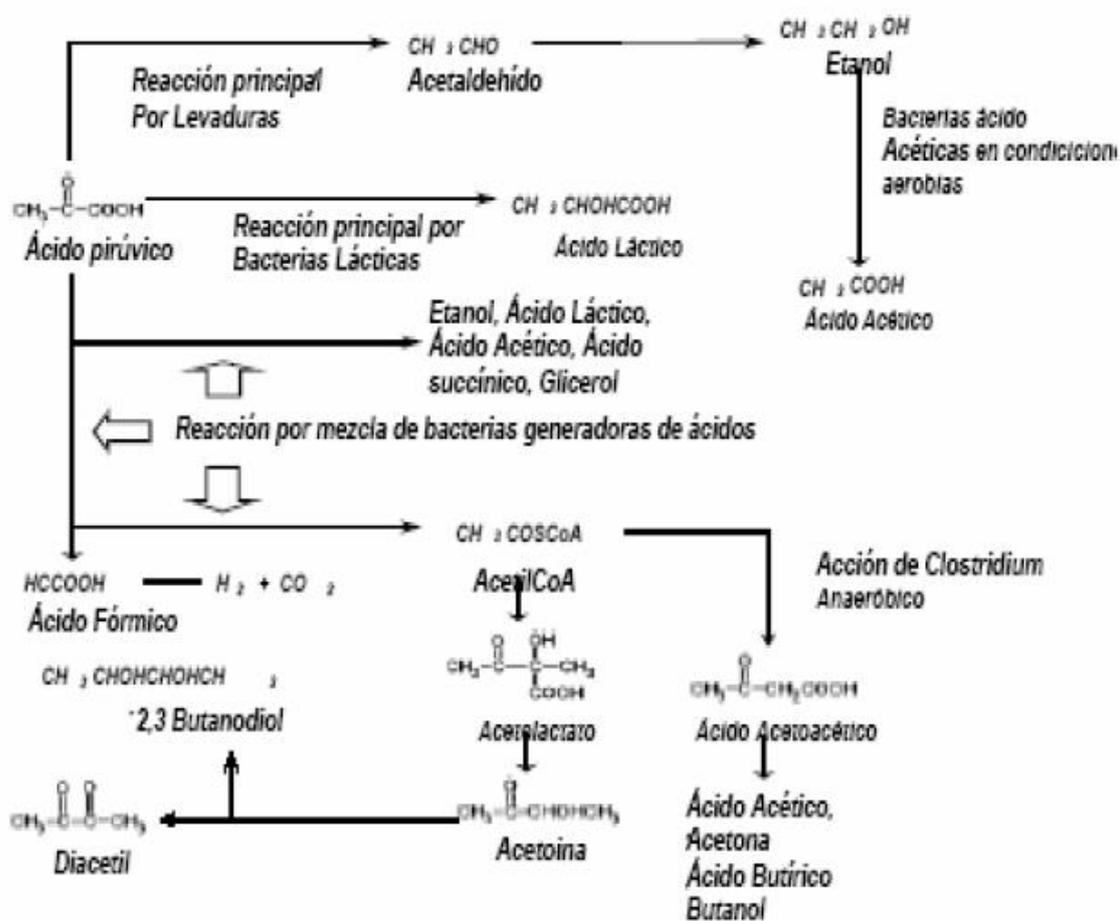


Figura 64. Reacciones metabólicas producidas por bacterias que afectan la Fermentación Alcohólica.

Fuente: (Gallego, 2007)

Por último, se resume, que el metabolismo de metanol obtenido nace como componente natural en la mayoría de procesos alcohólicos, por originarse en procesos de hidrólisis de materias bajo la acción de las peptasa existente en los jugos de los diversos frutos y que su porcentaje de concentración dependerá del origen del fruto y el tiempo de fermentación (Bertrand & Silberstein, 1949); en cuanto a los alcoholes superiores,

denominados a los alcoholes con peso molecular mayor al etanol (butanol y propanol, entre otros), su presencia es debido a fermentaciones secundarias y procedencia de los aminoácidos. Por otra parte, el estudio de cada alcohol en particular presenta serias dificultades debido a la falta de reacciones específicas, dando como solución métodos de cromatografía. (Genevois, 1962).

## 6. CAPITULO V

### CONCLUSIONES

- Los procesos de hidrólisis se realizaron de tres formas: Endógena, Exógena y Química, las cuales se aplicaron diferentes concentraciones de ácido sulfúrico (30, 35, 60 y 80%) como también enzimas celulasa Celozise y reactivos de carbonato de calcio, obteniendo un total de 61 muestras, de las cuales 33 marcaron positivas de acuerdo a la prueba de Fehling y, solamente 5 presentaron bioetanol (4 muestras de la H. Exógena y Química y solamente 1 muestra para la H. Endógena), por tanto se consideró factores que pudieron afectar a la levadura en la fermentación, que se pueden observar en la Tabla 24; como también la aceptación de hipótesis nula para la H. Exógena y Química (los valores obtenidos no son significativos y que varían de acuerdo a su concentración).
- Para la fermentación se usó la levadura *Saccharomyces cerevisiae* con tres formas de activación: cultivo Agar Dextrosa (PDA), Agua destilada y azúcar y Agua Peptona, aplicada a cada una de las hidrólisis, presentando mayor eficiencia para los fermentos activados con agua destilada y PDA, mientras que para el Agua Peptona se tuvo que reactivar la levadura en la mayoría de muestras, concluyendo que la levadura es muy sensible a medios peptónicos acoplándose de mejor manera

en cultivos Agar Dextrosa, cabe mencionar que el tiempo de crecimiento va a depender de varios factores incluyendo los propios cultivos, así, por ejemplo en el Agar Dextrosa tarda alrededor de 2 a 3 días aproximadamente su crecimiento, mientras que para el Agua Destilada y Azúcar varía entre 1 y 2 días.

- El volumen obtenido para cada una de las muestras fueron inferiores a 40ml en un sustrato de 100ml, por lo tanto: 20ml es la mayor cantidad de bioetanol obtenido de la H. Exógena (muestra 22), 11ml para la H. Endógena (muestra 59) y 12,8ml para la H. Química (muestra 4), que se puede observar claramente en la Tabla 23.
- El rendimiento del bioetanol es analizado, mediante 2 parámetros:
  - Hidrólisis: se obtuvo mejor rendimiento para la muestra 28 con un 88,09% (H. Exógena), se puede observar en la Figura 44
  - Fermentación: el mejor rendimiento se presentó en la muestra 22 alcanzando un 40%, esta muestra contiene un 35% de concentración de ácido sulfúrico en cultivo PDA, estos cálculos se los puede observar en la Figura 53.
- Los biocombustibles obtenidos son analizados mediante el cálculo del poder calorífico y comparado con tablas, las cuales indican un margen de error del 5%, encontrando un total de 4 biocombustibles: metanol, etanol, propanol y butanol. De entre ellos en la H. Endógena se encontró una muestra con metanol (N° 50), una muestra con bioetanol (N° 59), una muestra con propano (N° 61) y una muestra con butanol (N° 47), en la H. Exógena se encontró dos muestras con etanol (N° 22 y 28) y una muestra con metanol (N° 45) y finalmente la H. Química se encontró solamente dos muestras con etanol (N° 4 y 20), estos resultados pueden observarse en la Tabla 22 y Figuras de la 57 a la 60

- La calidad del bioetanol es analizada mediante el poder calorífico que tiene cada una de las muestras de bioetanol, para eso se inició con el cálculo de la capacidad calorífica obtenida experimentalmente mediante un calorímetro, luego la aplicación de fórmulas de cálculo del poder calorífico, determinándose un total de 5 muestras positivas para etanol: una para la H. Endógena (muestra 59), dos muestras para la H. Exógena (muestra 22 y 28) y dos para la H. Química (muestra 4 y 20), dando como resultado 21,86% para H. Endógena, seguida de un 36,03% de la H. Química y posteriormente un 57,88% de la H. Exógena.
- Finalmente, al realizar varios tipos de hidrólisis se dedujo una optimización de procesos de obtención de bioetanol, demostrando mejor resultado a una realización de Hidrólisis Química con concentraciones entre 60 y 80% de ácido sulfúrico (rendimiento del 74% y una calidad del 57,88%). Cabe mencionar que no se utilizó un proceso estandarizado de obtención de bioetanol, pero se tomó como línea base el documento publicado por Guevara (2011) denominado, “Obtención de Etanol y Biogás a partir del Banano de Rechazo”.

## **RECOMENDACIONES**

- Es recomendable realizar previamente procesos de activación de la levadura, de tal manera ahorrar tiempo durante la hidrólisis para la fermentación.
- Es aconsejable medir diariamente los grados Brix (°Brix) ya que su objetivo es estabilizar los valores obtenidos durante la fermentación con el fin de obtener una fermentación eficiente y una destilación óptima del bioetanol.
- Se debe considerar que la temperatura de destilación no debe sobrepasar los 78°C, donde el bioetanol está en su punto de ebullición, ya que si fuera mayor se estaría destilando trazas de otros componentes no necesarios.

- Se recomienda que los biocombustibles obtenidos deban ser almacenados en refrigeración a una temperatura de 11°C, ya que si la temperatura fuera menor podría llevar a un estado de congelación y perder dichos componentes que caracterizan al biocombustible.
- Es necesario proponer métodos de identificación para los alcoholes obtenidos ya sea metanol, etanol, propanol o butanol, con el fin de verificar correctamente los biocombustibles obtenidos.
- Por consiguiente, es importante realizar procesos de cromatografía de gases para cada uno de los biocombustibles comparando con ejemplares (estándares) para determinar la confiabilidad de los mismos, así como también determinar parámetros tales como el punto de inflamación, de ignición, viscosidad, entre otros.
- Es recomendable realizar procesos químicos, biológicos, entre otros, que determinen los tipos de microorganismos presentes en la Fermentación Alcohólica con el fin de eliminar cualquier causa no deseada y obtener dicho bioetanol.
- En cuanto al uso de los equipos y materiales es aconsejable que cumplan con la normativa, de acuerdo a la metodología, para evitar datos erróneos o anómalos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, A. (2015). Informe Técnico. *Producción de Alcohol Carburante*.
- Alfaro, I., & Arrieta, R. (2003). La Levadura . En A. Hernández, *Microbiología Industrial* (pág. 178). Universidad Estatal a Distancia .
- Álvarez, J., Callejón, I., Forns, S., Balsells, D., Bonet, O., Carrera, X., . . . Sánchez, D. (2005). Compuestos oxigenados orgánicos. Consideraciones generales sobre el empleo de alcoholes y éteres. En *Motores Alternativos de Combustión Interna* (págs. 322-330). Barcelona: UPC.
- Angiolani, A. (1960). Química Aplicada e Industrial. Poder Calorífico de los Combustibles. En A. Angiolani, *Introducción a la Química Industrial. Fundamentos químicos y tecnológicos* (págs. 377-379). Santiago de Chile : Andrés Bello.
- Arias, R. (s.f.). *Concepto y Utilización de los Valores Umbrales Límite (TLV's)*. Obtenido de Principales Riesgos Químicos en la Industria Automotriz. : [http://www.stps.gob.mx/dgift\\_stps/pdf/valores%20umbrales.pdf](http://www.stps.gob.mx/dgift_stps/pdf/valores%20umbrales.pdf)
- ATAGO. (s.f.). *Medical Expo*. Obtenido de <http://www.medicaexpo.es/prod/atago/product-79784-798487.html>
- Ayerve, K., & Rosado, M. (Agosto de 2012). Análisis de Factibilidad de una Planta procesadora de Harina de Banano para comunicar e implementar el uso del banano verde de rechazo. Guayaquil, Guayas, Ecuador.
- Barquero, M. (2006). Principios y Aplicaciones de la Cromatografía de Gases. Costa Rica : UCR.
- Bertrand, G., & Silberstein, L. (1949). *Compt. Rend.*
- Bibián L, R. R. (s.f.). *SCRIBD*. Obtenido de Determinación de Azúcares Reductores por la técnica de Miller (DNS): <https://es.scribd.com/doc/20375393/Monografia-Produccion-de-Bioetanol-XV-Curso-de-Titulacion>
- Biomasa en el Ecuador*. (s.f.). Obtenido de <http://www.eoi.es/blogs/merme/biomasa-en-el-ecuador/>
- Bisio, A. (2016). La Levadura . En *El Pan: como hacer en casa pan, bollos, tortas, pizzas, huesitos, pan de aceite, etc.* USA: Vecchi, S.A.U.
- Bohorquéz, L., & Losada, L. (2004). Estudio de la actividad enzimática celulolítica de la etapa termófila de una fermentación en esta sólido, realizada a partir de residuos generados en el procesamiento industrial de papa. Universidad de la Sabana.
- Borrás, E. (1987). Gas Natural: Características, distribución y aplicaciones industriales. Barcelona: Editores Técnicos Asociados, S.A.
- Burschel, H., Hernández, A., & Lobos, M. (2003). Eficiencia del proceso de combustión de leña. En *Leña. Una fuente energía renovable para Chile* (págs. 70-80). Santiago de Chile: Editorial Universitaria: Bosque Nativo.
- Carriazo, K., & Tarras, P. (25 de Junio de 2012). *Estudio de Factibilidad para una planta de bioetanol a partir del aprovechamiento de cáscaras de platano en la empresa Colobian Biofuel S.A.S.* Obtenido de Univesidad de Cartagena: <http://190.242.62.234:8080/jspui/bitstream/11227/1293/1/378-%20TTG%20-%20ESTUDIO%20DE%20FACTIBILIDAD%20PARA%20UNA%20PLANTA%20DE%20BIOETANOL%20A%20PARTIR%20DEL%20APROVECHAMIENDO%20DE%20CASCARAS%20DE%20PLATANO%20EN%20LA%20EMPRESA%20COLOMBIAN%20BIOFUEL%20S.A>
- Cuji, P. (8 de Junio de 2017). Aprovechamiento energético frente a seguridad alimentaria. *Diario El Telégrafo*.
- Dulanto, J. (16 de Abril de 2014). *Experiencias en el manejo agronómico del cultivo del banano orgánico de exportación en en el Valle del Chira - Sullana a nivel de pequeños productores*. Obtenido de SlideShare: <https://es.slideshare.net/inveracerosac3/manejo-de-banano-orgnico-en-la-zona-de-piura>
- Escalante, J., & Fuentes, H. (Septiembre de 2013). Universidad de Piura. *Estudio Experimental de Obtención de Bioetanol a partir de Residuos Agrícolas de Banano Orgánico en Piura* . Piura, Perú: Programa Académico de Ingeniería Industrial y de Sistemas .

- Fagiani, J., & Tapia, C. (s.f.). *Estación Experimental de cultivos experimentales Yutu-Jujuy*. Obtenido de INTA: [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-cultivo\\_del\\_banano.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-cultivo_del_banano.pdf)
- Fengel, D., & Wegener, G. (1984). *Wood: Chemistry, ultrastructure, reactions*. Walter de Gruyter. Berlin.
- Funez, J. (2009). Ingeniería Genética. En *Clonación de híbridos: en busca del banano perfecto* (págs. 15-16). El Cid Editor.
- Gallego, C. (2007). Influencia de la Acidéz Volatil en el proceso de Fermentación de la Planta de Alcohol del Ingeniero Risaralda S.A. . Pereira.
- Genevois, L. (1962). *Química Analítica*. París.
- Gracia, C. (s.f.). *Biocombustibles: energía o alimento?* Obtenido de [http://www.ub.edu/ecologia/carlos.gracia/PublicacionesPDF/Cap%C3%ADtulo%204\\_Bioetanol.pdf](http://www.ub.edu/ecologia/carlos.gracia/PublicacionesPDF/Cap%C3%ADtulo%204_Bioetanol.pdf)
- Guerra, M., Mallén, W., Struck, G., Varela, V., & Zitlalpopoca, S. (2008). *Destilación Simple*. Médico D.F., México: Universidad Iberoamericana.
- Guevara, C., Arenas, H., & Mejía, A. P. (3 de Noviembre de 2011). *Obtención de Etanol y Biogás a Partir de Banano de Rechazo*. Medellín, Colombia.
- INEN 360, N. (Abril de 1978). Norma Técnica Ecuatoria. Bebidas Alcohólicas. Determinación del Grado Alcohólico en Vinos. *Instituto Ecuatoriano de Normalización*. Quito, Ecuador.
- Inga, A. R. (21 de marzo de 2009). Producción de Bioetanol. *Producción de Bioetanol*, 45. Lambayeque: Universidad Nacional "Pedro Ruiz Gallo".
- Jover, A., & García, J. (2004). Bloque Temático VII. Operaciones Básicas en el Laboratorio de Farmacia. En *Manual del Auxiliar de Farmacia. Módulo II* (págs. 47-48). España: MAD.
- Karimi K., K. S. (2006). Conversion of rice straw to sugars by dilute-acid hydrolysis. En *Biomass and Bioenergy* (págs. 247-253).
- Kates, E., & Luck, W. (2003). Calor y Combustión. Química y Calores de la combustión. En *Motores Diesel y de gas de alta compresión*. (págs. 182-190). Barcelona: Reverté, S.A.
- Krishna, S., Reddy, J., & Chowdary, G. (2001). Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic wastes to ethanol using a thermotolerant yeas. En *Bioresource Technology* (págs. 193-196).
- Laureano, P., Teymouri, F., Alizadeh, H., & Dale, B. (2005). Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology*.
- Levitt, B. (1979). Propiedades de los líquidos. En *Química Física. Práctica de Findlay* (págs. 81-87). Londres: Reverté, S.A.
- Lluch, J. (2008). Combustibles de automoción. En J. Lluch Urpí, *Tecnología y Margen de Refino del Petróleo* (pág. 103). Madrid: Días de Santos, S.A.
- Lorén, J. M. (25 de Octubre de 2011). Reactivo de Fehling. *Epónimos Científicos*. Valencia, Universidad Cardenal Herrera.
- Macarulla, J., & Goñi, F. (1994). Vías Metabólicas Degradativas. En *Bioquímica Humana* (pág. 229). Barcelona: Reverté, S.A.
- Malagón, M. (2009). Obtención de Etanol a partir de Brócoli y Cáscara de Arveja empleando la Enzima Multifect 720 de carácter básico a nivel de Laboratorio. Armenia, Bogotá, Colombia .
- Margossian, L. (1988). Ethylene-regulated Expression of a Tomato Fruit Ripening Gene Encoding a Proteinase Inhibitor I with a Glutamic Residue at the Reactive Site. USA: Proc. Natl. Acad. Sci. .
- Marín, R. M. (Agosto de 2007). Caracterización y Expresión Recombinante de una celulasa de origen antártico. Santiago de Chile , Chile.
- Martínez, V. Y. (2017). Procesamiento de los Raquis . *Estudio de la Degradabilidad del PET (Polietilen Tereftalato) dosificado con un biopolimero de la fibra de banano*. Cuenca, Azuay, Ecuador.
- Mendez, C. (Mayo de 2012). *Model de Transformación N°1: Papel reciclado y desechos orgánicos*. Obtenido de Universidad de Costa Rica. Vicerrectoria de Accion Social: [http://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/772/modelo\\_1\\_reciclar\\_v3.pdf?sequence](http://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/772/modelo_1_reciclar_v3.pdf?sequence)

- Mojovic, L., Nikolic, S., Rakin, M., & Vukasinovic, M. (2006). Production of bioethanol from corn meal hydrolyzates. *Fuel*, 85.
- Molina P., L. A. (1991). *Prácticas de Química Orgánica*. Compobell S. A. Murcia .
- Monsalve, J., Medina, V., & Ruiz, A. (13 de Marzo de 2006). Producción de Etano a partir de la Cáscara de Banano y de Almidón de Yuca. Medellín, Colombia.
- Monsalve, J., Medina, V., & Ruiz, A. (13 de Marzo de 2006). Producción de Etanol a partir de la cáscara de Banano y de Almidón de Yuca. Medellín, Colombia: Dyna rev.
- Muñoz, M., & Rovira, A. (2014). Combustibles Alternativos o de Sustitución. Características y Aplicaciones. En *Máquinas Térmicas* (pág. Sección 4.4 y 4.5). Madrid.
- Olsen, E. (1990). Espectrofotometría Ultravioleta y Visible. En *Métodos Ópticos de Análisis* (pág. 157). Florida: Reverté, S.A.
- ONU. (5 de Marzo de 2012). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. Obtenido de <http://www.fao.org/in-action/agronoticias/detail/es/c/509416/>
- Palacios, H. (1956). Fabricación de alcohol. Barcelona, España: Salvat Editores. S.A.
- Parés I., J. G. (1997). Bioquímica de los Microorganismos. Barcelona: Reverté. Obtenido de <https://es.scribd.com/doc/20375393/Monografia-Produccion-de-Bioetanol-XV-Curso-de-Titulacion>
- Passarge, E. (2007). Células Eucariontes. En *Genetica Texto y Atlas* (pág. 112). New York: Medica Panamericana.
- Patrouilleau, R., Lacoste, C., Yapura, P., & Casanova, M. (2007). Etanol de Base Celulósica. En *Respectivas de los Biocombustibles en Argentina* (pág. 24). Argentina: [http://inta.gob.ar/actual/info/perspecti-va\\_%20biocombus.pdf](http://inta.gob.ar/actual/info/perspecti-va_%20biocombus.pdf).
- Paull, R. (2000). Heat Treatment and Fruit Ripening,. En *Postharvest Biology and Technology* (págs. 21-37).
- PCE, I. (s.f.). *Manual de Instrucciones*. Obtenido de <https://www.pce-instruments.com/french/slot/4/download/92648/manual-pce-oe.pdf>
- PCE, I. (s.f.). *Refractómetro de mano*. Obtenido de Instrumentos de medición óptica de mano para concentración: <https://www.pce-instruments.com/espanol/slot/4/download/92645/manual-refractometro-2.pdf>
- Pérez, J. (2016). Combustibles sintéticos obtenidos a partir de fuentes distintas del petróleo y de la biomasa. En *Biocombustibles. Sus implicaciones energéticas, ambientales y sociales* (pág. Cap. 2). México: Fondo de Cultura Económica.
- Pro-Ecuador. (s.f.). *Instituto de Promoción de Exportaciones e Inversiones*. Obtenido de Ministerio de Comercio Exterior: <http://www.proecuador.gob.ec/compradores/oferta-exportable/banano/>
- Quesada, S. (2007). Manual de experimentos de Laboratorio para bioquímica. Costa Rica : EUNED.
- Químicas*. (s.f.). Obtenido de Ejemplos de Equivalentes Químicos: <http://www.quimicas.net/2015/10/ejemplos-de-equivalente-quimico.html>
- QUIMPAC, E. S. (8 de Enero de 2016). *Seguridad Industrial y Medio Ambiente*. Obtenido de Hoja de Seguridad de Materiales: [http://www.quimpac.com.ec/wp-content/uploads/msds/HS\\_67\\_ETANOL.pdf](http://www.quimpac.com.ec/wp-content/uploads/msds/HS_67_ETANOL.pdf)
- Ramírez, C., & Solórzano, S. (Agosto de 2012). Banano Rechazado para la exportación en Ecuador: Propuesta de creación de valor para lograr su introducción al mercado internacional. Guayaquil, Guayas, Ecuador.
- Rapin, J., & Jacquard, P. (1997). Poder Calorífico de los combustibles. En J. Rapin, & P. Jacquard, *Instalaciones Frigorífica. Física Aplicada* (págs. 127-130). Barcelona : Marcombo. Boixareu.
- Roldán, J., & Toleda, C. (2012). Energías Renovables. Lo que hay que saber. España: Paraninfo, S.A.
- Rolle, R. (2007). Buenas prácticas para la producción en pequeña escala de agua de coco embotellada. 9. Roma, Italia.
- Ruiz, A. (2007). En *La Seguridad Energética de América Latina y el Caribe en el contexto mundial* (pág. 91). Santiago de Chile.
- S, P., & A, C. (s.f.). Carbohidratos. En *Química Orgánica: conceptos y aplicaciones* (pág. 462).

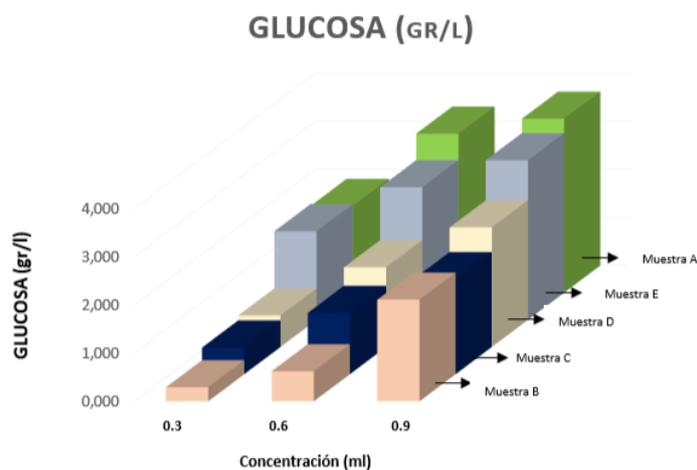
- Sánchez, R., Gutierrez, M., Muñoz, H., & Rivera, C. (2010). Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Ciencias - Químicas*.
- Senescyt. (04 de Febrero de 2014). *Ecuador presenta su primera biorrefinería con el cambio de la matriz energética y productiva en la mira*. Obtenido de Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación: <https://www.educacionsuperior.gob.ec/ecuador-presenta-su-primera-biorrefineria-con-el-cambio-de-la-matriz-energetica-y-productiva-en-la-mira/>
- Silva, C., & García, J. (2006). Fundamentos y aplicación de técnicas espectrofotométricas, turbidimétricas y nefelométricas. En *Técnico Especialista en Laboratorio de Atención Primaria* (pág. 347). España: MAD.
- Solano, O., Perez, P., & Tomas, A. (1991). Técnicas de Laboratorio. Determinación de Densidades . En *Prácticas de Laboratorio de Química Orgánica* (pág. 25). España.
- Sorgato, V. (10 de Junio de 2016). Seis urben en Ecuador se exceden en contaminación ambiental, según OMS. *EL COMERCIO*.
- Tejeda, L., Tejada, C., Villabona, Á., Alvear, M., Castillo, C., Henao, D., . . . Tarón, A. (Diciembre de 2010). Producción de Bieanol a partir de la Fermentación Alcohólica de Jarabes Glucosados derivados de cáscaras de Naranja y Piña. *Revista Educación en Ingeniería*. Cartagena de Indias, Colombia.
- Trávez, D. (Octubre de 2011). Estado del Arte y Novedades de la Bioenergía en el Ecuador. *Organizacion de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Oficina Regional para America Latina y el Caribe- RLC*. Quito, Ecuador.
- Valcárcel, M., & Gómez, A. (1988). Cromatografía de Gases. En *Técnicas Analíticas de Separación* (pág. 615). México: Rerverté, S.A.
- Vézina, A., & Baena, M. (22 de Julio de 2016). *Mobilizing banana science for sustainable livelihoods*. Obtenido de ProMusa: <http://www.promusa.org/Morfolog%C3%ADa+de+la+planta+del+banano#Raquis>

## APENDICES

**Apéndice A.** Cálculo de Glucosa (ml) a partir de las hidrólisis realizadas de los raquis de Banano (H. Endógena, Exógena y Química)

### **Azúcares Reductores de la Hidrólisis Endógena**

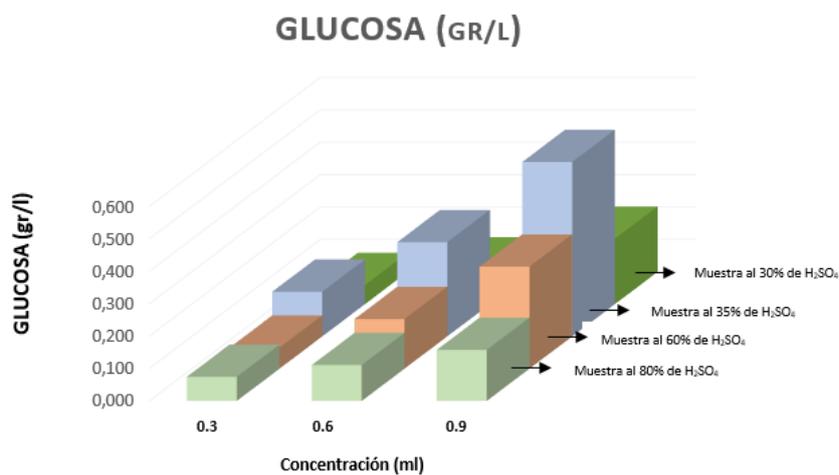
Muestra	Volumen solución hidrólisis (mL)	Absorbancia	Cantidad g/L (azúcar)
Muestra A	0,3	1,693	1,805
	0,6	3,083	3,306
	0,9	3,373	3,616
Muestra B	0,3	0,266	0,291
	0,6	0,577	0,624
	0,9	1,967	2,111
Muestra C	0,3	0,510	0,552
	0,6	1,182	1,271
	0,9	1,838	1,973
Muestra D	0,3	0,605	0,654
	0,6	1,541	1,656
	0,9	2,316	2,484
Muestra E	0,3	1,715	1,842
	0,6	2,569	2,755
	0,9	3,095	3,318



## Azúcares Reductores de la Hidrólisis Exógena

Cabe mencionar q los azucres no incluyen la mezcla de celulasa

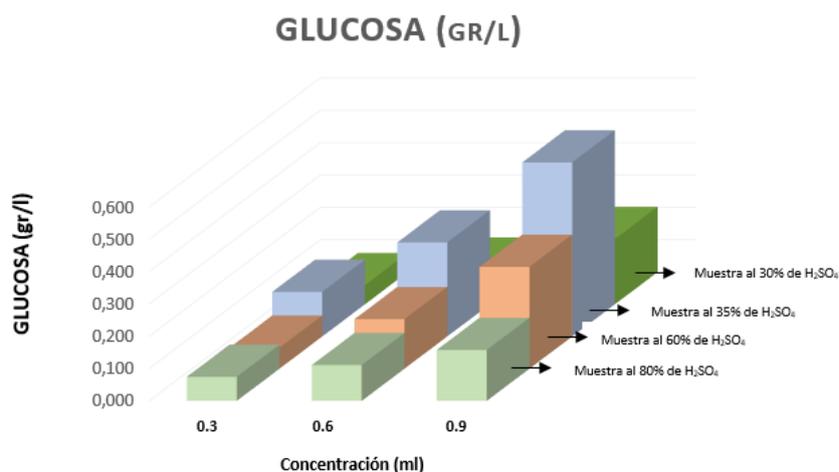
Muestra	Volumen solución hidrólisis (mL)	Absorbancia	Cantidad g/L (azúcar)
Muestra al 30%	0,3	0,079	0,059
	0,6	0,150	0,107
	0,9	0,289	0,202
Muestra a 35%	0,3	0,195	0,138
	0,6	0,420	0,291
	0,9	0,784	0,538
Muestra al 60%	0,3	0,088	0,065
	0,6	0,218	0,153
	0,9	0,456	0,315
Muestra al 80%	0,3	0,102	0,074
	0,6	0,155	0,111
	0,9	0,224	0,157



## Azúcares Reductores de la Hidrólisis Química

- Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.(30,35,60 Y 80%)

Muestra	Volumen solución hidrólisis (mL)	Absorbancia	Cantidad g/L (azúcar)
Muestra al 30%	0,3	0,079	0,059
	0,6	0,150	0,107
	0,9	0,289	0,202
Muestra a 35%	0,3	0,195	0,138
	0,6	0,420	0,291
	0,9	0,784	0,538
Muestra al 60%	0,3	0,088	0,065
	0,6	0,218	0,153
	0,9	0,456	0,315
Muestra al 80%	0,3	0,102	0,074
	0,6	0,155	0,111
	0,9	0,224	0,157

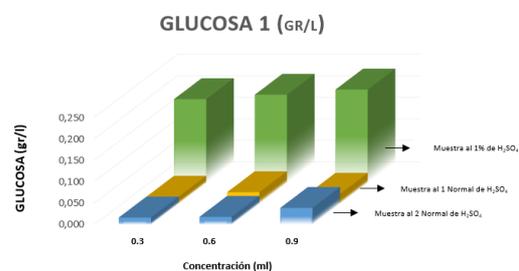
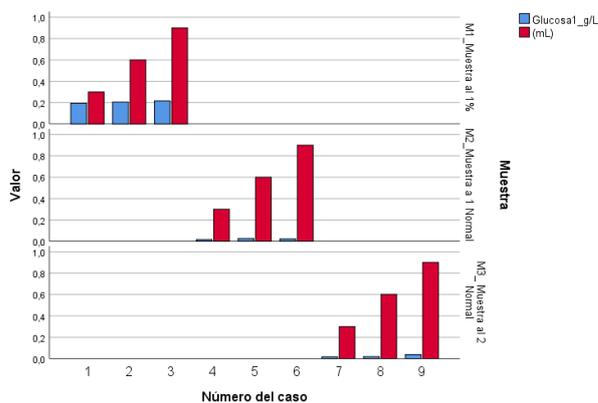


○ Soluciones y Normales de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Como se especificó anteriormente en la hidrólisis química se tomó 4 muestras (autoclave) por cada reacción química realizada (1%, 1N, 2N), para el cálculo de azúcares presentes (g/L), así:

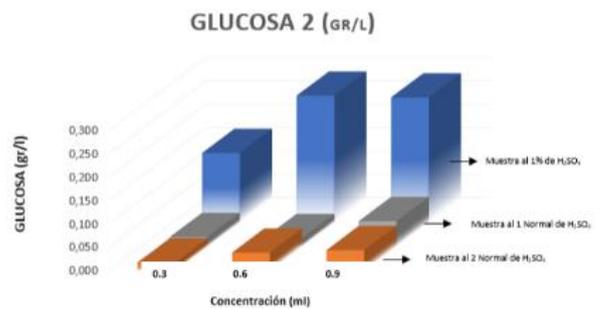
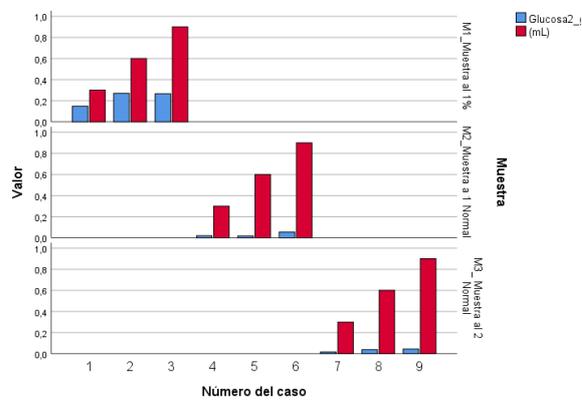
▪ Autoclave 60min

Muestra	Volumen solución hidrólisis (mL)	Absorbancia	Cantidad g/L (azúcar)
M1 _	0,3	0,243	0,194
Muestra al 1%	0,6	0,256	0,205
	0,9	0,271	0,217
M2 _	0,3	0,016	0,016
Muestra a 1	0,6	0,029	0,026
Normal	0,9	0,025	0,023
M3_	0,3	0,016	0,016
Muestra al 2	0,6	0,018	0,018
Normal	0,9	0,045	0,038



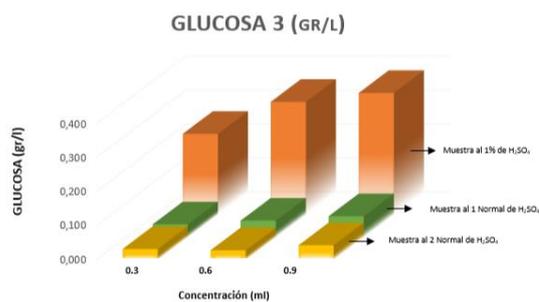
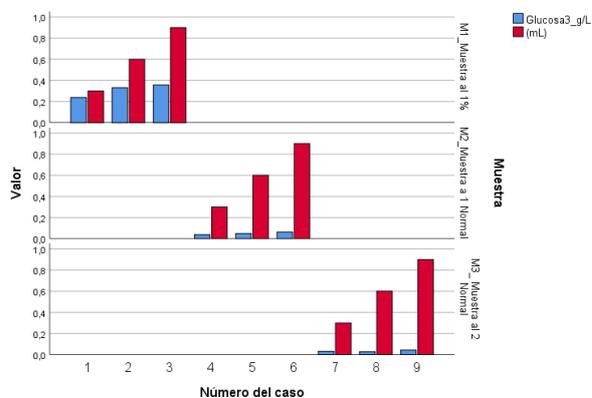
- Autoclave 120min

Muestra	Volumen solución hidrólisis (mL)	Absorbancia	Cantidad g/L (azúcar)
M1 _	0,3	0,150	0,147
Muestra al 1%	0,6	0,277	0,270
	0,9	0,273	0,266
M2 _	0,3	0,018	0,020
Muestra a 1 Normal	0,6	0,016	0,017
	0,9	0,053	0,053
M3_	0,3	0,015	0,017
Muestra al 2 Normal	0,6	0,037	0,038
	0,9	0,043	0,043



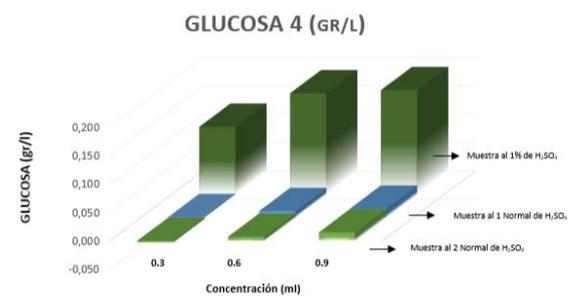
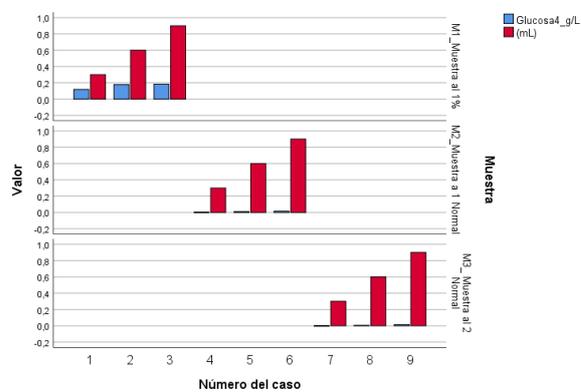
- Autoclave 180min

Muestra	Volumen solución hidrólisis (mL)	Absorbancia	Cantidad g/L (azúcar)
M1 _	0,3	0,166	0,237
Muestra al 1%	0,6	0,235	0,331
	0,9	0,254	0,357
M2 _	0,3	0,021	0,038
Muestra a 1	0,6	0,029	0,049
Normal	0,9	0,039	0,061
M3_	0,3	0,017	0,032
Muestra al 2	0,6	0,014	0,028
Normal	0,9	0,025	0,043



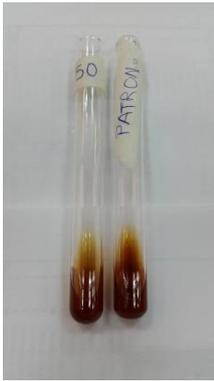
- Autoclave 240min

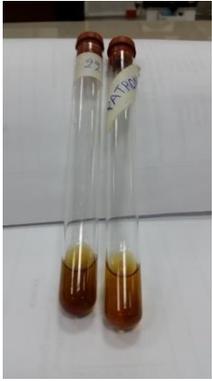
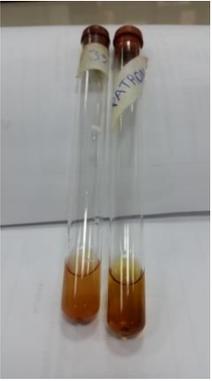
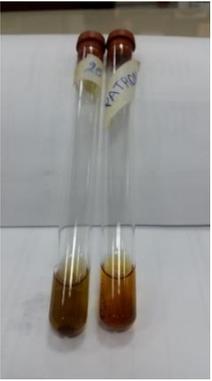
Muestra	Volumen solución hidrólisis (mL)	Absorbancia	Cantidad g/L (azúcar)
Muestra al 1%	0,3	0,153	0,119
	0,6	0,233	0,178
	0,9	0,240	0,183
Muestra a 1 Normal	0,3	-0,006	0,001
	0,6	0,008	0,011
	0,9	0,014	0,015
Muestra al 2 Normal	0,3	-0,011	-0,003
	0,6	0,003	0,007
	0,9	0,013	0,015

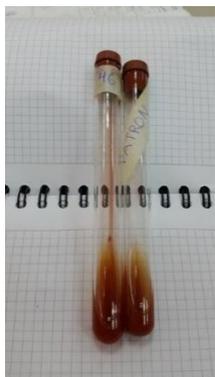


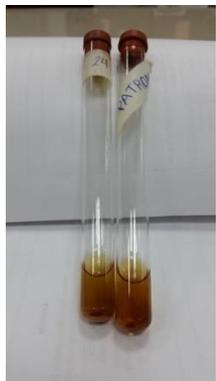
**Apéndice B. Pruebas de Fehling positivas**

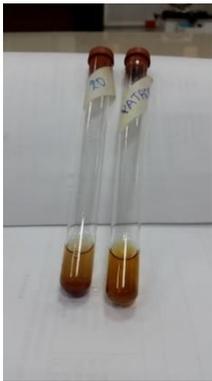
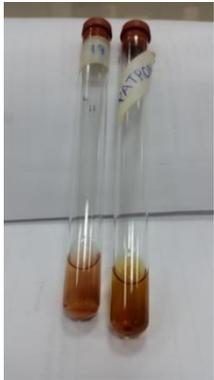
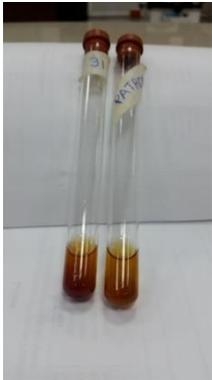
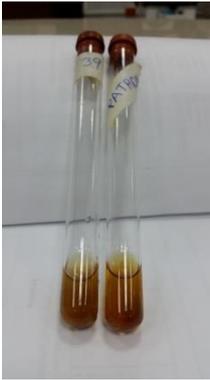
Concentración $H_2SO_4$	Hidrólisis Endógena	
A	<p data-bbox="443 331 478 358">47</p> 	
	<p data-bbox="443 824 1353 891">Muestra N° 47_Concentración de <math>H_2SO_4</math> al 30% sometido en Autoclave; en cultivo Agua Destilada.</p>	
B	<p data-bbox="443 929 478 956">48</p> 	<p data-bbox="917 929 952 956">53</p> 
	<p data-bbox="443 1346 901 1451">Muestra N° 48_Concentración de <math>H_2SO_4</math> al 60% sometido en Autoclave; en cultivo Agua Destilada.</p>	<p data-bbox="917 1346 1353 1451">Muestra N° 53_Concentración de <math>H_2SO_4</math> al 60% sometido en Autoclave; en cultivo Agua Peptona.</p>
C	<p data-bbox="443 1489 478 1516">59</p> 	
	<p data-bbox="443 1906 1332 1944">Muestra N° 59_Concentración de <math>H_2SO_4</math> al 30%, no autoclavado; en cultivo PDA</p>	

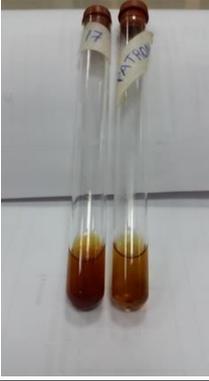
<b>D</b>	<p><b>50</b></p> 	<p><b>60</b></p> 
	<p>Muestra N° 50_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 60%, no autoclavado, en cultivo Agua Destilada</p>	<p>Muestra N° 60_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 60%, no autoclavado, en cultivo PDA.</p>
<b>E</b>	<p><b>51</b></p> 	<p><b>56</b></p> 
	<p>Muestra N° 51_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 60%, sometido en Autoclave, en cultivo Agua Destilada.</p>	<p>Muestra N° 56_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 60%, sometido en Autoclave, en cultivo Agua Peptona.</p>
	<p><b>61</b></p> 	
	<p>Muestra N° 61_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 60%, sometido en Autoclave, en cultivo PDA.</p>	

Concentración $H_2SO_4$	Hidrólisis Exógena	
30%	<p data-bbox="443 275 480 304">11</p> 	
	<p data-bbox="475 689 1321 719">Muestra N° 11_ Concentración de <math>H_2SO_4</math> al 30% con celulasa en cultivo DPA</p>	
35%	<p data-bbox="443 768 480 797">22</p> 	<p data-bbox="946 768 983 797">32</p> 
	<p data-bbox="443 1178 900 1245">Muestra N° 22_ Concentración de <math>H_2SO_4</math> al 35% con celulasa en cultivo DPA</p>	<p data-bbox="922 1178 1353 1279">Muestra N° 32_ Concentración de <math>H_2SO_4</math> al 35% con celulasa en cultivo Agua de Peptona</p>
60%	<p data-bbox="443 1328 480 1357">10</p> 	<p data-bbox="922 1328 959 1357">25</p> 
	<p data-bbox="443 1776 900 1843">Muestra N° 10_ Concentración de <math>H_2SO_4</math> al 60% con celulasa en cultivo DPA</p>	<p data-bbox="922 1776 1353 1877">Muestra N° 25_ Concentración de <math>H_2SO_4</math> al 60% con celulasa en cultivo Agua Peptona</p>

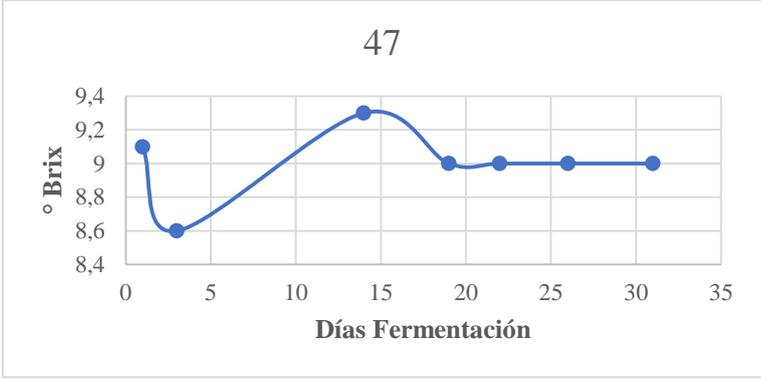
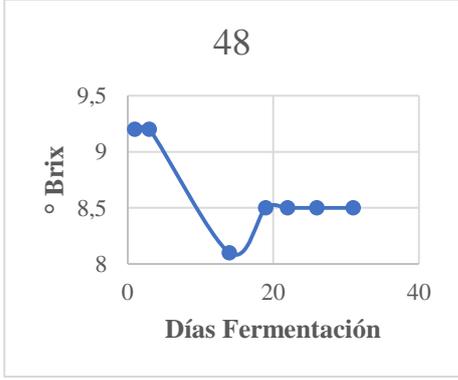
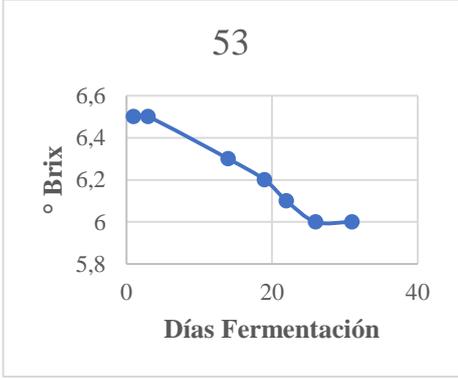
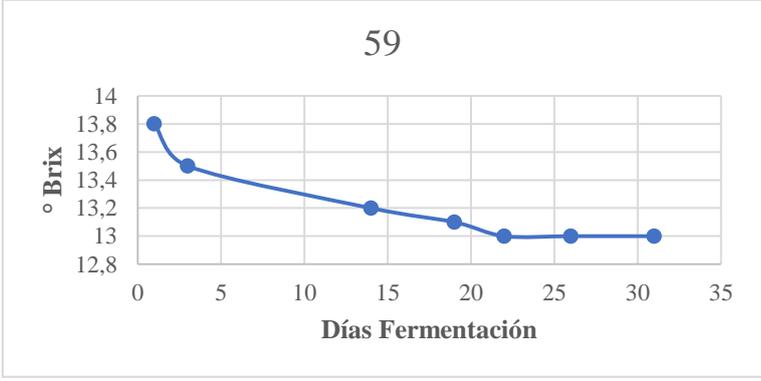
80%	26		35	
	Muestra N° 26_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 80% con celulasa en cultivo Agua Peptona		Muestra N° 35_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 80% con celulasa en cultivo DPA.	
15% y concentración de 10ppm de celulasa	1		29	
	Muestra N° 1_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura y azúcar		Muestra N° 29_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura sin azúcar	
			Muestra N° 45_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% en cultivo Agua Peptona con azúcar	
15% y concentración de 30ppm de celulasa	28		46	
	Muestra N° 28_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura sin azúcar		Muestra N° 46_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% en cultivo Agua Peptona con azúcar	

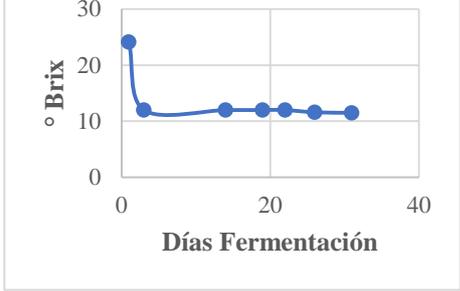
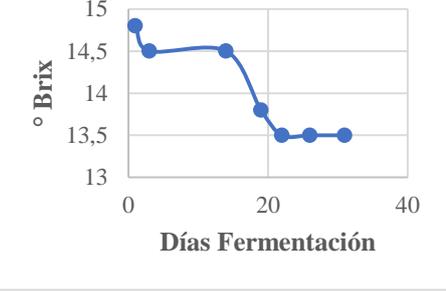
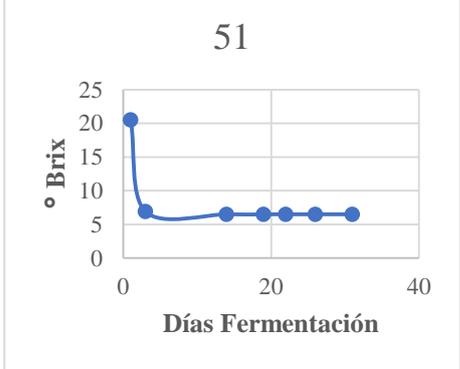
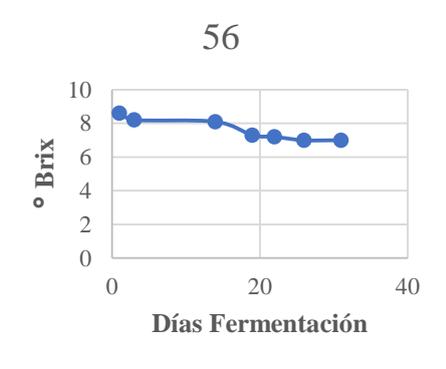
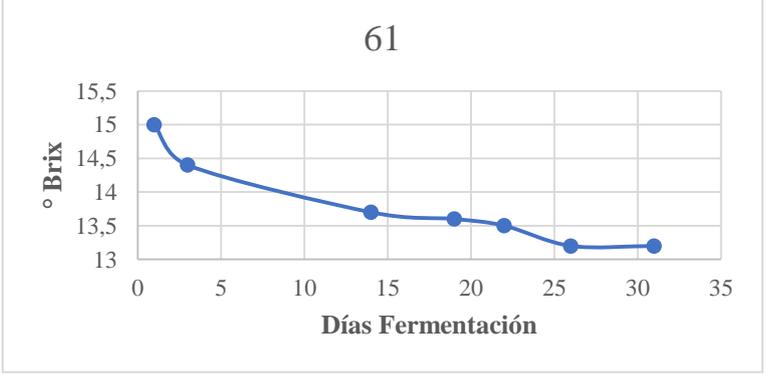
15% y concentración de 60ppm de celulasa	6 	30 	44 
	Muestra N° 6_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura con azúcar	Muestra N° 30_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura sin azúcar	Muestra N° 44_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 15% en cultivo Agua Peptona con azúcar
<b>Concentración H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	<b>Hidrólisis Química</b>		
30%	21 	38 	
	Muestra N° 21_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 30% en cultivo Agua Peptona	Muestra N° 38_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 30% en cultivo DPA	
35%	24 	36 	
	Muestra N° 24_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 35% en cultivo Agua Peptona	Muestra N° 36_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 35% en cultivo PDA	

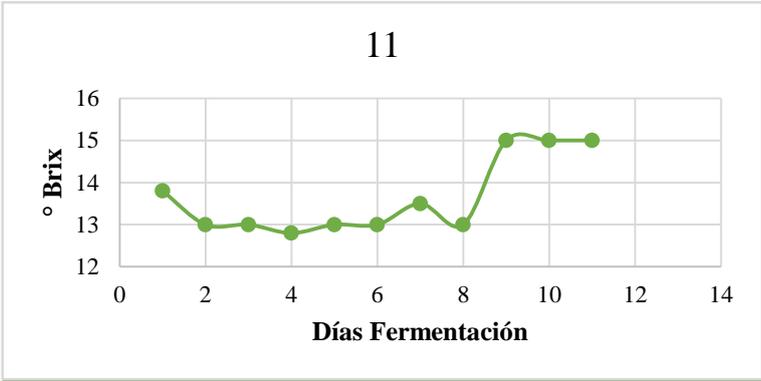
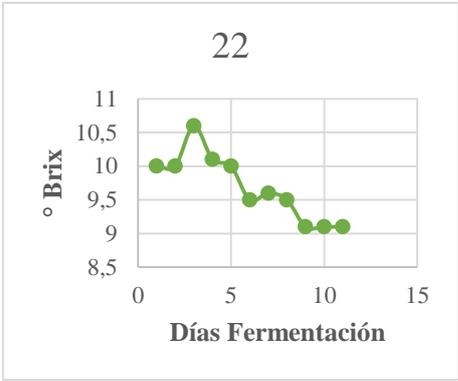
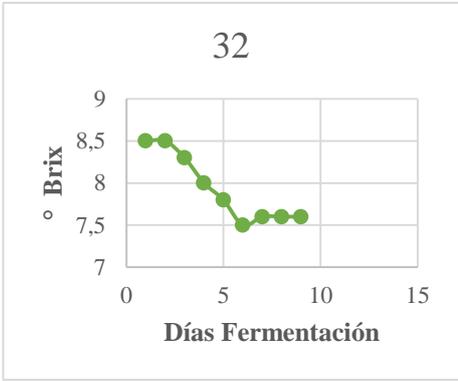
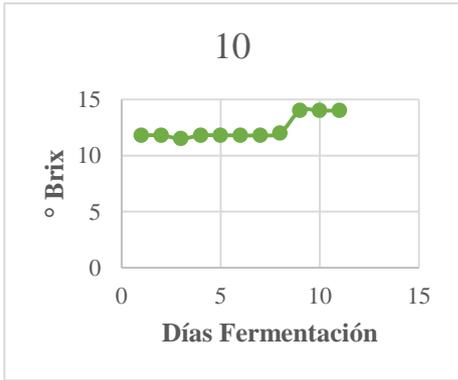
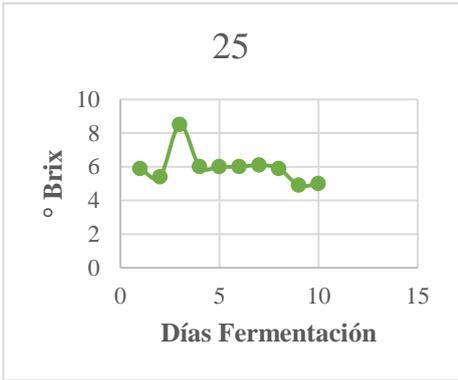
60%	4 	20 
	Muestra N° 4_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60% en cultivo PDA	Muestra N° 20_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60% en cultivo Agua Peptona
80%	19 	31 
	Muestra N° 19_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 80% en cultivo Agua Peptona	Muestra N° 31_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 80% en cultivo PDA
1%	39 	
	Muestra N° 39_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 1% con activación directa de levadura en Agua Peptona	
1N	Negativo	

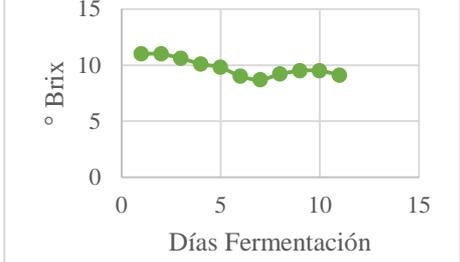
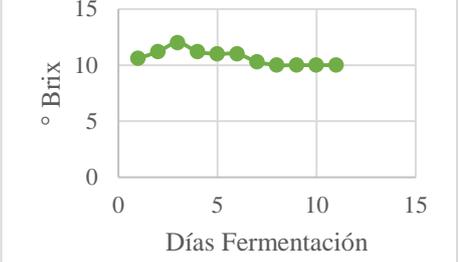
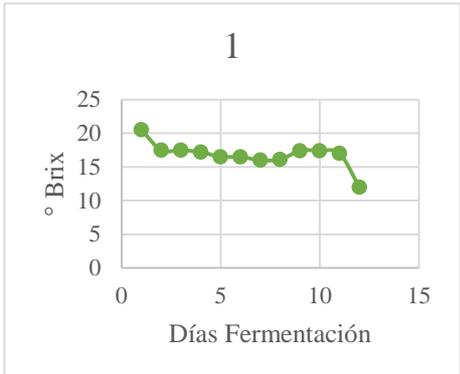
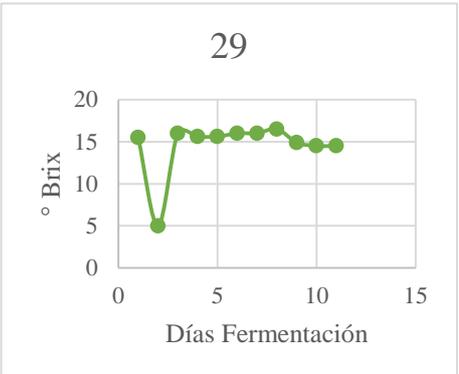
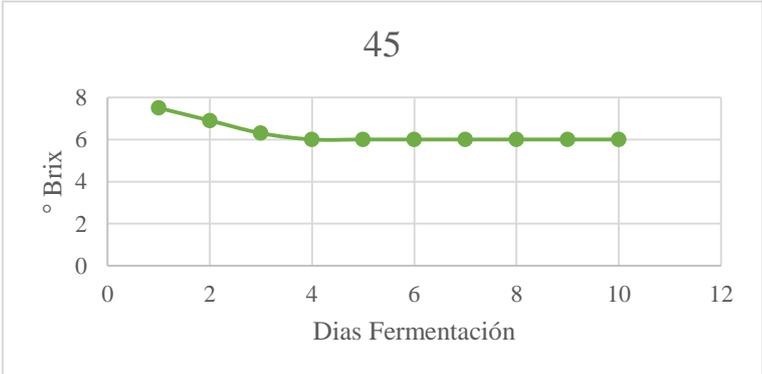
2N	<b>17</b> 
	Muestra N° 17_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 2 Normal con activación directa de levadura en Agua Destilada con azúcar

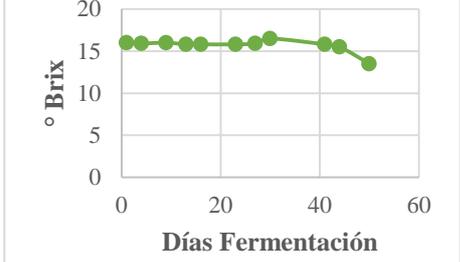
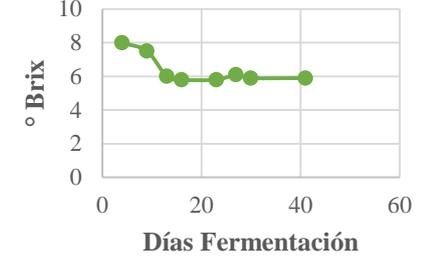
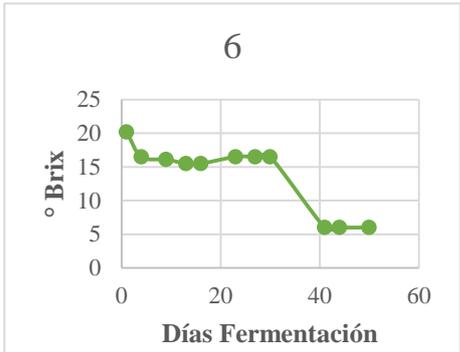
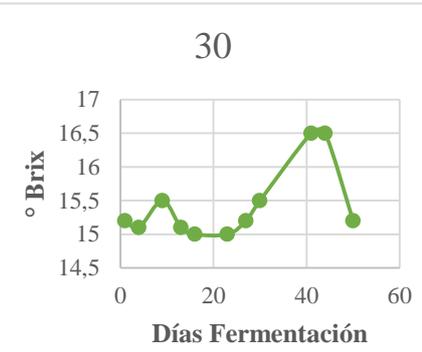
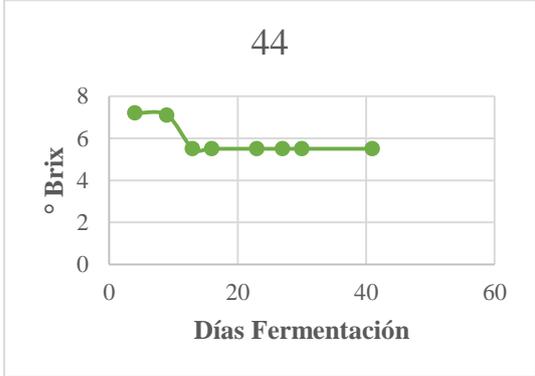
**Apéndice C. Medición °Brix\_ Comportamiento de muestras durante el tiempo de Fermentación**

<b>HIDRÓLISIS ENDÓGENA</b>	
° Muestra	Representación Gráfica
<b>A</b>	<div style="text-align: center;">47</div>  <p style="text-align: center;">Muestra N° 47_Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 30% sometido en Autoclave; en cultivo Agua Destilada.</p>
<b>B</b>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <div style="text-align: center;">48</div>  <p style="text-align: center;">Muestra N° 48_Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 60% sometido en Autoclave; en cultivo Agua Destilada.</p> </div> <div style="text-align: center;"> <div style="text-align: center;">53</div>  <p style="text-align: center;">Muestra N° 53_Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 60% sometido en Autoclave; en cultivo Agua Peptona.</p> </div> </div>
<b>C</b>	<div style="text-align: center;">59</div>  <p style="text-align: center;">Muestra N° 59_Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 30%, no autoclavado; en cultivo PDA</p>

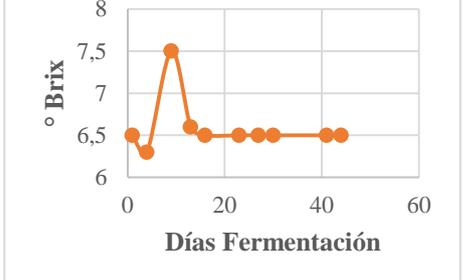
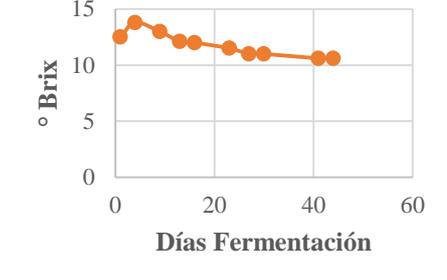
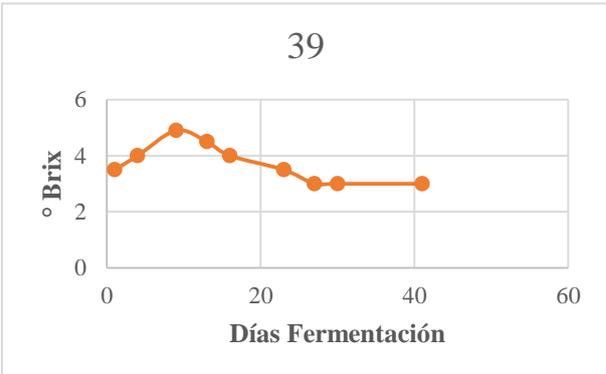
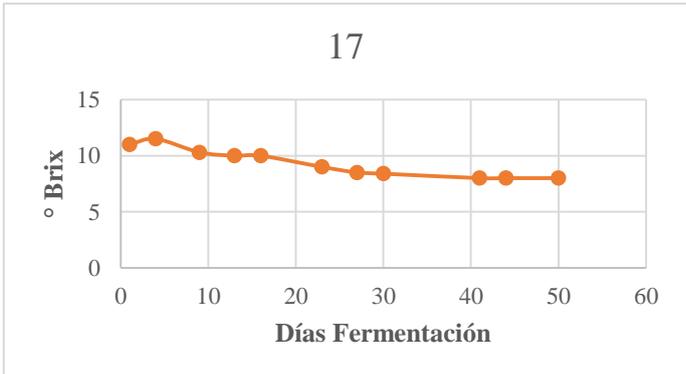
<b>D</b>	<p style="text-align: center;">50</p>  <p style="text-align: center;">° Brix</p> <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>	<p style="text-align: center;">60</p>  <p style="text-align: center;">° Brix</p> <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>
	Muestra N° 50_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60%, no autoclavado, en cultivo Agua Destilada	Muestra N° 60_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60%, no autoclavado, en cultivo PDA.
<b>E</b>	<p style="text-align: center;">51</p>  <p style="text-align: center;">° Brix</p> <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>	<p style="text-align: center;">56</p>  <p style="text-align: center;">° Brix</p> <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>
	Muestra N° 51_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60%, sometido en Autoclave, en cultivo Agua Destilada.	Muestra N° 56_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60%, sometido en Autoclave, en cultivo Agua Peptona.
	<p style="text-align: center;">61</p>  <p style="text-align: center;">° Brix</p> <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>	
Muestra N° 61_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 60%, sometido en Autoclave, en cultivo PDA.		

<b>HIDRÓLISIS EXÓGENA</b>	
<b>Concentración H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	<b>Representación Gráfica</b>
<b>30%</b>	<div style="text-align: center;">11</div>  <p style="text-align: center;">Muestra N° 11_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 30% con celulasa en cultivo PDA</p>
<b>35%</b>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <div style="text-align: center;">22</div>  <p style="text-align: center;">Muestra N° 22_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 35% con celulasa en cultivo PDA</p> </div> <div style="text-align: center;"> <div style="text-align: center;">32</div>  <p style="text-align: center;">Muestra N° 32_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 35% con celulasa en cultivo Agua de Peptona</p> </div> </div>
<b>60%</b>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <div style="text-align: center;">10</div>  <p style="text-align: center;">Muestra N° 10_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 60% con celulasa en cultivo DPA</p> </div> <div style="text-align: center;"> <div style="text-align: center;">25</div>  <p style="text-align: center;">Muestra N° 25_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 60% con celulasa en cultivo Agua Peptona</p> </div> </div>

<p><b>80%</b></p>	<p style="text-align: center;">26</p> 	<p style="text-align: center;">35</p> 
	<p>Muestra N° 26_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 80% con celulasa en cultivo Agua Peptona</p>	<p>Muestra N° 35_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 80% con celulasa en cultivo DPA.</p>
<p><b>15% y concentración de 10ppm de celulasa</b></p>	<p style="text-align: center;">1</p> 	<p style="text-align: center;">29</p> 
	<p>Muestra N° 1_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura y azúcar</p>	<p>Muestra N° 29_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura sin azúcar</p>
	<p style="text-align: center;">45</p> 	
<p>Muestra N° 45_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 15% en cultivo Agua Peptona con azúcar</p>		

<p><b>15% y concentración de 30ppm de celulasa</b></p>	<p style="text-align: center;">28</p> 	<p style="text-align: center;">46</p> 
	<p>Muestra N° 28_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura sin azúcar</p>	<p>Muestra N° 46_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 15% en cultivo Agua Peptona con azúcar</p>
<p><b>15% y concentración de 60ppm de celulasa</b></p>	<p style="text-align: center;">6</p> 	<p style="text-align: center;">30</p> 
	<p>Muestra N° 6_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura con azúcar</p>	<p>Muestra N° 30_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 15% con activación directa de levadura sin azúcar</p>
	<p style="text-align: center;">44</p> 	
<p>Muestra N° 44_ Concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 15% en cultivo Agua Peptona con azúcar</p>		

HIDROLISIS QUIMICA	
Concentración $H_2SO_4$	Representación Gráfica
30%	<p style="text-align: center;">21</p> <p style="text-align: center;">° Brix</p> <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>
	Muestra N° 21_ Concentración de $H_2SO_4$ al 30% en cultivo Agua Peptona
35%	<p style="text-align: center;">38</p> <p style="text-align: center;">° Brix</p> <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>
	Muestra N° 38_ Concentración de $H_2SO_4$ al 30% en cultivo PDA
35%	<p style="text-align: center;">24</p> <p style="text-align: center;">° Brix</p> <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>
	Muestra N° 24_ Concentración de $H_2SO_4$ al 35% en cultivo Agua Peptona
60%	<p style="text-align: center;">36</p> <p style="text-align: center;">° Brix</p> <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>
	Muestra N° 36_ Concentración de $H_2SO_4$ al 35% en cultivo PDA
60%	<p style="text-align: center;">4</p> <p style="text-align: center;">° Brix</p> <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>
	Muestra N° 4_ Concentración de $H_2SO_4$ al 60% en cultivo PDA
19	<p style="text-align: center;">20</p> <p style="text-align: center;">° Brix</p> <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>
31	Muestra N° 20_ Concentración de $H_2SO_4$ al 60% en cultivo Agua Peptona

80%	<p style="text-align: center;">19</p>  <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>	<p style="text-align: center;">31</p>  <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>
	Muestra N° 19_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 80% en cultivo Agua Peptona	Muestra N° 31_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 80% en cultivo PDA
1%	<p style="text-align: center;">39</p>  <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>	
	Muestra N° 39_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 1% con activación directa de levadura en Agua Peptona	
1N	Negativo	
2N	<p style="text-align: center;">17</p>  <p style="text-align: center;">Días Fermentación</p>	
	Muestra N° 17_ Concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 2 Normal con activación directa de levadura en Agua Destilada con azúcar	

**Apéndice D.** Análisis Estadístico de las características de los biocombustibles obtenidos

<b>Estadísticos descriptivos</b>						
		N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Desviación
Grados Alcohólicos INEN		33	6,22	26,06	9,2482	3,94490
Densidad		33	0,9839	1,0542	0,997770	0,0107084
Cantidad de alcohol obtenido en 100ml		34	7,0	30,0	15,412	4,8275
Días de Fermentación		34	31	50	43,74	8,203
N válido (por lista)		33				

<b>Resumen de procesamiento de casos</b>							
		Casos					
		Válido		Perdidos		Total	
Días de Fermentación		N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Grados Alcohólicos INEN	31	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
	41	1	50,0%	1	50,0%	2	100,0%
	44	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%
	50	19	100,0%	0	0,0%	19	100,0%
Densidad	31	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
	41	1	50,0%	1	50,0%	2	100,0%
	44	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%
	50	19	100,0%	0	0,0%	19	100,0%

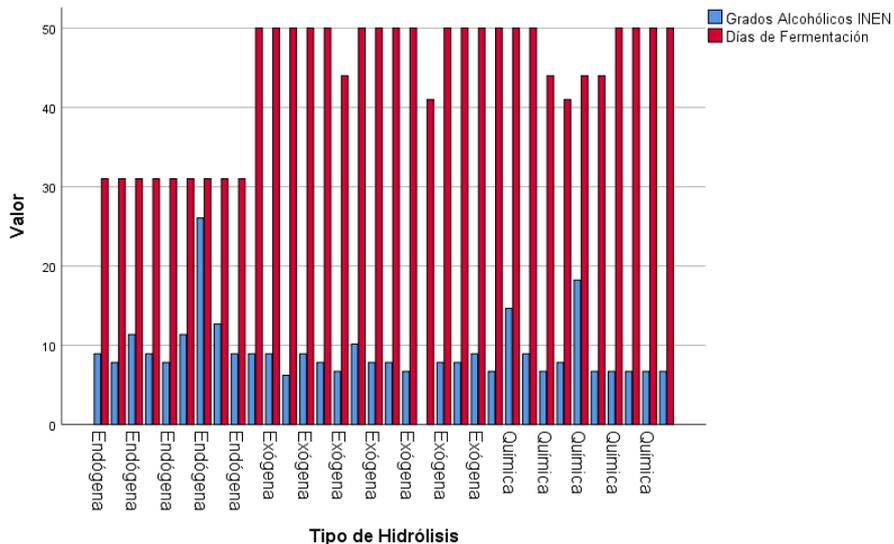
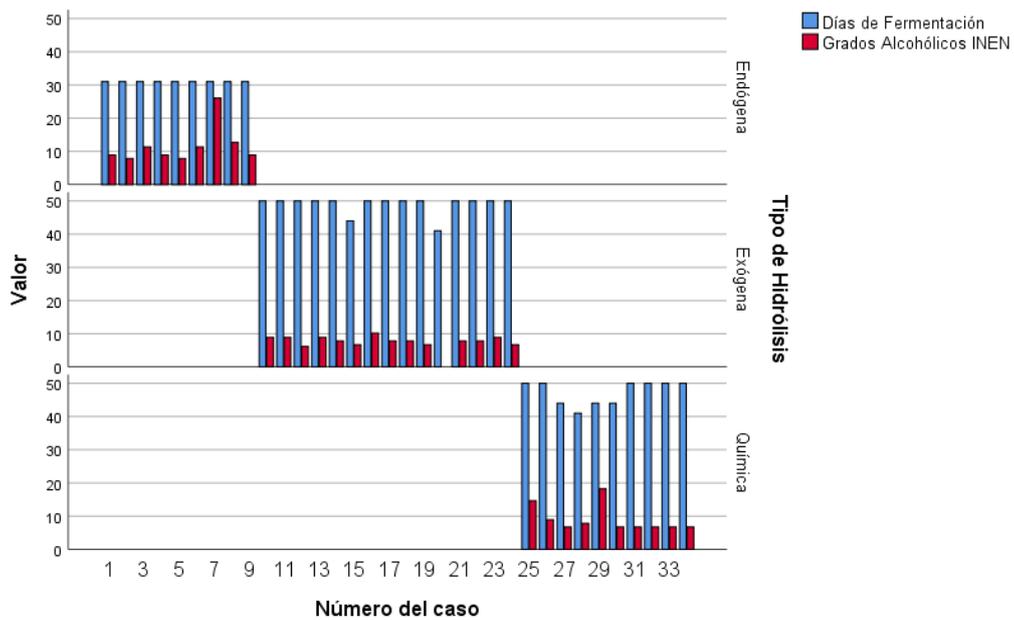
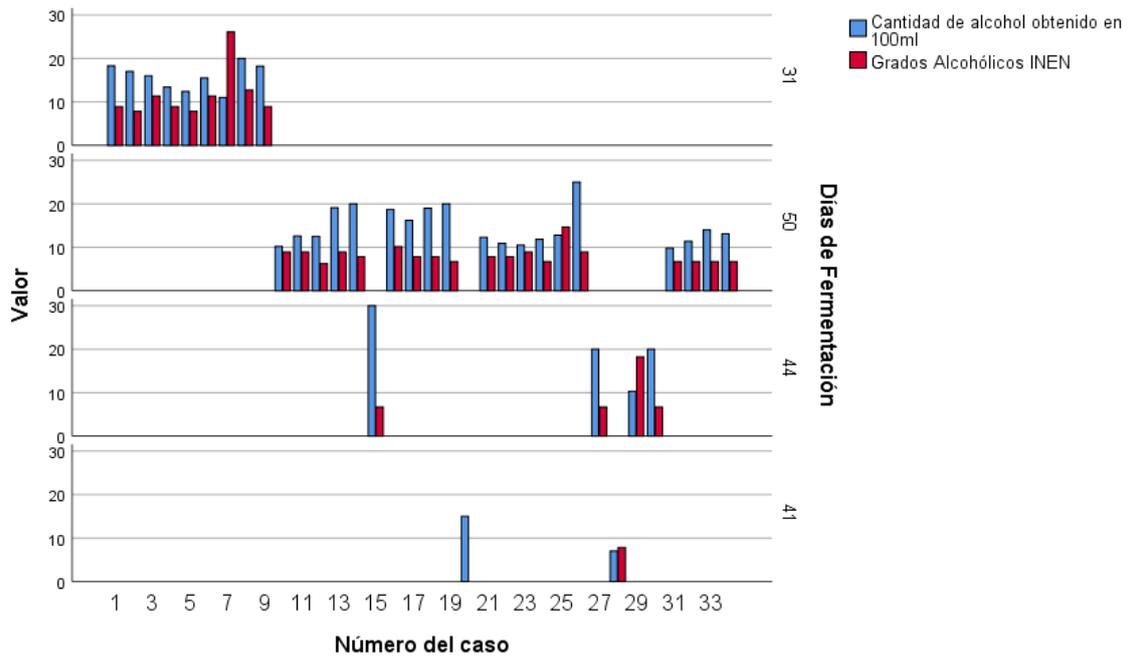
<b>ANOVA</b>						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Grados Alcohólicos INEN	Entre grupos	72,363	3	24,121	1,643	0,201
	Dentro de grupos	425,629	29	14,677		
	Total	497,992	32			
Densidad	Entre grupos	0,000	3	0,000	0,712	0,553
	Dentro de grupos	0,003	29	0,000		
	Total	0,004	32			

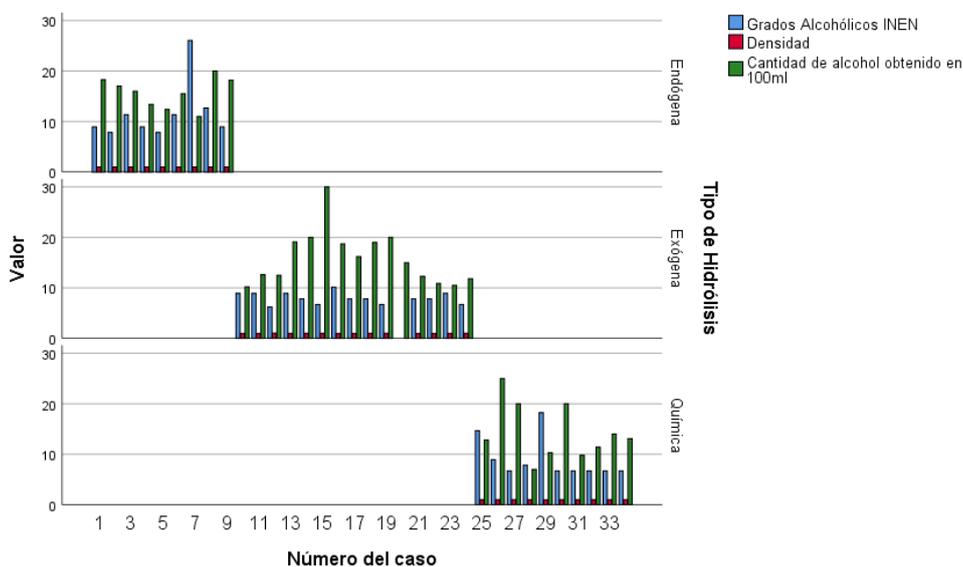
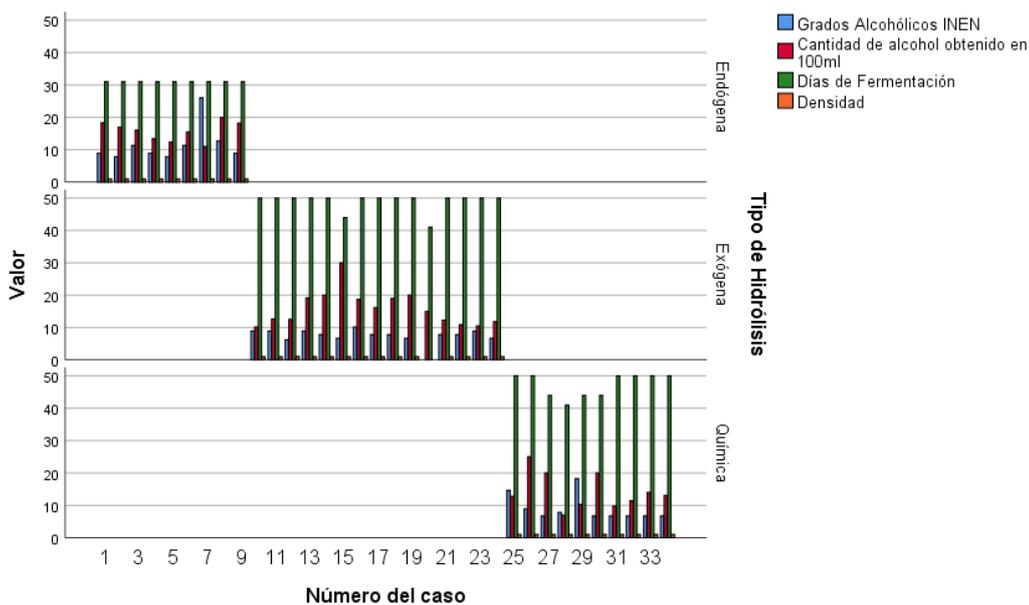
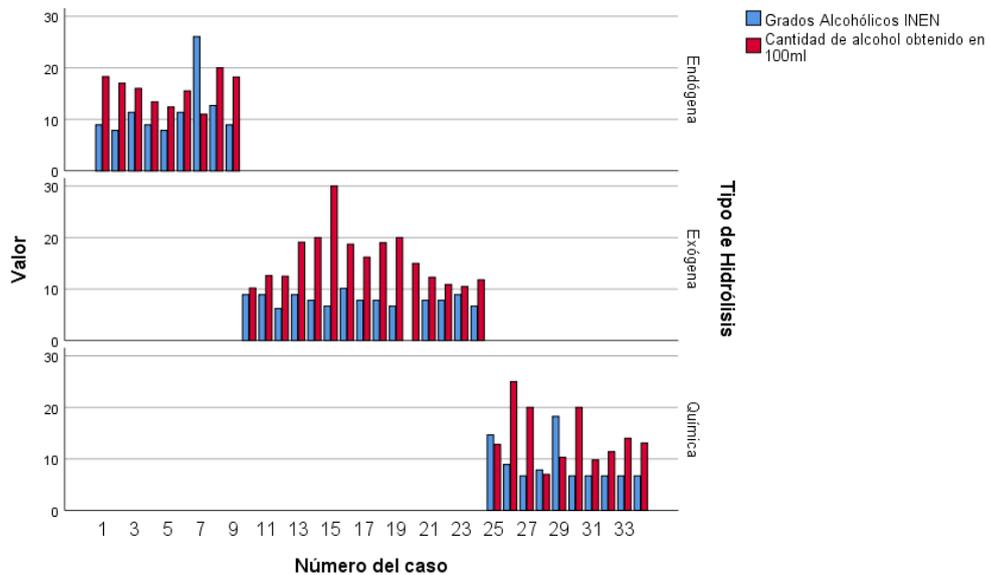
Descriptivos <sup>a,b</sup>						
Días de Fermentación				Estadístico	Desv. Error	
Grados Alcohólicos INEN	31	Media		11,5456	1,90099	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	7,1619		
			Límite superior	15,9292		
		Media recortada al 5%		10,9451		
		Mediana		8,9200		
		Varianza		32,524		
		Desv. Desviación		5,70297		
		Mínimo		7,84		
		Máximo		26,06		
		Rango		18,22		
		Rango intercuartil		3,65		
		Asimetría		2,516	0,717	
		Curtosis		6,799	1,400	
		44	Media		9,5900	2,88000
			95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,4246	
				Límite superior	18,7554	
			Media recortada al 5%		9,2700	
			Mediana		6,7100	
			Varianza		33,178	
			Desv. Desviación		5,76000	
			Mínimo		6,71	
			Máximo		18,23	
			Rango		11,52	
			Rango intercuartil		8,64	
			Asimetría		2,000	1,014
			Curtosis		4,000	2,619
		50	Media		8,1621	0,43898
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	7,2398		
			Límite superior	9,0844		
		Media recortada al 5%		7,9096		
		Mediana		7,8400		
		Varianza		3,661		
		Desv. Desviación		1,91348		
		Mínimo		6,22		
		Máximo		14,65		
		Rango		8,43		
		Rango intercuartil		2,21		
		Asimetría		2,281	0,524	

	Curtosis		7,023	1,014
31	Media		0,993744	0,0013904
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,990538	
		Límite superior	0,996951	
	Media recortada al 5%		0,994072	
	Mediana		0,995200	
	Varianza		0,000	
	Desv. Desviación		0,0041711	
	Mínimo		0,9839	
	Máximo		0,9977	
	Rango		0,0138	
	Rango intercuartil		0,0040	
	Asimetría		-1,843	0,717
	Curtosis		4,151	1,400
44	Media		0,996150	0,0028197
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,987176	
		Límite superior	1,005124	
Densidad	Media recortada al 5%		0,996450	
	Mediana		0,998850	
	Varianza		0,000	
	Desv. Desviación		0,0056394	
	Mínimo		0,9877	
	Máximo		0,9992	
	Rango		0,0115	
	Rango intercuartil		0,0087	
	Asimetría		-1,987	1,014
	Curtosis		3,955	2,619
50	Media		1,000011	0,0030508
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,993601	
		Límite superior	1,006420	
	Media recortada al 5%		0,997523	
	Mediana		0,997100	
	Varianza		0,000	
	Desv. Desviación		0,0132980	
	Mínimo		0,9906	
	Máximo		1,0542	
	Rango		0,0636	
	Rango intercuartil		0,0031	
	Asimetría		4,163	0,524
	Curtosis		17,855	1,014

a. Grados Alcohólicos INEN es constante cuando Días de Fermentación = 41. Se ha omitido.

b. Densidad es constante cuando Días de Fermentación = 41. Se ha omitido.





**Apéndice E. Análisis Estadístico del Rendimiento de las Hidrólisis, Fermentación Endógena, Exógena y Química.**

**1. Rendimiento Hidrólisis Endógena, Exógena y Química**

Tipo de Hidrólisis		Resumen de procesamiento de casos					
		Casos					
		Válido		Perdidos		Total	
		N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Rendimiento %	Endógen	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
	Exógena	15	100,0%	0	0,0%	15	100,0%
	Química	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%

Tipo de Hidrólisis		Descriptivos		Estadístico	Desv. Error		
Rendimiento %	Endógena		Media	54,7656	3,94495		
			95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	45,6685		
				Límite superior	63,8626		
			Media recortada al 5%		54,9751		
			Mediana		53,3700		
			Varianza		140,064		
			Desv. Desviación		11,83484		
			Mínimo		35,61		
			Máximo		70,15		
			Rango		34,54		
			Rango intercuartil		22,05		
			Asimetría		-0,142	0,717	
			Curtosis		-1,040	1,400	
				Media	40,4400	6,08738	
				95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	27,3839	
					Límite superior	53,4961	
				Media recortada al 5%		41,3344	
		Mediana		50,0000			
		Varianza		555,842			
		Desv. Desviación		23,57631			
		Mínimo		-1,33			
		Máximo		66,11			
		Rango		67,44			
		Rango intercuartil		42,86			
	Exógena						

	Asimetría	-0,746	0,580
	Curtosis	-0,977	1,121
	Media	56,1930	5,77061
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior 43,1390 Límite superior 69,2470	
	Media recortada al 5%	56,1156	
	Mediana	62,1600	
Química	Varianza	332,999	
	Desv. Desviación	18,24826	
	Mínimo	30,00	
	Máximo	83,78	
	Rango	53,78	
	Rango intercuartil	35,64	
	Asimetría	-0,300	0,687
	Curtosis	-1,121	1,334

## 2. Rendimiento de las Fermentaciones Endógena, Exógena y Química

Estadísticos descriptivos					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Desviación
Rendimiento %	34	-3,39	70,30	16,9744	17,57573
N válido (por lista)	34				

Descriptivos					
Tipo de Hidrólisis			Estadístico	Desv. Error	
Rendimiento %	Media		54,7656	3,94495	
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	45,6685 63,8626		
	Media recortada al 5%		54,9751		
	Mediana		53,3700		
	Endógena	Varianza		140,064	
		Desv. Desviación		11,83484	
		Mínimo		35,61	
		Máximo		70,15	
		Rango		34,54	
		Rango intercuartil		22,05	
		Asimetría		-0,142	0,717
		Curtosis		-1,040	1,400
	Exógena	Media		40,4400	6,08738
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	27,3839 53,4961	
		Media recortada al 5%		41,3344	
		Mediana		50,0000	
		Varianza		555,842	
		Desv. Desviación		23,57631	
		Mínimo		-1,33	
		Máximo		66,11	
Rango		67,44			
Rango intercuartil		42,86			
Asimetría		-0,746	0,580		
Curtosis		-0,977	1,121		
Química		Media		56,1930	5,77061
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	43,1390 69,2470	
		Media recortada al 5%		56,1156	
		Mediana		62,1600	
		Varianza		332,999	
		Desv. Desviación		18,24826	
		Mínimo		30,00	
		Máximo		83,78	
	Rango		53,78		
	Rango intercuartil		35,64		
	Asimetría		-0,300	0,687	
	Curtosis		-1,121	1,334	

**Apéndice F.** Análisis Estadístico de los Grados Alcohólicos (Fórmulas, Observación Tablas y Experimentalmente).

<b>Resumen de procesamiento de casos</b>						
Alcohol	Casos					
	Válido		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Grados Alcohol calculados (Fórmula)	33	97,1%	1	2,9%	34	100,0%
Grados Alcohol probable (observación Tabla)	33	97,1%	1	2,9%	34	100,0%
Grados Alcohol experimental (INEN 360 )	33	97,1%	1	2,9%	34	100,0%

		Diferencias emparejadas					t	gl
		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia			
					Inferior	Superior		
Par 1	Grados Alcohol experimental (INEN 360 ) - Grados Alcohol probable (observación Tabla)	3,95182	4,17987	0,72762	2,46970	5,43394	5,431	32
Par 2	Grados Alcohol calculados (Fórmula) - Grados Alcohol probable (observación Tabla)	-0,444424	0,422469	0,073542	-0,594225	0,294623	-6,043	32
Par 3	Grados Alcohol experimental (INEN 360 ) - Grados Alcohol calculados (Fórmula)	4,396242	4,336200	0,754836	2,858693	5,933792	5,824	32

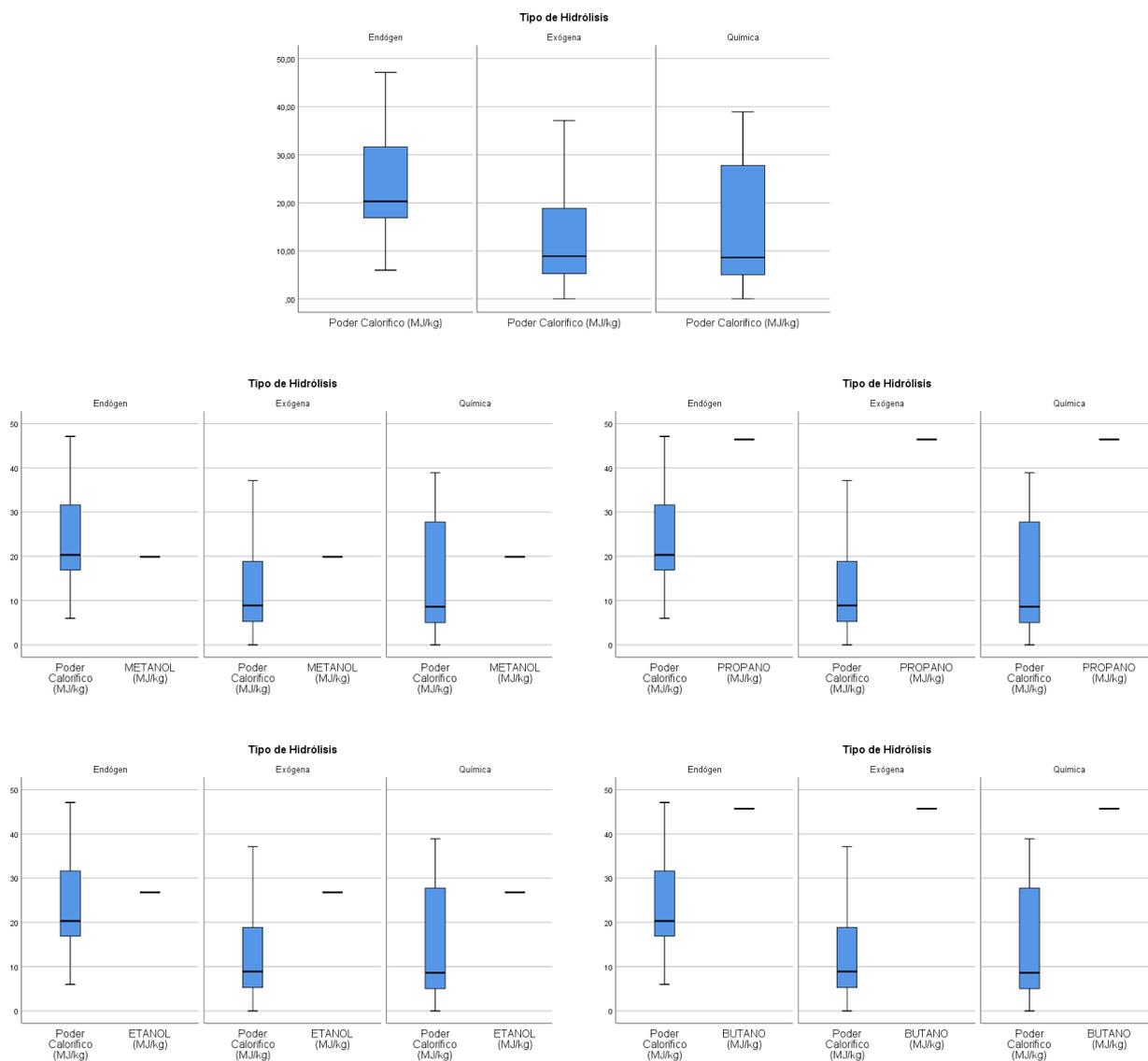
Descriptivos			Estadístico	Desv. Error
Grados Alcohol calculados (Fórmula)	Media		4,85194	0,482910
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	3,86828	
		Límite superior	5,83559	
	Media recortada al 5%		4,77017	
	Mediana		4,06500	
	Varianza		7,696	
	Desv. Desviación		2,774105	
	Mínimo		0,057	
	Máximo		11,430	
	Rango		11,373	
	Rango intercuartil		4,899	
	Asimetría		0,370	0,409
	Curtosis		-0,679	0,798
Grados Alcohol probable (observación Tabla)	Media		5,2964	0,41547
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	4,4501	
		Límite superior	6,1426	
	Media recortada al 5%		5,1929	
	Mediana		4,4400	
	Varianza		5,696	
	Desv. Desviación		2,38667	
	Mínimo		1,46	
	Máximo		11,40	
	Rango		9,94	
	Rango intercuartil		4,10	
	Asimetría		0,578	0,409
	Curtosis		-0,357	0,798
Grados Alcohol experimental (INEN 360 )	Media		9,2482	0,68672
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	7,8494	
		Límite superior	10,6470	
	Media recortada al 5%		8,6431	
	Mediana		7,8400	
	Varianza		15,562	
	Desv. Desviación		3,94490	
	Mínimo		6,22	
	Máximo		26,06	
	Rango		19,84	
	Rango intercuartil		2,21	
	Asimetría		2,978	0,409
	Curtosis		10,383	0,798

*Apéndice G.* Propiedades más importantes de los combustibles más habituales

	PCI (MJ/kg)	Densidad (kg/m <sup>3</sup> )	Dosado Estequiom.	T. ebullición (°C)	Pres. vapor Reid *(kPA)	Calor latente (Kj/kg)*	PC Mezcla gas (KJ/l)	N. Octano RON	Num Cetano	Viscos. (mm <sup>2</sup> /s)	P. Inflam. (°C)
<b>Gas Natural</b>	~ 48	0,79(a) ~ 450 (b)	1/17,3	-161,6	Muy elevada	509	3,3	120	-	-	-180
<b>Propano</b>	46,4	520 (b)	1/15,7	-42,1	1430	341	3,67	112	-	-	-104
<b>Butano</b>	45,7	560 (b)	1/15,5	-0,5	485	362	3,7	93	-	-	-60
<b>GLP</b>	~ 46	~ 550 (b)	1/15,6	-42,1 - -0,5	~ 800	~ 350	3,69	~ 100	-	-	-60
<b>Gasolina</b>	44	720 – 775	1/14,6	30 – 190	40 -100	~ 330	3,78	85-98	5-20	-	-43
<b>Queroseno</b>	42,5	760 – 840	1/14,6	190 -280	20	-	-	-	-	-	53-60
<b>Gasóleo</b>	42,5	820 – 845	1/14,5	180-360	-	~ 180	3,89	-	40-55	3	69,5
<b>Fuelóleo</b>	44	800 – 1020	1/14,6- 1/13,8	175 -600	-	-	-	-	-	1,4-750	-
<b>Metanol</b>	19,9	796	1/6,5	64,7	32	1100	3,87	105	-	-	12
<b>Etanol</b>	26,8	794	1/9	78,3	16	854	3,90	106	5	-	13
<b>MTBE</b>	34,8	746	1/11,9	55	55	269	3,69	118	-	-	-30
<b>ETBE</b>	36,2	745	1/12,3	73	28	260	3,73	118	-	-	-19
<b>Aceites</b>	~ 40	~ 880	-	-	-	-	-	-	37-38	~ 035	230- 280
<b>Biodiésel (FAME FAEE)</b>	~ 37,5	~ 920	1/12,5	-	-	-	~ 3,9	-	50-54	~ 4	120- 170
<b>Hidrógeno</b>	120	0,090 (a) 70,8 (b)	1/34,8	-252,9	Muy elevada	-	3,1	> 120	-	-	-
(a) Gas a 0° y 1 atm. (b) Gas licuado *A presión atmosférica (1bar)											

Fuente: (Muñoz & Rovira, 2014)

## Apéndice H. Análisis Estadístico de los biocombustibles analizados (Poder Calorífico) comparados con Metanol, Etanol, Propano y Butano



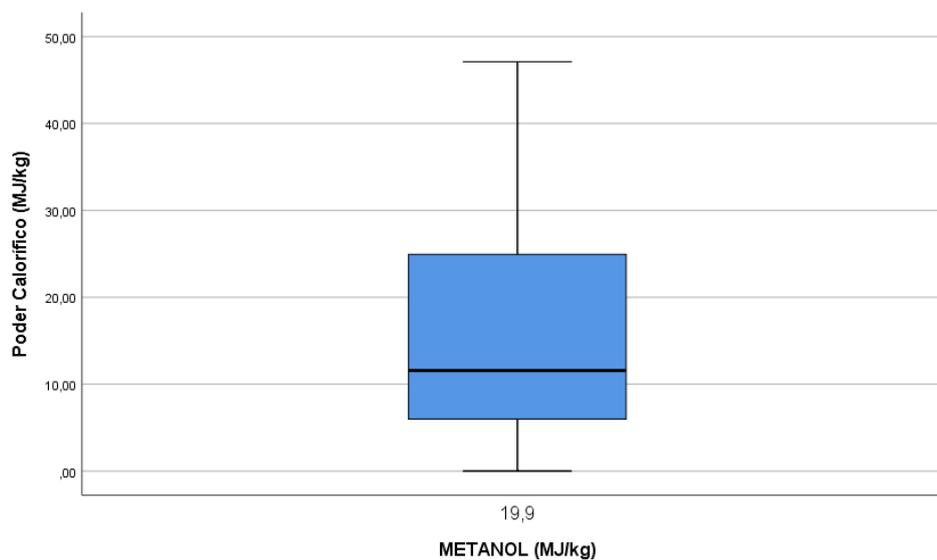
### Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Desviación
Poder Calorífico (MJ/kg)	33	0,00	47,10	16,4709	13,36664
Capacidad Calorífica Q (J)	33	0,00	99,58	37,3406	30,38590
Calor Específico	33	137,23	10908,97	4453,1909	1565,03639
METANOL (MJ/kg)	34	19,9	19,9	19,900	0,0000
ETANOL (MJ/kg)	34	26,8	26,8	26,800	0,0000
PROPANO (MJ/kg)	34	46,4	46,4	46,400	0,0000
BUTANO (MJ/kg)	34	45,7	45,7	45,700	0,0000
N válido (por lista)	33				

## METANOL

Resumen de procesamiento de casos							
METANOL (MJ/kg)		Casos					
		Válido		Perdidos		Total	
		N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Poder Calorífico (MJ/kg)	19,9	33	97,1%	1	2,9%	34	100,0%

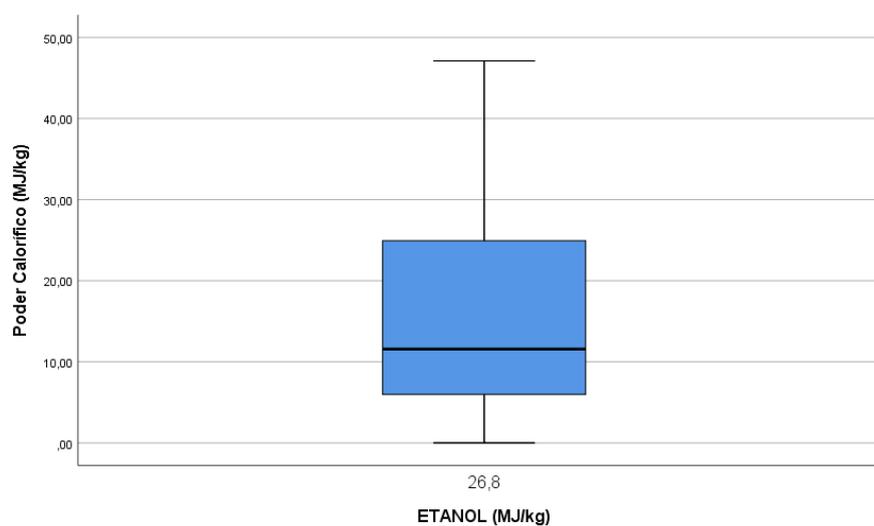
Descriptivos				
METANOL (MJ/kg)			Estadístico	Desv. Error
Media			16,4709	2,32683
95% de intervalo de confianza para la media			Límite inferior 11,7313	
			Límite superior 21,2105	
Poder Calorífico (MJ/kg)	19,9	Media recortada al 5%	15,7373	
Mediana			11,5600	
Varianza			178,667	
Desv. Desviación			13,36664	
Mínimo			0,00	
Máximo			47,10	
Rango			47,10	
Rango intercuartil			20,42	
Asimetría			0,753	0,409
Curtosis			-0,372	0,798



## ETANOL

Resumen de procesamiento de casos							
ETANOL (MJ/kg)		Casos					
		Válido		Perdidos		Total	
		N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Poder Calorífico (MJ/kg)	26,8	33	97,1%	1	2,9%	34	100,0%

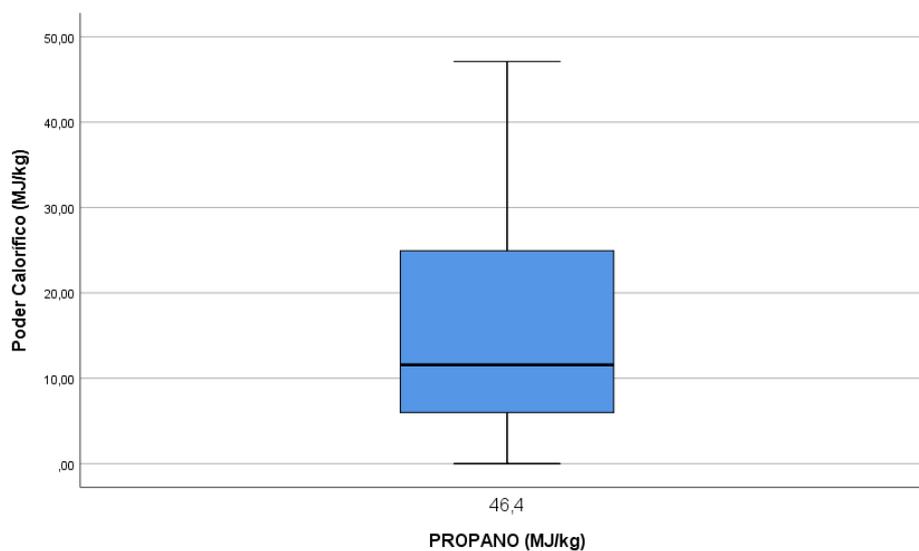
Descriptivos					
ETANOL (MJ/kg)				Estadístico	Desv. Error
Poder Calorífico (MJ/kg)	26,8	Media		16,4709	2,32683
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11,7313	
			Límite superior	21,2105	
			Media recortada al 5%	15,7373	
			Mediana	11,5600	
			Varianza	178,667	
			Desv. Desviación	13,36664	
			Mínimo	0,00	
			Máximo	47,10	
			Rango	47,10	
			Rango intercuartil	20,42	
			Asimetría	0,753	0,409
			Curtosis	-0,372	0,798



## PROPANOL

Resumen de procesamiento de casos							
PROPANO (MJ/kg)		Casos					
		Válido		Perdidos		Total	
		N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Poder Calorífico (MJ/kg)	46,4	33	97,1%	1	2,9%	34	100,0%

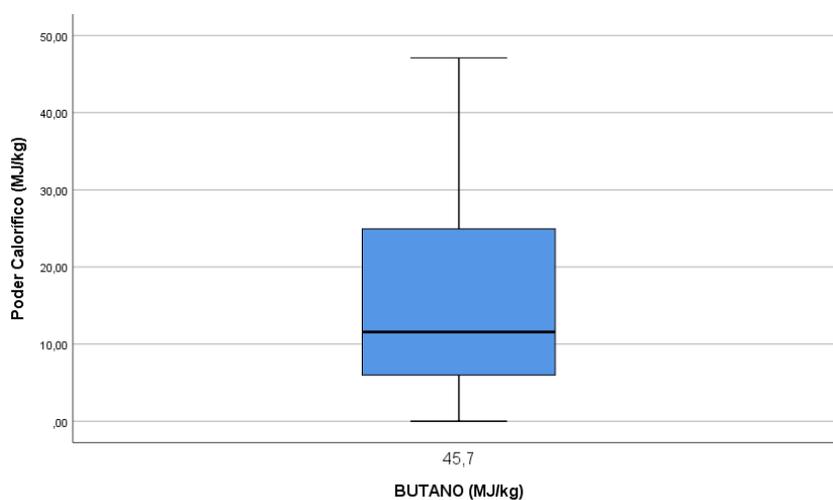
Descriptivos					
PROPANO (MJ/kg)				Estadístico	Desv. Error
Poder Calorífico (MJ/kg)	46,4	Media		16,4709	2,32683
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11,7313	
			Límite superior	21,2105	
		Media recortada al 5%		15,7373	
		Mediana		11,5600	
		Varianza		178,667	
		Desv. Desviación		13,36664	
		Mínimo		0,00	
		Máximo		47,10	
		Rango		47,10	
		Rango intercuartil		20,42	
		Asimetría		0,753	0,409
		Curtosis		-0,372	0,798

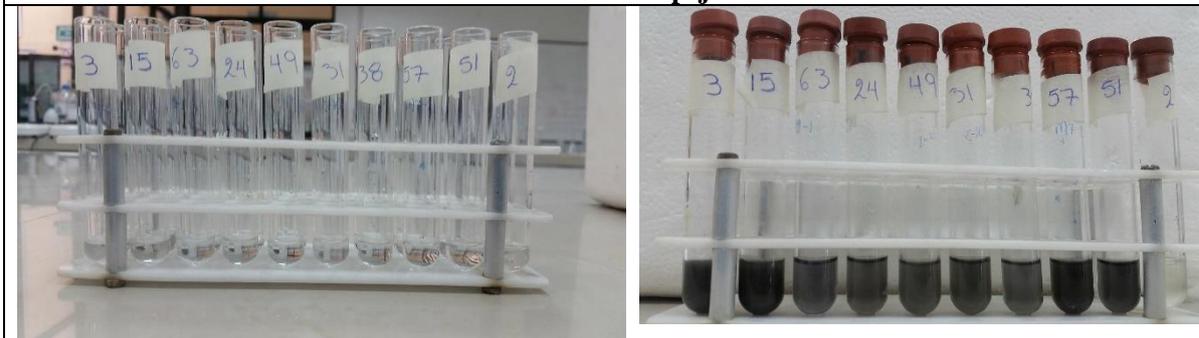
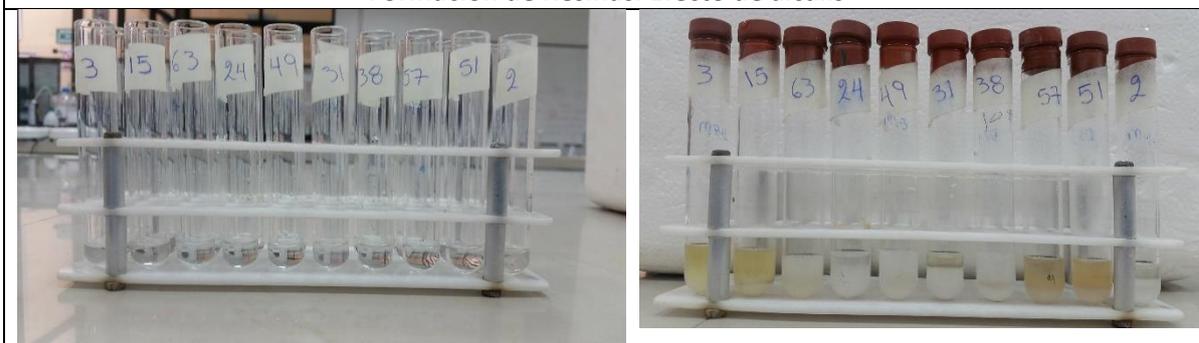


## BUTANOL

Resumen de procesamiento de casos							
BUTANO (MJ/kg)		Casos					
		Válido		Perdidos		Total	
		N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Poder Calorífico (MJ/kg)	45,7	33	97,1%	1	2,9%	34	100,0%

Descriptivos				
BUTANO (MJ/kg)		Estadístico		Desv. Error
Poder Calorífico (MJ/kg)	45,7	Media	16,4709	2,32683
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	11,7313 21,2105
		Media recortada al 5%	15,7373	
		Mediana	11,5600	
		Varianza	178,667	
		Desv. Desviación	13,36664	
		Mínimo	0,00	
		Máximo	47,10	
		Rango	47,10	
		Rango intercuartil	20,42	
		Asimetría	0,753	0,409
		Curtosis	-0,372	0,798



**Apéndice I. Pruebas de Cetonas y Aldehídos****Reactivo de Tollens. Espejo de Plata****Formación de Resinas. Efecto de álcalis**

Apéndice J. Tablas de transformación de los Grados Alcohólicos Probables

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volumétrica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
10.0	1.34781	1.0390	82.3	79.2	4.89
10.1	1.34798	1.0394	83.4	80.2	4.95
10.2	1.34814	1.0398	84.5	81.3	5.02
10.3	1.34830	1.0402	85.6	82.2	5.09
10.4	1.34845	1.0406	86.6	83.2	5.14
10.5	1.34860	1.0410	87.6	84.1	5.20
10.6	1.34875	1.0414	88.6	85.1	5.26
10.7	1.34890	1.0419	89.7	86.1	5.33
10.8	1.34906	1.0423	90.8	87.1	5.39
10.9	1.34921	1.0427	91.8	88.1	5.45
11.0	1.34936	1.0431	92.9	89.1	5.52
11.1	1.34952	1.0435	94.0	90.0	5.58
11.2	1.34968	1.0439	95.0	91.0	5.64
11.3	1.34984	1.0443	96.1	92.0	5.71
11.4	1.34999	1.0447	97.1	92.9	5.77
11.5	1.35015	1.0452	98.2	94.0	5.83
11.6	1.35031	1.0456	99.3	95.0	5.90
11.7	1.35046	1.0460	100.3	95.9	5.96
11.8	1.35062	1.0464	101.4	96.9	6.02
11.9	1.35077	1.0468	102.5	97.9	6.09
12.0	1.35092	1.0473	103.6	98.9	6.15
12.1	1.35108	1.0477	104.7	99.9	6.22
12.2	1.35124	1.0481	105.7	100.8	6.28
12.3	1.35140	1.0485	106.8	101.9	6.35
12.4	1.35156	1.0489	107.9	102.9	6.41
12.5	1.35172	1.0494	109.0	103.8	6.47
12.6	1.35187	1.0498	110.0	104.8	6.53
12.7	1.35203	1.0502	111.1	105.8	6.60
12.8	1.35219	1.0506	112.2	106.8	6.66
12.9	1.35234	1.0510	113.2	107.8	6.73
13.0	1.35249	1.0514	114.3	108.7	6.79
13.1	1.35266	1.0519	115.4	109.7	6.86
13.2	1.35282	1.0523	116.5	110.7	6.92
13.3	1.35298	1.0527	117.6	111.7	6.99
13.4	1.35313	1.0531	118.6	112.6	7.05
13.5	1.35329	1.0536	119.7	113.6	7.11
13.6	1.35345	1.0540	120.8	114.6	7.18
13.7	1.35360	1.0544	121.8	115.6	7.24
13.8	1.35376	1.0548	122.9	116.5	7.30
13.9	1.35391	1.0552	124.0	117.5	7.37
14.0	1.35407	1.0557	125.1	118.5	7.43
14.1	1.35424	1.0561	126.2	119.5	7.50
14.2	1.35440	1.0565	127.3	120.5	7.56
14.3	1.35456	1.0569	128.4	121.5	7.63
14.4	1.35472	1.0574	129.5	122.5	7.69
14.5	1.35488	1.0578	130.6	123.4	7.76
14.6	1.35503	1.0582	131.6	124.4	7.82
14.7	1.35519	1.0586	132.7	125.4	7.88
14.8	1.35535	1.0591	133.8	126.3	7.95
14.9	1.35551	1.0595	134.9	127.3	8.01

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volumétrica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
15.0	1.35567	1.0599	136.0	128.3	8.08
15.1	1.35583	1.0603	137.1	129.3	8.15
15.2	1.35599	1.0608	138.2	130.3	8.21
15.3	1.35615	1.0612	139.3	131.3	8.27
15.4	1.35631	1.0616	140.4	132.3	8.34
15.5	1.35648	1.0621	141.5	133.2	8.41
15.6	1.35664	1.0625	142.6	134.2	8.47
15.7	1.35680	1.0629	143.7	135.2	8.54
15.8	1.35696	1.0633	144.8	136.2	8.60
15.9	1.35712	1.0638	145.9	137.2	8.67
16.0	1.35728	1.0642	147.0	138.1	8.73
16.1	1.35744	1.0646	148.1	139.1	8.80
16.2	1.35760	1.0651	149.2	140.1	8.86
16.3	1.35776	1.0655	150.3	141.1	8.93
16.4	1.35793	1.0660	151.5	142.1	9.00
16.5	1.35809	1.0664	152.6	143.1	9.06
16.6	1.35825	1.0668	153.7	144.1	9.13
16.7	1.35842	1.0672	154.8	145.0	9.20
16.8	1.35858	1.0677	155.9	146.0	9.26
16.9	1.35874	1.0681	157.0	147.0	9.33
17.0	1.35890	1.0685	158.1	148.0	9.39
17.1	1.35907	1.0690	159.3	149.0	9.46
17.2	1.35923	1.0694	160.4	150.0	9.53
17.3	1.35939	1.0699	161.5	151.0	9.59
17.4	1.35955	1.0703	162.6	151.9	9.66
17.5	1.35972	1.0707	163.7	152.9	9.73
17.6	1.35988	1.0711	164.8	153.9	9.79
17.7	1.36004	1.0716	165.9	154.8	9.86
17.8	1.36020	1.0720	167.0	155.8	9.92
17.9	1.36036	1.0724	168.1	156.8	9.99
18.0	1.36053	1.0729	169.3	157.8	10.06
18.1	1.36070	1.0733	170.4	158.8	10.12
18.2	1.36086	1.0738	171.5	159.7	10.19
18.3	1.36102	1.0742	172.6	160.7	10.25
18.4	1.36119	1.0746	173.7	161.6	10.32
18.5	1.36136	1.0751	174.9	162.6	10.39
18.6	1.36152	1.0755	176.0	163.6	10.46
18.7	1.36169	1.0760	177.2	164.6	10.53
18.8	1.36185	1.0764	178.3	165.6	10.59
18.9	1.36201	1.0768	179.4	166.6	10.66
19.0	1.36217	1.0773	180.5	167.6	10.72
19.1	1.36234	1.0777	181.7	168.6	10.80
19.2	1.36251	1.0782	182.8	169.5	10.86
19.3	1.36267	1.0786	183.9	170.5	10.93
19.4	1.36284	1.0791	185.1	171.5	11.00
19.5	1.36301	1.0795	186.3	172.5	11.07
19.6	1.36318	1.0800	187.4	173.5	11.13
19.7	1.36335	1.0804	188.6	174.5	11.21
19.8	1.36351	1.0809	189.7	175.5	11.27
19.9	1.36367	1.0813	190.8	176.5	11.34

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volumétrica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
20.0	1.36383	1.0817	191.9	177.4	11,40
20.1	1.36400	1.0822	193.1	178.4	11,47
20.2	1.36417	1.0826	194.2	179.4	11,54
20.3	1.36434	1.0831	195.3	180.4	11,60
20.4	1.36451	1.0835	196.5	181.4	11,67
20.5	1.36468	1.0840	197.7	182.3	11,75
20.6	1.36484	1.0844	198.8	183.3	11,81
20.7	1.36501	1.0849	200.0	184.3	11,88
20.8	1.36518	1.0853	201.1	185.3	11,96
20.9	1.36534	1.0857	202.2	186.2	12,01
21.0	1.36550	1.0862	203.3	187.2	12,08
21.1	1.36568	1.0866	204.5	188.2	12,15
21.2	1.36585	1.0871	205.7	189.2	12,22
21.3	1.36601	1.0875	206.8	190.2	12,29
21.4	1.36618	1.0880	207.9	191.1	12,35
21.5	1.36635	1.0884	209.1	192.1	12,42
21.6	1.36652	1.0889	210.3	193.1	12,49
21.7	1.36669	1.0893	211.4	194.1	12,56
21.8	1.36685	1.0897	212.5	195.0	12,63
21.9	1.36702	1.0902	213.6	196.0	12,69
22.0	1.36719	1.0906	214.8	196.9	12,76
22.1	1.36736	1.0911	216.0	198.0	12,83
22.2	1.36753	1.0916	217.2	199.0	12,90
22.3	1.36770	1.0920	218.3	199.9	12,97
22.4	1.36787	1.0925	219.5	200.9	13,04
22.5	1.36804	1.0929	220.6	201.8	13,11
22.6	1.36820	1.0933	221.7	202.8	13,17
22.7	1.36837	1.0938	222.9	203.8	13,24
22.8	1.36854	1.0943	224.1	204.8	13,31
22.9	1.36871	1.0947	225.2	205.8	13,38
23.0	1.36888	1.0952	226.4	206.7	13,45
23.1	1.36905	1.0956	227.6	207.7	13,52
23.2	1.36922	1.0961	228.7	208.7	13,59
23.3	1.36939	1.0965	229.9	209.7	13,66
23.4	1.36956	1.0970	231.1	210.7	13,73
23.5	1.36973	1.0975	232.3	211.6	13,80
23.6	1.36991	1.0979	233.4	212.6	13,87
23.7	1.37008	1.0984	234.6	213.6	13,94
23.8	1.37025	1.0988	235.8	214.6	14,01
23.9	1.37042	1.0993	237.0	215.6	14,08
24.0	1.37059	1.0998	238.2	216.6	14,15
24.1	1.37076	1.1007	239.3	217.4	14,22
24.2	1.37093	1.1011	240.3	218.2	14,28
24.3	1.37110	1.1016	241.6	219.4	14,35
24.4	1.37128	1.1022	243.0	220.5	14,44
24.5	1.37145	1.1026	244.0	221.3	14,50
24.6	1.37162	1.1030	245.0	222.1	14,56
24.7	1.37180	1.1035	246.4	223.2	14,64
24.8	1.37197	1.1041	247.7	224.4	14,72
24.9	1.37214	1.1045	248.7	225.2	14,78

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volumétrica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
25.0	1.37232	1.1049	249.7	226.0	14,84
25.1	1.37249	1.1053	250.7	226.8	14,90
25.2	1.37266	1.1057	251.7	227.6	14,96
25.3	1.37283	1.1062	253.0	228.7	15,03
25.4	1.37300	1.1068	254.4	229.9	15,11
25.5	1.37317	1.1072	255.4	230.7	15,17
25.6	1.37335	1.1076	256.4	231.5	15,23
25.7	1.37353	1.1081	257.8	232.6	15,32
25.8	1.37370	1.1087	259.1	233.7	15,39
25.9	1.37387	1.1091	260.1	234.5	15,45
26.0	1.37405	1.1095	261.1	235.3	15,51
26.1	1.37423	1.1100	262.5	236.4	15,60
26.2	1.37440	1.1106	263.8	237.5	15,67
26.3	1.37457	1.1110	264.8	238.3	15,73
26.4	1.37475	1.1114	265.8	239.2	15,79
26.5	1.37493	1.1119	267.2	240.3	15,88
26.6	1.37510	1.1125	268.5	241.4	15,95
26.7	1.37528	1.1129	269.5	242.2	16,01
26.8	1.37545	1.1133	270.5	243.0	16,07
26.9	1.37562	1.1138	271.8	244.1	16,15
27.0	1.37580	1.1144	273.2	245.2	16,23
27.1	1.37598	1.1148	274.2	246.0	16,29
27.2	1.37615	1.1152	275.2	246.8	16,35
27.3	1.37632	1.1157	276.5	247.9	16,43
27.4	1.37650	1.1163	277.9	249.0	16,51
27.5	1.37667	1.1167	278.9	249.8	16,57
27.6	1.37685	1.1171	279.9	250.6	16,63
27.7	1.37703	1.1176	281.3	251.6	16,71
27.8	1.37721	1.1182	282.6	252.7	16,79
27.9	1.37739	1.1186	283.6	253.5	16,85
28.0	1.37757	1.1190	284.6	254.3	16,91
28.1	1.37775	1.1195	286.0	255.4	16,99
28.2	1.37793	1.1201	287.3	256.5	17,07
28.3	1.37810	1.1205	288.3	257.3	17,13
28.4	1.37828	1.1209	289.3	258.1	17,19
28.5	1.37846	1.1214	290.7	259.2	17,27
28.6	1.37863	1.1220	292.0	260.3	17,35
28.7	1.37881	1.1224	293.0	261.0	17,41
28.8	1.37899	1.1228	294.0	261.8	17,47
28.9	1.37917	1.1233	295.3	262.9	17,55
29.0	1.37935	1.1239	296.7	264.0	17,63
29.1	1.37953	1.1244	298.1	265.1	17,71
29.2	1.37971	1.1250	299.4	266.1	17,79
29.3	1.37988	1.1254	300.4	266.9	17,85
29.4	1.38006	1.1258	301.4	267.7	17,91
29.5	1.38024	1.1263	302.8	268.8	17,99
29.6	1.38042	1.1269	304.1	269.9	18,07
29.7	1.38060	1.1273	305.1	270.6	18,13
29.8	1.38078	1.1277	306.1	271.4	18,19
29.9	1.38096	1.1282	307.4	272.5	18,26

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volumétrica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
30.0	1.38114	1.1288	308.8	273.6	18,35
30.1	1.38132	1.1293	310.0	274.5	18,42
30.2	1.38150	1.1298	311.2	275.5	18,49
30.3	1.38168	1.1302	312.4	276.4	18,56
30.4	1.38186	1.1307	313.6	277.3	18,63
30.5	1.38204	1.1312	314.8	278.3	18,70
30.6	1.38222	1.1317	316.0	279.2	18,77
30.7	1.38240	1.1322	317.2	280.2	18,85
30.8	1.38258	1.1327	318.4	281.1	18,92
30.9	1.38276	1.1332	319.6	282.0	18,99
31.0	1.38294	1.1336	320.8	283.0	19,06
31.1	1.38312	1.1341	322.0	283.9	19,13
31.2	1.38330	1.1346	323.2	284.9	19,20
31.3	1.38349	1.1351	324.4	285.8	19,27
31.4	1.38367	1.1356	325.6	286.8	19,35
31.5	1.38385	1.1361	326.8	287.7	19,42
31.6	1.38403	1.1366	328.1	288.6	19,49
31.7	1.38421	1.1371	329.3	289.6	19,56
31.8	1.38440	1.1376	330.5	290.5	19,64
31.9	1.38458	1.1380	331.7	291.5	19,71
32.0	1.38476	1.1385	332.9	292.4	19,78
32.1	1.38494	1.1391	334.2	293.4	19,86
32.2	1.38513	1.1396	335.5	294.4	19,93
32.3	1.38531	1.1401	336.7	295.4	20,00
32.4	1.38550	1.1406	338.0	296.4	20,08
32.5	1.38568	1.1411	339.3	297.3	20,16
32.6	1.38586	1.1416	340.6	298.3	20,24
32.7	1.38605	1.1422	341.9	299.3	20,31
32.8	1.38623	1.1427	343.1	300.3	20,38
32.9	1.38642	1.1432	344.4	301.3	20,46
33.0	1.38660	1.1437	345.7	302.3	20,54
33.1	1.38678	1.1442	346.9	303.2	20,61
33.2	1.38697	1.1447	348.1	304.1	20,68
33.3	1.38715	1.1452	349.3	305.0	20,75
33.4	1.38734	1.1457	350.5	305.9	20,82
33.5	1.38753	1.1461	351.7	306.9	20,90
33.6	1.38771	1.1466	352.9	307.8	20,97
33.7	1.38790	1.1471	354.1	308.7	21,04
33.8	1.38808	1.1476	355.3	309.6	21,11
33.9	1.38827	1.1481	356.5	310.5	21,18
34.0	1.38845	1.1486	357.7	311.4	21,25
34.1	1.38864	1.1491	359.0	312.4	21,33
34.2	1.38882	1.1496	360.3	313.4	21,41
34.3	1.38901	1.1501	361.5	314.3	21,48
34.4	1.38919	1.1506	362.8	315.3	21,55
34.5	1.38938	1.1512	364.1	316.3	21,63
34.6	1.38957	1.1517	365.4	317.3	21,71
34.7	1.38975	1.1522	366.7	318.2	21,79
34.8	1.38994	1.1527	367.9	319.2	21,86
34.9	1.39012	1.1532	369.2	320.2	21,94

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volumétrica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
35.0	1.39031	1.1537	370.5	321.1	22,01
35.1	1.39050	1.1543	371.8	322.1	22,09
35.2	1.39069	1.1548	373.0	323.0	22,16
35.3	1.39087	1.1553	374.3	324.0	22,24
35.4	1.39106	1.1558	375.6	325.0	22,32
35.5	1.39125	1.1563	376.9	325.9	22,39
35.6	1.39144	1.1568	378.1	326.9	22,45
35.7	1.39163	1.1573	379.4	327.8	22,54
35.8	1.39181	1.1579	380.7	328.8	22,62
35.9	1.39200	1.1584	381.9	329.7	22,69
36.0	1.39219	1.1589	383.2	330.7	22,77
36.1	1.39238	1.1594	384.5	331.6	22,85
36.2	1.39257	1.1599	385.8	332.6	22,92
36.3	1.39276	1.1604	387.0	333.5	22,99
36.4	1.39295	1.1610	388.3	334.5	23,07
36.5	1.39314	1.1615	389.6	335.4	23,15
36.6	1.39332	1.1620	390.9	336.4	23,22
36.7	1.39351	1.1625	392.2	337.3	23,30
36.8	1.39370	1.1630	393.4	338.3	23,37
36.9	1.39389	1.1635	394.7	339.2	23,45
37.0	1.39408	1.1641	396.0	340.2	23,53
37.1	1.39427	1.1646	397.3	341.1	23,60
37.2	1.39446	1.1651	398.6	342.1	23,68
37.3	1.39465	1.1656	399.8	343.0	23,75
37.4	1.39484	1.1661	401.1	344.0	23,83
37.5	1.39504	1.1666	402.4	344.9	23,91
37.6	1.39523	1.1672	403.7	345.9	23,99
37.7	1.39542	1.1677	405.0	346.8	24,06
37.8	1.39561	1.1682	406.2	347.7	24,13
37.9	1.39580	1.1687	407.5	348.7	24,21
38.0	1.39599	1.1692	408.8	349.6	24,29
38.1	1.39618	1.1698	410.1	350.6	24,37
38.2	1.39637	1.1703	411.3	351.5	24,44
38.3	1.39657	1.1708	412.6	352.4	24,51
38.4	1.39676	1.1713	413.9	353.4	24,59
38.5	1.39695	1.1718	415.2	354.3	24,67
38.6	1.39714	1.1723	416.4	355.2	24,74
38.7	1.39733	1.1728	417.7	356.1	24,82
38.8	1.39753	1.1733	419.0	357.1	24,90
38.9	1.39772	1.1739	420.2	358.0	24,97
39.0	1.39791	1.1744	421.5	358.9	25,04
39.1	1.39810	1.1749	422.8	359.8	25,12
39.2	1.39830	1.1754	424.1	360.8	25,20
39.3	1.39849	1.1759	425.3	361.7	25,27
39.4	1.39869	1.1764	426.6	362.6	25,35
39.5	1.39888	1.1770	427.9	363.6	25,42
39.6	1.39907	1.1775	429.2	364.5	25,50
39.7	1.39927	1.1780	430.5	365.4	25,58
39.8	1.39946	1.1785	431.7	366.3	25,65
39.9	1.39966	1.1790	433.0	367.3	25,73

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volumétrica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
40.0	1.39985	1.1796	434.3	368.2	25,80
40.1	1.40004	1.1801	435.6	369.2	25,88
40.2	1.40024	1.1806	437.0	370.1	25,96
40.3	1.40043	1.1812	438.3	371.1	26,04
40.4	1.40063	1.1817	439.7	372.1	26,12
40.5	1.40083	1.1823	441.0	373.0	26,20
40.6	1.40102	1.1828	442.3	374.0	26,28
40.7	1.40122	1.1833	443.7	374.9	26,36
40.8	1.40141	1.1839	445.0	375.9	26,44
40.9	1.40161	1.1844	446.4	376.9	26,52
41.0	1.40180	1.1850	447.7	377.8	26,60
41.1	1.40200	1.1855	449.0	378.7	26,68
41.2	1.40219	1.1860	450.2	379.6	26,75
41.3	1.40239	1.1865	451.5	380.5	26,83
41.4	1.40259	1.1870	452.8	381.4	26,90
41.5	1.40279	1.1875	454.1	382.3	26,98
41.6	1.40298	1.1881	455.3	383.2	27,05
41.7	1.40318	1.1886	456.6	384.2	27,13
41.8	1.40338	1.1891	457.9	385.1	27,21
41.9	1.40357	1.1896	459.1	386.0	27,28
42.0	1.40377	1.1901	460.4	386.9	27,35
42.1	1.40397	1.1907	461.7	387.8	27,43
42.2	1.40417	1.1912	463.1	388.8	27,52
42.3	1.40436	1.1917	464.4	389.7	27,59
42.4	1.40456	1.1923	465.8	390.7	27,68
42.5	1.40476	1.1928	467.2	391.6	27,76
42.6	1.40496	1.1934	468.5	392.6	27,84
42.7	1.40516	1.1939	469.9	393.5	27,92
42.8	1.40535	1.1945	471.2	394.5	28,00
42.9	1.40555	1.1950	472.6	395.4	28,08
43.0	1.40575	1.1956	473.9	396.4	28,16
43.1	1.40595	1.1961	475.2	397.3	28,23
43.2	1.40615	1.1967	476.6	398.3	28,32
43.3	1.40635	1.1972	477.9	399.2	28,40
43.4	1.40655	1.1977	479.3	400.1	28,48
43.5	1.40675	1.1983	480.6	401.1	28,56
43.6	1.40695	1.1988	481.9	402.0	28,63
43.7	1.40715	1.1994	483.3	402.9	28,72
43.8	1.40735	1.1999	484.6	403.9	28,79
43.9	1.40755	1.2005	486.0	404.8	28,88
44.0	1.40775	1.2010	487.3	405.7	28,95
44.1	1.40795	1.2015	488.6	406.7	29,03
44.2	1.40815	1.2021	490.0	407.6	29,11
44.3	1.40836	1.2026	491.3	408.5	29,19
44.4	1.40856	1.2032	492.7	409.5	29,27
44.5	1.40876	1.2037	494.0	410.4	29,35
44.6	1.40896	1.2042	495.3	411.3	29,43
44.7	1.40916	1.2048	496.7	412.3	29,51
44.8	1.40937	1.2053	498.0	413.2	29,59
44.9	1.40957	1.2059	499.4	414.1	29,67

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volumétrica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
45.0	1.40977	1.2064	500.7	415.0	29,75
45.1	1.40997	1.2070	502.1	416.0	29,83
45.2	1.41018	1.2076	503.5	417.0	29,92
45.3	1.41038	1.2081	504.9	417.9	30,00
45.4	1.41058	1.2087	506.3	418.9	30,08
45.5	1.41079	1.2093	507.8	419.9	30,17
45.6	1.41099	1.2098	509.2	420.9	30,25
45.7	1.41119	1.2104	510.6	421.8	30,34
45.8	1.41139	1.2110	512.0	422.8	30,42
45.9	1.41160	1.2115	513.4	423.7	30,50
46.0	1.41180	1.2121	514.8	424.7	30,59
46.1	1.41200	1.2127	516.1	425.6	30,66
46.2	1.41221	1.2132	517.5	426.5	30,75
46.3	1.41241	1.2137	518.8	427.5	30,82
46.4	1.41262	1.2143	520.2	428.4	30,91
46.5	1.41282	1.2148	521.5	429.3	30,99
46.6	1.41302	1.2154	522.8	430.2	31,06
46.7	1.41323	1.2159	524.2	431.1	31,15
46.8	1.41343	1.2165	525.5	432.0	31,22
46.9	1.41364	1.2170	526.9	432.9	31,31
47.0	1.41384	1.2175	528.2	433.8	31,38
47.1	1.41405	1.2181	529.6	434.8	31,47
47.2	1.41425	1.2187	531.0	435.7	31,55
47.3	1.41446	1.2192	532.4	436.7	31,63
47.4	1.41466	1.2198	533.8	437.6	31,72
47.5	1.41487	1.2204	535.3	438.6	31,81
47.6	1.41508	1.2210	536.7	439.5	31,89
47.7	1.41528	1.2215	538.1	440.5	31,97
47.8	1.41549	1.2221	539.5	441.4	32,05
47.9	1.41569	1.2227	540.9	442.4	32,14
48.0	1.41590	1.2232	542.3	443.3	32,22
48.1	1.41611	1.2238	543.6	444.2	32,30
48.2	1.41632	1.2243	545.0	445.1	32,38
48.3	1.41652	1.2249	546.3	446.0	32,46
48.4	1.41673	1.2254	547.7	446.9	32,59
48.5	1.41694	1.2260	549.1	447.8	32,63
48.6	1.41715	1.2265	550.4	448.7	32,70
48.7	1.41736	1.2271	551.8	449.7	32,79
48.8	1.41756	1.2276	553.1	450.6	32,86
48.9	1.41777	1.2282	554.5	451.4	32,95
49.0	1.41798	1.2287	555.8	452.3	33,02
49.1	1.41819	1.2293	557.2	453.3	33,11
49.2	1.41840	1.2298	558.6	454.2	33,19
49.3	1.41861	1.2304	560.0	455.1	33,27
49.4	1.41882	1.2310	561.4	456.1	33,36
49.5	1.41903	1.2315	562.8	457.0	33,44
49.6	1.41924	1.2321	564.2	457.9	33,52
49.7	1.41945	1.2327	565.6	458.8	33,61
49.8	1.41966	1.2332	567.0	459.8	33,69
49.9	1.41987	1.2338	568.4	460.7	33,77

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volúmica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
50.0	1.42008	1.2344	569.8	461.6	33,86
50.1	1.42029	1.2349	571.2	462.5	33,94
50.2	1.42050	1.2355	572.6	463.5	34,02
50.3	1.42071	1.2361	574.0	464.4	34,10
50.4	1.42092	1.2366	575.4	465.3	34,19
50.5	1.42114	1.2372	576.9	466.2	34,28
50.6	1.42135	1.2378	578.3	467.2	34,36
50.7	1.42156	1.2384	579.7	468.1	34,44
50.8	1.42177	1.2389	581.1	469.0	34,53
50.9	1.42198	1.2395	582.5	469.9	34,61
51.0	1.42219	1.2401	583.9	470.9	34,69
51.1	1.42240	1.2407	585.4	471.8	34,78
51.2	1.42261	1.2413	586.9	472.8	34,87
51.3	1.42283	1.2419	588.3	473.8	34,95
51.4	1.42304	1.2425	589.8	474.7	35,04
51.5	1.42325	1.2431	591.3	475.7	35,13
51.6	1.42346	1.2437	592.8	476.6	35,22
51.7	1.42367	1.2443	594.3	477.6	35,31
51.8	1.42389	1.2449	595.7	478.6	35,39
51.9	1.42410	1.2455	597.2	479.5	35,48
52.0	1.42431	1.2461	598.7	480.5	35,57
52.1	1.42452	1.2466	600.1	481.4	35,65
52.2	1.42474	1.2472	601.5	482.3	35,74
52.3	1.42495	1.2478	602.9	483.2	35,82
52.4	1.42517	1.2483	604.3	484.1	35,91
52.5	1.42538	1.2489	605.8	485.0	35,99
52.6	1.42559	1.2495	607.2	485.9	36,08
52.7	1.42581	1.2500	608.6	486.8	36,16
52.8	1.42602	1.2506	610.0	487.7	36,24
52.9	1.42624	1.2512	611.4	488.6	36,33
53.0	1.42645	1.2518	612.8	489.6	36,41
53.1	1.42666	1.2524	614.3	490.5	36,50
53.2	1.42686	1.2530	615.8	491.4	36,59
53.3	1.42707	1.2536	617.2	492.4	36,67
53.4	1.42727	1.2542	618.7	493.3	36,76
53.5	1.42748	1.2548	620.2	494.3	36,85
53.6	1.42769	1.2554	621.7	495.2	36,94
53.7	1.42789	1.2560	623.2	496.2	37,03
53.8	1.42810	1.2566	624.6	497.1	37,11
53.9	1.42830	1.2571	626.1	498.0	37,20
54.0	1.42851	1.2577	627.6	499.0	37,29
54.1	1.42874	1.2583	629.0	499.9	37,37
54.2	1.42897	1.2589	630.4	500.8	37,45
54.3	1.42919	1.2595	631.8	501.7	37,54
54.4	1.42942	1.2600	633.2	502.6	37,62
54.5	1.42965	1.2606	634.7	503.5	37,71
54.6	1.42988	1.2612	636.1	504.3	37,79
54.7	1.43011	1.2617	637.5	505.2	37,88
54.8	1.43033	1.2623	638.9	506.1	37,96
54.9	1.43056	1.2629	640.3	507.0	38,04

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volúmica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
55.0	1.43079	1.2635	641.7	507.9	38,11
55.1	1.43101	1.2640	643.2	508.8	38,22
55.2	1.43123	1.2646	644.6	509.7	38,30
55.3	1.43145	1.2652	646.1	510.7	38,39
55.4	1.43167	1.2658	647.6	511.6	38,48
55.5	1.43189	1.2664	649.1	512.5	38,57
55.6	1.43210	1.2670	650.5	513.4	38,65
55.7	1.43232	1.2676	652.0	514.3	38,74
55.8	1.43254	1.2682	653.5	515.3	38,83
55.9	1.43276	1.2688	654.9	516.2	38,91
56.0	1.43298	1.2694	656.4	517.1	39,00
56.1	1.43320	1.2700	657.9	518.0	39,09
56.2	1.43342	1.2706	659.4	518.9	39,18
56.3	1.43364	1.2712	660.8	519.9	39,26
56.4	1.43386	1.2718	662.3	520.8	39,35
56.5	1.43409	1.2724	663.8	521.7	39,44
56.6	1.43431	1.2730	665.3	522.6	39,53
56.7	1.43453	1.2736	666.8	523.5	39,62
56.8	1.43475	1.2742	668.2	524.4	39,70
56.9	1.43497	1.2748	669.7	525.4	39,79
57.0	1.43519	1.2754	671.2	526.3	39,88
57.1	1.43541	1.2760	672.7	527.2	39,97
57.2	1.43563	1.2766	674.3	528.2	40,06
57.3	1.43586	1.2773	675.8	529.1	40,15
57.4	1.43608	1.2779	677.4	530.1	40,25
57.5	1.43630	1.2785	678.9	531.0	40,34
57.6	1.43652	1.2791	680.4	532.0	40,43
57.7	1.43674	1.2797	682.0	532.9	40,52
57.8	1.43697	1.2804	683.5	533.8	40,61
57.9	1.43719	1.2810	685.1	534.8	40,70
58.0	1.43741	1.2816	686.6	535.7	40,80
58.1	1.43763	1.2822	688.1	536.6	40,88
58.2	1.43786	1.2828	689.6	537.5	40,97
58.3	1.43808	1.2834	691.0	538.4	41,06
58.4	1.43831	1.2840	692.5	539.3	41,14
58.5	1.43854	1.2846	694.0	540.2	41,23
58.6	1.43876	1.2852	695.5	541.1	41,32
58.7	1.43899	1.2858	697.0	542.0	41,41
58.8	1.43921	1.2864	698.4	542.9	41,50
58.9	1.43944	1.2870	699.9	543.8	41,58
59.0	1.43966	1.2876	701.4	544.7	41,67
59.1	1.43989	1.2882	702.9	545.7	41,76
59.2	1.44011	1.2888	704.5	546.6	41,86
59.3	1.44034	1.2895	706.0	547.5	41,95
59.4	1.44056	1.2901	707.6	548.5	42,04
59.5	1.44079	1.2907	709.1	549.4	42,13
59.6	1.44102	1.2913	710.6	550.3	42,22
59.7	1.44124	1.2920	712.2	551.2	42,32
59.8	1.44147	1.2926	713.7	552.2	42,41
59.9	1.44169	1.2932	715.3	553.1	42,50

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volumétrica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
60.0	1.44192	1.2938	716.8	554.0	42.59
60.1	1.44215	1.2944	718.3	554.9	42.68
60.2	1.44237	1.2950	719.8	555.8	42.77
60.3	1.44260	1.2956	721.2	556.7	42.85
60.4	1.44283	1.2962	722.7	557.6	42.94
60.5	1.44306	1.2968	724.2	558.4	43.03
60.6	1.44328	1.2974	725.7	559.3	43.12
60.7	1.44351	1.2980	727.2	560.2	43.21
60.8	1.44374	1.2986	728.6	561.1	43.29
60.9	1.44396	1.2992	730.1	562.0	43.38
61.0	1.44419	1.2998	731.6	562.8	43.47
61.1	1.44442	1.3004	733.1	563.8	43.56
61.2	1.44465	1.3011	734.7	564.7	43.65
61.3	1.44488	1.3017	736.2	565.6	43.74
61.4	1.44511	1.3023	737.8	566.5	43.84
61.5	1.44533	1.3030	739.4	567.4	43.93
61.6	1.44556	1.3036	740.9	568.4	44.02
61.7	1.44579	1.3042	742.5	569.3	44.12
61.8	1.44602	1.3048	744.0	570.2	44.21
61.9	1.44625	1.3055	745.6	571.1	44.30
62.0	1.44648	1.3061	747.1	572.0	44.39
62.1	1.44671	1.3067	748.6	572.9	44.48
62.2	1.44694	1.3073	750.2	573.8	44.57
62.3	1.44717	1.3080	751.7	574.7	44.66
62.4	1.44740	1.3086	753.3	575.6	44.76
62.5	1.44764	1.3092	754.8	576.5	44.85
62.6	1.44787	1.3098	756.3	577.4	44.94
62.7	1.44810	1.3104	757.9	578.3	45.03
62.8	1.44833	1.3111	759.4	579.2	45.12
62.9	1.44856	1.3117	761.0	580.1	45.21
63.0	1.44879	1.3123	762.5	581.0	45.31
63.1	1.44902	1.3130	764.1	582.0	45.40
63.2	1.44926	1.3136	765.7	582.9	45.49
63.3	1.44949	1.3143	767.3	583.8	45.59
63.4	1.44972	1.3149	768.9	584.8	45.69
63.5	1.44996	1.3156	770.6	585.7	45.79
63.6	1.45019	1.3162	772.2	586.6	45.88
63.7	1.45042	1.3169	773.8	587.6	45.98
63.8	1.45065	1.3175	775.4	588.5	46.07
63.9	1.45089	1.3182	777.0	589.4	46.17
64.0	1.45112	1.3188	778.6	590.4	46.26
64.1	1.45135	1.3195	780.1	591.3	46.35
64.2	1.45159	1.3201	781.7	592.1	46.45
64.3	1.45183	1.3207	783.2	593.0	46.53
64.4	1.45206	1.3213	784.8	593.9	46.63
64.5	1.45230	1.3219	786.3	594.8	46.72
64.6	1.45253	1.3226	787.8	595.7	46.81
64.7	1.45276	1.3232	789.4	596.6	46.90
64.8	1.45300	1.3238	790.9	597.5	46.99
64.9	1.45324	1.3244	792.5	598.3	47.09

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volumétrica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol a 20 °C
65.0	1.45347	1.3251	794.0	599.2	47.18
65.1	1.45371	1.3257	795.6	600.1	47.27
65.2	1.45394	1.3264	797.2	601.1	47.37
65.3	1.45418	1.3270	798.8	602.0	47.46
65.4	1.45441	1.3277	800.4	602.9	47.56
65.5	1.45465	1.3283	802.1	603.8	47.66
65.6	1.45489	1.3290	803.7	604.7	47.75
65.7	1.45512	1.3296	805.3	605.6	47.85
65.8	1.45536	1.3303	806.9	606.6	47.94
65.9	1.45559	1.3309	808.5	607.5	48.04
66.0	1.45583	1.3316	810.1	608.4	48.13
66.1	1.45607	1.3322	811.6	609.3	48.22
66.2	1.45630	1.3328	813.2	610.1	48.32
66.3	1.45654	1.3335	814.8	611.0	48.41
66.4	1.45678	1.3341	816.3	611.9	48.50
66.5	1.45702	1.3347	817.9	612.8	48.60
66.6	1.45725	1.3353	819.4	613.6	48.69
66.7	1.45749	1.3360	820.9	614.5	48.77
66.8	1.45773	1.3366	822.5	615.4	48.87
66.9	1.45796	1.3372	824.1	616.2	48.97
67.0	1.45820	1.3378	825.6	617.1	49.05
67.1	1.45844	1.3385	827.2	618.0	49.15
67.2	1.45868	1.3391	828.8	618.9	49.24
67.3	1.45892	1.3398	830.4	619.8	49.34
67.4	1.45916	1.3404	832.0	620.7	49.43
67.5	1.45940	1.3411	833.7	621.6	49.53
67.6	1.45964	1.3418	835.3	622.5	49.63
67.7	1.45988	1.3424	836.9	623.4	49.73
67.8	1.46012	1.3431	838.5	624.3	49.82
67.9	1.46036	1.3437	840.1	625.2	49.92
68.0	1.46060	1.3444	841.7	626.1	50.01
68.1	1.46084	1.3450	843.4	627.0	50.11
68.2	1.46108	1.3457	845.1	628.0	50.21
68.3	1.46132	1.3464	846.7	628.9	50.31
68.4	1.46156	1.3471	848.4	629.8	50.41
68.5	1.46181	1.3478	850.1	630.8	50.51
68.6	1.46205	1.3484	851.8	631.7	50.61
68.7	1.46229	1.3491	853.5	632.6	50.71
68.8	1.46253	1.3498	855.1	633.5	50.81
68.9	1.46277	1.3505	856.8	634.5	50.91
69.0	1.46301	1.3512	858.5	635.4	51.01
69.1	1.46325	1.3518	860.1	636.3	51.10
69.2	1.46350	1.3525	861.7	637.2	51.20
69.3	1.46374	1.3531	863.3	638.0	51.29
69.4	1.46398	1.3538	864.9	638.9	51.39
69.5	1.46423	1.3544	866.6	639.8	51.49
69.6	1.46447	1.3551	868.2	640.7	51.58
69.7	1.46471	1.3557	869.8	641.6	51.68
69.8	1.46495	1.3564	871.4	642.4	51.78
69.9	1.46520	1.3570	873.0	643.3	51.87

Sacarosa % (m/m)	Índice de refracción a 20 °C	Masa volumétrica a 20 °C	Azúcar en g/l	Azúcar en g/kg	Grado alcohólico % vol 20 °C
70.0	1.46544	1.3577	874.6	644.2	51,97
70.1	1.46558	1.3583	876.2	645.1	52,06
70.2	1.46593	1.3590	877.8	645.9	52,15
70.3	1.46618	1.3596	879.4	646.8	52,25
70.4	1.46642	1.3603	881.0	647.7	52,35
70.5	1.46667	1.3609	882.7	648.6	52,45
70.6	1.46691	1.3616	884.3	649.4	52,54
70.7	1.46715	1.2622	885.9	650.3	52,64
70.8	1.46740	1.3629	887.5	651.2	52,73
70.9	1.46765	1.3635	889.1	652.1	52,83
71.0	1.46789	1.3642	890.7	652.9	52,92
71.1	1.46814	1.3649	892.4	653.8	53,02
71.2	1.46838	1.3655	894.1	654.7	53,12
71.3	1.46863	1.3662	895.7	655.6	53,22
71.4	1.46888	1.3669	897.4	656.5	53,32
71.5	1.46913	1.3676	899.1	657.4	53,42
71.6	1.46937	1.3683	900.8	658.3	53,52
71.7	1.46962	1.3689	902.5	659.2	53,62
71.8	1.46987	1.3696	904.1	660.1	53,72
71.9	1.47011	1.3703	905.8	661.0	53,82
72.0	1.47036	1.3710	907.5	661.9	53,92
72.1	1.47061	1.3717	909.2	662.8	54,02
72.2	1.47086	1.3723	910.8	663.7	54,12
72.3	1.47110	1.3730	912.5	664.6	54,22
72.4	1.47135	1.3737	914.2	665.5	54,32
72.5	1.47160	1.3744	915.9	666.4	54,42
72.6	1.47185	1.3750	917.5	667.3	54,51
72.7	1.47210	1.3757	919.2	668.2	54,62
72.8	1.47234	1.3764	920.9	669.0	54,72
72.9	1.47259	1.3771	922.5	669.9	54,81
73.0	1.47284	1.3777	924.2	670.8	54,91
73.1	1.47309	1.3784	925.9	671.7	55,01
73.2	1.47334	1.3791	927.6	672.6	55,11
73.3	1.47359	1.3798	929.2	673.5	55,21
73.4	1.47384	1.3804	930.9	674.4	55,31
73.5	1.47409	1.3811	932.6	675.2	55,41
73.6	1.47434	1.3818	934.3	676.1	55,51
73.7	1.47459	1.3825	936.0	677.0	55,61
73.8	1.47484	1.3832	937.6	677.9	55,71
73.9	1.47509	1.3838	939.3	678.8	55,81
74.0	1.47534	1.3845	941.0	679.7	55,91
74.1	1.47559	1.3852	942.7	680.5	56,01
74.2	1.47584	1.3859	944.4	681.4	56,11
74.3	1.47609	1.3866	946.0	682.3	56,21
74.4	1.47634	1.3872	947.7	683.2	56,31
74.5	1.47660	1.3879	949.4	684.0	56,41
74.6	1.47685	1.3886	951.1	684.9	56,51
74.7	1.47710	1.3893	952.8	685.8	56,61
74.8	1.47735	1.3900	954.4	686.7	56,71
74.9	1.47760	1.3906	956.1	687.5	56,81

*Fuente:* (PCE, Manual de Instrucciones, s.f.)

*Apéndice K.* Transformación de los Grados Alcohólicos según la Normas INEN 360

**Uso de las tablas para determinar el grado alcohólico en vinos, en base a la densidad.**

- 1) Buscar sobre la línea horizontal, correspondiente a la temperatura total, luego en esta misma columna encontrar la densidad más pequeña que sea superior a la antes ya calculada y designarla como  $d'$ .
- 2) Multiplicar la cifra decimal de la temperatura (correspondiente a la muestra) por la diferencia tabular que se encuentra en la tabla (debajo de la densidad  $d'$ )
- 3) Sumar el valor obtenido a la densidad determinada experimentalmente, para tener así, la
- 4) densidad a la temperatura tomada (cifra entera)
- 5) Encontrar la diferencia entre esta última densidad y  $d'$  y dividirla por el valor tubular que se lee en la tabla, a la derecha de  $d'$ .
- 6) El cociente establece la parte decimal del grado alcohólico, la que debe sumarse a la parte entera que se encuentra en el encabezamiento de la columna correspondiente a  $d'$ .

ANEXO A

TABLA 1. Grado alcohólico en función de la densidad y la temperatura.

		GRADO ALCOHOLICO VOLUMÉTRICO*																							
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
TEMPERATURAS	10°	999 61	1 50	998 11	1 46	996 65	1 43	995 22	1 39	993 83	1 34	992 40	1 30	991 19	1 25	989 94	1 19	988 75	1 16	987 59	1 15	986 46	1 11	985 5	1 08
	11°	999 52 <sup>9</sup>	1 49	998 03 <sup>8</sup>	1 45	996 57 <sup>8</sup>	1 44	995 13 <sup>9</sup>	1 39	993 74 <sup>9</sup>	1 35	992 30 <sup>10</sup>	1 29	991 10 <sup>9</sup>	1 26	989 94 <sup>10</sup>	1 20	988 64 <sup>11</sup>	1 16	987 48 <sup>11</sup>	1 14	986 34 <sup>12</sup>	1 12	985 22 <sup>13</sup>	1 09
	12°	999 42 <sup>10</sup>	1 49	997 93 <sup>10</sup>	1 45	996 47 <sup>10</sup>	1 44	995 03 <sup>10</sup>	1 39	993 64 <sup>10</sup>	1 35	992 20 <sup>11</sup>	1 30	990 99 <sup>11</sup>	1 26	989 73 <sup>11</sup>	1 21	988 52 <sup>12</sup>	1 16	987 36 <sup>12</sup>	1 15	986 21 <sup>13</sup>	1 14	985 07 <sup>15</sup>	1 09
	13°	999 31 <sup>11</sup>	1 49	997 82 <sup>11</sup>	1 45	996 36 <sup>11</sup>	1 44	994 92 <sup>11</sup>	1 39	993 53 <sup>11</sup>	1 35	992 18 <sup>11</sup>	1 31	990 87 <sup>12</sup>	1 26	989 61 <sup>12</sup>	1 21	988 40 <sup>12</sup>	1 18	987 22 <sup>14</sup>	1 16	986 06 <sup>15</sup>	1 14	984 92 <sup>16</sup>	1 11
	14°	999 19 <sup>12</sup>	1 49	997 70 <sup>12</sup>	1 47	996 23 <sup>13</sup>	1 43	994 80 <sup>12</sup>	1 40	993 40 <sup>13</sup>	1 35	992 05 <sup>13</sup>	1 31	990 74 <sup>13</sup>	1 26	989 48 <sup>13</sup>	1 22	988 26 <sup>14</sup>	1 19	987 07 <sup>15</sup>	1 16	985 91 <sup>16</sup>	1 15	984 76 <sup>17</sup>	1 12
	15°	999 05 <sup>14</sup>	1 49	997 56 <sup>14</sup>	1 45	996 10 <sup>15</sup>	1 44	994 66 <sup>14</sup>	1 40	993 26 <sup>14</sup>	1 35	991 91 <sup>15</sup>	1 31	990 60 <sup>15</sup>	1 27	989 33 <sup>16</sup>	1 25	988 10 <sup>16</sup>	1 19	986 91 <sup>17</sup>	1 17	985 74 <sup>18</sup>	1 16	984 58 <sup>19</sup>	1 13
	16°	998 91 <sup>16</sup>	1 49	997 42 <sup>16</sup>	1 47	995 95 <sup>15</sup>	1 43	994 52 <sup>16</sup>	1 40	993 12 <sup>16</sup>	1 36	991 76 <sup>16</sup>	1 32	990 44 <sup>16</sup>	1 27	989 17 <sup>17</sup>	1 23	987 94 <sup>18</sup>	1 20	986 74 <sup>18</sup>	1 18	985 56 <sup>19</sup>	1 17	984 39 <sup>20</sup>	1 14
	17°	998 75 <sup>17</sup>	1 49	997 26 <sup>17</sup>	1 45	995 80 <sup>17</sup>	1 44	994 36 <sup>17</sup>	1 40	992 96 <sup>18</sup>	1 36	991 60 <sup>18</sup>	1 32	990 28 <sup>18</sup>	1 28	989 00 <sup>18</sup>	1 24	987 76 <sup>18</sup>	1 20	986 56 <sup>19</sup>	1 19	985 37 <sup>20</sup>	1 18	984 19 <sup>21</sup>	1 15
	18°	998 58 <sup>18</sup>	1 49	997 09 <sup>18</sup>	1 45	995 63 <sup>18</sup>	1 44	994 19 <sup>18</sup>	1 41	992 78 <sup>18</sup>	1 36	991 42 <sup>19</sup>	1 32	990 10 <sup>19</sup>	1 28	988 62 <sup>19</sup>	1 24	987 58 <sup>20</sup>	1 21	986 37 <sup>21</sup>	1 20	985 17 <sup>22</sup>	1 19	983 98 <sup>23</sup>	1 16
	19°	998 40 <sup>19</sup>	1 49	996 91 <sup>19</sup>	1 45	995 45 <sup>20</sup>	1 44	994 01 <sup>20</sup>	1 41	992 60 <sup>19</sup>	1 37	991 23 <sup>19</sup>	1 32	989 91 <sup>20</sup>	1 29	988 62 <sup>20</sup>	1 24	987 38 <sup>21</sup>	1 22	986 16 <sup>22</sup>	1 20	984 96 <sup>23</sup>	1 20	983 76 <sup>24</sup>	1 17
	20°	998 21 <sup>20</sup>	1 49	996 72 <sup>20</sup>	1 47	995 25 <sup>20</sup>	1 44	993 81 <sup>20</sup>	1 40	992 41 <sup>21</sup>	1 37	991 04 <sup>21</sup>	1 33	989 71 <sup>21</sup>	1 29	988 42 <sup>22</sup>	1 25	987 17 <sup>22</sup>	1 23	985 94 <sup>23</sup>	1 21	984 73 <sup>24</sup>	1 20	983 53 <sup>25</sup>	1 18
	21°	998 01 <sup>21</sup>	1 49	996 52 <sup>21</sup>	1 47	995 05 <sup>21</sup>	1 44	993 61 <sup>21</sup>	1 41	992 20 <sup>21</sup>	1 37	990 83 <sup>22</sup>	1 33	989 50 <sup>22</sup>	1 30	988 20 <sup>22</sup>	1 25	986 95 <sup>23</sup>	1 23	985 72 <sup>24</sup>	1 22	984 50 <sup>25</sup>	1 21	983 23 <sup>26</sup>	1 19
	22°	997 80 <sup>22</sup>	1 49	996 31 <sup>22</sup>	1 47	994 84 <sup>22</sup>	1 44	993 40 <sup>23</sup>	1 41	991 99 <sup>23</sup>	1 38	990 61 <sup>23</sup>	1 33	989 28 <sup>23</sup>	1 30	987 98 <sup>24</sup>	1 26	986 72 <sup>25</sup>	1 24	985 48 <sup>25</sup>	1 22	984 26 <sup>26</sup>	1 23	983 03 <sup>27</sup>	1 20
	23°	997 58 <sup>24</sup>	1 49	996 09 <sup>24</sup>	1 47	994 62 <sup>24</sup>	1 45	993 17 <sup>23</sup>	1 41	991 76 <sup>24</sup>	1 38	990 38 <sup>24</sup>	1 33	989 05 <sup>24</sup>	1 31	987 74 <sup>25</sup>	1 27	986 47 <sup>25</sup>	1 24	985 23 <sup>26</sup>	1 23	984 00 <sup>27</sup>	1 23	982 77 <sup>28</sup>	1 21
	24°	997 34 <sup>24</sup>	1 49	995 85 <sup>24</sup>	1 47	994 38 <sup>24</sup>	1 44	992 94 <sup>25</sup>	1 42	991 52 <sup>25</sup>	1 38	990 14 <sup>25</sup>	1 34	988 80 <sup>25</sup>	1 31	987 49 <sup>26</sup>	1 27	986 22 <sup>26</sup>	1 25	984 97 <sup>27</sup>	1 24	983 73 <sup>28</sup>	1 23	982 50 <sup>29</sup>	1 22
	25°	997 10 <sup>25</sup>	1 49	995 61 <sup>25</sup>	1 47	994 14 <sup>25</sup>	1 45	992 69 <sup>25</sup>	1 42	991 27 <sup>25</sup>	1 38	989 89 <sup>26</sup>	1 34	988 55 <sup>26</sup>	1 31	987 24 <sup>27</sup>	1 28	985 96 <sup>27</sup>	1 26	984 70 <sup>28</sup>	1 24	983 46 <sup>29</sup>	1 25	982 21 <sup>30</sup>	1 23
	26°	996 85 <sup>26</sup>	1 49	995 36 <sup>26</sup>	1 47	993 89 <sup>27</sup>	1 45	992 44 <sup>27</sup>	1 42	991 03 <sup>27</sup>	1 39	989 63 <sup>27</sup>	1 34	988 29 <sup>26</sup>	1 32	986 97 <sup>28</sup>	1 28	985 69 <sup>29</sup>	1 26	984 43 <sup>29</sup>	1 26	983 17 <sup>30</sup>	1 25	981 92 <sup>31</sup>	1 24
	27°	996 59 <sup>27</sup>	1 49	995 10 <sup>28</sup>	1 48	993 62 <sup>27</sup>	1 45	992 17 <sup>27</sup>	1 42	990 75 <sup>28</sup>	1 39	989 36 <sup>28</sup>	1 35	988 01 <sup>28</sup>	1 32	986 69 <sup>29</sup>	1 29	985 40 <sup>29</sup>	1 26	984 14 <sup>30</sup>	1 26	982 8	1 27	981 61 <sup>31</sup>	1 24
	28°	996 32 <sup>28</sup>	1 50	994 82 <sup>28</sup>	1 47	993 35 <sup>28</sup>	1 45	991 90 <sup>29</sup>	1 43	990 47 <sup>28</sup>	1 39	989 08 <sup>28</sup>	1 35	987 73 <sup>28</sup>	1 33	986 40 <sup>29</sup>	1 29	985 11 <sup>30</sup>	1 27	983 84 <sup>31</sup>	1 27	982 57 <sup>31</sup>	1 27	981 30 <sup>32</sup>	1 26
	29°	996 04 <sup>29</sup>	1 50	994 54 <sup>29</sup>	1 47	993 07 <sup>29</sup>	1 46	991 61 <sup>29</sup>	1 42	990 19 <sup>29</sup>	1 39	988 80 <sup>29</sup>	1 36	987 44 <sup>29</sup>	1 33	986 11 <sup>30</sup>	1 30	984 81 <sup>31</sup>	1 28	983 53 <sup>31</sup>	1 27	982 26 <sup>32</sup>	1 28	980 93 <sup>33</sup>	1 27
30°	995 75	1 50	994 25	1 47	992 78	1 46	991 32	1 43	989 89	1 39	988 50	1 36	987 14	1 34	986 80	1 30	984 50	1 28	983 22	1 28	981 94	1 29	980 65	1 30	

NTE INEN 390

1978-04

**TABLA 1. (Continuación)**  
**GRADO ALCOHOLICO VOLUMÉTRICO\***

TEMPERATURAS	GRADO ALCOHOLICO VOLUMÉTRICO*																							
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30			
10°	986 46	1 11	985 35	1 08	984 27	1 04	983 23	1 02	982 21	9 9	981 22	98	980 24	94	979 30	94	978 36	91	977 45	89	976 56	90	975 68	91
11°	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
11°	986 34	1 12	985 22	1 09	984 13	1 05	983 08	1 03	982 05	1 01	981 04	99	980 05	96	979 09	95	978 14	93	977 21	90	976 31	92	975 39	93
12°	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
12°	986 21	1 14	985 07	1 09	983 98	1 07	982 91	1 04	981 87	1 02	981 85	1 00	979 85	98	978 87	96	977 91	95	976 96	92	976 04	93	975 11	95
13°	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
13°	986 06	1 14	984 92	1 11	983 81	1 07	982 74	1 06	981 68	1 03	980 65	1 02	979 63	99	978 64	98	977 66	96	976 70	93	975 77	96	974 81	96
14°	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
14°	985 91	1 15	984 66	1 12	983 54	1 09	982 55	1 06	981 49	1 05	980 44	1 03	979 41	1 01	978 40	99	977 41	97	976 44	96	975 48	97	974 51	98
15°	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
15°	985 74	1 16	984 58	1 13	983 45	1 10	982 35	1 08	981 27	1 05	980 22	1 05	979 17	1 02	978 15	1 00	977 15	99	976 10	97	975 19	99	974 20	1 00
16°	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
16°	985 56	1 17	984 39	1 14	983 25	1 11	982 14	1 09	981 05	1 07	979 98	1 05	978 93	1 04	977 89	1 02	976 97	1 00	975 87	99	974 88	1 00	973 88	1 01
17°	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
17°	985 37	1 18	984 19	1 15	983 04	1 12	981 92	1 10	980 82	1 08	979 74	1 07	978 67	1 05	977 62	1 03	976 39	1 02	975 51	1 00	974 57	1 02	973 55	1 03
18°	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43
18°	985 17	1 19	983 98	1 16	982 82	1 13	981 69	1 11	980 58	1 10	979 48	1 08	978 40	1 06	977 34	1 05	976 29	1 03	975 28	1 01	974 25	1 04	973 21	1 05
19°	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
19°	984 96	1 20	983 76	1 17	982 59	1 14	981 45	1 12	980 33	1 11	979 22	1 10	978 12	1 07	977 05	1 06	975 39	1 03	976 94	1 03	973 91	1 05	972 86	1 06
20°	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46
20°	984 73	1 20	983 53	1 18	982 35	1 16	981 19	1 13	980 06	1 12	978 94	1 10	977 84	1 09	976 75	1 03	975 67	1 06	974 61	1 04	973 57	1 07	972 50	1 08
21°	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46
21°	984 50	1 21	983 23	1 19	982 10	1 17	980 93	1 14	979 79	1 13	978 66	1 12	977 54	1 10	976 44	1 09	975 35	1 08	974 27	1 05	973 22	1 08	972 14	1 10
22°	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47
22°	984 26	1 23	983 03	1 20	981 83	1 17	980 66	1 16	979 50	1 14	978 36	1 13	977 23	1 11	976 12	1 10	975 02	1 09	973 93	1 07	972 86	1 10	971 76	1 11
23°	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49
23°	984 00	1 23	982 77	1 21	981 55	1 18	980 38	1 17	979 21	1 15	978 06	1 14	976 92	1 13	975 79	1 11	974 88	1 11	973 57	1 08	972 49	1 11	971 38	1 13
24°	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
24°	983 73	1 23	982 50	1 22	981 28	1 20	980 08	1 17	978 91	1 17	977 74	1 15	976 59	1 14	975 45	1 13	974 32	1 11	973 21	1 10	972 11	1 13	970 98	1 14
25°	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
25°	983 46	1 25	982 21	1 23	980 98	1 20	979 78	1 19	978 59	1 17	977 42	1 17	976 25	1 14	975 11	1 15	973 96	1 15	972 83	1 11	971 72	1 14	970 58	1 15
26°	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
26°	983 17	1 25	981 92	1 24	980 68	1 21	979 47	1 20	978 27	1 19	977 00	1 17	975 91	1 16	974 75	1 16	973 59	1 14	972 45	1 13	971 32	1 15	970 17	1 17
27°	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
27°	982 88	1 27	981 61	1 24	980 37	1 23	979 14	1 20	977 94	1 20	976 74	1 19	975 55	1 17	974 38	1 17	973 21	1 15	972 06	1 14	970 92	1 17	969 75	1 18
28°	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
28°	982 57	1 27	981 30	1 26	980 04	1 23	978 81	1 22	977 59	1 20	976 39	1 20	975 19	1 18	974 01	1 18	972 83	1 17	971 66	1 15	970 51	1 18	969 33	1 20
29°	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
29°	982 26	1 28	980 98	1 27	979 71	1 24	978 47	1 23	977 24	1 21	976 03	1 21	974 82	1 20	973 62	1 19	972 43	1 18	971 25	1 17	970 08	1 19	968 89	1 21
30°	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55
30°	981 94	1 29	980 65	1 28	979 37	1 25	978 12	1 24	976 88	1 22	975 66	1 22	974 44	1 21	973 23	1 20	972 03	1 20	970 83	1 17	969 66	1 21	968 45	1 23

\* Corresponde al grado alcohólico a 20°C.

TABLA 1. (Continuación)  
GRADO ALCOHOLICO VOLUMÉTRICO\*

TEMPERATURAS	GRADO ALCOHOLICO VOLUMÉTRICO*																																			
	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30												
10°	977 45	89 976 56	90 975 66	91 974 75	91 973 84	94 972 90	94 971 96	94 971 02	97 970 05	99 969 06	101 968 05	103 967 02	97 970 05	99 969 06	101 968 05	103 967 02	105 966 57	107 966 11	109 965 65	110 965 18	112 964 70	114 964 22	116 963 73	118 963 23	119 962 73	121 962 22	123 961 70	125 961 18	126 960 65	127 960 12	130 959 57	131 959 03	132 958 48	134 957 92	136 957 35	137 956 78
11°	24 977 21	25 90 976 31	27 92 975 39	29 93 974 46	32 94 973 52	32 94 972 58	35 97 971 61	37 96 970 65	39 99 969 66	41 101 968 65	43 103 967 62	45 105 966 57	39 99 969 66	41 101 968 65	43 103 967 62	44 104 966 57	46 106 966 11	48 108 965 65	49 110 965 18	50 112 964 70	52 114 964 22	53 116 963 73	54 118 963 23	55 119 962 73	56 121 962 22	57 123 961 70	58 125 961 18	59 126 960 65	60 127 960 12	61 130 959 57	62 131 959 03	63 132 958 48	64 134 957 92	65 136 957 35	66 137 956 78	
12°	25 976 96	27 92 976 04	28 93 975 11	30 95 974 16	31 95 973 21	33 97 972 24	35 98 971 26	37 99 970 27	38 101 969 26	40 103 968 23	42 105 967 18	44 107 966 11	40 103 968 23	42 105 967 18	44 107 966 11	45 108 965 65	47 110 965 18	48 112 964 70	49 114 964 22	50 116 963 73	51 118 963 23	52 119 962 73	53 121 962 22	54 123 961 70	55 125 961 18	56 126 960 65	57 127 960 12	58 130 959 57	59 131 959 03	60 132 958 48	61 134 957 92	62 136 957 35	63 137 956 78			
13°	26 976 70	27 93 975 77	29 96 974 81	30 96 973 85	32 97 972 88	34 99 971 89	35 100 970 89	37 100 969 89	40 103 968 86	42 105 967 81	44 107 966 74	46 109 965 65	40 103 968 86	42 105 967 81	44 107 966 74	45 108 965 65	47 110 965 18	48 112 964 70	49 114 964 22	50 116 963 73	51 118 963 23	52 119 962 73	53 121 962 22	54 123 961 70	55 125 961 18	56 126 960 65	57 127 960 12	58 130 959 57	59 131 959 03	60 132 958 48	61 134 957 92	62 136 957 35	63 137 956 78			
14°	26 976 44	28 96 975 48	29 97 974 51	31 98 973 53	33 99 972 54	35 100 971 54	37 102 970 52	39 103 969 49	42 105 968 44	44 107 967 37	46 109 966 28	48 110 965 18	42 105 968 44	44 107 967 37	46 109 966 28	47 110 965 18	48 112 964 70	49 114 964 22	50 116 963 73	51 118 963 23	52 119 962 73	53 121 962 22	54 123 961 70	55 125 961 18	56 126 960 65	57 127 960 12	58 130 959 57	59 131 959 03	60 132 958 48	61 134 957 92	62 136 957 35	63 137 956 78				
15°	28 976 16	29 97 975 19	31 99 974 20	32 100 973 20	33 101 972 19	35 102 971 17	37 104 970 13	39 104 969 09	41 107 968 02	43 109 966 93	45 111 965 82	48 112 964 70	41 107 968 02	43 109 966 93	45 111 965 82	46 112 964 70	48 114 964 22	49 116 963 73	50 118 963 23	51 119 962 73	52 121 962 22	53 123 961 70	54 125 961 18	55 126 960 65	56 127 960 12	57 130 959 57	58 131 959 03	59 132 958 48	60 134 957 92	61 136 957 35	62 137 956 78					
16°	29 975 87	31 99 974 38	32 100 973 88	33 101 972 87	35 103 971 84	36 104 970 80	38 106 969 74	40 106 968 68	42 109 967 59	44 110 966 49	46 113 965 36	48 114 964 22	42 109 967 59	44 110 966 49	46 113 965 36	47 114 964 22	48 116 963 73	49 118 963 23	50 119 962 73	51 121 962 22	52 123 961 70	53 125 961 18	54 126 960 65	55 127 960 12	56 130 959 57	57 131 959 03	58 132 958 48	59 134 957 92	60 136 957 35	61 137 956 78						
17°	30 975 57	31 100 974 57	32 102 973 55	33 103 972 52	35 104 971 48	36 106 970 42	38 108 969 34	40 108 968 28	42 110 967 18	44 113 966 03	46 114 964 89	48 116 963 73	42 110 967 18	44 113 966 03	46 114 964 89	47 116 963 73	48 118 963 23	49 119 962 73	50 121 962 22	51 123 961 70	52 125 961 18	53 126 960 65	54 127 960 12	55 130 959 57	56 131 959 03	57 132 958 48	58 134 957 92	59 136 957 35	60 137 956 78							
18°	31 975 26	32 101 974 75	33 104 973 21	34 105 972 16	35 106 971 10	36 108 970 02	38 109 968 93	40 109 967 84	42 113 966 71	44 114 965 57	46 116 964 41	48 118 963 23	42 113 966 71	44 114 965 57	46 116 964 41	47 118 963 23	48 119 962 73	49 121 962 22	50 123 961 70	51 125 961 18	52 126 960 65	53 127 960 12	54 130 959 57	55 131 959 03	56 132 958 48	57 134 957 92	58 136 957 35	59 137 956 78								
19°	32 976 94	33 103 973 91	34 105 972 86	36 106 971 80	38 108 970 72	39 109 969 63	41 111 968 52	43 112 967 40	44 114 966 26	46 116 965 10	48 118 963 92	50 119 962 73	44 114 966 26	46 116 965 10	48 118 963 92	49 119 962 73	50 121 962 22	51 123 961 70	52 125 961 18	53 126 960 65	54 127 960 12	55 130 959 57	56 131 959 03	57 132 958 48	58 134 957 92	59 136 957 35	60 137 956 78									
20°	33 974 61	34 104 973 57	35 107 972 50	36 108 971 42	38 109 970 33	40 111 969 22	41 113 968 09	43 113 966 96	45 116 965 80	46 118 964 62	48 119 963 43	50 121 962 22	45 116 965 80	46 118 964 62	48 119 963 43	49 121 962 22	50 123 961 70	51 125 961 18	52 126 960 65	53 127 960 12	54 130 959 57	55 131 959 03	56 132 958 48	57 134 957 92	58 136 957 35	59 137 956 78										
21°	34 974 27	35 105 973 22	36 108 972 14	38 110 971 04	39 111 969 93	41 112 968 81	43 115 967 66	45 115 966 51	47 117 965 34	49 120 964 14	50 121 962 93	52 123 961 70	47 117 965 34	49 120 964 14	50 121 962 93	51 123 961 70	52 125 961 18	53 126 960 65	54 127 960 12	55 130 959 57	56 131 959 03	57 132 958 48	58 134 957 92	59 136 957 35	60 137 956 78											
22°	34 973 93	36 107 972 86	37 110 971 76	38 111 970 65	40 113 969 52	41 114 968 39	43 116 967 22	44 116 966 06	47 119 964 87	48 122 963 65	50 122 962 43	52 125 961 18	47 119 964 87	48 122 963 65	50 122 962 43	51 125 961 18	52 126 960 65	53 127 960 12	54 130 959 57	55 131 959 03	56 132 958 48	57 134 957 92	58 136 957 35	59 137 956 78												
23°	36 973 57	37 108 972 49	38 111 971 38	40 113 970 25	41 114 969 11	42 116 967 95	44 117 966 78	46 119 965 59	47 120 964 39	49 123 963 16	51 125 961 91	52 126 960 65	47 120 964 39	49 123 963 16	51 125 961 91	52 126 960 65	53 127 960 12	54 130 959 57	55 131 959 03	56 132 958 48	57 134 957 92	58 136 957 35	59 137 956 78													
24°	36 973 21	38 110 972 11	39 113 970 98	41 114 69 84	44 115 968 69	45 118 967 51	46 119 966 32	48 120 965 12	49 122 963 90	51 125 962 65	52 126 961 39	54 128 960 12	48 120 965 12	49 122 963 90	51 125 962 65	52 126 961 39	53 127 960 12	54 130 959 57	55 131 959 03	56 132 958 48	57 134 957 92	58 136 957 35	59 137 956 78													
25°	38 972 83	39 111 971 72	40 114 970 58	41 115 969 43	43 118 968 25	44 119 967 06	46 120 965 86	47 122 964 64	48 124 963 40	50 126 962 14	51 127 960 87	53 130 959 57	47 122 964 64	48 124 963 40	50 126 962 14	51 127 960 87	52 129 960 65	53 130 959 57	54 132 958 48	55 134 957 92	56 136 957 35	57 137 956 78														
26°	39 972 45	40 113 971 32	41 115 970 17	43 117 969 00	44 119 967 81	46 120 966 61	47 122 965 39	48 123 964 16	50 126 962 90	51 127 961 63	53 129 960 34	54 131 959 03	50 126 962 90	51 127 961 63	53 129 960 34	54 131 959 03	55 132 958 48	56 134 957 92	57 136 957 35	58 137 956 78																
27°	39 972 06	40 114 970 92	41 117 969 75	42 118 968 57	44 120 967 37	46 122 966 15	47 124 964 91	48 124 963 67	50 127 962 40	51 129 961 11	53 131 959 80	54 132 958 48	48 124 963 67	50 127 962 40	51 129 961 11	53 131 959 80	54 132 958 48	55 134 957 92	56 136 957 35	57 137 956 78																
28°	40 971 66	41 115 970 51	42 118 969 33	44 120 968 13	46 122 966 91	47 123 965 68	48 125 964 43	49 126 963 17	51 129 961 88	52 130 960 50	54 132 959 26	55 134 957 92	49 126 963 17	51 129 961 88	52 130 960 50	54 132 959 26	55 134 957 92	56 136 957 35	57 137 956 78																	
29°	41 971 25	43 117 970 08	44 119 968 89	46 121 967 68	47 123 966 45	48 125 965 20	49 126 963 94	51 128 962 66	52 130 961 36	54 132 960 04	55 133 958 71	57 136 957 35	51 128 962 66	52 130 961 36	54 132 960 04	55 133 958 71	56 136 957 35																			
30°	42 970 83	44 117 969 66	45 121 968 45	47 123 967 22	48 124 966 98	49 126 965 72	50 128 964 44	51 129 963 15	53 132 960 83	54 133 959 50	56 135 958 15	57 137 956 78	53 132 960 83	54 133 959 50	56 135 958 15	57 137 956 78																				

\* Corresponde al grado alcohólico a 20°C.

**“Todo gran sueño comienza con un gran soñador.**

**Recuerda siempre: tienes en tu interior la fuerza, la paciencia y la pasión  
para alcanzar las estrellas y cambiar el mundo”**

*Harriet Tubman.*