



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS**

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE LOS RESIDUOS
ORGÁNICOS DE LA SECCIÓN DE FRUTAS DEL MERCADO
MAYORISTA DE RIOBAMBA”**

**TESIS DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

LUIS FERNANDO QUIZHPI LÓPEZ

RIOBAMBA - ECUADOR

2008

AGRADECIMIENTO

Mis más sinceros agradecimientos a mi directora de tesis la Dra. Jenny Moreno y mis asesores el Dr. Carlos Donoso y el Dr. Luís Guevara por su guía en la elaboración de este trabajo de investigación. A Marlon y Hernan Quizhpi por su valiosa ayuda en la recopilación de datos de campo. A las señoras comerciantes del Mercado Mayorista “San Pedro de Riobamba” quienes gustosa y desinteresadamente colaboraron en esta investigación. Vaya un especial agradecimiento A la fundación Hanns Seidel e INDESIC por su valiosa ayuda brindada a lo largo de mi formación politécnica.

DEDICATORIA

A mi familia, de manera especial a mis padres América López y Fernando Quizhpi por su apoyo incondicional en mi formación académica y personal; a mis hermanos Santiago, Pablo, Pedro y Virginia que de una u otra manera supieron brindarme su ayuda. A mi abuelita Virginia Santander y a mi tía Teresa Quizhpi por su grata compañía en el transcurso de mi carrera. A Carlitos Andrés mi sobrino y a Topanga por ser fuente de mi alegría.

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dr. Edmundo Caluña DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
Dr. Robert Cazar DIRECTOR DE LA ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS
Dra. Jenny Moreno DIRECTORA DE TESIS
Dr. Carlos Donoso MIEMBRO DEL TRIBUNAL
Dr. Luís Guevara MIEMBRO DEL TRIBUNAL
Tlgo. Carlos Rodríguez DIRECTOR DEL CENTRO DE DOCUMENTACIÓN
NOTA DE LA TESIS ESCRITA	_____	

Yo, LUIS FERNANDO QUIZHPI LÓPEZ, soy responsable de las ideas, doctrinas, resultados, expuestos en el presente informe, y el patrimonio intelectual del mismo, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

LUIS FERNANDO QUIZHPI LÓPEZ

ABREVIATURAS.

ATP	Adenosintrifosfato
CFC	Clorofluorocarbonos
C ₂ H ₅ OH	Etanol
C ₆ H ₁₂ O ₆	Glucosa
CO ₂	Anhídrido Carbónico
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
D ₂ O	Agua de Deuterio
F	Flúor
g	gramo
GJ	gigajulio
H ₂	Hidrógeno Molecular
Kcal	Kilocalorías
kg	Kilogramo
L	litros
m	metro
m ²	metro cuadrado
mg	miligramo
mL	mililitro
N	Nitrógeno
Na OH	Hidróxido de Sodio
NO ₃ ⁻	Ión Nitrato
O ₂	Oxígeno Molecular
°Brix	Grados Brix
°C	Grados Celsius
pH	Potencial Hidrógeno
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
µm	micrómetro
RSU	Residuo Sólido Urbano
Tm	Tonelada métrica

ÍNDICE DE CUADROS

pág.

Cuadro I. Curso del proceso de la fermentación alcohólica.....16

ÍNDICE DE TABLAS

pág.

Tabla I.	Producción de principales frutas en el ecuador.....	34
Tabla II	Producción de principales frutas en la provincia de Chimborazo.....	35
Tabla III	Parámetros de determinados.....	37
Tabla IV	Metodología utilizada para la determinación de los parámetros propuestos.....	38
Tabla V	Resultados del análisis proximal de los residuos.....	44
Tabla VI	Resultados del análisis de minerales de los residuos.....	45
Tabla VII	Resultados del análisis de Azúcares.....	45
Tabla VIII	Resultados del análisis de Fibra y Almidón.....	45
Tabla IX	Resultados de los análisis Microbiológicos.....	46
Tabla X	Resultados del análisis proximal de la melaza utilizada en el proceso.....	47
Tabla XI	Resultados del análisis de minerales de los residuos.....	47
Tabla XII	Resultados del análisis de Azúcares.....	47
Tabla XIII	Resultados de los análisis Microbiológicos.....	48
Tabla XIV	Resultados del análisis proximal de la melaza utilizada en el proceso.....	48
Tabla XV	Resultados del análisis de minerales de los residuos.....	48
Tabla XVI	Resultados del análisis de Azúcares.....	49
Tabla XVII	Resultados de los análisis Microbiológicos.....	49
Tabla XVIII	Resultados de la Generación de Residuos.....	50
Tabla XIX	Control de temperatura. Primera Réplica.....	51

Tabla XX	Control de temperatura. Segunda Réplica.....	51
Tabla XXI	Control de temperatura. Tercera Réplica.....	52
Tabla XXII	Control de temperatura. Cuarta Réplica.....	52
Tabla XXIII	Control del pH. Tratamiento 1.....	52
Tabla XXIV	Control del pH. Tratamiento 2.....	53
Tabla XXV	Control del pH. Tratamiento 3.....	53
Tabla XXVI	Control del pH. Tratamiento 4.....	54
Tabla XXVII	Control de Grados Brix. Tratamiento 1.....	54
Tabla XXVIII	Control de Grados Brix. Tratamiento 2.....	55
Tabla XXIX	Control de Grados Brix. Tratamiento 3.....	55
Tabla XXX	Control de Grados Brix. Tratamiento 4.....	55
Tabla XXXI	Resultados de los ensayos de laboratorio.....	56
Tabla XXXII	Costos de materia prima.....	59
Tabla XXXIII	Costos de extracción.....	59
Tabla XXXIV	Costos de adecuación del sustrato.....	59
Tabla XXXV	Costo de esterilización.....	60
Tabla XXXVI	Costo de fermentación.....	60
Tabla XXXVII	Costo de destilación.....	60
Tabla XXXVIII	Costos totales.....	60
Tabla XXXIX	Comparación en el rendimiento del etanol.....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

pág.

Figura 2.1.	Células de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	26
Figura 5.1.	Mercado Mayorista de Riobamba.....	63
Figura 5.2.	Área de Investigación y Desarrollo.....	63
Figura 5.3.	Toma de muestra para el análisis Físico y Químico.....	64
Figura 5.4.	Toma de muestra para el análisis Microbiológico.....	65
Figura 5.5.	Determinación de la masa de residuos.....	65
Figura 5.6.	Control de la temperatura.....	67
Figura 5.7.	Control del pH.....	68

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1.

ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LOS RESIDUOS DE FRUTAS.

ANEXO 2.

ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA MELAZA UTILIZADA EN EL PROCESO.

ANEXO 3.

ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL RESIDUAL GENERADO EN EL PROCESO DE OBTENCION DE ETANOL.

ANEXO 4.

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LOS RESIDUOS DE FRUTAS.

ANEXO 5.

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA MELAZA UTILIZADA EN EL PROCESO.

ANEXO 6.

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL RESIDUAL GENERADO EN EL PROCESO DE OBTENCION DE ETANOL.

ANEXO 7.

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA DETERMINACIÓN DE LA MASA DE RESIDUOS GENERADOS.

ANEXO 8.

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL CONTROL DE LA TEMPERATURA EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

ANEXO 9.

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL CONTROL DE CONTROL DEL pH EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

ANEXO 10.

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL CONTROL DE GRADOS BRUX EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO 1	
Introducción.....	1
CAPÍTULO 2	
2.1 CONTAMINACIÓN.....	4
2.2 RESIDUOS.....	5
2.3 EL PROBLEMA DE LOS RESIDUOS.....	10
2.4 LOS SISTEMAS PARA EL APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS PROCEDENTES DE RESTOS ALIMENTICIOS Y SIMILARES.....	11
2.5 FERMENTACIÓN.....	13
2.6 EL ETANOL COMO FUENTE ALTERNATIVA DE ENERGÍA.....	27
2.7 FUENTES PARA LA OBTENCIÓN DEL ETANOL.....	31
2.8 LOS RESIDUOS DE FRUTAS COMO FUENTE DE ETANOL.....	31
CAPÍTULO 3	
3.1 MATERIALES.....	36
3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	36
3.3 TÉCNICAS Y MÉTODOS EMPLEADOS EN LA INVESTIGACIÓN.....	38
3.4 ESQUEMA DE LOS PROCESOS.....	39
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	43
CAPÍTULO 4	
4.1 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LOS RESIDUOS DE FRUTAS.....	44
4.2 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA MELAZA UTILIZADA EN EL PROCESO.....	46
4.3 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL RESIDUAL GENERADO EN EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE ETANOL.....	48
4.4 DETERMINACIÓN DE LA MASA DE RESIDUOS GENERADOS.....	49
4.5 CONTROL DE PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS INVOLUCRADOS	

EN EL PROCESO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	51
4.6 DETERMINACIÓN DEL TRATAMIENTO CON MAYOR RENDIMIENTO EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.....	56
4.7 VIABILIDAD TÉCNICA.....	58
4.8 VIABILIDAD ECONÓMICA.....	59
CAPÍTULO 5	
5.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN.....	63
5.2 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS DE LA SECCIÓN DE FRUTAS DEL MERCADO MAYORISTA DE RIOBAMBA.....	64
5.3 DETERMINACIÓN DE LA MASA DE RESIDUOS GENERADA EN EL MERCADO.....	65
5.4 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA MELAZA UTILIZADA EN EL PROCESO.....	66
5.5 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL RESIDUAL GENERADO EN EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE ETANOL.....	66
5.6 PREPARACIÓN DEL SUSTRATO PARA LA FERMENTACIÓN.....	66
5.7 CONTROL DE PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS INVOLUCRADOS EN EL PROCESO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	67
5.8 SEPARACIÓN DEL ETANOL DEL SUSTRATO FERMENTADO.....	68
5.9 DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD TECNOLÓGICA DEL PROYECTO.....	68
5.10 DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD ECONÓMICA DEL PROYECTO.....	69
CAPÍTULO 6 .	
6.1 CONCLUSIONES.....	70
6.2 RECOMENDACIONES.....	73

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTO

DEDICATORIA

ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

1	INTRODUCCIÓN.....	1
2	MARCO TEÓRICO.....	4
2.1	CONTAMINACIÓN.....	4
2.1.1	TIPOS DE CONTAMINACIÓN.....	4
2.1.2	EFFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN.....	4
2.1.3	CAUSAS DE LA CONTAMINACIÓN.....	5
2.2	RESIDUOS.....	5
2.2.1	TIPOS DE RESIDUOS.....	6
2.2.2	RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS.....	8
2.2.3	RESIDUOS INDUSTRIALES.....	9
2.2.4	RESIDUOS PELIGROSOS.....	10
2.3	EL PROBLEMA DE LOS RESIDUOS.....	10
2.4	LOS SISTEMAS PARA EL APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS PROCEDENTES DE RESTOS ALIMENTICIOS Y SIMILARES.....	11
2.5	FERMENTACIÓN.....	13
2.5.1	FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	14
2.5.1.1	INFLUENCIA DE FACTORES EXTERNOS EN EL CURSO DE LA FERMENTACIÓN ALCHÓLICA.....	16
2.5.1.1.1	AGUA.....	16
2.5.1.1.2	OXÍGENO.....	17
2.5.1.1.3	TEMPERATURA.....	17
2.5.1.1.4	LUZ.....	19

2.5.1.1.5	LA CONCENTRACIÓN DE IONES HIDRÓGENO.....	20
2.5.1.1.6	POTENCIAL DE ÓXIDO-REDUCCIÓN.....	20
2.5.1.1.7	GLÚCIDOS.....	20
2.5.1.1.8	TÓXICOS.....	22
2.5.1.2	LAS LEVADURAS.....	23
2.5.1.2.1	GÉNERO <i>Saccharomyces</i>	25
2.5.1.2.2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	26
2.6	EL ETANOL COMO FUENTE ALTERNATIVA DE ENERGÍA.....	27
2.6.1	CARACTERÍSTICAS DEL ETANOL.....	27
2.6.2	EL ETANOL COMO COMBUSTIBLE.....	28
2.6.3	BALANCE DE ENERGÍA.....	29
2.7	FUENTES PARA LA OBTENCIÓN DEL ETANOL.....	31
2.8	LOS RESIDUOS DE FRUTAS COMO FUENTE DE ETANOL.....	31
3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
3.1	MATERIALES.....	36
3.1.1	MATERIAL BIOLÓGICO.....	36
3.2	DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	36
3.2.1	VARIABLES EN ESTUDIO.....	36
3.2.2	TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	36
3.2.3	TIPO DE DISEÑO.....	36
3.2.4	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	37
3.2.5	TRATAMIENTOS.....	37
3.2.6	FASES DE LA INVESTIGACIÓN.....	38
3.3	TÉCNICAS Y MÉTODOS EMPLEADOS EN LA INVESTIGACIÓN.....	38
3.4	ESQUEMA DE LOS PROCESOS.....	39
3.4.1	OBTENCIÓN DE ETANOL DE ACUERDO AL TRATAMIENTO 1.....	39
3.4.2	OBTENCIÓN DE ETANOL DE ACUERDO AL TRATAMIENTO 2.....	40
3.4.3	OBTENCIÓN DE ETANOL DE ACUERDO AL TRATAMIENTO 3.....	41
3.4.4	OBTENCIÓN DE ETANOL DE ACUERDO AL TRATAMIENTO 4.....	42
3.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	43
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
4.1	ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LOS RESIDUOS DE FRUTAS.....	44

4.1.1	ANÁLISIS PROXIMAL.....	44
4.1.2	ANÁLISIS DE MINERALES.....	44
4.1.3	ANÁLISIS DE AZÚCARES.....	45
4.1.4	ANÁLISIS DE FIBRA Y ALMIDÓN.....	45
4.1.5	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.....	46
4.2	ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA MELAZA UTILIZADA EN EL PROCESO.....	46
4.2.1	ANÁLISIS PROXIMAL.....	46
4.2.2	ANÁLISIS DE MINERALES.....	47
4.2.3	ANÁLISIS DE AZÚCARES.....	47
4.2.4	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.....	47
4.3	ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL RESIDUAL GENERADO EN EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE ETANOL.....	48
4.3.1	ANÁLISIS PROXIMAL.....	48
4.3.2	ANÁLISIS DE MINERALES.....	48
4.3.3	ANÁLISIS DE AZÚCARES.....	49
4.3.4	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.....	49
4.4	DETERMINACIÓN DE LA MASA DE RESIDUOS GENERADOS.....	49
4.5	CONTROL DE PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS INVOLUCRADOS EN EL PROCESO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	51
4.5.1	CONTROL DE LA TEMPERATURA EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.....	51
4.5.2	CONTROL DE pH EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.....	52
4.5.3	CONTROL DE GRADOS BRIX EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.....	54
4.6	DETERMINACIÓN DEL TRATAMIENTO CON MAYOR RENDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE LOS RESIDUOS DE FRUTAS.....	56
4.6.1	RESULTADOS DE LOS ENSAYOS REALIZADOS.....	56
4.6.2	PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS.....	56
4.6.3	TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA.....	56

4.6.4	TEST DE TUKEY.....	57
4.6.5	ANÁLISIS DE LOS DATOS DEL TEST DE TUKEY.....	57
4.7	VIABILIDAD TÉCNICA.....	58
4.8	VIABILIDAD ECONÓMICA.....	59
4.8.1	ORGANIZACIÓN DE LA EMPRESA PARA LA PRODUCCIÓN DEL ETANOL.....	61
5	PARTE EXPERIMENTAL.....	63
5.1	LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN.....	63
5.2	DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS DE LA SECCIÓN DE FRUTAS DEL MERCADO MAYORISTA DE RIOBAMBA.....	64
5.3	DETERMINACIÓN DE LA MASA DE RESIDUOS GENERADA EN EL MERCADO.....	65
5.4	DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA MELAZA UTILIZADA EN EL PROCESO.....	66
5.5	ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL RESIDUAL GENERADO EN EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE ETANOL.....	66
5.6	PREPARACIÓN DEL SUSTRATO PARA LA FERMENTACIÓN.....	66
5.7	CONTROL DE PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS INVOLUCRADOS EN EL PROCESO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	67
5.8	SEPARACIÓN DEL ETANOL DEL SUSTRATO FERMENTADO.....	68
5.9	DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD TECNOLÓGICA DEL PROYECTO.....	68
5.10	DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD ECONÓMICA DEL PROYECTO.....	69
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	70
6.1	CONCLUSIONES.....	70
6.2	RECOMENDACIONES.....	73

RESUMEN

SUMMARY

ANEXOS

BIBLIOGRAFÍA

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1 INTRODUCCIÓN

La constante búsqueda de alcanzar mejoras en las condiciones de vida del hombre ha dado lugar a un mayor nivel de desarrollo caracterizado por un notable y constante avance tecnológico, lo que ha traído consigo un grave impacto en el entorno desde el momento mismo que el hombre apareció en escena; pero, dicho impacto debe ser asimilable por el medio en tal medida que permita que el equilibrio se restablezca.

Debe ser por tanto la misma tecnología la ruta que se deberá seguir para conseguir un modelo de desarrollo compatible con el entorno, sin que ello implique una paralización en la actividad productiva humana, complementando el alcance de mayores niveles de bienestar con impactos cada vez menores en el ambiente. (12)

La producción de residuos sólidos orgánicos en América Latina y El Caribe varía entre el 30% y 60%, pudiendo ser utilizados mediante un proceso técnico de transformación para la obtención de diferentes productos, como: Humus, balanceado para alimentación de animales, y en el caso de esta investigación para obtener etanol.

Las grandes ciudades de la región y del país generan cantidades cada vez mayores de residuos. Frecuentemente, su disposición final se realiza en botaderos a cielo abierto o cuerpos de agua constituyendo un grave problema para la salud pública y ambiental. Los elevados volúmenes de residuos generados suponen importantes costos de recolección y disposición final. (15)

Existe mucha desinformación y falta de participación entre los pobladores y autoridades municipales para la implementación de sistemas de reciclaje y/o aprovechamiento de los residuos sólidos orgánicos urbanos como los residuos de frutas. Por esto es imprescindible fomentar la educación ambiental y la participación ciudadana, para desarrollar tecnologías apropiadas e incentivar el tratamiento y aprovechamiento de estos residuos.

Las fuentes mundiales de energía tradicionales se están agotando a un ritmo acelerado, probablemente el petróleo y el carbón deberían considerarse como materias primas para procesos industriales, ya que su utilización como combustible no es apropiada ni resulta de beneficio para el medio ambiente. En América Latina y en el Ecuador al igual que en el resto del mundo, las principales fuentes de energía son los combustibles fósiles, que al no ser

aprovechados de forma racional tienden cada vez a agotarse, por lo que resulta imperiosa la necesidad de buscar fuentes alternativas de energía(19)

Hablar de la obtención del etanol por parte del hombre es remontarse a sus inicios, desde la antigua Mesopotamia pasando por el imperio Egipcio y el Romano hasta nuestros días, el hombre siempre ha estado produciendo etanol principalmente como bebida alcohólica.

El proceso para la obtención del alcohol, es decir, la fermentación alcohólica, ha sido estudiado por muchos autores, los mismos que nos lo han explicado que a partir de carbohidratos se obtiene etanol, entre los autores más destacados tenemos a Pasteur (1822-1895), quien se dedicó a investigar el proceso de la fermentación alcohólica.(29)

Aunque, su convicción de que la levadura desempeñaba algún tipo de papel en este proceso, no era original, logró demostrar, gracias a sus anteriores trabajos sobre la especificidad química, que la producción de alcohol en la fermentación se debe, en efecto, a las levaduras y que la indeseable producción de sustancias (ácido láctico o el acético), que afectan el vino, se debe a la presencia de organismos como las bacterias.(30)

En la actualidad, las investigaciones se dirigen más a determinar nuevos procesos y nuevas fuentes para obtener etanol; estas investigaciones han tenido un auge muy grande en los Estados Unidos de América, pues para este país la obtención del etanol tiene mucha importancia como combustible. En Sudamérica, el país que más se ha empeñado en las investigaciones respecto a la obtención del etanol es Brasil, país, que en la actualidad se encuentra, produciendo millones de litros de etanol al año; pero dicha producción utiliza como materias primas dos productos agrícolas: el maíz y la caña de azúcar, que son de enorme importancia en la alimentación humana por lo que estos países son sujetos de fuertes críticas por parte de la comunidad internacional.

En nuestro país las investigaciones sobre la producción de etanol, se refieren principalmente a la obtención de etanol como bebida alcohólica y no como fuente de energía, el cual puede ser obtenido de una fuente constante de residuos orgánicos, mismos que se encuentran en cantidades considerables en los mercados.

Por otra parte, un problema muy común en los diferentes municipios de nuestro país son los desechos producidos en los mercados, los mismos que son confinados en botaderos sin clasificación y ningún tipo de tratamiento previo, constituyéndose en fuente de contaminación del ambiente. ¿Entonces qué hacer con estos residuos? La primera respuesta a esta incógnita surge desde la Biotecnología, mediante la utilización adecuada de técnicas los residuos pueden ser utilizados para la obtención de etanol.

La presente investigación, se relaciona con la aplicación de técnicas biotecnológicas, como la fermentación que contribuyen a disminuir el grave impacto que estos residuos ocasionan al entorno, utilizándolos para la obtención de una fuente renovable de energía que tiene su origen en materia prima que al constituir sustancia de desecho no son destinados a otros usos de mayor importancia como la alimentación humana.

La obtención de etanol teniendo, como materia prima los residuos de frutas de mercado constituye de por sí una alternativa viable, que amplía las posibilidades de solución a la contaminación ambiental, al ser esta una fuente de energía de costo ambiental bajo y que puede ser utilizada durante un período de tiempo más amplio si se lo compara con los combustibles fósiles.

En la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos.

1. Obtener etanol a partir de los residuos orgánicos de la sección de frutas del mercado mayorista de Riobamba.
2. Caracterizar la masa de residuos que se generan en el Mercado Mayorista de Riobamba durante los meses de agosto a septiembre del 2007.
3. Caracterizar física, química y microbiológicamente los residuos utilizados en el proceso de obtención de etanol.
4. Preparar el sustrato para la fermentación a base de los residuos de frutas generados.
5. Establecer los parámetros físicos y químicos involucrados en el proceso de la fermentación alcohólica.
6. Determinar la viabilidad técnica y económica del proyecto.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2 MARCO TEÓRICO

2.1 CONTAMINACIÓN

Contaminación es todo cambio indeseable en algunas características del ambiente que afecta negativamente a todos los seres vivos. Estos cambios se generan en forma natural o por acción del ser humano. (1)

En la actualidad, el resultado del desarrollo y progreso tecnológico ha originado diversas formas de contaminación, las cuales alteran el equilibrio físico y mental del ser humano.

2.1.1 TIPOS DE CONTAMINACIÓN

Contaminación del Agua: Es la incorporación al agua de materias extrañas, como microorganismos, productos químicos, residuos industriales, y de otros tipos o aguas residuales. Estas materias deterioran la calidad del agua y la hacen inútil para los usos pretendidos. El agua pura es un recurso renovable, sin embargo puede llegar a estar tan contaminada por las actividades humanas, que ya no sea útil, sino más bien nociva.

Contaminación del suelo: Es la incorporación al suelo de materias extrañas, como basura, desechos tóxicos, productos químicos, y desechos industriales. La contaminación del suelo produce un desequilibrio físico, químico y biológico que afecta negativamente las plantas, animales y humanos.

Contaminación del aire: Es la adición dañina a la atmósfera de gases tóxicos, u otros que afectan el normal desarrollo de plantas, animales y que afectan negativamente la salud de los humanos. (1)

2.1.2 EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN

- Deteriora cada vez más a nuestro planeta.
- Atenta contra la vida de plantas, animales y personas.
- Genera daños físicos en los individuos.
- Convierte en un elemento no consumible al agua.
- En los suelos contaminados no es posible la siembra.

2.1.3 CAUSAS DE LA CONTAMINACIÓN

- Desechos sólidos domésticos.
- Desechos sólidos industriales.
- Exceso de fertilizante y productos químicos.
- Tala.
- Quema.
- Basura.
- El monóxido de carbono de los vehículos.
- Desagües de aguas negras o contaminadas al mar o ríos (1).

2.2 RESIDUOS

Llamamos residuo a cualquier tipo de material que esté generado por la actividad humana y que está destinado a ser desechado (28).

Son restos de papel y cartón, botellas, embalajes de diversos tipos. Se debe tener en cuenta, al mismo tiempo, los cambios de moda, impulsados por la publicidad y recibidos por la sociedad de consumo, que originan que las personas descarten gran cantidad de objetos en buen estado para reemplazarlos por otros nuevos. Hoy en día la sociedad tiende en gran medida hacia los productos descartables, generándose de esta manera una necesidad de producir más y más elementos de consumo.

La palabra basura es para la mayoría de las personas algo despectivo, algo que carece de valor y de lo que hay que deshacerse, de esta forma lo útil, que no siempre es necesario se convierte en un estorbo y es causa del problema de cómo nos desentendemos de lo que producimos y consumimos.

En los principios de los tiempos, la basura no existía. La vida se llevaba a cabo según las leyes de la naturaleza. Sus ciclos no se veían obligados a modificarse. Al crear la basura, el ser humano fue el primer animal en transgredir las leyes naturales.

Al principio los desperdicios eran insignificantes. Los problemas comenzaron con la Revolución Industrial. La gente produce basura a un ritmo mayor del que estos necesitan para descomponerse. Esto se debe a la sobrevaloración que las personas les damos a los productos ya que estamos continuamente produciendo basura debido a la ignorancia, los malos hábitos y la irresponsabilidad, dando lugar a un campo del que nadie quiere hacerse responsable por lo que produce ni por lo que compra. Como una bola de nieve que aumenta su volumen hasta generar un alud, los desperdicios se reproducen infinitamente en todos los rincones del planeta, ante la mirada indiferente de la población y de las autoridades.

En las ciudades la basura lleva siendo un problema casi desde el origen de éstas, debido a la densidad de población y al hecho de arrojar la basura a las calles. Esto ha originado la proliferación de insectos, roedores y microorganismos patógenos, trayendo como consecuencias enfermedades para el ser humano, una de las más conocidas es la peste bubónica producida por las ratas. (13)

El problema sobre qué hacer con la basura es serio y difícil de resolver, debido a que todos somos, en mayor o menor medida, responsables de la generación, somos nosotros quienes debemos ayudar a disminuir esa bola de nieve para que no se transforme en un alud (26).

2.2.1 TIPOS DE RESIDUOS

Para poder disponer de los residuos eficazmente es importante distinguir los distintos tipos que hay. Es muy distinto el residuo industrial que el agrícola o que el doméstico y también son totalmente diferentes los residuos gaseosos o líquidos que los sólidos, o los radiactivos y los que no lo son (28).

2.2.1.1 CLASIFICACIÓN POR ESTADO

Un residuo es definido por estado según el estado físico en que se encuentre. Existe por lo tanto tres tipos de residuos desde este punto de vista sólidos, líquidos y gaseosos, es importante notar que el alcance real de esta clasificación puede fijarse en términos puramente descriptivos o, como es realizado en la práctica, según la forma de manejo asociado: por ejemplo un tambor con aceite usado y que es considerado residuo, es intrínsecamente un líquido, pero su manejo va a ser como un sólido pues es transportado en camiones y no por un sistema de conducción hidráulica. (28)

En general un residuo también puede ser caracterizado por sus características de composición y generación.

2.2.1.2 CLASIFICACIÓN POR ORIGEN

Se puede definir el residuo por la actividad que lo origine, esencialmente es una clasificación sectorial.

Esta definición no tiene en la práctica límites en cuanto al nivel de detalle en que se puede llegar en ella.

2.2.1.2.1 RESIDUOS MUNICIPALES

La generación de residuos municipales varía en función de factores culturales asociados a los niveles de ingreso, hábitos de consumo, desarrollo tecnológico y estándares de calidad de vida de la población. El creciente desarrollo de la economía ecuatoriana ha traído consigo un considerable aumento en la generación de estos residuos. En la década de los 60, la generación de residuos domiciliarios alcanzaba los 0,2 a 0,5 kg/habitante/día; hoy en cambio, esta cifra se sitúa entre los 0,8 y 1,4 kg/habitante/día. (28)

Los sectores de más altos ingresos generan mayores volúmenes per cápita de los residuos, y estos residuos tienen un mayor valor incorporado que los provenientes de sectores más pobres de la población.

2.2.1.2.2 RESIDUOS INDUSTRIALES

La cantidad de residuos que genera una industria es función de la tecnología del proceso productivo, calidad de las materias primas o productos intermedios, propiedades físicas y químicas de las materias auxiliares empleadas, combustibles utilizados y los envases y embalajes del proceso.

2.2.1.2.3 RESIDUOS MINEROS

Los residuos mineros incluyen los materiales que son removidos para ganar acceso a los minerales y todos los residuos provenientes de los procesos mineros. En Ecuador y en el mundo las estadísticas de producción son bastante limitadas. Actualmente la industria del cobre se

encuentra empeñada en la implementación de un manejo apropiado de estos residuos, por lo cual se espera en un futuro próximo contar con estadísticas apropiadas. (28)

2.2.1.2.4 RESIDUOS HOSPITALARIOS

Actualmente el manejo de los residuos hospitalarios no es el más apropiado, al no existir un reglamento claro al respecto. El manejo de estos residuos es realizado a nivel de generador y no bajo un sistema descentralizado. A nivel de hospital los residuos son generalmente esterilizados.

La composición de los residuos hospitalarios varía desde el residuo tipo residencial y comercial a residuos de tipo médico conteniendo sustancias peligrosas. (28)

Según el Integrated Waste Management Board de California USA se entiende por residuo médico como aquel que esta compuesto por residuos que es generado como resultado de:

- Tratamiento, diagnóstico o inmunización de humanos o animales
- Investigación conducente a la producción o prueba de preparaciones medicas hechas de organismos vivos y sus productos.

2.2.1.3 CLASIFICACIÓN POR TIPO DE MANEJO

Se puede clasificar un residuo por presentar alguna característica asociada al manejo que debe ser realizado:

Desde este punto de vista se pueden definir tres grandes grupos:

Residuo peligroso: Son residuos que por su naturaleza son inherentemente peligrosos de manejar y/o disponer y pueden causar muerte, enfermedad; o que son peligrosos para la salud o el medio ambiente cuando son manejados en forma inapropiada. (28)

- Residuo inerte: Residuo estable en el tiempo, el cual no producirá efectos ambientales apreciables al interactuar en el medio ambiente.
- Residuo no peligroso: Ninguno de los anteriores (23).

2.2.2 RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS

Los Residuos Sólidos Urbanos (RSU) son los que se originan en la actividad doméstica y comercial de ciudades y pueblos. En los países desarrollados en los que cada vez se usan más envases, papel, y en los que la cultura de "usar y tirar" se ha extendido a todo tipo de bienes de consumo, las cantidades de basura que se generan han ido creciendo hasta llegar a cifras muy altas. (13)

2.2.2.1 COMPOSICIÓN DE LOS RSU

Los residuos producidos por los habitantes urbanos comprenden basura, muebles y electrodomésticos viejos, embalajes y desperdicios de la actividad comercial, restos del cuidado de los jardines, la limpieza de las calles, etc. El grupo más voluminoso es el de las basuras domésticas.

La basura suele estar compuesta por:

- Materia orgánica: Son los restos procedentes de la limpieza o la preparación de los alimentos junto la comida que sobra.
- Papel y cartón: Periódicos, revistas, publicidad, cajas y embalajes, etc. Plásticos.- Botellas, bolsas, embalajes, platos, vasos y cubiertos desechables, etc. Vidrio.- Botellas, frascos diversos, vajilla rota, etc. Metales.- Latas, botes, etc.
- Otros. (28)

En las zonas más desarrolladas la cantidad de papel y cartón es más alta, constituyendo alrededor de un tercio de la basura, seguida por la materia orgánica y el resto. En cambio si el país está menos desarrollado la cantidad de materia orgánica es mayor -hasta las tres cuartas partes en los países en vías de desarrollo- y mucho menoría de papeles, plásticos, vidrio y metales (21).

2.2.3 RESIDUOS INDUSTRIALES

La industria genera una gran cantidad de residuos muchos de los cuales son recuperables. El problema está en que las técnicas para aprovechar los residuos y hacerlos útiles son caras y en muchas ocasiones no compensa económicamente hacerlo. De todas formas, está aumentando la proporción de residuos que se valorizan para usos posteriores.

2.2.3.1 RESIDUOS INDUSTRIALES INERTES Y ASIMILABLES A LOS RSU

Los residuos inertes son escombros, gravas, arenas y demás materiales que no presentan riesgo para el ambiente. Hay dos posibles tratamientos para estos materiales: reutilizarlos como relleno en obras públicas o construcciones o depositarlos en vertederos adecuados. El principal impacto negativo que pueden producir es el visual, por lo que se debe usar lugares adecuados, como canteras abandonadas o minas al aire libre y se deben recubrir con tierra y plantas para reconstruir el paisaje. (28)

Los residuos similares a los sólidos urbanos que se producen en las industrias suelen ser recogidos y tratados de forma similar al resto de los RSU.

2.2.4 RESIDUOS PELIGROSOS

Son las sustancias que son inflamables, corrosivas, tóxicas o pueden producir reacciones químicas, cuando están en concentraciones que pueden ser peligrosas para la salud o para el ambiente.

El impacto negativo de estas sustancias se ve agravado cuando son difíciles de degradar en la naturaleza. Los ecosistemas naturales están muy bien preparados, por millones de años de evolución, para asimilar y degradar las sustancias naturales. Siempre hay algún tipo de microorganismo o de proceso bioquímico que introduce en los ciclos de los elementos las moléculas.

En la actualidad se sintetizan miles de productos que nunca habían existido antes y algunos de ellos, como es el caso de los CFC, DDT, muchos plásticos, etc. permanecen muchos años antes de ser eliminados. Además al salir tantas moléculas nuevas cada año, aunque se hacen ensayos cuidadosos para asegurar que se conocen bien sus características, no siempre se sabe bien que puede suceder con ellos a medio o largo plazo. (13)

2.3 EL PROBLEMA DE LOS RESIDUOS

Una visión integral de los problemas ambientales y de salud pública incluye entre otros, el tema del correcto manejo de los residuos, con un concepto de ecología, no ligado exclusivamente a la imagen de una pequeña minoría de amantes de la naturaleza o de especialistas, si no mas bien a la de una ecología de todos, que involucre aspectos ambientales, sociales y económicos. Un

desarrollo sustentable que además de preocuparse por la preservación de los recursos y del medio ambiente para las futuras generaciones, también por una sociedad reorientada a la equidad en la que los servicios ambientales cumplen un importante papel. (19)

Los residuos que fueron la materia prima de los procesos productivos y los resultados del consumo y del crecimiento, y que observamos por todos lados; nos hablan de una cultura del desperdicio de los recursos, de su bajo aprovechamiento y de servicios deficientes, en general, de un desentendimiento del quehacer y de adonde van a parar los residuos de nuestras casas, de la industria y de nuestra ciudad. (18)

A pesar del esfuerzo de trabajadores y autoridades, del avance de los conocimientos y experiencias, los resultados están a la vista, nuestras ciudades con valiosas excepciones, -como Loja y Cuenca-, están sucias y la basura forma parte de nuestro paisaje.

El manejo de los residuos al igual que otras actividades relacionadas con el medio ambiente y más que eso, con nuestra propia salud, no es una tarea que se pueda encargar solo a un sector de la sociedad: No es sólo el barrendero, no es sólo el reciclador, el Gobierno o el Legislador, no son los profesionales del manejo y control de los residuos los únicos encargados de esta tarea. La tarea es de todos. (13)

Se precisa de la participación de la sociedad en su conjunto, no con esfuerzos aislados, sí con una nueva cultura en la que se entienda, que desde que son generados los residuos cumplen un ciclo hasta que se transforman en desechos no aprovechables. En un esfuerzo de cuánto más reducir y rehusar y cuánto menos disponer. ¿Cuánto? Hasta donde más técnica, económica y socialmente sea posible, participando todos.

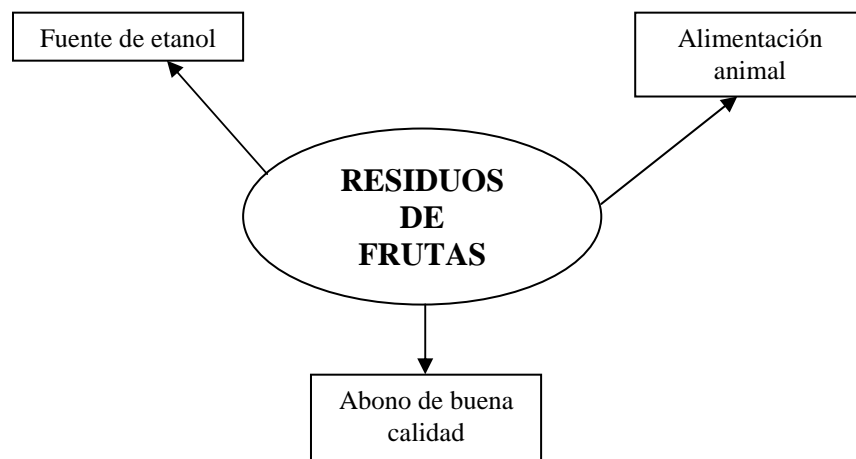
2.4 LOS SISTEMAS PARA EL APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS PROCEDENTES DE RESTOS ALIMENTICIOS Y SIMILARES

En las ciudades se generan residuos de materia orgánica fermentable que proceden básicamente de restos de alimentos (domiciliarios, de hostelería, mercados, industrias alimenticias) mataderos y carnicerías, barrido y poda de parques y jardines, y lodos de depuradoras de aguas residuales.

En aquellos municipios en los que existen plantas de compostaje, éstas se hacen cargo generalmente sólo de la materia orgánica constituida por restos de alimentos, transformándola en compost que normalmente no ofrece la calidad necesaria para ser un producto apreciado y valorado monetariamente dado su nivel de impurezas e incluso de contaminantes peligrosos. Aunque actualmente los procesos mecánicos de separación de la materia orgánica y de compostaje posterior han mejorado notablemente sólo se consiguen calidades y rentabilidades monetarias aceptables en contados casos en los que se procede a la recogida selectiva en origen de los residuos orgánicos, separados previamente por los vecinos. (13)

Desafortunadamente, la gestión de los lodos de depuradoras de aguas residuales, de restos de parques y jardines y de la fracción orgánica constituida por restos de alimentos y similares, no goza de una gestión conjunta a pesar de su excelente complementariedad para elaborar un compost de calidad; diferentes departamentos y empresas (públicas y privadas) que gestionan estos residuos, falta de experiencias y conocimientos de los procesos de compostaje por parte de los técnicos, ausencia de legislación al respecto que obligue al cumplimiento de ciertos objetivos, son algunas de las causas de esta situación y cuya explicación más completa sólo hay que buscarla en el abandono general de los asuntos ambientales concernientes a la erosión del suelo, a la agricultura y al aprovechamiento de los residuos (19).

Por otra parte podemos obtener productos de un mayor valor monetario si los residuos son tratados mediante técnicas biotecnológicas como ejemplo podemos citar la obtención de quitina o quitosana a partir de residuos de crustáceos. Siguiendo este mismo ejemplo se pueden obtener productos a partir de residuos de frutas los cuales por su contenido de azúcares pueden tener algunos usos como: Fuente de obtención de etanol, alimentación animal, abono de buena calidad; etc.



Hoy por hoy, los que se ocupan de estudiar el problema de la basura, se interesan de mayor medida en la segunda vida de la basura: el reciclaje.

Para definir la palabra con precisión, reciclar consiste en usar la materia prima de los productos para elaborar otros nuevos, de esta manera muchos elementos que contiene la basura que diariamente sacamos a la calle puede volver a utilizarse, en forma de botellas de vidrio, papel, planchas de aluminio, alimento para animales o en fertilizante de bajo costo.

El papel y el cartón son reciclables, ya que hay algunos tipos de papel que se fabrican a partir de papel o cartón usado. El plástico también es recuperable. La industria del vidrio también busca reutilizar la mayor cantidad posible de este material. Si se recupera el 60% de los desechos reutilizables, en un año se ahorraría el equivalente energético a 350 millones de barriles de petróleo. Además, seleccionar y reciclar un millón de toneladas de residuos crearía 1600 empleos, mientras que sólo para recogerlos y verterlos se necesitarían 600 y para incinerarlos 80. (28)

El objetivo más importante será a largo plazo. Tendrá que aspirarse a que las nuevas generaciones incorporen desde los inicios de su educación cultural y formación, las costumbres y hábitos que permitan la implementación exitosa de los diferentes sistemas de recuperación de los recursos no renovables.

2.5 FERMENTACIÓN

En los procesos de fermentación se producen cambios químicos en las sustancias orgánicas producidos por la acción de las enzimas. Esta definición general incluye prácticamente todas las reacciones químicas de importancia fisiológica. Actualmente, los científicos suelen reservar dicha denominación para la acción de ciertas enzimas específicas, llamadas fermentos, producidas por organismos diminutos tales como el moho, las bacterias y la levadura. Por ejemplo, la lactasa, un fermento producido por una bacteria que se encuentra generalmente en la leche, hace que ésta se agrie, transformando la lactosa (azúcar de la leche) en ácido láctico (9)

El tipo de fermentación más importante es la fermentación alcohólica, en donde la acción de la cimasa segregada por la levadura convierte los azúcares simples, como la glucosa y la fructosa, en alcohol etílico y dióxido de carbono. Hay otros muchos tipos de fermentación que se

producen de forma natural, como la formación de ácido butanoico cuando la mantequilla se vuelve rancia, y de ácido etanoico (acético) cuando el vino se convierte en vinagre(14)

Generalmente, la fermentación produce la descomposición de sustancias orgánicas complejas en otras simples, gracias a una acción catalizada. Por ejemplo, debido a la acción de la diastasa, la cimasa y la invertasa, el almidón se descompone (hidroliza) en azúcares complejos, luego en azúcares simples y finalmente en alcohol. (4)

Las fermentaciones pueden ser: naturales, cuando las condiciones ambientales permiten la interacción de los microorganismos y los sustratos orgánicos susceptibles; o artificiales, cuando el hombre propicia condiciones y el contacto referido.

2.5.1 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Desde la antigüedad se obtiene el etanol por fermentación anaeróbica de azúcares con levadura en solución acuosa y posterior destilación. La aplicación principal tradicional ha sido la producción de bebidas alcohólicas. Este proceso consiste en la hidrólisis del azúcar a anhídrido carbónico y etanol al resguardo de oxígeno libre. (3)

La fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico que además de generar etanol desprende grandes cantidades de dióxido de carbono (CO₂) además de energía para el metabolismo de las bacterias anaeróbicas y levaduras. (32)

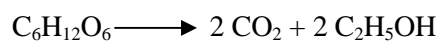
La fermentación alcohólica (denominada también como fermentación del etanol o incluso fermentación etílica) es un proceso biológico de fermentación en plena ausencia de aire, originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general azúcares: como pueden ser por ejemplo la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.) para obtener como productos finales: un alcohol en forma de etanol (cuya fórmula química es: CH₃-CH₂-OH), dióxido de carbono (CO₂) en forma de gas y unas moléculas de ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico. (23)

La fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno (fundamentalmente aire)

para ello disocian las moléculas de glucosa y obtienen la energía necesaria para sobrevivir, produciendo el alcohol y CO₂ como desechos consecuencia de la fermentación. (25)

Una de las principales características de estos microorganismos es que viven en ambientes completamente carentes de oxígeno (O₂), máxime durante la reacción química, por esta razón se dice que la fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico.

El resultado final de la fermentación alcohólica fue expresado a principios del siglo XIX por J. L. GAY-LUSSAC mediante la ecuación:



Los organismos que son capaces de producir fermentación alcohólica son *Saccharomyces* y otras especies de levaduras, *Torulopsis*, *Kloeckera*, *Candida*, ciertas especies *Mucor* y algunas bacterias. Sin embargo, la fermentación alcohólica más importante es producida por especies *Saccharomyces*. (14)

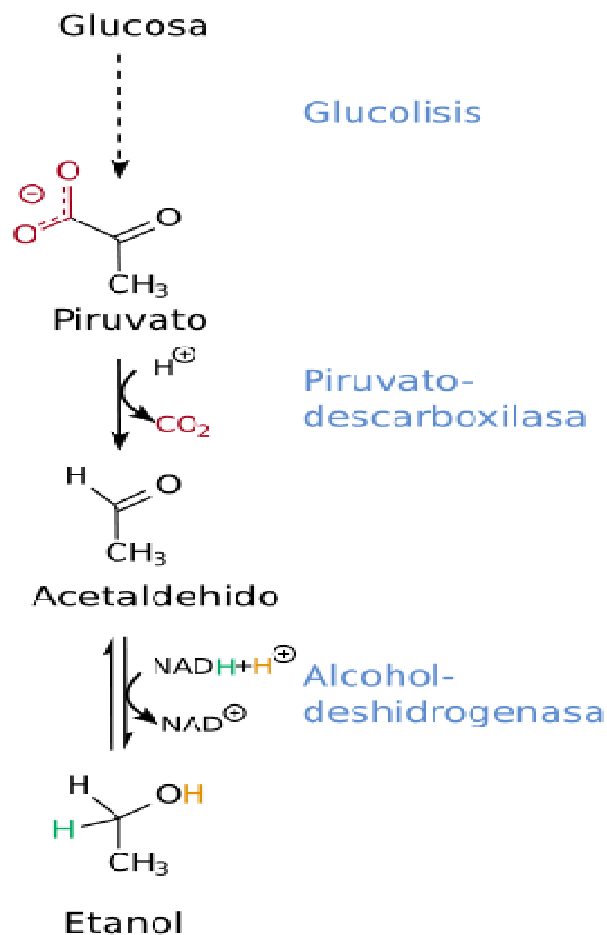
Los hidratos de carbono que se pueden fermentar, por lo general son aquellos que contienen tres átomos de carbono o un múltiplo de los mismos. Los monosacáridos se pueden fermentar directamente, mientras que los di, tri y polisacáridos tienen que ser hidrolizados a hexosas antes de poder ser fermentados. Se conocen cuatro hexosas fermentescibles, a saber: glucosa, fructosa, manosa y galactosa. Las tres primeras siempre son fermentescibles, mientras que la última sólo puede ser fermentada por ciertas especies de levaduras. (5)

Como se ha dicho arriba, los disacáridos sólo se pueden fermentar después de haber sido transformados en hexosas, transformación que se realiza por intermedio de hidrolasas que se encuentran en la levadura. Por tanto, el que un disacárido pueda ser fermentado depende en primera instancia de que la especie correspondiente de levadura sea capaz de producir la enzima necesaria para la hidrólisis este también es el caso de los trisacáridos, por ejemplo la rafinosa.

La ecuación de GAY-LUSSAC, que indica que las hexosas son escindidas en partes ponderales aproximadamente iguales de anhídrido carbónico y alcohol, sólo indica el curso aproximado del proceso de fermentación. Y es que éste resulta extremadamente complicado, ya que consta de

una larga serie de continuados procesos individuales, cada uno de los cuales se regula por separado por enzimas especiales. (31)

Ahora se sabe que la parte dializable está formada en su parte más esencial por deshidrogenasa más fosfatos, entre ellos los adenosinfosfatos. A los estudios fundamentales de E. BUCHNER, R. ALBERT, A. HARDEN y H. YOUNG siguió una investigación formidable a cargo del alemán C. NEUBERG (sobre todo durante los años 1913-1919), del sueco H. v. EULER, del germano-americano O. MEYERHOF y muchos otros químicos y microbiólogos. Debemos agradecer a los trabajos de estos investigadores y de sus predecesores el que hoy conozcamos los detalles más esenciales del proceso de la fermentación alcohólica y las enzimas más importantes que catalizan aquellos procesos, que en conjunto transforman el azúcar en anhídrido carbónico y alcohol. (14)



Cuadro I. Curso del proceso de la fermentación alcohólica.

2.5.1.1 INFLUENCIA DE FACTORES EXTERNOS EN EL CURSO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Como en otros microorganismos, la actividad vital de las levaduras se ve influida por factores externos. Los más importantes de estos factores son los siguientes:

2.5.1.1.1 AGUA

Para la vida de las levaduras se precisa una determinada cantidad de agua, aunque durante algún tiempo puede tolerar cierta desecación. En los últimos años, numerosos investigadores han estudiado la influencia del «agua pesada» (D_2O , agua de deuterio) sobre las levaduras. Según estas investigaciones, parece ser que la mezcla de D_3O y H_2O en la proporción de 1:2.000 no ejerce ninguna influencia sobre las levaduras, mientras que una concentración superior de D_2O perjudica tanto la capacidad fermentativa como la reproductora. (25)

La mezcla de agua de deuterio y agua natural jamás ha sido hallada en una concentración superior al 1: 5.000, por lo cual no hay razón para suponer que el agua de cervecería pudiera influir en el curso de la fermentación debido a su contenido en agua pesada.

En un substrato, que contiene agua pesada en la proporción de 1:2.000, el alcohol está compuesto como sigue: $CH_2D \cdot CD_2OH$. El glucógeno de levadura también contiene hidrógeno pesado cuando la levadura ha crecido en un substrato como el mencionado anteriormente.

2.5.1.1.2 OXÍGENO

Las levaduras son microorganismos anaerobios facultativos, aunque se ha probado que en escasa proporción son capaces de desarrollarse bajo condiciones anaerobias por completo. En presencia de oxígeno, el crecimiento de la levadura es mucho más vigoroso que en cultivo bajo condiciones en que no es posible el acceso de oxígeno.

Algunos ensayos realizados por EMIL CHR. HANSEN en 1879 dan una idea de la multiplicación de las células. Fueron contadas, con ayuda de la cámara de Thoma, en mosto, que fermentó en dos cubas a 12-14°C. Una de las cubas no fue aireada, mientras que la otra fue

expuesta a una aireación mediana. En la cuba no aireada, una célula se desarrolló en el curso de 60 horas a 11 células; en la cuba aireada, a 36 células. (5)

Para las levaduras pelicológenas rige el que el proceso respiratorio posterga por completo la fermentación e incluso muchas levaduras de la flor ni siquiera pueden producir la fermentación alcohólica. En estos microorganismos, los glúcidos son asimilados y quemados, pudiendo producirse la «fermentación oxidativa», tal y como se encuentra en muchos hongos filamentosos al lado de la respiración, formándose ácidos orgánicos y similares. (15)

2.5.1.1.3 TEMPERATURA

La temperatura óptima para la levadura baja cultivada que se utiliza en las cervecerías se encuentra alrededor de los 25°C, y esta temperatura es el óptimo térmico aproximado para la mayor parte de las especies de levaduras. La temperatura óptima para la levadura alta cultivada se encuentra unos grados por encima —27-30°C— de la de la levadura baja cultivada. En la levadura de panificación (*Saccharomyces cerevisiae*), el máximo para la producción de levadura se encuentra a 36°C. (8)

En la mayoría de las especies de levaduras, el máximo de temperatura para el crecimiento se halla entre 34-47°C y la temperatura mínima a unos 0,5°C. Se ha informado que el *Saccharomyces pastorianus* a 13°C, cada sexta hora forma una nueva generación, mientras que a 35°C al cabo de cerca de 3 horas se forma una gemación, es decir, que la refrigeración moderada hasta por debajo de la temperatura óptima (25°C) rebaja mucho más la actividad vital que el calentamiento correspondiente.

La temperatura determina además la actividad de las distintas enzimas de levaduras, y también en este aspecto las diversas especies reaccionan de forma diferente. Así, la comparación de la capacidad fermentativa de una levadura baja cultivada con la de una levadura alta cultivada demostró que estas dos levaduras se comportan igual a la temperatura de 30°C, pero que a 35°C la capacidad fermentativa de la levadura alta aventaja a la de la levadura baja, mientras que a 6-8°C sucede lo contrario. (14)

Según H. ZIKES, no se registra ninguna formación de grasa en la levadura de cervecería por debajo de los 15°C. La temperatura óptima de la formación de glucógeno se encuentra, igualmente según H. ZIKES, a 30°C para la levadura de cervecería y a 27-30°C para la levadura de destilería. (14)

Con frecuencia se ha demostrado la influencia de la temperatura sobre las alteraciones pasajeras o permanentes en las propiedades de las levaduras.

La temperatura letal se encuentra alrededor de los 50 - 60°C para la mayoría de las levaduras esporógenas. Pero las levaduras desecadas son capaces de tolerar una temperatura algo superior.

EMIL HANSEN demostró en 1883 que las células vegetativas de *Saccharomyces turbidans* se destruían al cabo de 5 minutos por medio de calentamiento en agua destilada a 56° C. Las ascosporas de este microorganismo se destruyeron a 66°C después de 5 minutos.

La temperatura letal para el *Saccharomyces cerevisiae* era algo inferior, esto es, para las células vegetativas a 54°C después de 5 minutos y para las ascosporas a 62°C después de 5 minutos. La certeza de estos resultados ha sido comprobada repetidas veces.

Las levaduras pueden tolerar temperaturas muy bajas sin llegar a morir. Se ha hallado, por ejemplo, que no fueron matados diversos *Saccharomyces* que estuvieron expuestos 200 horas a una temperatura de 130°C. (25)

S. ATA y F. STAIB han hallado que, después de dos años de refrigeración a - 20°C, de 75 cepas de levadura (esporógenas y asporógenas) 7 continuaban vivas, es decir, el 9,3 %. Además se ha visto que al refrigerar el mosto de cerveza, leche, glicerina y suero actúan de forma protectora; el pH de 5,0-6,0 es la zona más favorable para la levadura durante la refrigeración.

2.5.1.1.4 LUZ

Se ha visto que los procesos reproductores no son influidos por la iluminación débil, pero que sufren una inhibición por medio de la luz diurna difusa. En la luz diurna o a la luz eléctrica, las

células de *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces ludwigii* sólo se multiplican a la mitad de intensidad que en la oscuridad.

Es, sobre todo, la luz azul la que parece retardar la reproducción, mientras que en la luz roja las células se multiplican a la misma o a mayor velocidad que en la oscuridad. Además se ha observado que por acción de los rayos ultravioletas el desarrollo de las células en una cámara húmeda sufre una inhibición que ya se nota a los 10 segundos y cesa por completo al cabo de los 3 minutos. (14)

H. LÜERS y H. CHRISTOPH han aclarado y puntualizado las condiciones íntimas para la muerte de las células de levadura por la luz ultravioleta. Parece ser que la luz ultravioleta y los rayos X pueden producir mutaciones en las células de levaduras. Por esta razón, jamás se puede utilizar «una lámpara esterilizante» u otro aparato semejante al trabajar con células de levaduras.

2.5.1.1.5 LA CONCENTRACIÓN DE IONES HIDRÓGENO

El crecimiento y la fermentación de la levadura dependen en alto grado de la reacción del medio nutritivo. Las levaduras pertenecen, al igual que los hongos filamentosos, a los microorganismos acidófilos. Al cultivar la levadura de cerveza en soluciones nutritivas sintéticas ricas en tampón, que habían sido ajustadas a varios valores de pH, S. HJORTHANSEN halló que el pH óptimo para el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces ellipsoideus* se encontraba entre 4,4-6. (25)

2.5.1.1.6 POTENCIAL DE ÓXIDO-REDUCCIÓN

Las levaduras pueden acostumbrarse a vivir como en la normalidad a un potencial bajo de óxido-reducción. Esto sucede, por ejemplo, en el acostumbramiento de las levaduras al ácido sulfuroso.

Cuando se sulfita el mosto de vino, esto sucede en cierta medida para que el ácido sulfuroso mantenga alejados otros microorganismos que no sean la levadura acostumbrada a él; pero esta

acción es relativamente escasa con la cantidad de ácido sulfuroso que, por lo general, está permitida para el vino.

H. SCHANDERL menciona que la levadura haploide exige un potencial de óxido-reducción mayor que la levadura diploide. La primera no puede fermentar el mosto de vino en presencia de levadura peliculógena, o sea que consume oxígeno, pero si se añaden unas gotas de peróxido de hidrógeno, se efectúa la fermentación. (14)

2.5.1.1.7 GLÚCIDOS

Los glúcidos existen en forma de monosacáridos, como glucosa y fructosa; disacáridos, como sacarosa, y polisacáridos o glúcidos de cadena larga. Los polisacáridos se pueden hidrolizar produciendo formas de menor peso molecular. Son ejemplos de polisacáridos pectinas, glucanos y dextranos, así como los alginatos. Otros compuestos considerados como glúcidos son los desoxi y amino-azúcares, y los alcoholes y ácidos de azúcar. (14)

En la fermentación alcohólica, las levaduras utilizan los azúcares de seis carbonos glucosa y fructosa. Estos dos azúcares reciben también el nombre de azúcares reductores y se pueden describir como azúcares que contienen grupos funcionales oxidables y, a su vez, reducir otros componentes.

La glucosa y la fructosa se diferencian por la posición de sus respectivos grupos carbonilos funcionales. El grupo carbonilo de la glucosa está situado en el primer carbono, por lo que la glucosa constituye un ejemplo de aldo-azúcar.

En el caso de la fructosa, la función carbonilo está en el segundo carbono, siendo un ejemplo de ceto-azúcar. Los ángulos de los enlaces intramoleculares de estos azúcares determinan que su estructura molecular no presente normalmente en forma de cadena recta, sino en configuraciones cíclicas denominadas hemiacetales (glucosa) o hemicetales (fructosa). (24)

Dado que la ciclización no implica aumento ni pérdida de átomos por parte de la molécula de azúcar, las formas de cadena recta y cíclica son isoméricas, siendo la última configuración la

más importante desde el punto de vista cuantitativo. La glucosa, por ejemplo, tanto en solución como en forma cristalina se presenta casi enteramente como hemiacetal cíclico.

El hecho de que los azúcares muestren la mayoría de las reacciones que se consideran típicas de los aldehídos es el resultado del equilibrio que se establece entre las configuraciones de cadena abierta y cíclica presentes en la solución.

La ciclización introduce otra consideración estructural en la química de los azúcares. En solución, los azúcares pueden estar en forma de anillos compuestos por cuatro carbonos y un oxígeno, o cinco carbonos y un oxígeno. El primero se denomina anillo furanosa y el segundo anillo piranosa.

Los azúcares son ópticamente activos y se pueden detectar por polarimetría por la rotación óptica que producen. La glucosa es dextrorrotatoria por lo que también se denomina «dextrosa», mientras que, la fructosa es levorrotatoria y se denomina «levulosa». Al disacárido sacarosa se le denomina con frecuencia «azúcar invertido», porque en su configuración nativa, no es reductora y por tanto no se puede medir por la técnica de reducción del cobre. Sin embargo, tras su hidrólisis o inversión, se pueden medir sus componentes monosacáridos «reductores», glucosa y fructosa.

2.5.1.1.8 TÓXICOS

Respecto a la influencia de los tóxicos, según las investigaciones realizadas por J. WHITE y D. J. MUNNS (1951), para las levaduras resultan muy tóxicas las sustancias siguientes: cadmio, cobre, plata, osmio, mercurio y paladio. Las sustancias se han mencionado aquí en sucesión según la cual disminuye su toxicidad. El cadmio y el cobre ejercen casi la misma acción tóxica; la plata tiene la mitad de toxicidad que el cadmio, y la toxicidad del mercurio sólo es 1/10.

El cobre impide por completo el crecimiento de levaduras cuando se encuentra en un sustrato nutritivo sintético en la cantidad de 1 mg/L, pero en el mosto o en solución de melaza, las levaduras pueden tolerar 30 - 40 mg/L de sustrato. Este aumento de la capacidad de resistencia probablemente se deba a que en el mosto y en la solución de melaza el cobre forma complejas

combinaciones cúpricas. La presencia de cinc reduce la toxicidad del cadmio. Una acción tóxica moderada la ejercen el cobalto, níquel, boro, cromo, arsénico y estaño.

Muy escasa acción tóxica la poseen el hierro, cinc, aluminio, plomo, molibdeno y manganeso. Los halógenos iodo, bromo y cloro son poco tóxicos cuando se encuentran en forma de sales alcalinas, pero en combinaciones orgánicas pueden ser extraordinariamente venenosos. (33)

Un interés especial se halla ligado al flúor, pues esta sustancia se añade a veces al húmedo elemento en los saltos de agua para proteger a la población humana contra la caries dental. Según las investigaciones de H. F. P. WEBBER y L. TAYLOR, 1 mg F/L de substrato no ejerce ninguna influencia sobre el crecimiento de las levaduras o sobre la fermentación, y 1 mg/L es precisamente la concentración que los saltos de agua utilizan por lo normal. Cuando hay más de 10 mg/L en el substrato, aparece una marcada acción tóxica; entre 1 y 10 sólo es escasa. (14)

Los nitratos, a concentraciones superiores a los 25 mg/L, producen una acción tóxica sobre la levadura de cerveza que comienza a hacerse notable, y cuando se encuentran presentes 50 mg/L, la acción tóxica es muy clara. Las células de levadura se alargan, la fermentación se hace «lánguida» y la infección bacteriana crece. Luego los nitratos a grandes cantidades parecen ser tóxicos para la levadura de cervecería. Por ello, en el proceso de fabricación de la cerveza a lo sumo deben estar presentes 25 mg/L de nitratos (NO_3^-) en el agua empleada.

La levadura es influida en alto grado por los productos formados durante el metabolismo, y ante todo por el alcohol. Una concentración alcohólica del 3 % ya influye sobre el crecimiento en mosto de cerveza. La concentración alcohólica de un 5 % influye tanto sobre el crecimiento como la fermentación en mosto de cerveza. Por medio de concentraciones alcohólicas del 10 %, el crecimiento sufre la paralización total, mientras que algunas razas de levaduras de vino pueden producir fermentación en una concentración del 14 %, aproximadamente, y bien continuar viviendo en esta concentración alcohólica. H. MÜLLER. THURGÁU halló que la temperatura ejerce una influencia decisiva sobre tales fermentaciones. Una concentración de un 4 % de alcohol paraliza la fermentación a una temperatura de 36° C, mientras que a 9°C el mismo efecto sólo sobreviene a una concentración alcohólica del 9,5%. (14)

V. HARTELIUS demostró que la acción del alcohol también depende de la cantidad de ácido formado. Así, la fermentación en una solución nutritiva sintética sin tampón cesa a 25°C cuando se ha formado un 7,3 % de alcohol y, al mismo tiempo, el pH ha descendido a 2,3. Si, por otra parte, el pH se mantiene entre 3-4, la fermentación sólo: termina cuando se ha formado un 12,6 % de alcohol; la reproducción cesa con el 8,5 % de alcohol. (25)

En el mismo trabajo se demostró, añadiendo levadura fresca a una serie de soluciones nutritivas con pH 4 y concentraciones alcohólicas crecientes, que la multiplicación sólo cesaba cuando estaba presente un 10% de alcohol, mientras que la fermentación terminaba a la concentración alcohólica del 12,6 %. La capacidad de multiplicación, pero no la capacidad fermentativa, se debilita, por tanto, en el curso de la fermentación.

Cuando la concentración alcohólica se mantiene por debajo del 4 y el pH entre 3 y 4, el crecimiento de la levadura sigue una recta ascendente.

Respecto al anhídrido carbónico, parece ser que esta sustancia sólo ejerce una acción tóxica sobre las células en presencia de oxígeno, es decir; en la respiración, mientras que sobre las células de levadura fase fermentativa no ejerce influencia alguna.

2.5.1.2 LAS LEVADURAS

La *S. cerevisiae* es un hongo unicelular responsable de gran parte de las fermentaciones alcohólicas. Las levaduras son cuerpos unicelulares (generalmente de forma esférica) de un tamaño que ronda los 2 a 4 µm y que están presentes de forma natural en algunos productos como las frutas, cereales y verduras. Son lo que se denominan: organismos anaeróbicos facultativos, es decir que pueden desarrollar sus funciones biológicas sin oxígeno(14)

Se puede decir que el 96% de la producción de etanol la llevan a cabo hongos microscópicos, diferentes especies de levaduras, entre las que se encuentran principalmente: *Saccharomyces cerevisiae*, *Khuyveromyces fragilis*, *torulospora* y la *Zymomonas mobilis*.

Los microorganismos responsables de la fermentación son de tres tipos: bacterias, mohos y levaduras. Cada una de estos microorganismos posee una característica propia sobre la

fermentación que en algunos casos son capaces de proporcionar un sabor característico al producto final (como en el caso de los vinos o cervezas). A veces estos microorganismos no actúan solos, sino que cooperan entre sí para la obtención del proceso global de fermentación.(25)

Las propias levaduras se han empleado a veces en la alimentación humana como un subproducto industrial. Se ha descubierto que en algunos casos es mejor inmovilizar (reducir el movimiento) de algunas levaduras para que pueda atacar enzimáticamente mejor y con mayor eficiencia sobre el substrato de hidratos de carbono evitando que los microorganismos se difundan facilitando su recuperación (los biocatalizadores suelen ser caros), para ello se emplean 'fijadores' como: agar, alginato de calcio, astillas de madera de bálsamo, etcétera. (9)

Algunas cepas de levaduras tienen eficiencias de fermentación altas sin necesidad de fijación, incluso a relativas velocidades de movilidad, tal y como puede ser el caso de la *Zymomonas mobilis* (de esta levadura ha sido extraída en el año 2005 completamente la secuencia genómica). Esta levadura ha sido siempre rechazada de la fermentación de la cerveza y de la sidra por proporcionar sabores y olores desagradables. No obstante posee una alta resistencia a sobrevivir a concentraciones elevadas de etanol lo que la convierte en una levadura ideal en la generación de etanol para usos no comestibles (como puede ser biocombustibles). (8)

El biólogo Lindner en el año 1928 fue el primero en describir la levadura *Zymomonas mobilis* (conocida en honor de su descubridor como *Z. lindneri*, *Thermobacterium mobile* o *Pseudomonas lindneri*). (9)

Cuando el medio es rico en azúcar (como puede ser el caso de las melazas o siropes), la transformación del mismo en alcohol hace que la presencia de una cierta concentración (generalmente expresada en grados brix) afecte a la supervivencia de levaduras no pudiendo realizar la fermentación en tal medio (las altas concentraciones de azúcar frenan los procesos osmóticos de las membranas de las células).

Aunque hay distintos tipos de levaduras con diferentes tolerancias a las concentraciones de azúcares y de etanol. Los azúcares empleados en la fermentación suelen ser: dextrosa, maltosa, sacarosa y lactosa. Los microorganismos 'atacan' específicamente a cada una de los hidratos de

carbono, siendo la maltosa la más afectada por las levaduras. Otros factores como el número de levaduras. (9)

Algunas enzimas participan en la fermentación, como puede ser la diastasa o la invertasa; Aunque la única responsable de convertir los hidratos de carbono en etanol y dióxido de carbono es la zimasa.

La zimasa es la responsable final de dirigir la reacción bioquímica que convierte la glucosa en etanol. La idea de que una sustancia albuminoide específica desarrollada en la célula de la levadura llega a producir la fermentación fue ya expuesta en el año 1858 por Moritz Traube como la teoría enzimática o fermentativa y, más tarde, ha sido defendida por Felix Hoppe-Seyler hasta llegar al descubrimiento de Eduard Buchner que llegó a hacer la fermentación sin la intervención de células y hongos de levadura. (9)

2.5.1.2.1 GÉNERO *Saccharomyces*

Este género abarca numerosas especies, tanto de levaduras cultivadas como salvajes. Según N. M. STELLING-DEKKER, el caso es que hasta 1951 se habían descrito 107 especies. Pero las especies de levaduras cultivadas abarcan muchas razas diversas, es decir, cepas que se diferencian respecto a aquellas propiedades que no pertenecen a las de esta especie en que, por ejemplo, son clarificadas con mayor o menor velocidad, de fermentación alta o baja, etc.

Aunque estas propiedades también podrían servir en casos extremos como fundamento para la diferenciación de especies, hay tantas variaciones que la diferenciación de especies no podría realizarse sobre esta base. Por esta razón, con respecto a tales propiedades, se han fijado determinados tipos, y en la caracterización de una levadura se indica a cuál de estos tipos se aproxima. (14)

2.5.1.2.2 *Saccharomyces cerevisiae*

Las células de cultivos jóvenes son redondas, ovales u oviformes, (3-7) x (4-14) μm . La relación entre longitud y anchura es por lo general menor de 2. Con frecuencia se encuentran cadenas

celulares rígidas ramificadas de cultivos en cámara húmeda. Los límites de temperatura para la formación de células se encuentran entre 3° y 40°C.

La formación de película varía según la temperatura a la cual se realiza. Después de 7 a 11 días a 20-34°C aparece una película delgada, formada por células en forma de salchicha, barrocas, y tras 15-30 días a 13-15°C se forma una película más gruesa. En el curso de un mes a temperatura ambiente se produce sedimento y una película formada por células alargadas(14)

Los límites de temperatura para la formación de película se encuentran entre los 6 y 38°C. Las esporas, que se forman en cantidad de 1-4 en un asca, son redondeadas y lisas, midiendo 3,5 µm, aproximadamente, de diámetro. Con frecuencia se forma una cuña protoplasmática entre las esporas, de manera que éstas reciben un aspecto característico de pared doble. El óptimo de temperatura para la esporogénesis se encuentra hacia los 30°C, y a esta temperatura las esporas se pueden desarrollar en el transcurso de 40 horas. A 12-15°C se desarrollan en el curso de 4-6 días. Los límites de temperatura para la esporogénesis se encuentran entre los 9 y 37°C. (22)

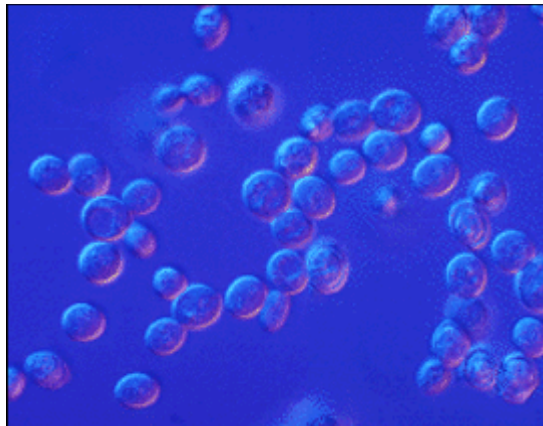


Figura 2.1 Células de *Saccharomyces cerevisiae*

2.6 EL ETANOL COMO FUENTE ALTERNATIVA DE ENERGÍA

2.6.1 CARACTERÍSTICAS DEL ETANOL

El alcohol etílico o Etanol, cuya fórmula química es C_2H_5OH , es un alcohol que se presenta como un líquido incoloro e inflamable con un punto de ebullición de 78°C. Al mezclarse con

agua en cualquier proporción da una mezcla azeotrópica con un contenido aproximado de un 96 % de etanol. Es el componente activo esencial de las bebidas alcohólicas. Se obtiene a través de dos procesos de elaboración: La fermentación o descomposición de los azúcares contenidos en distintas frutas, y la destilación, consistente en la depuración de las bebidas fermentadas. (21)

El alcohol etílico, no sólo es el producto químico orgánico más antiguo empleado por el hombre, sino también uno de los más importantes. Sus usos más comunes son industriales, domésticos y medicinales.

La industria emplea mucho el alcohol etílico como disolvente para lacas, barnices, perfumes y condimentos; como medio para reacciones químicas, y para cristalizaciones. Además, es una materia prima importante para síntesis; su obtención puede darse de dos maneras fundamentalmente: preparamos alcohol etílico por hidratación del etileno o bien por fermentación de melazas (o, a veces de almidón); por tanto, sus fuentes primarias son el petróleo, la caña de azúcar y varios granos. (20)

Para poder separar el etanol obtenido es necesario realizar una operación unitaria conocida como destilación la cual es una operación de separación de gran uso en ingeniería química. Se define como una operación en la cual una mezcla líquida o de vapores de dos o más sustancias es separada en sus fracciones componentes a la pureza deseada mediante la aplicación o remoción de calor. (7)

Esta operación se basa en el hecho de que la fase vapor de una mezcla hirviente será más rica en los componentes que poseen menor punto de ebullición. Por lo tanto, cuando este vapor es enfriado y condensado, el líquido condensado contendrá una mayor concentración de las sustancias más volátiles. Al mismo tiempo, la mezcla original contendrá una mayor concentración de las sustancias menos volátiles. (22)

Una destilación puede llevarse a cabo en un equipo a nivel laboratorio o en columnas de nivel industrial las cuales constan de recipientes cilíndricos, verticales, con una entrada lateral por la que se introduce la alimentación. En la parte superior tiene una salida para extraer los vapores que posteriormente se van a condensar dando el destilado. En la parte inferior existe otro orificio por el cual se retira el residuo que va quedando de la destilación. En algunas columnas

también existen diversas entradas laterales para introducir la alimentación a distintas alturas. El alimento que se introduce en muchas ocasiones suele estar precalentado para no tener que calentar mucho el calderín. En la columna pretendemos poner en contacto lo más posible el líquido y el vapor. (7)

2.6.2 EL ETANOL COMO COMBUSTIBLE

Existe la posibilidad de reducir la dependencia mundial de los combustibles fósiles; la energía nuclear, la energía hidráulica, la energía solar, la energía eólica y la energía geotérmica, no se las puede implementar en nuestro país por el elevado costo tecnológico y económico que demandaría al estado en su implementación, en su defecto el tratamiento de residuos orgánicos para la obtención de etanol se convertiría en una alternativa para disponer de energía, pues en su procesamiento no demanda de tecnología avanzada.

El etanol puede utilizarse como combustible para automóviles sin mezclar o mezclado con gasolina en cantidades variables para reducir el consumo de derivados del petróleo. El combustible resultante se conoce como gasohol (en algunos países, "alconafta"). Dos mezclas comunes son E10 y E85, que contienen el etanol al 10% y al 85%, respectivamente. (6)

El etanol también se utiliza cada vez más como añadido para oxigenar la gasolina estándar, también puede utilizarse como combustible en las celdas de combustible.

El etanol que proviene de los campos de cosechas (bio-etanol) se perfila como un recurso energético potencialmente sostenible que puede ofrecer ventajas medioambientales y económicas a largo plazo en contraposición a los combustibles fósiles. Se obtiene fácilmente del azúcar o del almidón en cosechas de maíz y caña de azúcar, por ejemplo. Sin embargo, los actuales métodos de producción de bio-etanol utilizan una cantidad significativa de energía comparada al valor de la energía del combustible producido. Por esta razón, no es factible sustituir enteramente el consumo actual de combustibles fósiles por bio-etanol. (6)

Por cada gigajulio (GJ) obtenido del etanol puro al arder, produce 71,35 kg de dióxido de carbono. Si se considera la gasolina como octano puro, la producción sería de 67,05 kg/GJ: a igualdad de energía producida en la combustión, el etanol produce un 6% más de dióxido de carbono que la gasolina, lo cual puede poner en duda la idea, de que es más ecológico.

Como una ventaja ambiental a este combustible, es el dióxido de la atmósfera absorbido durante el crecimiento de la planta que produce el etanol (que no se volvería a emitir si no se quemara), así como en los procesos de transformación que sufren las materias primas antes de ser un combustible utilizable o también demostrando que los motores que utilicen etanol tengan un rendimiento mayor que los de gasolina (por lo dicho, bastaría que fuesen un 6% más eficientes).(27)

Sin entrar en cifras, a menudo muy discutidas desde un punto de vista a largo plazo no se debe despreciar el hecho de que sea un combustible renovable, y por lo tanto inagotable, al contrario que el petróleo. Este punto de vista resulta quizá un poco superficial, puesto que había que calcular la cantidad de tierras que habría que labrar para conseguir suplir las inmensas cantidades de combustible que requiere, y requerirá, la actividad humana. (6)

2.6.3 BALANCE DE ENERGÍA

Para que el etanol contribuya perceptiblemente a las necesidades de combustible para el transporte, necesitaría tener un balance energético neto positivo. Para evaluar la energía neta del etanol hay que considerar cuatro variables: la cantidad de energía contenida en el producto final del etanol, la cantidad de energía consumida directamente para hacer el etanol (tal como el diesel usado en tractores), la calidad del etanol que resultaba comparado a la calidad de la gasolina refinada y la energía consumida indirectamente (para hacer la planta de proceso de etanol, etc). (2)

Aunque es un asunto que crea discusión, algunas investigaciones que hagan caso de la calidad de la energía sugieren que el proceso toma tanta o más energía combustible fósil (en las formas de gas diesel, natural y de carbón) para crear una cantidad equivalente de energía bajo la forma de etanol. Es decir la energía necesitada para funcionar los tractores, para producir el fertilizante, para procesar el etanol, y la energía asociada al desgaste y al rasgón en todo el equipo usado en el proceso (conocido como amortización del activo por los economistas) puede ser mayor que la energía derivada del etanol al quemarse. Se suelen citar dos defectos de esta argumentación como respuesta:

1. No se hace caso a la calidad de la energía, cuyos efectos económicos son importantes. Los efectos económicos principales de la comparación de la calidad de la energía son los costes de

la limpieza de contaminación del suelo que provienen derrames de gasolina al ambiente y costes médicos de la contaminación atmosférica resultado de la refinación y de la gasolina quemada.

2. La inclusión del desarrollo de las plantas del etanol inculca un prejuicio contra ese producto basado estrictamente sobre la pre-existencia de la capacidad de refinación de la gasolina. La decisión última se debería fundar sobre razonamientos económicos y sociales a largo plazo. El primer argumento, sin embargo, sigue debatiéndose. No tiene sentido quemar 1 litro de etanol si requiere quemar 2 litros de gasolina (o incluso de etanol) para crear ese litro.

La mayor parte de la discusión científica actual en lo que al etanol se refiere gira actualmente alrededor de las aplicaciones en las fronteras del sistema. Esto se refiere a lo completo que pueda ser el esquema de entradas y salidas de energía. Se discute si se deben incluir temas como la energía requerida para alimentar a la gente que cuida y procesa el maíz, para levantar y reparar las cercas de la granja, incluso la cantidad de energía que consume un tractor. Además, no hay acuerdo en qué clase de valor dar para el resto del maíz (como el tallo por ejemplo), lo que se conoce comúnmente como coproducto. (26)

Algunos estudios propugnan que es mejor dejarlo en el campo para proteger el suelo contra la erosión y para agregar materia orgánica. Mientras que otros queman el coproducto para accionar la planta del etanol, pero no evitan la erosión del suelo que resulta (lo cual requeriría más energía en forma de fertilizante). Dependiendo del estudio, la energía neta varía de 0,7 a 1,5 unidades de etanol por unidad de energía de combustible fósil consumida. En comparación si el combustible fósil utilizado para extraer etanol se hubiese utilizado para extraer petróleo y gas se hubiesen llenado 15 unidades de gasolina, que es un orden de magnitud mayor. (2)

La extracción no es igual que la producción. Cada litro de petróleo extraído es un litro de petróleo agotado. Para comparar el balance energético de la producción de la gasolina a la producción de etanol, debe calcularse también la energía requerida para producir el petróleo de la atmósfera y para meterlo nuevamente dentro de la tierra, un proceso que haría que la eficiencia de la producción de la gasolina fuese fraccionaria comparada a la del etanol. Se calcula que se necesita un balance energético de 200 %, o 2 unidades de etanol por unidad de combustible fósil invertida, antes de que la producción en masa del etanol llegue a ser económicamente factible. (2)

2.7 FUENTES PARA LA OBTENCIÓN DEL ETANOL

Hoy en día se utilizan tres tipos de materias primas para la producción a gran escala de etanol:

1. Sustancias con alto contenido de sacarosa

- caña de azúcar
- remolacha
- melazas
- sorgo dulce

2. Sustancias con alto contenido de almidón

- maíz
- patata
- yuca

3. Sustancias con alto contenido de celulosa

- madera
- residuos agrícolas

El proceso a partir de almidón es más complejo que a partir de sacarosa porque el almidón debe ser hidrolizado previamente para convertirlos en azúcares. Para ello se mezcla el vegetal triturado con agua y con una enzima (o en su lugar con ácido) y se calienta la papilla obtenida a 120 - 150°C. Luego se cuele la masa, en un proceso llamado escarificación, y se envía a los reactores de fermentación. (6)

A partir de celulosa es aun más complejo porque primero hay que pre-tratar la materia vegetal para que la celulosa pueda ser luego atacada por las enzimas hidrolizantes. El pre-tratamiento puede consistir en una combinación de trituración, pirolisis y ataque con ácidos y otras sustancias. Esto es uno de los factores que explican por qué los rendimientos en etanol son altos para la caña de azúcar, mediocres para el maíz y bajos para la madera. (12)

2.8 LOS RESIDUOS DE FRUTAS COMO FUENTE DE ETANOL

Las frutas son alimentos vegetales que proceden del fruto de determinadas plantas, ya sean hierbas como la melonera o árboles como el albaricoquero. Las frutas poseen un sabor y un aroma característicos y presentan unas propiedades nutritivas y una composición química que las distingue de otros alimentos.

La composición química de las frutas depende sobre todo del tipo de fruta y de su grado de maduración; así:

- Agua: Más del 80% y hasta el 90% de la composición de la fruta es agua. Debido a este alto porcentaje de agua y a los aromas de su composición, la fruta es muy refrescante.
- Glúcidos: Entre el 5% y el 18% de la fruta está formado por carbohidratos. El contenido puede variar desde un 20% en el plátano hasta un 5% en el melón, sandía y fresas. Las demás frutas tienen un valor medio de un 10%. El contenido en glúcidos puede variar según la especie y también según la época de recolección. Los carbohidratos son generalmente azúcares simples como fructosa, sacarosa y glucosa, azúcares de fácil digestión y rápida absorción. En la fruta poco madura no encontramos, almidón, sobre todo en el plátano que con la maduración se convierte en azúcares simples. (11)
- Fibra: Aproximadamente el 2% de la fruta es fibra dietética. Los componentes de la fibra vegetal que no podemos encontrar en las frutas son principalmente pectinas y hemicelulosa. La piel de la fruta es la que posee mayor concentración de fibra, pero también es donde no podemos encontrar con algunos contaminantes como restos de insecticidas, que son difíciles de eliminar si no es con el pelado de la fruta. La fibra soluble o gelificante como las pectinas forman con el agua mezclas viscosas. El grado de viscosidad depende de la fruta de la que proceda y del grado de maduración. Las pectinas desempeñan por lo tanto un papel muy importante en la consistencia de la fruta.
- Vitaminas: A, C, y las del grupo del complejo B. Según el contenido en vitaminas podemos hacer dos grandes grupos de frutas:

- a. Ricas en vitamina C: contienen 50 mg/100g. Entre estas frutas se encuentran los cítricos, también el melón, las fresas y el kiwi.
 - b. Ricas en vitamina A: Son ricas en carotenos, como los albaricoques, melocotón y ciruelas.
- Sales minerales: Al igual que las verduras, las frutas son ricas en potasio, magnesio, hierro y calcio. Las sales minerales son siempre importantes pero sobre todo durante el crecimiento para la osificación. El mineral más importante es el potasio. Las que son más ricas en potasio son las frutas de hueso como el albaricoque, cereza, ciruela, melocotón, etc.
 - Valor calórico: Determinado por su concentración en azúcares, oscilando entre 30-80 Kcal/100g. Como excepción tenemos frutas grasas como el aguacate que posee un 16% de lípidos y el coco que llega a tener hasta un 60%. El aguacate contiene ácido oleico que es un ácido graso monoinsaturado, pero el coco es rico en grasas saturadas como el ácido palmítico. (11)
 - Proteínas y grasas: Los compuestos nitrogenados como las proteínas y los lípidos son escasos en la parte comestible de las frutas, aunque son importantes en las semillas de algunas de ellas. Así el contenido de grasa puede oscilar entre 0,1 y 0,5%, mientras que las proteínas puede estar entre 0,1 y 1,5%.
 - Aromas y pigmentos: La fruta contiene ácidos y otras sustancias aromáticas que junto al gran contenido de agua de la fruta hace que ésta sea refrescante. El sabor de cada fruta vendrá determinado por su contenido en ácidos, azúcares y otras sustancias aromáticas. El ácido málico predomina en la manzana, el ácido cítrico en naranjas, limones y mandarinas y el ácido tartárico en la uvas. Por lo tanto los colorantes, los aromas y los componentes fenólicos astringentes aunque se encuentran en muy bajas concentraciones, influyen de manera crucial en la aceptación organoléptica de las frutas.

Es justamente por estas características y principalmente por el contenido de glúcidos por lo que los residuos de frutas pueden ser utilizados como fuente de etanol.

Tanto en los procesos de cosecha y comercialización cada año se producen enormes cantidades de residuos frutas los mismos que van a parar en ríos, lagos; etc. o en el mejor de los casos en

un botadero público por lo que resulta de mucha importancia darles un uso; en las tabla I y II se detallan las cantidades de frutas producidas en el Ecuador en el primer semestre del año 2006 según el INEC y la producción de frutas en la provincia de Chimborazo en el año 2000 respectivamente.

Tabla I. Producción de principales frutas en el Ecuador (año 2000)

Especie	Producción (Tm.)	Ventas (Tm.)
Banano	26741	3342
Claudia	312	144
Chirimoya	496	190
Ciruelo	1348	720
Durazno	219	63
Guanábana	765	126
Guayaba	1541	1183
Lima	326	145
Mandarina	25627	14429
Mango	15886	3263
Manzana	840	312
Naranja	51729	25763
Orito	565	*****
Papaya	4772	978
Pera	545	395
Piña	68	11
Plátano	54053	13975
Tomate de árbol	286	75
Toronja	3231	1288
Zapote	6897	3197
Otros	7392	3495

Fuente. INEC.

Tabla II. Producción de principales frutas en la provincia del Chimborazo.

Especie	Producción (Tm.)	Ventas (Tm.)
Banano	96	77
Claudia	17	14
Durazno	36	32
Mandarina	299	255
Manzana	137	109
Naranja	379	242
Papaya	12	***
Pera	19	18
Plátano	85	53
Tomate de árbol	19	15

Fuente. INEC.

De las tablas podemos deducir que se produce una gran cantidad de frutas en nuestro país y en la provincia de Chimborazo; además que el total de la producción no es comercializada lo cual significa que existen cantidades muy grandes de residuos generados los mismos que pueden ser aprovechados con el fin de obtener etanol.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 MATERIAL BIOLÓGICO

El material biológico en el caso del presente trabajo de investigación que son los residuos orgánicos, fueron recolectados en la sección de frutas del Mercado Mayorista de la Ciudad de Riobamba.

3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.2.1 VARIABLES EN ESTUDIO

Las variables en estudio corresponden a la masa de residuos procesados y el volumen de etanol obtenido.

Variable dependiente: Volumen de etanol obtenido.

Variable independiente: Masa de residuos procesados.

3.2.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Por el nivel de profundidad: Explicativa.

Por la secuencia del estudio: Transversal.

Por el tipo de datos a analizar: Cuantitativa.

Por las condiciones del estudio: De campo y de laboratorio.

Por la utilización del conocimiento: Aplicativa.

Por la rigurosidad del método empleado: Experimental.

3.2.3 TIPO DE DISEÑO

Se utilizó el diseño completamente al azar, con 4 tratamientos y 4 repeticiones.

3.2.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

El colectivo de estudio estará conformado por los residuos orgánicos de la sección de frutas del Mercado Mayorista de Riobamba.

La unidad experimental de estudio estará conformada por una muestra de los residuos orgánicos provenientes de la sección de frutas del Mercado Mayorista de Riobamba.

La población es finita y estará formada por los datos generados por los siguientes indicadores:

Tabla III. Parámetros de determinados en los residuos de frutas

Indicador	Tipo
Características Físicas y Químicas de los residuos a procesar, residuales del proceso y melaza utilizada.	Cuantitativo
Azúcares totales %	Cuantitativo
Azúcares reductores %	
Azúcares no reductores %	
Almidón %	
Proteína %	
Humedad %	
Fibra %	
Cenizas %	
Fósforo mg/Kg	
Potasio mg/Kg	
Aerobios mesófilos UFC/10 g	Cuantitativo
Coliformes totales UFC/10 g	
Coliformes fecales UFC/10 g	
Mohos UFC/10 g	
Levaduras UFC/10 g	

El estadístico de interés es el volumen de etanol en litros obtenido a partir de los residuos procesados en kilogramos.

3.2.5 TRATAMIENTOS

- Tratamiento 1: El proceso fermentativo será realizado utilizando la flora microbiana propia de los residuos.
- Tratamiento 2: El proceso fermentativo será realizado utilizando un inóculo de *Saccharomyces cerevisiae*.
- Tratamiento 3: Para el proceso fermentativo el sustrato será enriquecido con melaza y se utilizará la flora microbiana propia de los residuos.
- Tratamiento 4: Para el proceso fermentativo el sustrato será enriquecido con melaza y se utilizará un inóculo de *Saccharomyces cerevisiae*.

3.2.6 FASES DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación se realizó en tres fases:

FASE 1: Caracterización de los parámetros Físico, Químicos y Microbiológicos de los residuos.

FASE 2: Proceso de obtención de etanol utilizando los diferentes tratamientos establecidos.

FASE 3: Análisis de los datos obtenidos.

3.3 TÉCNICAS Y MÉTODOS EMPLEADOS EN LA INVESTIGACIÓN

a) Análisis de los parámetros físicos, químicos y microbiológicos de los residuos, desechos del proceso y melaza utilizada

Tabla IV. Metodología utilizada para la determinación de los parámetros propuestos.

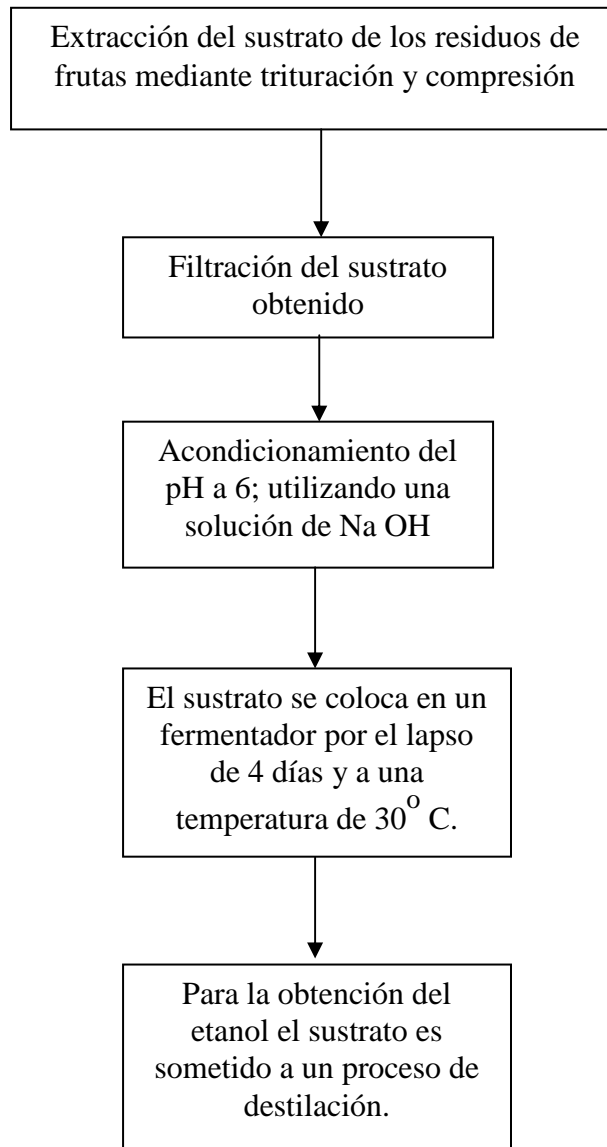
Parámetro	Unidad	Método
Azúcares totales	%	Volumétrico
Azúcares reductores	%	Volumétrico
Azúcares no reductores	%	Volumétrico
Almidón	%	Volumétrico
Proteína	%	AOAC/Kjeldhal
Humedad	%	AOAC/Gravimétrico
Fibra	%	AOAC/Gravimétrico
Cenizas	%	AOAC/Gravimétrico
Fósforo	mg/Kg	Espectrofotométrico
Potasio	mg/Kg	Absorción atómica
Aerobios mesófilos	UFC/10 g	AOAC 990,12
Coliformes totales	UFC/10 g	AOAC 991
Coliformes fecales	UFC/10 g	AOAC 991
Mohos	UFC/10 g	AOAC 997,02
Levaduras	UFC/10 g	AOAC 997,02

b) Control de calidad en el alcohol obtenido

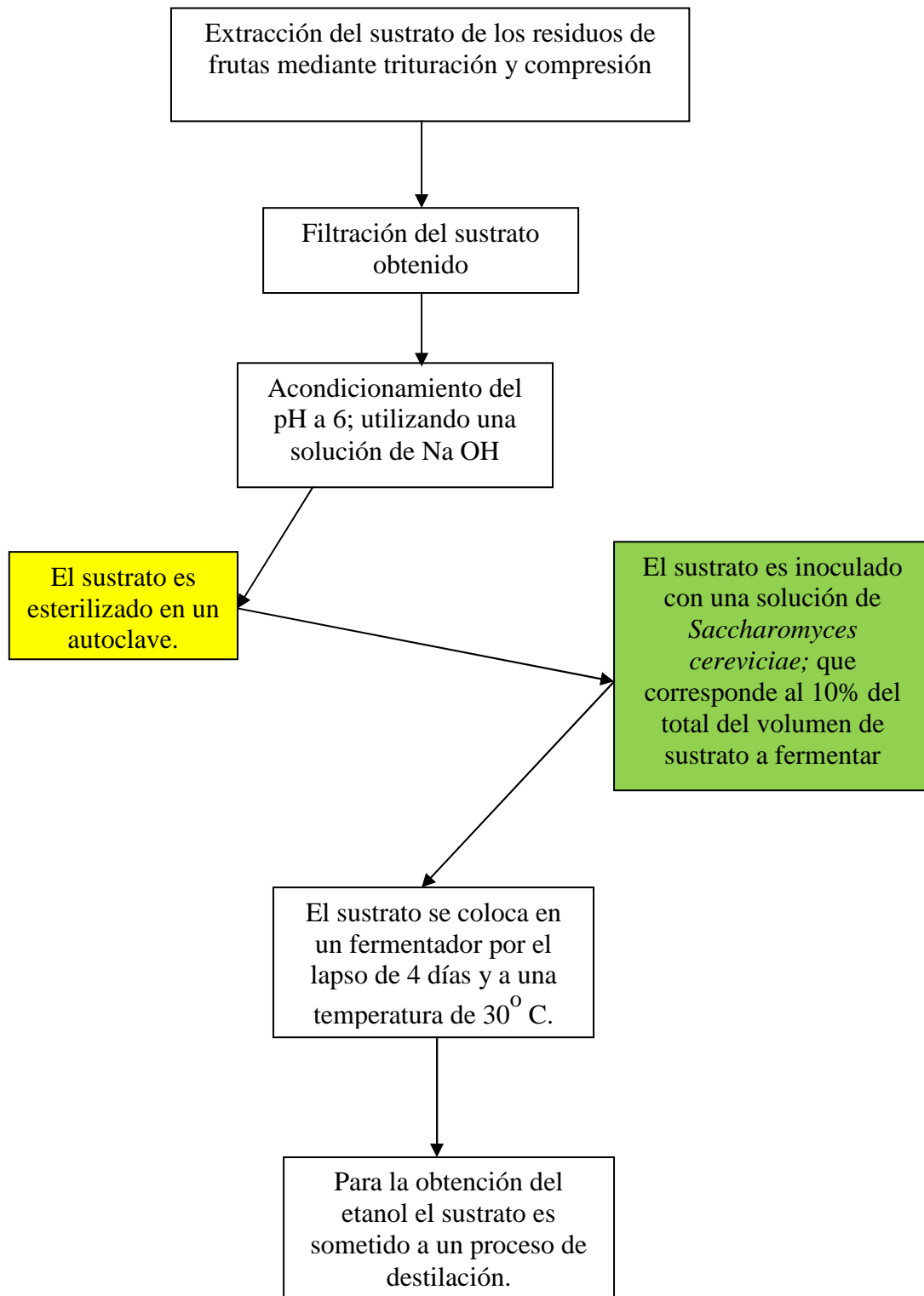
El único y principal parámetro de calidad en el alcohol obtenido fue la determinación del grado alcohólico para el cual se utilizó un alcoholímetro.

3.4 ESQUEMA DE LOS PROCESOS

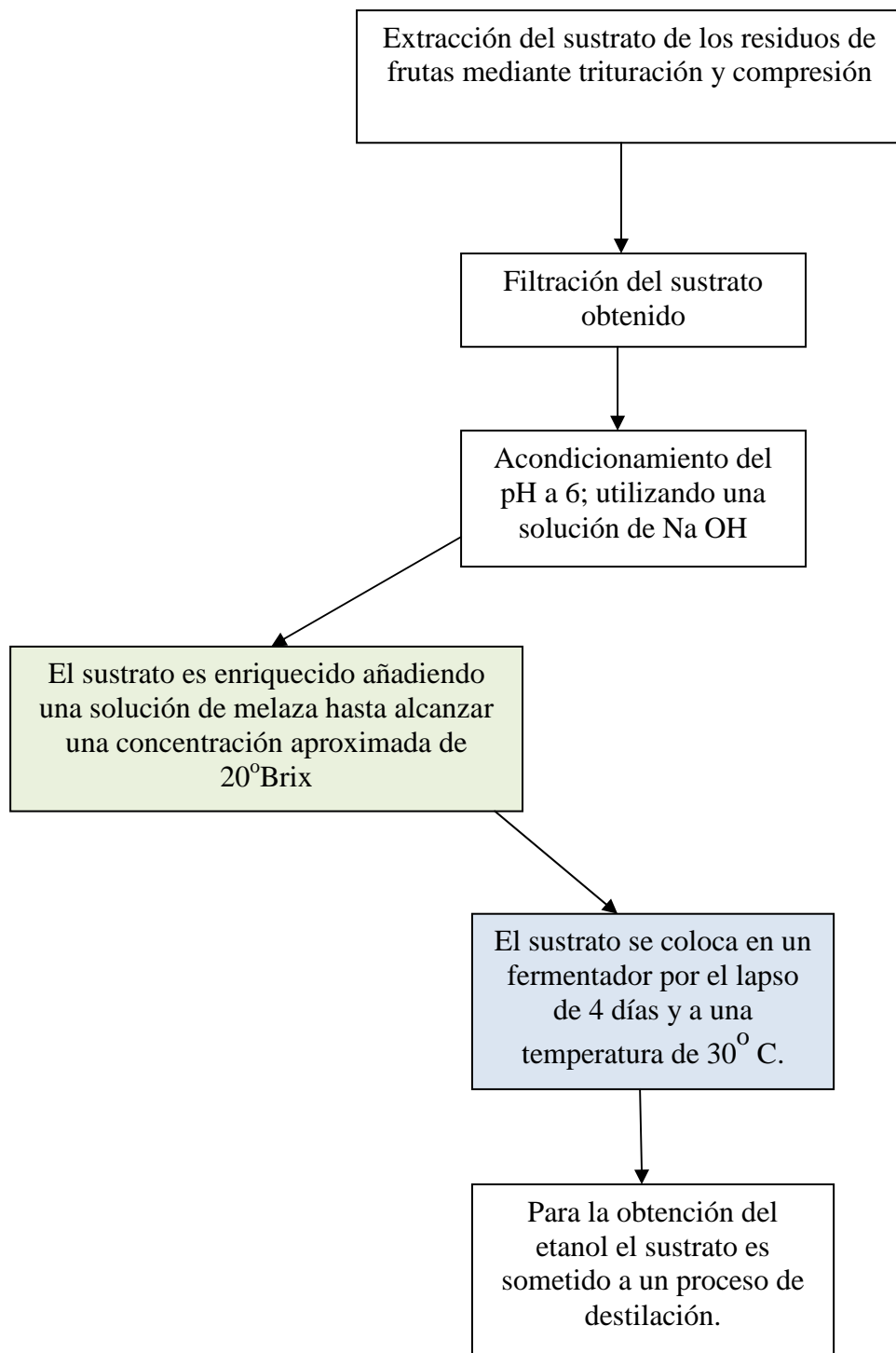
3.4.1 OBTENCIÓN DE ETANOL DE ACUERDO AL TRATAMIENTO 1



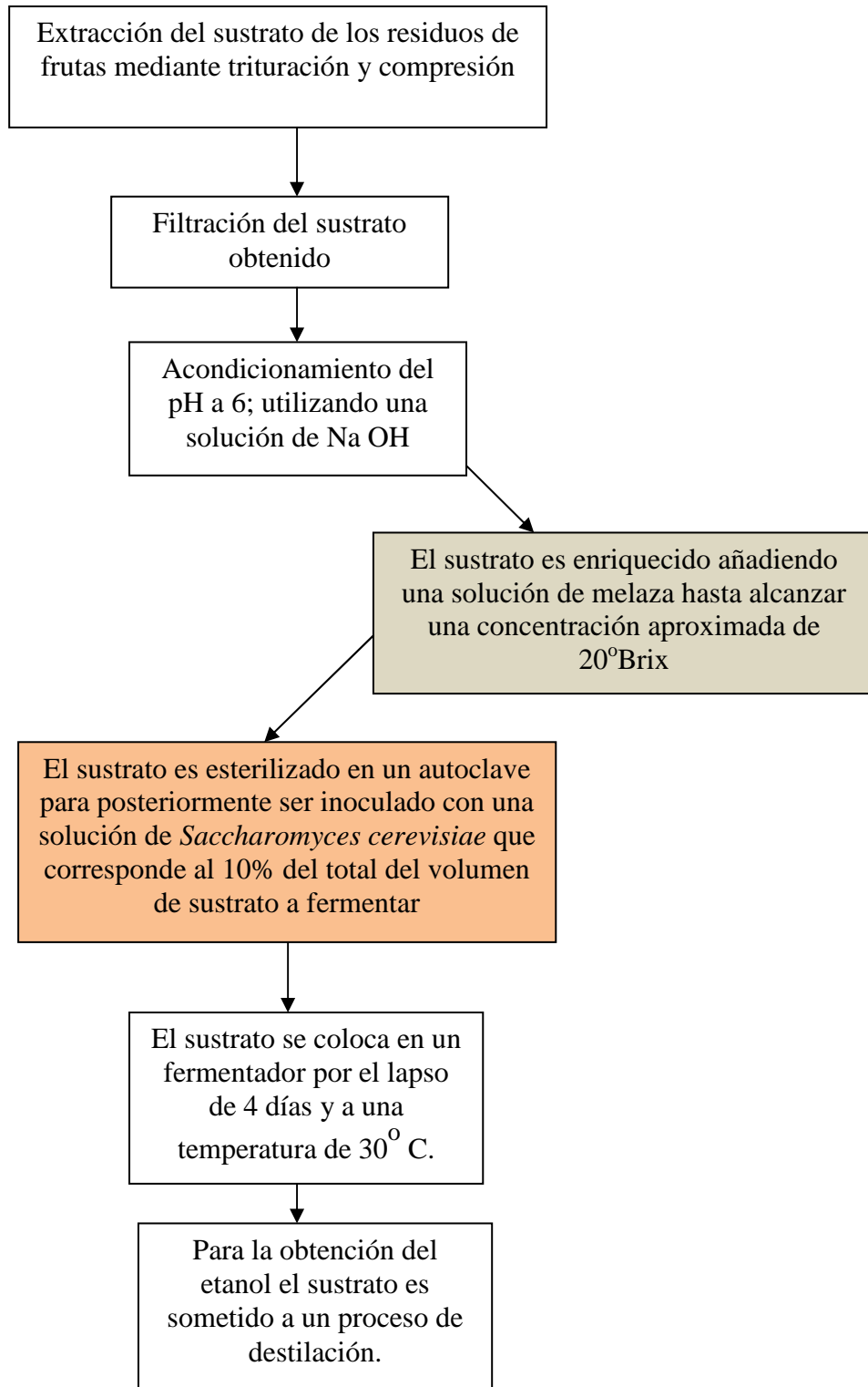
3.4.2 OBTENCIÓN DE ETANOL DE ACUERDO AL TRATAMIENTO 2



3.4.3 OBTENCIÓN DE ETANOL DE ACUERDO AL TRATAMIENTO 3



3.4.4 OBTENCIÓN DE ETANOL DE ACUERDO AL TRATAMIENTO 4



3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Técnicas de recolección de datos: Recolección de muestras al azar de los residuos orgánicos de la sección de frutas del mercado mayorista.

Técnicas de análisis de datos: Análisis de Tukey al 5%.

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LOS RESIDUOS DE FRUTAS

Las muestras obtenidas de los residuos orgánicos de la sección de frutas del Mercado Mayorista de Riobamba fueron analizadas presentando los resultados que se detallan a continuación.

4.1.1 ANÁLISIS PROXIMAL

El porcentaje de **Humedad**, como se puede apreciar en la tabla V, arrojó cifras sin mayor variación entre las cuatro muestras analizadas en el laboratorio dándonos un promedio de 82.63% con una desviación estándar de 2.31.

Este elevado índice de humedad podría ser causante de una rápida degradación de los residuos, con un concerniente elevamiento en la carga microbiana, por lo que recomienda trabajar con los residuos en el menor tiempo posible luego de la obtención de los mismos.

Respecto al porcentaje de **Cenizas** se obtuvo muestras sin mayor variación respecto al valor promedio teniendo como resultado promedio 2.34% de este parámetro con una desviación estándar de 2.19.

El porcentaje de **Proteína** fue de 2.67% con una desviación estándar de 0.29, confirmándonos de esta manera los datos investigados respecto del porcentaje de este parámetro en las frutas, mismos que se encuentran en el marco teórico.

Tabla V Resultados del análisis proximal de los residuos.

Parámetro	Humedad	Cenizas	Proteína
Promedio (%)	82.63	12.34	2.67

4.1.2 ANÁLISIS DE MINERALES

En la tabla VI podemos observar respecto al análisis del **Fósforo** que este valor correspondió a un promedio de 54.25 mg/Kg con una desviación estándar de 6.95 valor esperado debido a que la mayoría de las frutas no son ricas en este mineral.

El análisis del **Potasio** correspondió a un valor promedio de 1687.25 mg/Kg con una desviación estándar de 300.13, valor que corresponde a lo esperado debido a que las frutas son muy ricas en este mineral.

Tabla VI Resultados del análisis de minerales de los residuos.

Parámetro	Fósforo	Potasio
Promedio(mg/Kg)	54.25	1687.25

4.1.3 ANÁLISIS DE AZÚCARES

Respecto al análisis de **Azúcares Totales** se ve en la tabla VII que en los análisis realizados se obtuvo un promedio de 17.41 con una desviación estándar de 7.65 lo cual nos confirma los datos presentados en el marco teórico en los cuales se tiene como valor un 18%.

En el análisis de **Azúcares Reductores** se obtuvo un promedio de 11.00 con una desviación estándar de 0.62

En el análisis de **Azúcares No Reductores** se obtuvo un promedio de 6.40 con una desviación estándar del 8.18

Tabla VII Resultados del análisis de Azúcares

Parámetro	Azúcares Totales	Azúcares Reductores	Azúcares No Reductores
Promedio (%)	17.41	11.00	6.40

4.1.4 ANÁLISIS DE FIBRA Y ALMIDÓN

El porcentaje de **Fibra** presentados en la tabla VIII corresponde a un valor de 18.19 con una desviación estándar del 1.68 valor que corresponde totalmente a lo esperado debido a que las frutas son ricas en fibra.

El Porcentaje de **Almidón** correspondió a 0.43 con una desviación estándar de 0.17

Tabla VIII Resultados del análisis de Fibra y Almidón.

Parámetro	Fibra	Almidón
Promedio (%)	18.19	0.43

4.1.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

El porcentaje de **Aerobios Mesófilos Totales** fue de 178500000 UFC/10mg con una desviación estándar de 44132377 lo cual corresponde a un residuo de esta naturaleza.

El análisis de **Coliformes Totales** correspondió a un promedio de 17555 UFC/10mg con una desviación estándar de 6569.84.

El porcentaje de **Coliformes Fecales** fue de un promedio de 50 UFC/10mg con una desviación estándar de 57.74

El promedio de **Mohos** fue de 3575 UFC/mg con una desviación estándar de 953.5

El promedio de **Levaduras** correspondió a 128150 UFC/10mg con una desviación estándar de 43606

En lo referente a estos análisis los resultados son los esperados puesto que estos residuos son ideales para el crecimiento de estos microorganismos y de manera especial para el crecimiento de mohos y levaduras por el contenido de glúcidos de los mismos

Tabla IX Resultados de los análisis Microbiológicos

Parámetro	Aerobios Mesófilos Totales	Coliformes Totales	Coliformes Fecales	Mohos	Levaduras
Promedio(UFC/10 mg)	147450000	17555	50	3575	128150

4.2 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA MELAZA UTILIZADA EN EL PROCESO

4.2.1 ANÁLISIS PROXIMAL

Humedad, como se puede apreciar en la Tabla X obtuvimos un valor de 24.8%

Respecto al valor de **Cenizas** se obtuvo 12.3%

Proteína, se obtuvo como valor 6.45%

Tabla X Resultados del análisis proximal de la melaza utilizada en el proceso.

Parámetro	Humedad	Cenizas	Proteína
Promedio (%)	24.8	12.3	6.45

4.2.2 ANÁLISIS DE MINERALES

Respecto al análisis del **Fósforo** este correspondió a 684 mg/Kg

El análisis del **Potasio** correspondió a 28741mg/Kg valor esperado debido a que la melaza es muy rica en este mineral

Tabla XI Resultados del análisis de minerales de los residuos.

Parámetro	Fósforo	Potasio
(mg/Kg)	684	28741

4.2.3 ANÁLISIS DE AZÚCARES

Respecto al análisis de **Azúcares Totales** se obtuvo un valor promedio de 65.8%

En el análisis de **Azúcares Reductores** se obtuvo valor promedio de 43.66%

En el análisis de **Azúcares No Reductores** se obtuvo un valor promedio de 22.14%

Los resultados del análisis de la melaza son los esperados debido a que este es un subproducto obtenido del proceso de producción de la azúcar.

Tabla XII Resultados del análisis de Azúcares

Parámetro	Azúcares Totales	Azúcares Reductores	Azúcares No Reductores
(%)	65.8	43.66	22.14

4.2.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

El valor de **Aerobios Mesófilos Totales** fue de 1200 UFC/10mg

El análisis de **Coliformes Totales** correspondió a un valor de 0 UFC/10mg

El valor de **Coliformes Fecales** fue de 0 UFC/10mg

El valor de **Mohos** fue de 8100 UFC/mg

El valor de **Levaduras** correspondió a 77500 UFC/10mg

De estos resultados podemos observar que todos los resultados son bajos a excepción de los de Mohos y levaduras debido a que los azúcares en altos contenidos limitan radicalmente la proliferación de microorganismos a excepción obviamente de los mohos y las levaduras para los cuales estas condiciones son propicias para su crecimiento y reproducción.

Tabla XIII Resultados de los análisis Microbiológicos

Parámetro	Aerobios Mesófilos Totales	Coliformes Totales	Coliformes Fecales	Mohos	Levaduras
(UFC/10 mg)	1200	0	0	8100	77500

4.3 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL RESIDUAL GENERADO EN EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE ETANOL

4.3.1 ANÁLISIS PROXIMAL

Humedad, se obtuvo un valor porcentual de 75.14

Respecto al valor de **Cenizas** se obtuvo 4.7

Proteína, se obtuvo como valor fue de 3.53

De los valores obtenidos podemos deducir claramente que una parte del agua ha sido extraída durante el proceso de obtención de etanol al igual que los azúcares y minerales que se encuentran en los residuos respecto al valor de la proteína esta se mantiene constante antes del proceso y posterior al mismo.

Tabla XIV Resultados del análisis proximal de la melaza utilizada en el proceso.

Parámetro	Humedad	Cenizas	Proteína
Promedio (%)	75.14	4.7	3.53

4.3.2 ANÁLISIS DE MINERALES

Respecto al análisis del **Fósforo** este correspondió a 71 mg/Kg

El análisis del **Potasio** correspondió a 2250 mg/Kg

Estos resultados nos dan ha entender que el residuos es rico en minerales por lo que es posible que el mismo pueda se utilizado como una fuente de alimentación animal.

Tabla XV Resultados del análisis de minerales de los residuos.

Parámetro	Fósforo	Potasio
(mg/Kg)	71	2250

4.3.3 ANÁLISIS DE AZÚCARES

Respecto al análisis de **Azúcares Totales** se obtuvo un valor promedio de 11.36

Tabla XVI Resultados del análisis de Azúcares

Parámetro	Azúcares Totales
(%)	11.36

Valor que indica que estos residuos aún luego del proceso de obtención de etanol contienen azúcares los mismos que pueden ser utilizados con diferentes fines siendo lo más recomendable como fuente de alimentación animal.

4.3.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

El valor de **Aerobios Mesófilos Totales** fue de 300000 UFC/10mg

El análisis de **Coliformes Totales** correspondió a un valor de 1100 UFC/10mg

El valor de **Coliformes Fecales** fue de 0 UFC/10mg

El valor de **Mohos** fue de 1500 UFC/mg

El valor de **Levaduras** correspondió a 59750 UFC/10mg

Estos resultados confirman los datos obtenidos en la tabla IX debido a que los residuos de frutas como el residual del proceso son ideales para el crecimiento de estos microorganismos y de manera especial para el crecimiento de mohos y levaduras por el contenido de glúcidos de los mismos.

Tabla XVII Resultados de los análisis Microbiológicos

Parámetro	Aerobios Mesófilos Totales	Coliformes Totales	Coliformes Fecales	Mohos	Levaduras
(UFC/10 mg)	300000	1100	0	1500	59750

4.4 DETERMINACIÓN DE LA MASA DE RESIDUOS GENERADOS

La caracterización de la masa de residuos orgánicos de la sección de frutas del mercado mayorista se la realizó con el fin de conocer el promedio diario en Kilogramos de la masa de residuos generados.

Los resultados se detallan en la tabla XVIII:

Tabla XVIII Resultados de la Generación de Residuos.

Día de Muestreo	Valor Promedio (kg)	Número de comerciantes	Masa de residuos generada (kg)
Domingo 5 de agosto del 2007	7,16	50	357,89
Miércoles 8 de agosto del 2007	12,14	80	971,43
Jueves 9 de agosto del 2007	10,55	80	844,00
Sábado 11 de agosto del 2007	24,05	106	2549,58
Lunes 13 de agosto del 2007	9,95	80	796,00
Martes 14 de agosto del 2007	8,95	80	716,19
Viernes 17 de agosto del 2007	24,65	106	2612,90
Domingo 19 de agosto del 2007	6,45	50	322,73
martes 21 de agosto del 2007	8,71	80	697,14
Jueves 23 de agosto del 2007	9,00	80	720,00
Sábado 25 de agosto del 2007	21,24	106	2251,24
Lunes 27 de agosto del 2007	9,70	80	776,00
Miércoles 29 de agosto del 2007	11,65	80	932,00
Viernes 31 de agosto del 2007	19,60	106	2077,60
Domingo 2 de septiembre del 2007	6,52	50	326,19
Martes 4 de septiembre el 2007	8,35	80	668,00
Viernes 7 de septiembre del 2007	19,17	106	2031,67
Lunes 10 de septiembre del 2007	7,50	80	600,00
Miércoles 12 de septiembre del 2007	8,32	80	665,26
Jueves 13 de septiembre del 2007	7,62	80	609,52
Sábado 15 de septiembre del 2007	21,60	106	2289,60
PROMEDIO DIARIO DE LA MASA DE RESIDUOS GENERADOS			1134,05 Kilogramos.

De los datos obtenidos que se encuentran en la tabla XVIII podemos afirmar que los días con mayor generación de residuos son los días viernes y sábados teniendo como valor pico el dato registrado el día viernes 17 de agosto con 2612.9 kg, mientras que el día con menor generación es el domingo registrándose como valor mínimo el dato obtenido el día domingo 19 de agosto con una generación de 322.73 kg.

Los días lunes, martes, miércoles y jueves los valores se mantienen fluctuando entre un rango de valores de 500 y 1000 kg de residuos generados por día.

Del promedio de los datos de generación diaria de los residuos se obtuvo como valor promedio diario 1134.05 kg por día.

4.5 CONTROL DE PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS INVOLUCRADOS EN EL PROCESO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

El control de parámetro Físicos y Químicos es fundamental en el proceso de la fermentación alcohólica debido a que gracias a estos se puede determinar el curso que toma la fermentación; los resultados se detallan a continuación.

4.5.1 CONTROL DE LA TEMPERATURA EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

El análisis de los datos se lo realizó para cada una de las réplicas; obteniéndose el valor promedio de temperatura cada día.

Primera réplica

Tabla XIX. Control de temperatura. Primera Réplica.

Tiempo/días	Temperatura/ °C
día 1	29,83
día 2	29,83
día 3	29,67
día 4	29,33

Durante la primera réplica podemos afirmar que el parámetro de la temperatura se mantuvo prácticamente constante respecto a la temperatura ideal para la fermentación que es de 30°C teniendo como valor mínimo 29.33°C y como valor máximo 29.83°C.

Segunda Réplica

Tabla XX. Control de temperatura. Segunda Réplica.

Tiempo/días	Temperatura/ °C
día 1	29,50
día 2	30,00
día 3	29,33
día 4	29,67

Durante la segunda réplica al igual que en la primera el parámetro de la temperatura no presentó mayor variación respecto a la temperatura ideal para la fermentación que es de 30°C teniendo como valor mínimo 29.33°C y como valor máximo 29.67°C.

Tercera réplica

Durante la tercera réplica al igual que en las anteriores el parámetro de la temperatura igualmente no presentó mayor variación respecto a la temperatura ideal para la fermentación que es de 30°C teniendo como valor mínimo 29.17°C y como valor máximo 29.50°C.

Tabla XXI. Control de temperatura. Tercera Réplica.

Tiempo/días	Temperatura/ °C
día 1	29,17
día 2	29,33
día 3	29,17
día 4	29,50

Cuarta réplica

En la cuarta réplica al igual que en las anteriores réplicas el parámetro de la temperatura no presentó mayor variación respecto a la temperatura ideal para la fermentación que es de 30°C teniendo como valor mínimo 28.83°C y como valor máximo 30°C.

Tabla XXII. Control de temperatura. Cuarta Réplica.

Tiempo/días	Temperatura/ °C
día 1	30,00
día 2	28,83
día 3	29,83
día 4	29,67

4.5.2 CONTROL DE pH EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

El análisis de los datos se lo realizó para cada uno de los tratamientos; obteniéndose el valor promedio de pH cada día.

Tratamiento 1

Tabla XXIII. Control del pH. Tratamiento 1.

Tiempo/días	pH
día 1	6,00
día 2	5,23
día 3	4,34
día 4	3,06

En el tratamiento uno podemos afirmar respaldándonos en los datos de la tabla XXIII que existió una gran variación del pH teniendo como valor máximo un pH de 6 el cual se encuentra entre el rango de pH ideal para el proceso de fermentación alcohólica y como valor mínimo de 3.06 el mismo que se halla fuera del rango de pH ideal para la fermentación alcohólica los cual nos da a entender que en este tratamiento la disminución del pH afecto directamente en el rendimiento de etanol.

Tratamiento 2

Tabla XXIV. Control del pH. Tratamiento 2.

Tiempo/días	pH
día 1	6,00
día 2	5,28
día 3	4,80
día 4	3,71

En este tratamiento al igual que en el anterior existe una gran variación del pH respecto al pH ideal que es 6 hasta 3.71 que se encuentra fuera del mismo lo cual nos da a entender al igual que en el tratamiento anterior que esta variación del pH influyó en el bajo rendimiento de etanol en este tratamiento.

Tratamiento 3

Tabla XXV. Control del pH. Tratamiento 3.

Tiempo/días	pH
día 1	6,00
día 2	5,39
día 3	4,98
día 4	4,58

En este tratamiento al contrario que los anteriores no existe una gran variación del pH teniendo como máximo 6 que es el ideal y como mínimo 4.58 que se encuentra en el rango óptimo de pH para la fermentación alcohólica lo cual confirma el mayor rendimiento de este tratamiento respecto a los tratamientos 1 y 2.

Tratamiento 4

Tabla XXVI. Control del pH. Tratamiento 4.

Tiempo/días	pH
día 1	6,00
día 2	5,83
día 3	5,19
día 4	4,83

En este tratamiento al igual que en el tratamiento 3 no existe una mayor variación del pH teniendo como máximo 6 que es el ideal y como mínimo 4.83 que se encuentra en el rango de pH óptimo para la fermentación alcohólica; lo cual se ve confirmado en el rendimiento de este tratamiento que es significativamente mayor comparado con los tratamientos 1 y dos en los cuales se existe una gran variación del pH.

4.5.3 CONTROL DE GRADOS BRUX EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

El análisis de los datos se lo realizó para cada uno de los tratamientos; obteniéndose el valor promedio de grados Brix cada día.

Tratamiento 1

Tabla XXVII. Control de Grados Brix. Tratamiento 1.

Tiempo/días	Grados Brix
día 1	12,75
día 2	9,75
día 3	8,00
día 4	7,00

De los datos de la tabla XXVII podemos deducir que la mayor disminución de grados Brix se da entre los días 1 y 2 lo cual es correcto debido a que a medida que el curso de la fermentación alcohólica avanza y la concentración de etanol aumenta la acción de las enzimas se ve frenada por este último factor. En este tratamiento tenemos como valor máximo 12.75⁰Brix y como mínimo 7⁰Brix

Tratamiento 2

Tabla XXVIII. Control de Grados Brix. Tratamiento 2.

Tiempo/días	Grados Brix
día 1	22,00
día 2	17,50
día 3	15,25
día 4	13,25

En este tratamiento al igual que el anterior la mayor disminución de grados Brix se da entre los días 1 y 2 debido a las razones expuestas en el tratamiento 1; en este tratamiento se tienen como valor máximo 22⁰Brix y como mínimo 13.25⁰Brix.

Tratamiento 3

Tabla XXIX. Control de Grados Brix. Tratamiento 3.

Tiempo/días	Grados Brix
día 1	14,00
día 2	10,50
día 3	7,00
día 4	5,00

En este tratamiento al igual que los anteriores la mayor disminución se grados Brix se da entre los días 1 y 2 igualmente por las razones antes expuestas; en este tratamiento se tiene como valor máximo 14⁰Brix y como mínimo 5⁰Brix.

Tratamiento 4

Tabla XXX. Control de Grados Brix. Tratamiento 4.

Tiempo/días	Grados Brix
día 1	21,75
día 2	15,00
día 3	10,50
día 4	6,48

En este tratamiento al igual que en los anteriores se da la mayor disminución de grados Brix entre los días 1 y 2 teniendo como valor máximo 21.75⁰Brix y como mínimo 6.48⁰Brix.

4.6 DETERMINACIÓN DEL TRATAMIENTO CON MAYOR RENDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE LOS RESIDUOS DE FRUTAS

4.6.1 RESULTADOS DE LOS ENSAYOS REALIZADOS

Los datos corresponden a litros de Etanol obtenido de un grado alcohólico de 95^o a partir de una masa de 1.5 Kg de residuos.

Tabla XXXI. Resultados de los ensayos de laboratorio.

	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Tratamiento 4
Réplica 1	0.0076	0.0100	0.052	0.080
Réplica 2	0.0088	0.0092	0.054	0.082
Réplica 3	0.0058	0.0088	0.044	0.072
Réplica 4	0.0069	0.0076	0.046	0.067

4.6.2 PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS

H₀: Tratamientos=0 (No existe diferencia significativo entre los tratamientos)

H₁: Tratamientos≠0 (Existe diferencia significativa entre los tratamientos)

4.6.3 TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA

Para obtener la tabla de análisis de varianza se empleó el programa estadístico STATGRAPHICS PLUS.

Variable dependiente: Volumen de etanol obtenido.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0,0130636	3	0,00435454	234,85	0,0000
Within groups	0,000222498	12	0,0000185415		
Total (Corr.)	0,0132861	15			

Valor crítico para $F= 3,49$

El valor de $F=234,85$ se encuentra fuera de la zona de aceptación de H_0 ($-3.49 \leq +3.49$) por lo que se rechazó esta hipótesis y se aceptó H_1 ; es decir existe una diferencia significativa entre los tratamientos.

4.6.4 TEST DE TUKEY

Para realizar el análisis de los datos obtenidos de los ensayos de laboratorio a partir del test de Tukey se empleó el programa estadístico STATGRAPHICS PLUS.

Multiple Range Tests for Volumen Obtenido by Tratamientos

Method: 95,0 percent Tukey HSD			
Tratamientos	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	4	0,007275	X
2	4	0,0089	X
3	4	0,049	X
4	4	0,07525	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	-0,001625	0,00906723
1 - 3	*-0,041725	0,00906723
1 - 4	*-0,067975	0,00906723
2 - 3	*-0,0401	0,00906723
2 - 4	*-0,06635	0,00906723
3 - 4	*-0,02625	0,00906723

* denotes a statistically significant difference.

4.6.5 ANÁLISIS DE LOS DATOS DEL TEST DE TUKEY

De la tabla de análisis de varianza se dedujo que existe una diferencia significativa entre los tratamientos utilizados en los ensayos de laboratorio; posterior a esto se realizó el test de Tukey con un nivel de confianza del 95% con el fin de determinar la diferencia entre cada uno de los tratamientos e identificar cual de los tratamientos utilizados es el de mayor rendimiento; deduciendo que el tratamiento con mayor rendimiento es el cuatro con un valor medio en las cuatro réplicas realizadas de 0.07525 litros de etanol al 95%, obtenido a partir de 1.5Kg de residuos.

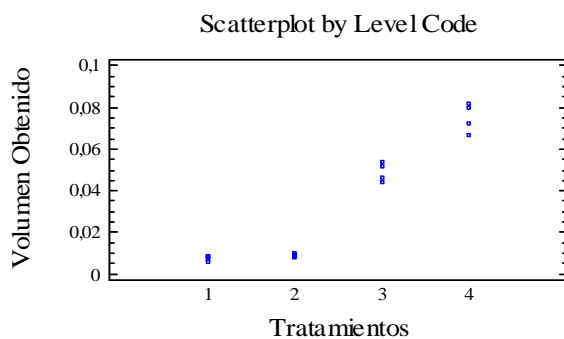
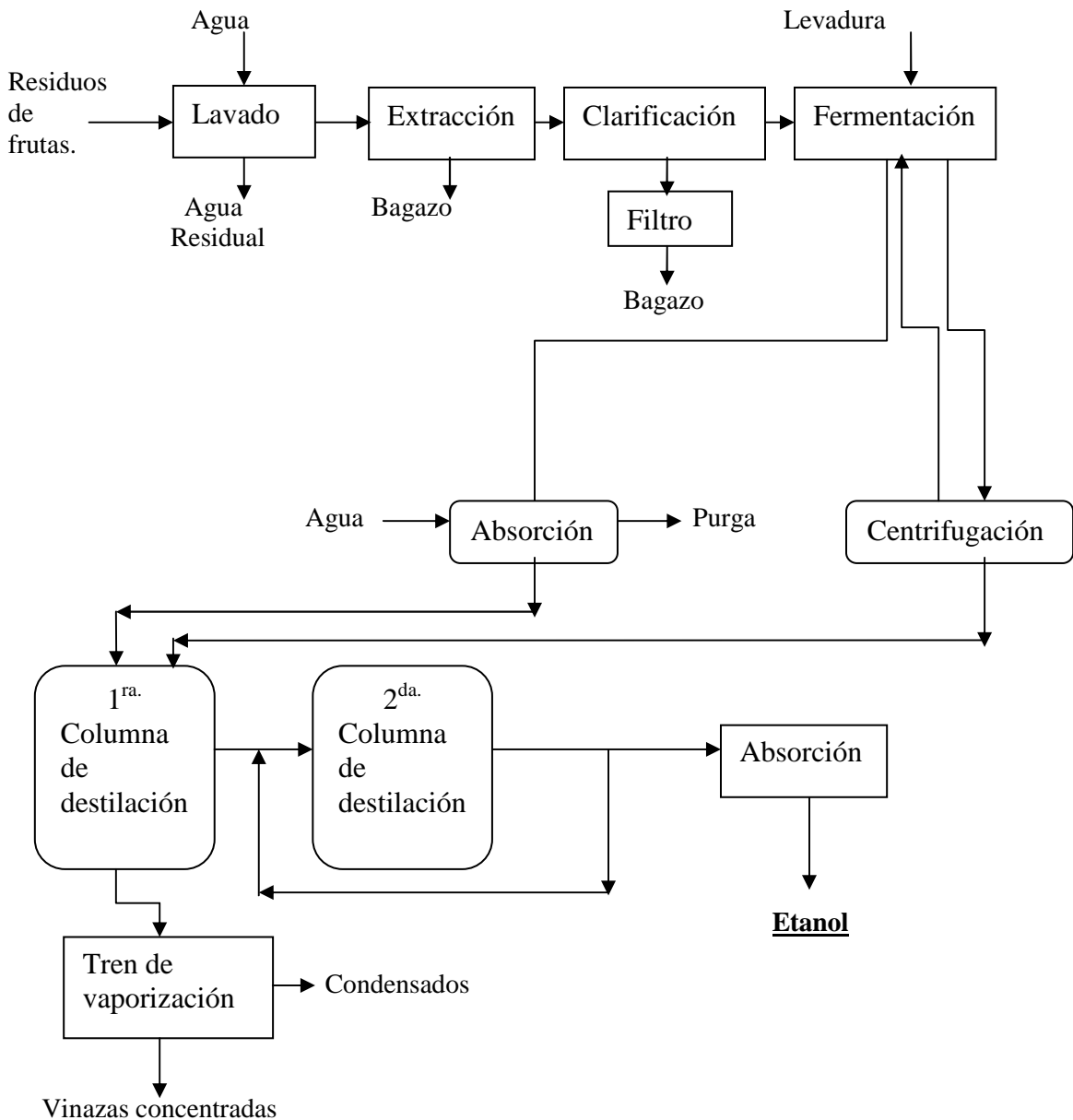


Figura 4.26. Análisis de Tukey para los datos obtenidos.

4.7 VIABILIDAD TÉCNICA

Para la instalación de una planta de procesamiento de los residuos de frutas con el fin de obtener etanol como una fuente alternativa de energía, se requiere de un proceso que no demanda una infraestructura de última tecnología por lo que dicha planta puede ser construida en nuestro país. El proceso industrial y la infraestructura para el fin planteado sería el siguiente:



Cuadro 2. Proceso para la obtención de etanol

De lo especificado anteriormente, existe la suficiente tecnología para instalar en nuestro país una planta procesadora de residuos para la obtención de etanol como combustible.

4.8 VIABILIDAD ECONÓMICA

El tratamiento con un mayor rendimiento en el trabajo de investigación es el tratamiento cuatro mediante el cual a partir de 1.5 Kg se obtiene un volumen de etanol de 0.07525L de un grado alcohólico de 95; es decir para obtener 1 litro de etanol sería necesario procesar 19 Kg de residuos; los costos involucrados en este proceso son los siguientes:

Costo de materia prima:

Tabla XXXII. Costos de materia prima.

	Costo (Dólares).
<i>Residuos</i>	0,38
Total	0,38

Costos de extracción:

Los costos involucrados en este proceso son de equipos y de energía consumida.

Tabla XXXIII. Costos de extracción.

Proceso	Costo (Dólares).
<i>Extracción</i>	
Compresión	0,02
Trituración	0,02
Total	0,04

Costo de adecuación del sustrato:

Los costos involucrados en este proceso son de Na OH y de melaza.

Tabla XXXIV. Costos de adecuación del sustrato.

Proceso	Costo (Dólares).
<i>Adecuación</i>	
pH	0,02
Grados Brix	0,02
Total	0,04

Costo de esterilización:

Los costos involucrados en este proceso son de equipos y de energía consumida.

Tabla XXXV. Costo de esterilización.

Proceso	Costo (Dólares).
<i>Esterilización</i>	0,10
Total	0,10

Costo de fermentación:

Los costos involucrados en este proceso son de equipos y de energía consumida.

Tabla XXXVI. Costo de fermentación.

Proceso	Costo (Dólares).
<i>Fermentación</i>	0,12
Total	0,12

Costo de destilación:

Los costos involucrados en este proceso son de equipos y de energía consumida.

Tabla XXXVII. Costo de destilación.

Proceso	Costo (Dólares).
<i>Destilación</i>	0,12
Total	0,12

Costos totales:

Tabla XXXVIII. Costos totales.

Proceso	Costo (Dólares).
<i>Materia prima</i>	0,38
<i>Extracción</i>	0,04
<i>Adecuación</i>	0,04
<i>Esterilización</i>	0,10
<i>Fermentación</i>	0,12
<i>Destilación</i>	0,12
Total	0,80

El rendimiento de etanol por tonelada métrica de residuos procesados sería de 50,17 litros; el promedio de generación diaria de residuos en el mercado mayorista de la ciudad de Riobamba es de 1134,05 Kg; es decir diariamente en el caso de instalarse una planta procesadora la

producción de etanol alcanzaría la cifra de 56,9 litros y el costo involucrado en este proceso sería de 45.52 dólares.

Tabla XXXIX. Comparación en el rendimiento del etanol

Fuente de producción.	Rendimiento.
Caña de azúcar	75 litros/tonelada
Maíz	442 litros/tonelada
Residuos de frutas	50.17 litros/tonelada

La demanda mundial de etanol es muy alta por lo que el mercado para el producto sería muy amplio; podemos afirmar además que desde el punto de vista del rendimiento en la obtención del etanol es un proceso rentable, mientras que desde el punto de vista económico los costos de producción deberían abaratare; lo cual sería muy factible debido a que la tecnología necesaria para este proceso existe; además que en nuestro país existen muchas fuentes de esta clase de residuos convirtiendo a este en un proceso totalmente renovable.

4.8.1 ORGANIZACIÓN DE LA EMPRESA PARA LA PRODUCCIÓN DEL ETANOL

- Terreno o edificación:
- Constará de 2 centrales: La primera es el Centro de Producción el cual se encarga de la obtención de insumos, recursos y conversión de la materia prima para generar el Etanol, la segunda será el Centro de Distribución su función es distribuir el Etanol ya preparado y venderlas a las distintas empresas como por ej. Texaco, Shell, etc.
- Mano de obra:
 - La empresa estará conformada tanto con personal competente para la respectiva elaboración del Etanol como también contará con recolectores de los residuos, camioneros para el transporte, jefes de Administración, seguridad, gente capacitada para trabajar en estas áreas, etc.
- Teléfono, Internet e Intranet:
 - Para la rápida comunicación de Centrales y comercio a distintas empresas, la Intranet servirá como base de datos para poder almacenar la información de las respectivas transacciones, información de los trabajadores, ventas por Internet, etc.

- Maquinaria de última generación para la producción de Etanol.
- Transportes seguros para el envío del producto.
- Marketing para la publicidad y captación de gente.

Recursos Básicos:

- Energía eléctrica, agua y desagüe.

CAPÍTULO V

PARTE EXPERIMENTAL

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación de campo se desarrollo en el Mercado Mayorista de la Ciudad de Riobamba.



Figura 5.1. Mercado Mayorista de Riobamba.

La investigación de laboratorio fue llevada a cabo en el Área de Investigación y Desarrollo de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.



Figura 5.2. Área de Investigación y Desarrollo.

5.2 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS DE LA SECCIÓN DE FRUTAS DEL MERCADO MAYORISTA DE RIOBAMBA

Para la determinación de los parámetros físicos, químicos y microbiológicas de los residuos se contrató a un laboratorio acreditado, a lo largo de la elaboración de la tesis se enviaron 4 muestras al laboratorio.

Primera muestra: Se eligió un día al azar de lunes al jueves.

Segunda muestra: Se eligió un día al azar de viernes a sábado.

Tercera muestra: Un día domingo al azar.

Cuarta muestra: Un día al azar de lunes a domingo.

El protocolo de toma de muestra a ser enviada al laboratorio para los respectivos análisis fue el siguiente:

1. Se recolectó la masa de residuos generada en el día de muestreo.
2. Se realizó la mezcla de todos los residuos generado.
3. Posterior a esto se tomó un aproximado de 1 kg de muestra para el análisis Físico-químico.
4. Para el análisis microbiológico se tomo una muestra aproximada de 100g en un envase estéril.
5. Luego la muestra era enviada al laboratorio.

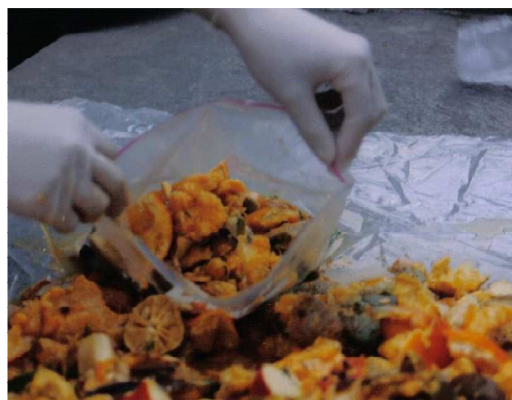


Figura 5.3. Toma de muestra para el análisis Físico y Químico.



Figura 5.4. Toma de muestra para el análisis Microbiológico.

Posterior a los análisis los datos fueron tabulados mismos que se encuentran en el capítulo de Resultados y Discusión.

5.3 DETERMINACIÓN DE LA MASA DE RESIDUOS GENERADA EN EL MERCADO

Para la determinación de la masa de residuos generada por el mercado se pidió la colaboración de las señoras comerciantes a las mismas que se las doto de un recipiente en donde disponían los residuos de frutas; el recipiente era entregado a las 7h30 los días lunes, martes, miércoles, jueves y domingo y eran recogidos a las 15h00; mientras que los días viernes y sábados eran entregados a las 6h00 y eran recogidos a las 17h00; esta decisión se tomó puesto que los días de mayor generación son los días viernes y sábados.



Figura 5.5. Determinación de la masa de residuos.

Posterior a los análisis los datos fueron tabulados mismos que se encuentran en el capítulo de Resultados y Discusión.

5.4 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA MELAZA UTILIZADA EN EL PROCESO

Para la determinación de los parámetros Físicos, Químicos se envió al laboratorio una muestra de 250ml; mientras que para la determinación de los parámetros microbiológicos se envió una muestra de 100ml en un envase estéril.

Posterior a los análisis los datos fueron tabulados mismos que se encuentran en el capítulo de Resultados y Discusión.

5.5 ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL RESIDUAL GENERADO EN EL PROCESO DE OBTENCION DE ETANOL

Para esta determinación se tomó una muestra de 1kg para los análisis físicos y químicos, mientras que, para el análisis microbiológico se envió una muestra de 100g al laboratorio.

Posterior a los análisis los datos fueron tabulados mismos que se encuentran en el capítulo de Resultados y Discusión.

5.6 PREPARACIÓN DEL SUSTRATO PARA LA FERMENTACIÓN

Para la preparación del sustrato se realizaron las siguientes operaciones unitarias:

- **Compresión:** Esta operación se realizó principalmente para la extracción del jugo de los cítricos.
- **Trituración:** Para la extracción del jugo de las frutas que no son sujetas a extracción por compresión como: Durazno, piña, manzana; etc.
- **Filtración:** Esta operación se realizó para eliminar pedazos de frutas sobrantes de las operaciones de compresión y trituración.

Luego de la extracción del sustrato de las frutas se procedió a realizar la fermentación de acuerdo a cada uno de los tratamientos estipulados en anteproyecto de tesis así:

- Para el tratamiento 1: El pH fue acondiciona a 6 utilizando una solución de Na OH luego de lo cual el sustrato era dispuesto en el fermentador.
- Para el tratamiento 2: El pH fue acondiciona a 6 utilizando una solución de Na OH. El sustrato fue enriquecido con melaza; en la bibliografía se encontró que la concentración de grados Brix ideal para el proceso de fermentación alcohólica es de 20°B; para lo cual se añadió melaza hasta alcanzar esta concentración en el sustrato a fermentar; la cantidad de melaza correspondió aproximadamente al 10% del volumen del sustrato.
- Para el tratamiento 3: El pH fue acondiciona a 6 utilizando una solución de Na OH. El sustrato fue esterilizado en un autoclave y posterior a este proceso se realizó la inoculación con *Saccharomyces cereviciae*; el inculo correspondió al 10% del total a fermentar.
- Para el tratamiento 4: El pH fue acondiciona a 6 utilizando una solución de Na OH. El sustrato fue enriquecido con melaza hasta alcanzar los 20°B como se indica en el tratamiento 2 para posteriormente ser esterilizado en un autoclave luego de lo cual se realizó la inoculación con *Saccharomyces cereviciae*; el inculo correspondió al 10% del total a fermentar.

5.7 CONTROL DE PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS INVOLUCRADOS EN EL PROCESO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Los parámetros controlados en el proceso de fermentación fueron los siguientes:

- **Temperatura:** La temperatura ideal para la fermentación alcohólica es de 30°C; se realizaron tres controles diarios de temperatura. A las 9h00, 13h00 y 17h00.



Figura 5.6 Control de Temperatura

- **pH:** El pH ideal para el proceso fermentativo es de 6 para lo cual el sustrato de todos los tratamientos fue acondicionado a este pH. El control del pH fue realizado diariamente durante el tiempo que duró la fermentación.



Figura 5.7. Control del pH

- **Tiempo de fermentación:** El tiempo de fermentación fue de tres días luego de lo cual se procedió a realizar el proceso de destilación.
- **Volumen de sustrato a fermentar:** Para la fermentación se utilizó un volumen de un litro.
- **Grados Brix:** El control de los grados Brix se realizó una vez por día durante el curso de la fermentación alcohólica.

Posterior a los análisis los datos fueron tabulados mismos que se encuentran en el capítulo de Resultados y Discusión.

5.8 SEPARACIÓN DEL ETANOL DEL SUSTRATO FERMENTADO

Para separar el alcohol obtenido se utilizó como operación unitaria la destilación cuyo fundamento se lo puede encontrar en el Capítulo de Marco Teórico.

5.9 DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD TECNOLÓGICA DEL PROYECTO

Para la determinación de la viabilidad tecnológica se basó en que el proceso involucrado en la fermentación es un proceso que no involucra una elevada tecnología y puede ser realizado en nuestro medio con relativa facilidad.

Los resultados se encuentran en el capítulo de Resultados y Discusión.

5.10 DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD ECONÓMICA DEL PROYECTO

Para la determinación de la viabilidad económica se basó en la cantidad de etanol obtenido y en los costos involucrados en el proceso.

Los resultados se encuentran en el capítulo de Resultados y Discusión.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 CONCLUSIONES

- 1.** Se obtuvo etanol a partir de los residuos orgánicos de la sección de frutas del mercado mayorista de Riobamba, y mediante un análisis estadístico se logró establecer cual de los tratamientos utilizados en el presente trabajo de investigación es el que da un mayor rendimiento, siendo este el tratamiento cuatro, mediante el cual a partir de 1.5Kg de residuo se obtiene 0.07525L de etanol de 95°.
- 2.** La determinación de la masa de residuos generada por el mercado mayorista de Riobamba en el periodo comprendido entre los meses de agosto y septiembre del 2007 se efectuó en colaboración con las señoras comerciantes, a las mismas que se las doto de un recipiente en donde disponían los residuos de frutas; el recipiente era entregado a las 7h30 los días lunes, martes, miércoles, jueves y domingo y eran recogidos a las 15h00; mientras que los días viernes y sábados eran entregados a las 6h00 y eran recogidos a las 17h00 puesto que estos son los días de mayor generación de residuos; obteniéndose que la masa de residuos generada correspondió a un valor promedio de 1134.05 kg/día.
- 3.** Los residuos de la sección de frutas del mercado mayorista de Riobamba fueron caracterizados generándose los siguientes resultados así: El promedio de humedad fue de 82.63 %, 12.34 % de cenizas, 2.67 % de proteína. Los valores promedio de fósforo y potasio fueron de 54.25 mg/kg y 1687.25 mg/kg respectivamente. En el análisis de azúcares se obtuvo un valor promedio de 17.41% para azúcares totales, 11.00 % para azúcares reductores y 6.40 % para azúcares no reductores. En el análisis de los parámetros de fibra y almidón se obtuvieron valores promedio de 18.19 % y 0.43 % respectivamente. En cuanto al análisis microbiológico se obtuvieron valores promedio de 147450000 UFC/10mg para aerobios mesófilos totales, 17555 UFC/10mg para coliformes totales, 50 UFC/10mg para coliformes fecales, 3575 UFC/10mg para mohos y 128150 UFC/10mg para levaduras.

4. La melaza utilizada en el proceso fue caracterizada generándose los siguientes resultados: El promedio de humedad fue de 24.8 %, 12.3 % de cenizas, 2.67 % de proteína. Los valores promedio de fósforo y potasio fueron de 684 mg/kg y 28741 mg/kg respectivamente. En el análisis de azúcares se obtuvo un valor promedio de 65.8 % para azúcares totales, 43.66 % para azúcares reductores y 22.14 % para azúcares no reductores. En cuanto al análisis microbiológico se obtuvieron valores promedio de 1200 UFC/10mg para aerobios mesófilos totales, 0 UFC/10mg para coliformes totales, 0 UFC/10mg para coliformes fecales, 8100 UFC/10mg para mohos y 59750 UFC/10mg para levaduras.

5. Los residuos generados en el proceso fueron caracterizados obteniéndose los siguientes resultados: El promedio de humedad fue de 75.14 %, 4.7 % de cenizas, 3.53 % de proteína. Los valores promedio de fósforo y potasio fueron de 71 mg/kg y 2250 mg/kg respectivamente. En el análisis de azúcares se obtuvo un valor promedio de 11.36 % para azúcares totales. En cuanto al análisis microbiológico se obtuvieron valores promedio de 300000 UFC/10mg para aerobios mesófilos totales, 1100 UFC/10mg para coliformes totales, 0 UFC/10mg para coliformes fecales, 1500 UFC/10mg para mohos y 59750 UFC/10mg para levaduras.

6. Los sustratos empleados para la fermentación a base de los residuos de frutas del Mercado Mayorista se prepararon en el siguiente orden a seguir: Extracción del zumo de las frutas a partir de las operaciones unitarias de compresión, trituración y filtración. Adecuar el sustrato para la posterior fermentación de acuerdo a cada uno de los tratamientos estipulados en el anteproyecto de tesis así: para el tratamiento 1: el pH se acondicionó a 6 utilizando una solución de Na(OH); para el tratamiento 2: el pH se acondicionó a 6 utilizando una solución de Na(OH) y enriqueciéndole con melaza hasta alcanzar los 20°B; la cantidad de melaza correspondió aproximadamente al 10% del volumen del sustrato; para el tratamiento 3: el pH se acondicionó a 6 utilizando una solución de Na(OH) y esterilizado en un autoclave para posteriormente ser inoculado con *Saccharomyces cerevisiae* que correspondió al 10% del total a fermentar; para el tratamiento 4: el pH se acondicionó a 6 utilizando una solución de Na(OH) y enriqueciéndolo con melaza hasta alcanzar los 20°B para posteriormente ser esterilizado

en un autoclave e inoculado con *Saccharomyces cerevisiae* correspondiendo al 10% del total a fermentar.

7. Los parámetros físicos y químicos involucrados en el proceso de la fermentación alcohólica en este trabajo de investigación fueron los siguientes: temperatura 30°C, pH de 6, tiempo de fermentación 4 días y 21-22°B en los tratamientos 2 y 4 enriquecidos con melaza.

8. Mediante el análisis de costos se determinó que el costo necesario para obtener etanol mediante el tratamiento cuatro es de \$0.80, pero que este costo puede ser abaratado cuanto se instale una planta de alta tecnología; además que el estado puede subsidiar este costo si el etanol es utilizado como aditivo de los combustibles.

6.2 RECOMENDACIONES.

- 1.** Los residuos de frutas por su carácter perecedero deben ser procesados en el menor tiempo posible luego de su recolección o en tal caso se deben mantener en refrigeración.
- 2.** Realizar estudios similares en los cuales se puedan dar otras alternativas de uso a este tipo de residuos.
- 3.** Realizar un estudio de la factibilidad de implementación del proceso a nivel industrial en conjunto con otras facultades.
- 4.** Realizar un estudio con el fin de determinar los posibles usos de los residuos del proceso como fuente de alimentación animal, abonos; etc.
- 5.** Analizar la posibilidad de la presentación de este trabajo de investigación por parte de la ESPOCH al Ministerio de Energía y Minas para que esta institución cuente con una alternativa energética en el futuro.

RESUMEN

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue obtener etanol a partir de los residuos orgánicos de la sección de frutas del Mercado Mayorista San Pedro de Riobamba en el período comprendido entre agosto y septiembre del 2007, con el fin de que este se lo pueda usar como combustible sustituyendo a los derivados de petróleo.

La investigación metodológicamente consta de tres fases: 1^{ra}. Caracterización de los parámetros Físico, Químicos y Microbiológicos de los residuos; analizando: Humedad, cenizas, proteína, fósforo, potasio, azúcares totales, azúcares reductores, azúcares no reductores, fibra, almidón, aerobios mesófilos totales, coliformes totales, coliformes fecales, mohos y levaduras. 2^{da}. Proceso de obtención de etanol utilizando 4 tratamientos (T₁, T₂, T₃, T₄). 3^{ra}. Análisis de los datos obtenidos, mediante un análisis estadístico.

Se determinó mediante la aplicación de una prueba de Tukey al 95% de confianza utilizando el software STATGRAPHICS PLUS, que el tratamiento con un mayor rendimiento fue el T₄, en el cual de 1.5Kg de residuos se obtienen 0.07525 L/etanol de 95^o con un costo de \$0.80/L a nivel de laboratorio, lográndose un producto apto para ser utilizado como combustible.

Recomendándose realizar estudios para determinar otras alternativas de uso a estos residuos y la factibilidad de la implementación del proceso a nivel industrial.

SUMMARY

SUMMARY

The objective of the present investigation was obtaining ethanol from organic residues of the fruit section from the Mercado Mayorista San Pedro de Riobamba over the August-September period, 2007 so that it can be used as fuel substituting the oil by products. Methodologically, the investigation consist in of three parts: first, the physical, chemical and microbiological parameter characterization of residues, analyzing moisture, ashes, protein, phosphorus, potassium, total sugars, non-reducing sugars, fiber, starch, total mesophyll aerobics, total colliforms, foecal colliforms, molds and leavens; second, ethanol obtention process using four treatments (T₁, T₂, T₃ and T₄) and data analysis through statistical analysis. It was determined, through the application of the test Tukey at 95% reliability using the software STATGRAPHICS PLUS, that the treatment with the highest yield was the T₄ which from 1.5kg residues 0.07525 L/ethanol of 95° is obtained with a cost of 0.80 USD/L at a laboratory level, resulting in a product suitable to be used as fuel. It is recommended to carry out studies to determine other alternatives of use of these residues and the feasibility of implementing of the process at an industrial level.

ANEXOS

ANEXO 1

ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LOS RESIDUOS DE FRUTAS

ANEXO 2

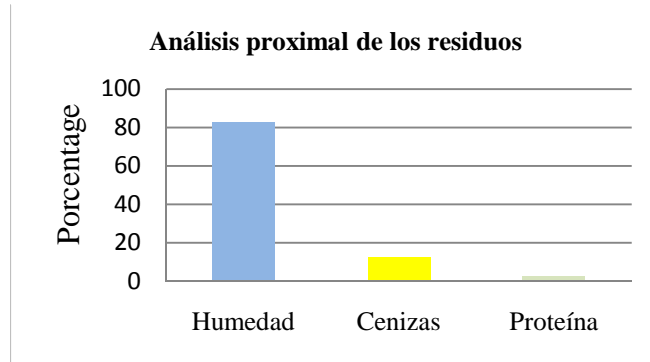
ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA MELAZA UTILIZADA EN EL PROCESO

ANEXO 3

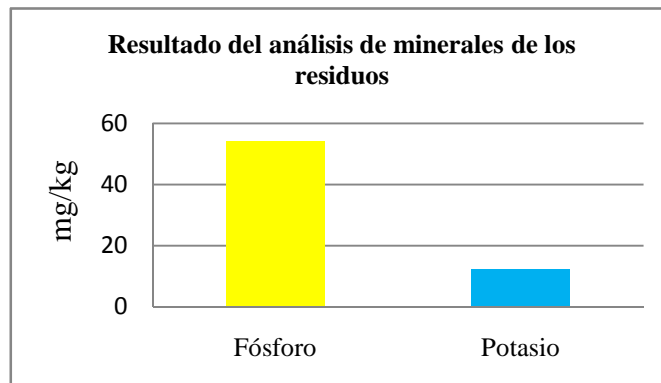
ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL RESIDUAL GENERADO EN EL PROCESO DE OBTENCION DE ETANOL

ANEXO 4

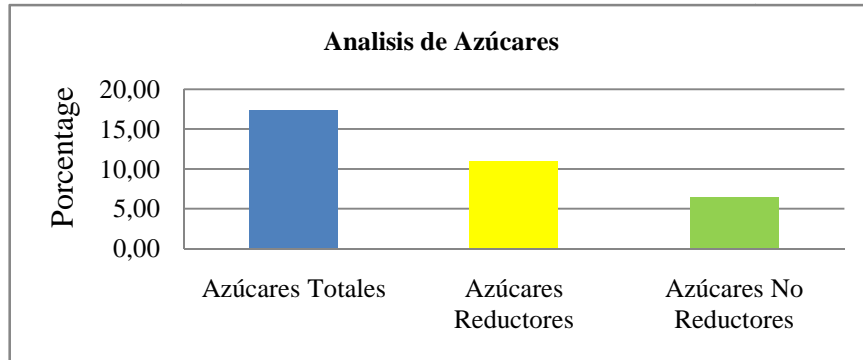
REPRESENTACIÓ GRÁFICA DEL ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LOS RESIDUOS DE FRUTAS



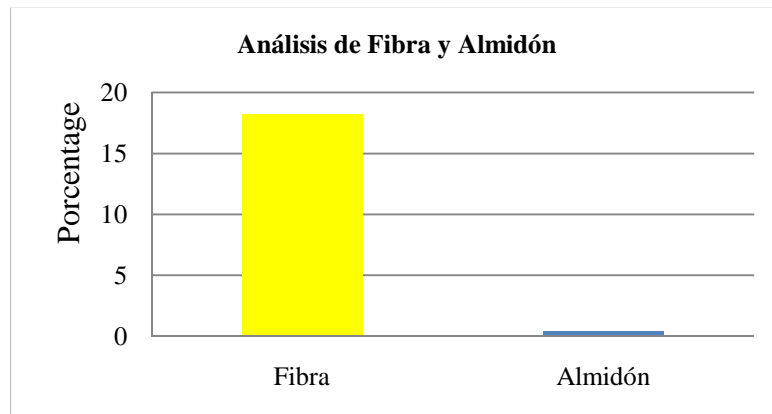
Análisis Proximal de los Residuos



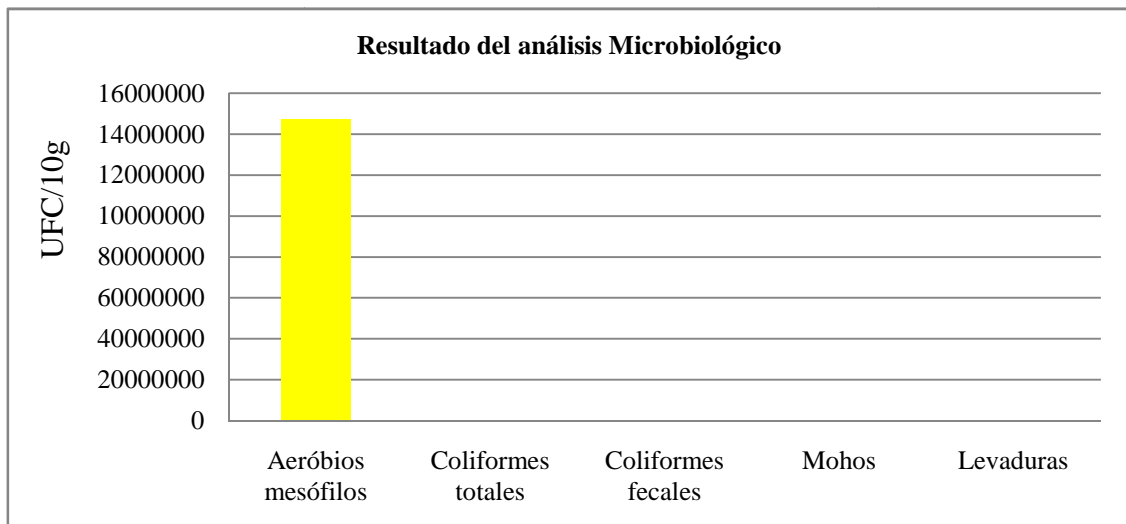
Análisis de minerales de los residuos.



Análisis de Azúcares.



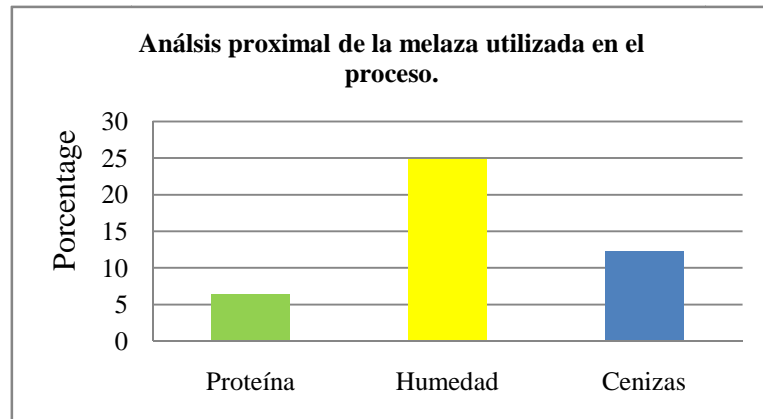
Análisis de Fibra y Almidón



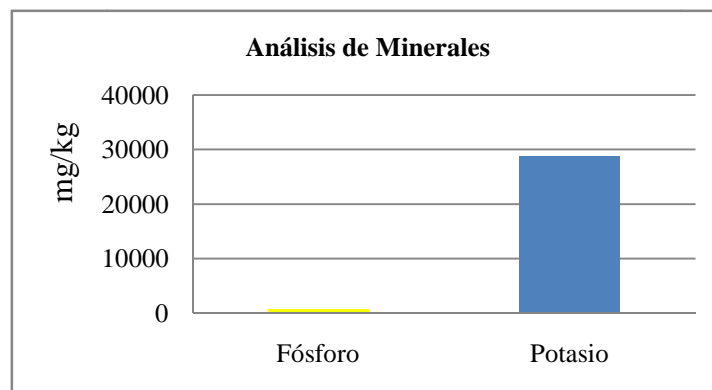
Análisis de Microbiológicos.

ANEXO 5

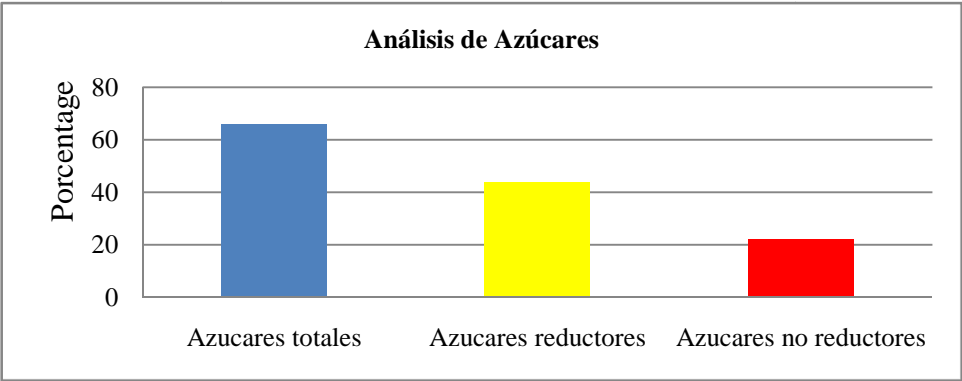
REPRESENTACI3N GRÁFICA DEL ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOL3GICOS DE LA MELAZA UTILIZADA EN EL PROCESO



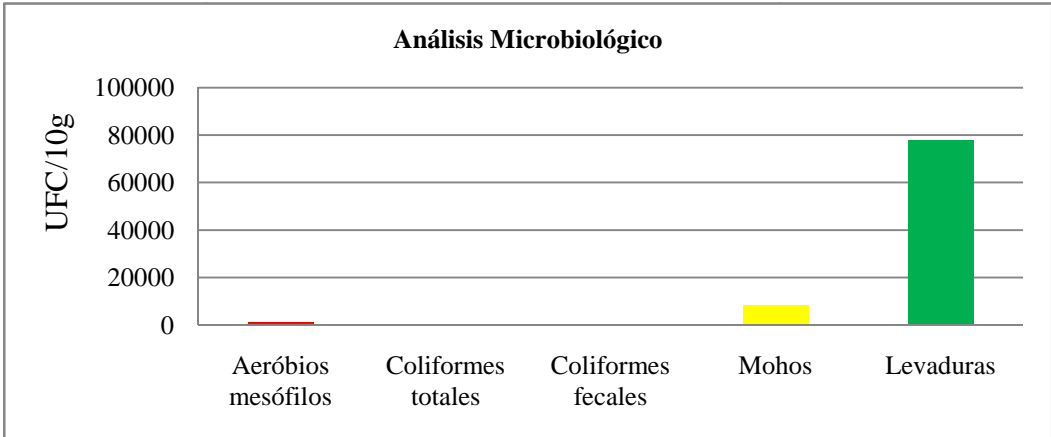
Análisis proximal de la melaza utilizada en el proceso.



Análisis de Minerales.



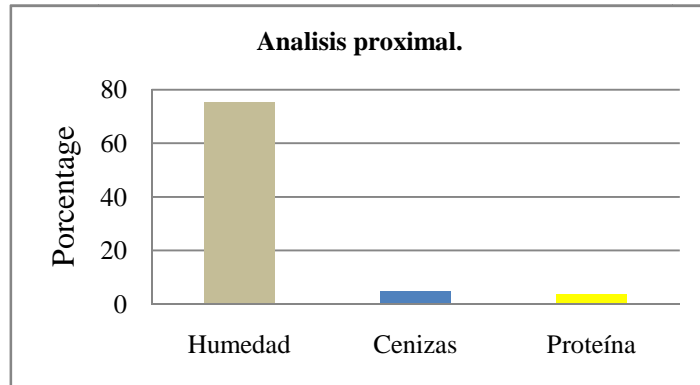
Análisis de Azúcares.



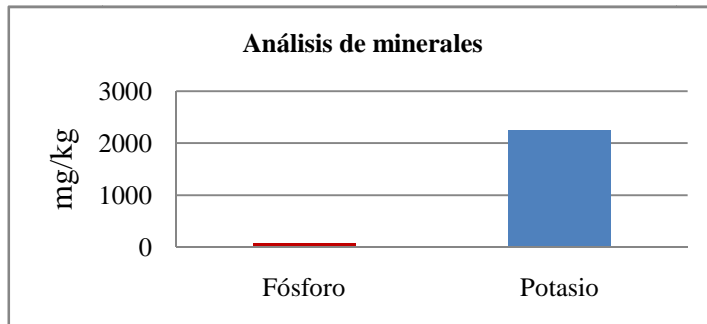
Análisis Microbiológico.

ANEXO 6

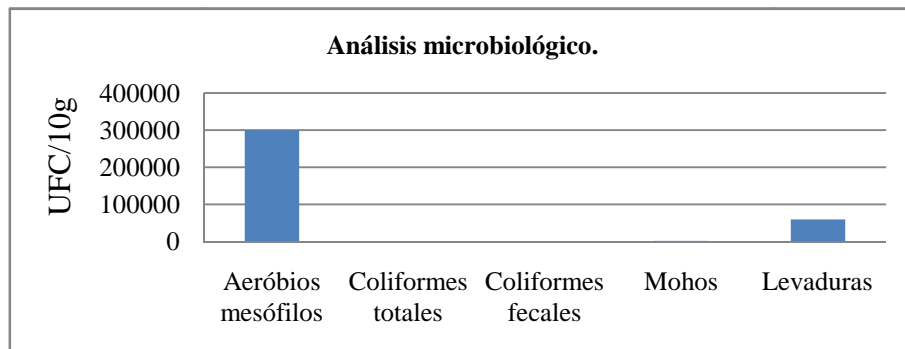
REPRESENTACI3N GRÁFICA DEL ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS Y MICROBIOL3GICOS DEL RESIDUAL GENERADO EN EL PROCESO DE OBTENCION DE ETANOL



Resultados del análisis proximal del residuo del proceso.



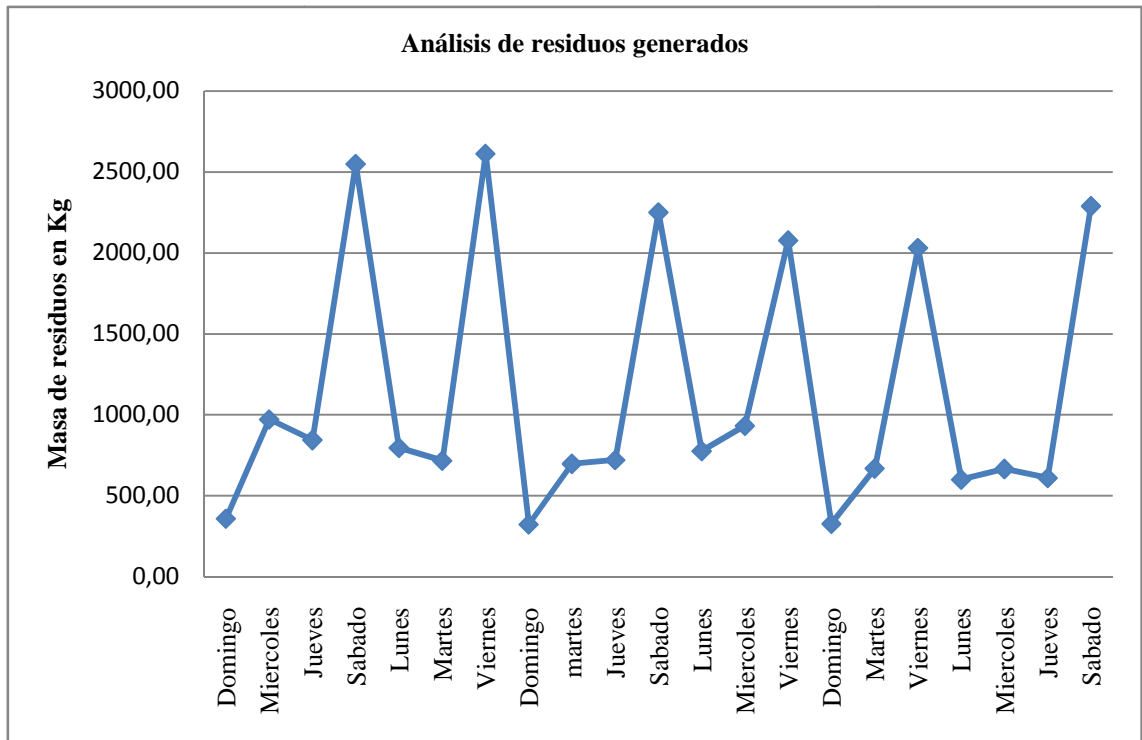
Resultados del análisis de minerales de los residuos.



Resultados de los análisis Microbiol3gicos

ANEXO 7

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA DETERMINACIÓN DE LA MASA DE RESIDUOS GENERADOS

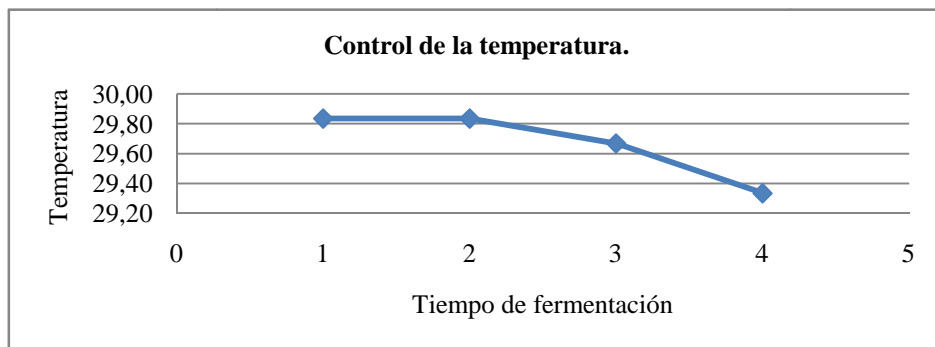


Análisis de residuos generados.

ANEXO 8

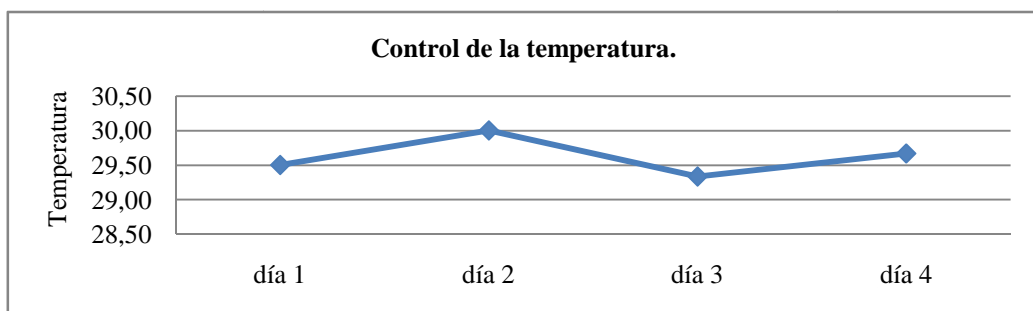
REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL CONTROL DE LA TEMPERATURA EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Primera Réplica:



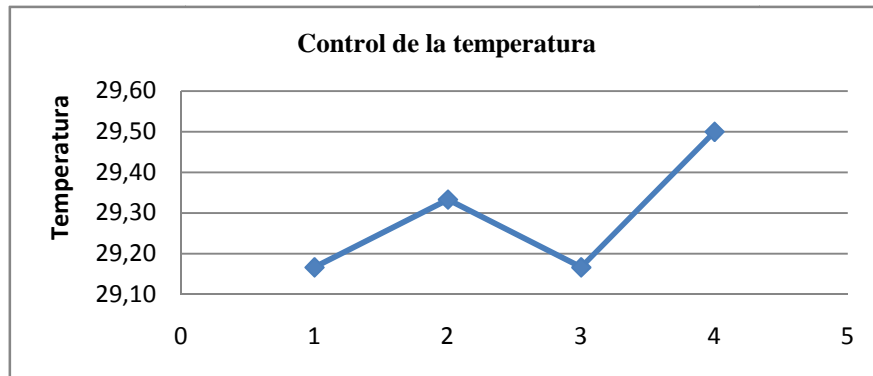
Control de la temperatura. Primera Réplica.

Segunda Réplica:



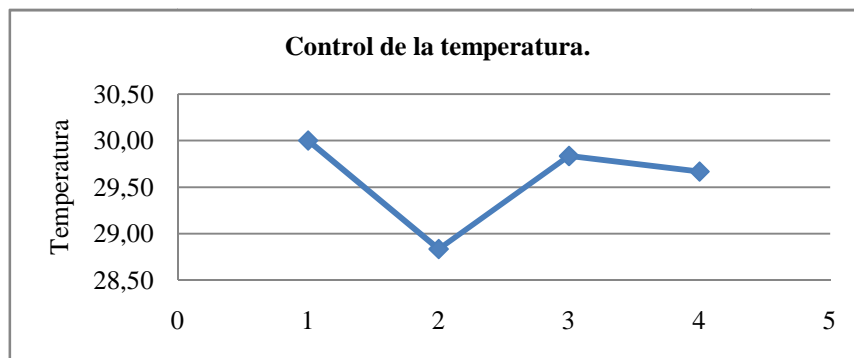
Control de la temperatura. Segunda Réplica.

Tercera Réplica:



Control de la temperatura. Tercera Réplica.

Cuarta Réplica:

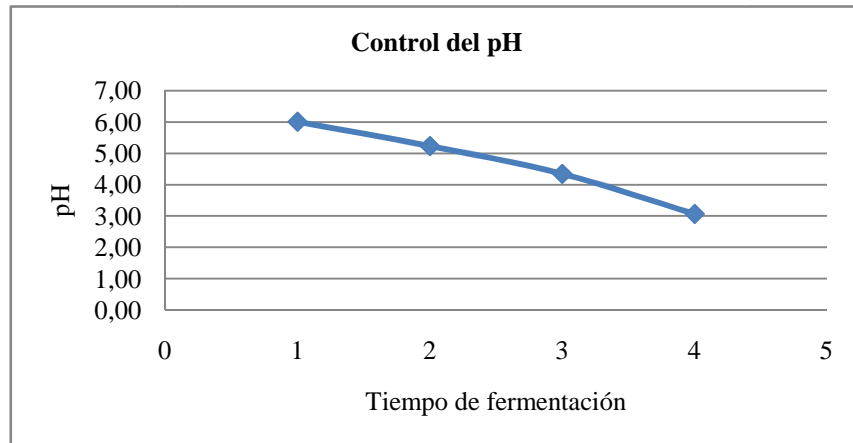


Control de temperatura. Cuarta Réplica.

ANEXO 9

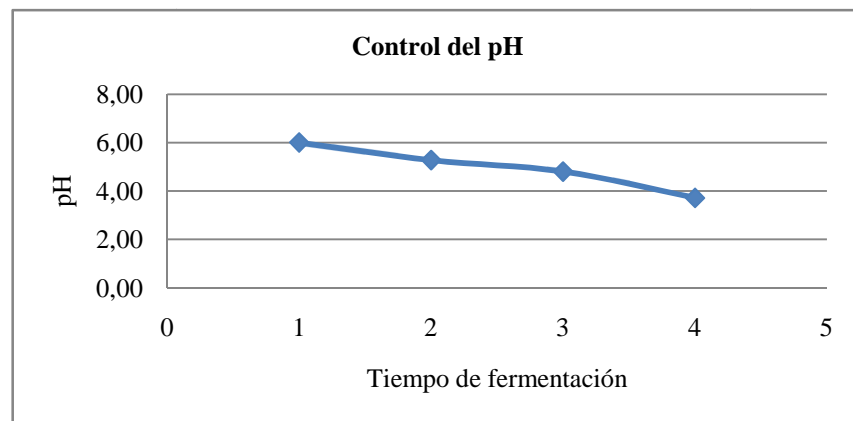
REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL CONTROL DE CONTROL DEL pH EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Tratamiento 1:



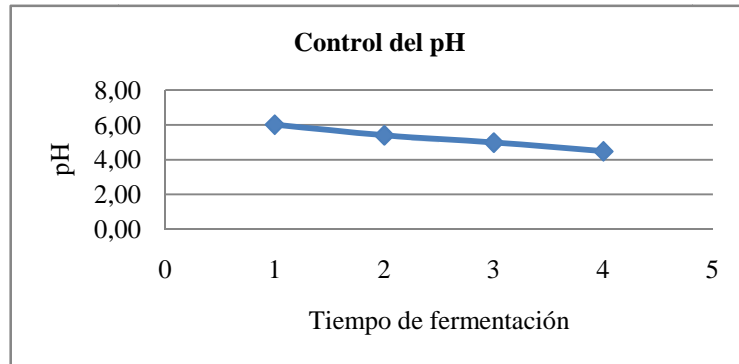
Control del pH. Tratamiento 1.

Tratamiento 2:



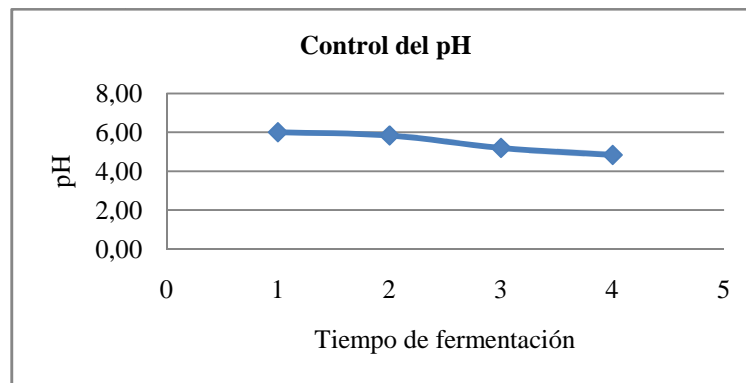
Control del pH. Tratamiento 2.

Tratamiento 3:



Control del pH. Tratamiento 3.

Tratamiento 4:

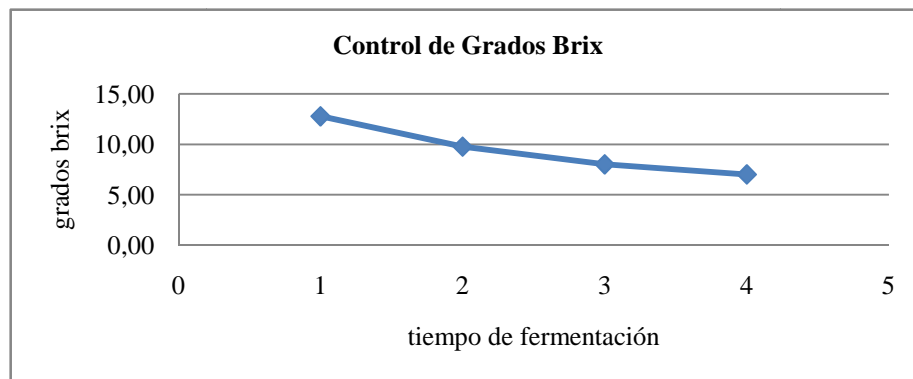


Control del pH. Tratamiento 4.

ANEXO 10

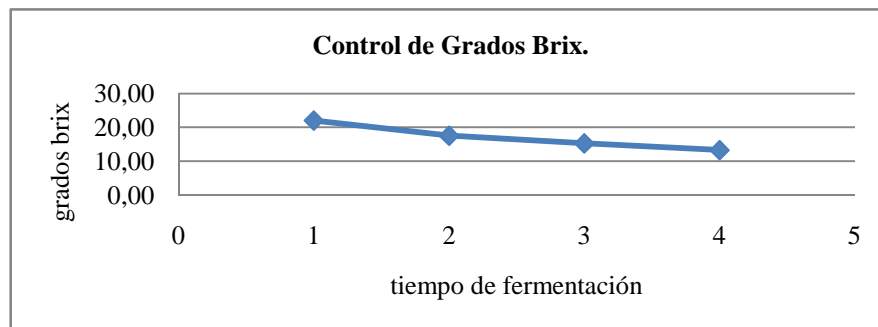
REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL CONTROL DE GRADOS BRIX EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Tratamiento 1:



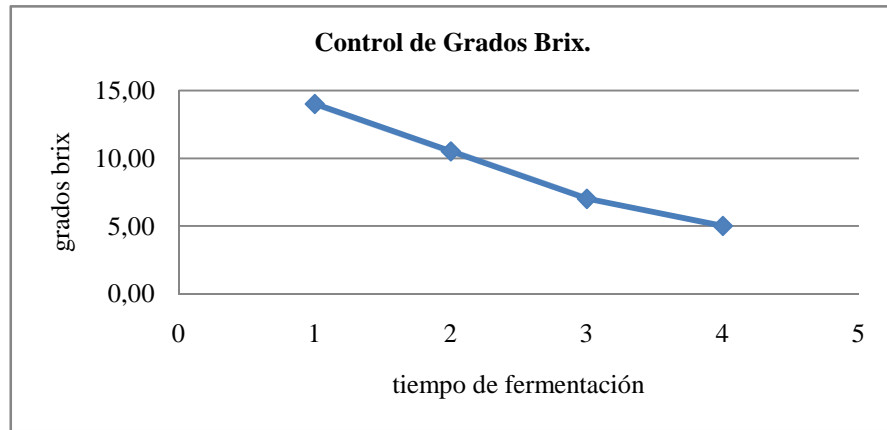
Control de Grados Brix. Tratamiento 1.

Tratamiento 2:



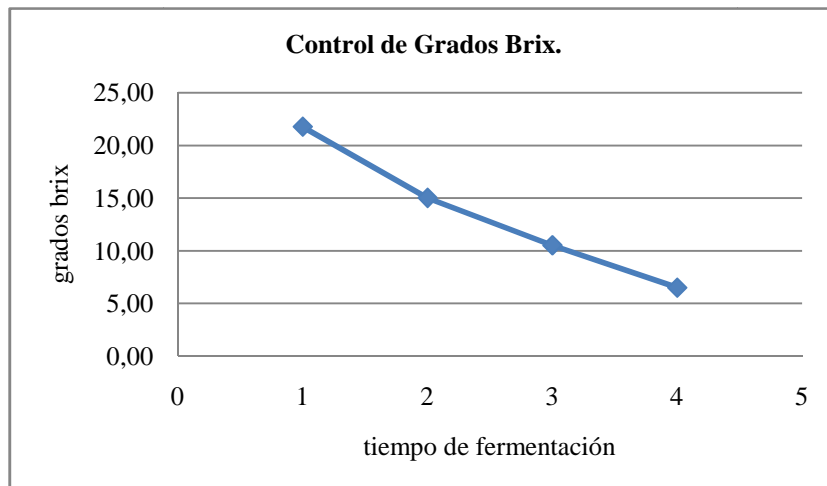
Control de Grados Brix. Tratamiento 2.

Tratamiento 3:



Control de Grados Brix. Tratamiento 3.

Tratamiento 4



Control de Grados Brix. Tratamiento 4.

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía.

- (1) Contaminación Ambiental.
<http://www.monografias.com/trabajos10/contam/contam.shtml>
2008
- (2) Balance Energético del Etanol.
www.bioenergias.com.ar
2008
- (3) CHARLEY, Helen. 1991. Tecnología de Alimentos. México: Limusa. pp. 56-74
- (4) CONN, Eric. 1996. Bioquímica Fundamental. 5^{ta}. ed. México: Limusa. pp. 87-92
- (5) DESROSIER, Norman. 1991. Elementos de Tecnología de Alimentos. México: Continental. pp. 105-127
- (6) Etanol.
[http://es.wikipedia.org/wiki/Etanol_\(combustible\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Etanol_(combustible))
2008
- (7) FELDER, Richard. 1991. Principios Elementales de los Procesos Químicos. 2^{da}. ed. Addison Wesley Iberoamericana. pp. 205-236
- (8) FELLOWS, Peter. 2004. Tecnología del Procesado de los Alimentos Principios y Prácticas. Zaragoza: Acribia. pp. 345-398
- (9) Fermentación.
<http://es.wikipedia.org/wiki/Fermentaci%C3%B3n>
2008
- (10) FOLKMAN, Steven. 1989. Fundamentos de la Ingeniería de Alimentos. México: Continental. pp. 153-174

- (11) Frutas.
<http://es.wikipedia.org/wiki/Frutas/3n>
2008
- (12) GROUTAS, William. 2002. Mecanismos de Reacción en Química Orgánica. México: McGraw-Hill. pp. 456-493
- (13) Hacia un Manejo Integral de los Desechos Sólidos.
http://www.isdem.gob.sv/desechos_s1.html
2008
- (14) HANSEN, Albert. 1959. Microbiología de las Fermentaciones Industriales. Zaragoza: Acribia. pp. 98-359
- (15) HOLUM, John. 1990. Principios de Fisicoquímica, Química Orgánica Y Bioquímica. México: Limusa. pp. 254-276
- (16) INEC. 2000. Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua. Quito. pp. 10
- (17) INEC. 2000. III Censo Nacional Agropecuario; Chimborazo. Quito. pp. 77
- (18) Lineamientos para la Formulación de Políticas Municipales para la Agricultura Urbana, Aprovechamiento de Residuos Orgánicos en Agricultura Urbana.
www.pgualc.org
2008
- (19) MAPFRE. 1994. Manual de Contaminación Ambiental. Madrid: MAPFRE. pp. 42-63
- (20) MEISLICH, Herbert. 2001. Química Orgánica. 3^{ra} ed. México: McGraw-Hill. pp. 356-401
- (21) MORRISON, Robert. 1992. Química Orgánica. 5^{ta} ed. México: Addison Wesley Iberoamericana. pp. 362-420

- (22) MÜLLER, R. 1990. Métodos de Laboratorio para Química Orgánica. México: Limusa. pp. 152-178
- (23) MURRAY, K. y Colaboradores. Bioquímica de Harper. 21^{va.} ed. México: El Manual Moderno. pp. 127-151
- (24) NEGRE, E. 1962. Manual Práctico de Vinificación y Conservación de los Vinos. Barcelona: José Montesó. pp. 121-165
- (25) OWEN, Wourd. 1991. Biotecnología de las Fermentaciones. Zaragoza: Acribia pp. 186-211
- (26) Propuesta para la Obtención de Etanol como combustible a Partir de la Caña de Azúcar.
<http://www.concursoeducared.org/webs2005/sacogb07/EPILOGO.htm>
2008
- (27) Representa el etanol una alternativa viable para la agroindustria de la caña de azúcar.
<http://www.sagarpa.gob.mx/forma//documentos/ingenio03.htm>
2008
- (28) Residuos.
<http://www1.ceit.es/Asignaturas/Ecologia/Hipertexto/13Residu/100Resid.htm>
2008
- (29) SCRAGG, Alan. 1996. Biotecnología para Ingenieros. México: Limusa. pp. 125-147
- (30) SCRIBAN, René. 1985. Biotecnología. 2^{da} ed. México: El Manual Moderno. pp. 205-256
- (31) STEPHENSON, William. 1995. Introducción a la Bioquímica. 2^{da} ed. México: Limusa. pp. 224-254

- (32) VALVERDE, Carmen. 2005. Fundamentos de Bioquímica Metabólica. México: Asher. pp. 258-269
- (33) WOLFE, Drew. 1995. Química General, Orgánica y Biología. 2^{da} ed. México: McGraw-Hill. pp. 254-269