

**UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA**



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA**  
**CARRERA INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**  
**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA**  
**OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**  
**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**TEMA**

**“Propuesta de modificaciones tecnológicas al proceso artesanal de  
producción de etanol en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”.**

**AUTORES**

Rivera Peñafiel Martha Selene  
Almeida Villamarín Jennifer Katherine

**TUTOR**

Dr. Amaury Pérez Martínez

**Puyo – Ecuador**

**Febrero, 2020**



## DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el Trabajo de Investigación presentado con el tema: ***“PROPUESTA DE MODIFICACIONES TECNOLÓGICAS AL PROCESO ARTESANAL DE PRODUCCIÓN DE ETANOL EN LA DESTILERÍA “RIVERA REVILLA FRAY ANGEL”***, le corresponde exclusivamente a Almeida Villamarín Jennifer Katherine y Rivera Peñafiel Martha Selene, autoras bajo la Dirección del Dr. Amaury Pérez Martínez, Director del Trabajo de Investigación; y el patrimonio intelectual a la Universidad Estatal Amazónica.

-----  
Almeida Villamarín Jennifer Katherine

C.I. 1600739971

**AUTORA**

-----  
Rivera Peñafiel Martha Selene

C.I. 1600728040

**AUTORA**

# CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Por medio del presente, Amaury Pérez Martínez con CI: 1757150766 y Franklin Villafuerte con CI: 1803221900 certificamos que Almeida Villamarín Jennifer Katherine y Rivera Peñafiel Martha Selene egresadas de la Carrera de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Estatal Amazónica, realizaron el Proyecto de investigación titulado: *“PROPUESTA DE MODIFICACIONES TECNOLÓGICAS AL PROCESO ARTESANAL DE PRODUCCIÓN DE ETANOL EN LA DESTILERÍA “RIVERA REVILLA FRAY ANGEL”*, previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial bajo nuestra supervisión.

---

Dr. Amaury Pérez Martínez

---

M. Sc. Franklin Villafuerte



# UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

## SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND



Oficio No. 04-SAU-UEA-2020

Puyo, 06 de enero de 2020

Por medio del presente **CERTIFICO** que:

El Proyecto de Investigación correspondiente a las egresadas ALMEIDA VILLAMARÍN JENNIFER KATHERINE con C.I. 1600739971; y RIVERA PEÑAFIEL MARTHA SELENE con C.I. 1600728040 con el Tema: **“PROPUESTA DE MODIFICACIONES TECNOLÓGICAS AL PROCESO ARTESANAL DE PRODUCCIÓN DE ETANOL EN LA DESTILERÍA “RIVERA REVILLA FRAY ANGEL”**, de la carrera, Ingeniería Agroindustrial. Director de proyecto PhD. Amaury Pérez Martínez, ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 2%, Informe generado con fecha 03 de enero de 2020 por parte del director, conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,

Ing. Italo Marcelo Lara Pilco MSc.

**ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .**

## Urkund Analysis Result

Analysed Document: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN-ANTES DE IMPRIMIR-28122019-RV-APM-02012019.docx (D61790709)  
Submitted: 1/3/2020 5:02:00 AM  
Submitted By: \${Xml.Encode(Model.Document.Submitter.Email)}  
Significance: 2 %

### Sources included in the report:

PROYECTO AP 14-06-2018 (Recuperado).docx (D40185833)  
PROYECTO-A-M-14062018R.docx (D40185852)  
EVALUACION DEL PROCESO FERMENTATIVO DEL MUCILAGO DE CACAO..docx (D30994303)  
Proyecto\_Final\_Levaduras\_URKUND.docx (D46500450)  
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2840/1/T-UCE-0011-25.pdf>  
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/8658/1/96T00460.pdf>

### Instances where selected sources appear:

## **CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN**

El tribunal de sustentación de proyecto de investigación aprueba el proyecto de investigación titulado: ***“PROPUESTA DE MODIFICACIONES TECNOLÓGICAS AL PROCESO ARTESANAL DE PRODUCCIÓN DE ETANOL EN LA DESTILERÍA “RIVERA REVILLA FRAY ANGEL”.***

-----  
Dr. Matteo Radice  
Presidente del tribunal

-----  
Ing. Víctor Cerda MsC  
Miembro del tribunal

-----  
Ing. Miguel Enríquez Mg  
Miembro del tribunal

## **AGRADECIMIENTOS**

*Agradecemos de todo corazón a Dios por habernos concedido sabiduría y fortaleza para luchar cada día, disfrutando de los buenos y malos momentos. Por cuidarnos y brindarnos las fuerzas necesarias para no fracasar.*

*A nuestros padres por apoyarnos incondicionalmente, por enseñarnos que cuando se trabaja con perseverancia y esfuerzo no existen imposibles hasta alcanzar las metas planteadas, por enseñarnos valores que nos ayudaron a crecer como personas.*

*A nuestros hermanos por ser fuente de inspiración, por creer en nosotras, por darnos su apoyo en cada uno de los retos.*

*A nuestros tutores Amaury Pérez y Franklin Villafuerte que nos guiaron en el proceso de elaboración del proyecto, compartiendo sus conocimientos para ayudarnos a alcanzar este logro.*

*A la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel” por darnos la apertura y confianza para realizar nuestro proyecto de investigación.*

*A la Universidad Estatal Amazónica por acogernos y permitirnos formarnos como profesionales.*

***A todos muchas gracias...***

***Jennifer y Selene***

## **DEDICATORIA**

*A Dios por darnos la vida y la fuerza para superar cada obstáculo que se nos ha presentado.*

*A nuestros padres por impulsarnos a ser mejores cada día y por brindarnos lo necesario para culminar una etapa más de nuestras vidas mediante la perseverancia y el optimismo para alcanzar las metas propuestas.*

*A nuestros hermanos que han estado a nuestro lado brindándonos su apoyo constante para la culminación de este proyecto.*

*A los docentes que han sido una guía, transmitiéndonos conocimientos en base a sus experiencias.*

*Para ustedes es dedicado este proyecto de investigación.*

***Jennifer y Selene***

## RESUMEN

En la Amazonía ecuatoriana el etanol es producido en las destilerías artesanales que utilizan el jugo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) como materia prima y son relativamente ineficientes, generando grandes cantidades de residuos que son vertidos al ambiente. La fermentación se efectúa de forma aerobia y sin control de parámetros de operación y la destilación tampoco es controlada provocando un bajo rendimiento y menores grados de alcohol del producto. Este trabajo tiene como objetivo realizar modificaciones tecnológicas al proceso artesanal de etanol para mejorar la eficiencia en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”. Se identificaron los aspectos de calidad, de seguridad industrial y ambiental en la destilería que conllevaron a las modificaciones tecnológicas propuestas. Se validaron estas modificaciones tecnológicas primero a nivel de laboratorio y posteriormente a nivel de la destilería. Se obtuvo la mayor cantidad de etanol en condiciones de ausencia de oxígeno, inoculando levaduras nativas aisladas y suministrándole una fuente de nitrógeno. La cantidad de etanol obtenida después de las modificaciones tecnológicas son mayores a las que se obtuvieron de forma tradicional se obtienen que en el mismo grado de pureza y en menos tiempo del proceso.

**Palabras clave:** *Saccharum officinarum*, modificaciones tecnológicas, producción de etanol, Amazonía.

## **ABSTRACT**

In the Ecuadorian Amazon, ethanol is produced in artisan distilleries that use sugarcane *Saccharum officinarum* juice as a raw material and are relatively inefficient, generating large amounts of waste that is dumped into the environment. Fermentation is carried out aerobically and without control of operating parameters and distillation is not controlled causing low yield and lower alcohol levels of the product. This project aims to make technological modifications to the artisanal process of ethanol to improve efficiency in the distillery “Rivera Revilla Fray Ángel”. The aspects of quality, industrial and environmental safety in the distillery that led to the proposed technological modifications were identified. These technological modifications were validated first at the laboratory level and then at the distillery level. These technological modifications were validated first at the laboratory level and then at the distillery level. The greatest amount of ethanol was obtained under conditions which excluded oxygen, inoculating isolated native yeasts and providing a source of nitrogen. The amount of ethanol obtained after the technological modifications are greater than those obtained in the traditional way are obtained in the same degree of purity and in less time of the process.

**Keywords:** *Saccharum officinarum*, technological modifications, ethanol production, Amazon

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>1</b>
<b>1 INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	3
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	3
1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	4
1.4 OBJETIVOS .....	4
1.4.1 OBJETIVO GENERAL .....	4
1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	4
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>5</b>
<b>2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA .....</b>	<b>5</b>
2.1 PRODUCCIÓN DE ETANOL .....	5
2.2 PRODUCCIÓN ARTESANAL.....	5
2.2.1 FERMENTACIÓN ARTESANAL.....	6
2.2.2 DESTILACIÓN ARTESANAL.....	6
2.3 PRODUCCIÓN INDUSTRIAL.....	7
2.3.1 FERMENTACIÓN INDUSTRIAL.....	8
2.3.2 DESTILACIÓN INDUSTRIAL.....	13
2.3.3 RECTIFICACIÓN.....	15
2.4 MATERIAS PRIMAS PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL.....	16
2.4.1 MATERIA PRIMA A ESCALA ARTESANAL.....	16
2.4.2 MATERIA PRIMA A ESCALA INDUSTRIAL .....	17
2.5 MODIFICACIONES TECNOLÓGICAS.....	17
2.5.1 PROCESOS DE FERMENTACIÓN .....	17
2.5.2 PROCESOS DE DESTILACIÓN .....	18
<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>19</b>
<b>3 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>19</b>
3.1 LOCALIZACIÓN.....	19
3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	19
3.3 MATERIALES .....	20
3.4 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	20
3.4.1 CONFECCIÓN DEL CHECK LIST .....	20
3.4.2 PROPUESTA DE LAS MODIFICACIONES TECNOLÓGICAS .....	21

3.4.3 VALIDACIÓN DE LAS PROPUESTAS TECNOLÓGICAS .....	21
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>26</b>
<b>4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>26</b>
4.1 DIAGNÓSTICO DE LA DESTILERÍA “RIVERA REVILLA FRAY ÁNGEL”	26
4.2 MODIFICACIONES TECNOLÓGICAS EN LA DESTILERÍA “RIVERA REVILLA FRAY ÁNGEL” .....	28
4.2 .1 MODIFICACIONES DE EQUIPAMIENTO .....	29
4.2.2 MODIFICACIONES OPERACIONALES.....	30
4.3 VALIDACIÓN DE LAS MODIFICACIONES TECNOLÓGICAS .....	30
4.3.1 VALIDACIONES A NIVEL DE LABORATORIO.....	31
4.3.2 VALIDACIONES A NIVEL DE DESTILERÍA.....	33
<b>CAPÍTULO V .....</b>	<b>34</b>
<b>5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>34</b>
5.1 CONCLUSIONES.....	34
5.2 RECOMENDACIONES .....	34
<b>CAPÍTULO VI.....</b>	<b>36</b>
<b>6 BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>36</b>
<b>CAPITULO VII.....</b>	<b>40</b>
<b>7 ANEXOS .....</b>	<b>40</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ventajas y desventajas de la fermentación continúa a escala industrial. ....	9
Tabla 2. Composición del medio YPD .....	11
Tabla 3. Composición del medio PDA.....	11
Tabla 4. Composición del medio Sabouraud.....	12
Tabla 5. Composición del medio Rosa de bengala.....	12
Tabla 6. Experimentos a nivel de laboratorio.....	22
Tabla 7. Parámetros medidos en el proceso de fermentación .....	30
Tabla 8. Parámetros controlados en el proceso de destilación. ....	30
Tabla 9. Cuantificación de levaduras a las 24 y 48 horas.....	31
Tabla 10. Tratamientos realizados a escala de laboratorio.....	32
Tabla 11. Determinación de los grados alcohólicos dependiendo de la densidad.....	33
Tabla 12. Contenido de etanol y °GL de la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”.....	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de fermentadores. a) Fermentador de flujo continuo b) Fermentador de flujo discontinuo .....	8
Figura 2. Destilador simple o batch.....	14
Figura 3. Destilador simple continuo .....	15
Figura 4. Ubicación de los laboratorios de la Universidad Estatal Amazónica .....	19
Figura 5. Equipo de destilación simple .....	22
Figura 6. Proceso de obtención de etanol en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”	27
Figura 7. Proceso de obtención de etanol en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”, con las modificaciones tecnológicas operacionales y de equipamiento. ....	28
Figura 8. Modificaciones del recipiente fermentador en la destilería. ....	29
Figura 9. Morfología de las levaduras a) Levaduras nativas aisladas en el laboratorio b) Estructura propia de una levadura (Mendoza, 2005).....	31

# CAPÍTULO I

## 1 INTRODUCCIÓN

La producción de etanol está liderada por Estados Unidos, con aproximadamente 52 000 millones de litros en el año 2017 correspondiente al 42% de la producción mundial, seguido por Brasil con un 85% de exportaciones mundiales. La producción de etanol ha ido incrementándose a un 30% por cada año (Castro, 2015).

El etanol puede obtenerse a partir de algunas materias primas como: caña de azúcar y varios granos (Gracida Rodríguez y Pérez-Díaz, 2014). Siendo así Estados Unidos un país que cuenta con 118 plantas procesadoras en las que se obtiene etanol a partir del maíz (Portal, 2017), para lo cual se degrada el almidón mediante procesos enzimáticos, luego se hidroliza la amilosa y amilopectina, dando como resultado jarabe de glucosa que posteriormente es utilizado en la fermentación alcohólica, logrando una solución acuosa de etanol (Cardona, Sánchez, Montoya, y Quintero, 2011).

Mientras que para la producción industrial del etanol, a partir de caña de azúcar se aplican procesos de: a) fermentación en el cual se transforman los azúcares en alcohol, b) destilación por columnas obteniendo etanol y CO<sub>2</sub>, c) rectificación para una mejor pureza del producto (Hidalgo, Hatta, y Palmab, 2016).

Brasil es el segundo productor de etanol a nivel mundial y el número uno en América Latina con un total de 33 580 millones de L de etanol obtenidos durante el año 2018, posee 357 plantas de procesamiento, en las mismas que se usa caña de azúcar como materia prima, para la producción de azúcar o bioetanol (Xinhua, 2019).

Ecuador en el año 2016 reportó una cosecha de caña de azúcar de 109 541 ha anualmente, esta producción estuvo destinada a la elaboración de azúcar, panela y etanol a nivel nacional. El 80,37% es destinada a la producción de azúcar según reportes de El Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (INEC, 2016).

Según Consejo Nacional de Control de Sustancias Estupefacientes y Psicotrópicas CONSEP, existen tres destiladoras grandes de etanol en Ecuador las cuales son: Soderal S.A, Codana S.A, Produargo S.A, cada una se encuentra asociada a un ingenio azucarero. Estas fábricas producen cerca de 157 000 L de etanol/día. En las tres regiones de este país hay alrededor de 14 provincias en las que se obtiene etanol de manera artesanal, dando

una producción de 14 000 L de etanol/día. Siendo la provincia del Oro la que posee mayor cantidad de instalaciones con 80 trapiches, y las que tienen menor cantidad son Guayas e Imbabura (Guzmán-Beckmann y Acevedo-Gamboa, 2013) .

Según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) 2018, en la región amazónica existe una producción de 8 272 ha de caña de azúcar. De las cuales 4 500 ha corresponde a la provincia de Pastaza (INEC, 2018). La superficie de cosecha de este cultivo ha ido incrementándose con el paso de los años, ya que se considera como un favor positivo para la economía de la región.

Esta materia prima es destinada en un 30% al consumo en fresco, y el 70% para elaborar panela y alcohol, existiendo alrededor de 23 destilerías en la provincia de Pastaza (GAD de Pastaza, 2015). Según la Asociación de Cañicultores, el cultivo de la caña de azúcar, al igual que sus productos derivados obtenidos después de la industrialización de forma artesanal como: etanol y panela, son considerados como una fuente de ingresos (INEC, 2016).

El etanol se puede obtener a partir de tres materias primas que son: bagazo, mieles y jugo de caña, existiendo coincidencia entre las operaciones de fermentación, destilación y rectificación, este es el caso de las mieles y jugo de caña. La producción de etanol a partir de las mieles está asociada fundamentalmente a las grandes industrias (Rodríguez, De Armas, Rodríguez, y García, 2015).

En cuanto a la producción de etanol mediante extracción de jugo de caña se efectúa de forma industrial y artesanal. El bagazo como materia prima es de escasa utilización, ya que su proceso involucra elevados costos, porque se requiere realizar las siguientes etapas: pretratamiento (secado, molienda, tamizado, almacenamiento), hidrólisis enzimática, fermentación y destilación (Rodríguez y col., 2015)

En la obtención de etanol las etapas de gran importancia son: la fermentación en la cual se usan levaduras y destilación basado en el calentamiento de ciertos líquidos hasta que los componentes volátiles se trasladen a la etapa de vaporización, después se condensa el vapor y es recuperado en estado líquido (Mulet-Hing, 2013).

En Pastaza el proceso de fermentación se realiza de forma aerobia, esto provoca que las moléculas de glucosa no se degraden correctamente generando pérdidas de energía en la degradación de azúcares en alcohol, durante este proceso las destilerías no adicionan

levaduras, por lo tanto esta etapa tiene una duración de 12 días siendo una fermentación discontinua, esto genera pérdidas del producto (Otero-Rambla y col., 2009).

Para que la fermentación se realice con eficiencia se realiza una siembra y cultivo de levaduras con el fin de que se dé una propagación. Cuando existe la presencia de azúcares asimilables cuyos valores sean superiores a 0,16 g/L, se da de forma invariable la formación del alcohol en las operaciones de crecimiento de la levadura *S. cerevisiae*, aunque exista exceso de oxígeno, pero en otros casos algunas enzimas que están involucradas en el proceso y estas provocan que se requiera tiempo, antes de que se alcance las concentraciones que se necesita para transformar los azúcares en etanol (Otero-Rambla y col., 2009).

En cuanto a la destilación en la provincia de Pastaza, usan columnas de destilación con 13 platos obteniendo 60°GL, este proceso es discontinuo y existe variaciones de temperatura ya que no hay un control de la misma, generado ineficiencias (Otero-Rambla y col., 2009). En una investigación realizada en una destilería artesanal se comprobó que, mediante la instalación de un quemador comercial, el control de la temperatura y detener a tiempo la destilación, genera mejor rendimiento en la producción de alcohol (Herrera, Padilla, Cárdenas, Carrero, y Alayón, 2011).

## ***1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA***

La obtención de etanol de manera tradicional, es realizada mediante procesos de fermentación y destilación. Durante la degradación de los azúcares en el jugo de caña se emplea un largo tiempo, este proceso es tardío debido a que no se agregan nutrientes y levaduras nativas. Además, no son tomados en cuenta temperatura y ° Brix, parámetros que al ser controlado mejoran los grados de alcohol y el rendimiento del producto.

## ***1.2 JUSTIFICACIÓN***

En la provincia de Pastaza existen 23 destilerías que obtienen etanol de manera artesanal, usan como materia prima el jugo de la caña de azúcar, donde se aplican procesos de fermentación y destilación.

En esta destilería durante la fermentación no se emplean levaduras o algún otro cultivo, para que se dé la transformación de los azúcares en etanol, factor por el cual se tarda más tiempo el proceso de desdoblamiento, el método que se utiliza se basa en dejar el jugo en

un tanque aproximadamente por 12 días en presencia de oxígeno, en este tiempo las propias levaduras del jugo realizan el proceso de fermentación.

En cuanto al proceso de destilación se emplean torres en la que varían los números de platos, no existe un control de temperatura. Estos son elementos claves para elevar el rendimiento. Por esta razón se ve la necesidad de realizar modificaciones tecnológicas en estas operaciones para la generación de este producto.

### ***1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA***

¿Cómo se puede mejorar la eficiencia en el proceso de fermentación y destilación en la obtención de etanol en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”?

### ***1.4 OBJETIVOS***

#### **1.4.1 OBJETIVO GENERAL**

Realizar modificaciones tecnológicas al proceso artesanal de etanol para mejorar la eficiencia en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”.

#### **1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Diagnosticar los procesos de fermentación y destilación en la obtención de etanol en aspectos tecnológicos, ambientales, calidad y seguridad industrial.
2. Proponer las modificaciones tecnológicas (de diseño y operación) para estabilizar el rendimiento de la producción de etanol.
3. Validar las modificaciones tecnológicas a nivel de laboratorio y en la destilería bajo estudio.

## **CAPÍTULO II**

### **2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA**

#### ***2.1 PRODUCCIÓN DE ETANOL***

La producción de etanol se ha ido incrementando, tanto para la elaboración de bebidas alcohólicas como para la producción de biocombustibles. Consiste en el proceso de fermentación de los azúcares y su posterior destilación. Existen destilerías industriales y artesanales en el Ecuador, las cuales se diferencian por las tecnologías que aplican en cada una de las operaciones (Saragosín-Lozada, 2016).

Las destilerías industriales poseen sistemas continuos por lo cual obtienen mayor rendimiento y calidad del alcohol. En el caso de las destilerías artesanales su producción es discontinua, además no existe un control adecuado de los parámetros que son: Temperatura, °Brix, pH y grado alcohólico en los procesos de fermentación y destilación, estos son factores que se encuentran involucrados en los resultados que obtienen estas pequeñas fábricas.

#### ***2.2 PRODUCCIÓN ARTESANAL***

En el Ecuador la producción de etanol artesanal se realiza en diferentes regiones como es Azuay, Bolívar, Cañar, Carchi, Cotopaxi, Chimborazo, Imbabura, Loja, Pichincha, Guayas, Manabí, Pastaza, Napo, Sucumbíos entre otras regiones. Cabe mencionar que la caña de azúcar que cultivan en cada uno de estos sectores no es solo para la obtención de etanol ya que con este cultivo se elaboran diferentes productos como es azúcar, miel y licores en general (Guzmán-Beckmann y Acevedo-Gamboa, 2013).

Para la obtención del etanol se inicia con la siembra la misma que puede tener una duración de 6 a 7 meses. Una vez que la caña se encuentra en la etapa de maduración, es sometida a proceso de cortado y molienda en un trapiche, con el fin de obtener el jugo el mismo que se caracteriza por ser rico en azúcares (Flores-Piñas, 2012).

Luego es colocado en unos tanques fermentadores que también son llamados cubas, el tiempo de fermentación se estima que es de 12 días. Para verificar que se ha concluido esta etapa se usa una pesa- jarabe BAUMÉ, a temperatura de 15°C el cual indica el grado cero (Flores-Piñas, 2012).

El siguiente paso es la destilación en la que se utiliza dos alambiques, también existen fábricas que cuentan con columnas de rectificación, para lograr un etanol más puro. La energía que se usa para la producción del vapor es la leña seca. Para conocer el grado de alcohol se emplea un alcoholímetro GAY LUSSAC. El producto que se obtiene es colocado en tanques de acero inoxidable (Flores-Piñas, 2012).

### **2.2.1 FERMENTACIÓN ARTESANAL**

En las destilerías artesanales una vez extraído el jugo de caña a través del proceso de molienda, sigue uno de los procesos más importantes para la obtención de etanol es la fermentación, esto se realiza en tanques de acero inoxidable o bien en recipientes prosísticos, en los mismos que se dan la transformación de azúcares en etanol en presencia de oxígeno, en el cual se desprende CO<sub>2</sub> (Garduño-García, Martínez-Romero, López-Cruz, y Ruíz-García, 2014).

Dicho proceso no tiene una duración específica ya que puede ir de 12 o más días, en dependencia de la concentración de °Brix que contienen los jugos que son fermentados, ya que en este tipo de fermentación no se controlan temperaturas ni se adicionan nutrientes, los cuales contribuyen a la degradación de los azúcares en etanol (Garduño-García y col., 2014).

### **2.2.2 DESTILACIÓN ARTESANAL**

Según la empresa (Cristal) en la destilación se da la separación de la mezcla agua- etanol, la producción de etanol de manera artesanal consiste en colocar los mostos fermentados en alambiques y posteriormente suministrar calor con la finalidad de destilar el alcohol.

En la provincia de Pastaza la producción de etanol es de manera artesanal, razón por la cual las operaciones son discontinuas dándose el siguiente proceso: el mosto fermentado es pasado a una columna de destilación, que posee 13 platos perforados, a través de los cuales circula el líquido a destilarse, presentándose un intercambio de líquido-vapor, el vapor que sale de esta columna pasa por un condensador el cual es enfriado y se obtiene etanol de aproximadamente 60°GL, en este proceso se desechan las vinazas y agua.

## ***2.3 PRODUCCIÓN INDUSTRIAL***

La producción de etanol industrial en Ecuador se realizan en los ingenios azucareros, San Carlos, La Troncal, Valdez y Ecludos en los cuales no solo se dedican a elaborar azúcar ya que con los subproductos como son las melazas obtenidas de este proceso elaboran diferentes productos como: etanol que se emplea en combustibles, alcoholes y farmacéutica (Guzmán-Beckmann y Acevedo-Gamboa, 2013).

Existen materias primas que poseen un alto contenido de azúcar, las mismas que pueden ser simples y fermentables, en la actualidad en las industrias se emplean: melazas, jarabes oscuros y también con alta viscosidad para la obtención de etanol; estas son considerados como subproductos que se obtienen de la refinación del azúcar (Arteaga, Carvajal, y Bolaños, 2013).

La melaza a utilizarse en la fermentación es sometida a tratamientos previos como son:

1. Esterilización: Pueden encontrarse distintos tipos de bacterias en la melaza, las cuales se caracterizan por no ser fermentables, también se pueden presentar bacterias que convierten los azúcares en etanol (Arteaga y col., 2013).
2. Dilución: Existe una alta concentración de sales y azúcares en la melaza las mismas que pueden impedir a los microorganismos fermentarlas. Otro factor por el cual se debe diluir es por su viscosidad ya que en esta condición resulta difícil la manipulación. El proceso de disolución se realiza agregando agua hasta que las diluciones den aproximadamente 25°Brix, si los valores son mayores puede darse el riesgo de que la fermentación sea lenta y que exista la presencia de contaminación de bacterias (Arteaga y col., 2013).

En algunos casos es necesario adicionar nutrientes, con el objetivo de complementar aquellos que sean necesarios para los microorganismos, mismos que se encargan de la fermentación (Arteaga y col., 2013).

Una vez efectuada la fermentación se aplican métodos para separar el etanol del agua, mediante un sistema continuo, que consiste en pasar el líquido a una columna de destilación para posteriormente dividirla en dos secciones que son: agotamiento (debajo del punto que alimenta) y rectificación (encima del punto que alimenta). Además se

genera un vapor que inicia en el fondo de la columna, y este va extrayendo el etanol del fluido de arriba hacia abajo, esta mezcla obtenida es condensada (Arteaga y col., 2013).

### 2.3.1 FERMENTACIÓN INDUSTRIAL

La fermentación en las industrias se enfoca en obtener la eficiencia en el proceso, mediante operaciones continuas con el objetivo de tener como resultado mayor cantidad de etanol. Con el uso de levaduras en cantidades de 10 g por L, algunas destilerías logran acelerar el proceso de transformación de los azúcares (Rodríguez y col., 2015).

Según el tipo de industria utiliza la fermentación continua o discontinua para cada una de las fermentaciones se controlan diferentes parámetros como son: pH, temperatura, °Brix y alcoholes que se producen, así como también se evalúa cuáles son las ventajas y desventajas de utilizar cada uno de los fermentadores (Rodríguez y col., 2015). Las fermentaciones continua y discontinua se pueden apreciar en la Figura 1.

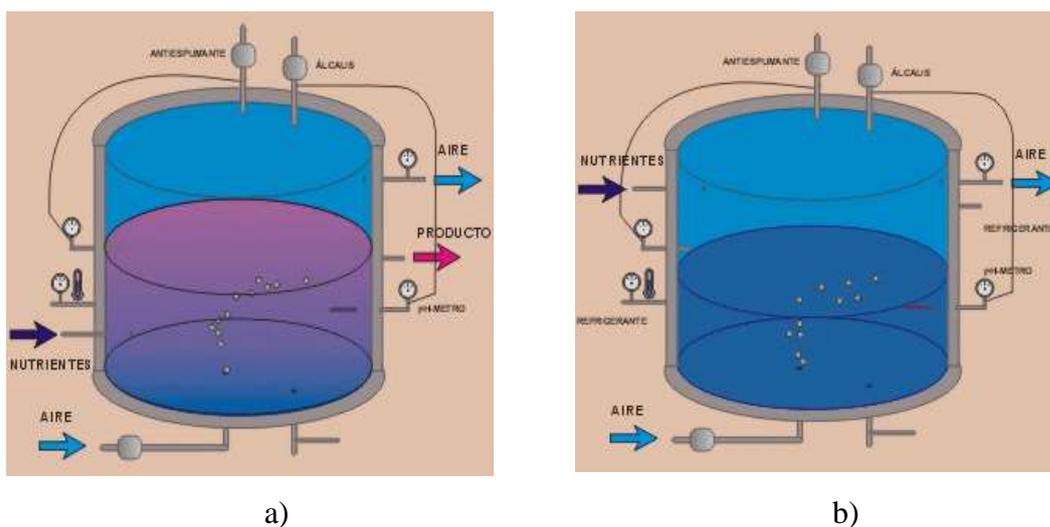


Figura 1. Tipos de fermentadores. a) Fermentador de flujo continuo b) Fermentador de flujo discontinuo

Fuente: (López-Leva, 2018)

#### 2.3.1.1 TIPOS DE FERMENTACIÓN

Fermentación discontinua se considera un sistema cerrado, al iniciar la operación se añade la solución ya esterilizada con los nutrientes, inoculada con el m/o, esto permite a que la incubación se realice en condiciones de fermentación adecuadas. A lo largo de la

fermentación no se adiciona nada, exceptuando el oxígeno mediante el aire, una solución para controlar el pH ya sea ácidos o bases (Rodríguez y col., 2015).

En la fermentación continua es un sistema abierto, solución nutritiva es estéril la cual se adiciona continuamente al biorreactor también se adiciona los microorganismos, así también se elimina continuamente residuos que se pueda presentar en este sistema. El objetivo principal de las industrias es minimizar costes y aumentar los rendimientos. Los dos tipos de fermentación poseen ventajas y desventajas, las mismas que se encuentran en la Tabla 1.

Tabla 1. Ventajas y desventajas de la fermentación continúa a escala industrial.

<b>Tipos</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Fermentación continua	Opera por largos períodos Costos de operación y trabajos bajos Crecimiento celular Volumen de reactor reducido Biomasa constante	Elevados costos de accesorios y equipos Mayores posibilidades de contaminación Esterilizaciones continuas
Fermentación discontinua	Bajos costos de implementación Bajo riesgo de contaminación	Cortos períodos de operación Cambios en las condiciones de operación Grado de mezcla a gran escala

**Fuente:** (Merit-Alvarez, 2015; Núñez-Yapias, 2013)

En el proceso de fermentación el control de temperatura es esencial ya que debe encontrarse en 32°C, mientras que para su reproducción lo óptimo es 28°C. Si se sobrepasa las temperaturas indicadas, puede desarrollarse contaminación por Lactobacillus, esta es una bacteria que compite por la glucosa con las levaduras, evitando que se dé una fermentación (Téllez-Mora, Peraza-Luna, Feria-Velasco, Andrade-González, y 2012).

Se puede evitar contaminaciones microbiana con la adición de un antibiótico que contenga penicilina, ya que este permite la estabilización del pH (Téllez-Mora y col., 2012).

El pH es otro parámetro que se debe controlar ya que permite el desarrollo celular y que se dé la formación correcta del producto, para esto se puede realizar de dos formas directa o indirecta.

1. Directa: al añadir directamente los agentes como son: fosfato con un pH de 6-7.5, ácidos orgánicos pH bajos.
2. Indirecta esto se realiza a través de un balance equitativo, entre fuentes de carbohidrato y nitrógeno.

La espuma es otro parámetro a controlar, para esto se añade antiespumante con esto se dispersan las espumas. También el oxígeno es de suma importancia controlar, esto va a depender del tipo de fermentación que se emplee, es decir de requerimientos en procesos aerobios, como por ejemplo antioxidantes, entre otros. (Merit-Alvarez, 2015).

### **2.3.1.2 MEDIOS DE CULTIVO**

Existen varios medios para cultivar la levadura (*Sacc*), entre ellos se encuentran el medio YPD (Extracto de levadura peptona dextrosa) que se puede usar como medio sólido, el medio PDA (Agar papa dextrosa) más conocido como (Agar papa dextrosa) que se caracteriza por ser un cultivo en estado sólido con muchos nutrientes y medio Sabouraud (Valdivieso-Ugarte, 2016).

En estos medios de cultivo pueden desarrollarse variedad de bacterias y especies fúngicas, pero da mejores resultados en los aislamientos de levaduras y hongos de tipo filamentosos. Este medio es de sencilla y fácil preparación en un laboratorio, y posee la ventaja de que se puede evitar que crezcan bacterias mediante la adición de un agente inhibidor.

#### **MEDIO YPD (Extracto de levadura peptona dextrosa)**

Es un medio que sirve para el cultivo de levaduras, además en su composición presenta peptona, extracto de levadura y glucosa, los mismos que son favorables para el crecimiento y desarrollo de levaduras. Este medio se caracteriza por ser completo debido a que facilita el crecimiento rápido de *S. cerevisiae* por los contenidos de nitrógeno, vitaminas y la fuente de carbono la cual se encuentra en la peptona.

Se caracteriza por presentar un aspecto sólido una vez preparado y un color café no muy claro, si está esterilizado correctamente no existirá la presencia de microorganismos que puedan perjudicar el crecimiento de la levadura que se haya sembrado. La formulación para preparar este medio para el cultivo de levaduras se detalla en la Tabla 2.

Tabla 2. Composición del medio YPD

<b>Indicadores</b>	<b>Cantidades (Unidades)</b>
Extracto de levadura	10 (g)
Peptona	20 (g)
Glucosa	20 (g)
Agua destilada	1 (L)
Para medio sólido (agar)	20 (g/L)

**Fuente:** (Valdivieso-Ugarte, 2016)

### **MEDIO PDA**

Es un medio que se usa para el aislamiento de levaduras y también de hongos, se caracteriza por poseer una apariencia transparente, de alto contenido nutritivo y facilita que se dé la esporulación. En los cultivos en este medio se puede agregar algún tipo de antibiótico con el objetivo de prevenir el crecimiento de bacterias.

En su preparación se usan infusiones de patatas, que tiene la propiedad de promover a las levaduras y hongos que crezcan de forma abundante, también el agar es agregado para dar la textura sólida al medio. La preparación del medio PDA tiene fines alimenticios y también en cosméticos. En la Tabla 3 se describen los indicadores para la preparación del medio PDA.

Tabla 3. Composición del medio PDA

<b>Indicadores</b>	<b>Cantidades (g)</b>
Agua destilada	100
Patatas infusión de sólidos	4
Dextrosa	20
Agar en polvo	15

**Fuente:** (Valdivieso-Ugarte, 2016)

### **MEDIO SABORAUD (Agar dextrosa Sabouraud)**

Es considerado como un medio débilmente selectivo cuando se ha adicionado algún antibiótico, ya que su pH es ácido debido a que se encuentra entre 5.6-0.2, pero los microorganismos que se siembren pueden desarrollar normalmente en condiciones de incubación. Sus características principales son proporcionar carbono y nitrógeno (Gil, 2017).

Además, en su composición tiene gran cantidad de glucosa, siendo una fuente para dar energía para que las levaduras crezcan y se desarrollen. En este medio se debe tener en

cuenta que el antibiótico que se escoja sea el adecuado, ya que depende del tipo de bacterias que se quiera evitar que se formen (Gil, 2017). En la Tabla 4 se describen los indicadores para la preparación del medio Sabouraud.

Tabla 4. Composición del medio Sabouraud

<b>Indicadores</b>	<b>Cantidades (unidades)</b>
Agua destilada	1000 (mL)
Dextrosa	40 (g)
Peptona	10 (g)
Agar en polvo	15 (g)

**Fuente:** (Gil, 2017)

### **MEDIO ROSA DE BENGALA**

Es un medio de cultivo selectivo que sirve para el crecimiento de hongos y levaduras, es muy utilizado ya que cuenta con nitrógeno, minerales, vitaminas y aminoácidos esenciales para el crecimiento de los microorganismos. Además, cuenta con cloranfenicol que es un antibacteriano ideal para inhibir el desarrollo de otros organismos vivos no deseados (Condalab, 2019).

La composición del rosa de bengala es en estado sólido y facilita a que los hongos se desarrollen lentamente, permitiendo a las levaduras un mejor crecimiento. Si en el medio de cultivo se encuentran hongos su coloración será rosada. En la Tabla 5 se detallan los indicadores necesarios para preparar este medio (Condalab, 2019).

Tabla 5. Composición del medio Rosa de bengala

<b>Indicadores</b>	<b>Cantidades (g)</b>
Agar bacteriológico	15
Cloranfenicol	0,1
Sulfato magnésico	0,5
Rosa de bengala	0,05
Peptona bacteriológica	5
Dextrosa	10
Fosfato potásico	1

**Fuente:** (Condalab, 2019).

### **2.3.1.3 NUTRIENTES**

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* o las levaduras nativas necesitan de nutrientes para su crecimiento y desarrollo en el medio de cultivo, entre las más conocidas se encuentran las siguientes: Carbono, nitrógeno, fósforo, azufre, potasio, magnesio y

elementos traza los mismos que son requeridos en concentraciones de 0.1-1 mL, un nutriente usado con frecuencia es la urea que es añadida en concentraciones de 0,15 gramos por cada litro (Rosero-Delgado y Dustet-Mendoza, 2017).

Esta levadura requiere de estos nutrientes para su adecuado desarrollo, en especial de las vitaminas ya que estas son consumidas por levaduras de tipo indígenas en el momento de darse la fase pre-fermentativa, la urea también es utilizada como un nutriente en la etapa de fermentación (Rosero-Delgado y Dustet-Mendoza, 2017).

#### **2.3.1.4 SUSTRATOS**

La industria utiliza las mieles finales de caña de azúcar como sustrato para la elaboración de etanol, pero en vista que la producción de azúcar es cada vez mayor se busca utilizar diferentes sustratos, como del jugo de caña en especial los jugos secundarios que se utiliza directamente en la fermentación y producción de etanol, ya que es un sustrato fácil de conseguir siendo más económico (Rosero-Delgado y Dustet-Mendoza, 2017).

También se utiliza la glucosa y la sacarosa como sustrato, ya que estos compuestos degradan los azúcares y se obtienen productos finales como alcoholes y moléculas de ATP. El uso del sustrato depende del producto a obtenerse (Rosero-Delgado y Dustet-Mendoza, 2017).

#### **2.3.2 DESTILACIÓN INDUSTRIAL**

En las empresas industriales en los procesos de destilación se da la separación del etanol-agua, en una columna destiladora que consta de un condensador y un tanque de reflujo, dichas columnas se caracterizan por ser de acero inoxidable, según el autor (Jara-Morante, Collado-Dominguez, De la Cruz-Azabache, y Vivas-Cuellar) el flujo de agua que enfría debe ser periódicamente controlado conjuntamente con la temperatura a la que se opera el destilador.

Para controlar la temperatura de la columna de destilación se requiere de un termómetro infrarrojo digital láser SlacTech que permita obtener un registro detallado de las temperaturas, además es necesario la implementación de un quemador comercial para regular el calor que se suministra (Herrera y col., 2011).

Es considerada como la operación unitaria más importante para la separación de la mezcla etanol- agua, los sistemas actuales son multi-etapa y continuos, y poseen contracorriente

y un contacto entre vapor-líquido, que bullen a diferentes temperaturas (Arteaga y col., 2013).

### 2.3.2.1 TIPOS DE DESTILACIÓN

La destilación simple es realizada de manera artesanal, se usa un alambique el cual está compuesto por una caldera en la cual se coloca el alcohol o vino que se va a destilar. Funciona de la siguiente manera: una vez que el capiter o más conocido como sombrero se encuentra apoyado encima de la cadera este pasa al cuello del equipo y envía los vapores a un condensador el cual enfría obteniendo como resultado el producto final (Montoya-Mistretta, 2012). Este proceso se lo demuestra en la Figura 2.

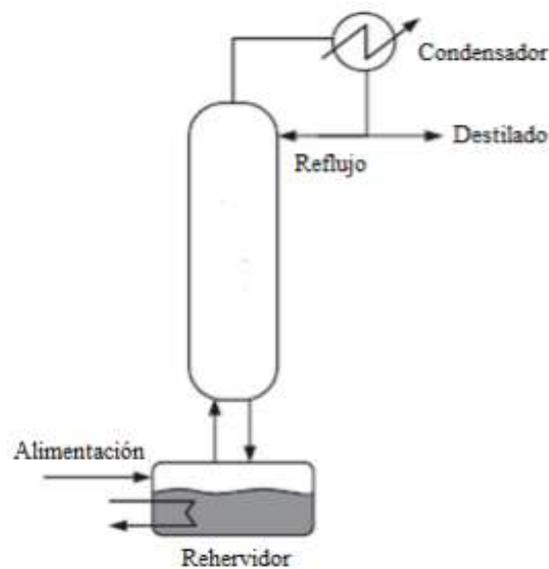


Figura 2. Destilador simple o batch

**Fuente:** (Montoya-Mistretta, 2012)

La destilación continua es usada por las destilerías industriales, se caracteriza por ser una columna con platos, los mismos que pueden ser de distintas características, su funcionamiento se basa en alimentarse por un extremo y caer hasta encontrarse con el vapor que se encuentra ascendiendo, este entra a la columna por la parte inferior, y por la parte opuesta son expulsadas las vinazas (Montoya-Mistretta, 2012). En la Figura 3 se muestra este proceso.

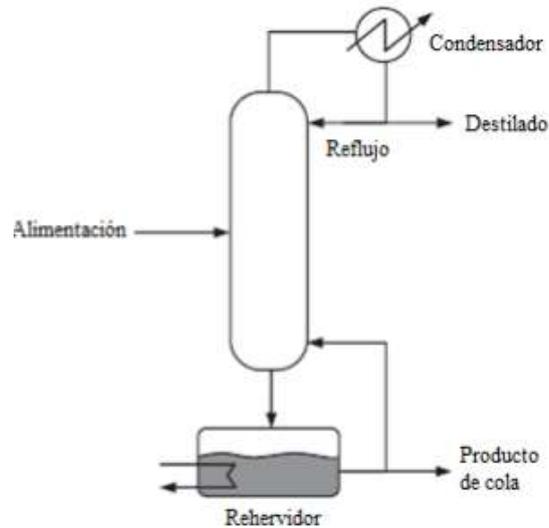


Figura 3. Destilador simple continuo

**Fuente:** (Montoya-Mistretta, 2012)

### 2.3.3 RECTIFICACIÓN

El proceso de rectificación consiste en eliminar el mayor contenido de agua, metanol y alcoholes superiores, que proviene de la destilación simple, con esto se logra obtener etanol con un porcentaje de pureza del 99,5%, debido a que se elimina la mayor concentración de metanol que se produce en la obtención de etanol. En cuanto a los alcoholes superiores se generan durante la fermentación, debido a las acción de las levaduras y se caracterizan por contribuir al aroma y sabor de alcoholes .La torre de destilación en este proceso debe estar sometida a una temperatura de 84,2-84,5 ° C (Venegas-Venegas, 2018).

Las columnas de destilación facilitan la separación de líquidos volátiles en las destilerías industriales. Es un equipo para rectificar la mezcla de agua y etanol. Este equipo cuenta con: un calderín que genera el calor necesario para la ebullición del etanol presente en dicha mezcla. También está conformado por una columna, en la cual se da un contacto de la fase de vapor que se genera en el calderín. El condensador se encuentra en la parte superior de la columna, su función es condensar el vapor que ha ascendido dentro de la columna, suministrando una corriente en fase líquida (Universidad de Granada, 2016).

## **2.4 MATERIAS PRIMAS PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL**

La producción del etanol ha ido desarrollándose dentro de los procesos de diversificación, por lo tanto, se ha visto la necesidad de que existan nuevas alternativas para la producción de este producto a partir de otras materias primas. La utilización de productos intermedios provenientes de industrias azucareras, dan la posibilidad de disponer de distintos sustratos para la elaboración de alcohol.

Entre las materias primas más utilizadas se encuentran las mieles las cuales son utilizadas en las grandes industrias y el jugo de la caña de azúcar que se usan en las destilerías artesanales, en ambos casos se aplica las operaciones de fermentación y destilación (García-Prado y col., 2015).

### **2.4.1 MATERIA PRIMA A ESCALA ARTESANAL**

En la provincia de Pastaza y otras partes del mundo utilizan el jugo obtenido de la caña de azúcar para la elaboración de etanol, ya que esta materia prima es utilizada en el país para la elaboración de diferentes licores artesanales (Murillo, 2017).

Al ser un proceso artesanal la obtención de etanol es de tiempo prolongado, debido a que el equipo fermentador no presenta las condiciones necesarias para acelerar el proceso de degradación de azúcares en la fermentación del jugo de caña, una vez terminado la fermentación que va desde 48 horas pasa al proceso de destilación en alambiques, el que consiste evaporar el guarapo para obtener el etanol con un porcentaje de pureza de un 95% (Murillo, 2017).

A nivel mundial se utiliza la caña de azúcar como materia prima para la elaboración de licores como es el ron, entre los países productores se encuentra Cuba, Nicaragua, México, Colombia, Argentina, Panamá, entre otros. El proceso consiste en convertir la sacarosa que contiene el jugo de caña en alcohol, una vez culminado la fermentación se procede a la destilación, que consiste en purificar el fermento eliminando impurezas, para esto se utiliza una torre de destilación y por último se añeja el etanol obtenido en barricas, para dar las características del ron. Cabe mencionar que no solo producen ron con la caña de azúcar, también se utiliza en la farmacéutica, para obtener bioetanol, entre varios productos (Herbert, 2010).

## **2.4.2 MATERIA PRIMA A ESCALA INDUSTRIAL**

Para la obtención de etanol la industria utiliza la melaza como materia prima, la misma que es obtenida durante la elaboración de azúcar durante proceso de centrifugación y filtración, en el filtrado se retiene la miel de purga. La miel es almacenada a una temperatura de 120°C esta se deja en reposo hasta que la temperatura baje a 80°C, luego se disuelven las mieles con agua, para reducir su concentración de sacarosa a 15°Brix (Rosero-Delgado y Dustet-Mendoza, 2017).

Después esta mezcla pasa al fermentador en el cual la levadura convierte la glucosa en alcohol, produciendo CO<sub>2</sub>, en el que se añaden nutrientes como urea y fosfato básico (Argote, Cuervo, Osorio, Delgado-Ospina, y Villada 2015), el fermento que se ha producido tiene 10°GL, esto pasa a la torre de destilación en el cual se obtiene el 95 % de etanol y el restante vinazas y agua (Moyano, 2013).

## **2.5 MODIFICACIONES TECNOLÓGICAS**

En la obtención del etanol existen dos operaciones que son la fermentación y destilación, estos procesos son considerados claves para obtener eficientemente este producto, las destilerías artesanales realizan los procesos sin control de temperaturas o en condiciones que no son aptas para el desarrollo de las levaduras.

Las etapas de fermentación y destilación en estas destilerías pueden mejorar con ciertas modificaciones tecnológicas que sean fáciles y económicas de implementar, mejorando de esta manera el rendimiento del alcohol.

### **2.5.1 PROCESOS DE FERMENTACIÓN**

El proceso de fermentación para obtener etanol es artesanal, por el cual el tiempo de este proceso es prolongado reduciendo con esto la productividad, por este motivo se busca realizar diferentes modificaciones tecnológicas.

Según el autor Vázquez y Dacosta (2007) realizó una prueba piloto en volúmenes de 100 litros que diseñó una tecnología de bajo costo esta instalación permite realizar el proceso de fermentación en modo continuo, empleando grandes concentraciones de levaduras para esto la instalación cuenta con varios subsistemas como son: biorreactor que es un recipiente cilíndrico construido en acero inoxidable, compuesto con un sistema de medida

que incluye pH, volumen, y temperatura, consta de entradas como son de melazas y aguas y de salida que es para el cultivo fermentado para evacuar el CO<sub>2</sub>, y levaduras en exceso. Un motor que permite mezclar el líquido. También consta de un decantador que se basa en un recipiente con una forma cónica que se utiliza para recuperar de forma continua las levaduras. Una vez culminado la fermentación se envía a un tanque de recolección para posteriormente enviar a la columna de destilación. Con estas modificaciones se puede observar que el tiempo de fermentación varía entre 8 y 25 horas esto depende del funcionamiento.

Una vez identificado las modificaciones que se pueden realizar en el proceso de fermentación se recomienda agregar levaduras y nutrientes en el jugo de caña, con esto se reduce el tiempo de fermentación, controlar los parámetros como son pH, temperatura y °Brix.

También se puede colocar tapa en los tanques fermentadores que funcionarán como birreactores diseñar trampas de agua, para eliminar el oxígeno que los microorganismos producen, con todas estas modificaciones se pretende reducir el periodo de fermentación y elevar la producción de etanol.

## **2.5.2 PROCESOS DE DESTILACIÓN**

En el artículo descrito por Herrera y col. (2011) para obtener etanol de forma artesanal se carece de sistemas de control de temperatura, motivo por el cual se dan bajas producciones de etanol.

Debido a esto las modificaciones que se pueden realizar para mejorar tanto la calidad del producto, como el volumen en el proceso de destilación son las siguientes: instalación de un quemador comercial con el fin de regular la cantidad de calor que se suministra, también se necesita instalar un termómetro digital el cual permita llevar un registro detallado de gradientes de temperaturas.

Adicional a esto se puede implementar una columna empacada con anillos llamada Rasching, esto favorece a separar los compuestos volátiles y se obtiene 80°GL y mayor cantidad de producto (Herrera y col., 2011).

## CAPÍTULO III

### 3 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.1 LOCALIZACIÓN

Este estudio se realizará en la Provincia de Pastaza, cantón Pastaza ubicada a  $76^{\circ} 40'$  y  $78^{\circ} 10'$  de longitud oeste y entre los  $1^{\circ} 10'$  y  $2^{\circ} 35'$  de latitud sur en el Km 2  $\frac{1}{2}$  vía Puyo – Tena (Paso Lateral) de la ciudad de Puyo; En los laboratorios de Biología de la Universidad Estatal Amazónica y en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel” ubicada en la parroquia Teniente Hugo Ortiz recinto Mariscal Sucre, en la Figura 4 se puede observar la ubicación de los laboratorios de la Universidad Estatal Amazónica donde se realizaron los estudios previos.

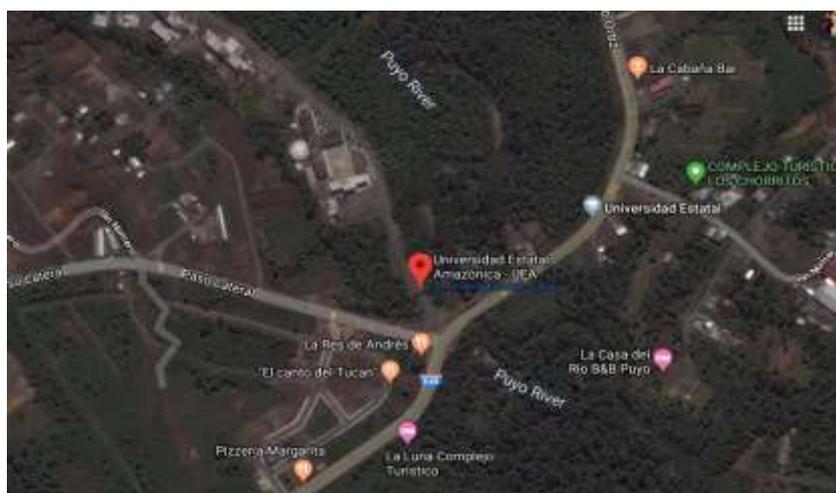


Figura 4. Ubicación de los laboratorios de la Universidad Estatal Amazónica

**Fuente:** Google Maps

#### 3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación que se realizó es experimental, para llevarse a cabo se usó recopilaciones de diferentes investigaciones de revistas, libros y tesis de maestrías y doctorado. Esta investigación no cuenta con antecedentes de implementación de modificaciones en las destilerías en la provincia de Pastaza, siendo una alternativa de mejora para la eficiencia en la producción de etanol.

### **3.3 MATERIALES**

Para desarrollar el proyecto se utilizó como materia prima el jugo de caña de azúcar, proveniente de la destilería objeto de estudio. También se usaron medios de cultivo *Saboraud Dextrose* y *rosa de bengala* para preparar los medios de cultivo de los microorganismos, los reactivos que se utilizaron son considerados de grado analítico (agua destilada, azul de metileno) y se aplicaron para determinar la morfología de las células obtenidas del aislamiento. Los materiales que se usaron para las modificaciones en la destilería fueron: tubos y codos de agua de media pulgada, banda elástica, adaptador de tubo y un recipiente de 20 L para la salida del CO<sub>2</sub>.

### **3.4 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

Para el desarrollo del proyecto de investigación se aplicó los siguientes epígrafes: confección del check list con el cual se diagnosticó el estado actual de la destilería, posteriormente se propuso las modificaciones tecnológicas, por último, se validó a nivel de laboratorio y en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”.

#### **3.4.1 CONFECCIÓN DEL CHECK LIST**

Se elaboró un check list para la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”, destacándose cuatro aspectos que son: producción, calidad, ambiente y seguridad industrial. Según Cardona-E y Restrepo-A (2015), las listas de chequeo no tienen un máximo ni tampoco mínimo de preguntas, ya que depende del área a la que se dirija.

Es necesario que se realice las preguntas con claridad en cuanto a los aspectos y criterios a controlarse. Por lo tanto, se estructuró de la siguiente manera: producción, calidad, ambiente y seguridad industrial.

El check list se aplicó en la destilería, con la finalidad de diagnosticar el rendimiento, contaminación ambiental, producción, entre otros. Posteriormente se analizaron los resultados se estructuró las deficiencias, y en dependencia de las mismas se efectuó investigaciones en revistas, artículos científicos, libros y tesis, sobre modificaciones que se han realizado en destilerías para solucionar dichos problemas.

### **3.4.2 PROPUESTA DE LAS MODIFICACIONES TECNOLÓGICAS**

Para las modificaciones tecnológicas en el proceso de fermentación y destilación se realizó los siguientes pasos:

1. En cuanto a la fermentación el primer paso fue utilizar un recipiente que funcione como biorreactor, es decir para que la fermentación sea de forma anaerobia.
2. El biorreactor contó con mecanismos para medir parámetros (°Brix y Temperatura) los cuales fueron importantes en la fermentación alcohólica. Este contó con entradas para jugo, nutrientes y levaduras, también con salidas para el mosto y dióxido de carbono que posteriormente pasó a la columna de destilación.
3. Para el proceso de destilación se realizaron modificaciones tecnológicas en términos de operación, que consistió en utilizar un termómetro infrarrojo digital láser SlacTech, con la finalidad de mantener la temperatura en un rango de 75-80°C.

Para el proceso de destilación se colocó el mosto fermentado en el equipo destilador, se calentó el recipiente y se procedió a destilar controlando constantemente la temperatura para que esta se mantenga en el rango establecido. De este proceso se obtienen las cabezas que se presenta al inicio del proceso y las colas al finalizar la destilación.

La variable respuesta medida en la producción en términos de calidad fue la cantidad de etanol (°GL) y en la parte ambiental la variable fué la cantidad de vinaza que se produce en la fermentación.

### **3.4.3 VALIDACIÓN DE LAS PROPUESTAS TECNOLÓGICAS**

Para la validación de las modificaciones tecnológicas se obtuvo el etanol a nivel de laboratorio y en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”.

#### **3.4.3.1 OBTENCIÓN DE ETANOL A NIVEL DE LABORATORIO**

Las levaduras nativas, fueron obtenidas mediante la siembra en el medio *Saboraud dextrosa*, la técnica que se aplicó fue por estrías, posteriormente se aisló en el medio agar Rosa de Bengala, después se realizó la propagación de la levadura en el medio PDB (Caldo papa dextrosa) en estado líquido (Ver Anexo 1). Con la finalidad de conocer el número de levaduras existentes, se hizo un recuento de levaduras con la ayuda de un microscopio y de una cámara Neubauer (Ver Anexo 2)(Cepeda-Quintana y Jaramillo-

Amador, 2009). La fermentación del jugo se realizó con la levadura obtenida. Se realizaron 6 experimentos de forma aerobia y anaerobia, los mismos se detallan en la Tabla 6 y Anexo 3.

Tabla 6. Experimentos a nivel de laboratorio

Número de experimento	Tipo de experimento	Indicadores	Cantidad	Unidades
1	Tradicional aerobio	Jugo de caña	100	mL
2	Tradicional anaerobio	Jugo de caña	100	mL
3	Urea aerobio	Jugo de caña	100	mL
		Urea	0,075	g
4	Urea anaerobio	Jugo de caña	100	mL
		Urea	0,075	g
5	Levaduras y urea aerobio	Jugo de caña	100	mL
		Urea	0,075	g
		Levaduras nativas	10	g
6	Levaduras y urea anaerobio	Jugo de caña	100	mL
		Urea	0,075	g
		Levaduras nativas	10	g

**Fuente:** Elaborado por las autoras

Se midió °Brix y posteriormente se destiló el jugo fermentado mediante un equipo de destilación simple formado por una manta de calentamiento, un balón con fondo redondo de aproximadamente 1000 mL, también posee un condensador, codos y un termómetro con una temperatura de 100°C la misma que fue controlada constantemente con la finalidad de que no supere los 80°C, se utilizó un vaso de precipitación con una medida de 500 mL con el fin de recolectar el fluido destilado (Ver Anexo 4). En este proceso se obtuvo alcohol y vinazas. (Cepeda-Quintana y Jaramillo-Amador, 2009). El equipo se puede apreciar en la Figura 5.



Figura 5. Equipo de destilación simple

**Fuente:** Elaborado por las autoras

## **PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO**

Para preparar el medio de cultivo se utilizó 6 g de *agar Saboraud Dextrose* en 100 mL de agua destilada, luego se colocó esta mezcla en una botella de vidrio con una pastilla magnética, para ser llevada a una plancha de calentamiento por un tiempo de 1 minuto hasta que su pH sea de 5,6; evitando que esta llegue al punto de ebullición.

Después de transcurrido ese tiempo se colocó la botella con el medio preparado en un autoclave a 121°C por 15 minutos (Willey, Sherwood, y Woolverton, 2009). Se adicionó al medio 1000 µL del medio rosa de bengala o también se puede agregar ampicilina.

El siguiente paso fue realizar una difusión en cajas petri, las mismas que fueron esterilizadas con anterioridad en la cámara de reflujo laminar modelo *LABCONCO Purifier vertical Clean Bench*.

## **SIEMBRA DE LA LEVADURA**

Para sembrar la levadura se recolectó una muestra del jugo de caña proveniente de la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”. Con la finalidad de obtener levaduras nativas se realizó el siguiente procedimiento:

Se realizaron 4 diluciones decimales de forma consecutiva en tubos de ensayo con una medida de 9mL, luego se tomó 1000 µL del jugo de caña para realizar las diluciones, de las cuales con el uso de una micro pipeta se extrajo 100 µL, para ser sembrado por extensión en el medio preparado *agar Saboraud Dextrose*. Por último las siembras realizadas fueron colocadas en una incubadora, con una temperatura entre 28-30°C por un tiempo de 48 horas (Barbosa-Piló y col., 2018).

Una vez que transcurrió este tiempo, las colonias que se desarrollaron a las 48 horas fueron observadas en un microscopio óptico modelo Amscope B120c, de las cuales se tomaron muestras de aquellas que presentaron la morfología propia de una levadura (Barbosa-Piló y col., 2018).

## **AISLAMIENTO DE LA LEVADURA**

Las células identificadas como levaduras fueron colocadas en el medio de cultivo *rose bengal agar* los materiales que se usaron para este proceso fueron previamente

esterilizados, y se usó la técnica de agotamiento por estrías en forma de puntas. Posteriormente se incubó la placa de forma invertida a temperatura de 27°C durante 24 horas (Barbosa-Piló y col., 2018).

### **PROPAGACIÓN DE LA LEVADURA**

Se preparó un caldo de papa dextrosa en un vaso de precipitación, en el cual se sembró las cepas de levadura para producir biomasa por un tiempo de 24 h (Suárez-Machín, Garrido-Carralero, y Guevara-Rodríguez, 2016).

### **CUANTIFICACIÓN DE LEVADURAS**

Las unidades formadoras de colonias (UFC), se cuantificaron mediante una cámara de Neubauer, a las 24 h y 48 h. Para su utilización se limpió la cámara y se lavaron los cubreobjetos con agua destilada y también se desinfectó con alcohol al 96%. Posteriormente se tomó 10 µL con la ayuda de una micropipeta para ser colocada a los extremos del cubreobjetos. Cabe recalcar que si la muestra es demasiado concentrada, se debe aplicar una dilución 1:1 de la cepa con el uso de agua destilada (Bastidas, 2010).

La cámara de Neubauer se colocó en un microscopio modelo Amscope B120c, y se observó con el lente 40X y 10X, con el objetivo de contar las levaduras obtenidas en los 4 cuadrantes de las esquinas (1mm<sup>2</sup>), luego se sumaron los resultados que se obtuvieron y se aplicó la (Ecuación 1) (Bastidas, 2010).

$$\text{Concentración} = \frac{\Sigma N^{\circ} \text{ de células} \times 10000}{\text{Número de cuadros}}$$

**Ecuación 1.** Cantidad de levaduras

### **DETERMINACIÓN DE GRADOS BRIX**

Para determinar el contenido de azúcares se utilizó un refractómetro 0-90%, el cual primero se limpió con agua destilada, luego se secó y con ayuda de una pipeta se colocó una gota del jugo fresco de la caña, por último, se procedió a observar y registrar el dato obtenido, el mismo que deberá mantenerse en 5 °Brix de manera constante. (López-Santander, 2018).

### **CONTENIDO DE GRADO ALCOHÓLICO DEL DESTILADO**

Para determinar el contenido de grado alcohólico se utilizó una probeta 100 mL, a la cual se llenó con etanol hasta aproximadamente 60 mL, y se sumergió el densímetro, por último, se registró la cantidad de etanol obtenida. Para conocer el grado de alcohol a nivel de laboratorio se aplicó la (Ecuación 2) debido a la deficiente cantidad de etanol obtenida.

$$Densidad = \frac{m}{v \text{ (mL de etanol)}}$$

**Ecuación 2.** Obtención de la densidad del etanol

Según el autor Williamson (2018), para determinar el grado de alcohol, conociendo la densidad inicial y final se puede aplicar la (Ecuación 3).

$$°Alcohol = (\rho_i - \rho_o) * 131,25$$

**Ecuación 3.** % v/v o grados de alcohol

**Donde:**

$\rho_i$ = densidad inicial,  $\rho_o$ = densidad final, 131,25= factor constante para determinación de grados de alcohol

### **3.4.3.2 OBTENCIÓN DE ETANOL EN LA DESTILERÍA “RIVERA REVILLA FRAY ÁNGEL”**

Para la obtención de etanol que se lleva a cabo a nivel artesanal en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”, el primer paso consiste en el corte de caña de azúcar (*S. officinarum*) que posteriormente pasa al proceso de molienda en el cual se obtuvo jugo de caña y bagazo.

El jugo de caña es trasladado directamente a los biorreactores con un volumen de 500 L, en el cual se realizó el proceso de fermentación que dura aproximadamente 12 días, de los cuales 8 días son para la propagación de las levaduras propias del jugo de caña, Una vez terminada la etapa se procede a destilar dejando 200 L, para utilizar como levaduras madre.

Ya obtenido las levaduras madres se procede a moler continuamente haciendo que el tiempo de fermentación dure cuatro días. El jugo de caña se fermentó de manera natural ya que no se adiciona levaduras ni nutrientes, este proceso es realizado en presencia del oxígeno. El mosto pasa al proceso de destilación en el cual no se controla temperaturas.

## CAPÍTULO IV

### 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### *4.1 DIAGNÓSTICO DE LA DESTILERÍA “RIVERA REVILLA FRAY ÁNGEL”*

En la destilería para la obtención del etanol se aplican procesos de: a) fermentación y b) destilación. La primera operación es realizada mediante un sistema aerobio mismo que involucra un tiempo estimado de 12 días desde la producción de la levadura madre. La segunda operación es realizada por un tiempo de 4 h.

Mediante la lista de verificación que se aplicó en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel” (Ver Anexo 5), se diagnosticó que los equipos utilizados son adecuados para la producción de etanol, pero al no contar con modificaciones tecnológicas los rendimientos de etanol son bajos.

Dentro de las operaciones que realiza la destilería se encuentra el proceso de fermentación, donde se identificó que el recipiente fermentador no cuenta con una trampa de agua, es decir que se considera como una fase aerobia, tardando más tiempo la degradación de azúcares del jugo de caña. El autor (Vázquez y Dacosta, 2007) señala que, una fermentación en ausencia de oxígeno evita pérdidas de etanol y la formación de ácido acético. En la destilería no son inoculadas levaduras y nutrientes, es decir que el azúcar se convierte en etanol por la acción de las levaduras propias del jugo. Según el autor Vázquez y Dacosta (2007) mediante el uso de levaduras y algunos nutrientes como urea se logra fermentar en menor tiempo el jugo de caña. En cuanto a la destilación no se realiza un control de temperatura durante el proceso. Según los autores Herrera y col. (2011) mediante un control de temperaturas se puede obtener etanol con 70-80 °GL. Las operaciones que se llevan a cabo en la destilería son básicas, es decir que no existe un control minucioso en la fermentación y destilación. Todo el proceso conlleva un largo periodo tiempo debido a los factores mencionados.

En cuanto a calidad se verificó que la materia prima no es higienizada antes de ingresar al molino, según los autores Herrera y col. (2011). La caña de azúcar debe ser higienizada para eliminar impurezas. Además, °Brix no son controlados antes y después del proceso,

pero si existe un control de los grados alcohólicos, por medio de un equipo llamado alcoholímetro, la destilería actualmente al finalizar la producción obtiene 60 °GL.

La destilería no cuenta con un plan ambiental para evitar las contaminaciones que se ocasionan al producir etanol, también se identificó que los desechos que se producen no tienen ningún tipo de tratamiento ocasionando contaminación a la población. Según Montoya, Quintero, Sanchez, y Cardona (2006) para evitar la contaminación ocasionada por las vinazas estas se emplean como fertilizantes y regadío en los cultivos de caña de azúcar, otra medida para mitigar la contaminación de vinazas es la digestión anaerobia

En cuanto a la seguridad industrial la destilería no cuenta con protección personal para ningún proceso, tampoco cuenta con señalética que identifiquen riesgos químicos, físicos y microbiológicos que se presente durante la obtención de etanol. Según Paguay (2016) la seguridad del trabajador es lo más importante esto es aplicable a todas las actividades de trabajo.

Mediante el diagnóstico se determinó que, para mejorar la producción de etanol en rendimiento y grados de alcohol, se debe realizar modificaciones tecnológicas de equipamiento y operacionales en el proceso de fermentación y destilación, los mismos que se enfocan en la instalación de un sistema anaerobio en el recipiente fermentador y en control de temperaturas en ambas operaciones.

En la Figura 6 se muestra el proceso que se aplica para obtener etanol de manera tradicional en la destilería.



Figura 6. Proceso de obtención de etanol en la destilería "Riviera Revilla Fray Ángel"

**Fuente:** Elaborado por las autoras

## 4.2 MODIFICACIONES TECNOLÓGICAS EN LA DESTILERÍA “RIVERA REVILLA FRAY ÁNGEL”

Teniendo en cuenta las deficiencias que presenta la destilería, se realizaron las modificaciones tecnológicas en términos operacionales y de equipamiento.

En equipamiento los cambios realizados al recipiente fermentador fueron los siguientes: sellado hermético con una banda elástica, colocación de tubos de media pulgada con el objetivo de eliminar el CO<sub>2</sub> producido por las levaduras y colocación de una llave en el interior del recipiente para medir °Brix durante el proceso.

Las modificaciones operacionales fueron aplicadas al proceso de fermentación donde se inoculó levaduras nativas y urea, además se controló la temperatura y °Brix. Al proceso de destilación también se aplicó modificaciones basadas en controlar exclusivamente la temperatura. Dichas modificaciones se pueden observar en la Figura 7.



Figura 7. Proceso de obtención de etanol en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”, con las modificaciones tecnológicas operacionales y de equipamiento.

**Fuente:** Elaborado por las autoras

En la Figura 7 se muestran las etapas en las que fueron realizadas las modificaciones de los equipos, de igual manera se puede apreciar el parámetro a ser controlado en cada proceso.

#### 4.2.1 MODIFICACIONES DE EQUIPAMIENTO

El recipiente fermentador se selló herméticamente con una banda elástica, posteriormente se colocaron tubos plásticos de media pulgada, que van desde la superficie con las medidas: 30 cm, 60 cm y 80 cm, para la unión de los mismos se utilizaron codos de la misma medida, el objetivo fue que la fermentación sea anaerobia. Adicionalmente se instaló una llave en la parte inferior del recipiente para poder controlar los °Brix durante la operación, dichas modificaciones se pueden apreciar en la Figura 8. Se propone que el recipiente fermentador sea reemplazado por uno de acero inoxidable, debido a que el recipiente de plástico puede provocar que exista la presencia de otro tipo de microorganismos. Según la ARCSA (2017) señala que los equipos deben ser de este material para que el riesgo de adulteración sea mínimo, además para que la distribución de las áreas del recipiente permita la limpieza, mantenimiento y desinfección apropiada minimizando los riesgos de contaminación del producto garantizando la inocuidad del mismo.



Figura 8. Modificaciones del recipiente fermentador en la destilería.

**Fuente:** Elaborado por las autoras

## 4.2.2 MODIFICACIONES OPERACIONALES

En el proceso de fermentación fueron controlados los siguientes parámetros: temperatura en el rango de 26-29 °C y mínimo 4 °Brix. Para iniciar se colocó urea y levaduras nativas obtenidas de una siembra, cultivo y propagación. Los resultados de los parámetros controlados durante esta operación se pueden apreciar en la Tabla 7 y en el Anexo 6.

Tabla 7. Parámetros medidos en el proceso de fermentación

Tiempo (h)	Temperatura (°C)	°Brix
0	29	16
48	28	12
60	29	8
96	26	4

**Fuente:** Elaborado por las autoras

En la Tabla 8 y en el Anexo 7 se puede observar el comportamiento de la temperatura en el proceso de destilación. En los primeros 120 min ocurrió un proceso de calentamiento y la temperatura se elevó desde 29°C hasta 68°C. Posteriormente a este tiempo empezó el proceso de ebullición hasta que la temperatura se estabilizó entre 77 y 82°C. Este rango de temperatura es adecuado para las condiciones artesanales en que se produce el etanol.

Tabla 8. Parámetros controlados en el proceso de destilación.

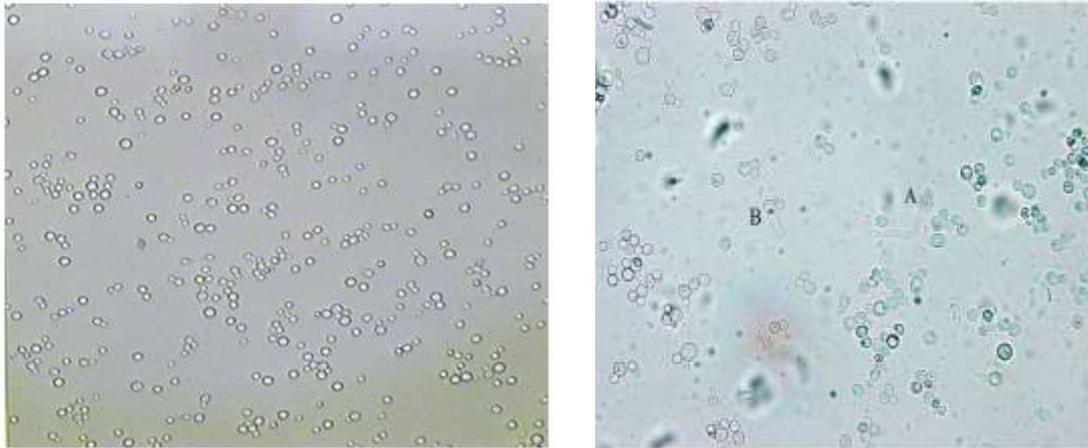
Tiempo (min)	Temperatura (°C)	°GL
0	29	-
48	42	-
60	54	-
120	68	-
180	77-82	70

**Fuente:** Elaborado por las autoras

## 4.3 VALIDACIÓN DE LAS MODIFICACIONES TECNOLÓGICAS

### AISLAMIENTO DE LEVADURAS

Para producir el inóculo se aplicó un aislamiento y conteo de acuerdo con la metodología planteada, con el propósito de obtener levaduras nativas para adicionarlas en el proceso de fermentación nivel de laboratorio y destilería. En la Figura 9 se aprecia las células de forma ovalada, esféricas y también alargadas, estas poseen un color blanco y se presume que puedan ser levaduras nativas propias del jugo de caña de la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”.



a)

b)

Figura 9. Morfología de las levaduras a) Levaduras nativas aisladas en el laboratorio b) Estructura propia de una levadura (Mendoza, 2005).

**Fuente:** (Mendoza, 2005)

En la figura a) se puede observar que la morfología de la célula que se obtuvo es esférica y de color blanco, es decir que es similar a la de una levadura. Estos resultados coinciden con lo descrito por el autor (Mendoza, 2005) sobre la estructura que poseen las levaduras.

### CUANTIFICACIÓN DE LAS LEVADURAS

Las cepas obtenidas fueron contadas mediante la cámara de Neubauer y un microscopio, una vez aplicada la (Ecuación 1) se obtuvo a las 24 h  $10 \times 10^7$  UFC y a las 48 h estas se incrementaron hasta  $14 \times 10^7$  UFC, los resultados se detallan en la Tabla 9. Este comportamiento coincide con lo publicado por el autor Mendoza (2005).

Tabla 9. Cuantificación de levaduras a las 24 y 48 horas

Tiempo (h)	Concentración de levaduras UFC
24	$10 \times 10^7$
48	$14 \times 10^7$

**Fuente:** Elaborado por las autoras

### 4.3.1 VALIDACIONES A NIVEL DE LABORATORIO

El contenido de alcohol de cada una de las fermentaciones realizadas se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10. Tratamientos realizados a escala de laboratorio.

N°	Tipo de experimento	Jugo de caña (mL)	Indicadores	Parámetros	Parámetros finales	
				iniciales	Cantidad	Unidad
				Cantidad		
1	Tradicional aerobio	100	°Brix	19	5	
			Vinazas	-	93,00	mL
			Etanol	-	7,00	mL
2	Tradicional anaerobio	100	°Brix	19	5	
			Vinazas	-	91,00	mL
			Etanol	-	8,60	mL
3	Urea aerobio	100	°Brix	19	5	
			Vinazas	-	90,00	mL
			Etanol	-	8,10	mL
4	Urea anaerobio	100	°Brix	19	5	
			Vinazas	-	83,00	mL
			Etanol	-	9,00	mL
5	Levaduras y urea aerobio	100	°Brix	19	6	
			Vinazas	-	86,10	mL
			Etanol	-	11,00	mL
6	Levaduras y urea anaerobio	100	°Brix	19	5	
			Vinazas	-	76,00	mL
			Etanol	-	18,00	mL

**Fuente:** Elaborado por las autoras

En la Tabla 10 se observa las cantidades de jugo de caña, °Brix, cantidad de vinazas y el volumen obtenido de etanol durante la destilación. También se puede observar que tratamiento es el idóneo para obtener un volumen alto de etanol que en este caso es el experimento 6 que corresponde a la fase anaerobia y a los siguientes indicadores: a) jugo de caña, b) levaduras nativas, c) urea.

### DETERMINACIÓN DE LOS GRADOS ALCOHÓLICOS

En la Tabla 11 se puede identificar que el experimento seis que se caracteriza por poseer, levaduras nativas y urea en fase anaerobia es la más elevada dando como resultado 73,04 °GL y una cantidad de 18 mL de etanol. Los resultados corroboran lo estipulado por el autor Herrera y col. (2011), sobre la cantidad de etanol y los grados alcohólicos que se obtienen al inocular levaduras y nutrientes en un sistema anaerobio. En la tabla también se puede notar que los experimentos que han sido realizados con ausencia de oxígeno, dieron mejores resultados en cuanto al rendimiento de etanol y °GL, en cuanto a la densidad inicial fue similar en todos los casos, mientras que la densidad final varía debido a las condiciones en las que se dio el proceso de fermentación.

Tabla 11. Determinación de los grados alcohólicos dependiendo de la densidad.

N° de experimento	Tipo de experimento	Densidad inicial (g/mL)	Densidad final		°GL
			Cálculo	Resultado (g/mL)	
1	Tradicional aerobio	1,0765	$d = \frac{5,42g}{7,00mL}$	0,77	40,23
2	Tradicional anaerobio	1,0765	$d = \frac{6,33g}{8,60mL}$	0,74	44,17
3	Urea aerobio	1,0765	$d = \frac{6,43g}{8,10mL}$	0,79	37,60
4	Urea anaerobio	1,0765	$d = \frac{6,12g}{9,00mL}$	0,68	52,04
5	Levadura y urea aerobio	1,0765	$d = \frac{8,20g}{11,00mL}$	0,75	42,85
6	Levadura y urea anaerobio	1,0765	$d = \frac{9,38g}{18,00mL}$	0,52	73,04

Fuente: Elaborado por las autoras

### 4.3.2 VALIDACIONES A NIVEL DE DESTILERÍA

En la Tabla 12 se observa que los °Brix antes y después de la fermentación varían, al igual que en la temperatura y tiempo de destilación, debido a que en el método tradicional aerobio corresponde a la forma en que produce la destilería en el cual no se controlaba la temperatura durante el destilado.

Tabla 12. Contenido de etanol y °GL de la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”

Tipo de experimento	°Brix en la fermentación		Urea (g)	Levaduras (g)	Tiempo		Cantidad de etanol (L)	°GL
	Antes	Después			Fermentación (días)	Destilación (h)		
Tradicional aerobio	-	-	-	-	12	4	80	60
Urea, levaduras anaerobio	16	4	75	10 000	4	3	90	70

Fuente: Elaborado por las autoras

Con las modificaciones tecnológicas del recipiente fermentador y con la implementación de urea como nutriente y levaduras nativas, la cantidad de etanol ha aumentado a 90 L y los grados de alcohol a 70°GL (Ver Anexo 8), estos datos concuerdan con lo descrito por el autor Vázquez y Dacosta (2007) y Herrera y col. (2011) en que se obtiene mayor contenido y °GL de etanol con la aplicación de las metodologías planteadas en los procesos de fermentación y destilación.

## CAPÍTULO V

### 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 CONCLUSIONES

1. Las modificaciones tecnológicas realizadas en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”, en términos de equipamiento y de operación permitieron obtener un incremento de 10 L de etanol con respecto al método tradicional, disminuyendo la variabilidad de la calidad del producto final y disminuyendo el grado de contaminación por el efecto de las vinazas vertidas.
2. Las causas fundamentales de los problemas ambientales, técnicos, de seguridad industrial y de variabilidad de la calidad son: el sistema aerobio de la fermentación, el tiempo en que dura este proceso, el control de °Brix y la temperatura durante la destilación.
3. Las modificaciones tecnológicas realizadas se clasificaron en dos tipos, tecnológicas y operacionales. En las tecnológicas se destaca el sellado hermético del fermentador con el fin de obtener una fermentación anaerobia. Y en las operacionales la inoculación de levaduras nativas con 10 g por cada L, adición de urea como nutriente 0,15 g por cada L, culminación del proceso de fermentación cuando alcanza 4 °Brix, y control de temperatura en el rango de 26-29 °C durante este proceso. La temperatura en la destilación se controla en el rango de 78-80°C.
4. Los resultados a nivel de laboratorio demostraron que la fermentación con inoculación de levaduras nativas, la adición de urea y en ausencia de oxígeno se obtuvo la mayor cantidad de etanol después de la destilación con un valor 18 mL de etanol con 73,04°GL. Mientras que a nivel de destilería de un mosto de 500 L se obtuvo 90 L de etanol y 70°GL valores superiores al resto de los experimentos realizados.

#### 5.2 RECOMENDACIONES

Se recomienda:

1. Que se sistematicen los resultados obtenidos en esta investigación al resto de los fermentadores de la destilería y a otras destilerías de la región.

2. Que se continúen con las investigaciones sobre modificaciones tecnológicas, en las destilerías para mejorar la producción de etanol.
3. Que se diseñe y construya un recipiente fermentador de acero inoxidable para que el proceso sea inocuo y de buena calidad.
4. Que se diseñe y construya una torre de rectificación para mejorar la calidad del etanol producción y se sientan las bases para producciones futuras de etanol anhidro.
5. Que se divulguen los resultados obtenidos en esta investigación con los productores de etanol para romper los dogmas que existen en la región.

## CAPÍTULO VI

### 6 BIBLIOGRAFÍA

- Instructivo externo condiciones higiénico sanitarias plantas procesadoras de alimentos, 2020 C.F.R. (2017).
- Argote, F. M., Cuervo, R. A., Osorio, E., Delgado-Ospina, J., y Villada, H. S. (2015). Evaluación de la producción de etanol a partir de melaza con cepas nativas *Saccharomyces Cerevisiae*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(2), 9. doi:10.18684/BSAA(13)40-48
- Arteaga, L., Carvajal, G., y Bolaños, O. (2013). Proceso de producción de etanol a partir de Melazas. *INMECNAR*, 8(Junio 2013), 1-8.
- Barbosa-Piló, F., Carvajal-Barriga, E. J., Guamán-Burneo, M. C., Portero-Barahona, P., Morato-Dias, A. M., Daher-de Freitas, L. F., . . . Rosa, C. A. (2018). *Saccharomyces cerevisiae* populations and other yeasts associated with indigenous beers (chicha) of Ecuador. *Biotechnology and Industrial Microbiology*, 49, 808-815. doi:<https://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2018.01.002>
- Bastidas, O. (2010). *Conteo Celular con Hematocitómetro. Uso Elemental del Hematocitómetro*: Celeromics.
- Cardona-E, C. S., y Restrepo-A, A. C. (2015). Herramientas de control- lista de Chequeo. Retrieved from [http://puntosdeencuentro.weebly.com/uploads/2/2/3/6/22361874/listas\\_de\\_chequeo.pdf](http://puntosdeencuentro.weebly.com/uploads/2/2/3/6/22361874/listas_de_chequeo.pdf)
- Cardona, A. C., Sánchez, O. J., Montoya, M. I., y Quintero, J. A. (2011). Simulación de los procesos de obtención de etanol a partir de caña de azúcar y maíz. *Scientia et Technica*, 28, 192.
- Castro, V. A. (2015). El mercado mundial de biocombustible. Retrieved from <http://www.bioeconomia.mincyt.gob.ar/wp-content/uploads/2014/12/4-El-mercado-mundial-de-los-biocombustibles-V%C3%ADctor-Castro.pdf>
- Cepeda-Quintana, S. M., y Jaramillo-Amador, D. R. (2009). *Evaluación a escala de laboratorio del proceso de obtención de bioetanol a partir de sorgo dulce*. Universidad Industrial de Santander, Retrieved from <http://tangara.uis.edu.co/biblioweb/tesis/2009/129372.pdf>
- Condalab. (2019). Agar Rosa de Bengala + Cloranfenicol. Retrieved from <https://www.condalab.com/int/es/medios-de-cultivo-deshidratados/116-5193-agar-rosa-de-bengala-cloranfenicol.html>
- Cristal. (2017). Destilación artesanal. Retrieved from <https://www.licorcrystal.com/destilacion-artesanal.php>
- Flores-Piñas, J. F. (2012). *Análisis Defactores De Riesgo Para La Disminución De Accidentes Laborales En La Fábrica Artesanal De Aguardiente “Puro Puyo” De La Ciudad De Puyo*. (Ingeniero Industrial en Procesos de Automatización), Universidad Técnica de Ambato, Retrieved from [http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/2837/1/Tesis\\_t753id.pdf](http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/2837/1/Tesis_t753id.pdf)
- GAD de Pastaza. (2015). *Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de la provincia de pastazaal año 2025*. Pastaza, Ecuador Retrieved from [http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL\\_SNI/data\\_sigad\\_plus/sigadplusdiagnostico/1660000170001-DIAGNOSTICO%20DEL%20PD%20Y%20POT%20DE%20LA%20PROVINCIA%20%20DE%20PASTAZA%20DEF%20-%202015%20MAYO\\_15-05-2015\\_14-18-30.pdf](http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdiagnostico/1660000170001-DIAGNOSTICO%20DEL%20PD%20Y%20POT%20DE%20LA%20PROVINCIA%20%20DE%20PASTAZA%20DEF%20-%202015%20MAYO_15-05-2015_14-18-30.pdf)

- García-Prado, R., Pérez-Martínez, A., Diéguez-Santana, K., Mesa-Garriga, L., González-Herrera, I., González-Cortés, M., y González-Suarez, E. (2015). Incorporación de otras materias primas como fuentes de azúcares fermentables en destilerías existentes de alcohol. *Revista de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Antioquia*, 75, 130-142. doi:10.17533
- Garduño-García, A., Martínez-Romero, S., López-Cruz, I. L., y Ruíz-García, A. (2014). Simulación del proceso de fermentación de cerveza artesanal. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, 15, 221-232.
- Gil, M. (2017). Agar Sabouraud: fundamento, preparación y usos. Retrieved from <https://www.lifeder.com/agar-sabouraud/>
- Gracida Rodríguez, J. N., y Pérez-Díaz, B. (2014). Factores previos involucrados en la producción de bioetanol, aspectos a considerar. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 30(2), 213-227.
- Guzmán-Beckmann, L., y Acevedo-Gamboa, H. R. (2013). *Estudio de factibilidad del uso de etanol anhidro en mezclas con gasolina en el distrito metropolitano de Quito*. (Magíster en procesos industriales), Universidad Central Del Ecuador, Quito. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2840/1/T-UC-0011-25.pdf>
- Herbert, G. (2010). Destilados de Caña de Azúcar Ron. In S. A. Acribia (Ed.), *Elaboración artesanal de licores* (pp. 117).
- Herrera, V. J. P., Padilla, G. V., Cárdenas, R. M., Carrero, C., Y., y Alayón, M. M. (2011). Mejora del proceso de destilación artesanal para la producción de etanol.
- Hidalgo, Y., Hata, B., y Palmab, J. C. (2016). Influencia del nivel de fermentación del vino base sobre algunos compuestos volátiles del pisco peruano de uva italia. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 82, 1-14.
- INEC. (2016). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua. Retrieved from [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac-2016/Presentacion%20ESPAC%202016.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2016/Presentacion%20ESPAC%202016.pdf)
- INEC. (2018). Superficie y producción según región y provincia. Retrieved from <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/institucional/home/>
- Jara-Morante, E., Collado-Dominguez, E., De la Cruz-Azabache, M., y Vivas-Cuellar, M. (2017). Simulación dinámica de una columna de destilación de bioetanol en régimen btach. *Tecnia*, 21(1), 1-7. doi:<https://doi.org/10.21754/tecnia.v21i1.95>
- López-Leva, R. (2018). Biotecnología. Retrieved from <http://recursostic.educacion.es/ciencias/biosfera/web/alumno/2bachillerato/biote/c/contenidos8.htm>
- López-Santander, M. B. (2018). *Diseño del proceso industrial para la obtención de alcohol a partir de eugenia stipitata*. Escuela superior politécnica de chimborazo, Retrieved from <http://dspace.espacech.edu.ec/bitstream/123456789/8658/1/96T00460.pdf>
- Mendoza, M. (2005). Importancia de la identificación de levaduras. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25.
- Merit-Alvarez, Y. (2015). Fermentaciones. Retrieved from <http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/acym/Fermentaciones.pdf>
- Montoya-Mistretta, A. (2012). *Diseño de una columna de destilación para recuperación de una sustancia termosensible*. Pontificia Universidad Católica de Valparaiso, Retrieved from [http://opac.pucv.cl/pucv\\_txt/txt-3000/UCF3374\\_01.pdf](http://opac.pucv.cl/pucv_txt/txt-3000/UCF3374_01.pdf)
- Montoya, M. I., Quintero, J. A., Sanchez, O. J., y Cardona, C. A. (2006). Evaluación del impacto ambiental del proceso de obtención de alcohol carburante utilizando el

- algoritmo de reducción de residuos. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, 85-95.
- Moyano, D. (2013). El alcohol de melaza. Análisis sobre el desarrollo y consolidación de una actividad 'derivada' de la agroindustria azucarera tucumana (1880-1910). *Revista de historia de la industria, los servicios y las empresas en América Latina*, 7, 35.
- Mulet-Hing, M. (2013). Automatización de la destilación de alcohol de la UEB destilería de la ronera Santiago de Cuba. *Tecnología Química*, 33.
- Murillo, J. M. (2017). Las bebidas artesanales se producen sin metanol
- El Telégrafo*. <https://www.letelegrafo.com.ec/noticias/sociedad/6/las-bebidas-artesanales-se-producen-sin-metanol>
- Núñez-Yapias, E. G. (2013). *Biorreactores*. (Maestría en didáctica y gestión educativa), Universidad Nacional del Centro del Perú, Tarma. Retrieved from [https://es.slideshare.net/ki\\_kenu\\_77/biorreactores-ultimo](https://es.slideshare.net/ki_kenu_77/biorreactores-ultimo)
- Otero-Rambla, M. A., García, R., Pérez, M. C., Martínez, J. A., Vasallo, M. C., Saura, G., y Bello, D. (2009). Producción de bioetanol a partir de mezclas de jugos-melazas de caña de azúcar. *ICIDCA*, 43, 17-22.
- Paguay, M. V. (2016). *Prevención de Riesgos Laborales en la Producción de Alcohol Destilado de la Caña de Azúcar en Ecuador*. Universidad Politécnica de Valencia, Retrieved from <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/76848/PAGUAY%20-%20EVALUACI%C3%93N%20DE%20RIESGOS%20LABORALES%20EN%20LA%20%20PRODUCCI%C3%93N%20DE%20ALCOHOL%20DESTILADO%20DE%20LA%20CA%C3%91A%20DE%20AZ%C3%91A....pdf?sequence=3>
- Portal, C. (2017). Producción de etanol en Estados Unidos. Retrieved from <https://www.portalcania.com.ar/category/tucuman/>
- Rodríguez, P., R., De Armas, M., A. C., Rodríguez, C., L. A., y García, O., Y. (2015). EVALUACIÓN PROSPECTIVA PARA TRANSFORMAR UNAFÁBRICA DE AZÚCAR EN BIOREFINERÍA. *Revista Centro Azúcar*, 42.
- Rosero-Delgado, E. A., y Dustet-Mendoza, J. C. (2017). Cinética de la fermentación en estado sólido de cascarilla de arroz y bagazo de caña con *Auricularia*. *ICIDCA*, 51, 28-38.
- Saragosín-Lozada, M. L. (2016). *Incremento en la producción de etanol proveniente de la caña de azúcar. Fundamentos para disminuir la contaminación*. (Magíster en economía con mención en finanzas y proyectos corporativos), Universidad de Guayaquil facultad de ciencias económicas maestría en economía con mención en finanzas y proyectos corporativos, Guayaquil. Retrieved from <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/12050/1/ESTUDIO%20DE%20CASO%20INCREMENTO%20DE%20LA%20PRODUCCION%20DE%20ETANOL.pdf>
- Suárez-Machín, C., Garrido-Carralero, N. A., y Guevara-Rodríguez, C. A. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 50, 20-28.
- Téllez-Mora, P., Peraza-Luna, F. A., Feria-Velasco, A., Andrade-González, I., y (2012). Optimización del proceso de fermentación para la producción de tequila, utilizando la metodología de superficie de respuesta. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11, 163-176.

- Universidad de Granada. (2016). Rectificación de mezclas binarias en columnas de platos. Retrieved from <http://fciencias.ugr.es/practicadocentes/wp-content/uploads/guiones/RectificacionMezclasBinarias.pdf>
- Valdivieso-Ugarte, M. (2016). Obtención y caracterización de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* superproductoras de glutatión. *Editorial de la Universidad de Granada*.
- Vázquez, H. J., y Dacosta, O. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *Ingeniería, Investigación y Tecnología*, 8, 249-259.
- Venegas-Venegas, E. A. (2018). *Diseño de una planta de destilación para la obtención de etanol anhidro*. (Ingeniera Química), Escuela Politécnica Nacional, Retrieved from <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/19165/1/CD-8546.pdf>
- Willey, J. M., Sherwood, L. M., y Woolverton, C. J. (2009). *Harley and Klein's Microbiology* (Vol. 7): McGraw-Hill.
- Williamson, K. (2018). Curso de hidromieles y vinos caseros. In (pp. 91).
- Xinhua, N. (2019). Producción de etanol crece 23,3% en Brasil en ciclo 2018-2019. Retrieved from [http://spanish.xinhuanet.com/2019-04/24/c\\_138002636.htm](http://spanish.xinhuanet.com/2019-04/24/c_138002636.htm)

# CAPITULO VII

## 7 ANEXOS

### Anexo 1. Siembra aislamiento y propagación de la levadura nativa



### Anexo 2. Cámara de Neubauer para recuento de levaduras



### Anexo 3. Experimentos a nivel de laboratorio, fase aerobia y anaerobia



#### Anexo 4. Destilación a nivel de laboratorio



#### Anexo 5. Lista de verificación aplicada en la destilería “Rivera Revilla Fray Ángel”

N°.	INDICADOR	CUMPLE		OBSERVACIONES
		SI	NO	
<b>Producción- equipamiento</b>				
1	¿En la destilería la producción de etanol se realiza mediante un sistema continuo?		<b>X</b>	
2	¿El recipiente en el que se realiza el proceso de fermentación cuenta con una trampa de agua?		<b>X</b>	
3	¿La torre de destilación cuenta con algún equipo para controlar la temperatura durante en proceso?		<b>X</b>	
4	¿Es controlada la cantidad de calor que se suministra a la torre de destilación?		<b>X</b>	
5	¿Los equipos con los que cuenta la destilería cumplen con los requisitos básicos para la producción de etanol?	<b>X</b>		
<b>Producción- operacionales</b>				
6	¿El proceso de fermentación en la destilería es aerobio?	<b>X</b>		
7	¿Se controlan los parámetros operacionales en el proceso de fermentación?		<b>X</b>	
8	¿Se inoculan levaduras frescas en el proceso de fermentación?		<b>X</b>	
9	¿Se utilizan nutrientes en la preparación del jugo de caña que se va a fermentar?		<b>X</b>	
10	¿Se conocen los parámetros de control del proceso de destilación del etanol?		<b>X</b>	
11	¿Son controlados los tiempos en el proceso de obtención de etanol?		<b>X</b>	
<b>Calidad-Producto</b>				
12	¿En la destilería el etanol producido es mayor o igual a 70 GL?		<b>X</b>	

13	¿Se conoce el contenido de etanol al finalizar la fermentación?	<b>X</b>		
14	¿Es controlado los grados Brix antes y durante el proceso de obtención de etanol?		<b>X</b>	
15	¿Los envases del producto se encuentran identificados con fecha de caducidad?	<b>X</b>		
16	¿La materia prima es higienizada antes de ingresar al proceso de producción de etanol?		<b>X</b>	
<b>Ambiente</b>				
17	¿La destilería se encuentra en un lugar que no cause contaminación a la población?		<b>X</b>	
18	¿Los desechos que se produce en la destilería son tratados adecuadamente?		<b>X</b>	
19	¿Durante la producción de etanol la destilería produce desechos químicos?	<b>X</b>		
20	¿La infraestructura de la planta de producción se encuentra distribuida de tal forma que no afecte a la población?		<b>X</b>	
21	¿La destilería cuenta con un plan ambiental para evitar posibles contaminaciones al medio ambiente?		<b>X</b>	
<b>Seguridad Industrial</b>				
22	¿En la realización de las tareas se colocan las herramientas y materiales fuera de las zonas de paso o sin riesgo de caerse?	<b>X</b>		
23	¿Los trabajadores utilizan mascarillas durante el proceso de destilación para evitar ingerir el CO <sub>2</sub> ?		<b>X</b>	
24	¿En la destilería se cuenta con señalética para eventos de emergencia?		<b>X</b>	
25	¿En la destilería existe señalética que identifique los riesgos físicos, químicos y biológicos?		<b>X</b>	
26	¿Se cuenta con algún registro de actividades que realicen el personal de la destilería?		<b>X</b>	

**Anexo 6.** Inoculación de levadura nativa y de urea como fuerte de nutriente al jugo de caña.



**Anexo 7.** Control de temperatura en el proceso de destilación por medio de un termómetro infrarrojo a nivel de destilería.



**Anexo 8.** Medición del °GL

