



**Evaluación de las condiciones óptimas de fermentación con adición de levaduras comerciales para la obtención de etanol del efluente de la extractora agrícola Río Manso S. A.**

Recalde Villalba, Stefany Nicole

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

Vargas Verdesoto, Rafael Eduardo M. SC.

21 de agosto de 2023

## Copyleaks\_Recalde\_Stefy Trabajo\_Tit...

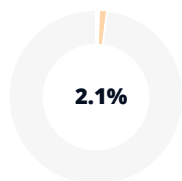
### Scan details

Scan time:  
August 22th, 2023 at 14:31 UTC

Total Pages:  
55

Total Words:  
13558

### Plagiarism Detection



| Types of plagiarism |      | Words |
|---------------------|------|-------|
| Identical           | 0.3% | 37    |
| Minor Changes       | 0.3% | 42    |
| Paraphrased         | 1.5% | 200   |
| Omitted Words       | 0%   | 0     |

### AI Content Detection



Text coverage  
● AI text  
○ Human text

### Alerts: (1)

#### Cross Language: Same Document Language

Submitted language and cross-language text are the same language. No credits were used.

#### 2/5 Severity



### Plagiarism Results: (18)

#### 6214235.pdf

0.8%

<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6214235.pdf>

DOMINIOS DE LAS CIENCIAS

Dom. Cien., ISSN: 2477-8818 Vol. 3, núm. 4, octubre, 2017, pp. 459-469

Generación de efluentes en el proceso de extracción de aceite cru...

#### 268

0.5%

<https://revistas.uamerica.edu.co/index.php/rinv/article/down...>

Helver

QUANTIFICATION OF SUBSTRATE REDUCING SUGARS IN PINEAPPLE RESIDUES USING THE 3,5DINITROSALICYLIC ACID METHOD Lady Johanna Burgos...



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

### Certificación

Certifico que el trabajo de titulación: **“Evaluación de las condiciones óptimas de fermentación con adición de levaduras comerciales para la obtención de etanol del efluente de la extractora agrícola Río Manso S. A.”** fue realizado por la señorita **Recalde Villalba Stefany Nicole**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 21 de agosto de 2023



Firmado electrónicamente por:  
RAFAEL EDUARDO  
VARGAS VERDESOTO

.....  
Rafael Eduardo Vargas Verdesoto M.SC.

C.C.:1708200538



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

**Responsabilidad de Autoría**

Yo, **Recalde Villalba Stefany Nicole**, con cédula de ciudadanía n°**1003756929**, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **"Evaluación de las condiciones óptimas de fermentación con adición de levaduras comerciales para la obtención de etanol del efluente de la extractora agrícola Río Manso S.A."** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 21 de agosto de 2023

Recalde Villalba Stefany Nicole

C.I.: 1003756929



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

### Autorización de Publicación

Yo, **Recalde Villalba Stefany Nicole**, con cédula de ciudadanía N° **1003756929**, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **"Evaluación de las condiciones óptimas de fermentación con adición de levaduras comerciales para la obtención de etanol del efluente de la extractora agrícola Río Manso S. A."** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 21 de agosto de 2023

---

Recalde Villalba Stefany Nicole

C. C.: 1003756929

### **Dedicatoria**

Con un profundo sentimiento de gratitud, dedico este logro en primer lugar a Dios, cuya guía constante y fortaleza innegable me han sostenido a lo largo de esta travesía académica.

A mi querida familia, a mis padres, Rodolfo y María Esther, y a mis queridos hermanos, Vanessa, Daniel y Francisco, les dedico este logro con amor y agradecimiento sincero. El apoyo constante que me han brindado y los sacrificios que han realizado han sido los pilares sobre los cuales he construido mi camino.

Esta tesis es un reflejo de los valores y el amor que cada uno de ustedes ha compartido conmigo.

Espero que este logro también represente el esfuerzo y la dedicación que han invertido en mí.

*Stefany Nicole Recalde Villalba*

## Agradecimientos

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a dos personas invaluable en mi vida, mis padres, Rodolfo y María Esther. Su incansable apoyo y aliento incondicional me han guiado a lo largo de este arduo camino académico. Sin su amor y dedicación, este logro no habría sido posible.

A mis hermanos, Francisco, Daniel, Vanessa y Santiago, les debo mi gratitud por ser mi fuente constante de inspiración y fortaleza. Sus consejos y ejemplo me han alentado a seguir adelante.

A Leo, mi compañero en los últimos tramos de mi carrera, agradezco profundamente tu amor, comprensión y paciencia. Tu presencia ha sido un faro de esperanza y calma en momentos de desafío.

A mis queridos tíos, Alejandro y Liz, quienes me brindaron su hogar y me abrieron sus puertas, les agradezco de corazón. Fueron un pilar fundamental que me permitió alcanzar mis metas.

A Alejandra y Stephy, mis primeras amigas, quiero agradecerles por llenar mis días de risas y alegría. Su amistad ha sido un consuelo para el alma y un respiro en medio de la intensidad académica.

A mis compañeros de los últimos semestres, especialmente a Gaby, que se convirtió en un apoyo moral y académico crucial. A pesar de conocernos poco, su amistad fue un regalo inesperado el cual valoro.

A ti, Roberto, mi compañero de varios semestres, gracias por ser mi aliado y brindarme tu sincera amistad. Juntos formamos un buen equipo, apoyándonos mutuamente cuando lo necesitábamos.

Y finalmente, mi agradecimiento especial al ingeniero Rafael Vargas, quien guió este proyecto como mi tutor.

Cada uno de ustedes ha dejado una huella imborrable en mi corazón y ha contribuido en gran medida a mi éxito. Este logro no es solo mío, sino de todos aquellos que, de alguna manera, me han apoyado en este viaje. Gracias por ser parte de mi historia y por hacer este momento tan significativo en mi vida.

*Stefany Nicole Recalde Villalba*



## Contenidos

|  |    |
|--|----|
| Resumen .....  | 15 |
| Abstract.....  | 16 |
| Capítulo I: Introducción.....  | 17 |
| Antecedentes .....   | 17 |
| Justificación.....   | 19 |
| Objetivos de la investigación.....                                       | 22 |
| Objetivo general.....  | 22 |
| Objetivos específicos.....   | 22 |
| Hipótesis .....  | 22 |
| Capítulo II: Revisión Bibliográfica .....                                | 23 |
| Palma Africana ( <i>Elaeis guineensis</i> ).....                         | 23 |
| Taxonomía y morfología de la palma africana .....                        | 23 |
| Palma Africana en la Industria Aceitera .....                            | 25 |
| Proceso de extracción de aceite de palma .....                           | 26 |
| Recepción del fruto .....  | 26 |
| Esterilización .....   | 27 |
| Desfrutado .....   | 27 |
| Digestión y Prensado.....  | 27 |
| Clarificación.....   | 29 |
| Almacenamiento .....   | 30 |
| Generación de efluente del proceso de extracción de aceite de palma..... | 30 |
| Composición y características .....                                      | 32 |
| Impacto ambiental .....  | 33 |
| Tratamiento y valorización del efluente.....                             | 34 |
| Métodos convencionales para el tratamiento .....                         | 34 |

|  |    |
|--|----|
| Valorización y aprovechamiento del efluente..... | 36 |
| Bioetanol.....                                   | 37 |
| Obtención de etanol de segunda generación .....  | 37 |
| Destilación:.....                                | 41 |
| Capítulo III: Metodología .....                  | 41 |
| Responsable del Proyecto.....                    | 41 |
| Periodo de investigación .....                   | 42 |
| Localización geográfica .....                    | 42 |
| Muestreo.....                                    | 42 |
| Caracterización.....                             | 43 |
| Determinación de acidez (pH) y temperatura.....  | 43 |
| Determinación de grados Brix.....                | 44 |
| Cuantificación de azúcares reductores .....      | 44 |
| Preparación de reactivo DNS .....                | 44 |
| Diseño de curva de calibración .....             | 45 |
| Preparación de la muestra .....                  | 46 |
| Fermentación .....                               | 46 |
| Activación de levaduras .....                    | 46 |
| Control de fermentación.....                     | 47 |
| Análisis estadístico .....                       | 48 |
| Unidad experimental.....                         | 48 |
| Factores de estudio .....                        | 48 |
| Tratamientos .....                               | 49 |
| Esquema de análisis de varianza .....            | 49 |
| Obtención de etanol .....                        | 50 |
| Destilación simple .....                         | 50 |

|   |    |
|---|----|
|   | 11 |
| Cuantificación de grado alcohólico .....  | 51 |
| Capítulo IV: Resultados .....   | 51 |
| Caracterización fisicoquímica del efluente .....  | 51 |
| Curva de calibración de glucosa .....   | 52 |
| Resultados de análisis fisicoquímicos .....   | 52 |
| Fermentación .....  | 53 |
| Resultado de cuantificación de azúcares reductores .....  | 53 |
| Resultado de determinación de grados Brix .....   | 55 |
| Resultado de consumo de azúcares reductores .....   | 56 |
| Resultado de consumo de grados Brix.....  | 58 |
| Resultados de análisis de varianzas para consumo de glucosa y grados Brix .....                       | 59 |
| Resultados de prueba Tukey para consumo de glucosa y grados Brix.....                                 | 60 |
| Resultado de consumo de glucosa y grados Brix para tratamiento óptimo y control .....                 | 63 |
| Resultado de análisis de varianza para glucosa y grados Brix entre tratamiento óptimo y control ..... | 64 |
| Destilación.....  | 64 |
| Capítulo V: Discusión.....  | 65 |
| Capítulo VI: Conclusiones.....  | 70 |
| Capítulo VII: Recomendaciones .....   | 71 |
| Capítulo VIII Bibliografía.....   | 72 |

### Índice de tablas

|                 |  |    |
|-----------------|--|----|
| <b>Tabla 1</b>  | Clasificación taxonómica de la palma africana. ....  | 23 |
| <b>Tabla 2</b>  | Características químicas del efluente de extracción de aceite de palma. ....                     | 33 |
| <b>Tabla 3</b>  | Metodología para elaborar la curva patrón de glucosa.....  | 45 |
| <b>Tabla 4</b>  | Factores de estudio y parámetros de evaluación. ....   | 48 |
| <b>Tabla 5</b>  | Diseño factorial 3x2 para la cuantificación de grados Brix y azúcares reductores del efluente... | 49 |
| <b>Tabla 6</b>  | Esquema de ANOVA de dos factores para el diseño experimental factorial 3x2. ....                 | 49 |
| <b>Tabla 7</b>  | Esquema de ANOVA de un solo factor para tratamiento optimo y control.....                        | 50 |
| <b>Tabla 8</b>  | Media descriptiva de los parámetros de caracterización fisicoquímica del efluente.....           | 52 |
| <b>Tabla 9</b>  | Descripción de levaduras utilizadas en estudio.....  | 53 |
| <b>Tabla 10</b> | Media descriptiva de la concentración de glucosa a lo largo del tiempo de fermentación. ....     | 54 |
| <b>Tabla 11</b> | Media descriptiva de grados Brix a lo largo del tiempo de fermentación.....                      | 55 |
| <b>Tabla 12</b> | Media descriptiva del consumo de glucosa a los 18 días de fermentación. ....                     | 57 |
| <b>Tabla 13</b> | Media descriptiva del consumo de grados Brix a los 12 días de fermentación.....                  | 58 |
| <b>Tabla 14</b> | Consumo de glucosa y grados Brix de tratamiento control y A15.....                               | 64 |

## Índice de Figuras

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Figura 1</b>  | Morfología general de la palma africana. ....  | 24 |
| <b>Figura 2</b>  | Diagrama general del proceso y destino de efluentes de la extracción de aceite de palma. ....                                      | 30 |
| <b>Figura 3</b>  | Conversión de azúcares reductores mediante DNS. ....   | 40 |
| <b>Figura 4</b>  | Ubicación geográfica de la planta Extractora Agrícola Río Manso. ....  | 42 |
| <b>Figura 5</b>  | Tanque florentino de la Extractora Agrícola Río Manso. ....  | 43 |
| <b>Figura 6</b>  | Curva patrón de glucosa para la determinación de azúcares reductores. ....   | 52 |
| <b>Figura 7</b>  | Variación de azúcares reductores en el efluente a lo largo del tiempo de fermentación. ....  | 55 |
| <b>Figura 8</b>  | Variación de grados Brix en el efluente a lo largo del tiempo de fermentación. ....  | 56 |
| <b>Figura 9</b>  | Consumo de glucosa a los 18 días de fermentación del efluente. ....  | 57 |
| <b>Figura 10</b> | Consumo de grados Brix a los 12 días de fermentación del efluente. ....  | 59 |
| <b>Figura 11</b> | ANOVA de dos factores para, de izquierda a derecha, (A) Consumo de azúcares reductores (glucosa), (B) Consumo de grados Brix. .... | 60 |
| <b>Figura 12</b> | Prueba Tukey para marca de levadura respecto al consumo de azúcares reductores. ....   | 61 |
| <b>Figura 13</b> | Prueba Tukey para concentración de levadura respecto al consumo de azúcares reductores. ....                                       | 61 |
| <b>Figura 14</b> | Prueba Tukey para interacción de marca y concentración de levadura respecto al consumo de azúcares reductores. ....                | 61 |
| <b>Figura 15</b> | Prueba Tukey para marca de levadura respecto al consumo de grados Brix. ....   | 62 |
| <b>Figura 16</b> | Prueba Tukey para concentración de levadura respecto al consumo de grados Brix. ....   | 62 |
| <b>Figura 17</b> | Prueba Tukey para interacción de marca y concentración de levadura respecto al consumo de grados Brix. ....                        | 63 |

### Índice de abreviaturas

- **POME** efluente de fabricación de aceite de palma
- **EFB** Racimos de fruta vacíos
- **RFF** Racimos de fruta fresca
- **OPMF** Fibra de mesocarpio de palma de Aceite
- **L** litro
- **mL** mililitro
- **nm** nanómetros
- **g** gramos

## Resumen

El POME, por sus siglas en inglés "Palm Oil Mill Effluent" (Efluente de Molinos de Aceite de Palma), es un subproducto líquido resultante del proceso de extracción de aceite de palma. Su composición incluye aceites y grasas residuales, materia orgánica, compuestos fenólicos, sólidos suspendidos, nutrientes como nitrógeno y fósforo, y también puede contener trazas de productos químicos utilizados en el proceso de extracción. Debido a su carga contaminante y composición compleja, el tratamiento adecuado del POME es esencial para mitigar su impacto ambiental. El presente estudio tiene como objetivo evaluar las condiciones óptimas de fermentación del efluente de la extractora agrícola Río Manso S.A., con el fin de analizar la posibilidad de obtener etanol de manera eficiente y rentable. El efluente presenta las siguientes características físico químicas, pH 5,9, una temperatura de 72, 3°C, también cuenta con 13,78 g/L de azúcares reductores y 5,9 °Brix. Para realizar la fermentación alcohólica del efluente se añadió tres tipos de levaduras comerciales (*Sacharomyces cerevisae*) utilizando concentraciones de 15 g/L y 35 g/L de levaduras. El efluente presentó una fermentación a los 18 días en los cuales hubo un consumo de 13,73 g/L de efluente y 2°Brix, utilizando la levadura comercial FERMIPAN a 15 g/L de concentración, a diferencia del tratamiento control que tuvo un consumo de azúcares reductores de 8,8 g/L y 0,5 °Brix, luego se realizó la destilación del tratamiento optimo obteniéndose 20 ml al cabo de 96 horas, al analizar el grado alcohólico del destilado mediante cromatografía de gases se pudo obtener un 5,64 %v/v de etanol. Estos resultados nos dan la pauta de que el efluente si puede ser fermentado para la conversión de bioetanol siendo un comienzo para futuros analices en los que se puede valorizar estos efluentes.

*Palabras claves:* POME, Etanol, Impacto ambiental, levaduras.

### **Abstract**

POME, for its acronym in English "Palm Oil Mill Effluent", is a liquid by-product resulting from the palm oil extraction process. Its composition includes residual oils and fats, organic matter, phenolic compounds, suspended solids, nutrients such as nitrogen and phosphorus, and may also contain traces of chemicals used in the extraction process. Due to its pollutant load and complex composition, proper treatment of POME is essential to mitigate its environmental impact. The objective of this study is to evaluate the optimal fermentation conditions of the effluent from the Río Manso S.A. agricultural extractor, in order to analyze the possibility of obtaining ethanol efficiently and profitably. The effluent presents the following physical-chemical characteristics: pH 5.9, a temperature of 72.3°C, it also has 13.78 g/L of reducing sugars and 5.9 °Brix. To carry out the alcoholic fermentation of the effluent, three types of commercial yeasts (*Sacharomyces cerevisiae*) were used using concentrations of 15 g/L and 35 g/L of yeasts. The effluent presented a fermentation at 18 days, in which there was a consumption of 13.73 g/L of effluent and 2°Brix, using the commercial yeast FERMIPAN at a concentration of 15 g/L, unlike the control treatment that had a consumption of reducing sugars of 8.8 g/L and 0.5 °Brix, then the distillation of the optimal treatment was carried out obtaining 20 ml after 96 hours, when analyzing the alcoholic degree of the distillate by means of gas chromatography it was possible to obtain a 5.64% v/v ethanol. These results give us the guideline that the effluent can be fermented for the conversion of bioethanol, being a start for future analyzes in which these effluents can be valued.

*Keywords:* POME, Ethanol, Environmental impact, yeasts.



## Capítulo I: Introducción

### Antecedentes

El uso del etanol como biocombustible tuvo sus inicios en la década de 1970, debido a la crisis energética y la escasez de combustibles fósiles. Esto dio paso a investigar las posibilidades de utilizar fuentes de energía renovable como alternativa. Inicialmente, el etanol se obtenía principalmente a partir de cultivos como la caña de azúcar y el maíz (Bothast & Schlicher, 2005). A medida que avanzaba la década de 1980, las investigaciones en el campo continuaron y el uso del etanol como biocombustible siguió en aumento. Sin embargo, en la década de 1990, la disponibilidad y el bajo costo de los combustibles fósiles hicieron que el proceso de obtención de etanol a partir de cultivos destinados al consumo alimentario dejara de ser rentable (Abebe, 2008). Esto resultó en una disminución en la producción de etanol. A pesar de esto, en las últimas décadas ha habido un renovado interés en la obtención de etanol a partir de residuos agroindustriales (D. Muñoz *et al.*, 2014). Esta nueva perspectiva busca reducir el impacto ambiental y disminuir la dependencia de los combustibles fósiles.

En América Latina, países como Brasil han implementado el uso del etanol como biocombustible desde hace más de 25 años (Procaña, 2022). Por otro lado, en Ecuador, la producción de etanol comenzó recientemente en la última década (Macias *et al.*, 2022). El desarrollo de la producción de etanol a partir de residuos agroindustriales ha ganado impulso debido al abundante volumen de desechos que genera la industria del banano, la caña de azúcar, el cacao y, especialmente, la extracción de aceite de palma (Ramí, 2013). Un ejemplo destacado de esta tendencia es la Sociedad Agrícola e Industrial San Carlos, uno de los principales ingenios azucareros en Ecuador, que ha fundado SODERAL Sociedad de Destilación de Alcoholes S.A. Esta empresa se dedica a la producción de bioetanol al 96% y tiene una capacidad de producción de 30.000 litros por día, utilizando como materia prima la melaza, un subproducto de la producción de azúcar (Sociedad Agrícola e Industrial San Carlos S.A., 2019).

La palma africana (*Elaeis guineensis*) o conocida como palma aceitera, es un cultivo perenne que se originó en la selva tropical de África Occidental. En el siglo XVI, se expandió a América del Sur (Wakil *et al.*, 2013). En Ecuador, la introducción de la palma africana ocurrió en 1950 con el objetivo de reducir las importaciones de aceite. Las primeras plantaciones de palma, se establecieron en el oeste del país, específicamente en Santo Domingo, La Concordia, Quinindé y Quevedo (Potter, 2010).

Para 1958, se construyó la primera planta extractora de aceite de palma llamada "Indaca", marcando el inicio del crecimiento de la industria palmicultora en el país, impulsada por la alta demanda de sus productos (ANCUPA, 2020). Un ejemplo destacado en esta industria es la Extractora Río Manso S.A., perteneciente al Grupo La Fabril, una empresa con una trayectoria legal desde 1977 que se especializa en la producción y comercialización de aceite rojo de palma africana. Este aceite es ampliamente utilizado como materia prima en la fabricación de diversos productos, como detergentes y jabones (Riquelme, 2019).

Sin embargo, el crecimiento de la industria aceitera también ha llevado a la generación de toneladas de desechos líquidos que son descartados en los cuerpos de agua, constituyendo un foco de contaminación que podrían alterar los sistemas acuáticos (Bonomie & Reyes, 2012). Esta situación plantea un desafío constante para encontrar alternativas que permitan proporcionar valor agregado a estos residuos y minimizar el impacto ambiental (Arellano, 2017).

A lo largo de los años, se han desarrollado múltiples estudios que muestran técnicas para reutilizar los efluentes provenientes de la extracción de aceite, entre las más frecuentes en Ecuador se encuentra la producción de Biogás mediante biorreactores, con el fin de generar electricidad (Garzón *et al.*, 2015; Rodríguez, 2021b; Tigse, 2015), la desventaja de esta aplicación es el coste de las instalaciones (Pazmiño, 2016). Otra aplicación es el uso de los efluentes crudos en el suelo de manera dosificada, como reemplazo de los fertilizantes inorgánicos, lamentablemente para que esta técnica sea viable se

debe utilizar en plantaciones aledañas a la extractora (Anaya & Molina, 2018; Malacatus *et al.*, 2019; Soria, 2019; D. Zambrano, 2011).

Existen estudios adicionales que presentan aplicaciones innovadoras que aún no se han implementado en el país. Por ejemplo, la investigación realizada por Al-Dhabi *et al.* (2020) revela que el efluente de la industria palmicultora contiene nutrientes que pueden ser utilizados por bacterias para la producción de polisacáridos extracelulares, los cuales tienen diversas aplicaciones en la industria.

Como se mencionó anteriormente, el interés en encontrar fuentes alternativas de combustible ha llevado al aumento de la popularidad del etanol como opción sostenible y renovable (Procaña, 2022). En este contexto, se han realizado diversos experimentos utilizando los efluentes del proceso de extracción de aceite de palma con el propósito de obtener etanol a través de la bioconversión. Estos efluentes se caracterizan por su alto contenido de carbohidratos (29,55%), proteínas (12,75%), compuestos nitrogenados, celulosa y minerales no tóxicos, lo cual los convierte en una fuente rica y adecuada para la fermentación (M. Z. Alam *et al.*, 2009; Wakil *et al.*, 2013). Mediante la aplicación de técnicas de fermentación apropiadas, se ha logrado convertir exitosamente estos efluentes en etanol, demostrando así su potencial como una valiosa fuente de energía renovable (Llenque *et al.*, 2020).

### **Justificación**

La necesidad de encontrar soluciones más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente se hace evidente ante los desafíos ambientales actuales y la explotación desmedida de los recursos petroleros. En este contexto, se busca promover el uso de combustibles renovables y de producción natural (Pascual *et al.*, 2016). Estos productos están respaldados por políticas gubernamentales que fomentan el desarrollo agrícola, rural y aseguran la seguridad energética, al mismo tiempo que contribuyen a mitigar el cambio climático al reducir las emisiones de gases de efecto invernadero (L. Silva *et al.*, 2012).

El desarrollo de energías renovables en Ecuador se basa en los principios establecidos en la Constitución de la República. El Acuerdo Ministerial 131 (Ministerio del Ambiente, 2010) resalta la importancia de promover la eficiencia energética, el uso de prácticas y tecnologías ambientalmente limpias, así como la utilización de energías renovables diversificadas y de bajo impacto, sin comprometer la autosuficiencia alimentaria, el equilibrio de los ecosistemas y el acceso al agua.

En ese contexto, la producción de gasolina ECOPAÍS, de acuerdo con el Instituto de Investigación Geológico y Energético (IIGE, 2020), cumple con los principios de fomentar la eficiencia energética y el uso de energías renovables de bajo impacto, sin comprometer la seguridad alimentaria ni el equilibrio ecológico. Sin embargo, el uso de bioetanol de primera generación para su fabricación plantea preocupaciones a largo plazo, ya que implica el uso de recursos agrícolas destinados al consumo humano, lo que puede aumentar los costos asociados a la cadena de producción (Goldemberg & Guardabassi, 2010).

La implementación de la gasolina ECOPAÍS ha generado importantes beneficios para el país, tanto económicos como sociales. Se ha observado un aumento promedio del 10% en el sector primario de la caña de azúcar, beneficiando a más de 7,000 familias agrícolas. Sin embargo, se ha identificado un desafío relacionado con la falta de proveedores para la producción de etanol, lo que ha llevado a que el programa se estanque (M. Zambrano, 2017).

Por lo tanto, es fundamental explorar alternativas sostenibles de segunda generación, como el aprovechamiento de desechos agroindustriales, para reducir el impacto en la disponibilidad de recursos y los costos asociados. Estas medidas se alinean con los objetivos de desarrollo sostenible y la protección del medio ambiente (Dos Santos *et al.*, 2016). Asimismo, la búsqueda de más proveedores para la producción de etanol es crucial para garantizar el funcionamiento efectivo del programa de integración de la gasolina ECOPAÍS y seguir avanzando hacia un futuro energético más sostenible.

Dado que Ecuador posee una ubicación geográfica favorable y es fundamentalmente un territorio agrícola; de acuerdo a encuestas realizadas por el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC, 2021) de las 12,3 millones de hectáreas de tierra disponibles, aproximadamente 5.11 millones de hectáreas, son gestionadas por productores dedicados a la actividad agropecuaria. Este significativo nivel de producción agrícola conlleva una notable generación de residuos, los cuales presentan la oportunidad de ser aprovechados y utilizados como materias primas para la producción de energía, en particular, para la obtención de etanol (Sigüencia *et al.*, 2020).

En la actualidad el Ecuador cuenta con cantidades considerables de producción de aceite de palma considerándose una de las principales actividades económicas (Cortes *et al.*, 2006), pese a esta contribución existe otra realidad y es la generación de desechos líquidos, sólidos y gaseosos. Los desechos líquidos son principalmente aguas residuales generadas por el procesamiento de un producto primario, sin utilidad posterior, siendo un problema ya que generan un impacto negativo a los sistemas acuáticos (Garzón *et al.*, 2015). Según Malacatus *et al.* (2019) en el país se produce un aproximado de 2'371.471,2 m<sup>3</sup> por año de efluentes emitidos por la industria de extracción de palma de aceite.

La Extractora Agrícola Río Manso S. A., es una empresa productora de aceite de palma africana, que distribuye a una amplia variedad de sectores industriales, a nivel nacional e internacional. Debido a la gran demanda de aceite que tiene la extractora, se generan grandes volúmenes de efluentes diarios, alcanzando aproximadamente 350 m<sup>3</sup>, los cuales ocupan recursos económicos y geográficos de la planta para poder ser tratados (Riquelme, 2019). Sin embargo, dada las características químicas y biológicas que estos efluentes poseen, hace que sea un recurso valioso para diferentes aplicaciones. El aprovechamiento de los residuos líquidos mediante fermentación para la obtención de etanol sería una forma de disminuir el impacto ambiental, a la vez una alternativa de gran valor comercial para la Extractora.

## **Objetivos de la investigación**

### ***Objetivo general***

Evaluar las condiciones óptimas de fermentación con adición de levaduras comerciales para la obtención de etanol del efluente de la extractora agrícola Río Manso S. A.

### ***Objetivos específicos***

- Caracterizar los parámetros fisicoquímicos (pH, grados brix, azúcares reductores, temperatura) del efluente en la Extractora Río Manso S. A.
- Seleccionar el tipo de levadura comercial, concentración y tiempo óptimo de fermentación, a través de la medición de grados Brix y cuantificación de azúcares reductores utilizando el método de Miller.
- Obtener alcohol de las muestras fermentadas con las condiciones óptimas mediante destilación simple y cuantificación del grado alcohólico por la técnica de cromatografía de gases.

### **Hipótesis**

La fermentación con las condiciones óptimas permite obtener etanol a partir del efluente de la extractora agrícola Río Manso S. A.

## Capítulo II: Revisión Bibliográfica

### Palma Africana (*Elaeis guineensis*)

La Palma Africana, conocida científicamente como *Elaeis guineensis*, es una planta de gran importancia económica debido a sus múltiples aplicaciones. Sus frutos son utilizados para la producción de aceite de palma, el cual tiene diversos usos en la industria alimentaria, cosmética y de biodiesel (Montoya *et al.*, 2014). Además, las hojas de la palma africana son aprovechadas en la elaboración de artesanías, mientras que los troncos encuentran aplicación en la construcción y fabricación de muebles (Suhaily *et al.*, 2012).

### ***Taxonomía y morfología de la palma africana***

La palma africana es una especie perteneciente a la familia Arecaceae. Se encuentra clasificada en el orden Arecales como se observa en la Tabla 1. Esta planta se caracteriza por ser una de las principales fuentes de aceite vegetal a nivel mundial.

**Tabla 1**

*Clasificación taxonómica de la palma africana.*

| Taxón    | Nombre            |
|----------|-------------------|
| Reino    | Plantae           |
| División | Magnoliophyta     |
| Clase    | Lilipsida         |
| Orden    | Arecales          |
| Familia  | Arecaceae         |
| Género   | <i>Elaeis</i>     |
| Especie  | <i>guineensis</i> |

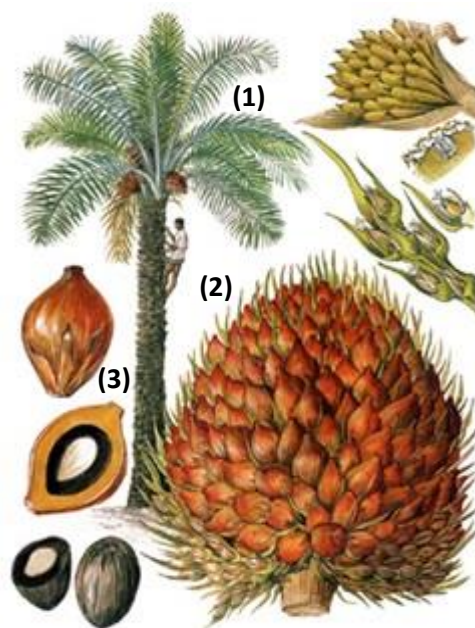
*Nota.* Información obtenida de Forero *et al.*, (2012). Generalidades sobre la morfología y fenología de la palma de aceite. In H. Angulo (Ed.).

La Palma Africana prefiere climas tropicales y subtropicales, prosperando en regiones con temperaturas cálidas y abundante precipitación (Montoya *et al.*, 2014). Su estructura está compuesta por un tronco recto y robusto, cubierto por una capa de corteza rugosa, posee hojas en forma de plumas de gran tamaño y puede alcanzar alturas de hasta 20 metros (Tabe-Ojong *et al.*, 2023). En la parte superior de la palma se encuentran los racimos de fruta fresca (RFF). Aproximadamente, un 20-30% de los racimos corresponde a racimos de fruta vacíos (EFB, por sus siglas en inglés), los cuales no contienen frutas maduras y se consideran residuos en el proceso de extracción. Por otro lado, un 11-15% de la composición del racimo está conformado por la fibra de mesocarpio de palma de aceite (OPMF), que se obtiene del mesocarpio de las frutas y puede ser aprovechada para diversas aplicaciones industriales. Además, alrededor de un 5-7% de los racimos está compuesto por cáscara de palmiste (PKS). Cada fruto está compuesto por una cáscara externa y una pulpa interna, que a su vez contiene una semilla (palmiste) y un mesocarpio fibroso (Montoya *et al.*, 2014). Respecto a su propagación se realiza principalmente por semillas, las cuales son recolectadas de los frutos maduros y luego se plantan en viveros para su germinación y posterior trasplante al campo (Forero *et al.*, 2012). En la Figura 1 se pueden identificar los elementos fundamentales de la palma africana, que abarcan: (1) la estructura completa de la planta, (2) el racimo de fruta fresca y (3) el fruto.

### **Figura 1**

*Morfología general de la palma africana.*





*Nota.* Recuperado de Jiménez (2014). Generalidades y características de la Palma Africana.

### ***Palma Africana en la Industria Aceitera***

La estructura y composición de la Palma Africana la convierten en una planta de gran importancia económica, en la industria del aceite de palma por su capacidad de producir aceite en grandes cantidades, debido a que su alto contenido oleico que varía entre el 39% y 45% de su composición de ácidos grasos (Fiallos, 2021). El aceite de palma extraído de sus frutos es utilizado en una amplia gama de productos, incluyendo alimentos procesados, cosméticos, detergentes, velas y biocombustibles. Su alta demanda a nivel mundial se debe a sus propiedades fisicoquímicas favorables, como su alto punto de fusión, estabilidad oxidativa y versatilidad en aplicaciones industriales (Okezie *et al.*, 2021).

A nivel económico, la Palma Africana tiene un impacto significativo en la industria y en la economía de los países productores. Su cultivo genera empleo en las zonas rurales y contribuye a los ingresos nacionales a través de las exportaciones de aceite de palma y productos derivados. En América Latina se producen alrededor de 1.326.0001,77 toneladas de aceite de palma por año (Index, 2022), mientras que en Ecuador según la Corporación Financiera Nacional (CFN, 2022), se produjeron alrededor

de 400,000 toneladas métricas de aceite de palma y se exportaron aproximadamente 113,000 toneladas en el 2021, gracias a la participación de 7,000 productores de cultivo de palma. Esta actividad ha contribuido al desarrollo sostenible y a la reducción de la pobreza en las comunidades agrícolas.

### **Proceso de extracción de aceite de palma**

La extracción de aceite de palma guinensis comprende varios procesos, que inicia con la recepción de los racimos de fruta fresca (RFF) en la industria extractora. A partir de este punto, se inicia un proceso minucioso para obtener el aceite crudo de palma (Chew, Ng, *et al.*, 2021).

#### ***Recepción del fruto***

En esta etapa inicial los proveedores llegan con los RFF, que luego son sometidos a una serie de procesos de pesaje y clasificación. Una vez llegados a la planta, los racimos de fruta fresca son pesados para llevar un registro preciso de la cantidad recibida. Además, se realiza una clasificación de los racimos de acuerdo a varios criterios, como el tamaño, la cantidad de mesocarpio (pulpa), la madurez y el tamaño del tallo. Esta clasificación permite tener un control detallado sobre la calidad y características de los racimos, lo cual influye en el proceso de extracción posterior (Malacatus *et al.*, 2019).

Durante el proceso de clasificación, se tienen en cuenta varios aspectos importantes. Uno de ellos es la madurez del racimo, la cual es determinante en la calidad y el contenido de aceite. Los racimos más maduros suelen tener un mayor contenido de aceite en comparación con los racimos inmaduros. Otro aspecto relevante es el tamaño del tallo, que es la parte que conecta los racimos a la palma. El tamaño del tallo puede influir en el peso y se considera durante la clasificación para garantizar una manipulación adecuada de los racimos y evitar daños durante el proceso. Cada clasificación puede implicar diferentes condiciones de procesamiento y requisitos técnicos, lo que contribuye a optimizar el rendimiento y los resultados finales (ASOBANCA, 2022; Bernal, 2001).

### **Esterilización**

Durante la etapa de esterilización, se emplean picos de temperatura que oscilan entre los 125°C y 145°C, junto con una presión de hasta 3 bares, el objetivo de estos picos es inactivar la enzima lipasa, la cual desempeña un papel fundamental en la hidrólisis de los lípidos presentes en la fruta de palma. Esta hidrólisis conduce a la liberación de ácidos grasos libres y, como consecuencia, a la acidificación de la pulpa de la fruta. Además, el aumento de temperatura y presión durante este proceso facilita la separación de la fruta de los racimos (Guerrero, 2015). Los picos de esterilización son temperaturas y presiones máximas dentro del autoclave y pueden variar según el diseño del autoclave y los parámetros establecidos por cada planta extractora. La duración de los picos de esterilización oscilan entre 60 y 90 minutos (Riquelme, 2019).

### **Desfrutado**

Consiste en separar la pulpa de la fruta de los racimos esterilizados para obtener el aceite crudo de palma. Esta operación se lleva a cabo en equipos denominados desfrutadores que pueden ser de cilindros o de tornillo sinfín, están diseñados para agitar y romper los racimos, liberando así la pulpa. Además, se puede realizar un proceso de digestión adicional, en el cual se somete la pulpa a altas temperaturas para facilitar la extracción del aceite (Malacatus *et al.*, 2019).

Es importante destacar que el desfrutado es una etapa crítica en el proceso de extracción de aceite de palma, ya que de su eficiencia depende la cantidad y calidad del aceite obtenido. Por tanto, se busca optimizar este proceso mediante la selección adecuada de equipos, el control de parámetros de operación y la implementación de técnicas avanzadas de desfrutado (Garzón *et al.*, 2015)

### **Digestión y Prensado**

Este proceso consiste en descomponer la fruta y extraer el aceite contenido en ella, mediante cilindros compuestos por un eje vertical rotativo con agitadores denominados digestores, los mismos que se encargan de macerar y calentar la fruta, con el fin de separar el mesocarpio y romper las celdas

que contienen el aceite, es un proceso mecánico que se realiza a presiones de 2068 Pa y temperaturas de entre 45-50°C. El aceite extraído atraviesa un tamiz vibratorio para luego bombearlo al calentador que llega a una temperatura de 95°C. La digestión también ayuda a reducir la viscosidad de la pulpa y mejorar la eficiencia del proceso de extracción (Riquelme, 2019).

Durante esta etapa existen algunos factores que se deben tomar en cuenta ya que pueden afectar la eficiencia y calidad del proceso. Estos factores incluyen, la falta de suministro adecuado de calor en forma de vapor para alcanzar la temperatura óptima de 100°C en la fruta digerida, la utilización de brazos de dirección demasiado cortos que impiden la formación de una capa de material seco en la pared del digestor, la alineación inapropiada de los brazos de dirección que no generan un movimiento ascendente y descendente en la fruta, un drenaje insuficiente del aceite de los digestores, especialmente cuando se emplean digestores inferiores perforados, y la falta de control del nivel del digestor (Velayuthan, 2016).

Después de la etapa de digestión, llega el momento del prensado de la pulpa del fruto. En esta fase, se lleva a cabo un proceso que involucra el uso de agua tanto en la salida del digestor como en la parte inferior de la prensa. El propósito principal de este paso es lavar las fibras y garantizar una extracción eficiente del aceite. Además, el agua cumple un papel importante al proporcionar la dilución adecuada para la separación en la clarificación (Riquelme, 2019). Cabe mencionar que la fibra resultante del prensado se utiliza como combustible en el caldero, contribuyendo a su aprovechamiento energético. Asimismo, se lleva a cabo la recuperación de las nueces, las cuales se almacenan para su posterior procesamiento. De acuerdo a Malacatus *et al.*, (2019) durante el prensado, la pulpa se somete a una serie de prensas o expellers que aplican presión mecánica para separar el aceite de los residuos sólidos. De esta manera, se logra obtener el aceite de palma, mientras que la torta de palmiste, como se conoce a los residuos sólidos, se utiliza posteriormente como alimento para animales o se emplea en la producción de biogás.

### **Clarificación**

La clarificación es una etapa crucial en el proceso de extracción de aceite de palma, consiste en separar los componentes no deseados del aceite. Durante esta fase se eliminan los sólidos suspendidos, las impurezas y el agua presente en el aceite crudo. Para lograrlo, se utilizan diferentes métodos y equipos de clarificación, como la centrifugación, la decantación y el uso de agentes clarificantes (ASOBANCA, 2022). Siendo la centrifugación uno de los métodos más comunes, el cual se basa en hacer pasar el aceite crudo a alta velocidad a través de un equipo centrifugador. En este proceso, el aceite se introduce en el equipo y se somete a una fuerza generada por la rotación rápida del tambor (Van, 2016). Esta fuerza centrífuga provoca la separación de los componentes del aceite en función de su densidad. Las partículas sólidas más pesadas, como los residuos de fibra y otros sólidos suspendidos, se sedimentan y se depositan en el fondo del tambor, mientras que el aceite clarificado se recoge en la parte superior, el cual se extrae a través de orificios y se separa de los residuos sólidos. El aceite purificado va al depósito para luego pasar al secador donde la humedad se reduce a un valor inferior al 0.1% para mantener la calidad por más tiempo (Riquelme, 2019). La centrifugación es especialmente útil para la eliminación de partículas finas y coloidales, que pueden afectar la apariencia y la estabilidad del aceite de palma (Fiallos, 2021).

Después de finalizar el proceso de clarificación, se generan tres componentes: efluente, aceite y lodo. El efluente resultante es dirigido al tanque florentino, el cual desempeña un papel crucial en la separación de los sólidos y líquidos. En este tanque, los sólidos más pesados se sedimentan en el fondo, mientras que el aceite residual se acumula en la superficie, facilitando su recuperación (OIT, 2020).

El tanque florentino es un paso fundamental antes de enviar el efluente al tratamiento lagunar, ya que asegura que se aproveche al máximo el aceite residual presente en el efluente. De esta manera, se evita el desperdicio y se garantiza su utilización en otras aplicaciones o su refinamiento posterior. Este

proceso contribuye a una producción más eficiente y sostenible, optimizando los recursos disponibles (Chew, Low, *et al.*, 2021)

### **Almacenamiento**

Una vez que se realiza el control de calidad del aceite y este alcanza el nivel de pureza requerido, se procede a almacenarlo en los tanques designados antes de ser despachado a los proveedores. El objetivo principal de esta etapa es asegurar la preservación y la calidad del aceite a lo largo del tiempo. Los tanques de almacenamiento son diseñados específicamente para mantener las condiciones óptimas de temperatura, humedad y protección contra la oxidación. Estos tanques están contruidos con materiales resistentes y herméticos que evitan la exposición directa a la luz solar y otros factores que podrían afectar su estabilidad y propiedades (GREPALMA, 2019; Malacatus *et al.*, 2019).

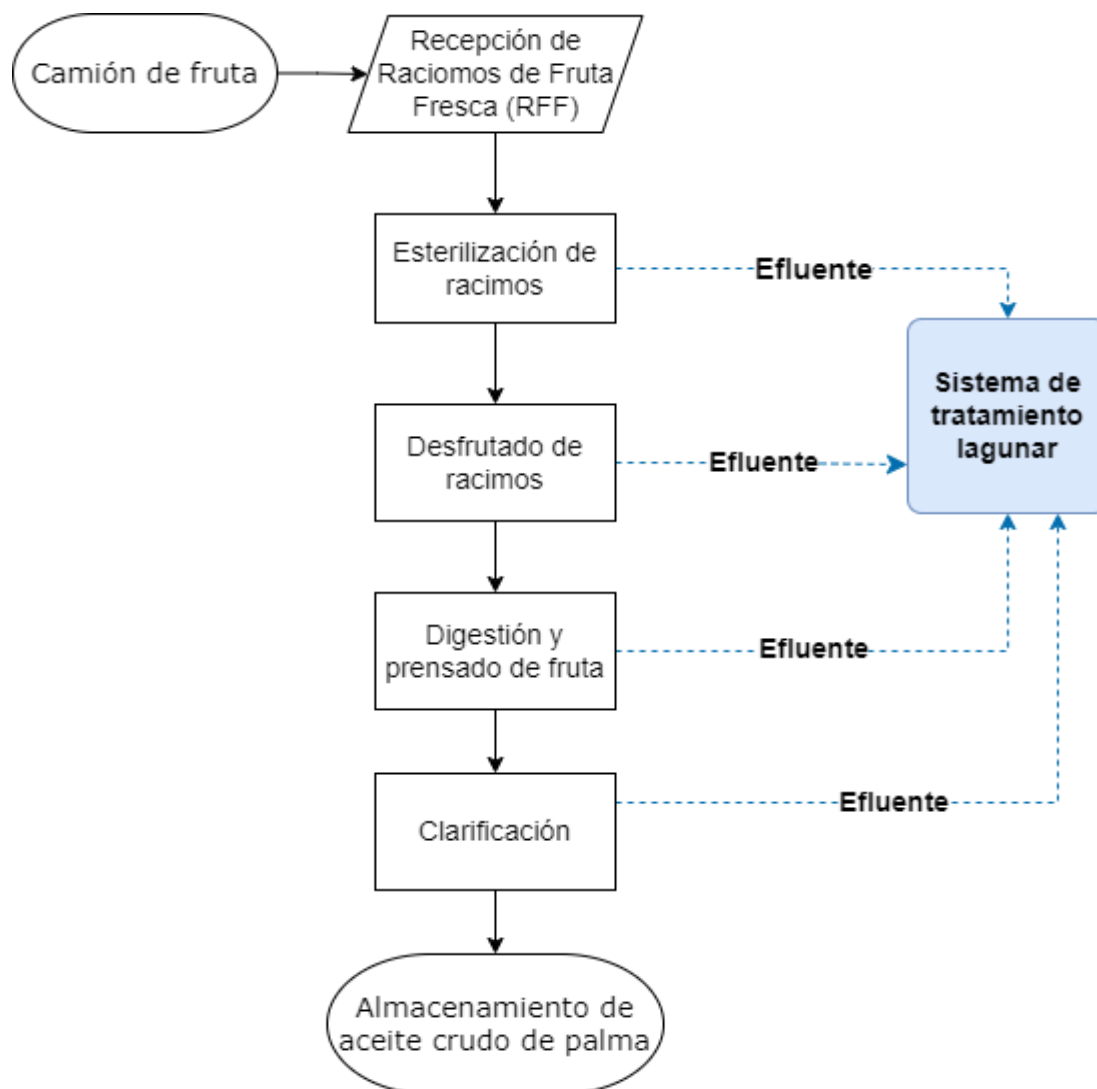
### **Generación de efluente del proceso de extracción de aceite de palma**

El efluente de fabricación de aceite de palma (POME, por sus siglas en inglés) es un líquido que se compone de una mezcla de agua, residuos sólidos, compuestos orgánicos y nutrientes. Lo que le confiere propiedades contaminantes; sin embargo, también cuenta con características que pueden ser aprovechadas en diversos proyectos que le pueden dar valor agregado (Mahmod *et al.*, 2023).

Los procesos que realizan un aporte de efluentes al sistema de tratamiento de aguas residuales se muestran a continuación en la Figura 2. Según Sangucho & Rodriguez (2018), por cada tonelada de fruto procesado se producen aproximadamente 0,648 toneladas de agua residual, con un caudal de 0,428 m<sup>3</sup> por tonelada al día.

### **Figura 2**

*Diagrama general del proceso y destino de efluentes de la extracción de aceite de palma.*



*Nota.* Información obtenida de Deb, N., Alam, M. Z., Al-khatib, M. F. R., & Elgharbawy, A. (2019).

Development of Acid-Base-Enzyme Pretreatment and Hydrolysis of Palm Oil Mill Effluent for Bioethanol Production. *Liquid Biofuel Production*, 197–217.

Durante el proceso de esterilización, se produce un condensado que contiene materia orgánica y se considera un efluente de vapor (Bernal, 2001). Mientras que en el proceso de desfrutado aunque no se utilice agua, la fruta de palma llega con humedad, generando desechos líquidos que contienen residuos orgánicos y sólidos (ASOBANCA, 2022). En las etapas de digestión, prensado y clarificación se generan residuos sólidos y líquidos. Los residuos sólidos incluyen fibras y nueces, mientras que el residuo

líquido está compuesto por una mezcla de aceite, agua y lodo. Es necesario gestionar y tratar adecuadamente estos residuos para minimizar su impacto ambiental (Garzón *et al.*, 2015).

### ***Composición y características***

El POME presenta una serie de características físicas y químicas que requieren una atención especial en su tratamiento y gestión. Una de las más evidentes es su color oscuro, que varía desde tonalidades marrones hasta negras. Este color se debe a la presencia de compuestos orgánicos, como ácidos grasos libres y pigmentos naturales presentes en la fruta de palma (Velayuthan, 2016). El olor del POME también es distintivo, descrito por Wakil *et al.* (2013) como rancio y subjetivamente dulce. Este aroma se origina por la presencia de compuestos orgánicos en descomposición, que pueden liberar gases.

En cuanto a las propiedades químicas, el POME tiende a tener un pH ácido, con un rango aproximado de 4 a 6, estos valores pueden dificultar los procesos biológicos de tratamiento del efluente y contribuir a la liberación de compuestos tóxicos. Otra característica relevante es la temperatura, el efluente sale caliente debido al calor generado durante todo el proceso de extracción. Las temperaturas del efluente pueden oscilar entre los 50°C y 80°C (Deb *et al.*, 2019).

Según los investigadores Sangucho & Rodriguez (2018) el POME presenta un alto contenido de materia orgánica, que incluye grasas, aceites y diversos compuestos orgánicos. Es importante tener en cuenta que las características pueden variar según el proceso de extracción utilizado, la madurez de los frutos y las prácticas de gestión en la planta de procesamiento.

Todas las características mencionadas son relevantes en el efluente, ya que presentan un potencial para ser aprovechadas en diferentes proyectos de valorización. En este contexto, se destaca el estudio realizado por Deb *et al.* (2019) que se centró en analizar las principales características físico-químicas del POME (Tabla 1), las cuales se identificaron como fuente potencial para producir productos que generen bioenergías renovables.



**Tabla 2**

*Características químicas del efluente de extracción de aceite de palma.*

| <b>Parámetro</b>       | <b>Promedio</b> |
|------------------------|-----------------|
| pH                     | 4.7             |
| Aceite y grasa (mg/L)  | 4000            |
| DBO (mg/L)             | 25000           |
| DQO (mg/L)             | 50000           |
| SST (mg/L)             | 40500           |
| Azúcar total (g/L)     | 3.00            |
| Azúcar reductor (g/L)  | 11.26           |
| Celulosa (%)           | 39.56           |
| Hemicelulosa (%)       | 23.33           |
| Lignina (%)            | 25.02           |
| Nitrógeno total (mg/L) | 750             |

*Nota.* Adaptado de Deb, N., Alam, M. Z., Al-khatib, M. F. R., & Elgharbawy, A. (2019). Development of Acid-Base-Enzyme Pretreatment and Hydrolysis of Palm Oil Mill Effluent for Bioethanol Production. *Liquid Biofuel Production*, 197–217.

### ***Impacto ambiental***

Es importante destacar que, si bien la industria de aceite de palma tiene beneficios económicos, también ha sido objeto de preocupaciones ambientales y sociales debido a la deforestación, la pérdida de biodiversidad y los posibles impactos en las comunidades locales. Por lo tanto, se requiere un enfoque equilibrado que promueva prácticas sostenibles y mitigación de impactos negativos (Tan *et al.*, 2021).

Debido a la alta demanda de agua en el proceso de extracción de aceite de palma, se generan grandes cantidades de desechos líquidos. Estos efluentes se convierten en un foco de contaminación

debido a la alta carga orgánica que contienen, lo cual requiere la implementación de sistemas de tratamiento de aguas residuales. Sin embargo, estos sistemas tradicionales presentan desafíos, como la necesidad de grandes extensiones de terreno y la emisión de gases contaminantes al ambiente (M. Z. Alam *et al.*, 2009).

Para abordar el impacto ambiental de manera correcta, es necesario implementar sistemas de tratamiento adecuados que utilicen procesos físico-químicos, biológicos o una combinación de ambos. Estos sistemas tienen como objetivo reducir la carga de contaminantes presentes en el efluente y permitir su descarga segura una vez tratado (Loh *et al.*, 2019).

Además de la carga orgánica, el efluente contiene una cantidad significativa de sólidos suspendidos, como residuos de fruta, fibras y otros materiales no disueltos. Estos sólidos pueden comprometer la calidad del agua, obstruyendo los sistemas de tuberías y favoreciendo la proliferación de microorganismos no deseados (GREPALMA, 2019; Loh *et al.*, 2019). Por lo tanto, es esencial llevar a cabo una adecuada separación y tratamiento de estos sólidos con el fin de minimizar su impacto ambiental y asegurar que el agua liberada cumpla con los estándares establecidos (Garzón *et al.*, 2015). Asimismo, para regular la temperatura del efluente se deben aplicar prácticas de enfriamiento antes de su descarga o tratamiento posterior.

La gestión adecuada del efluente POME es fundamental para cumplir con las regulaciones ambientales y promover la sostenibilidad en la industria del aceite de palma.

## **Tratamiento y valorización del efluente**

### ***Métodos convencionales para el tratamiento***

Los métodos convencionales de tratamiento del efluente POME se han utilizado ampliamente para abordar los desafíos ambientales asociados con este residuo generado durante el proceso de extracción de aceite de palma. Estos métodos buscan reducir la carga de contaminantes y permitir la reutilización o descarga segura del efluente tratado (Pelaez & Trsitan, 2022).

El tratamiento físico-químico es uno de los métodos convencionales más comunes para tratar el efluente. Este enfoque se basa en procesos de coagulación, floculación, sedimentación y filtración para eliminar las partículas suspendidas, los sólidos y los compuestos orgánicos presentes en el efluente (Cala *et al.*, 1999). Mediante el uso de productos químicos, se promueve la formación de flóculos más grandes que pueden ser separados más fácilmente, mejorando así la calidad del efluente tratado (Rodríguez, 2021a).

También existe el tratamiento biológico, el cual se centra en el uso de microorganismos y procesos biológicos para degradar la materia orgánica presente en el efluente POME. Los sistemas de tratamiento biológico incluyen reactores anaeróbicos, reactores aeróbicos y lagunas de estabilización. En los reactores anaeróbicos, los microorganismos descomponen la materia orgánica en condiciones de ausencia de oxígeno, produciendo biogás como subproducto. En los reactores aeróbicos, los microorganismos utilizan oxígeno para descomponer los compuestos orgánicos (Pelaez & Trsitán, 2022). Las lagunas de estabilización permiten la descomposición natural de los contaminantes mediante la acción combinada de microorganismos y la luz solar (Haan & Takriff, 2022).

En muchos casos, se emplea un enfoque de tratamiento combinado que integra tanto procesos físico-químicos como biológicos. Este enfoque aprovecha las fortalezas de ambos métodos para lograr una mayor eficiencia en la eliminación de contaminantes (Pelaez & Trsitán, 2022). Por ejemplo, se puede aplicar un proceso de coagulación y floculación para reducir la carga de sólidos suspendidos, seguido de un tratamiento biológico para la degradación de la materia orgánica remanente (Pulido, 2009).

Es importante destacar que si bien los métodos convencionales de tratamiento del efluente POME han demostrado ser efectivos para reducir la carga de contaminantes, todavía existen desafíos asociados con su implementación (Loh *et al.*, 2019). Estos desafíos incluyen la gestión adecuada de los residuos generados durante el tratamiento, la optimización de los procesos para mejorar la eficiencia y la

necesidad de considerar aspectos económicos y ambientales en la selección de los métodos de tratamiento más adecuados (Haan & Takriff, 2022).

### **Valorización y aprovechamiento del efluente**

La valorización y aprovechamiento del efluente es un aspecto crucial en la gestión sostenible de los residuos. En lugar de considerar el efluente como un desecho contaminante, se busca identificar oportunidades para agregar valor y utilizarlo de manera beneficiosa (Soria, 2019).

Existen diversas estrategias para la valorización del efluente, que van desde su tratamiento para su reutilización en procesos industriales, hasta la generación de energía o la producción de subproductos de valor (D. Zambrano, 2011). Estas prácticas no solo contribuyen a reducir el impacto ambiental del efluente, sino que también pueden generar beneficios económicos y sociales. Según Anaya y Molina (2018), el efluente puede ser aprovechado de diversas formas, contribuyendo a la valorización de este residuo. Mediante la digestión anaeróbica, se genera biogás, una mezcla de metano y dióxido de carbono que puede ser utilizado como fuente de energía renovable (Tigse, 2015). Además, el efluente puede ser empleado como materia prima para la producción de bioetanol, un combustible sostenible que reduce las emisiones de gases de efecto invernadero (Wakil *et al.*, 2013). También es posible obtener productos de valor añadido a través de procesos de extracción y purificación de compuestos orgánicos presentes en el efluente (Al-Dhabi *et al.*, 2020). Por último, se puede recuperar nutrientes esenciales para la fertilización de cultivos, cerrando el ciclo de nutrientes y reduciendo la dependencia de fertilizantes químicos sintéticos (Malacatus *et al.*, 2019; D. Zambrano, 2011). Estas aplicaciones demuestran el potencial del efluente como una fuente valiosa y versátil, contribuyendo a la economía circular y a la sostenibilidad ambiental.

Tras conocer las diversas aplicaciones del efluente y su potencial para la valorización, es relevante destacar la producción de bioetanol como una opción sostenible y prometedora. El proceso de conversión del efluente en bioetanol involucra etapas de fermentación y destilación que permiten

transformar los componentes orgánicos del efluente en un biocombustible renovable (Alam *et al.*, 2007; Zamora *et al.*, 2014). Esta alternativa no solo contribuye a reducir las emisiones de gases de efecto invernadero, sino que también aprovecha un subproducto residual, promoviendo la gestión eficiente de los desechos y fomentando la sostenibilidad en la industria (Wakil *et al.*, 2013).

### **Bioetanol**

El bioetanol es un compuesto orgánico de naturaleza alifática, presenta un grupo hidroxilo y se representa químicamente mediante la fórmula  $C_2H_6O$ . Es un biocombustible ampliamente utilizado como alternativa sostenible a los compuestos fósiles (Gómez, 2016). Se obtiene a partir de procesos fermentativos de materiales orgánicos con contenido de azúcares simples, como cultivos agrícolas, biomasa lignocelulósica o residuos de la agroindustria (L. Silva *et al.*, 2012).

Según Santos (2018), el etanol puede clasificarse en dos categorías principales en función de su origen. El etanol de primera generación se produce a través de la fermentación alcohólica de azúcares y almidones presentes en fuentes como la caña de azúcar o la remolacha (Morales *et al.*, 2010). Sin embargo, debido a las preocupaciones relacionadas con la seguridad alimentaria, se están buscando activamente alternativas para la producción de etanol que no involucren el uso de cultivos alimentarios (Alejos & Calvo, 2015). Por otro lado, el etanol de segunda generación se produce a partir de biomasa no alimentaria, como residuos agrícolas líquidos o sólidos. Estos desechos contienen celulosa y hemicelulosa, que pueden ser descompuestos en azúcares fermentables a través de procesos de pretratamiento e hidrólisis enzimática (Morales *et al.*, 2010). La utilización de biomasa no alimentaria para la producción de bioetanol ofrece ventajas significativas al utilizar recursos renovables y abundantes.

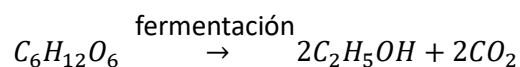
#### ***Obtención de etanol de segunda generación***

La producción de etanol de segunda generación comprende cuatro procesos, los cuales son: pretratamiento, hidrólisis enzimática, fermentación y destilación, estos en el caso de usar la biomasa

como tal, si se pretende usar el efluente del proceso de extracción de aceite se evita los dos pasos iniciales, ya que, los racimos de fruta fresca de palma ya fueron previamente procesados y el agua residual que se produce contiene azúcares disponibles para la fermentación (Bastidas, 2013; Wakil *et al.*, 2013). A continuación, se define los pasos para la obtención de etanol a partir de aguas residuales.

**Fermentación:** Durante la fermentación, las levaduras consumen los azúcares fermentables del efluente, como la glucosa y la sacarosa, mediante un proceso metabólico conocido como fermentación alcohólica. Este proceso produce etanol como producto principal, junto con pequeñas cantidades de otros subproductos, como glicerol y compuestos volátiles (Zalduegui, 1975).

La reacción que expresa lo antes mencionada es la siguiente:



La eficiencia de la fermentación depende de varios factores, como la concentración de azúcares en el efluente, la temperatura, el pH, la disponibilidad de nutrientes y la cepa de levadura utilizada. Es importante optimizar estas condiciones para obtener una alta producción de bioetanol y minimizar la formación de subproductos no deseados.

La adición de levaduras comerciales, como *Saccharomyces cerevisiae*, puede ser beneficiosa para mejorar la eficiencia de la fermentación en la producción de bioetanol a partir del efluente de la extractora agrícola Río Manso S.A. Esta especie de levadura es ampliamente utilizada en la industria de alimentos debido a su capacidad para fermentar azúcares y participar en la elaboración de bebidas alcohólicas y productos de panadería (Castillo, 2016). La elección de *Saccharomyces cerevisiae* se basa en su capacidad para tolerar altas concentraciones de etanol y su habilidad para utilizar eficientemente azúcares fermentables de seis carbonos, como la glucosa, presentes en el efluente. Esto implica que la levadura puede metabolizar estos azúcares y convertirlos en etanol de manera efectiva.

*Saccharomyces cerevisiae*, requiere de ciertos factores de crecimiento clave para lograr una fermentación eficiente. Algunos de los factores más importantes son:

- **Oxígeno:** Este tipo de levadura es capaz de realizar fermentación en ausencia de oxígeno (fermentación anaeróbica), pero la presencia inicial de oxígeno es fundamental para la síntesis de compuestos esenciales, como esteroides y ácidos grasos, que son necesarios para un crecimiento saludable de las células de levadura. Sin embargo, una vez que la fermentación comienza y la disponibilidad de oxígeno disminuye, la levadura cambia su metabolismo hacia la producción de etanol (Vallejo, 2009).
- **Temperatura:** en el caso de esta especie de levaduras el rango óptimo de temperatura para el crecimiento es 25 – 37° C. Temperaturas muy bajas o muy altas pueden afectar su crecimiento y actividad enzimática (Suárez *et al.*, 2016).
- **Concentración de iones de hidrógeno:** El pH para el crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* resulta favorable cuando se encuentra entre 4.5 – 6.5 (Suárez *et al.*, 2015).

**Verificación de fermentación:** La verificación del proceso de fermentación involucra la determinación de los grados Brix y los azúcares reductores, según lo menciona Robles *et al.* (2016). Los grados Brix se utilizan para expresar la concentración de sacarosa en una solución, como se puede observar a continuación:

$$\text{grado Brix } (^{\circ}\text{Bx}) = 1 \text{ g sacarosa}/100\text{g de solución}$$

La sacarosa, un disacárido compuesto por una molécula de glucosa y una de fructosa. Durante el proceso de fermentación, las levaduras utilizan la sacarosa como fuente de energía. La sacarosa se descompone en sus componentes básicos, glucosa y fructosa, gracias a la acción de enzimas específicas producidas por las levadura (Février, 2004).

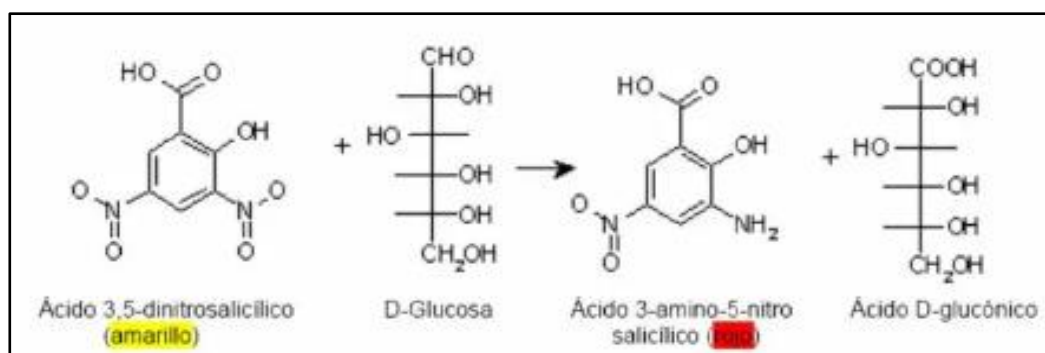
Para medir los grados Brix, se emplea un refractómetro, un instrumento que permite determinar la cantidad de sacarosa presente en la solución a través de la medición del índice de refracción de la muestra. Al realizar mediciones de los grados Brix durante el tiempo de fermentación, es posible monitorear el consumo de sacarosa y evaluar el avance del proceso (Yáñez *et al.*, 2020).

Para la cuantificación de azúcares reductores, se utiliza el espectrofotómetro, empleando la glucosa como molécula de referencia. A través de una reacción química colorimétrica con el reactivo DNS (3,5-dinitrosalicílico), se genera un cambio de color (Figura 3), el cual se cuantifica espectrofotométricamente, obteniendo una lectura de absorbancia (Burgos, 2020). Al comparar la absorbancia de la muestra con una curva de calibración previamente construida, se puede determinar la concentración de azúcares reductores presentes en la muestra desconocida (Ávila *et al.*, 2012).

La glucosa es un monosacárido y constituye una de las principales fuentes de energía utilizadas por las levaduras durante el proceso de fermentación. Estos microorganismos consumen la glucosa y otros azúcares presentes en el efluente como sustratos para obtener energía y llevar a cabo sus procesos de crecimiento y reproducción. La conversión de la glucosa y otros azúcares es mediada por enzimas específicas producidas por las levaduras, las cuales los descomponen en productos finales como etanol y dióxido de carbono, contribuyendo así al proceso de fermentación (Février, 2004).

**Figura 3**

*Conversión de azúcares reductores mediante DNS.*



*Nota:* Figura tomada de (Olivares, 2017). Estudio de las condiciones de hidrólisis sobre polisacáridos pépticos y su aplicación en la determinación de azúcares neutros por cromatografía líquida (Vol. 87, Issue 1,2). Universidad de Valparaíso-CHILE.



**Destilación:** Una vez finalizada la fermentación, es necesario extraer el etanol del caldo de fermentación mediante un proceso de destilación simple, el cual se basa en las diferencias de puntos de ebullición de los componentes de una solución. Al aplicar calor, los componentes más volátiles, como el alcohol, se evaporan y se concentran en una fase de vapor. Al enfriarse, este vapor se condensa y se convierte en líquido nuevamente (Arias *et al.*, 2018). Durante el proceso de destilación, es fundamental considerar que el etanol posee un punto de ebullición cercano a los 78 °C. Por ende, es esencial llevar a cabo la destilación a temperaturas cuidadosamente controladas dentro de un rango de 78 °C a 85 °C para lograr una separación eficiente del etanol de la mezcla agua-etanol (V. Silva & Arévalo, 2009).

La variación en la temperatura de destilación puede ser influenciada por la composición química de la mezcla, especialmente por la presencia de otros alcoholes, compuestos orgánicos e impurezas. Cada componente de la mezcla puede tener su propio punto de ebullición y afectar la temperatura requerida para separar el etanol con precisión (Bastidas, 2013).

### Capítulo III: Metodología

#### Responsable del Proyecto

La persona a cargo del proyecto es la señorita Stefany Nicole Recalde Villalba, estudiante de la carrera de Ingeniería en Biotecnología en la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

### Periodo de investigación

El proyecto contempló los meses de mayo de 2023 hasta agosto 2023, con una duración de 4 meses.

### Localización geográfica

El presente proyecto de investigación se desarrolló en el Laboratorio ambiental de la Extractora Agrícola Río Manso S. A., ubicado en Km 41 vía Santo Domingo - Quevedo, Código postal 121051, Parroquia Patricia Pilar, Cantón Buena Fé, Provincia Los Ríos.

#### Figura 4

*Ubicación geográfica de la planta Extractora Agrícola Río Manso.*



*Nota. Imagen obtenida de Google Maps (2023). Extractora Río Manso Exa S.A., coordenadas - 0.5365788,-79.3928787*

### Muestreo

Se recolectaron muestras del efluente directamente del tanque florentino de la Extractora Agrícola Río Manso S.A. (Figura 4). Para garantizar la integridad de las muestras, se utilizaron recipientes de polipropileno. Durante el proceso de recolección, se tomaron precauciones de seguridad, como el uso

de guantes, para evitar quemaduras debido a la alta temperatura del efluente. El acceso al tanque se realizó a través de la válvula externa, siguiendo las precauciones y normas de seguridad establecidas por la Organización Internacional del Trabajo (OIT, 2020) para garantizar un muestreo adecuado.

### **Figura 5**

*Tanque florentino de la Extractora Agrícola Río Manso.*



### **Caracterización**

Para caracterizar el efluente, se recolectaron diez muestras en diferentes momentos y días para obtener datos representativos y confiables. Cada muestra se sometió a análisis de pH, temperatura, grados Brix y azúcares reductores. Con esta información, se conocerá las principales propiedades fisicoquímicas del POME.

### ***Determinación de acidez (pH) y temperatura***

Se utilizó un medidor multiparamétrico con una sonda de electrodo (HANNA®) para determinar el pH y la temperatura del efluente. Tras encender y calibrar el equipo, se colocó la muestra en un vaso de precipitación y se sumergió parcialmente el electrodo. Se esperó aproximadamente de uno a dos minutos para que el medidor se estabilizara y se obtuvieran lecturas precisas. Se registraron las mediciones obtenidas y se procedió a limpiar el electrodo con agua destilada para su posterior uso. Estos

análisis se realizaron siguiendo el método oficial de la AOAC (Official Methods of Analysis) Internacional utilizando la técnica electrométrica (AOAC, 1990) .

### ***Determinación de grados Brix***

Las mediciones de los grados Brix se utilizaron para determinar el contenido de sacarosa en las muestras, y se llevaron a cabo mediante el uso de un refractómetro manual. Antes de comenzar las mediciones, se limpió la superficie de la placa y se verificó que el prisma estuviera libre de residuos. Luego, se procedió a calibrar el refractómetro utilizando soluciones de sacarosa con concentraciones conocidas. Para realizar las mediciones, se colocaron dos gotas de muestra sobre el prisma del refractómetro y se cerró la tapa suavemente para asegurar una distribución homogénea de la sustancia y evitar la formación de burbujas de aire, lo cual podría haber afectado la precisión de los resultados obtenidos (Herbas, 2011).

El refractómetro se mantuvo bajo una fuente de luz para visualizar la escala a través del ocular. El valor a leer correspondía a la línea límite claro/oscuro observada en la escala. Se ajustó y precisó la escala girando suavemente el ocular (Yáñez *et al.*, 2020).

### ***Cuantificación de azúcares reductores***

Para cuantificar los azúcares reductores presentes en la muestra, se utilizó el método DNS desarrollado por Miller (1959). En este método, se emplea la glucosa como un estándar de referencia.

### ***Preparación de reactivo DNS***

En primera instancia, se forró con aluminio un balón aforado de 50 mL para evitar que el reactivo recibiera luz, ya que es fotosensible y podía degradarse durante su proceso de realización. Posteriormente se creó una cama de agua destilada en el balón y se agregaron 0,8 g de hidróxido de sodio (NaOH). Luego, se añadieron 15 g de tartrato de sodio y potasio ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) y, finalmente, 0,5 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico ( $\text{C}_7\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_7$ ). Se completó el volumen con agua destilada hasta el aforo y se colocó un imán para agitar la mezcla (Montañez, 2020). La solución se mantuvo en agitación durante



### **Preparación de la muestra**

Para cuantificar los azúcares reductores presentes en el efluente, se realizó una centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos. Este paso permitió separar los lodos presentes en la muestra y evitar posibles interferencias en el resultado (IDEAM, 2020). Posteriormente, se procedió a filtrar la muestra utilizando papel filtro de 11  $\mu\text{m}$  para eliminar cualquier partícula sólida. Por último, se llevó a cabo una dilución ( $5^{-1}$ ) para obtener una concentración adecuada que se ajuste a la curva de calibración (Bello *et al.*, 2006).

Una vez obtenida la ecuación de la recta de la curva de calibración y preparada la muestra del efluente, se procedió a medir la absorbancia siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Sin embargo, en lugar de utilizar la solución patrón de glucosa, se empleó la muestra del efluente para determinar la concentración de azúcares reductores presente en dicha muestra.

### **Fermentación**

Para esta fase se recolectó cuatro litros de efluente del tanque florentino. Luego, se llevó a cabo la caracterización de la muestra para verificar si cumplía con las condiciones necesarias para la fermentación. Durante este proceso de evaluación, se identificó que la temperatura de la muestra no se encontraba dentro del rango requerido. Para resolver este inconveniente, se optó por enfriar la muestra a temperatura ambiente utilizando un magneto y plancha de agitación. Método adaptado de (Isla *et al.*, 2013; Wakil *et al.*, 2013).

### **Activación de levaduras**

Para este paso, se adaptó el método propuesto por Isla y sus colaboradores (2013). La activación de las levaduras se realizó utilizando efluente y recipientes de vidrio previamente desinfectados. En cada recipiente, se añadieron 20 mL de efluente a temperatura ambiente. Se seleccionaron tres marcas de levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) y se pesaron 1,5 g y 3,5 g de cada tipo. Estas cantidades se agregaron a los recipientes con el efluente. Luego se procedió a agitar la mezcla para asegurar una

distribución uniforme de la levadura en el efluente, formando una espuma en la superficie. Luego, se permitió que las levaduras se activaran durante 30 minutos, observando el aumento en el volumen de la espuma como indicador de la fermentación en proceso.

### ***Control de fermentación***

Después de la activación de las levaduras, se procedió a añadir nuevamente efluente a cada recipiente hasta alcanzar un volumen final de 100 mL. Para permitir la liberación de dióxido de carbono generado durante la fermentación y evitar la contaminación, se sellaron parcialmente los recipientes con tapas de aluminio. Luego, las muestras fueron colocadas en una incubadora a una temperatura constante de 30 °C durante un período de 22 días. Este ambiente controlado proporcionó las condiciones óptimas para el proceso de fermentación.

Para monitorear el proceso de fermentación y obtener información específica sobre el tipo de levadura, su concentración y el tiempo óptimo necesario para completar la fermentación, se realizaron análisis periódicos de las muestras. Estos análisis se llevaron a cabo cada 2 días durante 22 días. Los parámetros medidos fueron el contenido de grados Brix y la concentración de azúcares reductores, utilizando los métodos previamente mencionados (Robles *et al.*, 2016). El seguimiento continuo de estos parámetros nos permitió identificar el día en que los valores de grados Brix y azúcares reductores alcanzaron la estabilización, lo cual indicaría el tiempo óptimo para completar el proceso de fermentación.

Con el objetivo de determinar el tratamiento más eficiente, se llevó a cabo un análisis estadístico basado en el consumo de glucosa y la variación de grados Brix (Ardila & Cuadros, 2021). Para calcular estos valores, se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$\text{Consumo de glucosa (g/L)} = (\text{Concentración inicial} - \text{Concentración final}) \text{ (g/L)}$$

$$\text{Consumo de } ^\circ\text{Brix} = (^\circ\text{Brix inicial} - ^\circ\text{Brix final})$$

Cabe destacar que tanto la concentración final de glucosa como los grados Brix finales se refieren a los valores registrados en el momento en el que la fermentación llegó a estabilizarse. Este enfoque nos permitió obtener información precisa y comparativa sobre el rendimiento de los diferentes tratamientos durante el proceso de fermentación.

### **Análisis estadístico**

El procedimiento experimental se llevó a cabo con el objetivo de evaluar las condiciones óptimas de fermentación. El análisis estadístico se realizó utilizando el software Minitab, donde se empleó el consumo de glucosa y los grados Brix como medidas clave. Se realizó análisis de varianza con un nivel de confianza del 95%. Posteriormente, para verificar las diferencias significativas entre los tratamientos, se llevó a cabo la prueba Tukey.

### **Unidad experimental**

La unidad experimental será el efluente emitido por el proceso de extracción de aceite de palma de la extractora Río Manso S.A.

### **Factores de estudio**

Los factores de estudio en esta investigación incluyen las diferentes marcas de levaduras comerciales y su variación de concentración en la fermentación del efluente. Para una mejor apreciación de estos factores, se presenta la siguiente tabla que muestra los parámetros de evaluación asociados a cada factor.

**Tabla 4**

*Factores de estudio y parámetros de evaluación.*

| <b>Factores de estudio</b>      | <b>Parámetros de evaluación</b>  | <b>Descripción</b>  |
|---------------------------------|--|---|
| Marcas de levaduras comerciales | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Azúcares Reductores</li> <li>• Grados brix</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Azúcares reductores:</b> Representa la Glucosa que se reduce durante</li> </ul> |



Variación de  
concentración de  
levaduras

la fermentación, convirtiéndose  
en alcohol y dióxido de carbono.

- **Grados Brix:** Medida de la concentración de sacarosa s en una solución.

### **Tratamientos**

Para el presente proyecto, se seleccionó un diseño factorial 3x2 con el objetivo de evaluar las diferencias en los grados Brix y los azúcares reductores durante la fermentación a lo largo del tiempo. En este diseño, se llevaron a cabo seis tratamientos utilizando tres marcas distintas de levadura comercial y dos niveles de concentración. Con el fin de obtener resultados más confiables, se realizaron cinco réplicas del experimento, tal como se muestra en la Tabla 5.

**Tabla 5**

*Diseño factorial 3x2 para la cuantificación de grados Brix y azúcares reductores del efluente.*

| Tipo de<br>levadura | Concentración<br>(g/L) | Tiempo (días) |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |
|---------------------|------------------------|---------------|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|
|                     |                        | 0             | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | 20 | 22 |
| A                   | 15                     | 5             | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
|                     | 35                     | 5             | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
| B                   | 15                     | 5             | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
|                     | 35                     | 5             | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
| C                   | 15                     | 5             | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
|                     | 35                     | 5             | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |

### **Esquema de análisis de varianza**

El análisis de varianza se llevará a cabo utilizando un ANOVA de 2 factores, tal como se muestra en la Tabla 3, para un diseño factorial 3x2. Este esquema se utilizará tanto para el consumo de grados Brix como para azúcares reductores.

**Tabla 6**

*Esquema de ANOVA de dos factores para el diseño experimental factorial 3x2.*

| Fuente                        | Grados de libertad | Grados Brix | Azúcares reductores |
|-------------------------------|--------------------|-------------|---------------------|
| Tipo de levaduras (a)         | a-1                | 2           | 2                   |
| Concentración de levaduras(b) | b-1                | 1           | 1                   |
| Efecto ab                     | (a-1) (b-1)        | 2           | 2                   |
| Error (e)                     | a.b (n-1)          | 24          | 24                  |
| Total                         | a.b.n-1            | 29          | 29                  |

Se realizó una prueba post hoc para comparar las medias de los grupos. En este análisis, se utilizó la prueba de Tukey con un nivel de significancia establecido en  $p < 0,05$ . Esta prueba estadística fue adecuada para detectar diferencias significativas entre las medias de los grupos.

Después de determinar el tratamiento más eficaz para la fermentación mediante análisis estadístico, se realizó un ANOVA de un solo factor con el tratamiento control (efluente sin levadura), como se puede observar en la Tabla 7. Posteriormente, se llevó a cabo la prueba Tukey para obtener las comparaciones entre los tratamientos.

**Tabla 7**

*Esquema de ANOVA de un solo factor para tratamiento optimo y control.*

| Fuente          | Grados de libertad | Grados Brix | Azúcares reductores |
|-----------------|--------------------|-------------|---------------------|
| Tratamiento (k) | k-1                | 1           | 1                   |
| Error (e)       | N-k                | 8           | 8                   |
| Total           | N-1                | 9           | 9                   |

## Obtención de etanol

### *Destilación simple*

Una vez establecido el proceso de fermentación del efluente, se procedió a realizar la destilación. Para ello, se montó un equipo de destilación simple que incluía un matraz de destilación con

termómetro incorporado y un condensador conectado parcialmente inclinado. Se verificó que todas las conexiones estuvieran bien ajustadas y libres de fugas (V. Silva & Arévalo, 2009).

Se tomó una muestra de 150 mL del efluente fermentado y se realizó centrifugación y filtración para eliminar cualquier sedimento que pudiera retrasar el proceso de destilación. Posteriormente, la muestra se agregó al matraz de destilación y se conectó al equipo de destilación previamente montado. La destilación se llevó a cabo utilizando como fuente de calor una hornilla eléctrica, se mantuvo una temperatura de destilación entre 70-80 °C (Ardila & Cuadros, 2021). El proceso de destilación se prolongó durante 4 días con el objetivo de obtener un total de 20 mL de muestra destilada, la cual se guardó en un recipiente hermético.

Es importante mencionar que durante todo el proceso se mantuvo un monitoreo constante de la temperatura y se realizaron los ajustes necesarios para mantenerla dentro del rango deseado.

#### ***Cuantificación de grado alcohólico***

La muestra destilada se envió al laboratorio de análisis instrumental de la Escuela Politécnica Nacional para determinar el porcentaje de etanol presente. Este análisis se realizó utilizando la técnica de cromatografía de gases, la cual permite separar y cuantificar los componentes presentes en una muestra.

### **Capítulo IV: Resultados**

#### **Caracterización fisicoquímica del efluente**

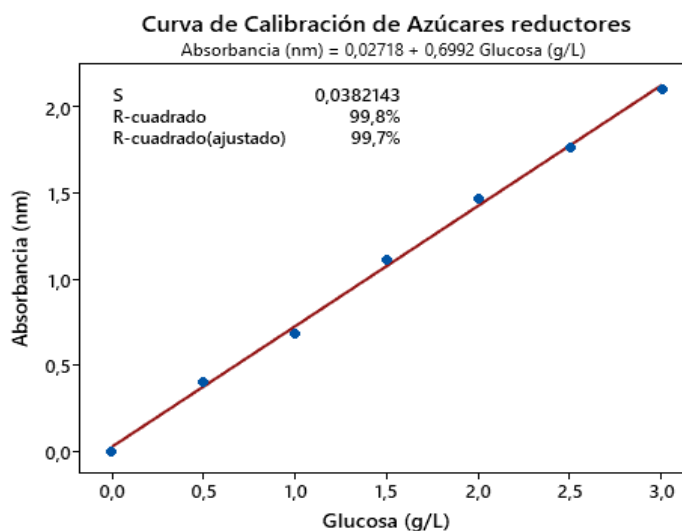
En la caracterización del efluente, se analizaron un total de 10 muestras para evaluar sus propiedades fisicoquímicas. Se llevaron a cabo diferentes análisis, entre ellos el pH, la temperatura, los grados Brix y azúcares reductores.

### Curva de calibración de glucosa

Para cuantificar los azúcares reductores, se utilizó una curva de calibración de glucosa (Figura 6), donde se observa una alta correlación entre los datos experimentales y la línea de regresión ( $R^2 = 0,998$ ). La ecuación de la recta obtenida a partir de esta curva permitió determinar las concentraciones de azúcares reductores en las muestras del efluente.

**Figura 6**

*Curva patrón de glucosa para la determinación de azúcares reductores.*



### Resultados de análisis fisicoquímicos

En la Tabla 7 se presentan las medias de los resultados obtenidos en los análisis de caracterización. Se observa que el efluente tiene un pH de 4,82, lo cual indica un ambiente ácido. Además, se encontraron concentraciones promedio de 13,72 g/L de glucosa y 5,9° Brix. Es importante destacar que la temperatura del efluente se registró en un valor alto de 72,84°C. Estos resultados brindan información relevante sobre las condiciones de fermentación del efluente.

**Tabla 8**

*Media descriptiva de los parámetros de caracterización fisicoquímica del efluente.*

| Variable | N | Media |
|----------|---|-------|
|----------|---|-------|

|                                  |    |       |
|----------------------------------|----|-------|
| <b>Temperatura</b>               | 10 | 72,84 |
| <b>Acidez (pH)</b>               | 10 | 4,82  |
| <b>°Brix</b>                     | 10 | 5,91  |
| <b>Azúcares reductores (g/L)</b> | 10 | 13,72 |

## Fermentación

En esta etapa del estudio, se agregaron levaduras comerciales de diversas marcas y concentraciones al efluente, se les asignaron etiquetas utilizando la siguiente nomenclatura (Obsérvese la Tabla 8).

**Tabla 9**

*Descripción de levaduras utilizadas en estudio.*

| <b>Nomenclatura</b> | <b>N</b> | <b>Marca de levadura</b> | <b>Concentración (g/L)</b> |
|---------------------|----------|--------------------------|----------------------------|
| Control             | 5        | Sin levaduras            | 0                          |
| A15                 | 5        | Fermipan                 | 15                         |
| A35                 | 5        | Fermipan                 | 35                         |
| B15                 | 5        | Instant Success          | 15                         |
| B35                 | 5        | Instant Success          | 35                         |
| C15                 | 5        | Saf-instant              | 15                         |
| C35                 | 5        | Saf-instant              | 35                         |

Con el fin de monitorear el proceso de fermentación se realizaron controles periódicos cada dos días para medir los niveles de azúcares reductores y grados Brix, ya que la reducción de estos parámetros a lo largo del tiempo, como lo mencionan (Becerra, 2014; N. Muñoz *et al.*, 2018; Puerta, 2012) ,son indicadores de la progresión de la fermentación.

### **Resultado de cuantificación de azúcares reductores**

En la Tabla 9 se muestran las medias obtenidas a partir de 5 repeticiones para cada nivel de concentración de levaduras. El propósito de este análisis es determinar el punto máximo de fermentación en función del tiempo transcurrido. Se puede observar que todos los tratamientos inician

con una concentración en el rango de 13 y 14 g/L de glucosa. Sin embargo, a partir del día 18 al 22, las muestras exhiben valores constantes por debajo de 4 g/L, excepto el tratamiento control, lo cual indica estabilidad en el proceso de fermentación (Figura 7).

Al analizar los datos, se destaca que los tratamientos A15 y A35 muestran una concentración media de 2,14 g/L y 2,21 g/L, respectivamente, presentando una notable reducción con respecto a su concentración inicial. Por otro lado, los tratamientos B15 y B35 tienen concentraciones ligeramente más altas con 3,09 g/L y 3,08 g/L. Por último, los tratamientos C15 y C35 presentan las concentraciones más altas en esta etapa del proceso, con valores de 3,31 g/L y 3,20 g/L, respectivamente.

Es importante resaltar que la muestra control presenta una curva diferente en la Figura 7, ya que muestra concentraciones mayores en comparación con los otros tratamientos. Al llegar al día 18, el tratamiento control alcanza una concentración de 5,01 g/L, lo cual representa un ligero aumento en comparación con las demás muestras.

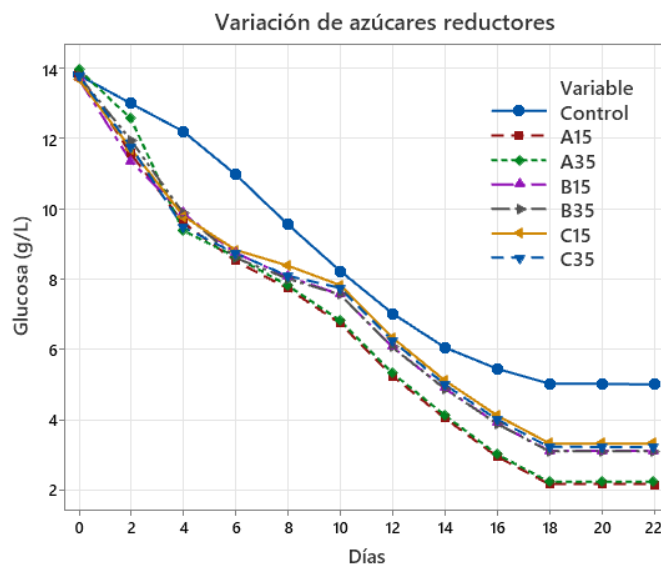
**Tabla 10**

*Media descriptiva de la concentración de glucosa a lo largo del tiempo de fermentación.*

| Tratamientos   | Tiempo (días) |       |       |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|----------------|---------------|-------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                | 0             | 2     | 4     | 6    | 8    | 10   | 12   | 14   | 16   | 18   | 20   | 22   |
| <b>Control</b> | 13,81         | 13,00 | 12,20 | 9,97 | 8,21 | 7,22 | 7,01 | 6,04 | 5,10 | 5,01 | 5,01 | 4,99 |
| <b>A15</b>     | 13,87         | 11,58 | 9,61  | 8,51 | 7,73 | 6,73 | 5,23 | 4,03 | 2,93 | 2,14 | 2,14 | 2,14 |
| <b>A35</b>     | 13,99         | 12,58 | 9,38  | 8,63 | 7,82 | 6,82 | 5,32 | 4,12 | 3,00 | 2,21 | 2,21 | 2,21 |
| <b>B15</b>     | 13,73         | 11,36 | 9,87  | 8,75 | 8,06 | 7,56 | 6,06 | 4,88 | 3,88 | 3,09 | 3,09 | 3,09 |
| <b>B35</b>     | 13,81         | 11,97 | 9,88  | 8,60 | 8,01 | 7,55 | 6,05 | 4,87 | 3,87 | 3,08 | 3,08 | 3,08 |
| <b>C15</b>     | 13,69         | 11,71 | 9,79  | 8,82 | 8,37 | 7,82 | 6,32 | 5,10 | 4,10 | 3,31 | 3,31 | 3,31 |
| <b>C35</b>     | 13,82         | 11,79 | 9,48  | 8,73 | 8,09 | 7,74 | 6,24 | 4,99 | 3,99 | 3,20 | 3,20 | 3,20 |

**Figura 7**

*Variación de azúcares reductores en el efluente a lo largo del tiempo de fermentación.*



### **Resultado de determinación de grados Brix**

En la Tabla 10, se presentan las medias de los tratamientos sometidos al proceso de fermentación del efluente, contemplando su comportamiento en términos de grados Brix a lo largo del tiempo (Figura 8). Se observa que los tratamientos comienzan con un promedio de 6,0 °Brix, con la excepción de B15 y C15, que presentan 5,9 °Brix. A simple vista, se puede notar que los tratamientos A15 y A35 alcanzan valores constantes de 4,0 °Brix a los 12 días, mientras que los tratamientos B15, B35, C15 y C35 alcanzan ese valor a los 14 días.

En la tabla y figura mencionadas anteriormente, se puede observar que el tratamiento control alcanza su estabilidad de fermentación a los 14 días, al igual que los tratamientos B15, B35, C15 y C35, pero con la diferencia de que llega con 5 °Brix en lugar de 4 °Brix.

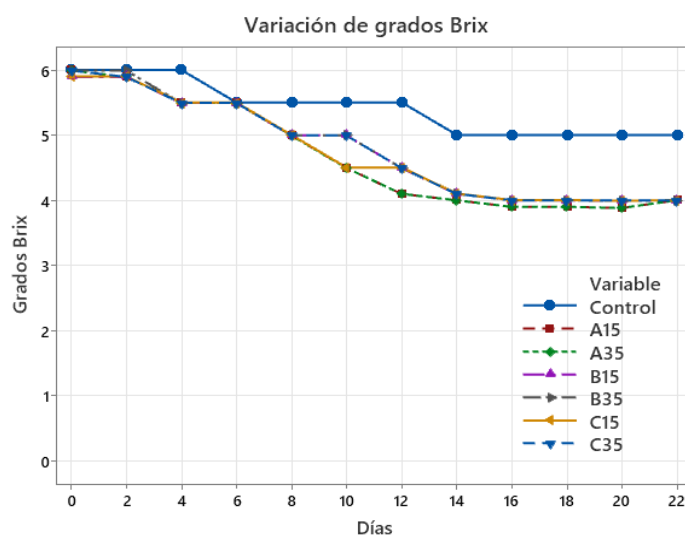
**Tabla 11**

*Media descriptiva de grados Brix a lo largo del tiempo de fermentación.*

| Tratamientos   | Tiempo (días) |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|----------------|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|                | 0             | 2   | 4   | 6   | 8   | 10  | 12  | 14  | 16  | 18  | 20  | 22  |
| <b>Control</b> | 6,0           | 6,0 | 6,0 | 5,5 | 5,5 | 5,5 | 5,5 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 |
| <b>A15</b>     | 6,0           | 5,9 | 5,5 | 5,5 | 5,0 | 4,5 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 |
| <b>A35</b>     | 6,0           | 5,9 | 5,5 | 5,5 | 5,0 | 4,5 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 |
| <b>B15</b>     | 5,9           | 5,9 | 5,5 | 5,5 | 5,0 | 5,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 |
| <b>B35</b>     | 6,0           | 6,0 | 5,5 | 5,5 | 5,0 | 5,0 | 4,5 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 |
| <b>C15</b>     | 5,9           | 5,9 | 5,5 | 5,5 | 5,0 | 4,5 | 4,5 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 |
| <b>C35</b>     | 6,0           | 6,0 | 5,5 | 5,5 | 5,0 | 5,0 | 4,5 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 |

**Figura 8**

*Variación de grados Brix en el efluente a lo largo del tiempo de fermentación.*



Con el objetivo de determinar qué tratamiento fue más eficiente durante la fase de fermentación, se evaluó el consumo de azúcares reductores y grados Brix.

### **Resultado de consumo de azúcares reductores**

Respecto al consumo de azúcares reductores se determinó cada tratamiento a los 18 días, momento en el cual el proceso alcanzó su estabilidad. Los resultados se resumen en la Tabla 11, que muestra las medias del consumo de glucosa para cada tratamiento.



Al analizar los datos, se destaca que el tratamiento A35 muestra un notable agotamiento de glucosa, con un valor de 11,78 g/L. De manera similar, el tratamiento A15 también presenta un consumo de 11,73 g/L. Mientras que los demás tratamientos exhiben consumos de azúcares por debajo de los 11 g/L de glucosa.

Además, en el diagrama de barras de la Figura 9, se puede observar claramente cómo el tratamiento control tiene el consumo de glucosa más bajo, con 8,80 g/L, en comparación con los tratamientos que contienen levaduras.

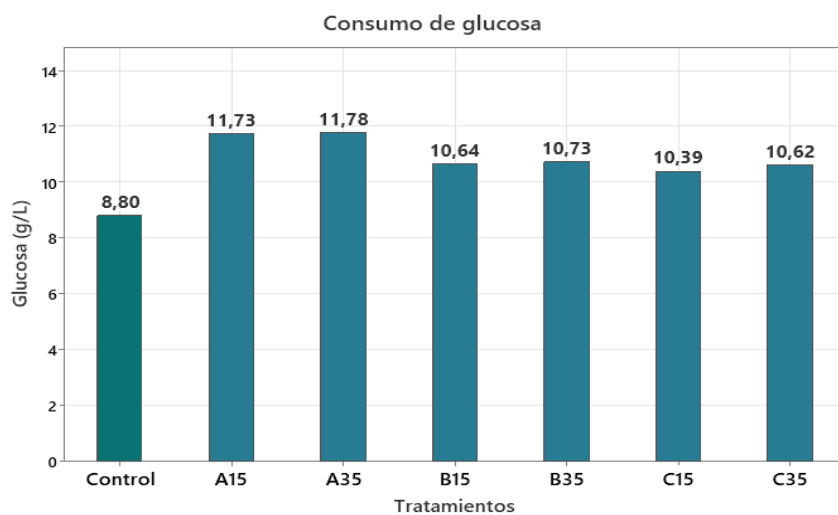
**Tabla 12**

*Media descriptiva del consumo de glucosa a los 18 días de fermentación.*

| <b>Tratamientos</b> | <b>Consumo de glucosa (g/L)</b> |
|---------------------|---------------------------------|
| <b>Control</b>      | 8,80                            |
| <b>A15</b>          | 11,73                           |
| <b>A35</b>          | 11,78                           |
| <b>B15</b>          | 10,64                           |
| <b>B35</b>          | 10,73                           |
| <b>C15</b>          | 10,39                           |
| <b>C35</b>          | 10,62                           |

**Figura 9**

*Consumo de glucosa a los 18 días de fermentación del efluente.*



### **Resultado de consumo de grados Brix**

La determinación del consumo de grados Brix se llevó a cabo a los 12 días (Tabla 12), considerando como referencia el primer tratamiento que alcanzó la estabilidad en el proceso de fermentación. Los tratamientos A15 y A35 muestran la mayor diferencia de °Brix, con una variación de 2, seguidos de cerca por el tratamiento B15 con una diferencia de 1,9. Por otro lado, los tratamientos B35, C15 y C35 presentan diferencias de 1,5, 1,4 y 1,5 °Brix, respectivamente.

En la Figura 9, se puede apreciar visualmente esta variación entre los tratamientos, destacando especialmente la diferencia en el tratamiento control, que apenas registra un consumo de 0,5 °Brix.

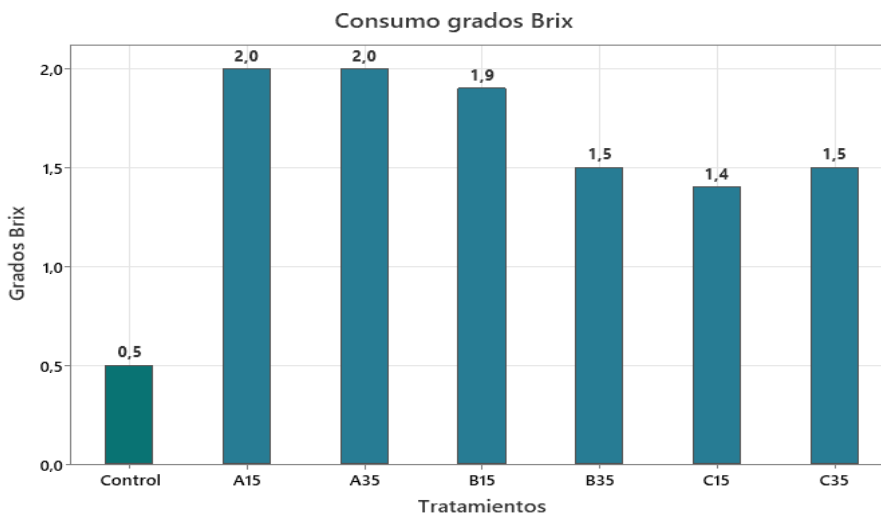
**Tabla 13**

*Media descriptiva del consumo de grados Brix a los 12 días de fermentación.*

| Tratamientos   | Consumo de °Brix |
|----------------|------------------|
| <b>Control</b> | 0,5              |
| <b>A15</b>     | 2,0              |
| <b>A35</b>     | 2,0              |
| <b>B15</b>     | 1,9              |
| <b>B35</b>     | 1,5              |
| <b>C15</b>     | 1,4              |
| <b>C35</b>     | 1,5              |

**Figura 10**

*Consumo de grados Brix a los 12 días de fermentación del efluente.*



### ***Resultados de análisis de varianzas para consumo de glucosa y grados Brix***

El análisis de varianza fue realizado entre los tratamientos que contenían levaduras para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre ellos y así seleccionar aquel con un mejor consumo y menor cantidad de levadura, evitando costos innecesarios. En la Figura 11 se presentan los resultados del análisis de varianza de dos factores para evaluar el efecto de la marca de levadura, concentración y su interacción en el consumo de azúcares reductores y grados Brix.

El análisis de los resultados reveló que la marca de levadura tuvo un impacto significativo en el consumo de glucosa (Figura 11A) con un p-valor de 0,0. Por otro lado, la concentración de levadura no mostró diferencias significativas en el mismo resultado, con un p-valor de 0,29. Además, no se encontró una interacción significativa entre la marca y la concentración, con un p-valor de 0,81. Esto quiere decir que, la elección de la marca de levadura resulta ser un factor importante a considerar, mientras que la concentración y su interacción con la marca no presentan una influencia significativa en el resultado del consumo de glucosa.

En la Figura 11B, se puede observar que los resultados del consumo de grados Brix difieren del consumo de azúcares reductores, ya que en este caso todos arrojaron un p-valor de 0,0. Esto indica que tanto la marca de levadura como la concentración de levadura y su interacción tienen un impacto significativo en el resultado del consumo de grados Brix. A diferencia del consumo de glucosa, donde solo la marca de levadura mostró un efecto significativo

**Figura 11**

*ANOVA de dos factores para, de izquierda a derecha, (A) Consumo de azúcares reductores (glucosa), (B) Consumo de grados Brix.*

(A)

**Información del factor**

| Factor        | Tipo | Niveles | Valores |
|---------------|------|---------|---------|
| Tipo          | Fijo | 3       | A; B; C |
| concentracion | Fijo | 2       | 15; 35  |

**Análisis de Varianza**

| Fuente             | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------------------|----|-----------|-----------|---------|---------|
| Tipo               | 2  | 9,1428    | 4,57141   | 45,42   | 0,000   |
| concentracion      | 1  | 0,1197    | 0,11967   | 1,19    | 0,286   |
| Tipo*concentracion | 2  | 0,0435    | 0,02177   | 0,22    | 0,807   |
| Error              | 24 | 2,4154    | 0,10064   |         |         |
| Total              | 29 | 11,7214   |           |         |         |

(B)

**Información del factor**

| Factor        | Tipo | Niveles | Valores |
|---------------|------|---------|---------|
| concentracion | Fijo | 2       | 15; 35  |
| Tipo          | Fijo | 3       | A; B; C |

**Análisis de varianza para respuesta transformada**

| Fuente             | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F     | Valor p |
|--------------------|----|-----------|-----------|-------------|---------|
| concentracion      | 1  | 0,09062   | 0,090620  | 2102993,42  | 0,000   |
| Tipo               | 2  | 1,64680   | 0,823398  | 19108293,62 | 0,000   |
| concentracion*Tipo | 2  | 0,32785   | 0,163927  | 3804194,15  | 0,000   |
| Error              | 24 | 0,00000   | 0,000000  |             |         |
| Total              | 29 | 2,06527   |           |             |         |

**Resultados de prueba Tukey para consumo de glucosa y grados Brix**

La prueba de Tukey se utilizó para comparar las medias y determinar las diferencias en el consumo de azúcares reductores. Según la Figura 12, la marca A mostró una diferencia significativa con respecto a las marcas B y C, pero estas últimas no difirieron entre sí. Al analizar los resultados de la prueba para la concentración (Figura 13), las concentraciones 15 y 35 g/L de levadura mostraron la misma letra, lo que indica que no presentan diferencias estadísticamente significativas. En cuanto al análisis de la interacción entre marca y concentración, se observó que los tratamientos A15 y A35 no difirieron entre sí, mientras que los demás sí mostraron diferencias (Figura 14). Estos resultados indican que la elección de la marca de levadura es importante para el consumo de azúcares reductores.

**Figura 12**

*Prueba Tukey para marca de levadura respecto al consumo de azúcares reductores.*

#### Comparaciones por parejas de Tukey: Tipo

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Tipo | N  | Media   | Agrupación |
|------|----|---------|------------|
| A    | 10 | 11,7541 | A          |
| B    | 10 | 10,6843 | B          |
| C    | 10 | 10,5029 | B          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**Figura 13**

*Prueba Tukey para concentración de levadura respecto al consumo de azúcares reductores.*

#### Comparaciones por parejas de Tukey: concentracion

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| concentracion | N  | Media   | Agrupación |
|---------------|----|---------|------------|
| 35            | 15 | 11,0436 | A          |
| 15            | 15 | 10,9173 | A          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**Figura 14**

*Prueba Tukey para interacción de marca y concentración de levadura respecto al consumo de azúcares reductores.*

#### Comparaciones por parejas de Tukey: Tipo\*concentracion

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Tipo*concentracion | N | Media   | Agrupación |
|--------------------|---|---------|------------|
| A 35               | 5 | 11,7822 | A          |
| A 15               | 5 | 11,7260 | A          |
| B 35               | 5 | 10,7296 | B          |
| B 15               | 5 | 10,6391 | B          |
| C 35               | 5 | 10,6190 | B          |
| C 15               | 5 | 10,3868 | B          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

Para el análisis del consumo de grados Brix, se realizaron pruebas de Tukey con el fin de evaluar la influencia de la concentración y la marca de levadura en los resultados. Los resultados de las pruebas mostraron que tanto la concentración de 15 g/L como la concentración de 35 g/L, así como las marcas A, B y C, mostraron diferencias significativas entre sí, como se muestra en las Figuras 15 y 16. Estas diferencias estadísticamente significativas indican que la elección de la concentración y la marca de levadura puede tener un impacto en el consumo de grados Brix.

### Figura 15

Prueba Tukey para marca de levadura respecto al consumo de grados Brix.

#### Comparaciones por parejas de Tukey: Tipo

##### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Tipo | N  | Media   | Agrupación |
|------|----|---------|------------|
| A    | 10 | 2,00000 | A          |
| B    | 10 | 1,72336 | B          |
| C    | 10 | 1,45182 | C          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

### Figura 16

Prueba Tukey para concentración de levadura respecto al consumo de grados Brix.

#### Comparaciones por parejas de Tukey: concentración

##### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| concentracion | N  | Media   | Agrupación |
|---------------|----|---------|------------|
| 15            | 15 | 1,80370 | A          |
| 35            | 15 | 1,70052 | B          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

En la Figura 17, los resultados de la prueba Tukey para la interacción de los factores previamente mencionados, proporcionan información sobre las comparaciones de medias. Se observa que los tratamientos A15 y A35 no muestran diferencias estadísticamente significativas entre sí, lo mismo ocurre

con los tratamientos B35 y C35, que son similares entre sí. Por otro lado, los tratamientos B15 y C15 no muestran similitudes con el resto de los tratamientos ni entre ellos.

### Figura 17

*Prueba Tukey para interacción de marca y concentración de levadura respecto al consumo de grados Brix.*

#### Comparaciones por parejas de Tukey: concentracion\*Tipo

##### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| concentracion*Tipo | N | Media   | Agrupación |
|--------------------|---|---------|------------|
| 35 A               | 5 | 2,00000 | A          |
| 15 A               | 5 | 2,00000 | A          |
| 15 B               | 5 | 1,90000 | B          |
| 35 B               | 5 | 1,50038 | C          |
| 35 C               | 5 | 1,50000 | C          |
| 15 C               | 5 | 1,40020 | D          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

En base a los resultados obtenidos en el análisis de los tratamientos de fermentación con levaduras comerciales, se pudo determinar que no existen diferencias significativas entre los tratamientos A15 y A35, tanto para el consumo de azúcares reductores, como para grados Brix. Sin embargo, al considerar el objetivo de minimizar el uso de levadura y evitar costos innecesarios, el tratamiento A15 se destaca como el más adecuado, ya que logra consumir 15 g/L de levadura Fermipan.

En relación al tiempo de fermentación, los grados Brix alcancen su estabilidad al día 12, aunque no se consuman completamente. Por otro lado, los azúcares reductores, específicamente la glucosa, presentan un consumo significativo a los 18 días, coincidiendo con la estabilidad de la fermentación.

Las pruebas estadísticas realizadas indican que la condición óptima de fermentación del efluente es someterlo a una concentración de 15 g/L de levadura comercial Fermipan durante 18 días.

#### **Resultado de consumo de glucosa y grados Brix para tratamiento óptimo y control**

En la Tabla 14 se presenta un resumen del consumo de glucosa y grados Brix para el tratamiento control y A15. Es evidente que ambos parámetros muestran un consumo inferior en el tratamiento

control en comparación con el tratamiento con levaduras. Con el propósito de verificar la eficacia de la fermentación del efluente con levaduras, se realizó un análisis de varianza de un factor entre el tratamiento A15 y el control, evaluando el consumo de glucosa y los grados Brix a los 18 días (Figura 18).

**Tabla 14**

*Consumo de glucosa y grados Brix de tratamiento control y A15.*

| Tratamiento | Consumo glucosa (g/L) | Consumo grados Brix |
|-------------|-----------------------|---------------------|
| Control     | 8,80                  | 0,5                 |
| A15         | 11,73                 | 2                   |

**Resultado de análisis de varianza para glucosa y grados Brix entre tratamiento óptimo y control**

Los análisis estadísticos que se visualizan en la Figura 18, encontraron una diferencia estadísticamente significativa tanto en el consumo de glucosa (p-valor = 0,002), como en los grados Brix (p-valor = 0,00) entre el tratamiento A15 y el control a los 18 días de fermentación.

**Figura 18**

*ANOVA de un factor para, de izquierda a derecha, (A) Consumo de azúcares reductores (glucosa), (B) Consumo de grados Brix.*

(A)

**Análisis de Varianza**

| Fuente      | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|-------------|----|-----------|-----------|---------|---------|
| Tratamiento | 1  | 6,199     | 6,1987    | 22,15   | 0,002   |
| Error       | 8  | 2,239     | 0,2798    |         |         |
| Total       | 9  | 8,437     |           |         |         |

(B)

**Análisis de Varianza**

| Fuente      | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F     | Valor p |
|-------------|----|-----------|-----------|-------------|---------|
| Tratamiento | 1  | 5,62769   | 5,62769   | 37515401,11 | 0,000   |
| Error       | 8  | 0,00000   | 0,00000   |             |         |
| Total       | 9  | 5,62769   |           |             |         |

**Destilación**

Luego de determinar el tratamiento más eficaz para la fermentación del efluente, se sometió el efluente con ese tratamiento a destilación simple por un periodo de 96 horas para obtener 20 mL de



destilado. Luego mediante cromatografía de gases se obtuvo que el destilado presentaba 5,64 %v/V de etanol.

## Capítulo V: Discusión

El uso del POME como sustrato para la producción de etanol ha sido ampliamente investigado en diversos estudios, especialmente en Malasia, debido a que es uno de los principales productores mundiales de palma (Index, 2022). Un ejemplo de este trabajo es el estudio de Deb *et al.*, (2019), en el cual se llevó a cabo un pretratamiento enzimático ácido-base al POME para aumentar la disponibilidad de azúcares reductores. Por otro lado, M. Z. Alam *et al.*, (2009) evaluaron la bioconversión directa del efluente de extracción de aceite de palma a bioetanol, pero en este caso empleando cultivos mixtos que incluyeron *Trichoderma Harzianum*, *Phenerochaete chrysosporium* y *Mucor hiemalis*, en combinación con levadura (*Saccharomyces cerevisiae*). Además, se han realizado otros estudios donde se evalúa la producción de bioetanol a partir del POME mediante fermentación espontánea. En estas investigaciones experimentales, se implementaron otros tipos de sustrato, tales como bagazo de caña y licor de maceración de maíz, con el objetivo de mejorar el proceso de fermentación (Wakil *et al.*, 2013).

En la evaluación de las condiciones de fermentación, se procede a la caracterización del efluente, arrojando resultados que indican un pH del efluente de 4,82, una concentración de 13,72 g/L de azúcares reductores y un contenido de 5,9 °Brix. Estos hallazgos guardan semejanza con los presentados por Deb en su estudio del 2019, donde se informa un pH de 4,7 junto con una concentración de 11,26 g/L de azúcares reductores en el efluente proveniente del proceso de extracción de aceite rojo de palma. Además, los resultados del análisis de caracterización llevado a cabo por Garzón *et al.*, (2015) han revelado un contenido de 6,5 °Brix en el efluente, acompañado de 14,56 g/L de azúcares reductores. La disparidad de los resultados de caracterización puede darse por una serie de factores, como el tipo de materia prima, los métodos de extracción, las condiciones de procesamiento, los tratamientos previos y las condiciones ambientales (Bonomie & Reyes, 2012). También se puede atribuir a los métodos

analíticos utilizados por cada investigación (Quiñones *et al.*, 2015).

La caracterización del efluente también ha registrado una temperatura de 72,84°C, a la salida del proceso. Este resultado guarda concordancia con las declaraciones emitidas por (Haan & Takriff, 2022), donde señala que las temperaturas del efluente se sitúan en un rango de 70-80°C. La temperatura del efluente puede estar ligada a diversos factores, incluyendo la cantidad de agua caliente que utilizan durante el proceso y la gestión específica de las etapas (Wood, 1989).

Para determinar el tiempo óptimo de fermentación de acuerdo con las directrices de Cruz *et al.*, (2018) se llevó a cabo la evaluación de la reducción de azúcares, con el propósito de identificar el tiempo que transcurre en llegar la concentración a un valor constante. En este estudio, se realizaron mediciones de los grados Brix y los azúcares reductores (glucosa) para determinar el período en el cual el efluente experimentó el proceso de fermentación mediante el uso de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*).

Los resultados indicaron que los grados Brix tienden a estabilizarse alrededor del día 14, con una disminución desde 6 hasta 4.0 °Brix. En cambio, la cantidad de glucosa muestra un patrón diferente, alcanzando su punto más bajo a los 18 días con un consumo promedio de 11 g/L. Para comprender por qué los grados Brix experimentan esta estabilidad más temprana en el proceso de fermentación y no son consumidos por completo, podemos recurrir a las investigaciones de Cazor (2006), las cuales nos señalan que los grados Brix miden diversos azúcares solubles, incluyendo la sacarosa, lo que refleja una mezcla compleja. La sacarosa, al ser un tipo de disacárido, necesita descomponerse en azúcares más simples, como la glucosa y la fructosa, antes de que las levaduras puedan utilizarla como fuente de energía, por lo cual es más recomendable tomar como referencia el tiempo de fermentación en función de los azúcares reductores (Li *et al.*, 2020).

A partir de los hallazgos obtenidos en este estudio, se ha logrado identificar al tratamiento más efectivo como el A15, el cual se caracteriza por presentar una concentración de 15 g/L de levadura de la

marca Fermipan. Dicho tratamiento ha demostrado un consumo de glucosa de 11,73 g/L tras un período de fermentación de 18 días. Estos hallazgos coinciden con los resultados presentados por Pazmiño (2016) cuyo enfoque abarcó una serie de concentraciones de levadura que variaron desde 5 g/L hasta 60 g/L. En dicho estudio, el tratamiento más exitoso fue aquel que utilizó 15 g/L de levadura. Esta coincidencia en ambos estudios puede atribuirse a que los niveles superiores de concentración de levaduras pueden causar inhibiciones, estrés oxidativo y competencia nutricional (Lucero, 2015).

En el análisis realizado por Deb *et al.*, (2019) se notificó un consumo de glucosa de 26 g/L, cifra que difiere significativamente con el consumo registrado en el estudio actual (11,73 g/L). El aspecto que diferencia ambos enfoques radica en la metodología utilizada en la preparación del efluente de extracción de aceite de palma. En el trabajo de Deb y sus colaboradores, se aplicó un proceso de pretratamiento químico que involucra una reacción de hidrólisis ácida al efluente, con el propósito de mejorar la disponibilidad de glucosa en el medio de fermentación.

Este resultado también contrasta con los obtenidos en otros estudios que emplean el Efluente de Extracción de Aceite de Palma (POME). En dichas investigaciones, los consumos de azúcares reductores superaron los 20 g/L. Por ejemplo, en el trabajo de Wakil *et al.*, (2013) se combinó el efluente con bagazo de caña, lo que obtuvo una mayor cantidad de azúcares disponibles, resultando en un consumo más elevado. Además, en la investigación de Pazmiño (2016), se utilizaron cepas de levadura presentes en el mismo efluente, lo que facilitó una fermentación más activa al estar las levaduras ya aclimatadas al entorno.

La evaluación del consumo de glucosa en el presente estudio, con un valor registrado de 11,73 g/L, no presenta gran diferencia cuando se compara con trabajos donde el efluente no recibió tratamiento previo, como lo demuestra la investigación de Zambrano (2011). En este caso la fermentación fue facilitada por cepas de levadura aisladas previamente del efluente, lo que resultó en un consumo de glucosa de 14,6 g/L.

En el marco de esta investigación, se ha evidenciado que la fermentación del efluente de extracción de aceite de palma en presencia de levaduras comerciales desencadena un impacto favorable en el proceso fermentativo, contrastando con el escenario de no intervención. Los resultados revelaron un consumo de 11,73 g/L de glucosa mediante la fermentación con levadura comercial (tratamiento A15), en comparación con un consumo de 8,8 g/L en el efluente no tratado. Esta tendencia también se manifestó en los grados Brix, dado que el tratamiento control apenas experimentó un cambio de 0,5 °Brix, mientras que el tratamiento A15 exhibió una variación de 2 °Brix. La mejora en la fermentación inducida por la presencia de levaduras puede atribuirse a su capacidad para metabolizar y transformar los sustratos de manera más efectiva en condiciones controladas. Estas observaciones se respaldan con los planteamientos de Qadir (2019), quien subraya que el refuerzo o introducción de levaduras al efluente asegura el proceso de fermentación alcohólica, a diferencia de una fermentación espontánea que puede dar lugar a una gama de productos alcohólicos indeseados.

La destilación del efluente de extracción de aceite de palma, en promedio, puede prolongarse hasta 48 horas, variando según el equipo empleado (Alam *et al.*, 2009). Esta diversidad en los tiempos se deriva de la naturaleza del efluente POME, que engloba una diversidad de compuestos orgánicos, como ácidos grasos, glicerol y tocoferoles, entre otros elementos volátiles (Van, 2016). La interacción y coexistencia de estos componentes contribuyen a una velocidad de destilación prolongada, ya que cada compuesto exhibe su propio punto de ebullición y comportamiento durante la destilación. La viscosidad del efluente, que fluctúa entre 100 y 200 cP, añade una complejidad adicional al proceso de evaporación y condensación (Tan *et al.*, 2021).

En este caso, mediante destilación simple del efluente, se logró obtener una cantidad de 20 mL luego de un período de 96 horas, demostrando una duración prolongada en comparación con destilaciones que involucraron efluentes de menor complejidad. Un ejemplo relevante es la destilación de aguas residuales fermentadas provenientes del proceso de bebidas azucaradas, en la cual el proceso

se completaba en un lapso de 8 horas (Isla *et al.*, 2013). Además de las disparidades en la composición de los efluentes, otros factores que ejercen influencia es el equipo de destilación utilizado. En el proyecto actual, se empleó equipos de destilación más simples que no permitieron mantener una temperatura constante, en contraste con el enfoque adoptado en el proyecto antes mencionado, donde se utilizó un rotavapor que es conocido por su sofisticación y capacidad para mantener condiciones controladas (AbuHassan *et al.*, 2018).

Asimismo, otro factor que podría contribuir es la cantidad de etanol presente en la muestra. Se sabe que una muestra con un menor contenido de etanol podría requerir más tiempo para destilarse debido a su mayor punto de ebullición, en comparación con una muestra que contenga una mayor concentración de etanol, esto debido a que el alcohol, en presencia de otros componentes más pesados y con enlaces intermoleculares más fuertes, podría requerir una mayor cantidad de energía para separar las moléculas y alcanzar el punto de ebullición (Lynd *et al.*, 1991).

Al analizar el contenido alcohólico del destilado, se obtuvo un porcentaje de alcohol del 5.64% mediante la técnica de cromatografía de gases. Este valor guarda similitud con los resultados reportados por Chen *et al.*, (2021), quienes, en su estudio, lograron alcanzar un porcentaje de etanol del 6.2% al fermentar el efluente de extracción de aceite de palma con una concentración inicial de glucosa de 15 g/L.

## Capítulo VI: Conclusiones

En relación a las condiciones de fermentación, el análisis del efluente procedente de la extractora agrícola Río Manso S.A. reveló un pH inicial de 4,82, acompañado de un contenido de azúcares reductores de 13,72 g/L y una lectura de 5,91 ° Brix. Estos valores de pH y concentración de azúcares ofrecieron el entorno para el desarrollo de la actividad fermentativa por parte de las levaduras comerciales empleadas en el proceso.

Se identificó que la máxima fermentación del efluente ocurrió en un lapso de 18 días, lo que subraya la importancia de este intervalo temporal para lograr una transformación eficaz de los azúcares contenidos en el efluente hacia etanol.

Se estableció que una concentración de 15 g/L de levadura comercial (FERMIPAN) fue óptima para el proceso de producción de etanol, logrando una concentración de alcohol de 5,64%. Este resultado sugiere que la presencia de levaduras en dicha cantidad favorece la conversión eficiente de los azúcares presentes en el efluente, lo cual es de gran relevancia para la implementación de futuros procesos de fermentación a mayor escala.

Esta investigación ofrece una valiosa perspectiva para la industria del aceite de palma y la producción de biocombustibles. La caracterización detallada del efluente, la identificación de condiciones óptimas de fermentación y la concentración adecuada de levadura son elementos esenciales para la eficiencia y sostenibilidad en la producción de etanol. Al lograr una fermentación en 18 días, se establece un marco temporal relevante para futuros proyectos. Estos resultados no solo reducirían los residuos de la industria, sino que también promoverían biocombustibles responsables y sostenibles.

## Capítulo VII: Recomendaciones

Basándose en los resultados obtenidos en esta investigación, se sugiere explorar en profundidad la implementación de métodos de pretratamiento del efluente de extracción de aceite de palma.

Diversas técnicas, como la hidrólisis enzimática y tratamientos físicos o químicos, podrían ser aplicados con el objetivo de mejorar la liberación de azúcares presentes en el efluente. Al optimizar la disponibilidad de sustratos fermentables, se puede anticipar un aumento significativo en la producción de etanol durante el proceso de fermentación.

Además, sería valioso continuar explorando el impacto de diferentes tipos de levaduras y su influencia en la fermentación del efluente. Probar diversas concentraciones y cepas de levadura podría arrojar resultados que puedan optimizar aún más el proceso de producción de etanol. Una atención especial a la temperatura y las condiciones de destilación también podría ser crucial para mejorar la eficiencia de la etapa de purificación del etanol.

Se recomienda también llevar a cabo un análisis económico y de viabilidad técnica para evaluar la implementación a gran escala de la producción de etanol a partir del efluente de extracción de aceite de palma. Estos análisis podrían considerar aspectos como los costos de producción, el potencial rendimiento y los beneficios ambientales en comparación con las técnicas convencionales de producción de biocombustibles.

## Capítulo VIII Bibliografía

- Abebe, M. (2008). History of Ethanol. *University of Nebraska-Lincoln College of Journalism*, 24–27.  
<https://digitalcommons.unl.edu/journalismstudent>
- AbuHassan, Y., Alin, M., Iqbal, T., Nazzal, M., Asce, M., & Abbas, A. R. (2018). Effect of Extraction Solvents on Rheological Properties of Recovered Asphalt Binders. *Journal of Transportation Engineering, Part B: Pavements*, 145(1), 04018064. <https://doi.org/10.1061/JPEODX.0000096>
- Al-Dhabi, N. A., Esmail, G. A., & Valan Arasu, M. (2020). Sustainable conversion of palm juice wastewater into extracellular polysaccharides for absorption of heavy metals from Saudi Arabian wastewater. *Journal of Cleaner Production*, 277, 124252. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124252>
- Alam, M., Kabbashi, N., & Razak, A. (2007). Liquid state bioconversion of domestic wastewater sludge for bioethanol production. *IFMBE Proceedings*, 15, 479–482. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-68017-8\\_120](https://doi.org/10.1007/978-3-540-68017-8_120)
- Alam, M. Z., Kabbashi, N. A., & Hussin, S. N. I. S. (2009). Production of bioethanol by direct bioconversion of oil-palm industrial effluent in a stirred-tank bioreactor. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(6), 801–808. <https://doi.org/10.1007/s10295-009-0554-7>
- Alejos, C., & Calvo, E. (2015). Biocombustibles de primera generación. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím*, 18(2), 19–30.
- Anaya, R., & Molina, D. C. (2018). Evaluación económica y financiera de las alternativas de uso de los residuos de la materia prima de una planta industrial de extracción de palma de aceite. *Dictamen Libre*, 1(22), 77–89. <https://doi.org/10.18041/2619-4244/dl.22.5029>
- AOAC. (1990). Honey. In *AOAC:Official Methods of Analysis* (Vol. 1, Issue Volume 1).
- Ardila, J., & Cuadros, E. (2021). *EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES TOTALES, REDUCTORES Y GRADOS BRUX DURANTE LA FERMENTACIÓN DE PULPA DE CAFÉ PARA LA OBTENCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO* (Vol. 3, Issue 2).



Arellano, J. (2017). ANÁLISIS COMPARATIVO DE LOS IMPACTOS AMBIENTALES ENTRE PROYECTOS SOBRE EXTRACTORAS DE PALMA AFRICANA. *Ciencias de Seguridad y Defensa, II*, 41–56.

ASOBANCA. (2022). *Guía de extracción de aceites y grasas de origen vegetal*.

Ávila, R., Rivas, B., Motzezak, R., & Chirinos, M. (2012). Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en Agave cocui Trelease Content of total, Reducing and Non-Reducing Sugars in Agave cocui Trelease. *MULTICIENCIAS, 12*, 129–135.

Bastidas, D. (2013). *Sacarificación y Fermentación Simultánea (SSF) de raquis de palma africana (Elaeis guineensis) pretratado con ácido y álcali para la producción de etanol de segunda generación*. PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR.

Becerra, M. (2014). BEBIDAS FERMENTADAS A PARTIR DE MAÍZ Y ARROZ: ELABORACIÓN, CONTROL Y CONSERVACIÓN. *Alimentos Hoy, 22(6)*, 727–735.

<https://eje.bioscientifica.com/view/journals/eje/171/6/727.xml>

Bello, D., Carrera, E., & Diaz, Y. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúca utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. *Icidca, 40*, 45–50.

<https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120664006.pdf>

Bernal, F. (2001). El cultivo de la palma de aceite y su beneficio. Guía general para el nuevo palmicultor. In *Fedepalma*.

Bonomie, M., & Reyes, M. (2012). Estrategia ambiental en el manejo de efluentes en la extracción de aceite de palma. *Telos: Revista de Estudios Interdisciplinarios En Ciencias Sociales, 14(3)*, 323–332.

<http://ojs.urbe.edu/index.php/telos/article/view/2121>

Bothast, R., & Schlicher, M. (2005). Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol.

*Applied Microbiology and Biotechnology, 67(1)*, 19–25. [https://doi.org/10.1007/s00253-004-1819-](https://doi.org/10.1007/s00253-004-1819-8)

8

Burgos, L. J. (2020). Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el

método del ácido 3,5-dinitrosalicílico. *Questionar: Investigación Específica*, 7(1), 57–66.

<https://doi.org/10.29097/23461098.308>

Cala, S., Edgar, Y., & García, J. (1999). *Manual de procedimientos de laboratorio en plantas de beneficio*.

Castillo, E. (2016). Production of Cellulosic Ethanol from Palm EmptyFruit Bunches: the Perspective of Ecopetrol. *Palmas*, 2(37), 115–118.

<https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/11927/11920>

Cazor, A., Deborde, C., Moing, A., Rolin, D., & This, H. (2006). Sucrose, Glucose, and Fructose Extraction in Aqueous Carrot Root Extracts Prepared at Different Temperatures by Means of Direct NMR Measurements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 4681–4686.

<https://doi.org/10.1021/JF060144I>

CFN. (2022). *Ficha sectorial de palma africana*. [https://www.cfn.fin.ec/wp-](https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/downloads/biblioteca/2019/Fichas-sectoriales-2-Trimestre-2019/FS-Pesca-y-Elaboracion.pdf)

[content/uploads/downloads/biblioteca/2019/Fichas-sectoriales-2-Trimestre-2019/FS-Pesca-y-Elaboracion.pdf](https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/downloads/biblioteca/2019/Fichas-sectoriales-2-Trimestre-2019/FS-Pesca-y-Elaboracion.pdf)

Chen, F., Zhang, Q., Ma, J., Zhu, Q., Wang, Y., & Liang, H. (2021). Effective remediation of organic-metal co-contaminated soil by enhanced electrokinetic-bioremediation process. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 15(6), 113-. <https://doi.org/10.1007/S11783-021-1401-Y>

Chew, C. L., Low, L. E., Chia, W. Y., Chew, K. W., Liew, Z. K., Chan, E. S., Chan, Y. J., Kong, P. S., & Show, P. L. (2021). Prospects of Palm Fruit Extraction Technology: Palm Oil Recovery Processes and Quality Enhancement. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1890117>, 38(S1), 893–920.

<https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1890117>

Chew, C. L., Ng, C. Y., Hong, W. O., Wu, T. Y., Lee, Y. Y., Low, L. E., Kong, P. S., & Chan, E. S. (2021).

Improving Sustainability of Palm Oil Production by Increasing Oil Extraction Rate: a Review. *Food and Bioprocess Technology*, 14(4), 573–586. [https://doi.org/10.1007/S11947-020-02555-](https://doi.org/10.1007/S11947-020-02555-1/METRICS)

[1/METRICS](https://doi.org/10.1007/S11947-020-02555-1/METRICS)

- Cortes, C., Cayón, D., Aguirre, V., & Chaves, B. (2006). *Respuestas de Palma de Vivero a la Aplicación de Residuos de la Planta Extractora*. 27(3), 23–32.
- Cruz, M. L., Resende, M. M. de, & Ribeiro, E. J. (2018). Evaluation of process conditions in the performance of yeast on alcoholic fermentation. *Https://Doi.Org/10.1080/00986445.2017.1423061*, 205(6), 846–855.  
<https://doi.org/10.1080/00986445.2017.1423061>
- Deb, N., Alam, M. Z., Al-khatib, M. F. R., & Elgharbawy, A. (2019). Development of Acid-Base-Enzyme Pretreatment and Hydrolysis of Palm Oil Mill Effluent for Bioethanol Production. *Liquid Biofuel Production*, 197–217. <https://doi.org/10.1002/9781119459866.ch6>
- Dos Santos, L. V., De Barros Grassi, M. C., Gallardo, J. C. M., Pirolla, R. A. S., Calderón, L. L., De Carvalho-Netto, O. V., Parreiras, L. S., Camargo, E. L. O., Drezza, A. L., Missawa, S. K., Teixeira, G. S., Lunardi, I., Bressiani, J., & Pereira, G. A. G. (2016). Second-Generation Ethanol: The Need is Becoming a Reality. *Industrial Biotechnology*, 12(1), 40–57. <https://doi.org/10.1089/ind.2015.0017>
- Février, C. (2004). Bananas y Plátanos para Alimentar Cerdos: Aspectos de la Composición Química de las Frutas y de su palatabilidad. *Revista Computadorizada de Producción Porcina*, 11(3), 5–24.  
<http://www.ciap.org.ar/Sitio/Archivos/BANANAS Y PLATANOS PARA ALIMENTAR CERDOS ASPECTOS DE LA COMPOSICION QUIMICA DE LAS FRUTAS Y DE SU PALATABILIDAD.pdf>
- Fiallos, M. (2021). *INDUSTRIA EXTRACTORA DE ACEITE DE PALMA AFRICANA, *Elaeis guineensis* Jacq.* [UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE].  
<http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/11520/1/03 EIA 531 TRABAJO DE GRADO.pdf>
- Forero, D. C., Hormaza, P. A., Moreno, L. P., & Ruíz, R. (2012). Generalidades sobre la morfología y fenología de la palma de aceite. In H. Angulo (Ed.), *Generalidades sobre la morfología y fenología de la palma de aceite*.
- Garzón, P., Ochoa, V. de L., & Peñafiel, R. (2015). Estudio de la generación de gas metano a partir del

agua residual del proceso de extracción de aceite crudo de palma en biodigestores experimentales.

*ACI Avances En Ciencias e Ingenierías*, 7(2). <https://doi.org/10.18272/aci.v7i2.274>

Goldemberg, J., & Guardabassi, P. (2010). The potential for first-generation ethanol production from sugarcane. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 4(1), 17–24. <https://doi.org/10.1002/BBB.186>

Gómez, J. M. (2016). Analysis of the variation in the efficiency in the production of biofuels in Latin America. *Estudios Gerenciales*, 32(139), 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.estger.2016.01.001>

GREPALMA. (2019). *GUÍA AMBIENTAL DE LA AGROINDUSTRIA DE PALMA DE ACEITE EN GUATEMALA*. 17–29. <https://www.grepalma.org/wp-content/uploads/2019/11/GUÍA-AMBIENTAL-DE-LA-AGROINDUSTRIA-DE-PALMA-DE-ACEITE-EN-GUATEMALA-VF-1.pdf>

Guerrero, E. (2015). *Estudio Sobre La Recirculación De Agua De Producción Utilizada Para La Extracción Del Aceite Crudo De Palma*.

Haan, T. Y., & Takriff, M. S. (2022). Tecnologías de residuos cero para el desarrollo sostenible en las plantas de beneficio de aceite de palma. *Palmas*, 43(3), 40–55.

<https://doi.org/10.56866/ISSN.0121-2923>

Herbas, P. M. (2011). Estudio de la influencia de grados Brix del chaguar mishque para la obtención de una bebida carbonatada tipo champagne. *Universidad Técnica De Ambato Facultad De Ciencia E Ingeniería En Alimentos*, 1–85.

IDEAM. (2020). *INSTRUCTIVO DE ENSAYO DETERMINACIÓN SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES*.

<http://sgi.ideam.gov.co/documents/412030/35488871/M-S-LC->

[I018+INSTRUCTIVO+DE+ENSAYO+DETERMINACIÓN+SÓLIDOS+SUSPENDIDOS+TOTALES+v3.pdf/5bf936bf-ea6a-4ea7-95bf-c2534cf44dbf?version=1.0&previewFileIndex=](http://sgi.ideam.gov.co/documents/412030/35488871/M-S-LC-I018+INSTRUCTIVO+DE+ENSAYO+DETERMINACIÓN+SÓLIDOS+SUSPENDIDOS+TOTALES+v3.pdf/5bf936bf-ea6a-4ea7-95bf-c2534cf44dbf?version=1.0&previewFileIndex=)

IIGE. (2020). *Estudio de la viabilidad técnica de producción de Bioetanol a partir de residuos lignocelulósicos de los cultivos mayoritarios en Ecuador- fondos AECID – Instituto de Investigación Geológico y Energético*. <https://www.geoenergia.gob.ec/estudio-de-la-viabilidad-tecnica-de->

produccion-de-bioetanol-a-partir-de-residuos-lignocelulosicos-de-los-cultivos-mayoritarios-en-ecuador-fondos-aacid/

Index. (2022). *Producción de Aceite de palma por país en miles de toneladas - Ranking de países.*

<https://www.indexmundi.com/agriculture/?producto=aceite-de-palma&variable=produccion&l=es>

INEC. (2021). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2020 Contenido. *Programa*

*Nacional de Estadística 2021-2025 Instituto Nacional de Estadística y Censos, Quito-Ecuador.*, 1–49.

Isla, M. A., Comelli, R. N., & Seluy, L. G. (2013). Wastewater from the soft drinks industry as a source for

bioethanol production. *Bioresource Technology*, *136*, 140–147.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.089>

Jiménez, S. (2014). *Generalidades y características de la Palma Africana.*

<https://es.slideshare.net/SanticrisJJ/palma-africana-caa-de-azucar>

Li, X., Wang, X., Meng, X., Dijkhuizen, L., & Liu, W. (2020). Structures, physico-chemical properties,

production and (potential) applications of sucrose-derived  $\alpha$ -D-glucans synthesized by

glucansucrases. *Carbohydrate Polymers*, *249*(July), 116818.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116818>

Llenque, L., Quintana, A., & Torres, L. (2020, May 10). BIOETHANOL PRODUCTION FROM ORGANIC

PLANT WASTE. *REBIOL*, 21–29.

<https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbbiol/article/view/2991/3319>

Loh, S. K., Lai, M. E., & Ngatiman, M. (2019). Vegetative growth enhancement of organic fertilizer from

anaerobically-treated palm oil mill effluent (POME) supplemented with chicken manure in food-energy-water nexus challenge. *Food and Bioproducts Processing*, *117*, 95–104.

<https://doi.org/10.1016/J.FBP.2019.06.016>

Lucero, P. (2015). Efecto del uso de levaduras y concentración de °Brix en las características

físicoquímicas y sensoriales de vino de fresa con miel [Zamorano]. In *Zamorano*.

<https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/8c5bc078-f8fc-4424-a18d-eb891c624c35/content>

- Lynd, L. R., Cushman, J. H., Nichols, R. J., & Wyman, C. E. (1991). Fuel ethanol from cellulosic biomass. *Science (New York, N.Y.)*, *251*(4999), 1318–1323. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.251.4999.1318>
- Macias, A., Pérez, J., & Torres, J. (2022). *Pasado , presente y perspectiva del Bioetanol en Ecuador Past , present and perspective of Bioethanol in Ecuador. 15*, 38–51.
- Mahmod, S. S., Takriff, M. S., AL-Rajabi, M. M., Abdul, P. M., Gunny, A. A. N., Silvamany, H., & Jahim, J. M. (2023). Water reclamation from palm oil mill effluent (POME): Recent technologies, by-product recovery, and challenges. *Journal of Water Process Engineering*, *52*, 103488. <https://doi.org/10.1016/J.JWPE.2023.103488>
- Malacatus, P. N., Bastidas, P. I., & Chuquitarco, P. A. (2019). Análisis químico y de peligrosidad de lodos del sistema de tratamiento de aguas residuales en la industria de palma. *FIGEMPA: Investigación y Desarrollo*, *1*(2), 24–32. <https://doi.org/10.29166/revfig.v1i2.1726>
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, *31*(3), 426–428. [https://doi.org/10.1021/AC60147A030/ASSET/AC60147A030.FP.PNG\\_V03](https://doi.org/10.1021/AC60147A030/ASSET/AC60147A030.FP.PNG_V03)
- Ministerio del Ambiente. (2010). *Acuerdo Ministerial 131-Políticas Generales para promover las buenas practicas ambientales en las entidades del sector público* (p. 10).
- Montañez, L. J. (2020). Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico. *Revista de Investigación*, *13*(1), 57–66. <https://doi.org/10.29097/23461098.308>
- Montoya, C., Cochard, B., Flori, A., Cros, D., Lopes, R., Cuellar, T., Espeout, S., Syaputra, I., Villeneuve, P., Pina, M., Ritter, E., Leroy, T., & Billotte, N. (2014). Genetic architecture of palm oil fatty acid composition in cultivated oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) compared to its wild relative *E. oleifera*

- (H.B.K) Cortés. *PLoS ONE*, 9(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095412>
- Morales, Y. ., Kafarov, V., Ruiz, F., & Castillo, E. . (2010). MODELAMIENTO DE LOS PROCESOS DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE PRIMERA Y SEGUNDA GENERACIÓN A PARTIR DE CAÑA DE AZÚCAR. ETAPAS; PREPARACIÓN, MOLIENDA Y CLARIFICACIÓN. *Umbral Científico*, 47–59.
- Muñoz, D., Pantoja, A., & Cuatin, M. (2014). Utilization of agroindustriales residues as biofuels and biorefinery. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 12(2), 10–19.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v12n2/v12n2a02.pdf>
- Muñoz, N., Rosero, B., & Mayorca, D. (2018). Revisión de modelos matemáticos aplicados al control y la simulación del proceso de fermentación. *I+T+C Investigación, Ciencia y Tecnología*, 12, 20–28.
- OIT. (2020). *Identificación rápida en seguridad y salud en el trabajo en la planta extractora de aceite de palma*. 15–30.
- Okezie, E., Okezie, U. M., Iweala, E. J., & Ugbogu, E. A. (2021). Pretreatment of red palm oil extracted from palm fruit ( *Elaeis guineensis* ) attenuates carbon tetrachloride induced toxicity in Wistar rats. *Phytomedicine Plus*, 1, 100079. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100079>
- Olivares, M. J. (2017). *Estudio de las condiciones de hidrólisis sobre polisacáridos pécticos y su aplicación en la determinación de azúcares neutros por cromatografía líquida* (Vol. 87, Issue 1,2). Universidad de Valparaíso-CHILE.
- Pascual, F., González, D., & Pacheco, J. (2016). ENERGÍAS RENOVABLES Y MEDIO AMBIENTE: SU REGULACIÓN JURÍDICA EN ECUADOR. *Revista Universidad y Sociedad*, 8(3), 179–183.  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2218-36202016000300024&lng=es&nrm=iso&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2218-36202016000300024&lng=es&nrm=iso&tlng=en)
- Pazmiño, A. G. (2016). *Estudio de la generación de gas metano y remoción de carga orgánica de tratamiento de aguas residuales de una extractora de aceite crudo de palma* [Universidad San Francisco de Quito]. <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/5703/1/126457.pdf>

- Pelaez, L., & Trsitán, J. (2022). *Comparación de los Métodos de Tratamiento Biológico y Físicoquímico para la Reducción del DBO Generado en Efluentes de Plantas Extractoras de Aceite de Palma (POME)*. Universidad César Vallejo.
- Potter, L. P. (2010). La Industria Del Aceite De Palma En Ecuador: ¿Un Buen Negocio Para Los Pequeños Agricultores? *Eutopía - Revista de Desarrollo Económico Territorial*, 39–54.  
<https://doi.org/10.17141/eutopia.2.2010.1028>
- Procaña. (2022). *La historia del Alcohol Carburante*. <https://procana.org/site/historia-del-alcohol-carburante/>
- Puerta, G. I. (2012). Factores, Procesos Y Controles En La Fermentación Del Café. *Avances Técnicos Cenicafé*, 1(422), 1–12. <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/327/1/avt0422.pdf>
- Pulido, D. (2009). Costos ambientales en el proceso de extracción del aceite de palma. Estudio de un caso. *Venezolana de Gerencia*, 14(46), 228–247.  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-99842009000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-99842009000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Qadir, G. (2019). Yeast a magical microorganism in the wastewater treatment. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(4), 1498–1500.  
<https://www.phytojournal.com/archives/2019.v8.i4.9158/yeast-a-magical-microorganism-in-the-wastewater-treatment>
- Quiñones, Y. A., Calvo, A. M., Caraballos, I., Rodríguez, H., Noa, I. M., & Alonso, H. L. (2015). Validación de un método analítico para la determinación del contenido de monobromado en el Dermofural por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (CLAE), fase inversa. *Revista Cubana de Química*, 27(2), 163–181. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-54212015000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212015000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es)  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S2224-54212015000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2224-54212015000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es)



- Ramí, T. (2013). Agroindustria Y Concentración. *Agroindustria y Concentración de La Propiedad de La Tierra.*, 10–40. <https://biblio.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/54959.pdf>
- Riquelme, D. (2019). *DISEÑO DE UNA PLANTA PROCESADORA DE COMPOSTAJE A PARTIR DEL RAQUIS DE LA EXTRACCIÓN DE ACEITE DE PALMA AFRICANA PARA LA EMPRESA EXTRACTORA RIO MANSO EXA S.A.* ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.
- Robles, R., Feliciano, O., & Chirre, J. H. (2016). Estudio del consumo de azúcares reductores durante la fermentación alcohólica del mosto de uva Italia para la obtención de vino blanco. *Industrial Data*, 19(2), 104. <https://doi.org/10.15381/idata.v19i2.12842>
- Rodríguez, K. (2021a). *Evaluación de tratamiento para los efluentes de plantas Extractoras de Aceite de Palma (Elaeis guineensis) en el Cantón La Concordia.* Universidad Agraria del Ecuador.
- Rodríguez, K. (2021b). *UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS INGENIERO AMBIENTAL.*
- Sangucho, W., & Rodriguez, A. (2018). *Evaluación De La Viabilidad Del Uso Del Raquis Como Lecho Filtrante Para El Tratamiento De Agua Residual Proveniente De La Extracción De Aceite De Palma.* <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/19452/1/CD-8847.pdf>
- Sigüencia, J., Delgado, J., Posso, R., & Sánchez, J. (2020). Estimación del potencial de producción de bioetanol para los residuos de la corteza del cacao en Ecuador. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 21(3), 1–20. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol21\\_num3\\_art:1429](https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1429)
- Silva, L., Bermúdez, A., & Castiblanco, D. (2012). La biotecnología aplicada al bioetanol. *Boletín Tecnológico*, 1–46. [http://www.sic.gov.co/sites/default/files/files/Propiedad Industrial/Boletines\\_Tecnologicos/BTBioetanol.pdf](http://www.sic.gov.co/sites/default/files/files/Propiedad Industrial/Boletines_Tecnologicos/BTBioetanol.pdf)
- Silva, V., & Arévalo, N. (2009). *Separación de los componentes de las mezclas: destilación simple* (Vol. 2, Issue 26).
- Sociedad Agrícola e Industrial San Carlos S.A. (2019). Memorias de sostenibilidad 2019. *Revista San*

Carlos, 1–68. [https://www.sancarlos.com.ec/wp-content/uploads/2021/04/MEMORIA-SAN-CARLOS-2020-PDF-ALTA-para-web19042021\\_compressed.pdf](https://www.sancarlos.com.ec/wp-content/uploads/2021/04/MEMORIA-SAN-CARLOS-2020-PDF-ALTA-para-web19042021_compressed.pdf)

Soria, G. (2019). *EVALUAR LA GESTIÓN AMBIENTAL DE RESIDUOS DE LODO DE PALMISTE EN LA EMPRESA PROCEPALMA CEBA S.A, A FIN DE VERIFICAR LA POSIBILIDAD DE SU USO COMO NUTRIENTES EN GRANJAS, EN LA CIUDAD DE SANTO DOMINGO* [SEK].

<https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/3470/2/TESIS DANNY SORIA.pdf>

Suárez, J., Jácome, A., & Ures, P. (2015). *SBR REACTORES CON FUNCIONAMIENTO SECUENCIAL SERIE: TRATAMIENTOS SECUNDARIOS*.

Suárez, C., Garrido, N. A., & Guevara, C. A. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Aña de Azúcar*, 50(1m), 20–28.

Suhaily, S. S., Jawaid, M., Abdul, H. P. S., & Ibrahim, F. (2012). A review of oil palm biocomposites for furniture design and applications: Potential and challenges. *BioResources*, 7(3), 4400–4423.

<https://doi.org/10.15376/biores.7.3.4400-4423>

Tabe-Ojong, M. P., Molua, E. L., Nanfouet, M. A., Mkong, C. J., Kiven, V., & Ntegang, V. A. (2023). Oil palm production, income gains, and off-farm employment among independent producers in Cameroon. *Ecological Economics*, 208, 107817. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLECON.2023.107817>

Tan, Y. Y., Bello, M. M., & Abdul, A. (2021). Towards cleaner production in palm oil industry: Advanced treatment of biologically-treated POME using palm kernel shell-based adsorbent. *Cleaner Engineering and Technology*, 2(December 2020), 100079.

<https://doi.org/10.1016/j.clet.2021.100079>

Tigse, I. (2015). *GENERACIÓN DE BIOGÁS MEDIANTE PROCESOS METANOGENICOS A PARTIR DE EFLUENTES DE EXTRATOCOCA EXTRACTORA RIO COCA S.A.* [ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS].

<http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/10151/1/236T0362.pdf>

- Vallejo, A. (2009). *Obtención de bioetanol a partir de aguas residuales almidonosas mediado por Saccharomyces diastaticus*. [Universidad Autónoma Agraria].  
<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/419/60979s.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=Es posible obtener bioetanol a,enzimático previo al proceso fermentativo.&text=Obtener bioetanol a partir de,enzimático%2C mediada por Saccharo>
- Van, J. (2016). Subproductos de la palma de aceite como materias primas de biomasa\* Oil Palm By-Products as Biomass Commodities. *Palmas*, 2(37), 149–156.
- Velayuthan, A. (2016). Procesamiento y control del aceite de palma. *Palmas*, 413–420.
- Wakil, S., Fasiku, S., Adelabu, A., & Onilude, A. (2013). Production of Bioethanol from Spontaneous Fermentation of Palm Oil Mill Effluent (POME). *Researcher*, 5(2), 28–35.  
<http://www.sciencepub.net/researcher>
- Wood, L. (1989). Desarrollo de las Aplicaciones de los efluentes de las plantas extractoras de aceite y caucho \*. *Fedepalma*, 65(750).
- Yáñez, W. D., Quevedo, J. N., García, R. M., Herrera, S. N., & Luna, Á. E. (2020). Determinación de la relación carga química grados Brix en hojas y frutos de banano clon Williams (Musa x paradisiaca). *Revista Universidad y Sociedad*, 12(5), 421–430.  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2218-36202020000500421&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2218-36202020000500421&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Zalduegui, P. (1975). *BIOQUÍMICA DE LAS FERMENTACIONES PROF PILAR CARBONERO ZALDUEGUI*. la E.T.S. de Ingenieros Agrónomos de Madrid.
- Zambrano, D. (2011). *Aislamiento E Identificación De Cepas Microbianas Como Potenciales Agentes Para Biorremediación De Efluentes En Una Extractora De Palma Aceitera* [ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO].  
<http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/1653/1/236T0055.pdf>

Zambrano, M. (2017). *ANÁLISIS DE LA COMERCIALIZACIÓN DE LA GASOLINA ECOPAÍS Y SU INCIDENCIA EN LA ECONOMÍA DE LA CIUDAD DE GUAYAQUIL DURANTE* [Universidad Estatal de Guayaquil].

[http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/20725/1/Tesis Mylene Arias Guerrero.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/20725/1/Tesis_Mylene_Arias_Guerrero.pdf)

Zamora, T., Prado, A., Capataz, J., & Peña, J. M. (2014). Demostraciones prácticas de los retos y oportunidades de la producción de bioetanol de primera y segunda generación a partir de cultivos tropicales. *Educación Química*, 25(2), 122–127. [https://doi.org/10.1016/S0187-893X\(14\)70534-8](https://doi.org/10.1016/S0187-893X(14)70534-8)