



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

“Estudio de las características de las diferentes variedades de caña de azúcar (ECU-01; EC-06; EC-08) considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol”

Quezada Lata, Jessenia Elizabeth

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniería Agropecuaria

PhD. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee

15 de Febrero del 2022



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO**

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, **“ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LAS DIFERENTES VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR (ECU-01; EC-06; EC-08) CONSIDERANDO DISTINTOS MICROORGANISMOS FERMENTATIVOS PARA LA OBTENCIÓN DE ALCOHOL”** fue realizado por la señorita **Quezada Lata, Jessenia Elizabeth** el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 15 de febrero del 2022



PhD. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee

C. C.: 12053488673



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO**

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Yo, **Quezada Lata, Jessenia Elizabeth**, con cédula de ciudadanía n°2350184376, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LAS DIFERENTES VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR (ECU-01; EC-06; EC-08) CONSIDERANDO DISTINTOS MICROORGANISMOS FERMENTATIVOS PARA LA OBTENCIÓN DE ALCOHOL”** 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.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 15 de febrero del 2022

Firma

Quezada Lata, Jessenia Elizabeth

C.C.: 2350184376



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO**

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Yo **Quezada Lata, Jessenia Elizabeth**, con cédula de ciudadanía n°2350184376, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **“ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LAS DIFERENTES VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR (ECU-01; EC-06; EC-08) CONSIDERANDO DISTINTOS MICROORGANISMOS FERMENTATIVOS PARA LA OBTENCIÓN DE ALCOHOL”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 15 de Febrero del 2022

Firma

Quezada Lata, Jessenia Elizabeth

C.C.: 2350184376

Dedicatoria

A Dios, mi padre celestial quien ha sido guía de este camino, quien me ha regalado salud y vida para lograr este anhelado objetivo.

A toda mi familia, principalmente a mis adorados padres Nuvia y Gilberto por su apoyo infinito, confianza, ejemplo, por ser las personas más importantes de mi vida, mi razón de ser, pilar, fuerza y motivo para luchar y seguir adelante. Mi eterno agradecimiento hacia ustedes, los amo con todo mi corazón.

A mis queridísimos hermanos Izander y Anderson por ser parte de los momentos más bonitos e importantes de mi vida, por su apoyo, cariño y comprensión.

A todos mis abuelitos, especialmente a mi Charito por ser mi segunda madre, por siempre haberme brindado su cariño, comprensión y apoyo en todo momento.

A todos mis tíos, en especial a Fabián, Bernabé, Anita, Abraham y Juan por estar pendientes de mí y brindarme su apoyo en todo momento.

De igual forma a todos mis primos quienes me han brindado su apoyo y han sido cómplices de muchas aventuras.

A mis familiares y amigos por sus lindos consejos y todo su apoyo incondicional brindado.

¡Por ustedes y para ustedes todo mi esfuerzo y dedicación!

Jessenia Quezada L.

Agradecimiento

A Dios por haber sido mi guía y compañía a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de dificultad, por haberme brindado una vida llena de bendiciones, experiencias, aprendizajes y sobre todo felicidad.

A la prestigiosa Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE por abrirme las puertas de su seno científico, por permitir formarme personal y profesionalmente.

A todos los docentes y personal de la carrera de Agropecuaria por haber compartido sus conocimientos a lo largo de este camino profesional, de manera muy especial a mi directora de tesis PhD Sungey Sánchez por su acogida, entrega y apoyo brindado en la realización de esta investigación, así como al PhD Juan Neira por sus conocimientos, aporte y apoyo en este trabajo investigativo.

A la Ingeniera Katty Medina por su comprensión, paciencia y colaboración en el desarrollo de esta investigación.

Al PhD Raúl Castillo, director de CINCAE, quien con su calidez humana y profesional contribuyó de manera importante en la realización de este trabajo.

Mi gratitud también va dirigida a todos mis amigos y compañeros, quienes desinteresadamente me han brindaron todo su apoyo y conocimientos e hicieron de esta experiencia una de las más bonitas y especiales, infinitas gracias a ustedes Sebitas, Mave, Kevin S., Yarito, Fabri, Byron, Roger, Jessi, Omar, Fer, Yadi, Lauri, Juver, Cris C., la lista aún sigue pero no me alcanzaría para nombrar a todos, solo me queda decirles muchas gracias y que Dios los bendiga.

Jessenia Quezada L.

Índice de contenido

Carátula.....	1
Reporte de verificación de contenido.....	2
Certificación.....	3
Responsabilidad de Autoría.....	4
Autorización de publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimiento	7
Índice de contenido	8
Índice de tablas	14
Índice de figuras	16
Resumen.....	18
Abstract.....	19
Capítulo I.....	20
Introducción.....	20
Objetivos	22
Objetivo General.....	22
Objetivos Específicos.....	22
Hipótesis	23
Hipótesis para el factor A (Variedades).....	23
Hipótesis para el factor B (Microorganismos fermentativos).....	23

Capítulo II.....	24
Revisión de Literatura.....	24
Caña de azúcar	24
Generalidades	24
Clasificación taxonómica	24
Morfología	25
Producción	27
Variedades en estudio.....	29
Derivados	32
Alcohol etílico.....	32
Propiedades y características fisicoquímicas del alcohol etílico	32
Características generales del alcohol etílico	33
Detalle paso a paso de la producción industrial de etanol	35
Fermentación alcohólica	37
Utilización de levaduras en los procesos de fermentación alcohólica	37
Capítulo III.....	39
Metodología	39
Ubicación del área de investigación	39
Ubicación política	39
Ubicación geográfica.....	39
Ubicación ecológica.....	40

	10
Materiales.....	41
Elaboración del fermentado del jugo de caña	41
Determinación de pH	41
Determinación de Acidez Titulable	42
Determinación de Sólidos Solubles.....	42
Determinación de Densidad Relativa	43
Determinación de Cenizas	43
Determinación del Espacio Libre.....	44
Determinación del Contenido de Alcohol Etílico	44
Determinación de presencia de metanol en alcohol etílico mediante pruebas toxicológicas	45
Recuento de Poblaciones Microbianas	45
Métodos	46
Obtención de la materia prima	46
Extracción del jugo de caña azucarera	46
Elaboración del fermentado del jugo de caña	46
Análisis fisicoquímico del jugo de caña fresco y alcohol etílico obtenido	47
Análisis microbiológico del jugo de caña fresco	48
Diseño experimental.....	50
Factores de estudio	50
Unidades experimentales.....	51
Tipo de diseño	51

Análisis estadístico	52
Esquema del análisis de varianza	52
Análisis funcional	52
Variables evaluadas.....	52
Determinación de sólidos solubles en jugo de caña fresco.....	52
Determinación de pH en jugo de caña fresco	53
Determinación de acidez titulable en jugo de caña fresco	53
Determinación de densidad en jugo de caña fresco y alcohol etílico	54
Recuento de poblaciones microbianas en jugo de caña fresco	55
Determinación del espacio libre en bebidas alcohólicas	56
Determinación de cenizas en bebidas alcohólicas.....	57
Determinación de acidez en bebidas alcohólicas	58
Determinación del contenido de alcohol etílico	60
Determinación de la presencia de metanol en alcohol etílico mediante pruebas toxicológicas.....	60
Rendimiento de alcohol.....	62
Análisis organoléptico.....	62
Capítulo IV	63
Resultados	63
Caracterización físicoquímica del jugo de caña de azúcar	63
Caracterización microbiológica del jugo de caña de azúcar fresco	63

Análisis descriptivo de las variables evaluadas en el estudio de tres variedades de caña de azúcar (ECU-01; EC-06; EC-08) considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol.	64
Análisis de varianza para la variable grados alcohólicos	64
Análisis de varianza para la variable densidad	65
Análisis de varianza para la variable espacio libre.....	66
Análisis de varianza para la variable cenizas	67
Análisis de varianza para la variable acidez total.....	68
Análisis de varianza para la variable rendimiento	69
Prueba de significancia (Tukey $p < 0,05$) para los factores del estudio de tres variedades de caña de azúcar (ECU-01; EC-06; EC-08) considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol.	70
Prueba de significancia de Tukey para el Factor A (Variedades).....	70
Prueba de significancia Tukey para el Factor B (Microorganismo Fermentativo)....	73
Prueba de significancia de Tukey para la interacción A*B (Variedad x Microorganismo fermentativo)	76
Resultado de gráficos de superficie de respuesta	80
Gráfico de superficie de respuesta de la variable Grados Alcohólicos	80
Gráfico de superficie de respuesta de la variable Densidad	81
Gráfico de superficie de respuesta de la variable Espacio Libre	82
Gráfico de superficie de respuesta de la variable Ceniza	83
Gráfico de superficie de respuesta de la variable Acidez Total.....	84

Gráfico de superficie de respuesta de la variable Rendimiento	85
Análisis de componentes principales	86
Resultados del estudio del análisis sensorial	90
Balance de materiales equivalente al mejor tratamiento (a_2b_2).....	92
Capítulo V	93
Discusión.....	93
Caracterización fisicoquímica y microbiológica del jugo de caña	93
Factor A (Variedad).....	95
Factor B (Microorganismo fermentativo)	97
Interacción A*B (Variedad * Microorganismo fermentativo).....	99
Análisis sensorial	102
Capítulo VI	103
Conclusiones.....	103
Caracterización fisicoquímica del jugo de caña.....	103
Factor A (Variedad).....	103
Factor B (Microorganismo fermentativo)	104
Interacción A*B (Variedad * Microorganismo fermentativo).....	105
Análisis sensorial	105
Recomendaciones.....	106
Capítulo VII	107
Bibliografía	107

Índice de tablas

Tabla 1 Principales países productores de azúcar a nivel mundial.....	28
Tabla 2 Caracteres morfológicos de tres variedades de caña de azúcar.....	30
Tabla 3 Recursos empleados en la elaboración del fermentado de caña de azúcar.	41
Tabla 4 Recursos empleados en la determinación del pH en el jugo de caña fresco. ...	41
Tabla 5 Recursos empleados en la determinación de acidez en el jugo de caña fresco y alcohol obtenido de los diferentes tratamientos.	42
Tabla 6 Recursos empleados para la determinación de sólidos solubles en el jugo de caña fresco.....	42
Tabla 7 Recursos empleados para la determinación de densidad relativa en el jugo de caña fresco y alcohol obtenido de los diferentes tratamientos.	43
Tabla 8 Recursos empleados para la determinación de ceniza en el alcohol obtenido.	43
Tabla 9 Recursos empleados para la determinación de espacio libre del alcohol obtenido.	44
Tabla 10 Recursos empleados para la determinación de alcohol etílico.....	44
Tabla 11 Recursos empleados en la realización de pruebas toxicológicas para determinar la presencia de metanol en alcohol etílico.	45
Tabla 12 Recursos empleados en el recuento microbiológico del jugo de caña fresco.	45
Tabla 13 Factores y niveles a probar en el estudio de las características de diferentes variedades de caña de azúcar considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol.....	50
Tabla 14 Unidades experimentales (Tratamientos) a comparar en el estudio de las características de diferentes variedades de caña de azúcar considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol.....	51

Tabla 15 Esquema de análisis de varianza para el estudio de las características de diferentes variedades de caña de azúcar considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol.....	52
Tabla 16 Caracterización físicoquímica del jugo de caña fresco y pasteurizado.	63
Tabla 17 Caracterización microbiológica del jugo de caña fresco.	63
Tabla 18 Análisis de varianza para la variable grados alcohólicos del alcohol etílico obtenido de la caña de azúcar.....	64
Tabla 19 Análisis de varianza para la variable densidad del alcohol etílico obtenido de la caña de azúcar.....	65
Tabla 20 Análisis de varianza para la variable espacio libre del alcohol etílico obtenido de la caña de azúcar.	66
Tabla 21 Análisis de varianza para la variable cenizas del alcohol etílico obtenido de la caña de azúcar.....	67
Tabla 22 Análisis de varianza para la variable acidez total del alcohol etílico obtenido de la caña de azúcar.	68
Tabla 23 Análisis de varianza para la variable rendimiento del alcohol etílico obtenido de la caña de azúcar.	69
Tabla 24 Resultados de la prueba de significancia Tukey para el Factor A en las variables físico-químicas.	70
Tabla 25 Resultados de la prueba de significancia Tukey para el Factor B en las variables físico-químicas.	73
Tabla 26 Resultados de la prueba de significancia Tukey para la interacción A*B en las variables físico-químicas.	76
Tabla 27 Matriz de correlación de los componentes principales.....	86

Índice de figuras

Figura 1 Finalidades de los derivados de la caña de azúcar.....	32
Figura 2 Propiedades y características físicoquímicas del alcohol etílico.....	33
Figura 3 Características de calidad en la producción del etanol.....	34
Figura 4 Proceso general de la obtención de Etanol.....	34
Figura 5 Proceso de obtención de etanol en cuatro secciones.	35
Figura 6 Descripción de la fermentación alcohólica.	37
Figura 7 Mapa de ubicación geográfica del lugar donde se desarrolló la investigación.	40
Figura 8 Diagrama de flujo de la obtención de alcohol etílico a partir del jugo de caña de azúcar.	48
Figura 9 Diagrama de flujo de la obtención de alcohol etílico a partir de la inoculación de levaduras en el jugo de caña de azúcar.	49
Figura 10 Coloración obtenida para la determinación de metanol a través del reactivo de Schiff.	61
Figura 11 Verificación de la presencia de metanol mediante el ensayo con yodo e hidróxido de sodio.	62
Figura 12 Prueba de significancia en las características físico-químicas del alcohol según las variedades (Factor A).....	70
Figura 13 Prueba de significancia en las características físico-químicas del alcohol según las variedades (Factor B).....	73
Figura 14 Prueba de significancia en las características físico-químicas del alcohol de la interacción A*B.	77
Figura 15 Gráfico de superficie de respuesta para Grados Alcohólicos.	80
Figura 16 Gráfico de superficie de respuesta para Densidad.....	81
Figura 17 Gráfico de superficie de respuesta para Espacio Libre.	82

Figura 18	Gráfico de superficie de respuesta para Ceniza.....	83
Figura 19	Gráfico de superficie de respuesta para Acidez Total.	84
Figura 20	Gráfico de superficie de respuesta para Rendimiento.....	85
Figura 21	Gráfico de sedimentación.	87
Figura 22	Gráfico de componentes principales.	88
Figura 23	Resultado de análisis de conglomerados.....	89
Figura 24	Resultado del análisis sensorial en el alcohol etílico (Producto final).	90

Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo el estudio de las características de las diferentes variedades de caña de azúcar considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol. La materia prima se obtuvo del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE), los análisis de la materia prima y producto final se desarrollaron en el laboratorio de bromatología y biociencias de la Universidad de las Fuerzas Armadas "ESPE", ubicada en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, parroquia Luz de América. La experimentación se desarrolló mediante ANOVA bajo un esquema DBCA con arreglo factorial AxB (Variedades: ECU-01; EC-06; EC-08; Microorganismos fermentativos: *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*, Flora natural), conformado por 9 tratamientos con 3 repeticiones, con un total de 27 unidades experimentales. Para la diferencia entre medias de los tratamientos se aplicó la prueba de Tukey ($p > 0,05$). Las variables evaluadas frente al alcohol obtenido fueron: contenido de grados alcohólicos, densidad, espacio libre, cenizas, acidez total, rendimiento, análisis organoléptico, así mismo, se realizó un análisis fisicoquímico y microbiológico del jugo de caña fresco usado para la elaboración del alcohol. Los mejores resultados en cuanto a las variables evaluadas se reflejaron con el tratamiento a_2b_2 (EC-06 + *Saccharomyces bayanus*) ya que presentó una mejor densidad ($0,937 \text{ g/cm}^3$), acidez total ($5,00 \text{ mg/100cm}^3$), cenizas ($0,271 \text{ g/1000cm}^3$), mayor rendimiento de alcohol (26,16%) y contenido de grados alcohólicos ($51,00^\circ\text{GL}$).

PALABRAS CLAVE:

- **CAÑA DE AZÚCAR**
- **VARIEDADES**
- **MICROORGANISMOS FERMENTATIVOS**
- **ALCOHOL**

Abstract

The objective of this research was to study the characteristics of different varieties of sugarcane considering different fermentative microorganisms to obtain alcohol. The raw material was obtained from the Sugar Cane Research Center of Ecuador (CINCAE), the analysis of the raw material and final product were developed in the laboratory of bromatology and biosciences of the University of the Armed Forces "ESPE", located in the province of Santo Domingo de los Tsáchilas, Luz de América parish. The experimentation was developed by means of ANOVA under a DBCA scheme with AxB factorial arrangement (Varieties: ECU-01; EC-06; EC-08; Fermentative microorganisms: *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*, Natural flora), conformed by 9 treatments with 3 replications, with a total of 27 experimental units. The Tukey test ($p > 0,05$) was used to determine the difference between the means of the treatments. The variables evaluated against the alcohol obtained were: alcohol content, density, free space, ash, total acidity, yield, organoleptic analysis, and a physicochemical and microbiological analysis of the fresh cane juice used for the production of alcohol. The best results in terms of the variables evaluated were reflected with treatment a_2b_2 (EC-06 + *Saccharomyces bayanus*), since it presented better density ($0,937 \text{ g/cm}^3$), total acidity ($5,00 \text{ mg/100cm}^3$), ash ($0,271 \text{ g/1000cm}^3$), higher alcohol yield (26,16%) and alcohol content ($51,00^\circ\text{GL}$).

KEYWORDS:

- SUGAR CANE
- VARIETIES
- FERMENTATIVE MICROORGANISMS
- ALCOHOL

Capítulo I

Introducción

Según (Rincón & Becerra, 2020), la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), es una gramínea perenne cultivada en regiones tropicales y subtropicales del mundo, se valora como un cultivo altamente tolerante a las sequías, por ser una planta de tipo C₄, se considera que aprovecha de excelente la energía solar, por lo cual es muy eficiente, al momento de producir su biomasa (tallos y hojas). Este cultivo, se encuentra desarrollado en mayores proporciones en Brasil, India y China, de forma tradicional su producción, ha sido utilizada para la producción de azúcar, sin embargo, con apoyo y aplicación de la biotecnología, en la actualidad, existen varias formas de aprovechamiento, en donde el etanol (alcohol etílico), plásticos biodegradables y vacunas, son sus principales derivados alternativos (Tuárez, Laz, Bermello, & Díaz, 2020).

Dentro del mismo marco de ideas, la caña de azúcar en el Ecuador es el quinto cultivo más representativo del país, participa con el 9,44 % del total de la superficie plantada situándose principalmente en las provincias del Guayas, Loja e Imbabura, bajo la proporción de 95,3; 2,4 y 2,3 % respectivamente, se estima que el cultivo de caña de azúcar, mantiene una superficie plantada de 157 986 hectáreas de terreno, lo cual ha permitido alcanzar 11 390 245 toneladas métricas de producción (tallo fresco), finalmente se considera que el 96,71 % de su cosecha es destinada a la producción de azúcar, mientras que el restante, tiene variadas finalidades, como la producción de panela, alcohol etílico, entre otros derivados (INEC, 2021).

El cultivo de caña de azúcar depende principalmente de la producción de su biomasa (Fernández et al., 2016), por lo que es indispensable identificar la variedad a

plantar en una determinada área, la cantidad de producción que pueda generar y la calidad de los derivados obtenidos (Flórez, González, & López, 2019) con la finalidad de seleccionar el material genético, eficiente y rentable para los agricultores y por ende para la agroindustria (Oliva, Oliva, & Garcia, 2017).

A su vez, las variedades genéticas, dentro de los cultivos, se han presentado como una alternativa, que permite cubrir las necesidades específicas de los agricultores, a través de un redireccionamiento de las prácticas agrícolas tradicionales, mediante el uso de las tecnologías e investigación científica, aplicadas con la finalidad de mejorar tanto la calidad, como el rendimiento de la producción agrícola (Gallego, Zuaznábar, de León, & Matínez, 2017).

Por otra parte, dentro del área de agroindustrias, la caña de azúcar tiene varias finalidades de uso, principalmente para la producción de etanol y azúcar (Rincón & Becerra, 2020). Se considera, que antiguamente el alcohol etílico, era generalmente utilizado para la producción de bebidas alcohólicas, vinagres y conservas, sin embargo en la actualidad, su utilidad también se centra en la industria de fármacos, cosméticos, materiales explosivos, e incluso materiales plásticos (González, Del Ángel, González, Rodríguez, & Bustos, 2017). Cabe considerar, que dentro del procesamiento del alcohol etílico, participan los microorganismos fermentativos, siendo los más utilizados las levaduras *Saccharomyces* sp., por su rendimiento y rentabilidad (López, Querol, & Guillamon, 2013), siendo las cepas puras más utilizadas, *Saccharomyces cerevisiae*, *S. bayanus*, *S. arboricolus*, *S. cariocanus*, *S. kudriavzevii* y *S. uvarum* (Rodríguez, Pérez, Sangorrín, Barrio, & Lopes, 2014).

De acuerdo a lo mencionado por (Mukhtar, Asgher, Afghan, Hussain, & Zia-ul, 2010) generalmente dentro del ámbito de la producción de etanol y cerveza, la fermentación de azúcares es realizado, mediante la utilización de *S. cerevisiae*, ya que

mantiene mayor tolerancia a altas concentraciones de azúcares. Otra de las cepas más utilizadas es *S. bayanus*, la misma que tiene un amplio uso, en la obtención de alcohol y vinos, este microorganismo, tiene una alta aceptación, debido a su fácil adaptación y rápida fermentación (Miño, Martos, Herrera, & Gonzáles, 2015). Debido a la existencia, de una gran gama de cepas, se considera que mejores formas de identificar, los microorganismos fermentativos, más eficientes, es mediante la aplicación de un estudio físicoquímico, que permita, generar una ficha descriptiva, tanto de la cantidad máxima de rendimiento de etanol por gramo de glucosa, como de su capacidad productiva volumétrica (González, Del Ángel, González, Rodríguez, & Bustos, 2017).

Objetivos

Objetivo General

Estudiar las características de las diferentes variedades de caña de azúcar (ECU-01; EC-06; EC-08) considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol.

Objetivos Específicos

Evaluar tres variedades de caña de azúcar: ECU-01; EC-06; EC-08 para la obtención de alcohol.

Establecer la influencia de distintos microorganismos fermentativos en la obtención de alcohol etílico de las variedades de caña de azúcar (ECU-01; EC-06; EC-08).

Determinar mediante análisis físicoquímicos las características del producto final.

Determinar el rendimiento de la producción del alcohol obtenido a partir de las variedades de caña de azúcar en estudio.

Hipótesis

Hipótesis para el factor A (Variedades)

Ho: Las variedades de caña de azúcar no influyen en las características fisicoquímicas del alcohol.

Ha: Las variedades de caña de azúcar influyen en las características fisicoquímicas del alcohol.

Hipótesis para el factor B (Microorganismos fermentativos)

Ho: Los microorganismos fermentativos aplicados al jugo de caña no influyen en la obtención alcohol.

Ha: Los microorganismos fermentativos aplicados al jugo de caña influyen en la obtención de alcohol.

Capítulo II

Revisión de Literatura

Caña de azúcar

Generalidades

El origen de la caña de azúcar, se considera aún un tema polémico y de altercación en nuestros días, sin embargo, se tiene una aceptación general que proviene de la isla Nueva Guinea (Pérez, Santana, & Rodríguez, 2016). Se cultiva en zonas tropicales y subtropicales y ha demostrado un máximo rendimiento y producción en los trópicos. La caña de azúcar es una gramínea que ha sido utilizada desde tiempos remotos donde se cree que *Saccharum robustum* fue la primera especie existente (Aguirre, 2011). A partir del origen y difusión, la caña de azúcar circuló por muchos países desde la India a Persia y Egipto a través de las invasiones árabes de aquel entonces. Se introdujo en América desde el continente Europeo durante el segundo viaje realizado por Cristóbal Colón en el año de 1493 justamente en las islas Canarias hoy conocida como República Dominicana (Pérez, Santana, & Rodríguez, 2016); este cultivo a través del tiempo se ha ido expandiendo dentro de la mayoría de países tropicales de América en el que incluye Ecuador donde ha sido y es una gran riqueza agrícola.

Clasificación taxonómica

- División: Embryophita siphonogama
- Subdivisión: Angiospermae
- Clase: Monocotyledoneae
- Orden: Glumiflorae

- Familia: Gramineae
- Tribu: Andropogonae
- Subtribu: Saccharae
- Género: Saccharum
- Especie: *S. officinarum* L, *S. edule* Hassk., *S. barberi* Jeswiet, *S. sinense* Roxb., *S. spontaneum* L, *S. robustum* E.W.Brandes & Jeswiet ex Grassl (Subirós, 2000).

Morfología

Raíz

Parte fundamental de la planta, cumple con la función de absorber agua y sales minerales, proporcionar anclaje y almacenar materiales de reserva. Considerada de tipo fibroso que se extiende en suelos profundos hasta los 80 cm. Las raíces se desarrollan como raíces de plántulas después de la germinación de una semilla (Julien, Irvine, & Benda, 1989) o a su vez se originan como raíces adventicias en el tallo exactamente en la zona del entrenudo. Las raíces adventicias se clasifican en dos tipos: primordiales (delgadas y ramificadas, su duración es efímera) y permanentes (de mayor tamaño, más numerosas y largas; se forman como consecuencia del macollamiento) (Subirós, 2000).

Existen varios factores que afectan de una u otra manera en el desarrollo radical; (Subirós, 2000) cita a la variedad, textura, compactación del suelo, disponibilidad de agua como los más importantes.

Tallo

Se forma en el momento de germinar las yemas, no presenta ramificaciones, su sección transversal es de modo circular; está constituido por nudos y entrenudos, los nudos son normalmente espaciados, en intervalos de 15 a 25 cm, cada nudo está compuesto por una hoja generalmente de forma alterna, en cuya axila se encuentra la yema. En la parte superior del tallo (extremo distal) se localiza el meristema apical. El tallo de la caña de azúcar no presenta ramificaciones (Subirós, 2000).

El tallo es considerado como la parte morfológica de mayor interés comercial debido a que en él se almacenan carbohidratos que son producto final de la fotosíntesis de la planta, que posteriormente, por medio de procesos industriales se obtiene la sacarosa y otros derivados como melaza, cachaza, etanol (Subirós, 2000). (Marasca, Barbosa, Pereira, Paz, & Pereira, 2015) mencionan que factores como la variedad, edad fisiológica, condiciones climáticas y características del suelo son responsables de la variabilidad de la composición física y química de los tallos.

Hoja

La hoja es el órgano especializado en llevar a cabo la función de fotosíntesis, se encuentran insertas en cada nudo y poseen un arreglo alterno. Cada hoja consta de vaina y limbo, la vaina es de forma tubular y ancha en la parte superior, está unida al tallo en las bases de los nudos de modo alternado en dos líneas opuestas al vástago, esta unión es denominada lígula misma que está constituida por una aurícula de pubescencia variable en cada extremo (Marasca, Barbosa, Pereira, Paz, & Pereira, 2015). La forma y color de la lígula al igual que la aurícula son peculiaridades fundamentales en la diferenciación de las distintas variedades de caña de azúcar. De igual forma, la hoja posee una nervadura central que por lo general es de color blanco y

cóncavo en la parte superior o adaxial y color verde pálido y convexo en el lado abaxial (James, 2004).

Anatómicamente, la hoja se encuentra protegida externamente por la epidermis; ahí se ubican los estomas, tricomas y demás estructuras epidérmicas (Subirós, 2000).

Flor

(Subirós, 2000) señala que, la inflorescencia es una panícula abierta donde el color, forma, tamaño y ramificación depende de la variedad. La longitud de la panícula se distingue acorde a las especies existentes, donde, *S. officinarium* posee una panícula larga, *S. sinensis* intermedia, *S. spontaneum* y *S. barberi* corta. Por otra parte, la ramificación se incrementa en la base y disminuye en la parte superior hasta finalizar en un solo eje en el cual se encuentran las espiguillas en pares, unidas a un pedicelo con una sola flor.

Las flores son hermafroditas, constituidos por un ovario y dos estigmas largos y plumosos. Cada ovario posee un óvulo en el cual, una vez fertilizado da origen a la formación del futo. El fruto es un cariósipide de reducido tamaño aproximadamente 0,5 mm de ancho y 1,5 mm de largo. La formación de la flor de caña tiene aspectos provechosos al ser una buena fuente de material para trabajar en programas de mejoramiento genético (Subirós, 2000).

Producción

Se considera que el cultivo de caña, es un rubro muy representativo para la economía mundial, aunque no existe un dato actualizado y general de la producción mundial de caña de azúcar (Banko, 2005), se puede tomar como referencia la producción mundial de caña de azúcar generada en el año 2010, la cual fue de 1 700 millones de toneladas, dentro de 24 millones de hectáreas plantadas (Yaraecuador,

2010), otra forma de relacionar la productividad del cultivo de caña de azúcar, es mediante la referenciación, de la producción mundial de azúcar, en donde se considera que la producción del año 2017 a 2018, a nivel mundial fue de 179 448 miles de toneladas de azúcar, como se muestra en la tabla 2, Brasil seguido de la India, son los principales países productores de azúcar, según lo expuesto por (De Bernardi, 2019).

Tabla 1

Principales países productores de azúcar a nivel mundial.

Principales países productores	Toneladas de azúcar		
	2015-2016	2016-2017	2017-2018
Brasil	38 643	39 750	37 500
India	24 826	20 500	25 000
Unión Europea	14 721	15 853	19 141
Tailandia	9 755	9 865	12 000
China	8 837	9 300	10 500
Estados Unidos	7 597	7 390	7 485
Total mundial	104 379	102 658	111 626

Nota: Los valores expuestos anteriormente pertenecen a la producción mundial de caña de azúcar, del Perfil de Azúcar (De Bernardi, 2019).

Por otra parte, el cultivo de caña de azúcar en el Ecuador, tiene un alcance de 157 986 hectáreas plantadas, de donde se logró obtener una producción de tallo fresco de 11 390 245 toneladas métricas (Tm), por lo cual se estima que dicho cultivo ocupa el 9,44% de la superficie total plantada en el Ecuador (INEC, 2021).

Variedades en estudio

ECU-01 (ECSP98-169)

Primera variedad mejorada de caña de azúcar del Ecuador, emana del cruzamiento entre las variedades SP81-6215 x SP80-1816. La semilla sexual de este cruzamiento fue sembrada bajo condiciones controladas en el Ingenio San Carlos en 1998, dando inicio al estado I, de la primera serie de selección, misma que fue sembrada en la estación experimental de CINCAE; después de varios años de evaluación se logró seleccionar el clon ECSP98-169 destacándose por su alta productividad de caña (98,2 toneladas de caña/hectárea), óptimo rendimiento de azúcar (93,2 kg de azúcar/tonelada de caña), resistencia a enfermedades (*Ustilago scitaminea*, SCMV, *Puccinia melanocephala*) y comportamiento ante el ataque de plagas (*Perkinsiella saccharicida*, *Diatrea saccharalis*, *Sipha flava*). Así mismo, en todos los ensayos realizados, esta variedad mostró una mejor respuesta a la fertilización que la variedad Ragnar (Castillo et al., 2007).

EC-06 (ECSP01-588)

La variedad EC-06 (ECSP01-588) fue selecta de la serie de selección 2001 juntamente con la variedad EC-05 (ECSP01-190) procedentes del cruzamiento entre las variedades V71-51 x SP85-3877 llevado a cabo en Brasil. En el transcurso del proceso de mejoramiento, se realizaron distintas pruebas de resistencia y evaluación fitosanitaria a los clones ECSP01-190 y ECSP01-588 en condiciones de infección natural e inoculación artificial, con la finalidad de conocer la reacción a enfermedades como la roya común, carbón, virus del mosaico y raquitismo. Así mismo, estos clones fueron sometidos a la presión del inóculo natural del virus de la hoja amarilla mediante el uso de líneas de inóculo con variedades susceptibles. Referente al ataque de plagas, se

estableció que la variedad EC-06 es una de las variedades más tolerantes al ataque del barrenador del tallo, mientras que al ataque del áfido amarillo y saltahojas resultó ser más susceptible a comparación de las variedades B76-78, Ragnar y CC85-92 (Silva et al., 2013).

EC-08 (ECSP02-242)

La variedad EC-08 deriva de un policruzamiento de la variedad RB83-5486 llevado a cabo en Brasil. En todos los estados se realizaron evaluaciones para determinar la resistencia a enfermedades (*Puccinia melanocephala*, *Puccinia kuehnii*, *Sporisorium scitamineum* y *Sugarcane mosaic virus*), reacción a enfermedades sistémicas (*Leifsonia xyli subsp xyli*, *Xanthomonas albilineans*) en los estados III-IV y el comportamiento frente a plagas (*Perkinsiella saccharicida*, *Sipha flava* y *Diatraea saccharalis*) en los estados III, IV y semicomercial. Además, esta variedad se caracteriza por el alto contenido y producción de azúcar, así como la maduración temprana llegando a superar a las demás variedades liberadas por CINCAE (Silva et al, 2016).

A continuación, se muestra los caracteres morfológicos de las variedades de caña de azúcar ECU-01 (ECSP98-169), EC-06 (ECSP01-588) y EC-08 (ECSP02-242):

Tabla 2

Caracteres morfológicos de tres variedades de caña de azúcar.

		ECU-01	EC-06	EC-08
Tallo	Porte	Medio, entre 3,07-3,93m	Mediana, entre 3,27 y 3,95 m	Mediana, entre 3,15 y 3,89 m
	Crecimiento	Postrado	Semierecto	Semierecto
	Alineación en zigzag	Muy débil	Ausente o muy débil	Débil

Entrenudo	Forma	Conoidal con presencia de cera	Abominado con serosidad media	Conoidal con serosidad débil
	Longitud	Largo, entre 16,4 y 21,2 cm	Mediano, entre 9,8 y 16,2 cm	Mediano entre 12,9 y 15,7 cm
	Diámetro	Medio, entre 2,55 y 3,26 cm	Medio, entre 2,5 y 3,7 cm	Medio, entre 2,4 y 2,9 cm
	Color a la sombra	Verde amarillento	Amarillo cremoso verdoso	Amarillo cremoso verdoso
	Color expuesto al sol	Rojizo	-	-
Yema	Forma	Redonda	Redonda	Ovada
Hoja	Color	Verde intenso	Verde intenso	Verde intenso
	Longitud	Mediana, entre 1,56 y 1,95 m	-	-
	Ancho	Entre 5,67 y 6,99 cm (ancha)	Entre 5,5 y 6,5 cm (ancha)	Entre 4,5 y 5,3 cm (medio)
	Deshoje	Regular (3)	Malo (4)	Regular (=3)
Aurícula	Forma	Deltoide, tanto superpuesta como subyacente	-	-
Vaina	Color	Verde con presencia de cera y poca pelusa	-	-
Collar	Color	Verde oscuro	-	-
Lígula	Forma	De cuarto creciente	-	-
	Ancho	Entre 0,53 y 0,64 mm	-	-

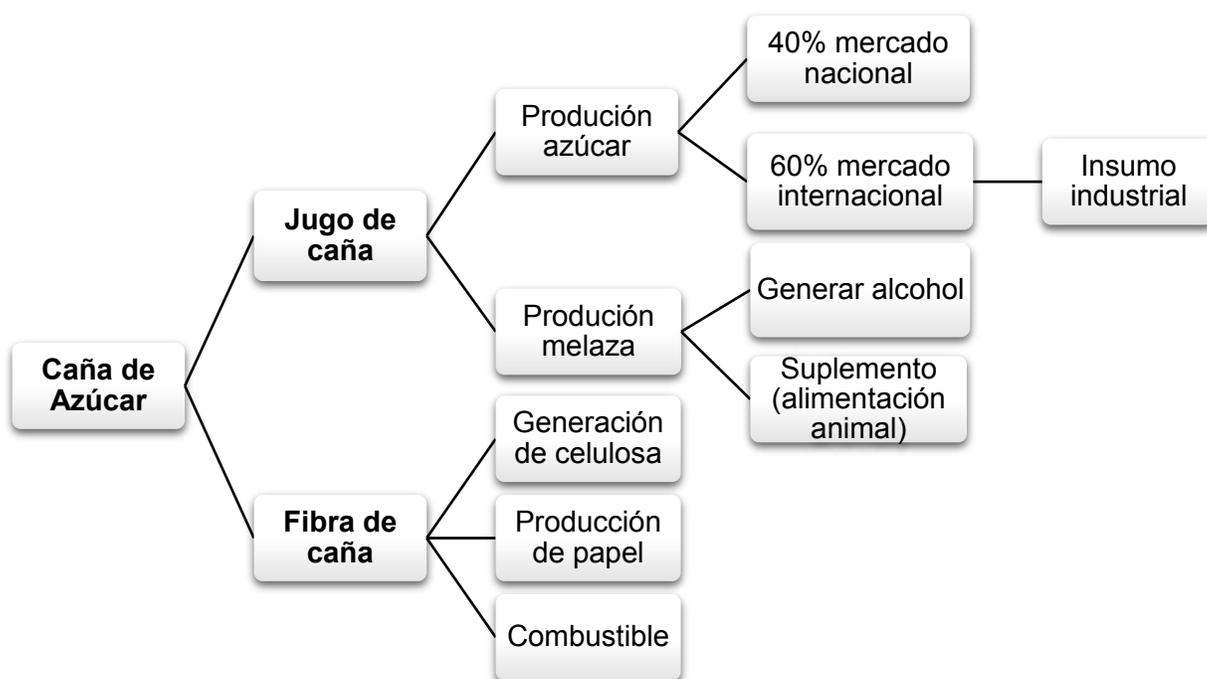
Nota: Información tomada del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (Castillo et al., 2007), (Silva et al., 2013) y (Silva et al., 2016).

Derivados

Según (De Bernardi, 2019), la caña de azúcar, que llega a los procesos de molienda tiene los siguientes fines (Figura 1):

Figura 1

Finalidades de los derivados de la caña de azúcar.



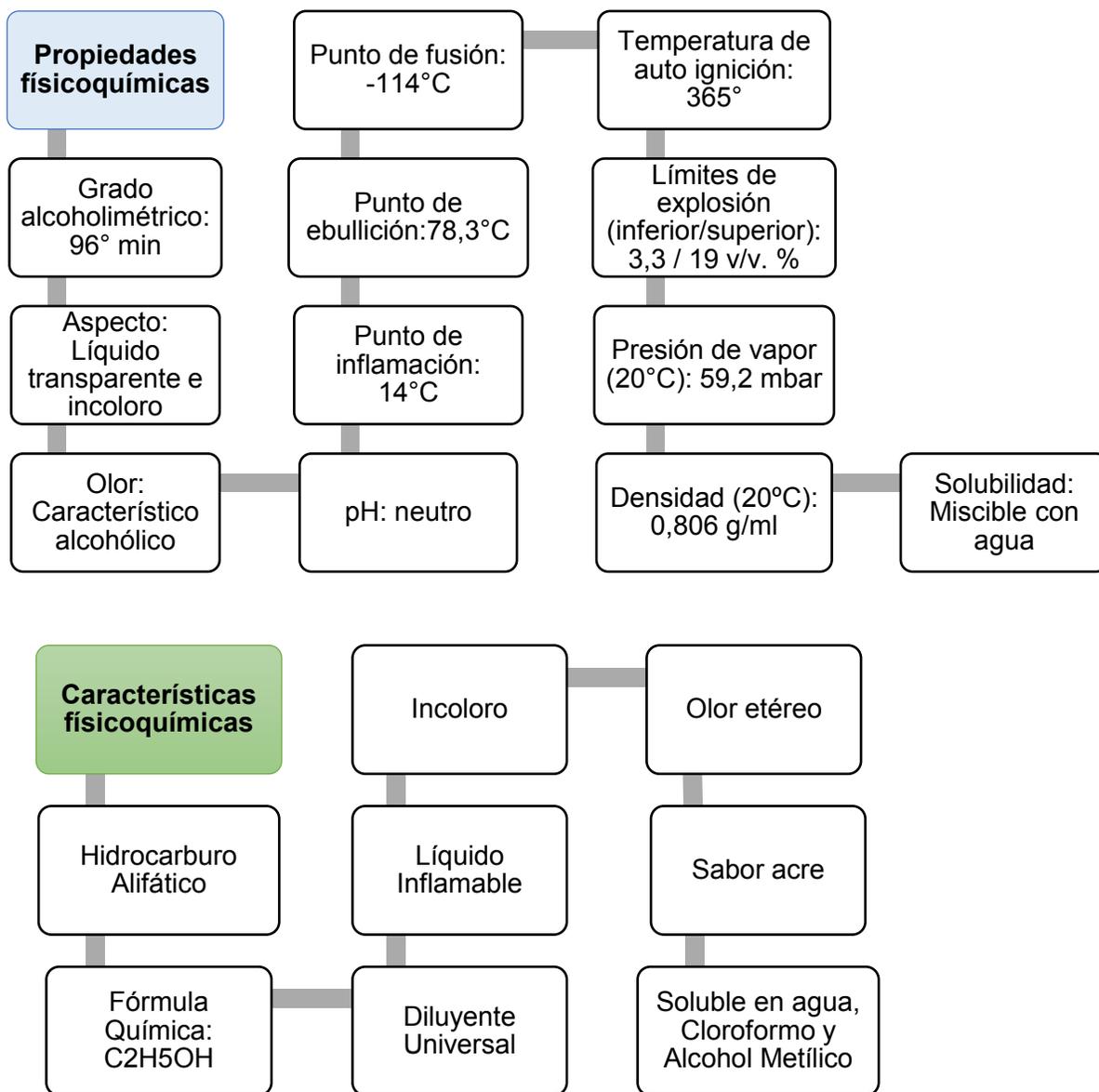
Alcohol etílico

Propiedades y características fisicoquímicas del alcohol etílico

El alcohol etílico, posee distintas propiedades y características, las cuales se muestran en la figura 2, acorde a lo mencionado por (INSHT, 2005):

Figura 2

Propiedades y características fisicoquímicas del alcohol etílico.



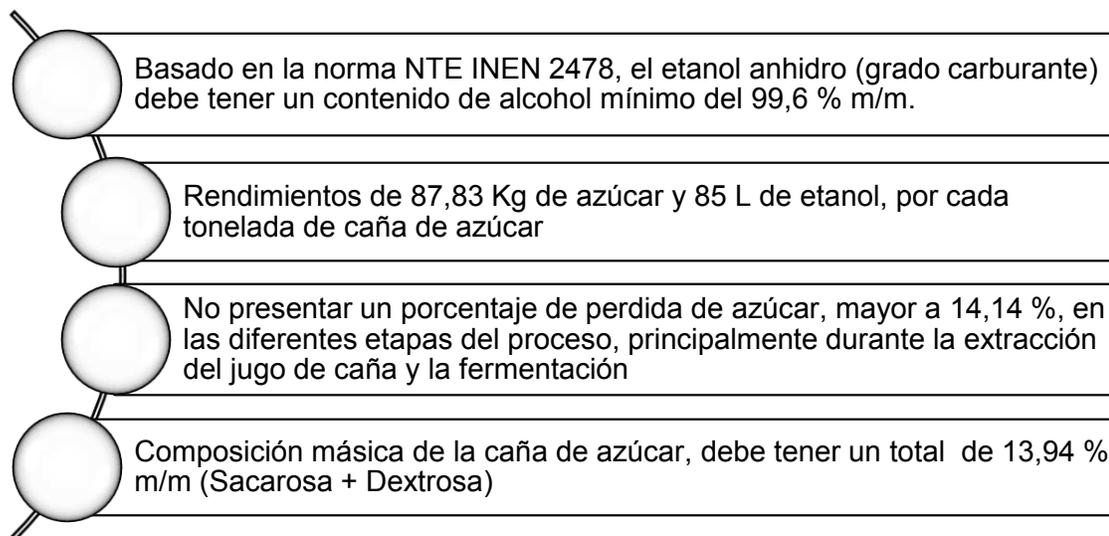
Características generales del alcohol etílico

a) Calidad del producto final

Para poder generar un producto final de calidad se debe cumplir con las siguientes características (Figura 3):

Figura 3

Características de calidad en la producción del etanol.



b) Proceso general de producción de etanol

Conforme a lo mencionado por (Ricaurte et al., 2019), el proceso de producción de etanol, utilizando la caña de azúcar, se desarrolla de la siguiente forma:

Figura 4

Proceso general de la obtención de Etanol.

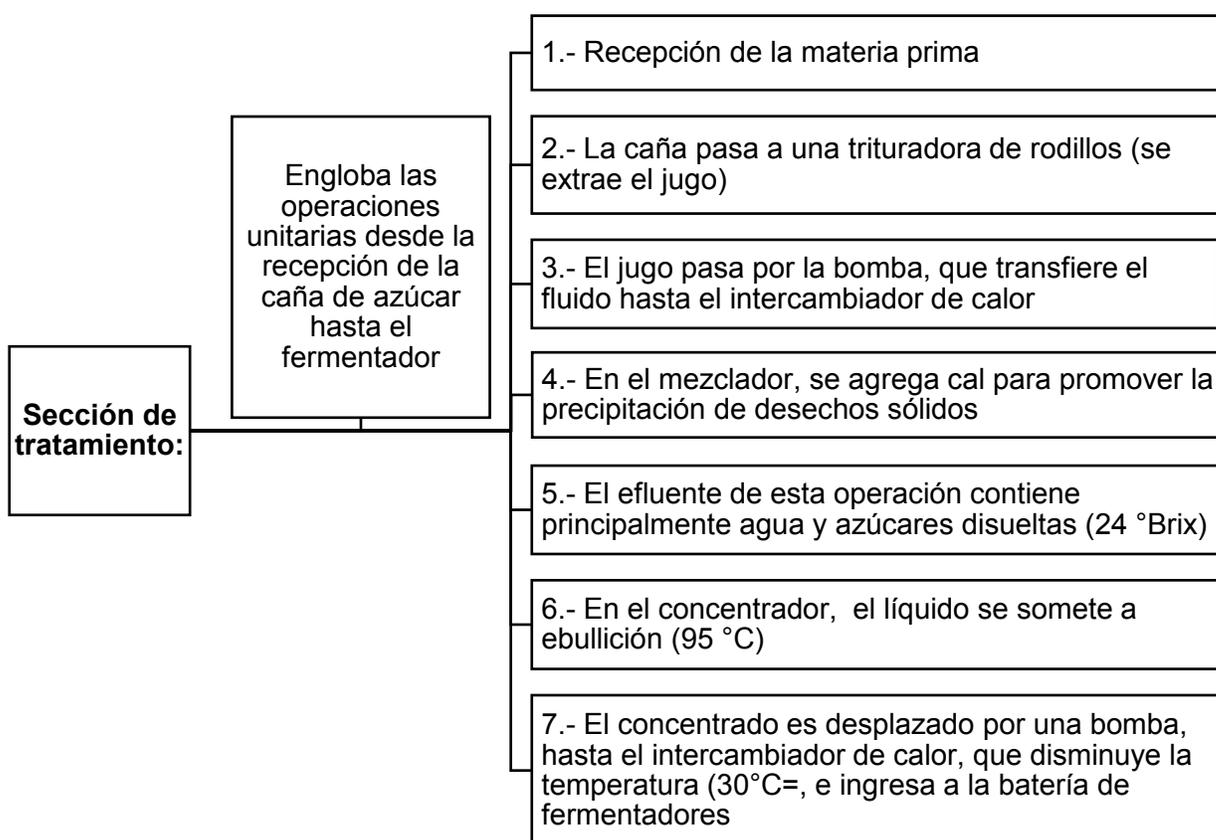
Acondicionamiento:	<ul style="list-style-type: none"> Incluye la molienda, extracción del jugo de caña, clarificación y concentración del jugo hasta 24 °Brix (190 g/L)
Fermentación:	<ul style="list-style-type: none"> Existen diferentes opciones para llevar a cabo la fermentación del jugo de caña de azúcar, siendo la fermentación con levaduras el proceso más utilizado
Separación y deshidratación:	<ul style="list-style-type: none"> Se realiza en dos columnas e incluye la destilación azetrópica con ciclohexano, como agente másico de arrastre. Se obtiene vinaza y residuos de destilación como subproductos
Almacenamiento:	<ul style="list-style-type: none"> En tanques con atmósfera inerte para evitar pérdidas por evaporación a las condiciones de almacenamiento, debido a la facilidad con que este alcohol se evapora (alta volatilidad)

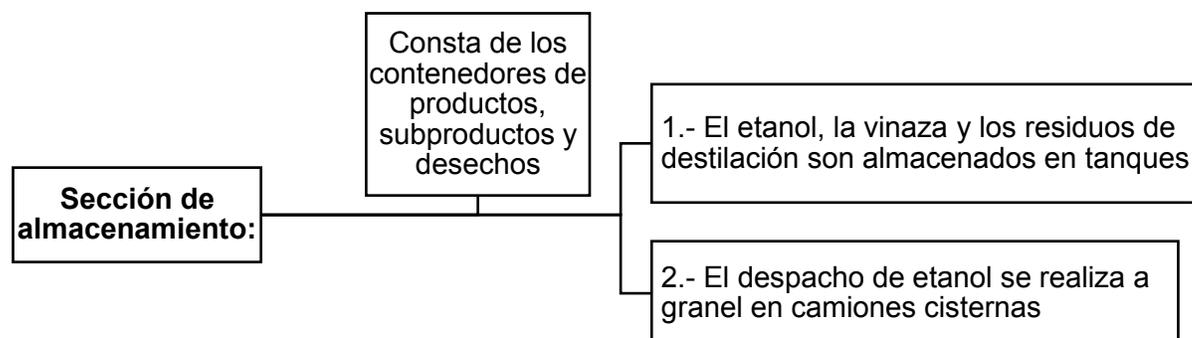
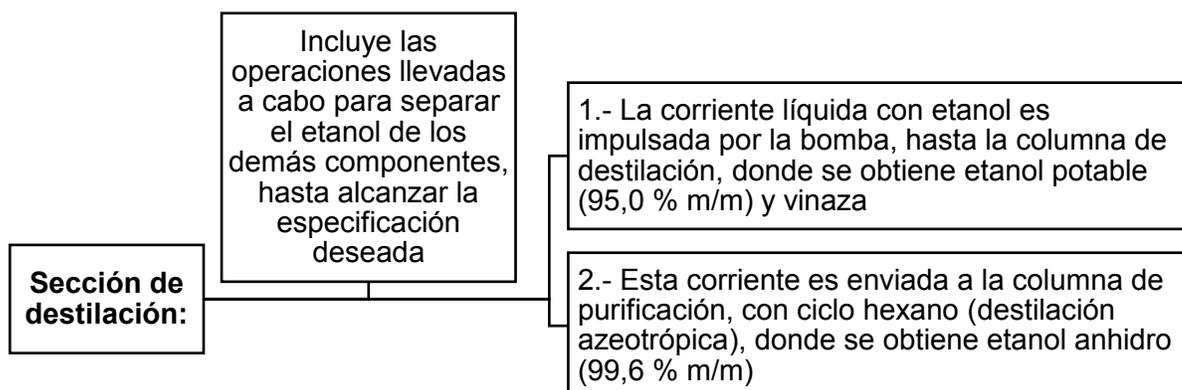
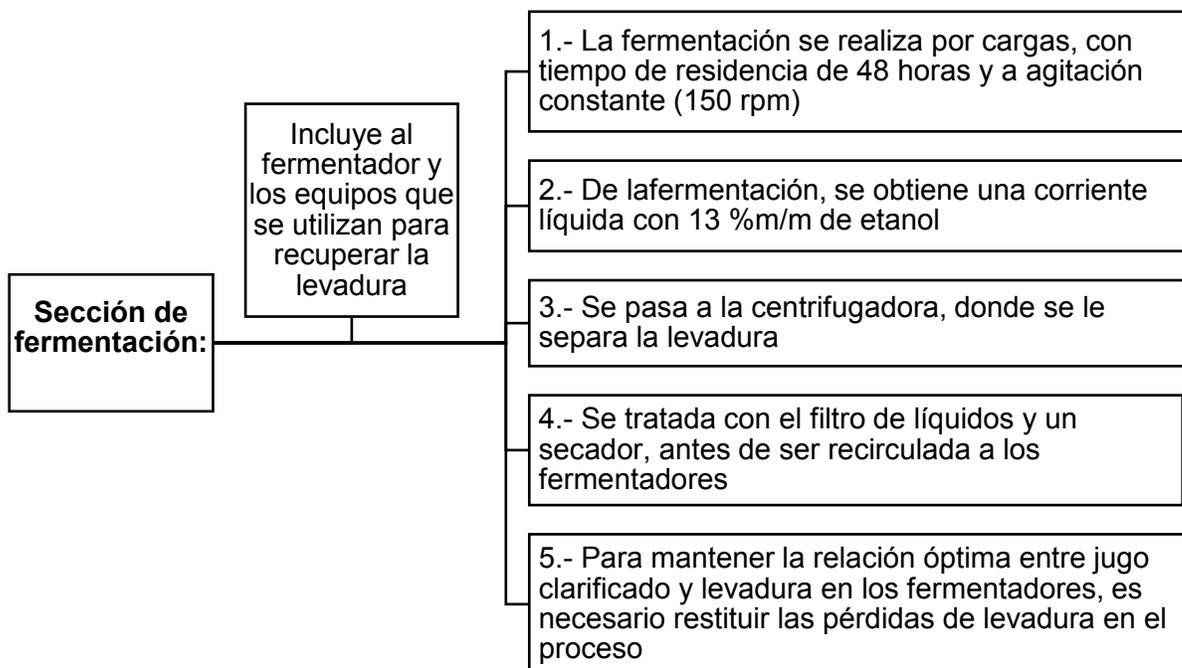
Detalle paso a paso de la producción industrial de etanol

A continuación en la figura 5, se describen los pasos que se deben seguir para lograr producir etanol de calidad, tomando en consideración lo establecido por (Ricaurte et al., 2019).

Figura 5

Proceso de obtención de etanol en cuatro secciones.



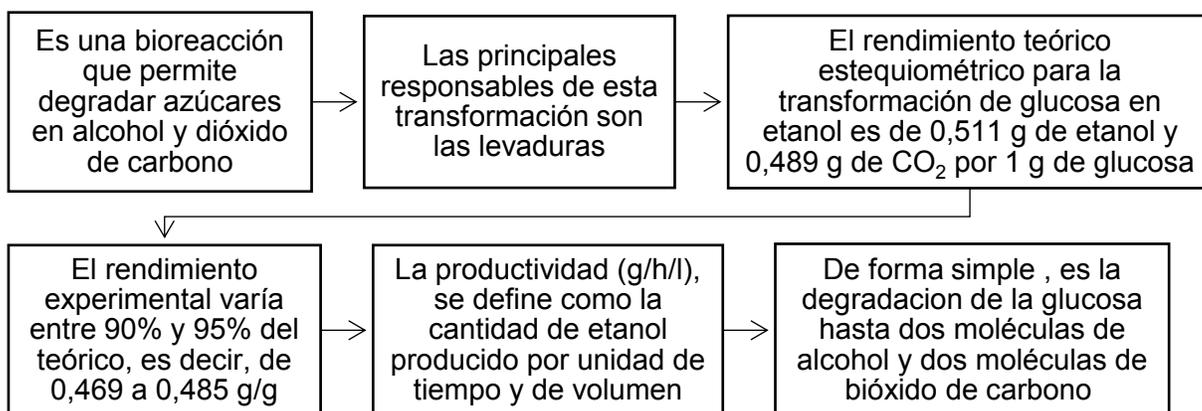


Fermentación alcohólica

A continuación en la figura 6, se detallan los principales aspectos referentes a la fermentación alcohólica (Vásquez & Dacosta, 2007):

Figura 6

Descripción de la fermentación alcohólica.

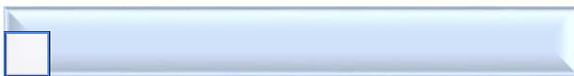


Utilización de levaduras en los procesos de fermentación alcohólica

La producción de etanol, solo puede ser logrado mediante la realización de la fermentación alcohólica, la misma que solo puede ser producida por distintos microorganismos, los cuales poseen la facultad de fermentar la glucosa (Barrera, González, Salgado, & Aranda, 2011). Por otra parte en el siglo XX, se logró conocer los procesos biológicos, que permiten multiplicar a las levaduras (nombre genérico de varios microorganismos unicelulares), se conoce una serie de cepas, que tienen como finalidad, ayudar en la elaboración de cerveza, pan, destilería, extractos de levadura, entre otras (Suárez, Garrido, & Guevara, 2016).

En la figura 7, se muestran las principales características industriales de *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces bayanus*.

Saccharomyces cerevisiae (Suárez, Garrido, & Guevara, 2016).



- Es una levadura que constituye el grupo de microorganismos más íntimamente asociado al progreso y bienestar de la humanidad
- Es una levadura heterótrofa, que obtiene la energía a partir de la glucosa y tiene una elevada capacidad fermentativa
- Puede aislarse con facilidad en plantas y tierra, así como del tracto gastrointestinal y genital humano
- Es un producto del proceso de producción de alcohol
- Constituye una valiosa fuente de proteínas y vitaminas para la alimentación animal
- El uso más extendido está enmarcado en la panificación y en las industrias de fabricación de cerveza, vinos y alcohol
- Esta levadura es una de las especies considerada como microorganismo GRAS, por lo que ha sido aprobada para su uso como aditivo alimentario

Saccharomyces bayanus (López, Querol, & Guillamon, 2013)



- Responsable de la fermentación alcohólica, por medio de la conversión de los principales azúcares en etanol y dióxido de carbono
- Del género *Saccharomyces*, es la segunda levadura más utilizada para la producción de cerveza, luego de *S. cerevisiae*
- Se emplea fundamentalmente en la elaboración del vino
- Es una alternativa para obtener vino con las características de color, olor, sabor y textura requeridos por los consumidores
- Ideal para las fermentaciones con control de temperatura
- Su neutralidad aromática favorece la tipicidad del terroir y la variedad
- Debido a sus grandes aptitudes fermentativas es recomendable para todos los procesos de vinificación e inclusive para reactivación de fermentaciones

Capítulo III

Metodología

Ubicación del área de investigación

Ubicación política

País	:	Ecuador
Provincia	:	Santo Domingo de los Tsáchilas
Cantón	:	Santo Domingo
Parroquia	:	Luz de América
Sector	:	Km 24 Vía Quevedo

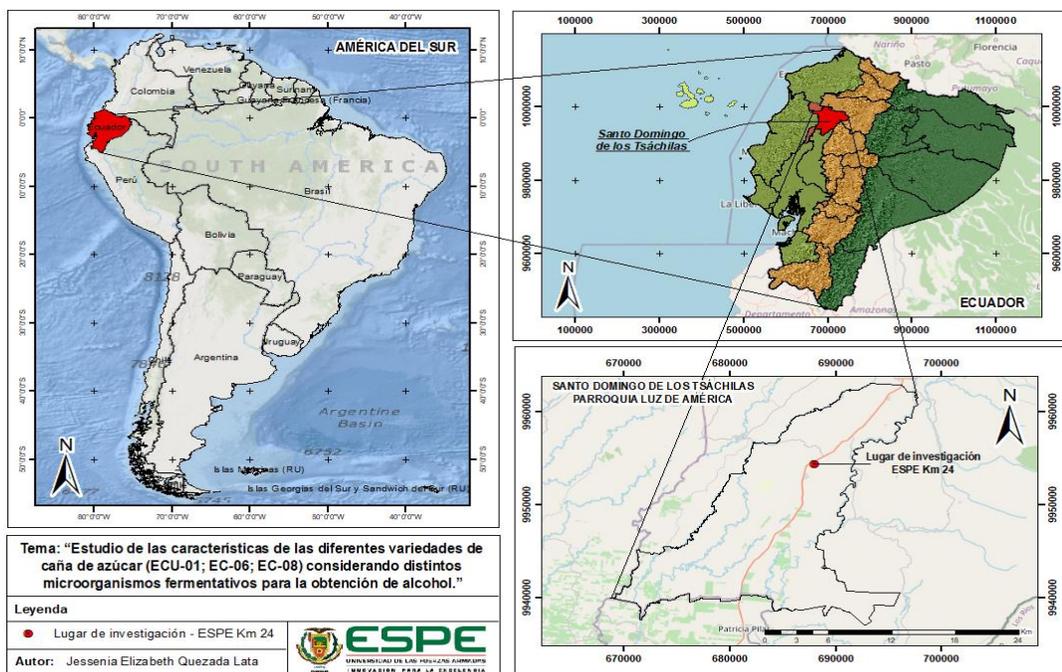
Ubicación geográfica

El presente estudio se llevó a cabo en los laboratorios de la Universidad de las Fuerzas Armadas "ESPE" extensión Santo Domingo, km 24 vía Quevedo, Provincia Santo Domingo de los Tsáchilas.

Latitud	:	00° 24' 36'' S
Longitud	:	79° 18' 43'' O
Altitud	:	270 m.s.n.m

Figura 7

Mapa de ubicación geográfica del lugar donde se desarrolló la investigación



Nota: Elaboración propia

Ubicación ecológica

Zona de vida	:	Bosque húmedo tropical (bh-T)
Altitud	:	224 m.s.n.m
Temperatura media	:	24,6°C
Precipitación	:	2860 mm/año
Humedad relativa	:	85%
Luminosidad	:	680 horas luz/año
Suelos	:	Franco arenosos

Fuente: Estación Meteorológica Puerto Ila, Vía Quevedo km 34

Materiales

Elaboración del fermentado del jugo de caña

Tabla 3

Recursos empleados en la elaboración del fermentado de caña de azúcar.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Cocina industrial	Ollas de 5 L	<i>Saccharomyce cerevisiae</i>	Jugo de caña variedad ECU-01; EC-06; ECU-08
Termómetro	Botellas plásticas de 2 L	<i>Saccharomyce bayanus</i>	
Balanza	Trampas de aire		
Refractómetro	Fundas negras		

Determinación de pH

Tabla 4

Recursos empleados en la determinación del pH en el jugo de caña fresco.

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Potenciómetro	Pipeta de 10 ml	Jugo de caña variedad ECU-01; EC-06; ECU-08
	Probeta de 100 ml	
	Vaso de precipitación de 200 ml	

Determinación de Acidez Titulable

Tabla 5

Recursos empleados en la determinación de acidez en el jugo de caña fresco y alcohol obtenido de los diferentes tratamientos.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Potenciómetro	Matraz Erlenmeyer de 250 ml	NaOH 0,1N	Jugo de caña variedad ECU-01; EC-06; ECU-08
Equipo de titulación	Vaso de precipitación de 200 ml	Fenolftaleína	Alcohol etílico procedente del jugo de caña
Agitador magnético	Embudo	Alcohol neutro	
Baño de vapor	Probeta de 50 ml		
	Crisol		

Determinación de Sólidos Solubles

Tabla 6

Recursos empleados para la determinación de sólidos solubles en el jugo de caña fresco.

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Refractómetro	Pisetas	Jugo de caña variedad ECU-01; EC-06; ECU-08
	Goteros	

Determinación de Densidad Relativa

Tabla 7

Recursos empleados para la determinación de densidad relativa en el jugo de caña fresco y alcohol obtenido de los diferentes tratamientos.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza analítica	Picnómetros	Agua destilada	Jugo de caña variedad ECU-01; EC-06; ECU-08
Baño maría regulable a $20^{\circ}\text{C} \pm 0,05^{\circ}\text{C}$	Vaso de precipitación de 100 ml		Alcohol etílico procedente del jugo de caña
	Embudo		

Determinación de Cenizas

Tabla 8

Recursos empleados para la determinación de ceniza en el alcohol obtenido.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza analítica	Cápsula de porcelana	Agua destilada	Alcohol etílico procedente del jugo de caña
Baño maría	Vasos de precipitación		
Mufla	Matraz		
Reverbero eléctrico	Pipetas		

Determinación del Espacio Libre

Tabla 9

Recursos empleados para la determinación de espacio libre del alcohol obtenido.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza analítica	Vasos de precipitación	Agua destilada	Alcohol etílico procedente del jugo de caña
	Pipeta		
	Marcadores		

Determinación del Contenido de Alcohol Etílico

Tabla 10

Recursos empleados para la determinación de alcohol etílico.

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Alcoholímetro	Probeta de 200 ml	Alcohol etílico procedente del jugo de caña

Determinación de presencia de metanol en alcohol etílico mediante pruebas toxicológicas

Tabla 11

Recursos empleados en la realización de pruebas toxicológicas para determinar la presencia de metanol en alcohol etílico.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza analítica	Vasos de precipitación	Fucsina básica	Alcohol etílico procedente del jugo de caña
Calentador eléctrico	Pipetas	Bisulfito de sodio	
	Tubos de ensayo	Ácido clorhídrico	
	Matraces	Permanganato de potasio al 1%	
		Ácido sulfúrico	
		Ácido oxálico	
		Yodo	
		Hidróxido de sodio al 1%	

Recuento de Poblaciones Microbianas

Tabla 12

Recursos empleados en el recuento microbiológico del jugo de caña fresco.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Cámara de flujo laminar	Vaso de precipitación	Agua de peptona	Jugo de caña variedad ECU-01; EC-06; ECU-08
Incubadora	Matraz Erlenmeyer	Petrifilm	
Balanza	Probeta		
Autoclave	Tubos de ensayo		
Vortex	Mechero		
Contador de colonia	Micropipeta		

Métodos

Obtención de la materia prima

Las tres variedades de caña de azúcar: ECU-01; EC-06; EC-08 se obtuvieron del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE) ubicado en el km 49,6 Vía Durán-Tambo, El Triunfo, Guayas, Ecuador.

Extracción del jugo de caña azucarera

Para la extracción del jugo, se transportaron las diferentes variedades de caña al Centro Artesanal “Licor Nacional Cañitas”, se pesó cada una de las variedades con el objetivo de conocer el rendimiento final, posteriormente, se procedió a lavar cada una de las cañas con el fin de eliminar impurezas que puedan contaminar al producto final, finalmente, se sometió al proceso de molienda y extracción en la cual el jugo de caña obtenido fue colocado en bidones de capacidad de 20 litros. Así mismo, se juntó el bagazo obtenido por cada variedad y se realizó la toma respectiva de peso.

Elaboración del fermentado del jugo de caña

Una vez obtenido el jugo de caña por cada variedad requerida se procedió a cernir con el fin de eliminar residuos de bagazo obtenido en el proceso de molienda. Posteriormente se procedió a tomar lectura de los grados brix y pH presentes en cada variedad haciendo uso del refractómetro y potenciómetro.

En esta investigación se utilizaron 40,5 litros de jugo de caña de azúcar repartida en 13,5 litros por cada variedad donde, cada tratamiento se conformó por 4,5 litros de jugo de caña repartido en 1,5 litros por repetición. La elaboración del fermentado se realizó considerando los diferentes tratamientos propuestos (Tabla 14). Se procedió a pasteurizar 9 litros de jugo de caña por cada variedad durante 30 minutos con el fin de inactivar enzimas y causar la muerte de microorganismos patógenos, luego, se dejó

enfriar el jugo de caña a una temperatura de 40°C, de la misma manera, se volvió a medir los grados Brix con el fin de demostrar que la concentración de azúcar sea igual o mayor a 19 °Brix. Seguidamente, se agregó un gramo de levadura (acorde al tratamiento) por cada litro de jugo de caña pasteurizado. Cabe mencionar que el tratamiento de flora natural no recibió ninguna manipulación y fue puesta a fermentación directamente. Finalmente, cada tratamiento fue colocado en envases plásticos previamente esterilizados bajo un sistema de fermentación por trampa de aire y cubiertos por fundas de color negro para evitar la incidencia de luz. Se almacenó en un cuarto oscuro y aséptico durante 19 días tiempo establecido de fermentación.

Obtención de alcohol a partir del fermentado del jugo de caña de azúcar

Una vez transcurridos los 19 días, se procedió a cortar la fermentación retirando la trampa de aire y colocando la tapa respectiva, seguidamente se conservó en refrigeración para posterior proceder con la destilación.

Se procedió a destilar 1500 ml de fermentado de jugo de caña cantidad que fue dividida en 4 partes y ubicada en un balón de 500 ml de capacidad. El tipo de destilación realizada fue simple mediante el uso de materiales de laboratorio (balón de destilación, columna de refrigeración, termómetro, termostato de inmersión, plancha de calentamiento).

Análisis fisicoquímico del jugo de caña fresco y alcohol etílico obtenido

Referente al jugo de caña fresco se procedió a determinar ciertas características fisicoquímicas según lo establecido por las Normas INEN, mismas que fueron pH, densidad y acidez. Así mismo, con el alcohol obtenido se determinaron las características fisicoquímicas como son acidez, densidad, cenizas, espacio libre, grados alcohólicos.

Análisis microbiológico del jugo de caña fresco

Con la finalidad de conocer la cantidad de microorganismos presentes en el jugo de caña fresco, se determinó las UFC/ml de aerobios y levaduras por cada variedad estudiada.

Figura 8

Diagrama de flujo de la obtención de alcohol etílico a partir del jugo de caña de azúcar.

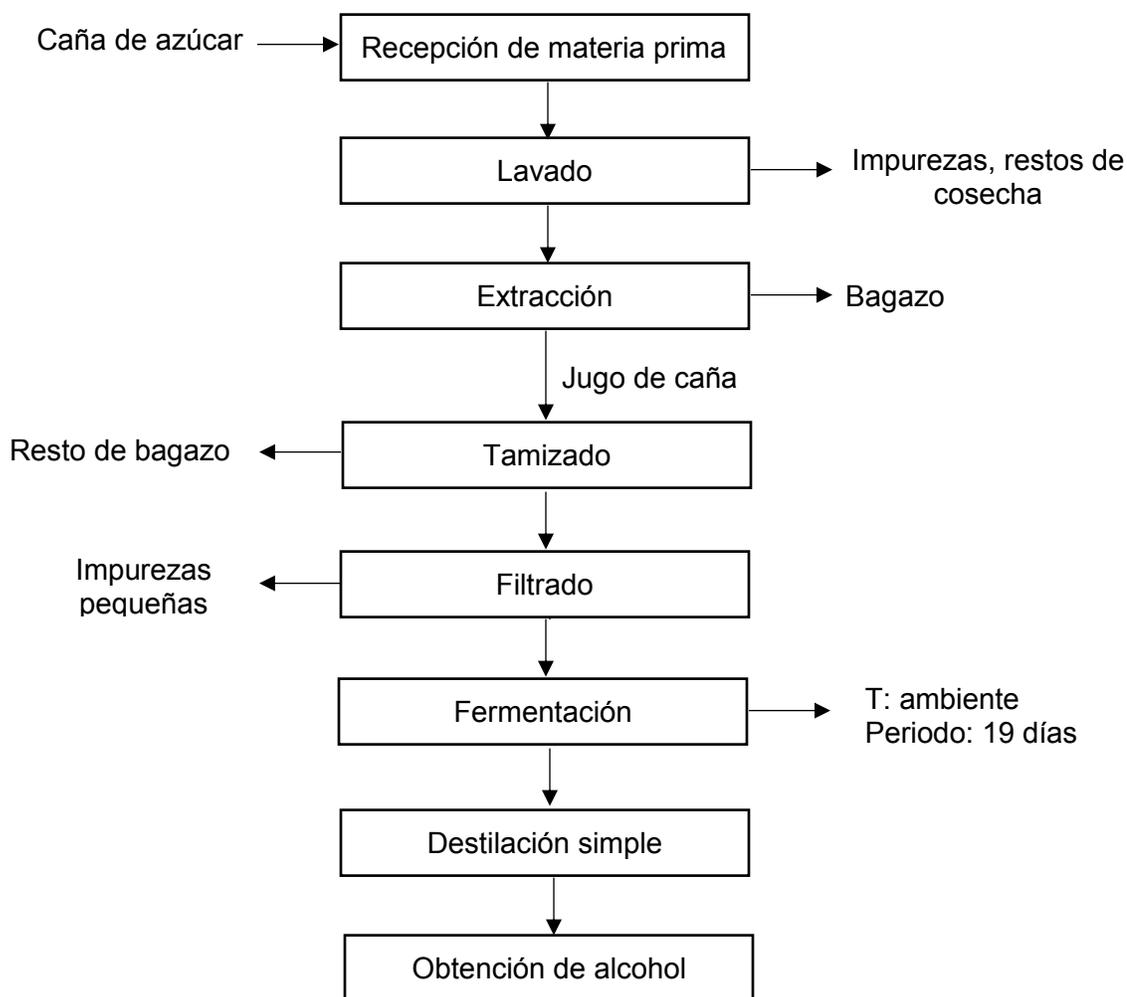
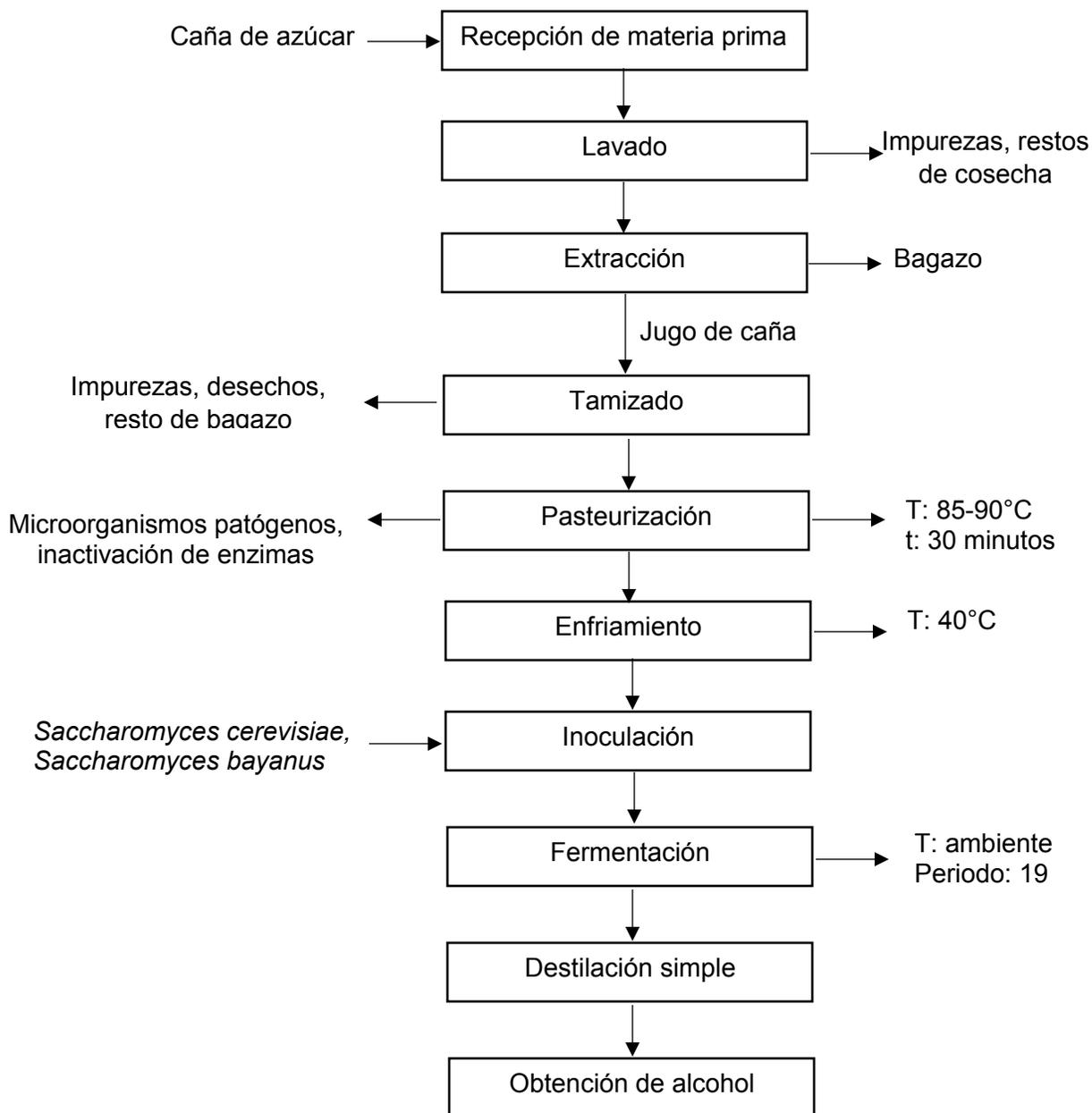


Figura 9

Diagrama de flujo de la obtención de alcohol etílico a partir de la inoculación de levaduras en el jugo de caña de azúcar.



Diseño experimental

Factores de estudio

Tabla 13

Factores y niveles a probar en el estudio de las características de diferentes variedades de caña de azúcar considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol.

Factores	Simbología	Niveles
Variedades de caña de azúcar (A)	a ₁	ECU-01
	a ₂	EC-06
	a ₃	EC-08
Microorganismos fermentativos (B)	b ₁	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	b ₂	<i>Saccharomyces bayanus</i>
	b ₃	Flora natural

Unidades experimentales

Tabla 14

Unidades experimentales (Tratamientos) a comparar en el estudio de las características de diferentes variedades de caña de azúcar considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol.

N° de Tratamiento	Unidades experimentales	Descripción
T1	a ₁ b ₁	ECU-01 + <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
T2	a ₁ b ₂	ECU-01 + <i>Saccharomyces bayanus</i>
T3	a ₁ b ₃	ECU-01 + Flora natural
T4	a ₂ b ₁	EC-06 + <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
T5	a ₂ b ₂	EC-06 + <i>Saccharomyces bayanus</i>
T6	a ₂ b ₃	EC-06 + Flora natural
T7	a ₃ b ₁	EC-08 + <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
T8	a ₃ b ₂	EC-08 + <i>Saccharomyces bayanus</i>
T9	a ₃ b ₃	EC-08 + Flora natural

Tipo de diseño

Para este trabajo de investigación se aplicó un ANOVA DBCA con modelo factorial A x B (3x3), con tres repeticiones por tratamiento con un total de 27 unidades experimentales.

Análisis estadístico

Esquema del análisis de varianza

Tabla 15

Esquema de análisis de varianza para el estudio de las características de diferentes variedades de caña de azúcar considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol.

Fuente de variación		Grados de libertad
Variedades (A)	a-1	2
Microorganismos fermentativos (B)	b-1	2
Variedades x Microorganismos fermentativos	(a-1)(b-1)	4
Bloque	b-1	2
Error experimental		16
Total		26

Análisis funcional

Para el análisis estadístico de los resultados en la presente investigación se aplicó la prueba de significancia Tukey ($p < 0,05$) para resultados con varianzas significativas.

VARIABLES EVALUADAS

Determinación de sólidos solubles en jugo de caña fresco

Se colocó sobre el prisma del refractómetro dos gotas de la muestra, y posteriormente, se procedió a dar lectura de la cantidad de sólidos solubles totales en grados Brix.

Determinación de pH en jugo de caña fresco

Para determinar el pH se empleó el procedimiento de la norma técnica (INEN 389, 1986) misma que se detalla a continuación:

Previo a la utilización del potenciómetro se comprobó la efectividad del equipo con el uso de solución buffer con pH 4 a 30°C. En un vaso de precipitación se colocó 10 ml de la muestra, se añadió 100 ml de agua destilada y se agitó suavemente. Se determinó el pH introduciendo el electrodo del potenciómetro en el vaso de precipitación con la muestra.

Determinación de acidez titulable en jugo de caña fresco

La determinación de esta variable se realizó conforme al procedimiento de la norma técnica (INEN 381, 1985) establecida para conservas vegetales y jugos de fruta:

Se procedió a preparar la muestra para lo cual se colocó 25 cm³ del jugo de caña previamente filtrado en un matraz volumétrico de 250 cm³, seguidamente, se diluyó a volumen con agua destilada previamente hervida y enfriada, se mezcló perfectamente la solución, posteriormente, se tomó la lectura inicial de pH sumergiendo los electrodos sobre la muestra preparada e inmediatamente se añadió gota a gota la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, se agitó la muestra y seguidamente se tomó el pH, se continuó agregando la solución 0,1 N de hidróxido de sodio hasta alcanzar un pH 6, y de manera sucesiva alcanzar un pH 7 y finalmente pH 8,3 aproximadamente, se registró la cantidad de hidróxido de sodio consumido en los puntos mencionados. Finalmente, se estableció el volumen exacto de la solución de 0,1 de hidróxido de sodio añadido a través de interpolación, correspondiente al pH 8,1.

La acidez titulable se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$A = \frac{(V_1 N_1 M) 10}{V_2}$$

Siendo:

A = g de ácido en 1000 cm³ de producto.

V₁ = cm³ de NaOH usados para la titulación de la alícuota.

N₁ = normalidad de la solución de NaOH.

M = peso molecular del ácido considerando como referencia.

V₂ = volumen de la alícuota tomada para el análisis.

Determinación de densidad en jugo de caña fresco y alcohol etílico

Para determinar la densidad de las dos muestras descritas, se aplicó el procedimiento de la norma técnica (INEN 391, 1986), descrito a continuación:

Se pesó el picnómetro completamente limpio y seco con aproximación al 0,1 mg, posteriormente se llenó el picnómetro con agua destilada (recientemente hervida y enfriada hasta 15° - 18 °C) hasta la marca respectiva, evitando que se formen burbujas de aire, seguidamente se colocó la tapa y se sumergió en el baño de agua a 20°C ± 0,5°C durante 30 minutos.

Transcurrido el tiempo de sumersión se retiró por completo el picnómetro del baño, se procedió a secar y pesar con aproximación al 0,1 mg. Posteriormente, se vació, secó y limpió cuidadosamente el picnómetro y se colocó en el la muestra hasta la marca respectiva evitando la formación de burbujas de aire, a continuación se colocó la tapa y se sumergió durante 30 minutos en el baño de agua a 20°C ± 0,5°C. Finalmente, se retiró el picnómetro del agua, se secó cuidadosamente la parte exterior y se pesó con aproximación al 0,1 mg.

La densidad relativa a 20/20°C se determinó mediante la siguiente ecuación:

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

Siendo:

d = densidad relativa a 20/20°C.

m₁ = masa del picnómetro vacío, en gramos.

m₂ = masa del picnómetro con agua, en gramos.

m₃ = masa del picnómetro con la muestra, en gramos.

Recuento de poblaciones microbianas en jugo de caña fresco

Se realizó una solución de peptona al 5%, se colocó 9 ml de la solución en cada tubo de ensayo para preparar diluciones de 10⁻⁴ a 10⁻⁶ por cada variedad en estudio, se procedió a inocular 1 ml de la disolución en cada lámina de Petri Film (evitando la presencia de burbujas de aire) correspondiente a aerobios y levaduras. Posteriormente, las láminas de Petri Film correspondiente a aerobios se incubaron a 38°C por 48 horas y las levaduras a temperatura ambiente por 72 horas. Transcurrido el tiempo respectivo finalmente se realizó el conteo de colonias haciendo uso del equipo contador de colonias.

Para la determinación de unidades formadoras de colonias (UFC) se usó la siguiente ecuación:

$$\left(\frac{UFC}{ml}\right) = \frac{\text{Número de colonias por placa} * \text{Factor de dilución}}{\text{volumen inoculado en la placa}}$$

Determinación del espacio libre en bebidas alcohólicas

La determinación de esta variable se efectuó bajo el procedimiento establecido por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 359, 1978) , misma que se detalla a continuación:

Se colocó el recipiente usado en el ensayo sobre una superficie plana y horizontal, luego, cuidadosamente se destapó y con ello se determinó la distancia vertical existente entre el nivel superior del contenido y el borde del envase; se retiró el producto (alcohol), y se condujo a lavar, secar y pesar el envase vacío. A continuación, se llenó el envase con agua destilada a $20 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ hasta el borde del recipiente y se procedió a tomar el peso del mismo. Posteriormente, mediante el uso de una pipeta se retiró cierta cantidad de agua, de tal forma que el envase contenga el mismo nivel que ocupaba el alcohol antes de ser desplazado, por último, se tomó el peso del envase con el contenido.

Para la determinación del espacio libre en envases que contienen bebidas alcohólicas se aplicó la siguiente fórmula:

$$EL = 100 \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1}$$

Siendo:

EL = espacio libre, en porcentaje de volumen.

m_1 = masa del envase vacío, en gramos.

m_2 = masa del envase lleno de agua destilada, en gramos.

m_3 = masa del envase con agua destilada, hasta el nivel ocupado anteriormente por el producto, en gramos.

Determinación de cenizas en bebidas alcohólicas

Para la determinación de cenizas en bebidas alcohólicas, se empleó la metodología dispuesta por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 348, 1978):

Se pesó con aproximación al 0,1 mg la cápsula de porcelana, misma que fue colocada sobre la mufla calentada a $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos. Luego, se colocó 20 cm³ de muestra en la cápsula y se evaporó en el baño María hirviente. A continuación, se calentó a temperatura moderada el extracto obtenido sobre un reverbero eléctrico hasta carbonizar el producto. Una vez que el residuo dejó de emitir vapores, se colocó la cápsula en la mufla y se calcinó durante 5 minutos a $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$. Se procedió a retirar la capsula y su contenido de la mufla, se dejó enfriar y se colocó 5 cm³ de agua destilada, inmediatamente, se evaporó el contenido sobre el baño María hirviente, seguidamente, se procedió a colocar nuevamente la cápsula sobre la mufla a $525^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos. Una vez transcurrido el tiempo de combustión, se retiró la cápsula de la mufla, se dejó enfriar y finalmente se pesó la cápsula con su contenido con aproximación a 0,1 mg. Para la determinación del contenido de cenizas en bebidas alcohólicas se usó la siguiente formula:

$$C = 1000 \frac{m_2 - m_1}{V}$$

Siendo:

C = contenido de cenizas (g/1000 cm³ de muestra).

m₁ = masa de la cápsula vacía, en gramos.

m₂ = masa de la cápsula con cenizas, en gramos.

V = volumen de la muestra analizada, en cm³.

Determinación de acidez en bebidas alcohólicas

La determinación de acidez en el alcohol obtenido se efectuó bajo el procedimiento de la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 341, 1978):

- Determinación de acidez total

En un matraz Erlenmeyer de 500 cm³, se colocó 250 cm³ de agua destilada recientemente hervida y neutralizada, luego, se añadió 25 cm³ de muestra y 5 gotas de fenolftaleína, por último, se procedió a titular utilizando la bureta con la solución de 0,1 N de hidróxido de sodio.

La determinación de acidez total en bebidas alcohólicas se efectuó mediante la siguiente fórmula:

$$AT = 2,4 \frac{V_1}{G}$$

Siendo:

AT = acidez total, expresada en ácido acético (g/100 cm³ de alcohol anhidrido).

V₁ = volumen de solución 0,1 N de hidróxido de sodio usado en titulación (cm³).

G = grado alcohólico de la muestra.

- Determinación de la acidez fija

En un crisol de porcelana se colocó 25 cm³ de muestra, luego, se evaporó a sequedad dicha muestra sobre un baño de vapor. Una vez evaporado el contenido del crisol, se procedió a colocar en la estufa a una temperatura de 100°C durante 30 minutos. Transcurrido el tiempo descrito se retiró el crisol de la estufa, se disolvió y transfirió el residuo seco empleando porciones de alcohol neutro (25 cm³) a un matraz de 500 cm³ que previamente se colocó 250 cm³ de agua destilada. Finalmente se

adicionó 5 gotas de fenolftaleína y se procedió a titular utilizando la bureta con la solución de 0,1 N de hidróxido de sodio.

La determinación de acidez fija en bebidas alcohólicas se efectuó mediante la siguiente fórmula:

$$AF = 2,4 \frac{V_2}{G}$$

Siendo:

AF = acidez fija, expresada en ácido acético (g/100 cm³ de alcohol anhidrido).

V₂ = volumen de solución 0,1 N de hidróxido de sodio usado en titulación (cm³).

G = grado alcohólico de la muestra.

- Determinación de la acidez volátil

La acidez volátil se determinó mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$AV = AT - AF$$

Siendo:

AV = acidez volátil

AT = acidez total

AF = acidez fija

Determinación del contenido de alcohol etílico

Para determinar esta variable se llevó a cabo el procedimiento establecido por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 340, 1994):

El alcohol obtenido procedente de la destilación fue colocado en una probeta graduada limpia y seca, posteriormente, se introdujo el alcoholímetro previamente limpio y seco en la probeta contenida de alcohol por un periodo de tiempo de 10 minutos hasta observar la desaparición de burbujas de aire sobre el seno del líquido. Finalmente, se llevó a cabo la lectura considerando el nivel real del líquido y no la elevación del menisco.

Determinación de la presencia de metanol en alcohol etílico mediante pruebas toxicológicas

- Reacción de SCHIFF

Se procedió a preparar el reactivo de Schiff (Fuxina bisulfatada) acorde a la metodología del documento "Pruebas de identificación del metanol y etanol" descrita por (Aguilar, 2016), detallada a continuación:

En un vaso de precipitación de 250 ml, se pesó 0,1 g de fucsina básica que fue disuelta en 37,5 ml de agua destilada a una temperatura de 80 °C. Se dejó enfriar la muestra y se agregó 1,5 g de bisulfito de sodio el cual fue disuelto. Posteriormente, se agregó 0,75 ml de ácido clorhídrico concentrado el cual se procedió a agitar y finalmente toda la reacción se aforó a 50 ml con agua destilada.

A continuación, se procede a tomar 1 ml de la muestra de alcohol a la cual se agregó 1ml de permanganato de potasio al 1% mismo que fue mezclado, luego, se añadió 5 gotas de ácido sulfúrico puro (98%) el cual se dejó reposar por 3 minutos. Pasado dicho tiempo, se añadieron 10 gotas de solución saturada de ácido oxálico el

cual alcanzó un color madera que fue decolorándose luego de que se agregó reiteradamente 5 gotas de ácido sulfúrico puro (98%). Finalmente, se adicionó a la mezcla 1ml del reactivo de Schiff y se observó la coloración final, destacando que si la mezcla toma una coloración intensa violeta es indicativo a que el alcohol sea positivo a metanol, tal y como se evidencia en la siguiente figura:

Figura 10

Coloración obtenida para la determinación de metanol a través del reactivo de Schiff.



Nota: Tomado de (Aguilar, 2016).

- **Ensayo con yodo e hidróxido de sodio**

Para llevar a cabo este ensayo, se empleó la metodología utilizada por (Aguilar, 2016) misma que menciona lo siguiente:

En un tubo de ensayo se colocaron 10 gotas de la muestra de alcohol e inmediatamente se agregaron 25 gotas de yodo y 10 gotas de hidróxido de sodio al 1%, se procedió a agitar el tubo de ensayo con suavidad y este se mantuvo en reposo durante 2 minutos. Finalmente, se observan los cambios reflejados en la coloración de las muestras, donde, el etanol retendrá un color amarillento, mientras que el metanol se pondrá en manifiesto nuevamente tal y como se muestra en la siguiente figura:

Figura 11

Verificación de la presencia de metanol mediante el ensayo con yodo e hidróxido de sodio.



Nota: Tomado de (Aguilar, 2016).

Rendimiento de alcohol

La determinación de esta variable se realizó conforme al procedimiento aplicado por (Vera & Zambrano, 2018), mismo que se detalla a continuación:

Se procedió a medir el volumen inicial (ml) de fermento del jugo de caña usados en la destilación, posteriormente, se midió el volumen final (ml) obtenido de alcohol. La determinación del porcentaje de rendimiento se realizó mediante la ejecución de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{ml alcohol destilado}}{\text{ml fermento de jugo de caña}} \times 100$$

Análisis organoléptico

Se llevó a cabo la realización de pruebas sensoriales al alcohol obtenido por tratamiento con el fin de determinar su aceptabilidad, las pruebas realizadas fueron destinadas a 10 personas mayores de edad en la cual analizaron parámetros gustativos (suave, dulce, ardiente, desagradable), olfativos (agradable, fuerte, frutales, añejado) y visuales (transparente y brillante, turbio, opaco, matiz de color azulado), mismos que fueron calificados acorde a la intensidad de percepción.

Capítulo IV

Resultados

Caracterización físicoquímica del jugo de caña de azúcar

Tabla 16

Caracterización físicoquímica del jugo de caña fresco y pasteurizado.

Parámetro analizado	Unidad	Variedad		
		ECU-01	EC-06	EC-08
pH		5,6	5,7	5,6
Sólidos solubles en jugo fresco	°Brix	21,1	21,9	22,5
Sólidos solubles en jugo pasteurizado	°Brix	24,4	25,1	26,1
Acidez titulable	%	0,19	0,13	0,16
Densidad relativa	g/cm ³	1,09	1,08	1,1

La tabla 16 indica, la caracterización físicoquímica del jugo de caña fresco y pasteurizado (usado para la adición de las levaduras) en donde se evidencia ciertas diferencias en cuanto a los parámetros analizados por cada variedad.

Caracterización microbiológica del jugo de caña de azúcar fresco

Tabla 17

Caracterización microbiológica del jugo de caña fresco.

Parámetro analizado	Unidad de medida	Variedad		
		ECU-01	EC-06	EC-08
Aerobios	UFC/ml	$1,29 \cdot 10^{-4}$	$1,12 \cdot 10^{-4}$	$1,05 \cdot 10^{-4}$
Mohos y levaduras		$5,6 \cdot 10^{-3}$	$7,5 \cdot 10^{-3}$	$1,08 \cdot 10^{-2}$

La tabla 17 indica, la caracterización microbiológica del jugo de caña fresco donde se evidencia el conteo bacteriano de aerobios, mohos y levaduras presentes en cada variedad de caña de azúcar estudiada.

Análisis descriptivo de las variables evaluadas en el estudio de tres variedades de caña de azúcar (ECU-01; EC-06; EC-08) considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol.

Análisis de varianza para la variable grados alcohólicos

Tabla 18

Análisis de varianza para la variable grados alcohólicos del alcohol etílico obtenido de la caña de azúcar.

Fuente	SC	GL	CM	Razón-F	Razón-P
A: Variedades	194,89	2	97,44	412,7	0,000000
B: Microorganismos fermentativos	141,56	2	70,78	299,8	0,000000
AB: Variedades x M. Fermentativos	182,22	4	45,56	192,9	0,000000
Repetición	0,22	2	0,11	0,5	0,633011
Error experimental	3,78	16	0,24		
Total	522,67	26			

En la tabla 18, se puede evidenciar diferencia significativa en el Factor A (Variedades), Factor B (Microorganismos fermentativos) y la interacción A*B, mientras que en las réplicas no se encontró diferencia significativa indicando normalidad en la toma de datos.

Análisis de varianza para la variable densidad

Tabla 19

Análisis de varianza para la variable densidad del alcohol etílico obtenido de la caña de azúcar

Fuente	SC	GL	CM	Razón-F	Razón-P
A: Variedades	0,00059	2	0,00029	22	0,000027
B: Microorganismos fermentativos	0,00059	2	0,00029	22	0,000027
AB: Variedades x M. Fermentativos	0,00081	4	0,00020	15	0,000026
Repetición	0,00005	2	0,00003	2	0,177323
Error experimental	0,00021	16	0,00001		
Total	0,00225	26			

En la tabla 19, se puede evidenciar diferencia significativa en el Factor A (Variedades), Factor B (Microorganismos fermentativos) y la interacción A*B, mientras que en las réplicas no se encontró diferencia significativa indicando normalidad.

Análisis de varianza para la variable espacio libre

Tabla 20

Análisis de varianza para la variable espacio libre del alcohol etílico obtenido de la caña de azúcar.

Fuente	SC	GL	CM	Razón-F	Razón-P
A: Variedades	495,77	2	247,89	87,32	0,000000
B: Microorganismos fermentativos	2209,34	2	1104,67	389,15	0,000000
AB: Variedades x M. Fermentativos	712,68	4	178,17	62,76	0,000000
Repetición	13,33	2	6,67	2,35	0,127609
Error experimental	45,42	16	0,00001		
Total	3476,54	26			

En la tabla 20, se puede evidenciar diferencia significativa en el Factor A (Variedades), Factor B (Microorganismos fermentativos) y la interacción A*B, mientras que en las réplicas no se encontró diferencia significativa indicando normalidad.

Análisis de varianza para la variable cenizas

Tabla 21

Análisis de varianza para la variable cenizas del alcohol etílico obtenido de la caña de azúcar.

Fuente	SC	GL	CM	Razón-F	Razón-P
A: Variedades	0,052948	2	0,026474	685,73	0,000000
B: Microorganismos fermentativos	0,501888	2	0,250944	6500,05	0,000000
AB: Variedades x M. Fermentativos	0,029450	4	0,007362	190,71	0,000000
Repetición	0,000032	2	0,000016	0,41	0,670656
Error experimental	0,000618	16	0,000039		
Total	0,584936	26			

En la tabla 21, se puede evidenciar diferencia significativa en el Factor A (Variedades), Factor B (Microorganismos fermentativos) y la interacción A*B, mientras que en las réplicas no se encontró diferencia significativa indicando normalidad.

Análisis de varianza para la variable acidez total

Tabla 22

Análisis de varianza para la variable acidez total del alcohol etílico obtenido de la caña de azúcar.

Fuente	SC	GL	CM	Razón-F	Razón-P
A: Variedades	707,185	2	353,593	4492,71	0,000000
B: Microorganismos fermentativos	1757,407	2	878,704	11164,71	0,000000
AB: Variedades x M. Fermentativos	251,037	4	62,759	797,41	0,000000
Repetición	0,074	2	0,037	0,47	0,633011
Error experimental	1,259	16	0,079		
Total	2716,962	26			

En la tabla 22, se puede evidenciar diferencia significativa en el Factor A (Variedades), Factor B (Microorganismos fermentativos) y la interacción A*B, mientras que en las réplicas no se encontró diferencia significativa indicando normalidad.

Análisis de varianza para la variable rendimiento

Tabla 23

Análisis de varianza para la variable rendimiento del alcohol etílico obtenido de la caña de azúcar.

Fuente	SC	GL	CM	Razón-F	Razón-P
A: Variedades	112,97	2	56,49	516,5	0,000000
B: Microorganismos fermentativos	560,64	2	280,32	2563,4	0,000000
AB: Variedades x M. Fermentativos	155,82	4	38,95	356,2	0,000000
Repetición	0,62	2	0,31	2,8	0,088797
Error experimental	1,75	16	0,11		
Total	831,8	26			

En la tabla 23, se puede evidenciar diferencia significativa en el Factor A (Variedades), Factor B (Microorganismos fermentativos) y la interacción A*B, mientras que en las réplicas no se encontró diferencia significativa indicando normalidad.

Prueba de significancia (Tukey $p < 0,05$) para los factores del estudio de tres variedades de caña de azúcar (ECU-01; EC-06; EC-08) considerando distintos microorganismos fermentativos para la obtención de alcohol.

Prueba de significancia de Tukey para el Factor A (Variedades)

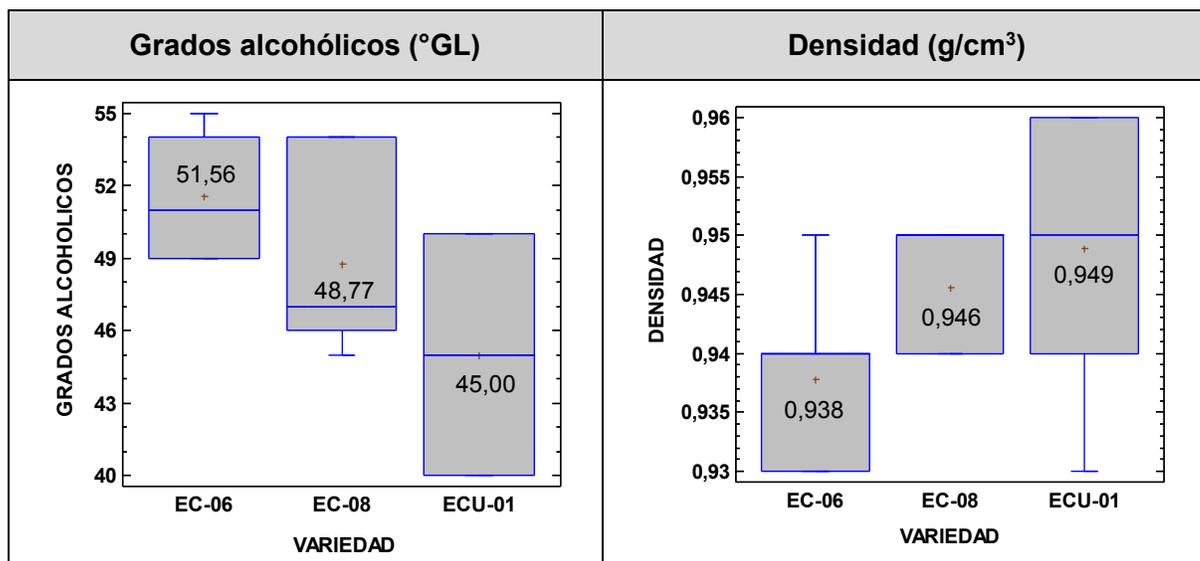
Tabla 24

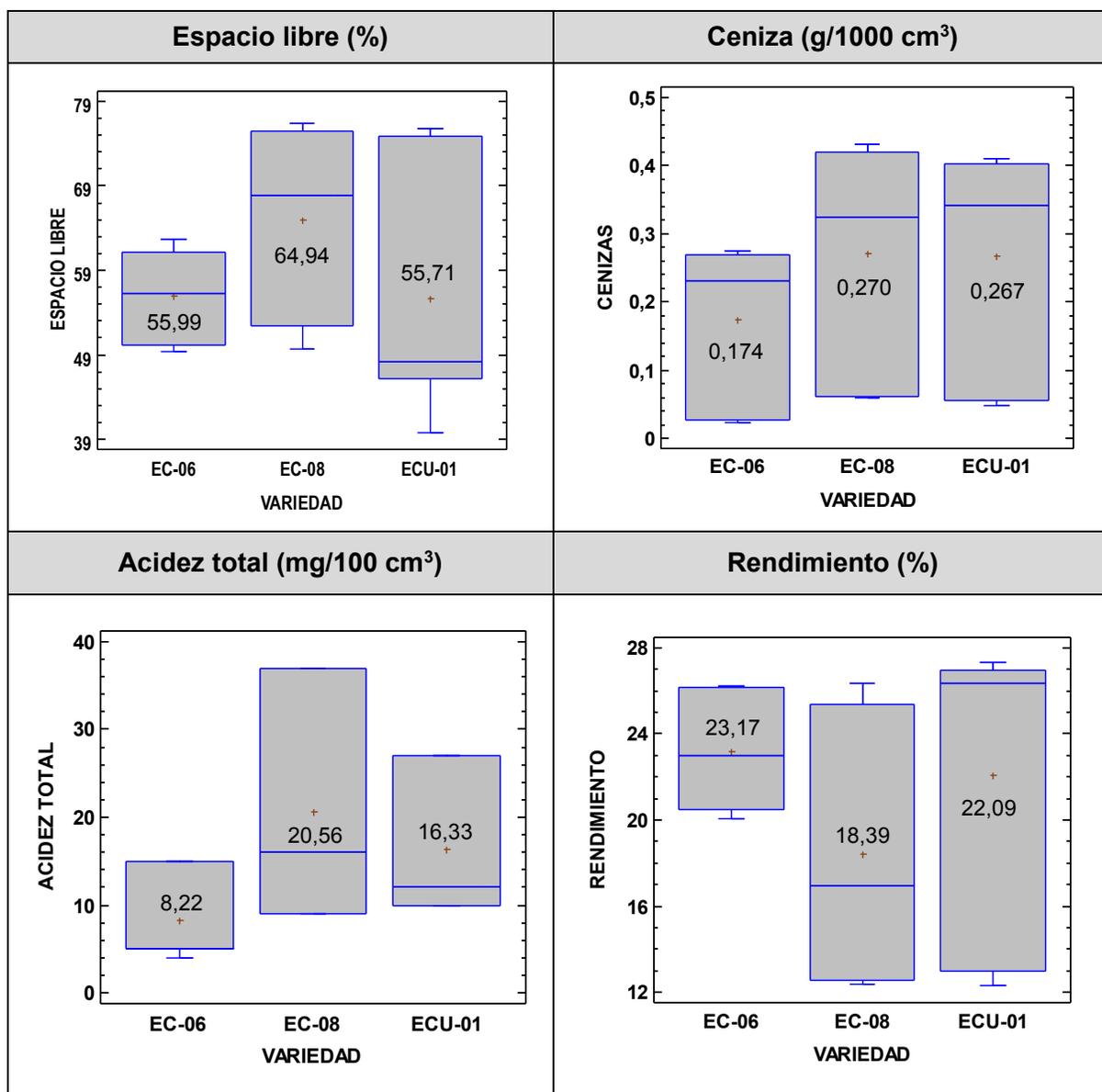
Resultados de la prueba de significancia Tukey para el Factor A en las variables físico-químicas.

	Factor A Variedad	Grados alcohólicos	Densidad	Espacio libre	Ceniza	Acidez Total	Rendimiento
a ₁	ECU-01	45,00 ^a	0,949 ^b	55,71 ^a	0,267 ^b	16,33 ^b	22,09 ^b
a ₂	EC-06	51,56 ^c	0,938 ^a	55,99 ^b	0,174 ^a	8,22 ^a	23,17 ^c
a ₃	EC-08	48,77 ^b	0,946 ^b	64,94 ^b	0,270 ^b	20,56 ^c	18,39 ^a

Figura 12

Prueba de significancia en las características físico-químicas del alcohol según las variedades (Factor A).





Conforme a los resultados de la prueba de Tukey para el Factor A (Variedad), se puede evidenciar en la figura 12 referente a grados alcohólicos diferencia estadísticamente significativa, mostrando la variedad EC-06 (51,56°GL) el valor más alto, seguido de la variedad EC-08 con 48,77°GL y la variedad ECU-01 con 45°GL.

En cuanto a la densidad, las variedades ECU-01 y EC-08 mostraron valores más altos con densidades de $0,949 \text{ g/cm}^3$ y $0,946 \text{ g/cm}^3$ respectivamente, frente a la variedad EC-06, con una densidad de $0,938 \text{ g/cm}^3$.

Respecto al espacio libre, la variedad ECU-01 mostró el valor más bajo correspondiente a $55,71\%$, frente a las variedades EC-06 y EC-08 con porcentajes de espacio libre de $55,99\%$ y $64,94\%$ proporcionalmente.

Referente a cenizas, las variedades ECU-01 y EC-08 mostraron los valores más altos de cenizas de $0,267 \text{ g/1000cm}^3$ y $0,270 \text{ g/1000cm}^3$ respectivamente, frente a la variedad EC-06 con una cantidad de cenizas de $0,174 \text{ g/1000cm}^3$.

En cuanto a la acidez total, las tres variedades reflejaron diferencias estadísticamente significativas, siendo EC-08 ($20,56 \text{ mg/100cm}^3$) la variedad con el valor más alto de acidez, seguido de la variedad ECU-01 con $16,33 \text{ mg/100cm}^3$ y EC-06 con $8,22 \text{ mg/100cm}^3$.

Respecto al rendimiento, se evidenció diferencia significativa en cada una de las variedades, siendo $23,17\%$ el valor más alto correspondiente a la variedad EC-06, seguida de ECU-01 con $22,09\%$ y EC-08 con $18,39\%$.

Prueba de significancia Tukey para el Factor B (Microorganismo Fermentativo)

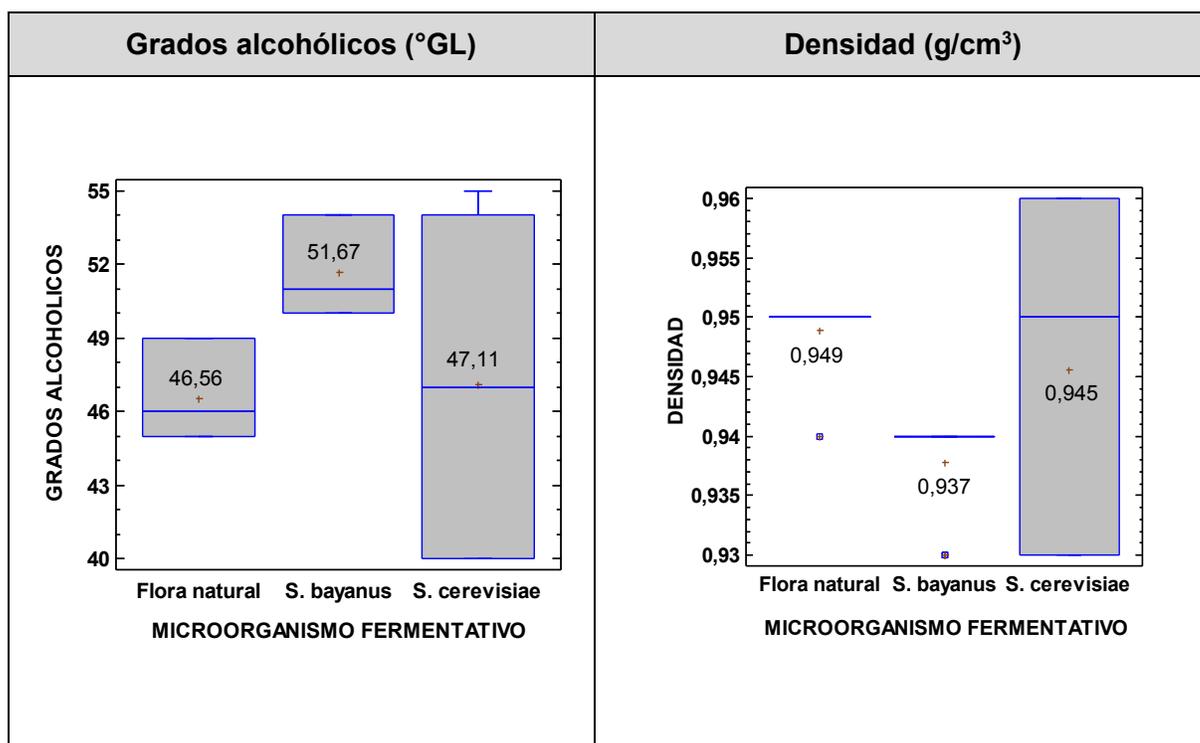
Tabla 25

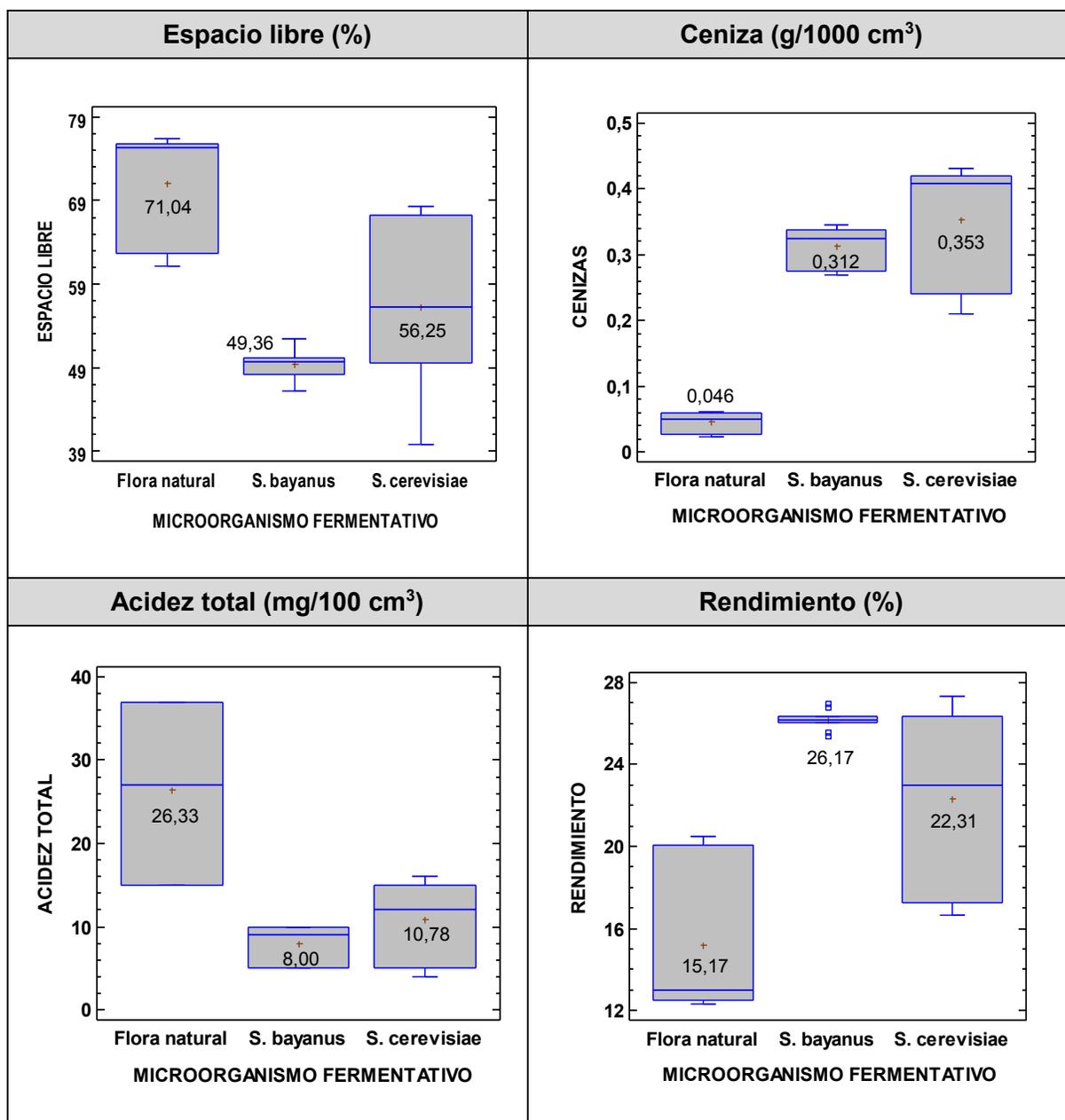
Resultados de la prueba de significancia Tukey para el Factor B en las variables físico-químicas.

	Factor B M. Fermentativo	Grados alcohólicos	Densidad	Espacio libre	Ceniza	Acidez Total	Rendimiento
b ₁	<i>S. cerevisiae</i>	47,11 ^a	0,945 ^b	56,25 ^b	0,353 ^c	10,78 ^b	22,31 ^b
b ₂	<i>S. bayanus</i>	51,67 ^b	0,937 ^a	49,36 ^a	0,312 ^b	8,00 ^a	26,17 ^c
b ₃	Flora natural	46,56 ^a	0,949 ^b	71,04 ^c	0,046 ^a	26,33 ^c	15,17 ^a

Figura 13

Prueba de significancia en las características físico-químicas del alcohol según las variedades (Factor B).





Conforme a los resultados de la prueba de Tukey para el Factor B

(Microorganismo fermentativo), se puede evidenciar en la figura 13 referente a grados alcohólicos que *Saccharomyces bayanus* mostró el valor más alto (51,67°GL), frente a *Saccharomyces cerevisiae* y Flora natural con contenido alcohólico de 46,56°GL y 47,11°GL respectivamente.

En cuanto a la densidad, *Saccharomyces cerevisiae* y Flora natural mostraron valores más altos de densidad de 0,945 g/cm³ y 0,949 g/cm³ respectivamente, frente a *Saccharomyces bayanus* con una densidad de 0,937 g/cm³.

Respecto al espacio libre, se puede evidenciar diferencia estadísticamente significativa, donde Flora natural mostró el valor más alto equivalente a 71,04%, seguido de *Saccharomyces cerevisiae* con 56,25% y *Saccharomyces bayanus* con 49,36%.

Referente al contenido de cenizas, se puede evidenciar diferencia significativa, mostrando los microorganismos fermentativos *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces bayanus* los valores más altos correspondiente a 0,353 g/1000cm³ y 0,312 g/1000cm³ respectivamente, frente a Flora natural con un contenido de cenizas de 0,046 g/1000cm³.

Respecto a acidez total, existió diferencia estadísticamente significativa en cada uno de los microorganismos fermentativos, siendo 26,33 mg/100cm³ el valor más alto equivalente a Flora natural, seguido de *Saccharomyces cerevisiae* con 10,78 mg/100cm³ y *Saccharomyces bayanus* con 8,00 mg/100cm³.

En cuanto al rendimiento, se evidenció diferencia estadísticamente significativa, mostrando el microorganismo fermentativo *S. bayanus* el valor más alto equivalente a 26,17%, seguido de *S. cerevisiae* con 22,31% y Flora natural con 15,17%.

Prueba de significancia de Tukey para la interacción A*B (Variedad x Microorganismo fermentativo)

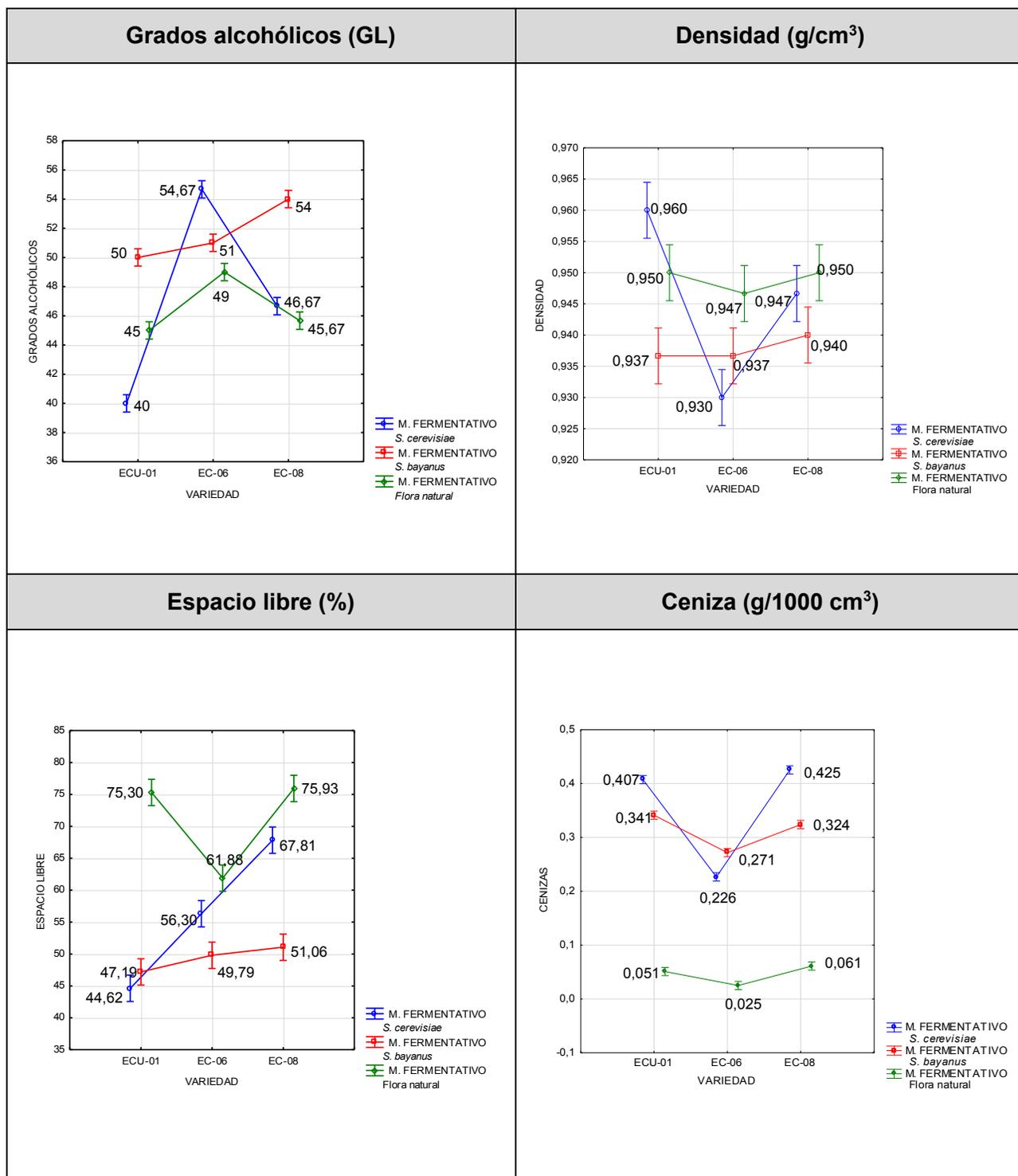
Tabla 26

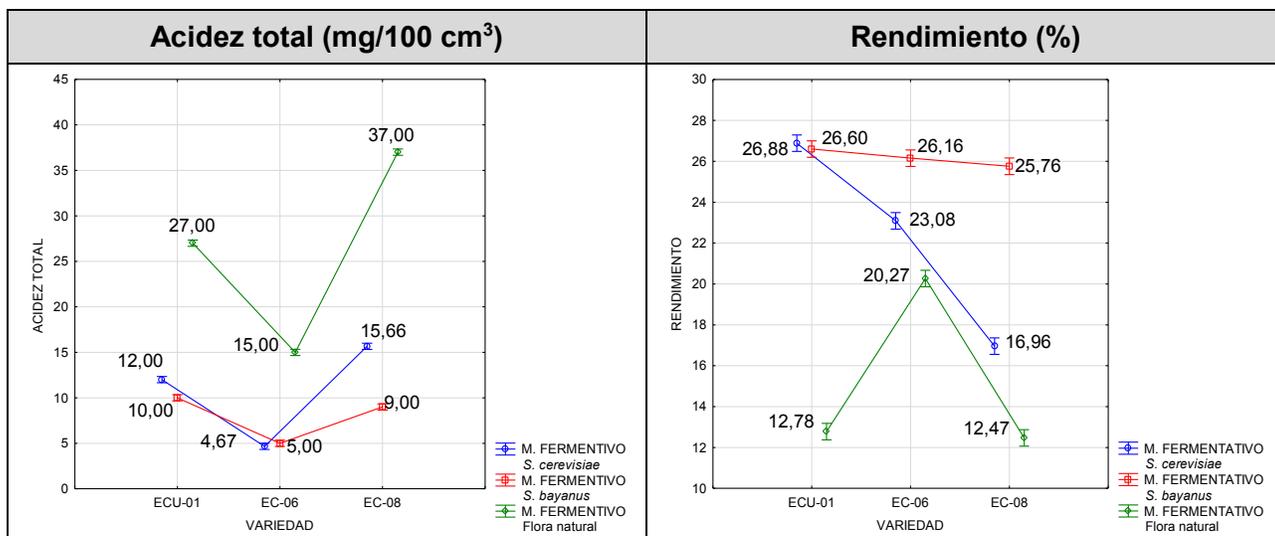
Resultados de la prueba de significancia Tukey para la interacción A*B en las variables físico-químicas.

Interacción	Factor A (Variedad)	Factor B (Microorganismo Fermentativo)	Grados alcohólicos	Densidad	Espacio libre	Ceniza	Acidez Total	Rendimiento
a ₁ b ₁	ECU-01	<i>S. cerevisiae</i>	40,00 ^a	0,960 ^d	44,62 ^a	0,407 ^f	12,00 ^d	26,88 ^f
a ₁ b ₂	ECU-01	<i>S. bayanus</i>	50,00 ^{de}	0,937 ^{ab}	47,19 ^{ab}	0,341 ^e	10,00 ^c	26,60 ^{ef}
a ₁ b ₃	ECU-01	Flora natural	45,00 ^b	0,950 ^{cd}	75,30 ^f	0,051 ^b	27,00 ^f	12,78 ^a
a ₂ b ₁	EC-06	<i>S. cerevisiae</i>	54,67 ^f	0,930 ^a	56,30 ^c	0,226 ^c	4,67 ^a	23,08 ^d
a ₂ b ₂	EC-06	<i>S. bayanus</i>	51,00 ^e	0,937 ^{ab}	49,79 ^b	0,271 ^d	5,00 ^a	26,16 ^{ef}
a ₂ b ₃	EC-06	Flora natural	49,00 ^d	0,947 ^{bc}	61,88 ^d	0,025 ^a	15,00 ^e	20,27 ^c
a ₃ b ₁	EC-08	<i>S. cerevisiae</i>	46,67 ^c	0,947 ^{bc}	67,81 ^e	0,425 ^f	15,66 ^e	16,96 ^b
a ₃ b ₂	EC-08	<i>S. bayanus</i>	54,00 ^f	0,940 ^{abc}	51,06 ^b	0,324 ^e	9,00 ^b	25,76 ^e
a ₃ b ₃	EC-08	Flora natural	45,67 ^{bc}	0,950 ^{cd}	75,93 ^f	0,061 ^b	37,00 ^g	12,47 ^a

Figura 14

Prueba de significancia en las características físico-químicas del alcohol de la interacción A*B.





Conforme a los resultados de la prueba de Tukey para la interacción A*B (Variedad * Microorganismo fermentativo), se puede evidenciar en la figura 14 referente a grados alcohólicos que la interacción EC-06 + *S. cerevisiae* (54,67°GL) mostró el valor más alto, seguido de la interacción EC-08 + *S. bayanus* con 54°GL, mientras que la interacción ECU-01 + *S. cerevisiae*, mostró el grado alcohólico más bajo equivalente a 40°GL.

Respecto a la densidad, la interacción ECU-01 + *S. cerevisiae* mostró el valor más alto correspondiente a 0,96 g/cm³, seguido de las interacciones ECU-01 + Flora natural y EC-08 + Flora natural con una densidad de 0,950 g/cm³, mientras que el valor más bajo de densidad mostró la interacción EC-06 + *S. cerevisiae* (0,930 g/cm³).

Referente al espacio libre, el valor más bajo mostró la interacción ECU-01 + *S. cerevisiae* con 44,62%, seguido de las interacciones ECU-01 + *S. bayanus* y ECU-06 + *S. bayanus* con valores de 47,19 % y 49,79% respectivamente, mientras que la interacción EC-08 + Flora natural mostró el mayor porcentaje de espacio libre equivalente a 75,93%.

En cuanto a cenizas, se puede evidenciar que las interacciones EC-06 + Flora natural, ECU-01 + Flora natural y EC-08 + Flora natural mostraron los valores más bajos de contenido de cenizas correspondientes a 0,025 g/1000cm³, 0,051 g/1000cm³ y 0,061 g/1000cm³ respectivamente, frente a la interacción EC-08 + *S. cerevisiae* la cual mostró el valor más alto de ceniza equivalente a 0,425 g/1000cm³.

Respecto a la acidez total, la interacción EC-08 + Flora natural (37 mg/100cm³) mostró el valor más alto, frente a las interacciones EC-06 + *S. bayanus* y EC-08 + *S. bayanus* con valores de acidez total de 5,00 mg/100cm³ y 9,00 mg/100cm³ respectivamente.

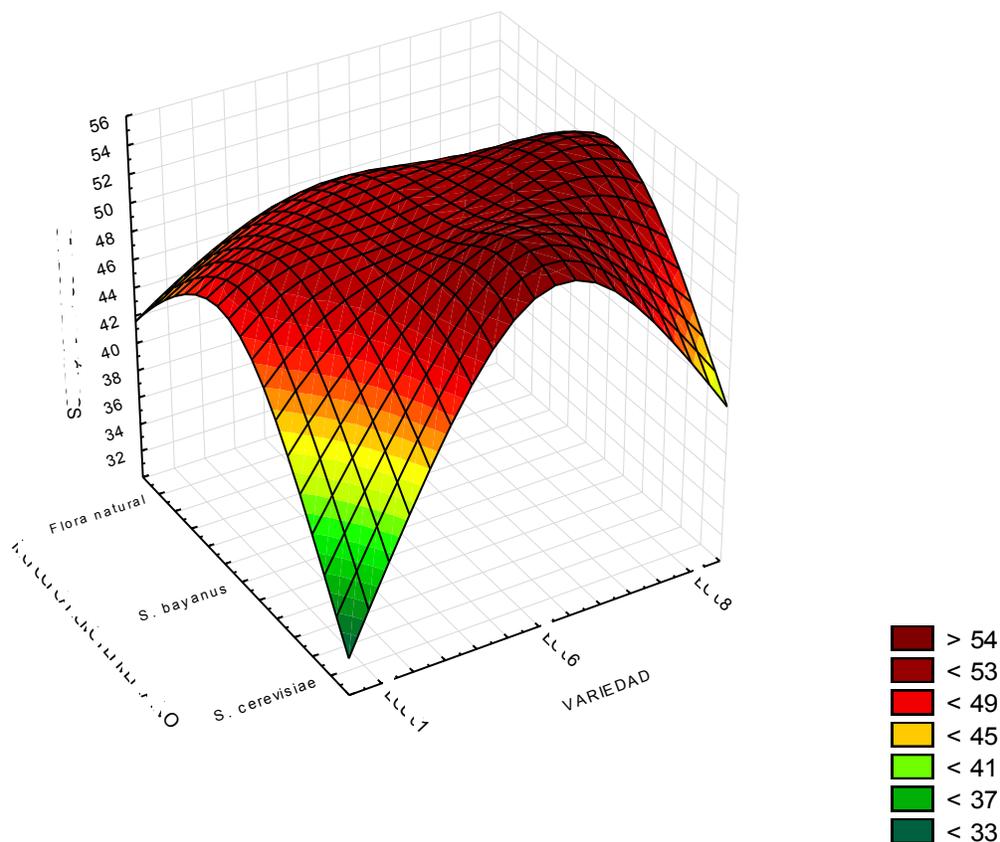
Referente al rendimiento, ECU-01 + *S. cerevisiae* mostró el valor más alto (26,88%), seguido de ECU-01 + *S. bayanus* con 26,60%, mientras que las interacciones EC-08 + Flora natural y ECU-01 + Flora natural mostraron rendimientos de 12,47% y 12,78% respectivamente.

Resultado de gráficos de superficie de respuesta

Gráfico de superficie de respuesta de la variable Grados Alcohólicos

Figura 15

Gráfico de superficie de respuesta para Grados Alcohólicos.



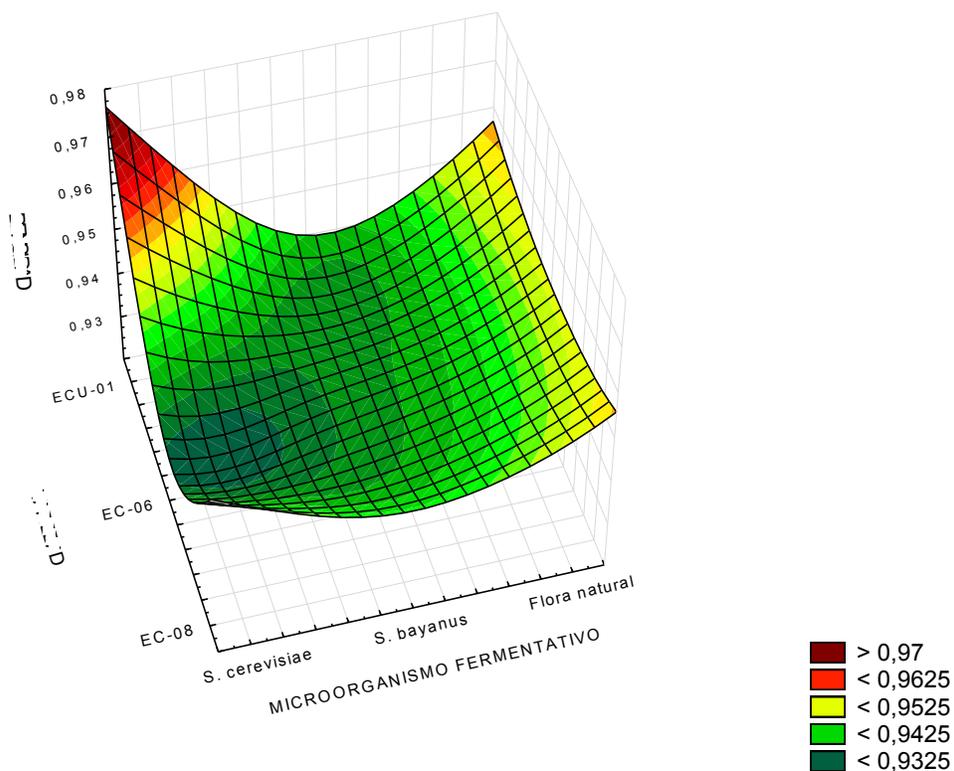
En la figura 15, se muestran el gráfico de superficie para grados alcohólicos, en el cual, se evidencia que los valores más representativos se ubican en la parte superior derecha del gráfico representados de color rojo intenso, destacándose las variedades EC-06 y EC-08 y los microorganismos fermentativos *S. cerevisiae* y *S. bayanus*. Los

valores más bajos se evidencian en la parte inferior del gráfico señalado con color verde intenso coincidiendo con EC-01 y *S. cerevisiae*.

Gráfico de superficie de respuesta de la variable Densidad

Figura 16

Gráfico de superficie de respuesta para Densidad.

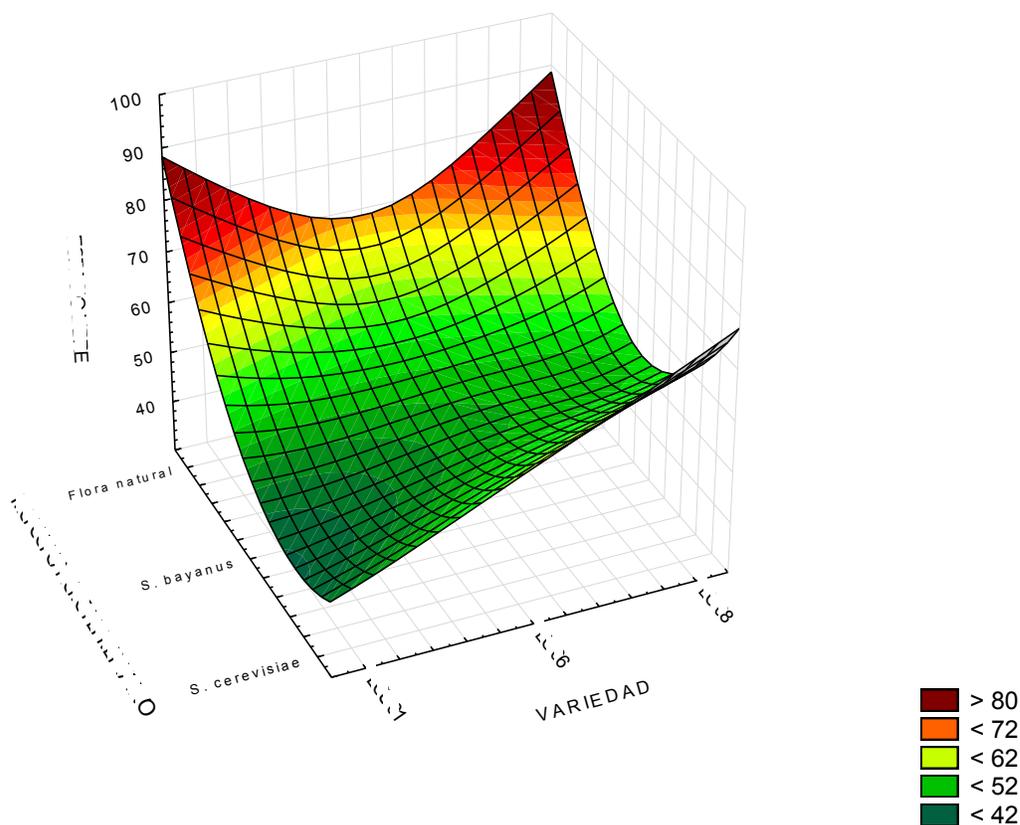


En la figura 16, se muestra el gráfico de superficie para densidad, en la cual, se observa que los valores más altos se ubican en la parte superior izquierda del gráfico representados de color rojo intenso, destacándose la variedad ECU-01 juntamente con *S. cerevisiae*, mientras que los valores más bajos se reflejan en la parte izquierda media del gráfico señalado con color verde intenso específicamente para EC-06 y *S. cerevisiae*.

Gráfico de superficie de respuesta de la variable Espacio Libre

Figura 17

Gráfico de superficie de respuesta para Espacio Libre.

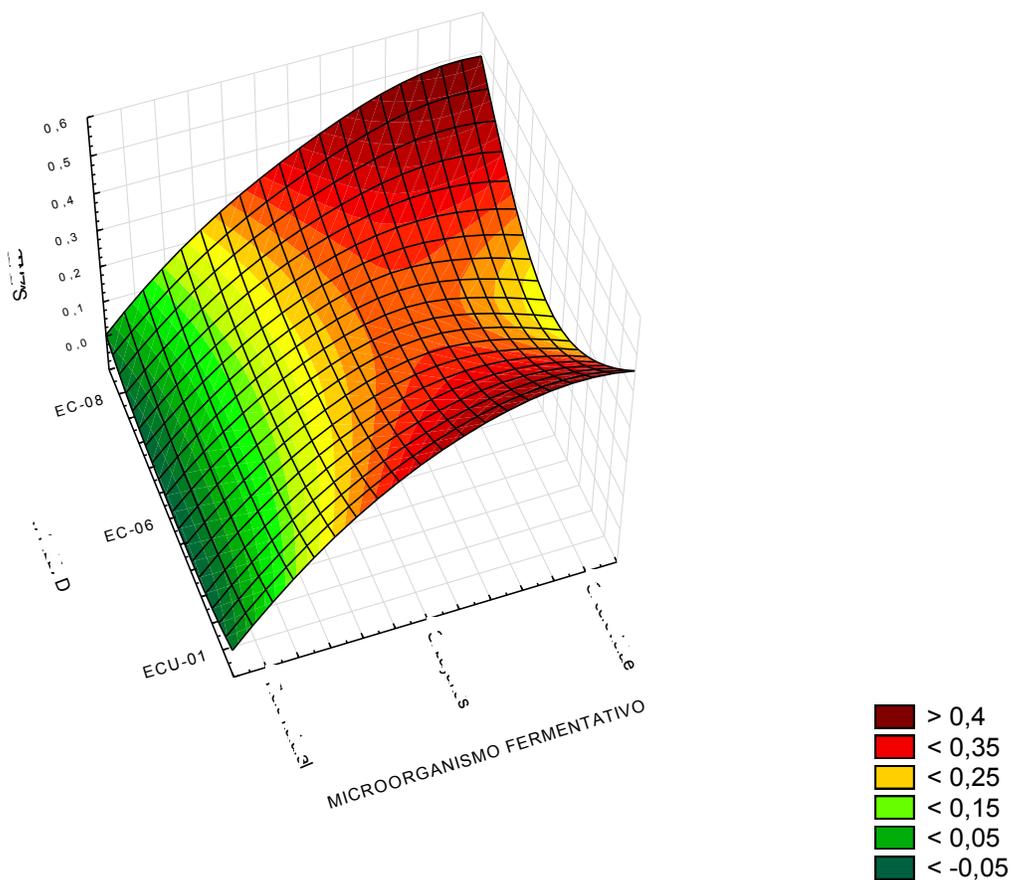


En la figura 17, se evidencia en la parte superior del gráfico representado de color rojo intenso los valores más altos en cuanto al espacio libre coincidiendo con las variedades ECU-01 y EC-08 específicamente para Flora natural, mientras que los valores más bajos se reflejan de color verde intenso en la parte inferior del gráfico específicamente para la variedad ECU-01 juntamente con *S. cerevisiae* y *S. bayanus*.

Gráfico de superficie de respuesta de la variable Ceniza

Figura 18

Gráfico de superficie de respuesta para Ceniza.

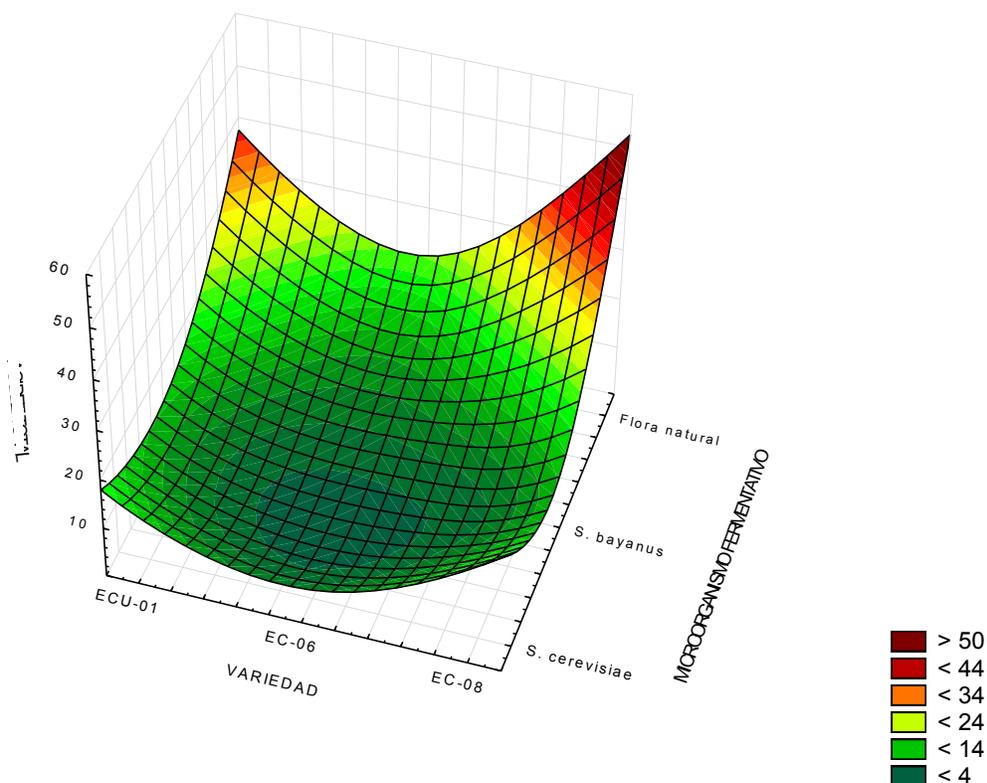


En la figura 18, se evidencia en la parte derecha del gráfico representado de color rojo intenso los valores más altos en cuanto a cenizas coincidiendo con las variedades ECU-01 y EC-08 situados específicamente en la recta de *S. cerevisiae*, mientras que los valores más bajos se reflejan de color verde intenso en la parte izquierda del gráfico encontrándose a las variedades ECU-01, EC-06 y EC-08 juntamente con Flora natural.

Gráfico de superficie de respuesta de la variable Acidez Total

Figura 19

Gráfico de superficie de respuesta para Acidez Total.

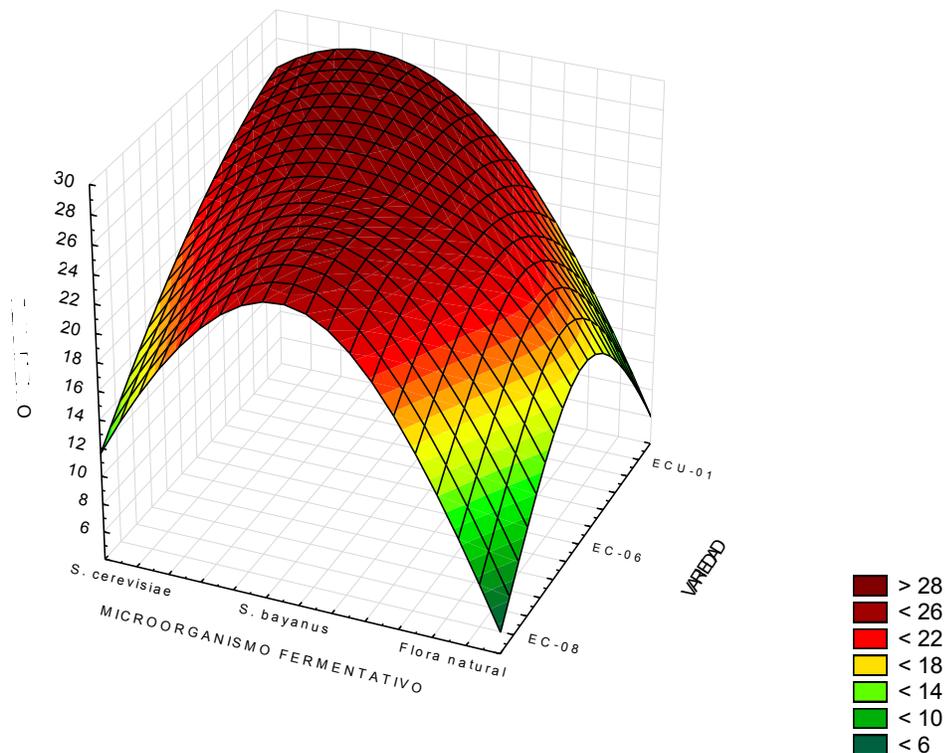


En la figura 19, se muestra en la parte superior derecha del gráfico representado de color rojo intenso los valores más altos en cuanto a acidez total coincidiendo con la variedad EC-08 juntamente con Flora natural, mientras que los valores más bajos se reflejan de color verde intenso en la parte inferior del gráfico situándose la variedad EC-06 con *S. cerevisiae* y *S. bayanus*.

Gráfico de superficie de respuesta de la variable Rendimiento

Figura 20

Gráfico de superficie de respuesta para Rendimiento.



En la figura 20, se muestra en la parte superior del gráfico representado de color rojo intenso los valores más altos en cuanto al rendimiento coincidiendo con la variedad ECU-01 juntamente con *S. cerevisiae* y *S. bayanus*, mientras que los valores más bajos se reflejan de color verde intenso en la parte inferior del gráfico situándose las variedades ECU-01 y EC-08 con Flora natural.

Análisis de componentes principales

Tabla 27

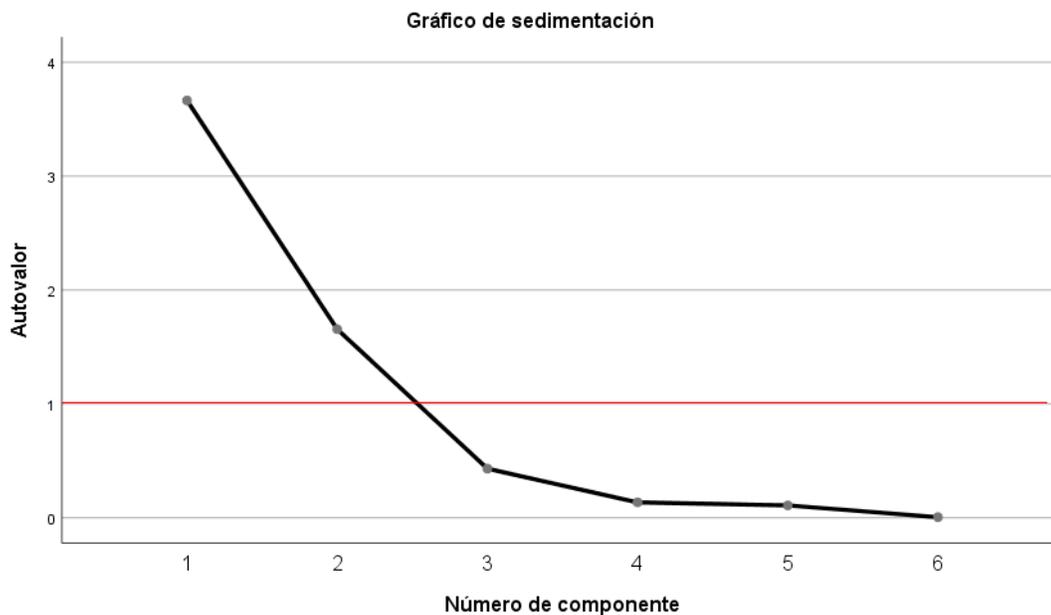
Matriz de correlación de los componentes principales.

		Matriz de correlaciones					
		Grados alcohólicos	Densidad	Espacio libre	Cenizas	Acidez total	Rendimiento
Correlación	Grados alcohólicos	1,000	-,875	-,219	-,017	-,527	,320
	Densidad	-,875	1,000	,243	-,061	,528	-,319
	Espacio libre	-,219	,243	1,000	-,641	,824	-,988
	Cenizas	-,017	-,061	-,641	1,000	-,585	,623
	Acidez total	-,527	,528	,824	-,585	1,000	-,871
	Rendimiento	,320	-,319	-,988	,623	-,871	1,000

En la tabla 27, se puede evidenciar que entre las variables espacio libre y acidez; cenizas y rendimiento; densidad y acidez existe una alta correlación (0,824, 0,623, 0,528), mientras que las variables grados alcohólicos y rendimiento; espacio libre y densidad presentan una ligera correlación (0,320 y 0,256).

Figura 21

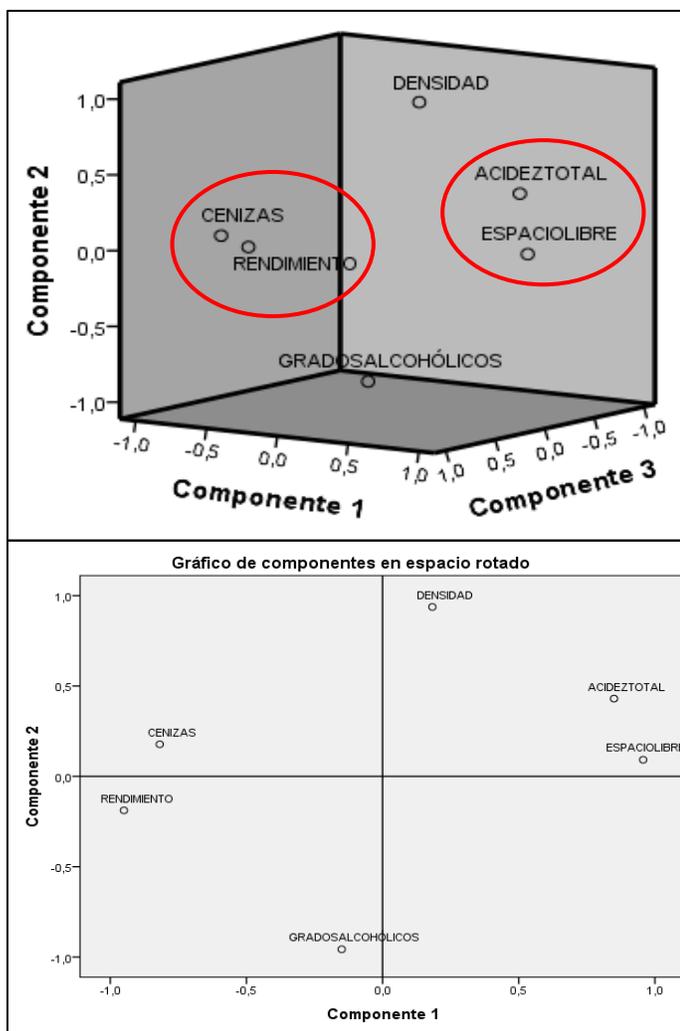
Gráfico de sedimentación.



La figura 12 muestra el número de componentes estudiados en la presente investigación, permitiendo elegir las variables con autovalores mayores a 1 las cuales influyen principalmente dentro del diseño, entre ellas, se destaca los grados alcohólicos y densidad con porcentajes de varianza de 61,07% y 27,59% respectivamente.

Figura 22

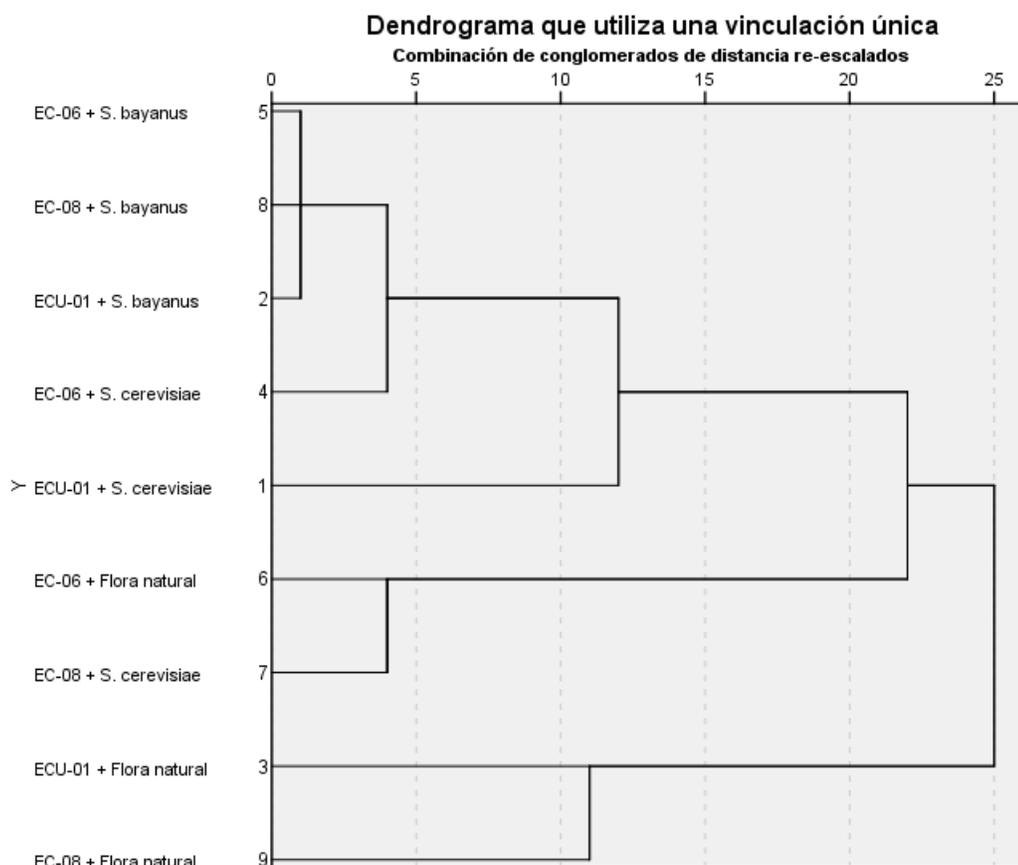
Gráfico de componentes principales.



En la figura 22 se muestra las variables que constituyen cada componente, se evidencia que existe correlación inversa entre la variable ceniza y rendimiento, además, existe correlación entre la variable acidez total y espacio libre, sin embargo, se determina mediante el gráfico inferior del modelo 2D que no existe una correlación estrechamente marcada entre las variables.

Figura 23

Resultado de análisis de conglomerados.

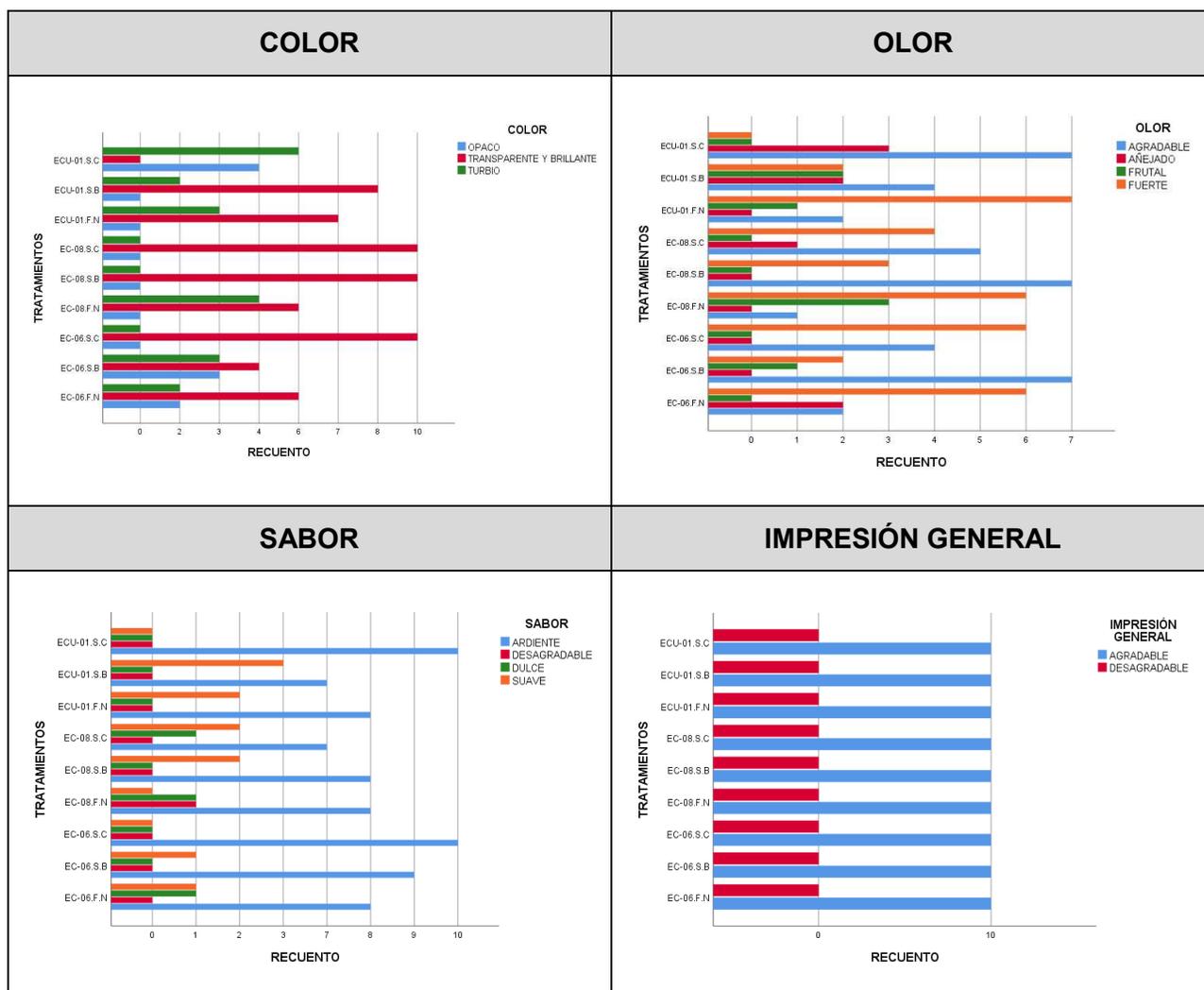


La figura 23 muestra el dendrograma del resultado de análisis de conglomerados, el cual indica que al existir una distancia relativamente corta entre los tratamientos se genera mayor similitud en cuanto a las variables evaluadas, de tal forma que, en el gráfico descrito se evidencia que los tratamientos EC-06 + *S. bayanus*, EC-08 + *S. bayanus* y ECU-01 + *S. bayanus* presentan una estrecha relación a comparación de los demás tratamientos.

Resultados del estudio del análisis sensorial

Figura 24

Resultado del análisis sensorial en el alcohol etílico (Producto final).



La figura 24 muestra los resultados obtenidos frente al análisis sensorial realizado al alcohol de los diferentes tratamientos, en el cual, se evaluaron características organolépticas: color, olor, sabor e impresión general.

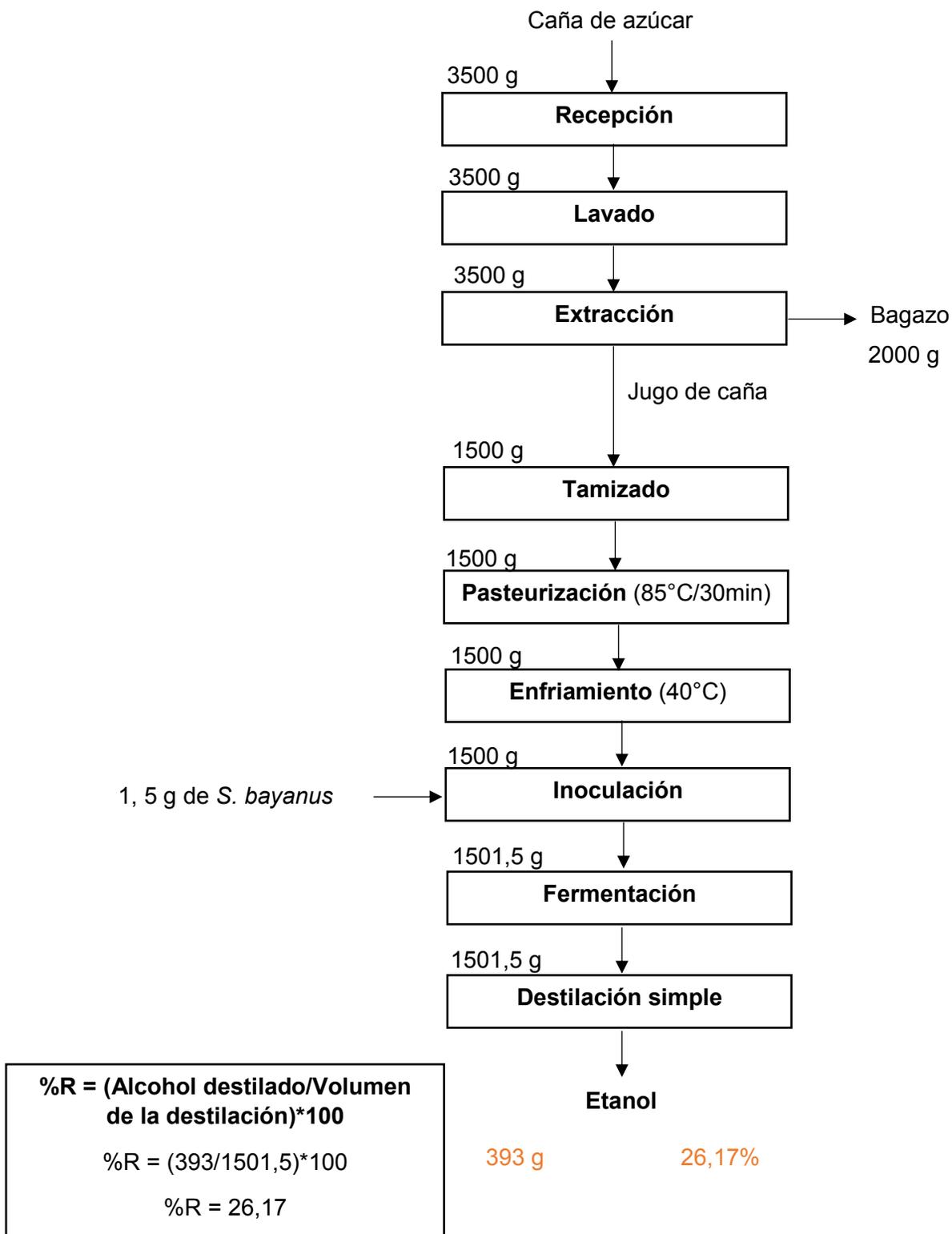
Referente al color, se evidencia claramente que transparente y brillante fue catalogado como el más característico en los diferentes tratamientos correspondiente al 67,8% del total, además, se observa que los colores turbio y opaco también se vieron reflejados en el alcohol representando el 22,2% y 10% respectivamente.

En cuanto al olor, se refleja mayor predominancia por parte del olor agradable con el 43,3%, seguido de fuerte con el 40%, siendo los olores más representativos en los diferentes tratamientos, además, olores como frutales y añejado también fueron percibidos en el alcohol pero en menor proporción correspondiente al 7,77% y 8,88% del total.

En lo que respecta al sabor, se evidencia que el 83,33% de la puntuación fue acreditada al sabor ardiente provocado por el alcohol obtenido de los diferentes tratamientos, mientras que el 12,2%, 3,3% y 1,11% correspondió a los sabores suave, dulce y desagradable.

Referente a la impresión general, se observa que para todas las personas que fueron parte del análisis, les resultó agradable el alcohol obtenido en los diferentes tratamientos, siendo de esta manera equivalente el 100% de la puntuación.

Balance de materiales equivalente al mejor tratamiento (a₂b₂)



Capítulo V

Discusión

Caracterización fisicoquímica y microbiológica del jugo de caña

Respecto al pH, las variedades ECU-01 y EC-08 reflejaron valores en torno a 5,6, mientras que la variedad EC-06 alcanzó el 5,7, valores que se encuentran dentro del rango expuesto por (Chen, 1997), el cual indica que el pH en el jugo de la planta madura de la caña de azúcar varía entre 4,73 y 5,63.

En cuanto a los sólidos solubles, EC-08 mostró el valor más alto correspondiente a 22,5° Brix debido a que esta variedad se caracteriza por el alto contenido de azúcar y capacidad temprana de maduración de acuerdo a (Silva et al., 2016). Así mismo, las variedades ECU-01 y EC-06 mostraron valores de 21,1 y 21,9°Brix, corroborando lo descrito por (Ramírez, Insuasty, & Viveros, 2014), quienes mencionan que normalmente los grados Brix de los jugos deben fluctuar entre 16 y 24.

Referente a la acidez titulable, la mayor concentración se obtuvo con la variedad ECU-01 con 0,19%, seguido de la variedad EC-08 con 0,16% y EC-06 con 0,13%. Por otro lado, (Cobeña & Loor, 2016) obtuvieron valores de acidez de 0,14 y 0,36%, mientras que (López et al., 2013) alcanzó el 0,52%, valores relativamente altos a los obtenidos en esta investigación; en base a lo mencionado y según lo descrito por (Honig, 1969) citado por (Zossi, Cárdenas, Sorol, & Sastre, 2010), los ácidos orgánicos presentes en el jugo de caña constituyen una parte variable, pero muy significativa, del total de los no azúcares solubles en la caña, siendo estos los que generan la mayor proporción de acidez titulable del jugo.

(Panchi, 2013) indica que, a manera que los °Brix incrementa, la densidad relativa de la muestra aumenta, información que certifica lo obtenido en la investigación, donde, EC-08 al ser una variedad con el valor más alto de °Brix (22,5) mostró ser la variedad con mayor densidad (1,1 g/cm³) frente a las variedades ECU-01 y EC-06 con densidades de 1,08 gcm³, 1,09 g/cm³.

La caña de azúcar dispone de una microbiota muy diversa la cual tiene connotación con el papel que toman los microorganismos en la fabricación de los azúcares (Blanco, 1995). Bacterias ácido lácticas, enterobacterias y levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus laurentii*, *Candida utilis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Candila guilliermondii*, *Penicillium*), son microorganismos que forman parte de la composición del jugo de caña y son causantes de la fermentación (Armijos, 2016).

La caracterización microbiológica en cuanto a aerobios para las variedades ECU-01, ECU-06 y EC-08 mostró ser $1,29 \cdot 10^{-4}$ UFC/ml, $1,12 \cdot 10^{-4}$ UFC/ml y $1,05 \cdot 10^{-4}$ UFC/ml, mientras que para mohos y levaduras fue de $5,6 \cdot 10^{-3}$ UFC/ml, $7,5 \cdot 10^{-3}$ UFC/ml y $1,08 \cdot 10^{-2}$ UFC/ml respectivamente, valores que se encuentra sobre los requisitos establecidos por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 2337, 2008) y la Norma Oficial Mexicana (NOM-130-SSA1, 1995), los cuales establecen un nivel de aceptación para mesófilos y aerobios de <100 UFC/ml y para hongos y levaduras de <25 UFC/ml.

Factor A (Variedad)

De acuerdo a los resultados reflejados del análisis de Tukey ($p < 0,05$) para el Factor A correspondiente a las variedades de caña de azúcar (ECU-01, EC-06, EC-08) estudiadas en la obtención de alcohol, se determinó que:

Respecto a los grados alcohólicos, el valor más alto mostró la variedad EC-06 con $51,56^{\circ}\text{GL}$, seguido de la variedad EC-08 con $48,77^{\circ}\text{GL}$ y ECU-01 con 45°GL , valores permitidos por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 362, 1992), la cual indica los requerimientos para el aguardiente de caña estableciendo un rango mínimo de 28°GL y máximo de 50°GL . Por otro lado, (Guerra, 2015) en su estudio realizado en tres variedades de caña (POJ, Caleña, Cenizosa), reportó una concentración alcohólica de 39°GL reflejando inferioridad frente a los resultados obtenidos en esta investigación, deduciendo de tal forma que la calidad del producto final en particular dependerá de las características del jugo utilizado, levadura usada para la fermentación y del proceso de elaboración (Ferreyra et al., 2009).

En cuanto a la densidad, el valor más alto mostró la variedad ECU-01 con una media de $0,949 \text{ g/cm}^3$, seguido de la variedad EC-08 g/cm^3 con $0,946 \text{ g/cm}^3$ y EC-06 con $0,938 \text{ g/cm}^3$ valores relativamente similares a los obtenidos por (Guerra, 2015) el cual reportó densidades que van desde $0,9516 \text{ g/cm}^3$, $0,9537 \text{ g/cm}^3$ y $0,9539 \text{ g/cm}^3$ para las variedades empleadas en la investigación (Cenizosa, Caleña, POJ).

Respecto al espacio libre, el valor más bajo mostró la variedad ECU-01 con una media de $55,71\%$ frente a las variedades EC-06 y EC-08 correspondiente a $55,99$ y $64,94\%$, valores que no se ajustan a lo establecido por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 365, 1987), la cual indica que el espacio libre debe alcanzar el 2 y 5% del volumen del envase comercial. Se deduce que el tamaño del envase influye

directamente sobre el porcentaje de espacio libre frente a la cantidad de alcohol contenido de la destilación.

Referente al contenido de cenizas, según (Cobeña & Loor, 2016) su determinación es alusiva como el análisis de los residuos orgánicos que se muestran luego de la oxidación del alcohol, empleando la calcinación; cabe señalar que al no existir información concisa que indique los niveles favorables de ceniza para las variedades en estudio, se deduce que la cantidad reflejada se debe al manejo del cultivo o a su vez a la manipulación de la materia prima para la elaboración del alcohol, siendo la variedades EC-08 y ECU-01 las que presentan el contenido más alto de cenizas de $0,27 \text{ g}/1000\text{cm}^3$ y $0,267 \text{ g}/1000\text{cm}^3$, frente a la variedad EC-06 con $0,174 \text{ g}/1000\text{cm}^3$.

En cuanto a la acidez total, el valor más alto mostró la variedad EC-08 con una media de $20,56 \text{ mg}/100\text{cm}^3$, seguido de ECU-01 con $16,33 \text{ mg}/100\text{cm}^3$ y EC-06 con $8,22 \text{ mg}/100\text{cm}^3$, valores que se ajustan a los parámetros requeridos por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 362, 1992), la cual indica los requerimientos para el aguardiente de caña estableciendo un valor máximo de acidez total de $40 \text{ mg}/100\text{cm}^3$.

Con respecto al rendimiento, la variedad EC-06 mostró el valor más alto correspondiente a 23,17%; (Guerra, 2015) señala en su investigación que obtuvo un rendimiento del 71% para la variedad Cenizosa, valor relativamente alto a lo obtenido en esta investigación, sin embargo, (Vera & Zambrano, 2018) para el alcohol derivado del cacao variedad Nacional mostraron un rendimiento del 18,4%, cantidad más próxima al resultado obtenido en esta investigación. Se estima que las características fisicoquímicas propias de la especie y variedad pueden llegar a hacer factor de influencia en el rendimiento alcohólico.

Factor B (Microorganismo fermentativo)

De acuerdo a los resultados reflejados por la prueba de Tukey ($p < 0,05$) frente a los microorganismos fermentativos (*S. cerevisiae*, *S. bayanus*, Flora natural) empleados para la obtención de alcohol, se determinó lo siguiente:

Los microorganismos fermentativos usados en la presente investigación corresponden a levaduras, las cuales son ampliamente utilizadas para la producción de etanol mediante la fermentación ya que estas producen un mejor proceso de separación después del proceso de fermentación, asimismo producen un contenido de toxinas muy inferior comparada con otros microorganismos (Panchal, 1995).

Referente a los grados alcohólicos, el valor más alto mostró *S. bayanus* correspondiente a $51,67^{\circ}\text{GL}$, mientras que *S. cerevisiae* y Flora natural reflejaron una menor concentración alcohólica de $47,11^{\circ}\text{GL}$ y $46,56^{\circ}\text{GL}$, valores que se ajustan a la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 362, 1992) establecidos en un rango mínimo de 28°GL y máximo de 50°GL . Así mismo, (Viteri, 2020) en su estudio de la cinética del mosto de achotillo y carambola para la obtención de alcohol aplicando microorganismo fermentativos, obtuvo concentraciones alcohólicas de $50,83^{\circ}\text{GL}$ y $47,33^{\circ}\text{GL}$, similares a los valores descritos anteriormente. Esto según (Agudo, 2014), se debe a que el rendimiento fermentativo que se obtiene de una levadura es característico de la cantidad de azúcar que puede ser transformada en alcohol durante el proceso de fermentación alcohólica, que depende de las condiciones donde se desarrolla el medio y principalmente del tipo de levadura usada.

En las siguientes variables se determinó que; *S. bayanus* mostró los valores más bajos de densidad ($0,937 \text{ g/cm}^3$) y acidez total ($8,00 \text{ mg/100cm}^3$) comparados con *S. cerevisiae* donde se encontraron valores de $0,945 \text{ g/cm}^3$ y $10,78 \text{ mg/100cm}^3$, mientras

que Flora natural reflejó los valores más altos (0,949 g/cm³ y 26,33 mg/100cm³). Sin embargo, en cuanto a la variable ceniza, Flora natural obtuvo el resultado más bajo correspondiente a 0,0046 g/1000cm³ mientras que *S. cerevisiae* y *S. bayanus* mostraron valores de 0,353 g/1000cm³ y 0,312 g/1000cm³. (Laopaiboon, Thanonkeo, Jaisil, & Laopaiboon, 2007) mencionan que la concentración del inóculo utilizado no incide significativamente sobre la concentración final del alcohol etílico, pero si afecta a la tasa del consumo de azúcar, la productividad del etanol y características propias de este.

Respecto a la variable espacio libre, existe una estrecha relación con la cantidad final de alcohol obtenido, donde a mayor rendimiento el porcentaje de espacio libre disminuye, encontrándose a *S. bayanus* y *S. cerevisiae* con los valores más bajos de espacio libre correspondiente a 49,26% y 56,25% y con valores de rendimiento de 26,17% y 22,31%, mientras que el valor más alto de espacio libre se obtuvo con Flora natural con 71,09% y un rendimiento de 15,17%.

Los microorganismos fermentativos son responsables de la transformación de la glucosa en alcohol etílico (Mesas & Alegre, 1999); (Viteri, 2020) indica que cada microorganismo es independiente en cuanto a la efectividad que tienen para la producción de alcohol. En cuanto al rendimiento, el microorganismo con más porcentaje fue *S. bayanus* con 26,17% coincidiendo con lo descrito por (Bravo, 2007), la cual menciona que *S. bayanus*, *S. oviformes*, *S. elipsoides* gozan de un elevado poder fermentativo alcanzando los 10-11% Vol. de alcohol, así mismo, la misma autora indica que, *S. cerevisiae* forman parte del grupo de las levaduras de poder fermentativo medio a alto superando valores de 4-5% Vol. de alcohol corroborando con lo obtenido en esta investigación correspondiente a 22,11%.

Interacción A*B (Variedad * Microorganismo fermentativo)

La interacción A*B permite obtener un valor representativo al mismo tiempo en que se estudia los factores Variedad x Microorganismo fermentativo para la obtención de alcohol, el cual permite determinar los mejores resultados en cuanto a las variables fisicoquímicas evaluadas.

Respecto a los grados alcohólicos, la interacción EC-06 + *S. cerevisiae* y EC-08 + *S. bayanus* mostraron las concentraciones más altas de alcohol con 54°GL, cabe mencionar que estos tratamientos fueron sometidos al proceso de pasteurización para su inoculación, con lo mencionado se corrobora con (Alvarez & Guevara, 2020), quienes en su estudio muestran los valores más altos de grados alcohólicos con la interacción Levadura + pasteurización correspondiente a 52°GL, así mismo, (Carretero, 2009) mencionan que al esterilizar el producto principal no solo mueren organismos indeseables sino también aquellos microorganismos que cumplen con procesos fermentativos, sin embargo, al inocular nuevos microorganismos al medio (*S. cerevisiae* + *S. bayanus*) su incorporación y adaptabilidad es inmediata. Por otro lado, conforme a los resultados obtenidos por (Campués & Tarupí, 2011) en la obtención de alcohol de caña de azúcar mediante la incorporación de dos niveles de fermento, reportaron concentraciones alcohólicas de 56°GL y 57°GL, siendo valores superiores a los obtenidos en esta investigación debido a la cantidad inoculada de levadura y el tiempo de fermentación. Los valores más bajos fueron obtenidos con la Flora natural, ya que los tratamientos de este no formaron parte del proceso de pasteurización, por tanto, su contenido de azúcar fue menor a comparación de los tratamientos a los cuales si se realizó este procedimiento, dicho esto, (Rankine, 2000) afirma que el grado alcohólico tiene gran importancia, ya que en el proceso de fermentación cerca de la mitad del peso del azúcar se convierte en alcohol y el componente restante en dióxido de carbono.

En cuanto a la densidad, los valores más bajos mostraron las interacciones EC-06 + *S. cerevisiae* con 0,930 g/cm³, ECU-01 y EC-06 + *S. bayanus* con 0,937 g/cm³, mientras que el valor más alto se encontró con ECU-01+*S. cerevisiae* con 0,960 g/cm³. (Quispe, 2019) en la elaboración de una bebida alcohólica a base de uvilla obtuvo densidades de 0,98 g/cm³ y 0,99 g/cm³, mientras que (Guerrero, 2006) en la elaboración de un licor de cacao obtuvo valores de 1,06 g/cm³ y 1,05 g/cm³, datos relativamente altos a los obtenidos en este estudio. Así mismo, (Cabrera, 2012) menciona que la densidad del alcohol es inferior a 1,00 considerando el valor de temperatura, de tal forma que los valores obtenidos se encuentran bajo el rango descrito.

En cuanto al espacio libre, existe una estrecha relación con la cantidad final de alcohol obtenido, es decir, a mayor rendimiento menor porcentaje de espacio libre; encontrándose a las interacciones ECU-01 + *S. cerevisiae*, ECU-01, EC-06, EC-08 + *S. bayanus* con los valores más bajos de espacio libre correspondiente a 44,62%, 47,19%, 49,79%, 51,06% y con valores de rendimiento de 26,88%, 26,26%, 26,16% y 25,76% respectivamente.

Respecto al contenido de cenizas, la Norma Técnica de Costa Rica (NCR 126, 1991) establece que la cantidad máxima de cenizas que debe poseer una bebida alcohólica es de 0,07 g/1000cm³, relacionando el valor descrito con lo obtenido se evidencia claramente que las interacciones de los tratamientos ECU-01, EC-06 y EC-08 + Flora natural (0,051 g/1000cm³, 0,025 g/1000cm³ y 0,061 g/1000cm³) se encuentran dentro de lo estipulado por la norma, sin embargo, los tratamientos constituidos por *S. cerevisiae* y *S. bayanus* se encuentran fuera del rango establecido.

Respecto a la acidez total, ECU-01, EC-06 y EC-08 + *S. cerevisiae* y *S. bayanus* reflejaron valores en torno a 5 y 15,65 mg/100cm³, sin embargo, los tratamientos ECU-01 y EC-08 + Flora natural mostraron los valores más altos de ceniza de 27,00 mg/100cm³ y 37,00 mg/100cm³. (Farfán, 1979) citado por (Bravo, 2007) explica que a medida que el proceso de fermentación avanza existe la formación de diferentes ácidos orgánicos y anhídrido carbónico, los cuales se producen en el ciclo de la glicólisis. Por otro lado, (Arias, 2013) en su estudio de la elaboración de una bebida de agave, obtuvo una acidez de 13,92 mg/100cm³, mientras que (Centeno, 2018) en su investigación de la obtención de alcohol del jugo de caña de maíz obtuvo una acidez de 7,2 mg/100cm³, valores que se ajustan a lo obtenido en esta investigación. No obstante, los valores expuestos cumplen los requerimientos de la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 362, 1992), la cual establece un valor máximo de acidez total de 40 mg/100cm³.

En cuanto al rendimiento, ECU-01 + *S. cerevisiae* y ECU-01, EC-06 + *S. bayanus* mostraron los porcentajes más altos correspondiente a 26,88%, 26,60% y 26,16% respectivamente, mientras que los valores más bajos se obtuvieron con las interacciones ECU-01 y EC-08 + Flora natural con 12,78% y 12,47%; (Vera & Zambrano, 2018) en su estudio de la obtención de alcohol del mucílago de cacao obtuvo un rendimiento de 19,49% para la variedad Nacional + levadura + Pasteurización y 16,49% para CCN51 + Flora natural + Pasteurización, no obstante se deduce la importancia de *S. cerevisiae* y *S. bayanus* en este estudio frente a su alta productividad en la conversión de los azúcares en contenido alcohólico.

Análisis sensorial

El color más característico obtenido de los diferentes tratamientos fue transparente y brillante lo cual corrobora con la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 362, 1992) misma que establece que el color del alcohol obtenido a partir de la caña de azúcar debe ser transparente, incoloro o ambarino.

Respecto al olor, se encontró que el alcohol obtenido fue agradable para el público, esto según (García, Quintero, & López, 1993) se debe a las propiedades enológicas que contienen ciertos microorganismos fermentativos como *S. uvarum*, *S. bayanus*, *S. cerevisiae*, *S. oviformis*, constituidas como levaduras aromáticas de refermentaciones.

Según (Fuentes, 2014), el sabor es la sensación que se determina por sensaciones químicas que detecta el gusto y olfato, siendo el olfato el que genera la mayor percepción. Además, (Carretero, 2009) menciona que el sabor y aroma característico del alcohol se debe a la destilación de la materia prima (fuente de azúcar), sin embargo, (Simunovic, 1999) menciona que las “impurezas” son las que le dan el sabor y aroma característico.

Capítulo VI

Conclusiones

Caracterización fisicoquímica del jugo de caña

Respecto al pH, las variedades ECU-01, EC-06 y EC-08 alcanzaron valores de 5,6 a 5,7, los cuales se encuentran dentro del rango expuesto por (Chen, 1997). Así mismo, los valores obtenidos frente al contenido de sólidos solubles de las variedades ECU-01 (21,1°Brix), EC-06 (21,9°Brix) y EC-08 (22,5°Brix), se encuentran dentro de lo estipulado por (Ramírez, Insuasty, & Viveros, 2014). Respecto al porcentaje de acidez y densidad, los datos reflejados en la investigación se encuentran asociados a investigaciones de la misma índole y cumplen con los lineamientos de los autores citados.

En cuanto a la caracterización microbiológica del jugo de caña fresco, se encontró diferencia en los valores obtenidos para aerobios y levaduras de las variedades de caña ECU-01, EC-06 y EC 08, no obstante, estos valores se alinean a lo expuesto por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 2337, 2008) y la Norma Oficial Mexicana (NOM-130-SSA1, 1995).

Factor A (Variedad)

Las variables fisicoquímicas evaluadas en el alcohol etílico, mostraron diferencias significativas frente a las variedades estudiadas, siendo EC-06 (51,56°GL) la variedad con el mayor contenido de grados alcohólicos, frente a EC-08 con 48,77°GL y ECU-01 con 45°GL, valores que se encuentran dentro de los lineamientos expuestos por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 362, 1992).

El valor más bajo en cuanto a cenizas, acidez total y densidad se obtuvo con la variedad EC-06 correspondiente a 0,174 g/1000cm³, 8,22 mg/100cm³ y 0,938 g/cm³, mientras que ECU-01 obtuvo el menor porcentaje de espacio libre (55,71%).

El rendimiento del alcohol fue mayor con la variedad EC-06 logrando alcanzar el 23,17%, frente a ECU-01 y EC-08 con rendimientos de 22,09% y 18,39% respectivamente.

Por lo descrito anteriormente, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que las variedades de caña de azúcar ECU-01, EC-06 y EC-08 influyen en las características fisicoquímicas del alcohol obtenido, siendo la variedad EC-06 la que refleja las mejores características de la evaluación.

Factor B (Microorganismo fermentativo)

Las variables fisicoquímicas evaluadas presentaron diferencia significativa frente a los tres microorganismos fermentativos. *S. bayanus* reflejó los valores más altos en cuanto a grados alcohólicos (51,67°GL) y rendimiento (26,17%), de igual forma, presentó los valores más bajos de densidad (0,937 g/cm³), espacio libre (49,36%) y acidez total (8,00 mg/100cm³), lo cual indica ser el microorganismo con mejores características para potencializar la producción de alcohol.

Respecto a la cantidad de cenizas, Flora natural presentó el valor más bajo correspondiente a 0,046 g/1000cm³, mientras que *S. cerevisiae* y *S. bayanus* obtuvieron las medias más altas equivalentes a 0,353 g/1000cm³ y 0,312 g/1000cm³.

Por lo mencionado anteriormente, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que los microorganismos fermentativos (*S. cerevisiae*, *S. bayanus* y Flora natural) influyen sobre la obtención de alcohol; siendo *S. bayanus* el microorganismo fermentativo con los mejores resultados.

Interacción A*B (Variedad * Microorganismo fermentativo)

Los factores aplicados en la presente investigación para la obtención de alcohol etílico a partir del jugo de caña de azúcar presentaron diferencias acorde a la prueba de significancia de Tukey al 5% para las variables: grados alcohólicos, densidad, cenizas, espacio libre, acidez total y rendimiento.

El mejor tratamiento para optimizar la obtención de alcohol etílico a partir del jugo de caña de azúcar fue a_2b_2 correspondiente a EC-06 + *Saccharomyces bayanus*, ya que obtuvo los mejores resultados en cuanto a grados alcohólicos (51,00°GL), densidad (0,937 g/cm³), cenizas (0,271 g/1000cm³), espacio libre (49,79%), acidez total (5,00 mg/100cm³) y rendimiento (26,16%).

Análisis sensorial

En cuanto al color, el alcohol obtenido fue catalogado como transparente y brillante característica representativa de los alcoholes según la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 362, 1992). El olor del alcohol fue catalogado agradable y fuerte debido a las características propias de las levaduras y la concentración alcohólica obtenida por los diferentes tratamientos. En cuanto al sabor, la mayor parte de las personas evaluadoras puntualizaron al alcohol como ardiente, debido al alto contenido alcohólico que presentaron los diferentes tratamientos. Frente a la impresión general, el alcohol obtenido de la caña de azúcar fue gratamente aceptable por el personal de evaluación.

Recomendaciones

Respecto a la utilización de las variedades de caña de azúcar para la obtención de alcohol, en relación a los grados alcohólicos y densidad se recomienda el uso de las tres variedades: ECU-01, EC-06 y EC-08, en razón de que no existe mayor influencia en sus valores. Frente al contenido de cenizas y acidez total se recomienda utilizar la variedad EC-06. Así mismo, en cuanto al rendimiento se recomienda el uso de las variedades EC-01 y EC-06.

Referente a la utilización de microorganismos fermentativos, en relación a los grados alcohólicos, densidad, espacio libre, acidez total, rendimiento, se recomienda el empleo de *S. cerevisiae* y *S. bayanus* debido a que los valores expuestos no reflejaron mayor diferencia. En cuanto al contenido de ceniza, se recomienda la utilización de la Flora natural del jugo de caña por el bajo contenido expuesto.

Frente a los resultados obtenidos en la presente investigación, se recomienda a futuras investigaciones orientadas a la producción de alcohol etílico a partir de la caña de azúcar, el empleo de microorganismos fermentativos (*S. bayanus* y *S. cerevisiae*), ya que presentan una rápida adaptabilidad, gozan de un alto poder fermentativo el cual les permite obtener valores de rendimiento muy altos así como de concentración alcohólica, así mismo, mejoran las características fisicoquímicas y organolépticas del alcohol.

Capítulo VII

Bibliografía

- Agudo, L. (2014). *Fundamentos de la fermentación alcohólica*. España: IES CENCIBEL.
- Aguilar, P. K. (2016). *Pruebas de identificación de metanol y etanol*. Machala: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA. Obtenido de https://issuu.com/kattheriineaguilar/docs/pruebas_de_identificacion_del__meta
- Aguirre, R. M. (2011). *Jugo de Caña Envasado en Vidrio*. Guayaquil: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL (ESPOL).
- Alvarez, C. N., & Guevara, C. D. (2020). *ESTUDIO DE LA CINÉTICA DEL CRECIMIENTO EN EL PROCESO FERMENTATIVO DE ABACÁ (Musa textilis) PARA LA BIOCONSERVACIÓN Y LA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL CON FINES INDUSTRIALES*. Santo Domingo: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Arias, B. L. (2013). *Elaboración de una bebida alcohólica utilizando dos variedades de agave; negro (Agave americano) y blanco (Furcraea andina) empleando Sacharomyces cerevisae en dos presentaciones (liofilizada y en pasta) en Cotopaxi*. Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Armijos, E. M. (2016). *CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS CON CAPACIDAD FERMENTATIVA EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL GUARAPO*. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial.
- Banko, C. (2005). La industria azucarera en México y Venezuela. Un estudio comparativo. *Carta Económica Regional*(17), 41-54.

- Barrera, I., González, A., Salgado, E., & Aranda, J. (2011). A simple metabolic flux balance analysis of biomass and bioethanol Production in *Saccharomyces cerevisiae* fed-batch cultures. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 16(1), 13-22. doi:10.1007/s12257-010-0176-y
- Blanco, B. O. (1995). *Implementación del test de Resazurina como prueba rápida para estimar el número de microorganismos presentes en el jugo de caña*. Guatemala: Universidad San Carlos de Guatemala.
- Bravo, A. N. (2007). *ESTUDIO COMPARATIVO DE LA LEVADURA Saccharomyces cerevisiae Y LA LEVADURA Saccharomyces bayanus EN LA ELABORACIÓN DEL LICOR DE MANGO (Mangifera indica L.)*. Callao: Universidad Nacional del Callao.
- Cabrera, D. F. (2012). *Bebidas fermentadas*. Bogotá: Universidad Nacional Abierta y a Distancia.
- Campués, T. J., & Tarupí, R. J. (2011). *OBTENCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE JUGO DE CAÑA, CACHAZA Y MELAZA, MEDIANTE LA INCORPORACIÓN DE DOS NIVELES DE FERMENTO (Saccharomyces cerevisiae)*. Ibarra: Universidad Técnica del Norte.
- Carretero, C. F. (2009). *INNOVACIÓN TECNOLÓGICA EN LA INDUSTRIA DE BEBIDAS*. En *Procesos de fabricación de bebidas alcohólicas*. Barcelona: Universidad Politecnica de Catalunya.
- Castillo, R., Silva, E., Caicedo, W., Romero, H., Martínez, F., Garcés, F., . . . Aucatoma, B. (2007). *ECU-01 Primera variedad mejorada de caña de azúcar del Ecuador*. El Triunfo, Guayas, Ecuador: Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del

Ecuador (CINCAE). Obtenido de <https://cincae.org/wp-content/uploads/2013/05/Varietad-ECU-01.pdf>

- Centeno, S. M. (2018). *OBTENCIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO MEDIANTE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN Y DESTILACIÓN DEL JUGO DE CAÑA DE MAÍZ (Zea mays) PARA EL EMPLEO COMO BASE DE RELLENO EN BOMBONERÍA*. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Chen, J. (1997). *Manual del Azúcar de Caña. Para Fabricantes de azúcar de caña y químicos especializados*. México: Editorial Limusa.
- Cobeña, M. J., & Loor, C. I. (2016). *CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL JUGO DE CINCO VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR (Saccharum officinarum) EN LA HACIENDA EL JARDÍN*. Calceta: Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.
- Cobeña, M. J., & Loor, C. I. (2016). *CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL JUGO DE CINCO VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR (Saccharum officinarum) EN LA HACIENDA EL JARDÍN*. Calceta: ESPAMMFL.
- De Bernardi, L. (2019). Perfil del Azúcar. *Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca. Presidencia de la nación*, 1-11. Obtenido de https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/ss_mercados_agropecuarios/publicaciones/_archivos/000101_Perfiles/999981_Perfil%20del%20Az%C3%BAcar%202019.pdf
- Fernández, G. Y., Pedraza, O. R., Herdima, B. Y., Llanes, D. A., Torres, V. I., Montalvan, D. J., & Noy, P. A. (2016). Indicadores de crecimiento de una población de 48 clones de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) con valor forrajero. *Agrisost*, 22(3), 17-28.

- Ferreira, M., María, S., Gerard, L., Zapata, L., Davies, C., & Hours, R. (2009). Fermentación alcohólica de jugo de naranja con *S. cerevisiae*. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, XX(39), 143-158.
- Flórez, P. L., González, C. A., & López, G. J. (2019). Characterization of hemicelluloses from leaves and tops of the CC 8475, CC 8592, and V 7151 varieties of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *DYNA*, 86(210), 98-107.
doi:<https://doi.org/10.15446/dyna.v86n210.75757>
- Fuentes, L. A. (2014). *PROYECTO PARA LA ELABORACIÓN ARTESANAL DE CINCO VARIETADES DE ENCURTIDOS CUYO INGREDIENTE PRINCIPAL ES ELMANGO Y FUTURA COMERCIALIZACIÓN*. Quito: Universidad Internacional del Ecuador.
- Gallego, D. R., Zuaznabar, Z. R., de León, O. M., & Matínez, R. R. (Septiembre-Diciembre de 2017). Respuesta de la caña de azúcar ante la aplicación de una mezcla de fitoestimulantes. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 51(3), 3-7.
- García, M., Quintero, R., & López, A. (1993). *Bioteología Alimentaria*. Editorial Limusa.
- González, L. A., Del Ángel, D. Á., González, C. J., Rodríguez, D. N., & Bustos, V. G. (Enero-Junio de 2017). Evaluación de levaduras nativas productoras de etanol presentes en el bagazo de caña de azúcar. *CienciaUAT*, 11(2), 80-92.
- Guerra, N. A. (2015). *Determinación del rendimiento de alcohol en tres variedades de caña (Saccharum officinarum) (POJ, Caleña, Cenizosa) mediante la incorporación de tres niveles de levadura (saccharomyces cerevisiae)*. Tulcán, Ecuador: Universidad Estatal Politécnica del Carchi.

- Guerrero, A. B. (2006). *Diseño del sistema de esterilización experimental en la obtención de licor de cacao*. Guayaquil: Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- INEC. (2021). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2020*. Instituto Nacional de Estadísticas y Censo, Quito.
- INEN 2337. (2008). *Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de <https://ia802908.us.archive.org/11/items/ec.nte.2337.2008/ec.nte.2337.2008.pdf>
- INEN 340. (1994). *BEBIDAS ALCOHÓLICAS. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ALCOHOL ETÍLICO. MÉTODO DEL ALCOHOLÍMETRO DE VIDRIO*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de <https://studylib.es/doc/5147131/nte-inen-0340--bebidas-alcoh%C3%B3licas.-determinaci%C3%B3n-del-grado>
- INEN 341. (1978). *DETERMINACION DE LA ACIDEZ EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/NTE_INEN_341.pdf
- INEN 348. (1978). *DETERMINACION DE CENIZAS EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/348.pdf>
- INEN 359. (1978). *DETERMINACION DEL ESPACIO LIBRE*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/NTE_INEN_359.pdf

- INEN 362. (1992). *BEBIDAS ALCOHÓLICAS. AGUARDIENTE DE CAÑA RECTIFICADO*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/362.pdf>
- INEN 365. (1987). *BEBIDAS ALCOHÓLICAS. WHISKY. REQUISITOS*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de <http://181.112.149.204/buzon/normas/365-2.pdf>
- INEN 381. (1985). *DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE MÉTODO POTENCIOMETRICO DE REFERENCIA*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/381.pdf>
- INEN 389. (1986). *CONSERVAS VEGETALES DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DEL ION HIDRÓGENO (pH)*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/389.pdf>
- INEN 391. (1986). *DETERMINACION DE LA DENSIDAD RELATIVA*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/391.pdf>
- INSHT. (2005). *Fichas Internacionales de Seguridad Química*. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. Recuperado el 7 de Enero de 2022, de <http://www.ebd.csic.es/lie/PDF/ETANOL.pdf>
- James, G. (2004). An introduction to Sugarcane. En G. James, *Sugarcane* (Segunda ed., págs. 1-19). Oxford: Blackwell Science Ltd.

- Julien, M., Irvine, J., & Benda, G. (1989). Sugarcane anatomy, morphology and physiology. En C. Ricaud, B. Egan, A. Gillaspie, & C. Hughes, *Diseases of Sugarcane: Major Diseases* (págs. 1-20). New York: Elsevier Science.
- Laopaiboon, L., Thanonkeo, P., Jaisil, P., & Laopaiboon, P. (2007). Ethanol production from sweet sorghum juice in batch and fed-batch fermentations by *Saccharomyces cerevisiae*. *World J Microbiol Biotechnol*, 1497–150. doi:10.1007/s11274-007-9383-
- López, E., Sánchez, M., Cid, S., Herrera, J., Benítez, M., Tzoni, M., . . . Peral, N. (2013). Obtención y caracterización del jugo de caña de azúcar y su caracterización económica. En M. Ramos, & V. Aguilera, *Congreso Interdisciplinario de Cuerpos Académicos* (págs. 98-109). Guanajuato: Ciencias Agropecuarias Handbook.
- López, M. M., Querol, A., & Guillamon, J. M. (Marzo de 2013). Metabolomic comparison of *Saccharomyces cerevisiae* and the cryotolerant species *S. bayanus* var. *uvarum* and *S. kudriavzevii* during wine fermentation at low temperature. *PLoS ONE*, 8(3), 1-14. doi:10.1371/journal.pone.0060135
- Marasca, I., Barbosa, D. S., Pereira, S. M., Paz, A., & Pereira, K. (2015). Morfología de la caña de azúcar en la preparación profunda del suelo en canteros. *IDESIA*, 33(4), 23-29.
- Mesas, J., & Alegre, M. (1999). THE ROLE OF THE MICROORGANISMS IN WINEMAKING. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 174-183.
- Miño, V. J., Martos, A. M., Herrera, G. J., & Gonzáles, S. E. (Abril-Junio de 2015). FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA CON MOSTO DE UVA NIÁGARA ROSADA Y LEVADURAS DE LA MISMA FRUTA. *Revista Centro Azúcar*, 42(2), 10-20.

- Mukhtar, K., Asgher, M., Afghan, S., Hussain, K., & Zia-ul, H. S. (2010). Comparative Study on Two Commercial Strains of *Saccharomyces cerevisiae* for Optimum Ethanol Production on Industrial Scale. *BioMed Research International*, 2010(8), 5. doi:<https://doi.org/10.1155/2010/419586>
- NCR 126. (1991). *Norma de Bebida Alcohólica Vodka*. Costa Rica: La Gaceta. Obtenido de <http://reventazon.meic.go.cr/informacion/gaceta/1991/octubre/20733.pdf>
- Oliva, C. J., Oliva, V. M., & Garcia, G. J. (Abril de 2017). Selección fenotípica de tres variedades élites de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) para la producción de panela granulada en la provincia de Bongara (Region Amazonas). *Revista de Investigación en Agroproducción Sustentable*, 1(1), 80-86. doi: <http://dx.doi.org/10.25127/aps.20171.355>
- Panchal, C. (1995). Caracterización de levaduras. *Rev. Afinidad*, 457(52), 50-55.
- Panchi, A. (2013). *DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS REOLÓGICOS EN BEBIDAS DE FRUTAS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SÓLIDOS SOLUBLES MEDIANTE EL USO DEL EQUIPO UNIVERSAL TA – XT2i*. Ambato: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO.
- Pérez, I. H., Santana, A. I., & Rodríguez, D. I. (2016). *Manejo Sostenible de Tierras en la Producción de Caña de Azúcar* (Vol. 1). Machala: Universidad Técnica de Machala.
- Quispe, M. F. (2019). *Elaboración de una bebida alcohólica a base de uvilla (Physalis peruviana) para incrementar la cartera de productos en la microempresa "Asociación Manos Productivas"*. Tulcán: Universidad Politécnica Estatal del Carchi.

- Ramírez, J., Insuasty, O., & Viveros, C. (2014). Comportamiento agroindustrial de diez variedades de caña de azúcar para producción de panela en Santander, Colombia. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(2), 183-195.
- Rankine, B. (2000). *Manual Práctico de Enología*. Zaragoza: Edt. Acribia.
- Ricaurte, M., Luna, S., Mosquera, S., Sarmas, J., Zenteno, J., & Viloria, A. (2019). Diseño de una planta para la producción de etanol a partir de la caña de azúcar: aplicación en la zona Norte de Ecuador. *Bionatura Conference Series*, 2(1), 1-7. doi:<http://dx.doi.org/10.21931/RB/CS/2019.02.01.10>
- Rincón, C. Á., & Becerra, C. J. (2020). Respuesta agronómica de cuatro variedades de caña de azúcar en los Llanos Orientales de Colombia. *Acta Agronómica*, 69(2), 124-129. doi: <https://doi.org/10.15446/acag.v69n2.70649>
- Rodríguez, E., Pérez, T. L., Sangorrín, M., Barrio, E., & Lopes, C. (Septiembre de 2014). *Saccharomyces eubayanus* and *Saccharomyces uvarum* associated with the fermentation of *Araucaria araucana* seeds in Patagonia. *FEMS Yeast Research*, 14(6), 948-965. doi:<https://doi.org/10.1111/1567-1364.12183>
- Silva, E., Martínez, F., Castillo, R., Caicedo, W., Mendoza, J., Garcés, F., . . . Romero, H. (2013). *Información técnica de las nuevas variedades de caña de azúcar EC-05 (ECSP01-190) y EC-06 (ECSP01-588)*. El Triunfo, Guayas Ecuador: Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE). Obtenido de <https://cincae.org/wp-content/uploads/2013/05/Plegable-Variedades-EC-05-y-EC-06.pdf>
- Silva, E., Martínez, F., Madrid, C., León, T., Castillo, R., Mendoza, J., . . . Suárez, M. (2016). *EC-07 y EC-08 nuevas variedades mejoradas de caña de azúcar*. El Triunfo, Guayas, Ecuador: Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del

Ecuador. Obtenido de <https://cincae.org/wp-content/uploads/2013/05/Plegable-Varietades-EC-07-y-EC-08.pdf>

Simunovic, Y. (1999). *Manual de bebidas alcohólicas y vinagres*. Chile: Colección de Manuales Jurídicos.

Suárez, M. C., Garrido, C. N., & Guevara, R. C. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. *Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 50(1), 20-28.

Subirós, R. J. (2000). *El cultivo de la caña de azúcar* (Primera ed.). San José, Costa Rica: EUNED.

Tuárez, P. M., Laz, M. M., Bermello, O. S., & Díaz, C. E. (2020). Evaluación de levaduras en la producción de etanol a partir de melaza de caña de azúcar. *ESPAMCIENCIA*, 11(2), 116-119.
doi:https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.193

Vásquez, H., & Dacosta, O. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 8(4), 249-259.

Vera, S. C., & Zambrano, M. I. (2018). *EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL MUCÍLAGO DE CACAO (Theobroma cacao L.) EN LA OBTENCIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO*. Santo Domingo: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/15798/1/T-ESPESD-002891.pdf>

Vera, S. C., & Zambrano, M. I. (2018). *EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL MUCÍLAGO DE CACAO (Theobroma cacao L.) EN LA OBTENCIÓN DE*

ALCOHOL ETÍLICO. Santo Domingo: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

Viteri, S. J. (2020). *Estudio de la cinética enzimática del mosto de achotillo (Nephelium lappaceum L.) y carambola (Averrhoa carambola L.) para la obtención de alcohol etílico, aplicando diferentes microorganismos (Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces ellipsoideus) y clari*. Santo Domingo: Universidad de las Fuerzas Armadas "ESPE".

Yaraecuador. (2010). *La producción mundial de caña de azúcar*. Knowledge grows. Obtenido de <https://www.yara.com.ec/nutricion-vegetal/cana-de-azucar/la-produccion-mundial-de-cana-de-azucar/>. Obtenido el 7 de enero de 2022

Zossi, S., Cárdenas, G., Sorol, N., & Sastre, M. (2010). Influencia de compuestos azúcares y no azúcares en la calidad industrial de caña de azúcar en Tucumán (R. Argentina). Parte 1: caña limpia y despuntada. *Revista industrial y agrícola de Tucumán*, 87(1), 15-27.