



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**  
**Facultad de Ciencias Químicas**  
**Carrera de Ingeniería Química**

**Optimización del proceso fermentativo de la cáscara Theobroma  
cacao I hidrolizada mediante el diseño factorial  $2^k$**

Trabajo de Titulación previo a la obtención  
del Título de Ingeniero Químico

**Autora:**

Viviana Alexandra García Figueroa

C.I. 0105171318

**Director:**

Johanna Patricia Sánchez Quezada Mgt.

C.I. 0703874677

**Cuenca-Ecuador**

**29/10/2019**



## RESUMEN

---

El presente estudio propone optimizar el proceso de fermentación de la cáscara del theobroma cacao L variedad CCN 51 hidrolizada previamente, mediante el diseño factorial  $2^k$ , el proceso se llevó a cabo en un reactor discontinuo en condiciones isotérmicas, considerando variables como: el tiempo, revoluciones por minuto, oligoelementos y cantidad de inóculo, Las condiciones de operación se determinaron mediante diseño experimental, con dos puntos centrales. Se tabularon los datos y se optimizó el proceso considerando las variables significativas en el software estadístico STATGRAPHICS Centurion 16.1, obteniendo dos tiempos de fermentación con valores de 92,00 y 86,764 horas que corresponde al primer tiempo las siguientes variables operación: pH de 5, inóculo de 4g/l, agitación 300 RPM y ausencia de oligoelemento. El segundo tiempo con las siguientes variables de operación pH de 7, inóculo de 4g/l, agitación 300 RPM y ausencia de oligoelemento respectivamente.

**Palabras clave:** Fermentación. Bioetanol. Diseño experimental. Cacao I.



## ABSTRACT

---

The present study proposes to optimize the fermentation process of the hydrolyzed shell of theobroma cacao L with a previous variation of the hydrolyzed CCN 51, through the 2K “ factorial design, the process was carried out in a batch reactor under isothermal conditions variables like time, revolutions per minute, trace elements and quantities of inoculum, the operating conditions were determined through an experimental design with two central points. The Data was tabulated and the process is optimized considering the significant variables in the statistical software Statgraphics Centurion 16.1, obtaining two fermentation times with values of 92.00 and 86.764 hours corresponding to the first time the following operation variables: pH of 5, inoculum of 4g / l, agitation 300 RPM and absence of trace element. The second time with the following operating variables pH of 7, inoculum of 4g / l, agitation 300 RPM and absence of trace element respectively.

**Keywords:** Fermentation. Bioethanol. Experimental design. Cacao l.



## CONTENIDO

---

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
CONTENIDO.....	3
INDICE DE TABLAS .....	7
CLAUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACION PARA PUBLICACION EN EL REPOSTORIO .....	9
CLAUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL.....	10
AGRADECIMIENTO.....	11
DEDICATORIA.....	12
1. INTRODUCCIÓN .....	13
2. SITUACION ENERGETICA.....	15
2.1 Energías Renovables .....	15
2.1.1 Energía no Renovable .....	15
2.2 Clasificación de la Energía por fuente.....	15
2.2.1 Energías primarias.....	15
2.2.2 Energía secundaria .....	16
2.2.2.1 Energía útil .....	16
2.2 Biocombustible .....	16
2.2.1 Tipos de Biocombustibles .....	17
2.2.1.1 Biocombustibles de primera generación .....	17
2.2.1.2 Biocombustibles de segunda generación.....	17
2.2.1.3 Biocombustibles de tercera y cuarta generación.....	18
2.3 Biomasa .....	18
2.3.1 Tipos de Biomasa .....	18
2.3.1.1 Biomasa primaria.....	18
2.3.1.2 Biomasa secundaria .....	18
2.3.1.3 Biomasa terciaria .....	18
2.3.1.3 Biomasa natural.....	19
2.3.1.4 Biomasa cosechable o Cultivos energéticos .....	19
2.3.1.5 Biomasa residual .....	19
2.3.2 Métodos de transformación de Biomasa .....	19
2.3.2.1 Procesos termoquímicos .....	20
2.3.2.2 Combustión .....	21



2.3.2.3 Pirólisis .....	21
2.3.2.4 Gasificación .....	21
2.3.2.5 Procesos Biológicos .....	22
2.3.2.5.1 Fermentación alcohólica .....	22
2.3.2.5.2 Digestión anaerobia.....	22
2.4 Evolución del cultivo del Cacao .....	22
2.4.1 Variedades de Cacao.....	23
2.4.1.1 Criollo .....	23
2.4.1.2 Forastero .....	23
2.4.1.3 Trinitario.....	24
2.4.2 Variedades de cacao en Ecuador .....	25
Cacao Clon Castro Naranjal (CCN-51).....	25
2.4.2.1 Cacao Nacional .....	26
2.4.3 Producción del Cacao en el Ecuador .....	26
2.4.4 Almendra del cacao .....	27
2.4.5 Desechos cacao .....	27
2.4.6 Material lignocelulósico de la cáscara de cacao .....	29
2.4.6.1 Carbohidratos .....	30
2.4.6.2 Celulosa .....	30
2.4.6.3 Hemicelulosa .....	31
2.4.6.4 Lignina.....	31
2.4.7 Hidrólisis .....	31
2.4.7.1 Hidrólisis de la Celulosa.....	31
2.5 Levaduras .....	32
2.5.1 Generalidades.....	32
2.5.2 Características .....	33
2.5.3 Tipos de levaduras.....	34
2.5.4 Composición típica de las levaduras .....	35
2.5.5 Lavadura fresca o prensada.....	35
2.5.5.1 Composición química de la levadura fresca .....	35
2.5.5.2 Características nutritivas.....	36
2.5.6 Características físicas .....	36
2.5.6.1 Temperatura .....	37
2.5.6.2 pH.....	37
2.5.6.3 Oxígeno .....	37



2.5.7 Macronutrientes de la Levadura .....	37
2.6 Fermentación .....	38
2.6.1 Fermentación alcohólica .....	39
2.6.1.1 Influencia de los factores externos en la fermentación .....	40
2.6.1.1.1 Presencia de agua .....	40
2.6.1.1.2 Oxígeno.....	40
2.6.1.1.3 Temperatura.....	40
2.6.1.1.4 Luz .....	41
2.6.1.1.5 Concentración de hidrogeniones .....	41
2.6.1.1.6 Productos metabólicos .....	41
2.7 Crecimiento de las levaduras .....	42
2.7.1 Nutrientes .....	42
2.7.1.1 Fuentes de Nitrógeno .....	42
3. METODOLOGÍA.....	43
3.1 Materia Prima .....	43
3.1.1 Glucosa.....	43
3.1.2 Levadura fresca o prensada.....	44
3.2 Materiales, equipos y reactivos .....	45
3.3 Métodos .....	46
3.3.1 Diseño factorial $2^k$ con dos puntos centrales .....	46
3.3.2 Pesado y preparación de reactivos. ....	48
3.3.3 Desarrollo del experimento .....	48
3.3.4 Fermentación Discontinua de etanol .....	49
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	50
4.1 Optimización del proceso fermentativo de la cascara de Theobroma Cacao L 51 .50	
4.1.1 Matriz de diseño experimental .....	51
4.1.2 Análisis en el programa STATGRAPHICS Centurion 16.1. ....	52
4.1.2.1 Análisis del Diagrama de Pareto con estimación sigma y datos experimentales .....	52
4.1.2.2 Grafica de los efectos principales por el tiempo .....	53
4.1.2.3 Análisis de varianza para el tiempo considerando las variables independientes y combinadas. ....	53
4.1.2.4 Coeficientes de regresión en el tiempo .....	56
4.1.2.4.1 Ecuación del modelo ajustado.....	57
4.1.3 Optimización en el programa STATGRAPHICS Centurion 16.1.....	57



4.1.3.1 Análisis del diagrama de Pareto con estimación sigma y datos experimentales .....	58
4.1.3.2 Grafica de los efectos principales por el tiempo .....	58
4.1.3.3 Análisis de varianza para el tiempo con la ausencia de algunas variables combinadas .....	59
4.1.3.4 Coeficientes de regresión para el tiempo .....	61
4.1.3.4.1 Ecuación del modelo ajustado .....	61
4.1.3.5 Análisis del Diagrama de Pareto con estimación sigma y datos externos .	62
4.1.3.6 Grafica de los efectos principales por el tiempo .....	62
4.1.3.7 Análisis de varianza para el tiempo con las variables independientes y combinadas. ....	63
4.1.3.8 Coeficientes de regresión en el tiempo .....	65
4.1.3.8.1 Ecuación del modelo ajustado .....	65
4.1.4 Análisis de Graficas del tiempo de Fermentación de Excel utilizando regresiones matemáticas .....	66
4.1.4.1 Regresión Grados Brix vs tiempo .....	67
4.1.4.2 Regresión Índice de refracción versus tiempo .....	69
4.2 Discusión.....	70
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	72
5.1 Conclusiones.....	72
5.2 Recomendaciones .....	72
6. BIBLIOGRAFÍA .....	73
7. ANEXOS .....	78
Diagrama de procesos y operaciones .....	78
Armado del Bioreactor.....	79
Fotografías de los experimentos más relevantes. ....	79
Gráficas con sus tiempos respectivos de fermentación .....	82



## INDICE DE TABLAS

---

<i>Tabla 1. Composición química de la almendra de cacao.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabla 2. Proceso manufacturero y subproductos del Cacao.....</i>	<i>28</i>
<i>Tabla 3. Composición y porcentaje de la cáscara de la mazorca del Cacao en base seca .....</i>	<i>29</i>
<i>Tabla 4. Fracción promedio de biomasa lignocelulósica.....</i>	<i>30</i>
<i>Tabla 5. Características de las levaduras.....</i>	<i>34</i>
<i>Tabla 6. Tipos de levaduras. ....</i>	<i>34</i>
<i>Tabla 7. Composición de las levaduras.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabla 8. Composición química de la levadura fresca o prensada.....</i>	<i>36</i>
<i>Tabla 9. Valores de pH en cuanto a crecimiento de levaduras.....</i>	<i>37</i>
<i>Tabla 10. Variables y límites de trabajo.....</i>	<i>44</i>
<i>Tabla 11. Materiales, equipos y reactivos.....</i>	<i>45</i>
<i>Tabla 12. Matriz de diseño factorial 2k con dos puntos centrales. ....</i>	<i>47</i>
<i>Tabla 13. Variables y niveles para el uso del diseño experimental.....</i>	<i>48</i>
<i>Tabla 14. Tiempos de fermentación obtenidos en cada experimento.....</i>	<i>51</i>
<i>Tabla 15. Varianza de variables independientes y combinadas con respecto al tiempo .....</i>	<i>55</i>
<i>Tabla 16. Resultados obtenidos en el análisis.....</i>	<i>56</i>
<i>Tabla 17. Coeficientes para la ecuación del modelo ajustado.....</i>	<i>56</i>
<i>Tabla 18. Valores óptimos de las variables.....</i>	<i>57</i>
<i>Tabla 19. Varianza de variables independientes y combinadas con respecto al tiempo .....</i>	<i>60</i>
<i>Tabla 20. Resultados obtenidos en el análisis.....</i>	<i>60</i>
<i>Tabla 21. Resultados obtenidos en el análisis.....</i>	<i>61</i>
<i>Tabla 22. Valores óptimos de las variables.....</i>	<i>61</i>
<i>Tabla 23. Varianza de variables independientes y combinadas con respecto al tiempo .....</i>	<i>64</i>
<i>Tabla 24. Resultados obtenidos en el análisis.....</i>	<i>64</i>
<i>Tabla 25. Coeficientes para la ecuación del modelo ajustado.....</i>	<i>65</i>
<i>Tabla 26. Valores óptimos de las variables.....</i>	<i>66</i>
<i>Tabla 27. Regresión matemática de las gráficas Brix vs Tiempo.....</i>	<i>67</i>
<i>Tabla 28. Regresión matemática de las gráficas Brix vs Tiempo.....</i>	<i>69</i>
<i>Tabla 30. Variables Experimento 13.....</i>	<i>71</i>



**INDICE DE ILUSTRACIONES**

*Ilustración 1. Clasificación de los Biocombustibles.....17*

*Ilustración 2. Proceso de conversión de la biomasa, principales productos y aplicaciones .....20*

*Ilustración 3. Variedades de Cacao.....23*

*Ilustración 4. Variedades de cacao en el Ecuador.....25*

*Ilustración 5. Cacao CCN-51.....25*

*Ilustración 6. Producción y rendimiento del cultivo de cacao 2013-2016.....26*

*Ilustración 7. Exportación total de cacao ecuatoriano en miles de tm.....27*

*Ilustración 8. Hidrólisis de la Celulosa. ....32*

*Ilustración 9. Vista microscópica de la levadura Saccharomyces Cerevisiae .....33*

*Ilustración 10. Tipos de fermentación.....38*

*Ilustración 11. Bioreactor BioFlo/CelliGen 115 .....49*

*Ilustración 12. Diagrama de Pareto .....52*

*Ilustración 13. Comportamiento de las variables principales por el tiempo con 4 variables.....53*

*Ilustración 14. Diagrama de Pareto sin tres variables combinadas.....58*

*Ilustración 15. Comportamiento de las variables principales por el tiempo .....59*

*Ilustración 16. Diagrama de Pareto con datos externos .....62*

*Ilustración 17. Comportamiento de las variables principales por el tiempo con datos externos .....63*

*Ilustración 18. Diagrama de procesos y operaciones para la preparación de la solución a fermentar.....78*

*Ilustración 19. Experimento 3.....79*

*Ilustración 20. Experimento 7.....80*

*Ilustración 21. Experimento 9.....80*

*Ilustración 22. Experimento 16.....81*

*Ilustración 23. Experimento 17.....81*



### Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Yo, Viviana Alexandra García Figueroa en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Optimización del proceso fermentativo de la cáscara Theobroma cacao l hidrolizada mediante el diseño factorial  $2^{kx}$ ", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 29 Octubre 2019

Viviana Alexandra García Figueroa

C.I: 0105171318



### Cláusula de Propiedad Intelectual

---

Yo, Viviana Alexandra García Figueroa autora del trabajo de titulación "Optimización del proceso fermentativo de la cáscara Theobroma cacao I hidrolizada mediante el diseño factorial  $2^{2k}$ ", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 29 Octubre 2019



Viviana Alexandra García Figueroa

C.I: 0105171318



## AGRADECIMIENTO

---

*Agradezco a Dios y a la vida por brindarme tantas y maravillosas oportunidades.*

*Gracias a mis distinguidos docentes de la escuela de Ingeniería Química, quienes supieron inculcarme en el camino de la ciencia, conocimientos, anécdotas, por la paciencia, y calidad humana impartidas en los salones de clase, a la Ingeniera Johanna Sánchez, quien fue mi tutora y guía en este trabajo de titulación, a la Dra. Guillermina, Gabi y Angy. Gracias a todos y cada uno de ustedes queridos docentes, gracias Universidad de Cuenca por ser tan maravillosa y dejar en mí el más bello recuerdo.*

*Y como no mencionar a los grandes amigos y colegas que encontré en este camino, quienes supieron hacer de esta trayectoria algo memorable.*

*Finalmente quiero agradecer a mi familia, por ser siempre mi apoyo incondicional, a mi Abuela Genoveva quien supo enseñarme a no rendirme ante cualquier obstáculo, a mis padres René y Digna quienes supieron darme cada uno de los mejores consejos de vida, por su apoyo, motivación incondicional y por nunca dejar que me rinda. A mis hermanos Alfredo, Renata y Fernanda quienes me han visto caer y me han ayudado a levantarme cada vez más fuerte GRACIAS*



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

## **DEDICATORIA**

---

*A mi Aeternum Luis Alfredo García Campoverde, por ser el mejor ejemplo y maestro de vida. Por enseñarme que la verdadera belleza siempre estará en el alma.*

*Abuelo, ¡LO LOGRÉ!*



## 1. INTRODUCCIÓN

---

La generación y consumo de combustibles durante los dos últimos siglos ha generado un incremento de la concentración de anhídrido carbónico (CO<sub>2</sub>), más la emisión de partículas y sustancias contaminantes en la atmósfera. Siendo el uso de energía fósil el causante principal de estas emisiones, sin embargo actualmente este tipo de energía fósil está siendo reemplazada poco a poco por energía renovable. Entre estas fuentes energéticas está la transformación de materia vegetal en combustibles, como es el caso del bioetanol (Alvarez, 2018).

Según el informe estadístico mundial de energía su consumo aumentó, ya que se genera una mayor demanda de gas natural y energías renovables, durante los últimos 10 años la demanda de energía global incrementó en un 2,2% nivel superior a su promedio de 1,7 % atribuyendo este valor a los países desarrollados y en desarrollo. Se logra evidenciar la conciencia ambiental dado que la energía renovable tubo un ascenso de un 17%, dato más alto que el promedio de los últimos 10 años y el mayor incremento jamás registrado, 69 unidades equivalentes a millones de toneladas de aceite mtoe (Petroleum, 2018).

Los biocombustibles en países desarrollados provienen de cultivos energéticos, sin embargo en países donde existe una gran biodiversidad, La biomasa residual agrícola es una alternativa para la producción de energía a nivel mundial (Patiño, 2014).

En 2015, Ecuador categorizó nacionalmente la nueva Ley Orgánica del servicio público de energía eléctrica, desde ese año el país lleva rigiéndose ante la ley planteada, la cual tiene como objetivo la promoción y ejecución de planes y proyectos con fuentes de energía renovable (Peláez & Espinoza, 2015).

Por otro lado Ecuador tiene proyectos BIO-ENERGETICOS, que son trascendentales en el país, desde el 2010 arranco el proyecto Ecopaís, un combustible que se obtiene de la mezcla de gasolina regular "extra" con etanol anhidro, que se obtiene de la caña de azúcar (Peláez & Espinoza, 2015). La composición del combustible Ecopaís comprende un 5% de bioetanol con un 95 % de gasolina premezclada entre 85 y 87 octanos haciendo referencia al tipo E5 (INEN, 2013).

Por consiguiente, la energía renovable en Ecuador ha sido un foco de desarrollo, según Mena, el país se ha provisto generalmente de energía hidroeléctrica renovable combinada con un porcentaje de energía térmica no renovable proveniente de



combustibles fósiles. De igual manera Mena también asegura que la energía no puede lidiar con la comida, es decir que la energía no debería concebirse a base de los cultivos específicos para alimentación, sin embargo los residuos del cultivo, como las “tusas”, deberían usarse como fuente principal para la generación de energía. La industria agricultora generalmente, desecha considerables cantidades de residuos orgánicos como: bagazo de caña de azúcar, raquis, fibra de la palma aceitera, cascarilla del arroz, cáscara del café, cáscara de cacao, y raquis del banano. En la actualidad solo se aprovecha los desechos de la caña de azúcar para la producción de energía y vapor (Pachano, 2017).

Desde entonces proyectos financiados por el gobierno y pequeños proyectos han utilizado recursos que ofrecen los residuos orgánicos generados por los procesos industriales para la obtención de biocombustibles.

Según el panorama agro estadístico del Ministerio de Agricultura y Ganadería el cultivo de cacao en el país ha incrementado, encontrándose dentro de los principales cultivos y productos de exportación del 2017, con una superficie sembrada de 573516 ha, que representa 206 mil toneladas métricas (tm) de producción de grano, un rendimiento de 0,44 y un 8% de variación en producto de exportación (Ganaderia, 2018). Actualmente el proceso de cosecha de cacao agrícola e industrial proporciona subproductos que no tienen uso. En la poscosecha se obtiene mazorcas o frutos maduros en buen estado, del 10% a 30% de mazorcas enfermas (Mejía & Argüello, 2000). En la explotación cacaotera se aprovecha solo el 10% que representa a las almendras de la mazorca del cacao que es comercializado, el 90 % restante está conformado por la cáscara de la mazorca y la pulpa conocida como mucílago (Castillo & Ramírez Hernández, 2010). Se considera que en todo el proceso industrial se produce aproximadamente 10 tm de cáscara de mazorca de cacao por tm de grano seco (Mejía & Argüello, 2000).

Por ende tomando en cuenta este porcentaje restante de desecho agrícola se ha planteado el uso de la cascara del cacao, por tal motivo se realizó un estudio previo “Cuantificación de azúcares fermentables obtenidos mediante hidrólisis de la cáscara de la vaina de cacao” (Maldonado, 2018), seguido del trabajo de investigación con el objetivo de determinar las condiciones de trabajo óptimas para maximizar la fermentación de los azúcares obtenidos de las cascara de la mazorca de cacao *Theobroma Cacao L* variedad CCN-51 aplicando un diseño experimental, con la finalidad de identificar el potencial que está contenido en los residuos de cacao.



## 2. SITUACION ENERGETICA

---

### 2.1 Energías Renovables

Schallenberg et al. (2008) afirman que las energías renovables son fuentes inagotables de energía, y dependen por lo general del sol, como consecuencia de la radiación solar o de la atracción gravitatoria de la Luna. Entre estas se encuentran la energía hidráulica, solar, eólica, biomasa, geotérmica y las marinas (Schallenberg, et al, 2008).

Según el último informe de la red mundial de políticas en energía renovable (REN21) en 2017 fue otro año récord, para la energía renovable, caracterizado por el aumento en su capacidad, disminución de costos, aumento en inversiones y avances en tecnología. Cada vez más gobiernos se suman a la lista de productores de energía renovable haciendo que la lista de países generadores se sume, consiguiendo así un aumento al porcentaje global de producción de energía renovable. Desde el 2016 se sondeó un 18,2% del consumo total de la energía global final, representando las energías renovables actuales el 10,4% (Hales, 2018).

#### 2.1.1 Energía no Renovable

Se encuentran disponibles en la naturaleza, pero en cantidades limitadas, estas se renuevan en un periodo muy largo de tiempo, por ende, la utilización de este tipo de fuente energética cada vez es más escasa, actualmente la demanda de energía mundial es suministrada por el carbón, el petróleo, el gas natural y el uranio (Schallenberg, et al, 2008).

## 2.2 Clasificación de la Energía por fuente

### 2.2.1 Energías primarias

La energía primaria no considera ningún tipo de transformación (Badía, 2005), corresponde a un tipo de energía almacenada o disponible, como el petróleo, el carbón,



el gas natural, el uranio, la biomasa y las energías renovables (Schallenberg, et al, 2008), como la energía nuclear, energía solar, eólica, las corrientes oceánicas, las mareas y la energía geotérmica (Badía, 2005).

### **2.2.2 Energía secundaria**

Conocida como energía final, se obtiene a partir de la energía primaria después de una serie de procesos hasta transformarla en electricidad o la gasolina (Schallenberg, et al, 2008).

#### **2.2.2.1 Energía útil**

Es la que se consigue con el funcionamiento de los equipos, siendo la energía mecánica gastada en un motor, la luminosa en una bombilla, etc. Algunas energías primarias pasan directamente a energía útil, sin convertirse previamente en energía secundaria (Schallenberg, et al, 2008).

### **2.2 Biocombustible**

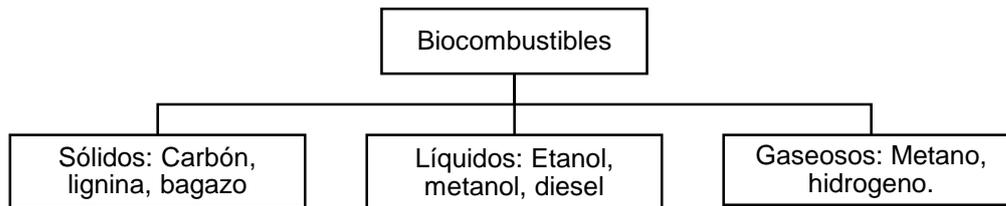
Los biocombustibles son una fuente alternativa de energía, desde que el hombre utilizó la madera para descubrir el fuego, para la cocción de alimentos, mantenerse caliente, fabricación de armas etc. (Ramos, Díaz, & Villar, 2016). Actualmente la sustitución de combustibles fósiles por los biocombustibles está en auge, siendo así que este cambio se he presenciado desde el siglo XIX, tanto en la producción e investigación de los biocombustibles. (Callejas & Quezada, 2009).

Según la revista de Revisiones de energías renovables y sostenibles la independencia energética y el cambio climático ayudan al desarrollo de las energías renovables de cualquier origen para la producción de nuevas fuentes de biocombustibles, obteniendo así el bioetanol a partir de material lignocelulósico, biodiesel a partir de semillas oleaginosas, biogás a partir de los desechos orgánicos por digestión anaerobia. El desarrollo de la bioenergía y biocombustibles sigue aumentando a nivel mundial



esperando para el 2050 una demanda de bioenergía del 30% (Guo, Song, & Buhain, 2015).

**Ilustración 1. Clasificación de los Biocombustibles**



Fuente: Adaptado de (García & Martínez, 2014)

Elaboración propia

## 2.2.1 Tipos de Biocombustibles

### 2.2.1.1 Biocombustibles de primera generación

Se trata de la materia orgánica constituida directamente de los seres fotosintéticos, como la biomasa, (Callejas & Quezada, 2009) se producen a partir de aceites o azúcares comestibles provenientes de plantas como maíz, caña de azúcar, girasol o soja (Ramos et al., 2016).

### 2.2.1.2 Biocombustibles de segunda generación

Álvarez. (2009) hace referencia al tipo de biocombustibles de segunda generación los cuales son obtenidos a partir de restos agrícolas y forestales (Álvarez, 2009). Principalmente se obtienen con materias primas no aprovechables para alimentación humana, como residuos forestales y agrícolas, que tienen elevado contenido de celulosa y lignina, principales componentes de las paredes celulares de las plantas (Ramos et al., 2016).

Los procesos de producción que generan este tipo de combustible requieren una complejidad mucho más alta que los de primera generación, teniendo entre ellas los procesos de producción como la sacarificación-fermentación y el proceso Fischer-Tropsch (Álvarez, 2009).



### **2.2.1.3 Biocombustibles de tercera y cuarta generación**

Proviene de vegetales no aptos para alimentación de rápido crecimiento con componentes químicos de alta densidad energética (Álvarez, 2009), organismos que pueden producir su propio alimento a partir de energía solar y CO<sub>2</sub>, entre ellos algas, que se pueden cultivar en reactores fotoquímicos o en pilas al aire libre. Finalmente las biocombustibles de cuarta generación que son aquellos que se producen a partir de organismos genéticamente modificados para que capturen más dióxido de carbono del ambiente, poseen la doble característica de provenir de una fuente alternativa de energía y ser generados por procedimientos que disminuyen el contenido atmosférico de gases de efecto invernadero (Ramos et al., 2016).

## **2.3 Biomasa**

La biomasa es la materia orgánica que se obtiene de origen animal o vegetal de procesos biológicos formados naturalmente, como los desechos de las plantas o desechos metabólicos de los seres vivos. Actualmente se acepta el término Biomasa para agrupar al tipo de energía renovable que se origina a partir de la materia prima orgánica formada por vía biológica (Callejas & Quezada, 2009).

### **2.3.1 Tipos de Biomasa**

#### **2.3.1.1 Biomasa primaria**

Este tipo de biomasa es generado por organismos fotosintéticos, capaces de captar energía solar para la obtención de compuestos orgánicos (Miguel, 2017). Este tipo de biomasa está compuesto por la biomasa vegetal, residuos agrícolas y forestales (Callejas & Quezada, 2009).

#### **2.3.1.2 Biomasa secundaria**

Es la producida por los seres heterótrofos llenos de hidrógeno y nitrógeno, utilizando biomasa primaria para su nutrición. Este tipo de biomasa está presente en la materia fecal o la carne de los animales (Callejas & Quezada, 2009).

#### **2.3.1.3 Biomasa terciaria**

Es producida por los seres que se alimentan de la biomasa secundaria, como los restos de animales y expulsión de restos de los animales carnívoros que se alimentan de los animales herbívoros (Callejas & Quezada, 2009).



### **2.3.1.3 Biomasa natural**

Este tipo de biomasa se encuentra en ecosistemas silvestres (Callejas & Quezada, 2009), como la leña de los árboles que crecen esporádicamente en las tierras no cultivadas, este tipo de biomasa no es la más adecuada para la transformación de energía, ya que a medida que aumenta la población mayor es la demanda, por consiguiente se toma en cuenta para la producción de energía solo los residuos de las partes muertas o podas, así se llegaría a respetar al máximo el equilibrio y la estabilidad del ecosistema (Fernández, 2004).

### **2.3.1.4 Biomasa cosechable o Cultivos energéticos**

Se logra a partir de cultivos determinados como las plantas de origen herbáceo y leñosos, obtenidas naturalmente en cultivos diseñados con el fin de transformarlos en energía (Badía, 2005).

### **2.3.1.5 Biomasa residual**

Se beneficia de los residuos forestales, agrícolas, ganaderos y actividades humanas (Callejas & Quezada, 2009). Quedando limitadas por la contaminación que producen al erradicar los residuos, en ocasiones llega a ser superior a la energía que se llega a generar, por tanto, la biomasa residual es aprovechada en instalaciones que pueden utilizar sus propios residuos como en granjas, depuradoras urbanas, industrias forestales, lugares donde no solo se obtiene energía, si no que a su vez se ahorran costes de eliminación de residuos (Badía, 2005).

## **2.3.2 Métodos de transformación de Biomasa**

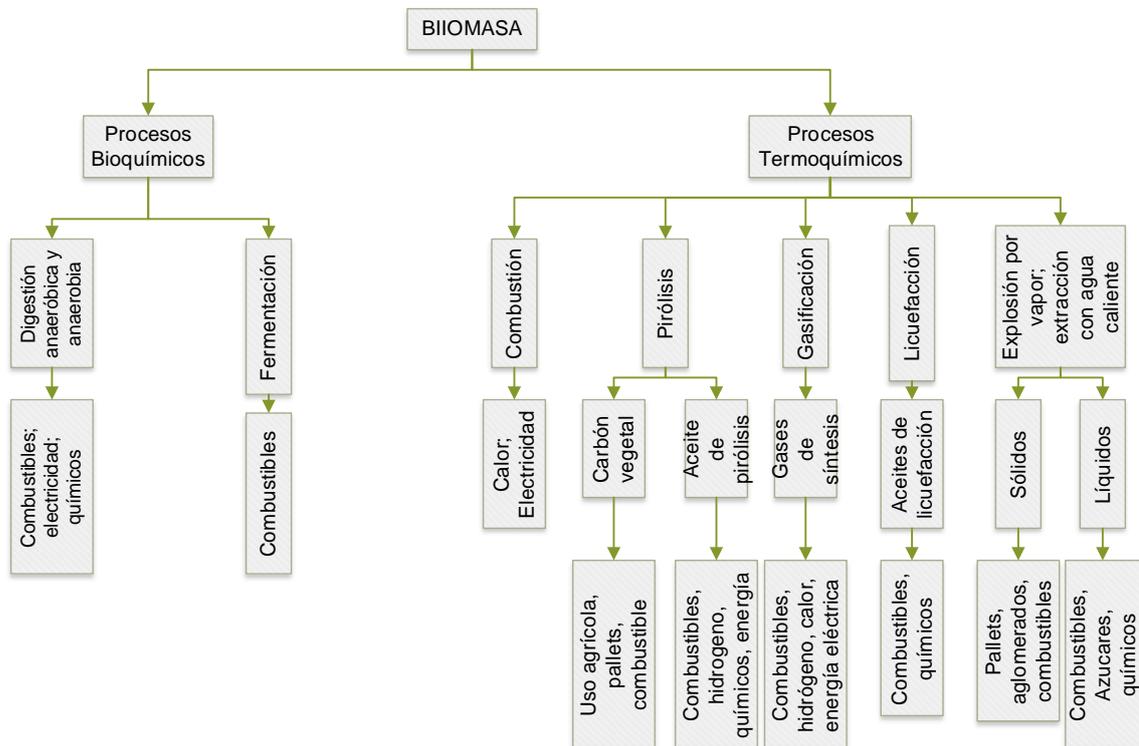
Existen varios tipos de conversión de biomasa, abarcando los procesos termoquímicos, bioquímicos y combinados (Madrid, 2012). Los procesos termoquímicos constituyen combustión, torrefacción, gasificación, pirolisis, licuefacción, extracción con agua caliente y explosión con vapor. Los procesos bioquímicos contienen la fermentación, digestión anaeróbica, y la hidrólisis enzimática, todos estos métodos utilizados para poder originar combustibles en estado líquido (Peláez & Espinoza, 2015).

Por otra parte, cada kilogramo de biomasa suele estar establecido por un poder energético de 3300 – 3500 kilocalorías, mientras que un litro de gasolina está formado

por un poder energético de 10000 kilocalorías, es decir que la diferencia del poder calorífico de la biomasa con el de la gasolina es de 1:3(Madrid, 2012).

En la ilustración (2) se describe el proceso de conversión de biomasa y sus principales productos y aplicaciones en la actualidad.

**Ilustración 2.** Proceso de conversión de la biomasa, principales productos y aplicaciones



Fuente: (Basu, 2010)

Elaboración propia

### 2.3.2.1 Procesos termoquímicos

Los procesos termoquímicos son idóneos para combinar la aplicación del calor con la producción de reacciones químicas para producir energía eléctrica, pudiendo ser efectuado a partir de la combustión, Pirolisis y gasificación (Madrid, 2012).



### 2.3.2.2 Combustión

La combustión es el proceso más antiguo y sencillo conocido por los humanos para la producción de calor, hoy en día resulta esencial en muchos procesos tecnológicos modernos (Peláez & Espinoza, 2015). Este proceso permite obtener energía térmica ya sea para usos domésticos como cocción y calefacción, o usos industriales tales como el calor de procesos, vapor mediante caldera, energía mecánica utilizando el vapor de una máquina (Madrid, 2012).

En la combustión se aplica un calor muy fuerte a la biomasa, en presencia de oxígeno en exceso, produciendo así el calor útil (Madrid, 2012).

Biomasa + Calor fuerte + O<sub>2</sub> en exceso = calor útil

### 2.3.2.3 Pirólisis

Se fundamenta en un proceso termoquímico a moderadas temperaturas en el orden de 500°C, inferiores a las utilizadas en el proceso de gasificación, en ausencia parcial de oxígeno obteniéndose productos sólidos (carbón vegetal), líquidos (hidrocarburos) y gaseosos (Madrid, 2012) (Peláez & Espinoza, 2015). Los equipos utilizados para la pirólisis se conocen como reactores de pirólisis, estos pueden ser: reactores de lecho fluidizado, de lecho fijo, de vórtice, continuo tipo tornillo sin fin, etc. El principal producto de la pirólisis es el carbón o aceite pirolítico obteniéndose por pirólisis rápida o lenta (Peláez & Espinoza, 2015).

### 2.3.2.4 Gasificación

La gasificación es el proceso termoquímico de conversión de un combustible sólido en un producto gaseoso con contenido energético utilizable por medio de la combustión parcial, en presencia de un oxidante en cantidades menores que la estequiométrica a elevadas temperaturas (del orden de 900°C) (Madrid, 2012) (Peláez & Espinoza, 2015). En el proceso de gasificación el material es previamente reducido a partículas pequeñas y pre tratado para reducir su contenido de humedad. El gas producido está compuesto de CO, H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, gases inertes, compuestos orgánicos volátiles, alquitrán y agua (Peláez & Espinoza, 2015).



### 2.3.2.5 Procesos Biológicos

La transformación de biomasa para la producción de combustibles líquidos (Etanol) o gas (Biogás) por medio de procesos biológicos requiere el uso de microorganismos (Peláez & Espinoza, 2015) los cuales se alimentan de la biomasa y en sus procesos metabólicos se descomponen en moléculas más simples pero de alto poder calorífico (Madrid, 2012). Este proceso se lleva a cabo por dos métodos; fermentación para producir etanol y la digestión anaerobia para producir biogás.

#### 2.3.2.5.1 Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica se da a partir de los azúcares que se encuentran en la planta con la ayuda de bacterias o levaduras (generalmente *saccharomyces cerevisiae*) para que ocurra el proceso de hidrólisis de azúcares a anhídrido carbónico y etanol (Hansen, 1959), sin embargo cuando se utiliza material lignocelulósico se realiza un paso previo a la fermentación alcohólica, es la transformación de azúcares de la fibra por medio de sacarificación e hidrólisis ya sea acida o enzimática (Peláez & Espinoza, 2015).

#### 2.3.2.5.2 Digestión anaerobia

En este proceso la materia orgánica es descompuesta por la acción de microorganismos, en ausencia de oxígeno dando lugar a un gas de composición: 60% de metano, CO<sub>2</sub>, impurezas y contaminantes (entre ellas H<sub>2</sub>S), el principal producto es conocido como biogás, utilizado generalmente como combustible y el subproducto, es utilizado como abono para uso agrícola. Los principales usos de la digestión anaerobia suelen ser para procesar aguas residuales, tratamiento de líquidos cloacales, tratamiento de basura como residuos animales y municipales, u otros materiales orgánicos industriales, domésticos o comerciales (Madrid, 2012).

## 2.4 Evolución del cultivo del Cacao

El cacao, base del chocolate, es un árbol nativo del trópico americano, especialmente de Mesoamérica (Ogata, 2007). El cacao está clasificado en el género *Theobroma*, con 22 especies descritas, ubicadas principalmente en Sudamérica y partes de Centroamérica. las únicas especies que se distribuyen naturalmente hasta México son *Theobroma cacao* L. y *Theobroma bicolor* Humb Bonpl (Ogata, 2007) Existen tres variedades de cacao, el Criollo, Forastero, y Trinitario (Lirota, 2016).

### 2.4.1 Variedades de Cacao

*Ilustración 3. Variedades de Cacao*



Fuente: (Lirotal, 2016).

Elaboración propia

#### 2.4.1.1 Criollo

Este tipo de cacao dominó el mercado hasta mediados del siglo XVIII, actualmente de esta variedad de cacao quedan muy pocos (Lirotal, 2016). El cacao criollo posee vainas de color rojo o amarillo, algunos pueden ser verdes o blancos. Los granos, van de color púrpura claro a color blanco, y son redondos y llenos. Generalmente se considera que los granos de cacao criollo tienen un sabor más fino que otras variedades de cacao, su árbol no es muy resistente a las enfermedades, por ende, es un inconveniente para hacerlos crecer y mantenerlos sanos. Los granos del cacao criollo son considerados como "granos de sabor" debido a sus características de proporcionar un sabor más acentuado. El cacao criollo de Venezuela se puede encontrar en toda la región centroamericana, incluyendo a México (Chocolate, 2013).

#### 2.4.1.2 Forastero

Se siembra en un amplio grupo de poblaciones, puede ser semi-silvestre y silvestre consiguiendo una amplia variedad en Brasil (Lirotal, 2016). En la actualidad, los mayores productores de granos de cacao son Costa de Marfil y Ghana, estableciéndose forastero muy temprano en el comercio de cacao. La mayoría del chocolate producido en el mundo hoy en día está hecha de las almendras de forastero. El casco de la vaina de cacao es relativamente liso, con una forma de vaina más bulbosa. Las vainas suelen ser rojas o amarillas, así como naranjas o púrpuras. Las almendras de cacao son de un color púrpura muy oscuro y son relativamente planos en comparación con los criollos (Chocolate, 2013), el cacao forastero consta de 30 o más semillas de color púrpura con alta astringencia y bajo contenido de grasa (Mejía & Argüello, 2000). El forastero carece



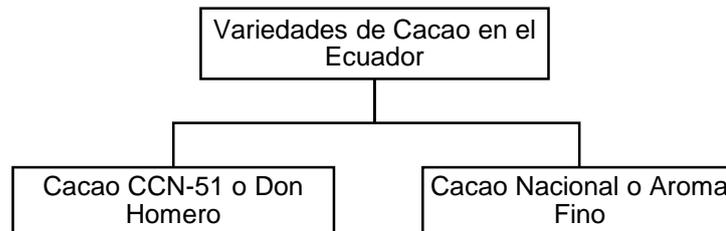
de la complejidad del sabor que también se puede encontrar en el criollo, por lo tanto, los granos de forastero generalmente se consideran "granos a granel", en cambio los criollos se consideran "granos de sabor". El forastero en chocolatería es muy utilizado para sus mezclas para dar esa capacidad de fondo con un delicioso sabor a chocolate. Otra característica singular de este tipo de cacao es que es muy resistente a las plagas y enfermedades por consiguiente los agricultores tienen la garantía de un cultivo mucho más vendible (Chocolate, 2013). Si bien el cacao de Ecuador tiene buen sabor, generalmente se considera un Forastero según la clasificación popular. El sabor es muy similar al de otros forasteros, con la adición de matices afrutados que otros forasteros generalmente no tienen. Este cacao es originario de Ecuador, por lo tanto, es criollo (nativo) en lo que respecta a Ecuador. Esto ha causado mucha confusión, excepto que la variedad de cacao nativa ha sido nombrada "Nacional", evitando así una mayor confusión del nombre criollo de lo que ya existe (Chocolate, 2013).

#### **2.4.1.3 Trinitario**

De origen entre el cruce del Criollo y el forastero surgido en Trinidad, se esparció a Venezuela y de allí a Ecuador, Camerún, Samoa, Sri Lanka, Java y Papúa Nueva Guinea (Lirota, 2016). El cacao trinitario posee las vainas de cacao puntiagudas, y la piel de las vainas es relativamente suave (en comparación con la de las vainas del criollo). Los granos de cacao también son planos y púrpuras cuando se cortan por la mitad. El trinitario se ha extendido por todo el mundo como un importante cultivo de cacao. Hoy en día, los chocolateros de todo el mundo buscan el trinitario por su fino sabor y lo utilizan tanto para proporcionar el sabor del chocolate creado a partir de "frijoles a granel" como para crear un chocolate súper premium cuando se usa solo (Chocolate, 2013).

## 2.4.2 Variedades de cacao en Ecuador

*Ilustración 4. Variedades de cacao en el Ecuador*



Fuente: (Anecacao, 2015)

Elaboración propia

### **Cacao Clon Castro Naranjal (CCN-51)**

*Ilustración 5. Cacao CCN-51*



Fuente: (Anecacao, 2015)

El CCN-51 es un cacao clonado de origen ecuatoriano, el agrónomo ambateño Homero Castro Zurita en 1965 logró la finalización de la investigación y la obtención del cacao CCN-51, cuyo nombre denota Colección Castro Naranjal. El 22 de junio de 2005 fue declarado, mediante un acuerdo ministerial como un medio de alta productividad. Este tipo de cacao es considerado como un cacao ordinario, corriente o común, sus mazorcas tienen una coloración rojiza durante su desarrollo y en su madurez, se caracteriza por su capacidad productiva, resistencia a enfermedades, y la cantidad de grasa existente en las almendras de cacao (Anecacao, 2015).



### 2.4.2.1 Cacao Nacional

Se trata de un cacao fino y de aroma, está representado solo por el 5% de producción a nivel mundial de cacao, Ecuador por su clima y posición geográfica representa una producción del 63% a nivel mundial, este tipo de cacao ha sido reconocido durante siglos por el mercado internacional. Esta clase de cacao es utilizada en todos los chocolates refinados. Del total de exportación ecuatoriana se estima que el 75% es cacao fino de aroma y el 25% pertenece a la variedad CCN51 (Anecacao, 2015).

### 2.4.3 Producción del Cacao en el Ecuador

Según el reporte de la CFN, Ecuador ocupa el 4to lugar como productor de cacao en grano a nivel mundial. Entre el 2013 y 2016 la producción y la superficie cosechada aumentaron en un 18% y 39% respectivamente (CFN, 2018).

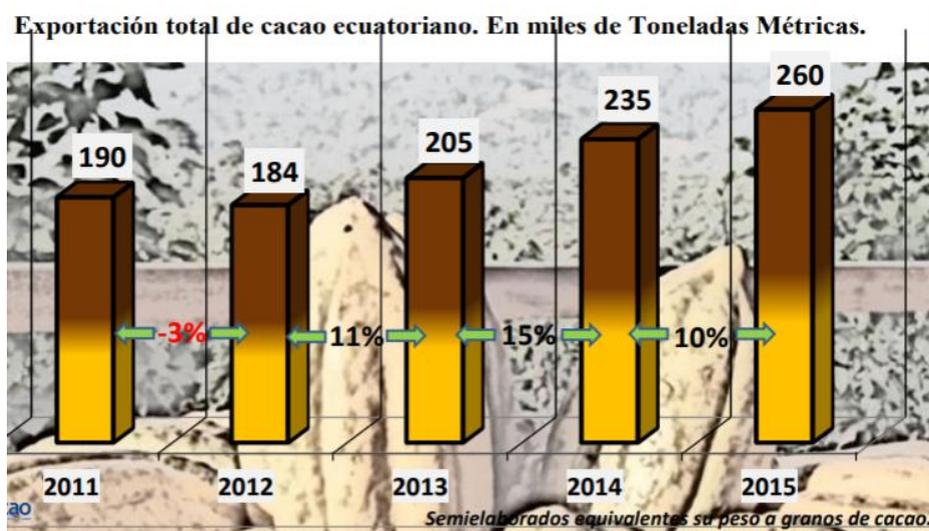
**Ilustración 6.** Producción y rendimiento del cultivo de cacao 2013-2016



Fuente: (CFN, 2018)

Al finalizar el 2015 las exportaciones en el país cerraron con un valor total de 260 mil toneladas métricas de cacao en grano y productos derivados del cacao, obteniendo así un incremento del 10% con respecto al 2014 (Anecacao, 2015).

**Ilustración 7.** Exportación total de cacao ecuatoriano en miles de tm



Fuente: (Anecacao, 2015)

#### 2.4.4 Almendra del cacao

Los principales constituyentes de la almendra del cacao son la fibra, manteca, y la cascarilla conocida también como testa, las cuales son separadas en el proceso de manufactura. La fibra libre grasa está constituida por un 3% de Teobromina, que a su vez se puede convertir en cafeína (Mejía & Argüello, 2000).

**Tabla 1.** Composición química de la almendra de cacao

Contenido	Gramos	Contenido	Miligramos
Agua	3,60	Calcio	106
Grasa	46,30	Beta-Caroteno	30
Fibra	8,60	Riboflavina	0,14
Hierro	3,60	Ácido Ascórbico	3

Fuente: (Mejía & Argüello, 2000)

Elaboración propia

#### 2.4.5 Desechos cacao

Los procesos de cosechas del cacao tanto agrícolas e industriales generan una cantidad de subproductos que no tienen o ninguna utilización. Tradicionalmente, de los procesos de poscosecha, que se inician con la recolección de las mazorcas maduras en la finca,



en primer lugar, se desechan los frutos enfermos que representan por lo menos un 10% a 30% de los frutos cosechados. Cabe destacar que la explotación cacaotera aprovecha solo el 10% que representa a las habas de la mazorca del cacao que es comercializado, el 90 % restante está conformado por la cáscara de la mazorca y la pulpa (Castillo & Ramírez Hernández, 2010). Se considera que en todo el Proceso industrial se produce aproximadamente 10 tm de cáscara de la mazorca de cacao por 1 tm de grano seco (Mejía & Argüello, 2000).

**Tabla 2.** Proceso manufacturero y subproductos del Cacao

<b>Proceso de Industrialización del Cacao</b>	<b>Subproductos generados durante los procesos agrícolas e industriales del Cacao.</b>
<i>Cosecha</i>	Frutos enfermos que representan por lo menos un 10% a 30% de los frutos cosechados.
<i>Selección</i>	Cáscaras y placentas que quedan cuando se quiebran los frutos al extraer los granos 79% del peso de las mazorcas cosechadas.
<i>Quiebra</i>	Cáscaras y placentas que quedan cuando se quiebran los frutos al extraer los granos 79% del peso de las mazorcas cosechadas.
<i>Fermentación</i>	Se pierde el mucílago del cacao dominado también arillo al depositarlo en los cajones, una parte queda exudada y una pequeña fracción es utilizada específicamente para la fermentación.
<i>Secado</i>	Representa las almendras el 10% de la mazorca de cacao

Fuente: (Mejía & Argüello, 2000)

Elaboración propia



**Tabla 3.** Composición y porcentaje de la cáscara de la mazorca del Cacao en base seca

<b>Composición de la cáscara de la mazorca del Cacao</b>	<b>% p/p</b>
<i>Humedad</i>	85
<i>Proteína</i>	1,07
<i>Minerales</i>	1,41
<i>Grasa</i>	0,02
<i>Fibra</i>	5,45
<i>Carbohidratos</i>	7,05
<i>Nitrógeno</i>	0,17
<i>Potasio</i>	0,55
<i>Fósforo</i>	0,02
<i>Pectinas</i>	0,89

Fuente: (Mejía & Argüello, 2000) (Ortiz, 2013)

#### **2.4.6 Material lignocelulósico de la cáscara de cacao**

El material o biomasa lignocelulósico es el producto agroindustrial de mayor abundancia con una gran fuente de materia prima renovable (Viñals-Verde, 2012), además de gran importancia por las funciones que este desempeña, como cogeneración de energía eléctrica, compuestos químicos y producción de biocombustibles siendo una fuente de energía renovable generada por la composición química que posee (Piñeros, 2014).



**Tabla 4.** Fracción promedio de biomasa lignocelulósico.

<b>Materia Prima</b>	<b>Fracción de celulosa</b>	<b>Fracción de hemicelulosa</b>	<b>Fracción de lignina</b>
<i>Cultivos energéticos</i>	0,366	0,161	0,219
<i>Residuos de cosecha</i>	0,380	0,320	0,170
<i>Biomasa leñosa</i>	0,437	0,283	0,243

Fuente: (Kylen, Dyne, Choi, & Blase, 2000)

Está formado por; lignina, celulosa, hemicelulosa (da Silva, 2010) y además pueden incluir otros grupos funcionales polares de la lignina, este material contiene varias cadenas de hidratos de carbono polimerizados (Mejía & Argüello, 2000)

#### **2.4.6.1 Carbohidratos**

También conocidos como hidratos de carbono debido a su composición química, formados de agua y carbón cuya fórmula energética se denomina  $C_x(H_2O)_x$  indicando un mismo número de carbonos y moléculas agua. Actualmente incluyen muchas sustancias diferentes. El origen de todos los componentes parte de la glucosa proveniente de la fotosíntesis, proceso de vital importancia porque produce el oxígeno y transforma el bióxido de carbono en glucosa (Badui, 2006).

#### **2.4.6.2 Celulosa**

La celulosa es un  $\beta$ -glucano lineal semejante a la amilosa (Badui, 2006), se caracteriza por ser un polisacárido insoluble en agua, además de ser el responsable de la rigidez de los alimentos de origen vegetal, absorber una cierta cantidad de material descompuesto, efecto laxante debido al aumento del contenido en el intestino (Calaveras, 2004). Para los seres vivos mono gástricos la celulosa actúa como fibra dietética, pero para los seres vivos rumiantes es fuentes de glucosa y energía (Badui, 2006).



#### **2.4.6.3 Hemicelulosa**

Se caracteriza por que es soluble en agua, en caliente, sobre todo si esta es alcalina, estable a pH ácidos (Badui, 2006). Facilita el aumento de la masa bacteriana ya que funciona como substrato para las mismas (Calaveras, 2004).

#### **2.4.6.4 Lignina**

La lignina no es un carbohidrato, pero generalmente se encuentra presente con la celulosa y hemicelulosa, en los tejidos vegetales, es un polímero insoluble en agua (Badui, 2006). Su función principal es fijar las grasas y los hidratos de carbono e impedirles la absorción por el intestino, estabilizadora del colesterol y preventiva con sustancias cancerígenas (Calaveras, 2004).

#### **2.4.7 Hidrólisis**

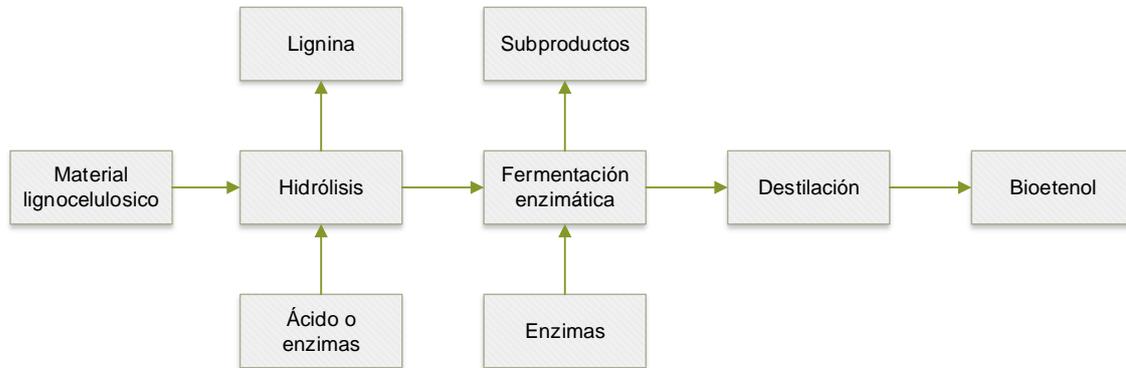
La hidrólisis se puede realizar con la presencia de ácidos, bases, calor y con la ayuda de microorganismos. Su principal objetivo es convertir su masa viscosa vegetal en azúcares para su posterior fermentación (Abril & Navarro, 2012). Según Damien el material fibroso debe estar muy dividido, ya que la granulometría debe ser inferior o igual a 1 mm, esto se debe a que el tamaño influye directamente en el tiempo de residencia (Damien, 2010).

##### **2.4.7.1 Hidrólisis de la Celulosa**

La hidrólisis de la celulosa generalmente se lleva a cabo con ácido diluido (0,5 a a1,5%) de ácido sulfúrico en función de la masa seca a tratar – 180 - 240°C y con un tiempo de residencia en segundos o minutos, permitiendo recuperar solo el 60 – 70% de los azúcares totales (Abril & Navarro, 2012).

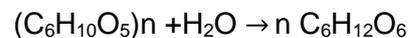
Por otro lado, también se puede realizar la hidrólisis de la celulosa con ácido concentrado utilizando el ácido clorhídrico a una temperatura de 35°C por el tiempo de una hora, con ácido fluorhídrico gaseoso, este resulta ser muy toxico y caro, finalmente con ácido sulfúrico. Todos estos procesos nos dan un rendimiento de recuperación del 100% de azúcares con la desventaja de que el proceso resulta ser muy caro (Damien, 2010).

**Ilustración 8. Hidrólisis de la Celulosa.**



Fuente: (Damien, 2010)

En consecuencia, el proceso de hidrólisis de la celulosa o del almidón se realiza en presencia de ácidos de acuerdo con la reacción global:



En referencia a la reacción global la hidrólisis enzimática de la celulosa se genera en dos pasos, el primer paso se da por conversión de la celulosa a celobiosa (Disacárido) por medio de celulasas (endo 1,4 β-glucanasas y exo 1,4 β-glucanasas) y finalmente la celobiosa se convierte en glucosa (Monosacárido) por medio de las β-glucosidasas. Finalmente para hidrólisis enzimática se trabaja con las variables de temperatura (50°C), pH 4,8, material lignocelulósico seco entre el 10 y 20%, y tiempo de residencia de 24 a 48 horas (Damien, 2010).

## 2.5 Levaduras

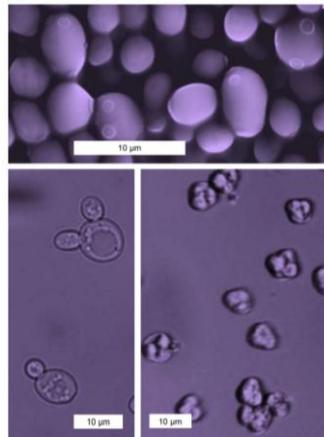
### 2.5.1 Generalidades

Las levaduras son los microorganismos más distinguidos antiguamente, tiene una trayectoria muy largo en cuanto a sus estudios, son raramente tóxicas o patogénicas y habitualmente son los más reconocidos en la industria alimentaria para los humanos (Petrenko, 2005 ). La totalidad de las levaduras son hongos unicelulares microscópicos

que no poseen micelio, por lo tanto se muestran como células simples, en cuanto a su tamaño las levaduras son mucho más grandes que las bacterias, tienen forma redondeada, ovoidea o elongada, la mayoría de las levaduras se reproducen de forma asexual por gemación y un porcentaje bajo de levaduras lo realiza por fisión simple (Forsythe & Hayes, 2007). A pesar de que su contenido de proteínas no excede el 60%, su concentración de aminoácidos fundamentales tales como la lisina, el triptófano y la treonina es satisfactoria, aunque tiene un bajo contenido de metionina y cisteína. Las levaduras son muy ricas en vitaminas (grupo B) y su contenido en ácidos nucleicos es minoritario ya que está en el rango de 4 a 10% (Petrenko, 2005). Los géneros más importantes de levaduras son los *Saccharomyces* y las *Torulopsis* (Loncin, 1965).

### 2.5.2 Características

**Ilustración 9.** Vista microscópica de la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*



Fuente: (Suárez & Morata, 2015)

Las principales características físicas, químicas y de preservación de las levaduras se muestran a continuación en la tabla 4.



**Tabla 5.** Características de las levaduras.

Descripción	Valor	Unidad
<i>Dimensiones</i>	4,0 – 8,0	milimicras
<i>Tiempo de duplicación</i>	1,0 – 3,0	H
<i>pH (rango óptimo)</i>	4,5 – 6,0	-
<i>Temperatura Óptima</i>	30	°C
<i>Temperatura de almacenamiento</i>	2 - 5	°C
<i>Nitrógeno</i>	7,5 – 8,5	%
<i>Proteína</i>	35,0 – 45,0	%
<i>Ácidos nucleicos</i>	6,0 – 12,0	%
<i>Carbohidratos</i>	30,0 – 45,0	%

Fuente: (Guillermo & Macías, 2014), (Loncin, 1965).

### 2.5.3 Tipos de levaduras

Las levaduras se pueden clasificar en 7 grupos, según el punto de vista industrial.

**Tabla 6.** Tipos de levaduras.

#### **Tipos de levaduras**

1. *Levaduras de panadería y productos de panificación*
2. *Levaduras de cervecería y cerveza*
3. *Levaduras de vinificación y vino*
4. *Levaduras de destilación y licores*
5. *Levaduras – alimentos*
6. *Productos derivados de las levaduras*
7. *Producción de etanol industrial y carburantes.*

Fuente: (Arevalo, 1998)

Dentro de las levaduras de panificación existe una sub clasificación de levaduras para la fermentación, el estudio se enfoca en la levadura del tipo fresca o prensada.



### 2.5.4 Composición típica de las levaduras

En la tabla 7 se detalla la composición de los principales componentes de las levaduras.

**Tabla 7.** Composición de las levaduras

<b>Componentes</b>	<b>%</b>	<b>Componentes</b>	<b>%</b>
<i>Proteínas</i>	45,0 – 55,0	Calcio	0,3 – 1,3
<i>Hidratos de carbono</i>	25,0 – 35,0	Fosforo	1,4 – 1,7
<i>Grasas</i>	2,0 – 5,0	Potasio	1,2 – 1,9
<i>Cenizas</i>	6,0 – 8,0	Magnesio	0,1 – 0,2
<i>Hierro</i>	9,3 – 35,0 mg%	Cobre	2,0 – 13,4 mg%
<i>Molibdeno</i>	1,3 – 12,3mg%	Cinc	3,3 – 16,3 mg%

Fuente: (Petrenko, 2005 )

### 2.5.5 Lavadura fresca o prensada

A este tipo de levadura se le conoce también con el nombre de levadura natural, está constituida por *Saccharomyces Cerevisiae*, microorganismo concerniente a las levaduras. Su principal función es la industria alimentaria en pastelería y panadería (Calaveras, 2004). Este ejemplo de levadura es una levadura heterótrofa, que logra la energía a partir de los azúcares tendiendo una elevada capacidad fermentativa (Querol, 2003).

#### 2.5.5.1 Composición química de la levadura fresca

La levadura contiene un 75% de agua y 25% de sustancia seca, esta sustancia seca constituye la siguiente composición (Hansen, 1959).



**Tabla 8.** Composición química de la levadura fresca o prensada.

<b>Componente en %</b>	<b>Composición parcial</b>	
<i>Proteínas 42 / 55</i>	Amoníaco	8 %
	Purina	12%
	Diaminoácido.	20%
	Monoaminoácido.	60%
<i>Grasas 1 / 1,2 ; Carbohidratos 34 / 50</i>	Glicógeno	50 – 70%
	Celulosa	12 – 25%
	Gomas, etc.	10 – 20%
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	30 – 35 %
<i>Material mineral 8</i>	OK <sub>2</sub>	20 – 50%
	OMg	2 * 9%
	OSi	0,3 – 2,5%
	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,2 – 0,6%
	Cloruros	0,1 – 1,0%

Fuente: (Calaveras, 2004).

### 2.5.5.2 Características nutritivas

La levadura fresca es un producto rico en proteínas, con gran valor biológico y rico en minerales; además de su composición alta en vitaminas, constituidas por vitaminas hidrosolubles del grupo B. El contenido vitamínico de las células de la levadura lo constituyen la tiamina (B1), ácido nicotínico, ácido pantotínico, riboflabina (B2), piridoxina (B6), y ácido fólico (Calaveras, 2004).

### 2.5.6 Características físicas

Las levaduras son hongos filamentosos llenas de nutrientes, con la capacidad de multiplicarse y colonizar superficies rápidamente, gracias a estas características son inhibidoras de patógenos. Las levaduras tienen diferentes propiedades físicas para su multiplicación y resistencia a cambios (Arevalo, 1998). Las levaduras contienen un 75% de agua y el porcentaje restante de materia seca está constituida por macromoléculas y materia orgánica (Guillermo & Macías, 2014).



### 2.5.6.1 Temperatura

La temperatura es uno de los factores más importantes para el crecimiento y el proceso de fermentación (Carrascosa, Muñoz, & González, 2005). La temperatura de crecimiento de las levaduras esta entre los 5 y 40 °C y la temperatura optima de crecimiento se encuentra en los intervalos de 30 a 35 °C, aunque las levaduras pueden acoplarse a temperaturas de crecimiento máximo de hasta 50°C (Carrascosa, Muñoz, & González, 2005), (Uribe, 2007). Generalmente las levaduras no son microorganismos termófilos, por lo tanto, la destrucción de las mismas comienza desde los 52°C, siendo las células más sensibles aquellas que se encuentran en la fase exponencial que las células de la fase estacionaria (Uribe, 2007).

### 2.5.6.2 pH

Calaveras ha observado que el pH tiene gran repercusión sobre el periodo de fermentación, además de que la levadura es un factor importante para estabilizar el pH. La máxima formación de gas se obtiene en los valores de pH de 4,5 y 6, siendo estos valores el pH óptimo para la fermentación alcohólica (Calaveras, 2004).

**Tabla 9.** Valores de pH en cuanto a crecimiento de levaduras

<b>pH.</b>	<b>Descripción</b>
4,5 – 6	PH óptimo de crecimiento de las levaduras.
3 – 7,5	Rango de sobrevivencia de las levaduras.

Fuente: (Calaveras, 2004)

### 2.5.6.3 Oxígeno

Las levaduras son microorganismos anaerobios facultativos, aunque se ha probado que en escasa proporción son capaces de desarrollarse bajo condiciones anaerobias por completo, resaltando en presencia de oxígeno, el desarrollo de la levadura, es mucho más potente que en el cultivo bajo condiciones en el que no es posible el ingreso de oxígeno (Hansen, 1959).

### 2.5.7 Macronutrientes de la Levadura

Las células de levadura requieren macronutrientes para su supervivencia, generalmente fuentes de carbono (glucosa y fructosa), nitrógeno, fosforo, potasio, cinc y magnesio,

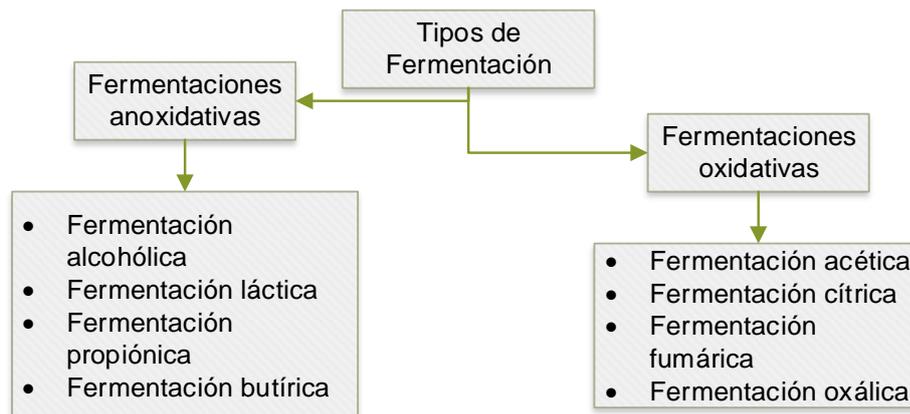


(Walker, 2009), para que se dé una fermentación alcohólica adecuada la concentración de glucosa y fructosa se debe encontrar por encima del 10-15% para la sobrevivencia de las levaduras (Hansen, 1959).

## 2.6 Fermentación

La fermentación es un proceso biológico anaeróbico mediante el cual las cadenas de carbono (glucosa) son oxidados para producir energía. Se conoce que con el complemento de microorganismos específicos se pueden ocasionar cambios en la materia prima por acción enzimática en el sustrato. Los organismos que se manipulan en la fermentación deben crecer rápidamente en el sustrato y ambiente adecuado, conservando constancia fisiológica para la producción de enzimas esenciales y condiciones de crecimiento máximo (Vega, 2008). Cabe recalcar que la fermentación es una técnica que permite prolongar la vida útil de los alimentos de forma efectiva, esta técnica se utiliza desde hace milenios. La fermentación produce etanol, ácidos orgánicos, bacteriocinas, antibióticos, etc. (Ross, Morgan, & Hill, 2002). Debido a los principales productos formados se habla de dos tipos de fermentaciones, las fermentaciones anoxidativas y las fermentaciones oxidativas (Hansen, 1959). En la siguiente ilustración se menciona una clasificación de los tipos de fermentación.

**Ilustración 10.** Tipos de fermentación



Fuente: (Hansen, 1959)

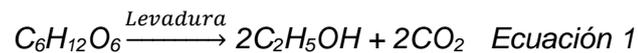
En la actualidad existe una gran variedad de alimentos derivados de productos vegetales o animales que se elaboran por el proceso de fermentación. Este proceso a más de mejorar su tiempo de vida útil, también aporta a las características sensoriales y nutritivas (Morata, 2010).



### 2.6.1 Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es una bioreacción que permite disociar azúcares con la presencia de levaduras y bacterias en alcohol y dióxido de carbono teniendo la siguiente conversión (Vázquez & Acosta, 2007).

#### *Ecuación 1. Fermentación alcohólica*



Cabe recalcar que los principales responsables de esta fermentación son las levaduras, especialmente las del tipo Saccharomyces. La levadura Saccharomyces cerevisiae es la especie de saccharomyces más común para el proceso de fermentación alcohólica (Damien, 2010). Los hidratos de carbono que se pueden fermentar, por lo general son aquellos que están conformados por tres átomos de carbono o un múltiplo de los mismos. Los monosacáridos se pueden fermentar directamente, mientras que los di, tri y poli sacáridos necesitan ser hidrolizados a hexosas antes de la fermentación (Hansen, 1959).

Según se ha citado anteriormente la fermentación de biomasa se da cuando se logra disociar sus componentes (polisacáridos) a unos más simples como los monosacáridos por medio del hidrólisis. Es evidente entonces que mientras más fácil y rápido sea la transformación de la biomasa a azúcares más adecuado será ese material para la producción de etanol por medio de la fermentación (González J. , 2009). Consiguiente a la fermentación el líquido que resulta contiene solo alrededor del 10% de etanol, ya que, si la concentración fuese mayor, el proceso de fermentación se hace más lento y puede llegar a detenerse (González, 2009).

Por otro lado, el rendimiento de Gay Lussac corresponde con el rendimiento teórico 51,1 Kg de etanol y 48.9 Kg de CO<sub>2</sub> producidos a partir de 100 Kg de glucosa, mientras que el rendimiento de Pasteur representa el rendimiento máximo practico de 48.4 Kg de etanol por cada 100 Kg de glucosa (Damien, 2010) , en la realidad es difícil lograr estos rendimientos, ya que la levadura utiliza la glucosa para obtener otros metabolitos. El rendimiento experimental varía entre un 90% y 95% del teórico (Vázquez & Dacosta, 2007). De la misma manera, el contenido energético del etanol es de 30MJ/Kg y su índice de octano varía entre 89 y 100, por lo que es un combustible idóneo para los motores de combustión interna (González, 2009).



### **2.6.1.1 Influencia de los factores externos en la fermentación**

Los factores externos en la fermentación alcohólica juegan un papel muy importante, ya que de ellos dependerá si se realizó con éxito dicha fermentación. El crecimiento de los microorganismos y la presencia de sustancias nutritivas, son de gran influencia para que se logre una adecuada fermentación, además la concentración de las sustancias nutritivas en el substrato atribuyen con la actividad vital (Hansen, 1959).

#### **2.6.1.1.1 Presencia de agua**

La presencia de agua es una condición absolutamente importante e indispensable para la germinación y toda clase de crecimiento. Las células de los microorganismos al igual que las células vegetales forman un sistema osmótico, ejerciendo así las sustancias disueltas en el citoplasma y en jugo celular una presión (Hansen, 1959).

#### **2.6.1.1.2 Oxígeno**

La influencia del oxígeno sobre los microorganismos es muy evidente. El oxígeno puede influir directamente sobre el crecimiento de los microorganismos, ya sea favoreciéndole o inhibiéndole. Por tal motivo, es de carácter importante conocer el comportamiento de los distintos organismos frente al oxígeno. Existen microorganismos estrictamente aerobios, estos son capaces de crecer solo en presencia de oxígeno libre, y estrictamente anaerobias siendo esta clasificación de microorganismos aquellos que no pueden crecer en presencia de oxígeno libre. La fermentación alcohólica es de origen anaerobia, pero el crecimiento de las levaduras se ve favorecido con la presencia de Oxígeno, por tanto esta fermentación anaerobia no es parcial, si no que a su vez es una fermentación anaerobia facultativa, es decir que permite la presencia de oxígeno en pequeñas cantidades produciendo así, una fermentación del azúcar del substrato a anhídrido carbónico y alcohol (Hansen, 1959).

#### **2.6.1.1.3 Temperatura**

Como ocurre en todos los seres vivos, tal como es en los microorganismos sus funciones vitales normales solo pueden suceder dentro de ciertos límites de temperatura. Entonces hace referencia a los niveles mínimos, óptimos y máximos de temperatura varía dependiendo de los distintos microorganismos, teniendo así la presencia de microorganismos con características de gran resistencia a temperaturas bajas como a temperaturas altas (Hansen, 1959).



La temperatura óptima más favorable en la mayoría de microorganismos para fermentación alcohólica se encuentra entre los 20 - 30°C, mientras que la temperatura óptima para la fermentación con levadura cultivada se da entre los 25 - 35°C, trabajando a 25°C con presencia de levaduras de fermentación baja, y para levaduras de fermentación alta con un rango de 25 – 35°C (Hansen, 1959).

#### **2.6.1.1.4 Luz**

La iluminación influencia en el desarrollo de los microorganismos, y en la mayoría de los casos este influjo significa la inhibición del crecimiento y de otras funciones vitales. Por tanto, la presencia de luz moderada no ejerce ningún efecto sobre la levadura, pero la luz solar directa opera de forma inhibidora (Hansen, 1959).

#### **2.6.1.1.5 Concentración de hidrogeniones**

La concentración de hidrogeniones se entiende como la cantidad de iones de hidrogeno activos expresada en gramos que se encuentra en un litro de líquido, es un factor fisicoquímico muy importante en la microbiología. Tanto el crecimiento como el desarrollo de los microorganismos dependen de la concentración de iones hidrogeno del sustrato nutritivo. La concentración en iones hidrogeno se expresa mediante el símbolo pH el mismo que designa el logaritmo de la concentración de hidrogeniones con signo inverso. En la escala de pH establecida por el profesor S.P.L. Sorensen pH de 7 significa una reacción neutra, pH inferiores a 7 significa una reacción acida y los pH superiores a 7 significa una reacción alcalina (Hansen, 1959).

#### **2.6.1.1.6 Productos metabólicos**

Los productos que se forman en el transcurso del metabolismo de los microorganismos ejercen una acción inhibidora sobre los mismos cuando son producidos en grandes cantidades. Por ejemplo, el alcohol que se forma durante la fermentación alcohólica posee una acción toxica, incluso mortal, sobre las levaduras cuando su concentración llega al 10% aproximadamente. Muchas veces se forman productos metabólicos ácidos o alcalinos que se reconocen cuando al sustrato nutritivo se agregan los indicadores correspondientes (Hansen, 1959).



## 2.7 Crecimiento de las levaduras

El crecimiento de las levaduras es un sistema de tipo biológico, está limitado por el incremento adecuado de todos sus componentes químicos (Rodríguez, Cabrera, & Valencia, 2003). Este crecimiento es de vital importancia para el proceso de fermentación que se encuentra en función de las condiciones del medio, nutrientes, pH, agitación, entre otros que influyen directamente en la velocidad de reproducción de las levaduras.

### 2.7.1 Nutrientes

Los factores nutricionales de las levaduras varían su presencia y cantidad dependiendo de los sustratos utilizados para la fermentación (Arévalo, 1998).

#### 2.7.1.1 Fuentes de Nitrógeno

Generalmente existen fuentes de nitrógeno inorgánica y orgánica (Mas & Beltrán, 2013). El nitrógeno inorgánico por lo general está compuesto de sales de amonio, Urea entre otros y el nitrógeno orgánico con la presencia de aminoácidos y sales de amonio con péptidos (Arévalo, 1998).

Existen algunos medios con la cantidad suficiente de nitrógeno como materia prima para su fermentación, entre ellas se destaca la malta, arroz, derivados del maíz, extracto de levadura de cerveza, germen de cebada, zumos de uva. Para los medios que no cuentan con la cantidad de nitrógeno apta se procede a suministrar el nitrógeno en forma de sulfatos, fosfatos o urea (Arévalo, 1998).

La fuente de Nitrógeno es asimilada por las levaduras para reproducirse (producción de biomasa) en la fase de fermentación alcohólica y así conseguir un número de células suficientes para absorber los azúcares que se encuentran en el mosto (Mas & Beltrán, 2013).



### 3. METODOLOGÍA.

---

El estudio realizado es de carácter cuantitativo, se basó en la fermentación alcohólica discontinua de glucosa al 15% por cada litro de agua, hace referencia a la cantidad de azúcares obtenidos en la hidrólisis de las cascara de cacao de la investigación “Estimación del aporte energético del bioetanol anhidro obtenido a partir de los desechos lignocelulósico de la planta de cacao mediante fermentación enzimática, destilación, rectificación y su impacto en la matriz energética nacional”

La fermentación se llevó a cabo en un reactor discontinuo de marca Eppendorf con especificaciones Bio/Flo CelliGen 115<sup>a</sup> a una temperatura constante de 32°C, las variables consideradas son: Revoluciones por minuto RPM, potencial de hidrógeno (pH), oligoelemento (CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O) y como inóculo la levadura *saccharomyces cerevisiae*, Se realizó un análisis estadístico para determinar el número de experimento necesarios en el software Statgraphics Centurion y se recolectaron los datos para el procesamiento de los datos y se optimizó el proceso de fermentación.

La fermentación alcohólica de la solución de glucosa al 15% se llevó a cabo en el laboratorio de Sanitaria de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Cuenca

#### 3.1 Materia Prima

##### 3.1.1 Glucosa

La Glucosa es un monosacárido, soluble en agua e insoluble en etanol y éter, posee peculiaridades cristalinas y blancas. La glucosa es el monosacárido más cuantioso en la naturaleza encontrándose en la frutas y hortalizas, su concentración depende del grado de madurez de las frutas o vegetales, cuanto más maduros se encuentren mayor cantidad de glucosa poseerá el fruto o vegetal (Badui, 2006).

Durante la práctica del estudio se consideran los datos de glucosa, Hidroximetilfurfural y furfural de la cáscara del cacao en disolución con agua destilada. El trabajo experimental se basa en una matriz de diseño factorial 2<sup>k</sup> con un valor de k igual a 4 y a su vez con dos puntos centrales.



**Tabla 10. Variables y límites de trabajo**

<b>Variables</b>	<b>Límite mínimo</b>	<b>Límite medio</b>	<b>Límite máximo</b>	<b>Unidad</b>	<b>Fuente</b>
<i>Concentración del inóculo</i>	4	6	8	g/l	(Castano & Hader, 2008)
<i>pH</i>	5	6	7	---	(Castano & Hader, 2008)
<i>Velocidad de agitación</i>	300	450	600	RPMR PM	(Castano & Hader, 2008); (Monsalve & Jhon, 2006)
<i>Concentración de Urea (Oligoelemento)</i>	0	1	2	g/l	Nieto Galarza, Hernán Oswaldo (2010).

Fuente: Elaboración propia

### 3.1.2 Levadura fresca o prensada

La levadura es un componente biológico, que se trata de conjunto de microorganismos, de forma redondeada existiendo de forma natural, viven, se alimentan, y se multiplican (Calaveras, 2004). Esta levadura según el código alimentario español es el producto obtenido por proliferación del *saccharomyces Cerevisiae* de fermentación alta, en medios azucarados como la melaza (Calaveras, 2004). Se aprovecha la levadura fresca del espécimen *S. Cerevisiae* de marca Levapan con fines culinarios especialmente con fines de panadería (Guncay & Silva, 2018).

La levadura de la marca Levapan es de tipo fresca de panadería, es un producto orgánico y biológico, que refrenda una mejor acción en todo tipo de masas que demanden fermentación. Posee un tiempo de vida útil de 30 días en condiciones de refrigeración a temperaturas entre 2°C - 5°C. se puede adquirir en dos presentaciones, Bloque de 500 g empacado en caja corrugada de 50 unidades, y bulto levadura fresca 16 kg (granel) (Levapan, 2018).

Por otra parte, (Ver tabla 10) se especifica los valores mínimos, medios y máximos de concentración de levaduras expresadas en gramos por litro (g/l).



### 3.2 Materiales, equipos y reactivos

En las siguientes tablas se detallan cada uno de los materiales, equipos y reactivos que se utilizaron para la fase experimental.

**Tabla 11.** *Materiales, equipos y reactivos.*

<b>Denominación</b>	<b>Ítem</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Especificación</b>
<i>Laboratorio</i>	Laboratorio de ingeniería sanitaria	1	Facultad de Ingeniería
<i>Equipos</i>	Fermentador/Bioreactor	1	BioFlo/CelliGen 115 Marca Eppendorf
	Balanza Analítica	1	CP2245
<i>Materiales</i>	Refractómetro	1	--
	Balones de aforo	4	2 x 250 ml 2 x 100 ml
	Probeta	2	1 x 1000 ml 1 x 100 ml
	Pipeta	2	1 x 10ml 1 x 5 ml
	Luna de reloj	2	---
	Varilla	2	---
	Espátula	1	---
	Jarras plásticas	2	2 x 2 l
<i>Reactivos</i>	Glucosa	9000 g	Grado analítico
	Hidroximetilfurfural	4000 ml	Valor óptimo de hidrólisis
	HCl	---	0.5N
	NaOH	---	0.5 N, 1N, 2N
	Antiespumante de silicona	60 ml	Comercial
	Agua destilada	---	---



### 3.3 Métodos

La obtención de la glucosa al 15% se obtuvo de la tesis “Cuantificación de azúcares fermentables obtenidos mediante hidrólisis de la cáscara de la vaina de cacao” mediante la cual se prosiguió a realizar el estudio en cuestión.

#### 3.3.1 Diseño factorial $2^k$ con dos puntos centrales

En el libro “Análisis y diseño de experimentos” se explica que el objetivo del diseño factorial es analizar el resultado de diferentes factores sobre una o más respuestas, especialmente cuando ocurre intereses similares sobre diferentes factores, existen diferentes tipos de diseños factoriales entre ellos están diseño factorial  $2^2$ , diseño factorial  $2^3$ , diseño factorial  $2^4$ , diseño factorial  $2^5$ , diseño factorial  $2^k$  con punto al centro, cada clasificación abarca una necesidad diferente al momento de realizar un análisis dependiendo de la cantidad de variables a estudiar (Gutiérrez & Vara, 2008).

Después de haber establecido la cantidad de variables a estudiar se procedió a aplicar un diseño experimental  $2^k$  con dos puntos centrales con el objetivo de obtener las condiciones óptimas de las variables de trabajo durante la fermentación, grados de libertad y la presencia de curvatura en al menos uno de los factores objeto de estudio (Gutiérrez & Vara, 2008). Como ya se ha mencionado anteriormente dichas variables consideradas fueron pH, Inóculo, agitación, y Oligoelemento, cada una con unos valores mínimos, máximos y centrales tal como se detalla en la tabla 10.

Los valores de las variables expresadas en la tabla 10 se basan en diferentes condiciones, se procedió a tomar los valores óptimos y máximos de fermentación de diferentes trabajos de investigación referente a la fermentación.

Una vez establecidos los valores de las variables se procede a realizar el diseño experimental, el cual obtiene 18 experimentos tal como se muestra en la tabla 12.



**Tabla 12.** Matriz de diseño factorial 2k con dos puntos centrales.

Experimento	X1	X2	X3	x4
1	0	0	0	0
2	-1	-1	-1	1
3	-1	1	-1	-1
4	1	1	1	-1
5	0	0	0	0
6	1	-1	1	1
7	1	1	1	1
8	1	1	-1	-1
9	1	1	-1	1
10	-1	-1	1	-1
11	-1	-1	-1	-1
12	-1	-1	1	1
13	1	-1	-1	-1
14	-1	1	-1	1
15	-1	1	1	1
16	1	-1	1	-1
17	-1	1	1	-1
18	1	-1	-1	1

Fuente: (Gutiérrez & Vara, 2008).

Elaboración: Autor propia

Para la creación de la matriz del diseño experimental de este estudio se utilizó el diseño 2k con 4 variables y dos puntos centrales, para los cuales se trabajó con las siguientes variables; pH, agitación, inóculo y oligoelemento, las mismas se detallan a continuación en la tabla 13.



**Tabla 13.** Variables y niveles para el uso del diseño experimental

Variables	Niveles		
	Mínimo (-1)	Central (0)	Máximo (+1)
A: pH	5	6	7
B: Inóculo	4	6	8
C: Velocidad de agitación	300	450	600
D: Oligoelemento	0	1	2

Fuente: Autoría Propia

En cada experimento se determinó el tiempo como variable de salida, para saber cuándo la reacción tomaba fin, nos basamos en la presencia del estado estacionario del grado Brix, es decir cuando finalice el proceso de fermentación alcohólica.

### 3.3.2 Pesado y preparación de reactivos.

- Se pesa 150 g de glucosa por cada litro de agua destilada, considerando un volumen de tres litros se pesará 450 g de glucosa en total.
- Pesar la levadura *saccharomyces cerevisiae* en la cantidad que indique la matriz para el experimento respectivo.
- Se prepara el buffer (NaOH 0,5N, 1N 2N) (HCl 0,5N)
- Se mide 194 ml de Hidroximetilfurfural, se pesa el oligoelemento ( $CH_4N_2O$ ) en la cantidad que indique la matriz para el experimento respectivo.
- Diluimos la glucosa con 2 l de agua
- Diluimos el inóculo, oligoelemento, en dos partes de  $H_2O$  destilada (200ml cada una), con el volumen sobrante (306 ml.) enjuagamos los materiales del laboratorio y añadimos a la solución.

### 3.3.3 Desarrollo del experimento

Encender el equipo, llenar la camisa y configurar los datos de las variables como indique la matriz.

Cargar el reactor con la glucosa diluida en 2 litros de agua destilada, el agua restante se distribuye de la siguiente manera: 194 ml del Hidroximetilfurfural, 200ml para disolver el oligoelemento ( $CH_4N_2O$ ), 200 ml para disolver la levadura *saccharomyces cerevisiae* (se agrega esta solución al reactor cuando el mismo haya alcanzado una temperatura

de 32°C), Agregar el hidroximetilfurfural, el oligoelemento en caso de que lo indique la matriz. El volumen restante se utiliza para retirar el excedente de los materiales, obteniendo un volumen total de 3 litros en el bioreactor.

Se procede a encender el termostato hasta alcanzar los 32°C, al llegar a esta temperatura se habilita los sensores de medición y la agitación según indique los datos de las variables establecidos en la matriz, cerrar el equipo tomando en cuenta de que no existan fugas.

Empezamos a recolectar los datos una hora después de haber iniciado el proceso fermentativo con la ayuda de un biol conectado directamente al equipo. Los datos a recolectar serán tomados por medición directa en el refractómetro, registrando la cantidad de soluto y el Índice de refracción y el tiempo de reacción, hasta alcanzar un valor constante.

Los datos se procederán a registrar durante el día, cada hora hasta completar la fermentación y se presente el estado estacionario (Alum, 2017).

### 3.3.4 Fermentación Discontinua de etanol

*Ilustración 11. Bioreactor BioFlo/CelliGen 115*



Fuente: Autoría propia

El proceso se dio lugar en un bioreactor de tanque agitado discontinuo con mezcla homogénea, la capacidad del bioreactor BioFlo/CelliGen 115 con capacidad de 5 litros Para mantener constante el pH en cada experimento se trabajó con solución de NaOH 1N Y HCl 0,5 N.



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

De acuerdo al diseño experimental  $2^k$  con dos puntos centrales se obtuvo un total de 18 experimentos, donde el rango de trabajo para la obtención de la fase estacionaria de cada experimento es de 3 a 4 días con un Brix inicial de 15 °. Una vez obtenidos todos los datos experimentales se procedió a realizar el análisis estadístico cuantitativo para la determinación del tiempo óptimo y las variables más influyentes en el proceso de fermentación.

Se procedió a utilizar el programa STHATGRAPHICS Centurion 16.1 con la finalidad de hacer un cribado, y encontrar las variables óptimas para ya mencionada fermentación. Se trabajó con datos experimentales con un orden de efecto cuadrático y a su vez se eliminaron algunas variables hasta obtener la interacción de las variables más influyentes. Posteriormente en el mismo programa STHATGRAPHICS Centurion 16.1 se realizó un análisis con estimación sigma con datos externos el cual se centra en la no manipulación de variables, en este tipo de estudio todas las variables son relevantes e influyentes.

Adicionalmente se procedió a graficar curvas y se determinó el mejor tipo de regresión con el que se ajustaba, (regresión lineal, polinómica, exponencial, logarítmica o potencial) se puede observar el comportamiento de la curva para cada experimento, las cuales cuentan con respectiva regresión y ecuación.

Las gráficas realizadas fueron las siguientes; Brix vs tiempo de fermentación e Índice de refracción vs tiempo de fermentación.

### 4.1 Optimización del proceso fermentativo de la cascara de Theobroma Cacao L

51

El proceso de fermentación alcohólica tuvo la presencia de 4 variables en estudio representados de la siguiente manera: pH (A), Concentración de inóculo (B), Velocidad de agitación (C), Concentración de Oligoelemento (D), tal como se muestra en la tabla 11, se procedieron a tomar en cuenta estas variables puesto que estas son las más influyentes en el proceso de fermentación alcohólica.



#### 4.1.1 Matriz de diseño experimental

En la tabla 14 se detalla cada uno de los experimentos con sus respectivas variables de trabajo y el tiempo final de fermentación, concentración de solutos finales de cada ensayo.

**Tabla 14.** *Tiempos de fermentación obtenidos en cada experimento*

<b>Experimento</b>	<b>Variables</b>				<b>Tiempo h</b>	<b>Brix final</b>
	pH	Inóculo (g/l)	RPM	Oligoelemento (g/l)		
1	6	6	450	1	69	4
2	5	4	300	2	94	4
3	5	8	300	0	48	4
4	7	8	600	0	52	4
5	6	6	450	1	70	4
6	7	4	600	2	72	9,1
7	7	8	600	2	31	13,8
8	7	8	300	0	72	4,8
9	7	8	300	2	52	7,2
10	5	4	600	0	91	4
11	5	4	300	0	92	4
12	5	4	600	2	76	4
13	7	4	300	0	94	4
14	5	8	300	2	49	4
15	5	8	600	0	47	4
16	7	4	600	0	74	6
17	5	8	600	2	72	9
18	7	4	300	2	37	8,8

Fuente y elaboración: Autoría propia

Como se pudo observar cada experimento tuvo un desenlace y un tiempo de fermentación diferente, así mismo algunos experimentos terminaron su fermentación antes de los 4°Brix, esto se debe a diferentes causas, la primera es el consumo total de los azúcares presentes por parte de la levaduras dando como finalizada la metabolización existente en la fermentación, otra causa observada fue la



desnaturalización de proteínas presentes en las levaduras por la aparición de precipitado tal como paso en el experimento 7.

El propósito de la optimización de fermentación no es solo encontrar el tiempo más eficiente, si no obtener un tiempo de fermentación donde sus variables sean ideales en función de cantidad y velocidad.

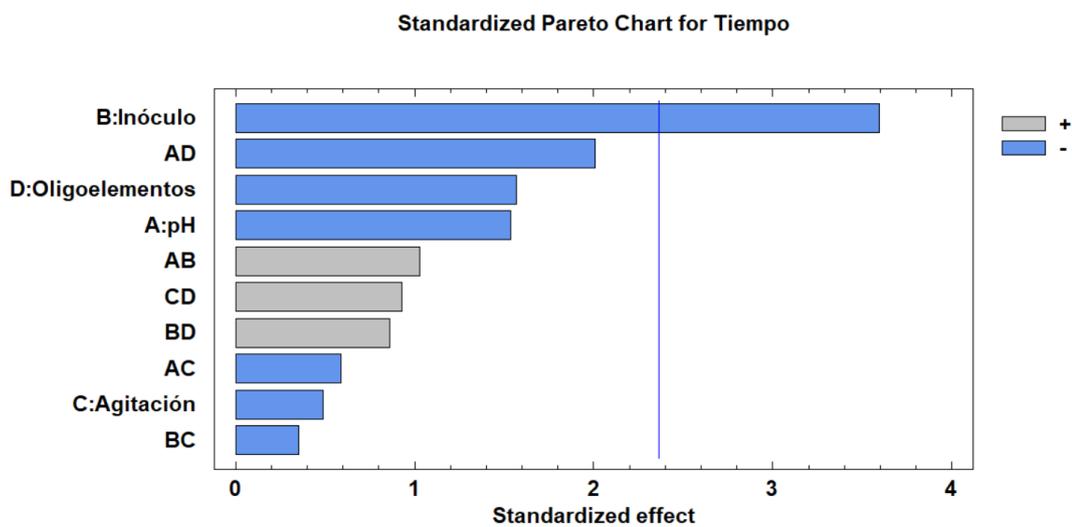
#### 4.1.2 Análisis en el programa STATGRAPHICS Centurion 16.1.

En el programa se realizó tres análisis, para poder encontrar un buen  $R^2$ , grados de libertad e interacciones influyentes en las variables. Se trabajó con estimación sigma con datos experimentales y datos externos.

##### 4.1.2.1 Análisis del Diagrama de Pareto con estimación sigma y datos experimentales

Según el diagrama de Pareto se obtuvieron efectos menores al efecto crítico, exceptuando al Inóculo (B) cuyo efecto en el diagrama de Pareto es negativa. Se puede observar que las variables independientes Oligoelemento (D), pH (A), agitación (C) tiene un efecto negativo sobre el diagrama de Pareto y las variables combinadas como AB, CD Y BD tienen un efecto positivo por otro lado las variables combinadas BC, AC presenta un efecto negativo sobre el análisis.

**Ilustración 12.** Diagrama de Pareto



Fuente: Autoría propia

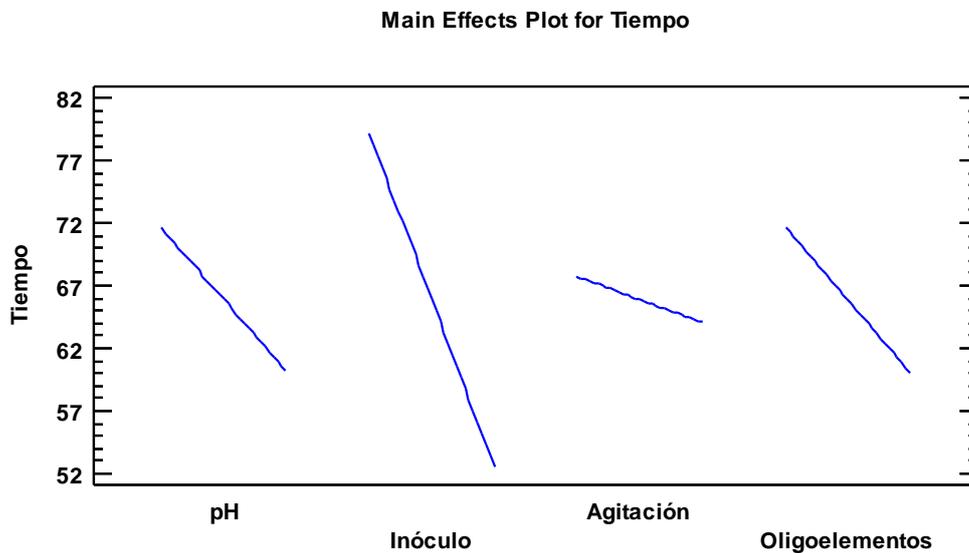


En la ilustración 12 de Pareto de los 3 puntos de análisis planteados en STATGRAPHICS Centurion 16.1 se puede observar que la variable más influyente es el inoculo, por ende, la única que estará por debajo del 0.05% siendo esta variable la única significativa del proceso de fermentación.

#### 4.1.2.2 Grafica de los efectos principales por el tiempo

En la ilustración 13 se observa el comportamiento de cada variable en función de su cantidad y tiempo final de fermentación.

*Ilustración 13. Comportamiento de las variables principales por el tiempo con 4 variables*



Fuente y elaboración: Autoría propia

#### 4.1.2.3 Análisis de varianza para el tiempo considerando las variables independientes y combinadas.

Según la tabla 15 los valores de P se encuentran por encima del 0,05% que hace referencia al nivel de significancia de la prueba, teniendo como resultado efectos e interacciones no significativas. Lo que indica que todas las variables independientes y combinadas tienen un nivel de confianza del 95,0%, excepto el inoculo cuyo valor de P es 0,0088.



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**



**Tabla 15.** Varianza de variables independientes y combinadas con respecto al tiempo

Fuente	Grados de libertad	Valor p
<b>A: pH</b>	1	0,168
<b>B: Inóculo</b>	1	0,008
<b>C: Agitación</b>	1	0,639
<b>D: Oligoelementos</b>	1	0,160
<b>AB</b>	1	0,337
<b>AC</b>	1	0,573
<b>AD</b>	1	0,084
<b>BC</b>	1	0,733
<b>BD</b>	1	0,418
<b>CD</b>	1	0,384
<b>Error total</b>	7	
<b>Total</b>	17	

Fuente y elaboración: Autoría propia

La tabla 16 muestra los valores de los efectos del proceso de fermentación, razón por la cual R cuadrado es de 78,250% de la variabilidad en el tiempo, el estadístico R cuadrado (grados de libertad), que es más adecuado para comparar modelos con diferentes números de variables independientes, tiene un valor de 47,180%. El error estándar de la estimación muestra que la desviación estándar de los residuos es de 14,804. El error absoluto medio (MAE) de 7,262 es el valor promedio de los residuos. La estadística de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si existe alguna correlación significativa en función del orden en que ocurren en su archivo de datos. Como el valor P es superior al 5,0%, no hay indicación de auto correlación en serie en los residuos al nivel de significancia.



**Tabla 16.** Resultados obtenidos en el análisis

Efectos	Valor
R cuadrado	78,250 %
R cuadrado (ajustado para d.f.) grados de libertad	47,180 %
Error estándar de est.	14,804
Error absoluto medio	7,262
Estadística de Durbin-Watson	2,9216 (P = 0,9826)

Fuente y elaboración: Autoría propia

#### 4.1.2.4 Coeficientes de regresión en el tiempo

Esta tabla contiene la estimación de cada variable individual y combinada para la ecuación 3.

**Tabla 17.** Coeficientes para la ecuación del modelo ajustado

Coeficiente	Estimación
Constante	143,889
A: Ph	-3,125
B: Inóculo	-17,719
C: Agitación	0,0788
D: Oligoelementos	18,938
AB	1,906
AC	-0,01458
AD	-7,438
BC	-0,0044
BD	1,594
CD	0,0230

Fuente y elaboración: Autoría propia



#### 4.1.2.4.1 Ecuación del modelo ajustado

**Ecuación 2.** Ecuación del modelo ajustado estimación sigma y datos experimentales

$$\begin{aligned} \text{Tiempo} = & 143,889 - 3,125 * A - 17,7188 * B + 0,07875 * C + 18,9375 * D + 1,90625 * AB - 0,0145833 * AC - 7,4375 * AD - 0,004375 * BC + \\ & 1,59375 * BD + 0,0229167 * CD \end{aligned} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

A: pH

B: Inóculo

C: Agitación

D: Oligoelemento

Respuesta Óptima

Mediante la Ecuación 4 se obtuvo el valor de fermentación óptimo de 92,26h

**Tabla 18.** Valores óptimos de las variables

Factor	Óptimo
pH	7,0
Inóculo	4,0
Agitación	300
Oligoelementos	0

Fuente y elaboración: Autoría propia

En la tabla 18 los valores óptimos de las variables hacen referencia al experimento 13 en función del tiempo de la ecuación A con sus respectivos valores para cada una de las variables pH, Inóculo, Agitación y Oligoelemento.

#### 4.1.3 Optimización en el programa STATGRAPHICS Centurion 16.1.

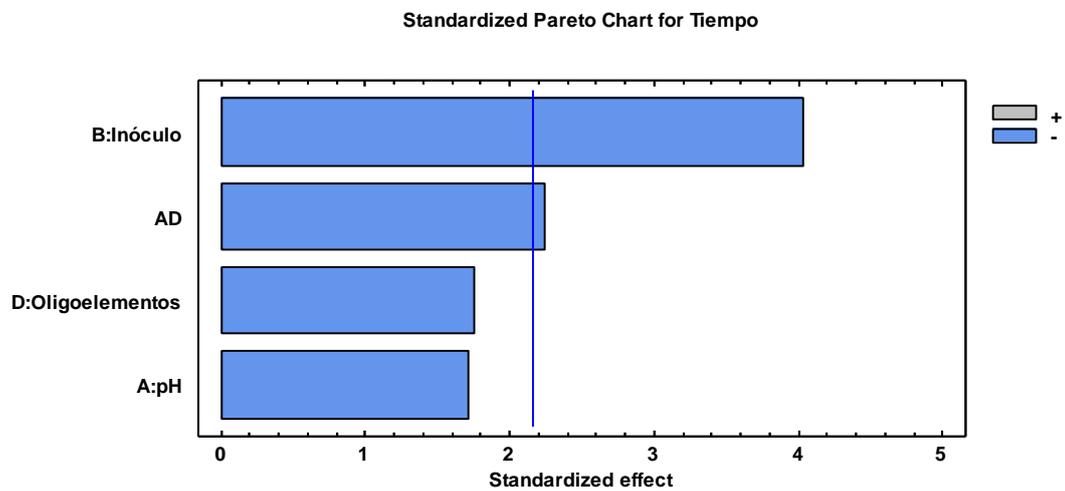
El siguiente análisis muestra la optimización del proceso fermentativo trabajando con estimación sigma y datos experimentales y a su vez la exclusión de variables no influyentes en el proceso.



#### 4.1.3.1 Análisis del diagrama de Pareto con estimación sigma y datos experimentales

Al realizar este análisis se procedió a eliminar las variables no significativas del proceso de fermentación, quedándonos graficadas las variables individuales B(inóculo), D (Oligoelemento), A(pH) y la variable combinada AD (pH-oligoelemento) tal y como se muestra en la ilustración 14.

*Ilustración 14. Diagrama de Pareto sin tres variables combinadas*



Fuente y elaboración: Autoría propia

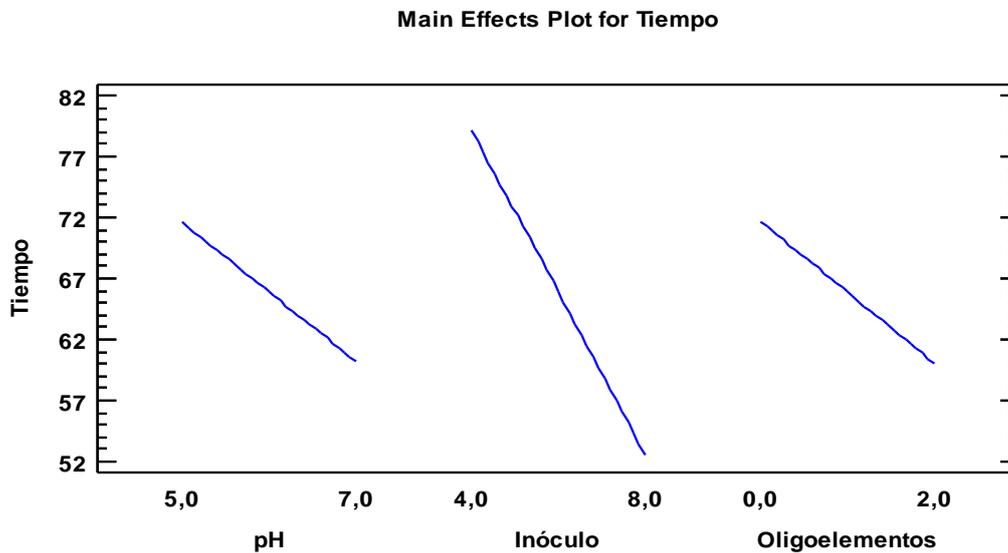
En la ilustración 14 se puede observar una reducción de variables individuales y combinadas quedándonos solo las variables más influyentes, así mismo las que se encuentran sobre el efecto crítico. Además, el efecto negativo que muestran las variables en el diagrama.

#### 4.1.3.2 Grafica de los efectos principales por el tiempo

En la ilustración 15 se observa el comportamiento de las variables influyentes en el proceso de fermentación, donde el pH, Inóculo y oligoelemento tiene un gran efecto con el tiempo y su concentración. Adicional nos muestra que su efecto es mejor mientras se trabaje con concentraciones bajas adquiriendo un mayor tiempo de fermentación, pero con un consumo final de levaduras de 4°Brix.



*Ilustración 15. Comportamiento de las variables principales por el tiempo*



Fuente y elaboración: Autoría propia

#### **4.1.3.3 Análisis de varianza para el tiempo con la ausencia de algunas variables combinadas**

La tabla 19 muestra los grados de libertad de cada variable individual y combinadas. A su vez el valor de p hace referencia a las interacciones significativas y no significativas que ocurre en el proceso. Se obtuvo valores por debajo del 0,05% siendo significativas en cuanto a la variable individual Inoculo(B) con un valor de 0,001 % y variable combinada pH-oligoelemento(AD) con un valor de 0,043 %, finalmente las variables individuales pH(A) y oligoelemento (D) que no presentan efectos o interacciones significativas representadas en el 95% del valor de p.



**Tabla 19.** Varianza de variables independientes y combinadas con respecto al tiempo

Fuente	Grados de libertad	Valor p
<b>A: pH</b>	1	0,121
<b>B: Inóculo</b>	1	0,001
<b>D: Oligoelementos</b>	1	0,102
<b>AD</b>	1	0,043
<b>Error total</b>	13	
<b>Total</b>	17	

Fuente y elaboración: Autoría propia

La tabla 20 muestra los valores de los efectos después de haber eliminado tres variables combinadas, razón por la cual R cuadrado es de 74,470% de la variabilidad en el tiempo, siendo menor al obtenido en la tabla 16. El estadístico R cuadrado (grados de libertad), que es más adecuado para comparar modelos con diferentes números de variables independientes, tiene un valor de 56,599%. El error estándar de la estimación muestra que la desviación estándar de los residuos es de 13,420. El error absoluto medio (MAE) de 8,300 es el valor promedio de los residuos. La estadística de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si existe alguna correlación significativa en función del orden en que ocurren en su archivo de datos. Como el valor P es superior al 5,0%, no hay indicación de auto correlación en serie en los residuos al nivel de significancia.

**Tabla 20.** Resultados obtenidos en el análisis

Efectos	Valor
<b>R cuadrado</b>	67,747%
<b>R cuadrado (ajustado para d.f.) grados de libertad</b>	57,824 %
<b>Error estándar de est.</b>	13,230
<b>Error absoluto medio</b>	10,280
<b>Estadística de Durbin-Watson</b>	2,904 (P = 0,981)

Fuente y elaboración: Autoría propia



#### 4.1.3.4 Coeficientes de regresión para el tiempo

La tabla 21 muestra la estimación para cada variable para la ecuación 4 del proceso de optimización con análisis de datos experimentales.

**Tabla 21.** Resultados obtenidos en el análisis

Coeficiente	Estimación
Constante	101,139
A: pH	1,75
B: Inóculo	-6,656
D: Oligoelementos	38,813
AD	-7,438

Fuente y elaboración: Autoría propia

##### 4.1.3.4.1 Ecuación del modelo ajustado

*Ecuación 3. Ecuación del modelo ajustado óptimo estimación sigma y datos experimentales*

$$\text{Tiempo} = 101,139 + 1,75 * A - 6,65625 * B + 38,8125 * D - 7,4375 * AD \quad \text{Ecuación 3}$$

Respuesta Óptima

Mediante la Ecuación 4 se obtuvo el valor de fermentación óptimo de 86,764h

**Tabla 22.** Valores óptimos de las variables

Factor	Óptimo
pH	7,0
Inóculo	4,0
Agitación	300
Oligoelementos	0

Fuente y elaboración: Autoría propia

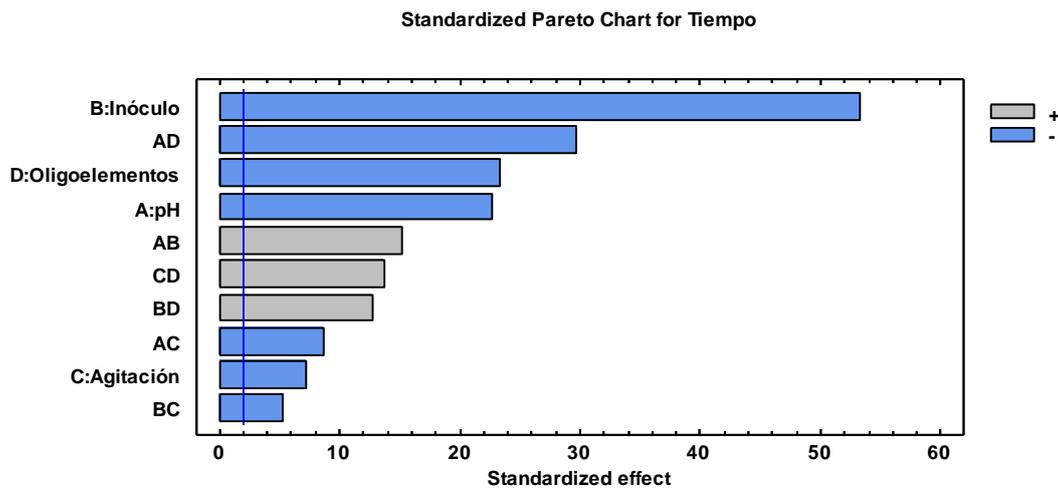
La tabla 22 los valores óptimos de las variables hacen referencia al experimento número 13, con la presencia de las siguientes variables pH, Inoculo, Agitación y Oligoelemento.



#### 4.1.3.5 Análisis del Diagrama de Pareto con estimación sigma y datos externos

Este análisis tiene como objetivo transformar a las variables del proceso fermentativo en variables no manipulables y analizar su comportamiento,  $R^2$  y grados de libertad.

*Ilustración 16. Diagrama de Pareto con datos externos*



Fuente y elaboración: Autoría propia

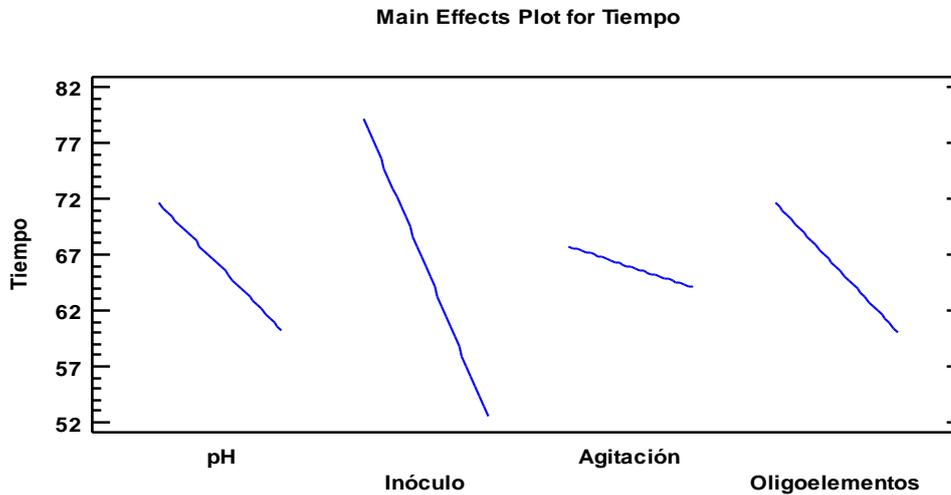
La ilustración 16 muestra el comportamiento de las variables trabajando en el diagrama de Pareto con estimación de sigma y datos externos, lo cuales no permiten su manipulación directa y a su vez analiza las variables individuales y combinadas haciendo que todas sean influyentes y se ubiquen por encima del punto crítico, haciendo parte del 0,05% que hace referencia a las interacciones significativas del diagrama de Pareto.

#### 4.1.3.6 Grafica de los efectos principales por el tiempo

La ilustración 17 muestra la dirección de la pendiente y concentración en función del tiempo de fermentación de cada variable.



*Ilustración 17. Comportamiento de las variables principales por el tiempo con datos externos*



Fuente y elaboración: Autoría propia

#### **4.1.3.7 Análisis de varianza para el tiempo con las variables independientes y combinadas.**

La tabla 23 muestra los grados de libertad para cada variable y el valor p, como se precedió a trabajar con estimación sigma con datos externos, el programa toma todas las variables como significativas dentro de la fermentación, esto permite analizar su comportamiento, el  $R^2$ , grados de libertad y demás especificaciones que influyen en el desenlace del proceso de fermentación.



**Tabla 23.** Varianza de variables independientes y combinadas con respecto al tiempo

Fuente	Grados de libertad	Valor p
<b>A: pH</b>	1	0
<b>B: Inóculo</b>	1	0
<b>C: Agitación</b>	1	0
<b>D: Oligoelementos</b>	1	0
<b>AB</b>	1	0
<b>AC</b>	1	0
<b>AD</b>	1	0
<b>BC</b>	1	0
<b>BD</b>	1	0
<b>CD</b>	1	0
<b>Error total</b>	7	
<b>Total</b>	17	

Fuente y elaboración: Autoría propia

**Tabla 24.** Resultados obtenidos en el análisis

Efectos	Valor
<b>R cuadrado</b>	78,250 %
<b>R cuadrado (ajustado para d.f.) grados de libertad</b>	47,180 %
<b>Error estándar de est.</b>	14,804
<b>Error absoluto medio</b>	7,262
<b>Estadística de Durbin-Watson</b>	2,9216 (P = 0,9826)

Fuente y elaboración: Autoría propia

La tabla 24 muestra los mismos valores de efectos en el proceso fermentativo detallando los siguientes; El R cuadrado con un valor de 78,250% lo que indica la confiabilidad de la variabilidad en el Tiempo. R cuadrado (grados de libertad) con 47,180% La estadística de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si existe alguna correlación significativa en función del orden en el que acontecen, y como única diferencia es la



influencia del valor P, los cuales todos sus valores indican estar dentro del 0,05%, haciendo referencia a la significancia de las variables en el proceso ya mencionado. Así mismo en las tabla 16 y 24 se obtuvieron valores de error altos, el error estándar de la estimación muestra que la desviación estándar de los residuos nos da un valor de 14,804 mientras que el error absoluto medio (MAE) es de 7,262 el cual hace referencia al promedio de los residuos, esto se debe a que la variable de salida (tiempo) de cada experimento no se encontraban cercanos entre ellas por tal motivo el valor de error es alto.

#### 4.1.3.8 Coeficientes de regresión en el tiempo

**Tabla 25.** Coeficientes para la ecuación del modelo ajustado

Coeficiente	Estimación
Constante	143,889
A: pH	-3,125
B: Inóculo	-17,719
C: Agitación	0,0788
D: Oligoelementos	18,938
AB	1,906
AC	-0,01458
AD	-7,438
BC	-0,0044
BD	1,594
CD	0,0230

Fuente y elaboración: Autoría propia

##### 4.1.3.8.1 Ecuación del modelo ajustado

Esta ecuación toma a todas las variables individuales y combinadas como influyentes dentro de la fermentación, ya se procedió a trabajar con estimación sigma y datos externos.



**Ecuación 4.** Ecuación del modelo ajustado estimación sigma y datos externos

$$\begin{aligned} \text{Tiempo} = & 143,889 - 3,125 * A - 17,7188 * B + 0,07875 * C + 18,9375 * D \\ & + 1,90625 * AB - 0,0145833 * AC - 7,4375 * AD - 0,004375 * BC + \\ & 1,59375 * BD + 0,0229167 * CD \end{aligned} \quad \text{Ecuación 4}$$

Respuesta Óptima

Mediante la Ecuación 4 se obtuvo el valor de fermentación óptimo de 92,26h

**Tabla 26.** Valores óptimos de las variables

Factor	Óptimo
pH	7,0
Inóculo	4,0
Agitación	300
Oligoelementos	0

Fuente y elaboración: Autoría propia

La tabla 26 muestra los valores óptimos de las variables hacen referencia al experimento 13 en función del tiempo de la ecuación 5 con sus respectivos valores para cada una de las variables pH, Inóculo, agitación y oligoelemento.

#### 4.1.4 Análisis de Graficas del tiempo de Fermentación de Excel utilizando regresiones matemáticas

Se procedió a construir curvas: °Brix vs tiempo e índice de refracción vs tiempo. Se realiza el ajuste para cada gráfica, basándonos en regresiones, obteniendo ecuaciones cuyo R<sup>2</sup> sea próximo a 1. Se realiza una comparación entre experimentos para evaluar los tiempos de fermentación de la reacción y los tipos de Regresión matemática que existen en las gráficas Brix vs tiempo e índice de refracción vs tiempo.



4.1.4.1 Regresión Grados Brix vs tiempo

Tabla 27. Regresión matemática de las gráficas Brix vs Tiempo

Regresión de graficas Grados Brix vs tiempo

Experimento	R <sup>2</sup>	Tipo de regresión	Modelo de Ecuación
<b>Regresión Polinómica</b>			
1	0,989	Regresión Polinómica	$y=0,0005x^2-0,1909x+14,462$
3	0,993	Regresión Polinómica	$y=0,0027x^2-0,3511x+14,723$
4	0,990	Regresión Polinómica	$y=0,0036x^2-0,3915x+14,642$
5	0,986	Regresión Polinómica	$y=0,0004x^2-0,1693x+13,948$
8	0,990	Regresión Polinómica	$y=0,0018x^2-0,2669x+14,359$
12	0,957	Regresión Polinómica	$y=0,0003x^2-0,1414x+13,095$
14	0,991	Regresión Polinómica	$y=0,0038x^2 - 0,4142x + 15,316$
<b>Media</b>	0,985		
<b>Regresión Exponencial</b>			
2	0,984	Regresión Exponencial	$y=14,157 e^{-0,014x}$
10	0,981	Regresión Exponencial	$y=14,171e^{-0,014x}$
11	0,991	Regresión Exponencial	$y=13,874e^{-0,013x}$
13	0,986	Regresión Exponencial	$y= 13,85e^{-0,013x}$
15	0,985	Regresión Exponencial	$y=14,259e^{-0,027x}$
16	0,986	Regresión Exponencial	$y=13,593e^{-0,011x}$
17	0,909	Regresión Exponencial	$y= 13,006e^{-0,005x}$
<b>Media</b>	0,975		
<b>Regresión Logarítmica</b>			
6	0,983	Regresión Logarítmica	$y=-1,323\ln(x)+14,951$
7	0,244	Regresión logarítmica	$y=0,507\ln(x)+14,14$
9	0,989	Regresión logarítmica	$y=1,961\ln(x)+14,771$
18	0,891	Regresión Logarítmica	$y=-1,275\ln(x) + 14,449$
<b>Media</b>	0,777		

Fuente y elaboración: Autoría propia

En la tabla 27 se procedió a calcular la media para cada tipo de regresión, con la finalidad de observar la tendencia y tipo de comportamiento que tienen los experimentos, los cuales hacen referencia a un comportamiento del modo Regresión



## UNIVERSIDAD DE CUENCA

Polinómica con una media de 0,985, ajustándose la curva de fermentación de manera más óptima con este tipo de regresión. Así mismo se obtuvo el  $R^2$  para cada curva junto con su respectiva ecuación. También se logra observar los valores más altos en el  $R^2$  quedando con el  $R^2=0,993$  haciendo referencia a la tendencia de fermentación de la curva del experimento 3. El  $R^2$  más bajo con 0,244, este hace referencia al experimento 7, tal y como se muestra en la ilustración 17, la cual sufre una desnaturalización de la levadura y se torna de color pardo el cual no llega a su fase final de fermentación.

También se procedió a observar el comportamiento, tendencia de las curvas de los experimentos que rebosaron la camisa, consumiendo los reactivos HCl y NaOH de manera rápida.



4.1.4.2 Regresión Índice de refracción versus tiempo

Tabla 28. Regresión matemática de las gráficas Brix vs Tiempo

Regresión de graficas Índice de Refracción vs tiempo

Experimento	R <sup>2</sup>	Tipo de regresión	Modelo de Ecuación
<b>Regresión Polinómica</b>			
1	0,992	Regresión Polinómica	$y=6E-06x^2-0,001x+1,055$
2	0,978	Regresión Polinómica	$y=2E-06x^2-0,0007x+1,0549$
3	0,992	Regresión Polinómica	$y=1E-05x^2-0,0015x+1,06$
4	0,980	Regresión Polinómica	$y=2E-05x^2-0,0016x+1,0593$
5	0,967	Regresión Polinómica	$y=2E-06x^2-0,0007x+1,0562$
8	0,988	Regresión Polinómica	$y=8E-06x^2-0,0012x+1,0587$
10	0,972	Regresión Polinómica	$y=2E-06x^2-0,0006x+1,055$
11	0,978	Regresión Polinómica	$y=3E-06x^2-0,0007x+1,055$
12	0,944	Regresión Polinómica	$y=2E-06x^2-0,0006x+1,0528$
13	0,979	Regresión Polinómica	$y=2E-06x^2-0,0006x+1,0548$
14	0,993	Regresión Polinómica	$y=2E-05x^2-0,0017x+1,0608$
15	0,961	Regresión Polinómica	$y=8E-06x^2-0,0012x+1,0541$
16	0,983	Regresión Polinómica	$y = 2E-06x^2 - 0,0006x + 1,0548$
<b>Media</b>	0,978		
<b>Regresión Potencial</b>			
6	0,981	Regresión Potencial	$y=1,0609 x -0,005$
9	0,986	Regresión Potencial	$y=1,0604 x -0,008$
<b>Media</b>	0,980		
<b>Regresión Logarítmica</b>			
7	0,666	Regresión logarítmica	$y=0,003\ln(x)+1,0577$
17	0,880	Regresión Logarítmica	$y=-0,004\ln(x) + 1,0582$
18	0,859	Regresión Logarítmica	$y=-0,005\ln(x) + 1,0592$
<b>Media</b>	0,802		

Fuente y elaboración: Autoría propia

De igual manera en la tabla 28 para el análisis de las gráficas Índice de refracción versus tiempo se determinó el tipo de regresión y la media del R<sup>2</sup> para cada tipo de regresión, con la finalidad de observar la mayor tendencia del tipo de comportamiento que tienen



los experimentos, ya que en el refractómetro lee grados Brix e índice de refracción los mismos son proporcionales y el comportamiento del uno dependerá del otro (Kruss, 2019). Así mismo se obtuvo que la media mejor ajustada del  $R^2$  fue de del tipo regresión potencial, pero se procedió a declinar este análisis ya que este analiza respecto a dos experimentos y se tomó al tipo de regresión que mayor experimentos tenía, haciendo referencia al tipo regresión polinómica con un  $R^2$  medio de 0,978 y con el  $R^2$  más ajustado para el experimento 14 con un valor de 0,993.

#### 4.2 Discusión

En este estudio los datos obtenidos se analizaron con la herramienta STATGRAPHICS Centurion 16.1 con 3 diseños de análisis de orden con efecto cuadrado, para los dos primeros diseños se escoge la opción de estimación de sigma con datos experimentales, los cuales son manipulables (Gutiérrez & Vara, 2008) en el proceso de fermentación. El primer análisis diseña un tiempo de fermentación de 92,264 horas, a este análisis se realiza una optimización y se procede a eliminar variables no significativas, entre ellas variables individuales y combinadas, quedando como las más influyentes las variables individuales inóculo(B), pH(A), oligoelemento(D) y la variable combinada pH-oligoelemento(AD) tal y como se aprecia en la ilustración 14. Por otro lado la ilustración 15 detalla el efecto de las variables en función del tiempo, (Dennis, 2015) indica en su diagrama de efectos la influencia que tienen las variables en cuanto a su comportamiento con respecto al tiempo de fermentación, ya que con los valores máximos de las variables obtienen tiempos más cortos de fermentación, pero en nuestro caso ocurre que la levadura se consume antes de los 4°Brix, por lo tanto he considerado una fermentación completa a los experimentos con concentraciones de solutos finales de 4°Brix, tal y como lo hace (Martínez, Morales, González, y Mas, 2012), por tanto las variables se comportan con el siguiente valor para pH 7 (Hernández, 2017) considera este pH como operable en la fermentación alcohólica, Inoculo 4g/l , agitación 300 rpm (Quintero,1981) considera para la fermentación de un volumen de tres litros trabajar con un rango de 200-2000rpm, lo cual está dentro del rango y oligoelemento con 0g/l, esto se debe a la baja concentración inicial de azúcares y a la concentración de nitrógeno en la levadura que es del 7,5-8,5% la cual es suficiente para que se dé una metabolización correcta de levaduras (Mas & Beltrán, 2013) y llegue a una concentración final de solutos de 4°Brix, con estos datos obtenidos el cribado obtiene una mejor y corta fermentación



alcohólica, el tiempo óptimo del cribado hace referencia a 86,764 horas que equivale de 3-4 días de fermentación.

Por otro lado también se procedió a tomar en cuenta el experimento 11, ya que este también logra fermentar en un tiempo de 92 horas, con valores de variables más cercanos a los óptimos, teniendo los siguientes valores; pH 5 (Hernández, 2017) considera este pH como el valor óptimo para fermentación alcohólica, Inoculo 4g/l , agitación 300 RPM (Quintero,1981) estima el rango propicio para tres litros de 200-2000 RPM, y oligoelemento con 0g/l. En la tabla 29 se detallan los valores óptimos del análisis de estudio.

**Tabla 29.** Variables Experimento 13 y Experimento 11

<b>Factor</b>	<b>Experimento 13</b>	<b>Experimento 11</b>
<b>pH</b>	7,0	5,0
<b>Inóculo</b>	4,0	4,0
<b>Agitación</b>	300	300
<b>Oligoelementos</b>	0	0

Fuente y elaboración: Autoría propia

Finalmente se procedió a realizar el análisis número 3 con estimación sigma con datos externos los cuales no se pueden controlar directamente, el cual nos sirvió para analizar el comportamiento de las variables individuales y variables combinadas, en donde todas son influyentes y relevantes en el proceso de fermentación. También se obtuvo un tiempo de fermentación de 92,264 horas, así como en el primer análisis en el programa STATGRAPHICS Centurion 16.1.

En cuanto al análisis en la herramienta Microsoft Excel se realizaron todas las tendencias de las curvas y se generaron sus respectivos  $R^2$  para analizar el comportamiento de la curva del tiempo óptimo generado en el programa STATGRAPHICS Centurion 16.1, la cual nos dio un comportamiento cercano a 1, con un  $R^2$  0,986 y tipo de regresión polinómica.



## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

---

### 5.1 Conclusiones

Este estudio logró determinar el número de experimentos en el software propuesto que fue de 18 experimentos y fueron llevados a cabo en el reactor BioFlo/CelliGen115, hasta obtener la lectura de °Brix constante, los cuales involucraron tiempos entre 31 horas a 94 horas de fermentación alcohólica con diferentes valores en cada una de las variables de estudio. Al optimizar el proceso de fermentación de las cáscaras de cacao en el programa software estadístico Statgraphics Centurion 16.1 se logró determinar las condiciones óptimas de operación y sus interacciones en cuanto a pH, inóculo, agitación y oligoelemento. El resultado óptimo utilizando el STATGRAPHICS Centurion 16.1 corresponde al tipo de análisis con estimación sigma con datos experimentales, dándonos un tiempo de 86,764 horas con las variables de trabajo pH 7, inóculo 4g/l, agitación 300 RPM y oligoelemento 0g/l, las mismas que corresponden al experimento 13, Así mismo también se considera al experimento 11 como operable, este obtuvo un tiempo de 92 horas y las variables de trabajo pH 5, inóculo 4g/l, agitación 300 RPM y oligoelemento 0g/l.

### 5.2 Recomendaciones

Para obtener tiempos más eficientes de fermentación se recomienda trabajar con dos turnos de medición, ya que estos se toman cada hora y la fermentación se da entre dos a cuatro días, por tanto, se considera que una vez conocido el comportamiento de esta materia prima de estudio se puede optimizar el tiempo de operación.

Por otro lado, se recomienda trabajar con ausencia de oligoelemento, por la concentración inicial de azúcares reductores, ya que el exceso conduce a una mortalidad elevada de levadura a causa de la aceleración de la cinética fermentativa, dando lugar un aumento de temperatura.



## 6. BIBLIOGRAFÍA

---

- Abril, A., & Navarro, E. (2012). *Etanol a partir de biomasa lignocelulósica*. Aleta Ediciones.
- Alum, O. L. (2017). Optimization of the Fermentation Conditions for the Production of Bioethanol from cane sugar molasses using *Saccharomyces cerevisiae*. *ResearchGate* , 48-56.
- Alvarez, C. ( 2018). *Producción de Etanol como Biocombustible a partir de residuos vegetales no alimenticios*. Mexico: Univerisdad Autónoma de México .
- Álvarez, C. (2009). *Biocombustibles*. México: UNAM.
- Anecacao. (2015). *Asociacion Nacional de Exportadores de Cacao Ecuador*. Obtenido de Asociacion Nacional de Exportadores de Cacao Ecuador:  
<http://www.anecacao.com/index.php/es/quienes-somos/cacao-nacional.html>
- Arevalo, S. (1998). *Optimización de la producción del agente de biocontrol Candida sake* . Lleida: Universidad de Lleida.
- Badía, C. F.-B. (2005). *Energetica del Hidrógeno*. Sevilla: Departamento de Energía y Mecánica de Fluidos.
- Badui, S. (2006). Química de los alimentos. En S. Badui, *Química de los alimentos* (págs. 31-34). Mexico: Pearson Educación.
- Basu, P. (2010). *Biomass Gasification and Pyrolysis; Practical Desing and Theory*. Oxford: Elsevier.
- Calaveras, J. (2004). Nuevo tratado de panificación y bollería. En J. Calaveras, *Nuevo tratado de panificación y bollería* (pág. 121). Madrid: AMV EDICIONES; MUNDI PRENSA.
- Callejas, E. S., & Quezada, V. G. (2009). Los biocombustibles. *Red de Revistas Científicas de America Latina y el Caribe, España y Portugal*, 76-82.
- Canarias, I. T. (2008). *Energías Renovables y Eficiencia Energetica*. Canarias: Copyright.
- Canarias, I. T. (2008). *Energías Renovables y Eficiencia Energética* . Canarias: Instituto tecnológico de Canarias, SA.



- Carrascosa, A., Muñoz, R., & González, R. (2005). *Microbiología del Vino*. Madrid: AMV Ediciones.
- Castano, P., & Hader, I. (2008). Producción de etanol a partir de almidón de yuca utilizando la estrategia de proceso sacarificación- fermentación simultáneas (SSF). *SciELO*, 251-258.
- Castillo, F., & Ramírez Hernández, M. (2010). Reaprovechamiento integral de residuos agroindustriales: Cascara y Pulpa de Cacaco para la producción de Pectinas. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias*, 22.
- Castro, J. C. (2016). *El Modelo de Gompertz y su aplicación en Seguridad Alimentaria*. Valladolid : Universidad de Valladolid .
- CFN, C. F. (2018). *Ficha Sectorial Cacao y Chocolate*. Quito: CFN.
- Chocolate, A. A. (23 de Octubre de 2013). *Amano Artisan Chocolate*. Obtenido de Amano Artisan Chocolate: <http://www.amanochocolate.com/blog/theobroma-cacao-the-tree-of-life-climate/>
- da Silva, V. (2010). *Aprovechamiento de residuos lignocelulosicos para la produccion de biocombustibles y bioproductos*. Valladolid: Universidad de Valladolid.
- Damien, A. (2010). *La Biomasa Fundamentos, Teconologias y Aplicaciones*. Madrid: AMV ediciones.
- Dennis, E. (2015). *Obtención de bioetanol a partir de inulina proveniente de biomasa vegetal mediante sacarificación y fermentación*. Quito: Universidad central del Ecuador .
- Dufey, A. (2006). *Producción y Comercio de Biocombustibles y Desarrollo Sustentable: Los Grandes Temas*. Londres: Instituto Internacional para el Medio Ambiente y Desarrollo.
- Fernández, J. (2004). Energia Renovables para todos: Biomasa . *Energias Renovables*, 12-13.
- Fernando Ramos, María Díaz, & Marcelo Villar. (2016). Biocombustibles. *Universidad Ncional del Sur-Conicet*, 73.
- Forsythe, S., & Hayes, P. (2007). Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP. En S. Forsythe, & P. Hayes, *Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP* (págs. 12-13). Zaragoza: Acribia, S.A.



- Ganadería, M. d. (Diciembre de 2018). *Información Macroeconómica Agropecuaria*.  
Obtenido de Panorama Agroestadístico:  
[http://sipa.agricultura.gob.ec/descargas/panorama\\_estadistico/panorama\\_estadistico.pdf](http://sipa.agricultura.gob.ec/descargas/panorama_estadistico/panorama_estadistico.pdf)
- García, J. I., & Martínez, M. J. (2014). Biomasa y Biotecnología . *Semaforo*, 45-47.
- González, Á. (2000). *Nitrógeno fácilmente aprovechable para la S*. Santiago: Pontificia Universidad Católica de Chile .
- González, J. (2009). *Energías Renovables*. Barcelona: Reverté.
- Guillermo, J., & Macías, A. (2014). *Optimización del proceso de fermentación en la fabricación en la fabricación de tequila en la empresa "trancahuaico" Oña provincia del Azuay* . Cuenca : Universidad de Cuenca.
- Guncay, J., & Silva, M. (2018). *Optimización del crecimiento de Biomasa en procesos fermentativos del mucilago de cacao CCN-51 aplicando la ecuación logística integrada y el modelo de Andrew y Levenspie, bajo diferentes condiciones de operación*. Cuenca: Universidad de Cuenca.
- Guo, M., Song, W., & Buhain, J. (2015). Bioenergy and biofuels: History, status, and perspective vol 42. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 712-725.
- Gutiérrez, H., & Vara, R. d. (2008). *Análisis y diseño de experimentos*. Guanajuato: McGraw Hill Interamericana .
- Hansen, A. (1959). Microbiología de las fermentaciones industriales. En A. Hansen, *Microbiología de las fermentaciones industriales* (págs. 279-280). Zaragoza: ACRIBIA.
- Hernández, C. (2017). *Obtención de bioetanol a partir de hidrolizados de residuos de fruta*. Oviedo: Universidad de Oviedo .
- INEN. (2013). *NTE INEN 1489:2012 Séptima revisión*. Quito: INEN.
- Kruss, A. (2019). *Refractómetro – Medición Brix en la industria de bebidas y zumos*. Hamburgo: Kruess.
- Kylen, M., Dyne, D. L., Choi, Y.-S., & Blase, M. (2000). Economic feasibility of producing ethanol from lignocellulosic feedstocks. *Bioresource Technology* , 19-32.



- Levapan. (2018). *Levapan*. Obtenido de Levapan: <http://www.levapan.com.ec/portfolio-item/levadura-fresca-levapan/>
- Lirota, E. S. (2016). *Industria del Cacao*. Guayaquil: UGA Diseño y Publicidad ESPOL.
- Loncin, M. (1965). Técnica de la ingeniería alimentaria . En M. Loncin, *Técnica de la ingeniería alimentaria* (pág. 332). Madrid: DOSSAT, S.A.
- Madrid, A. (2012). La biomasa y sus aplicaciones energéticas. En A. Madrid, *La biomasa y sus aplicaciones* (págs. 64-67). Madrid: AMV Ediciones.
- Maldonado, J. (2018). *Cuantificación de azúcares fermentables obtenidos mediante hidrólisis de la cáscara de la vaina de cacao*. Cuenca: Universidad de Cuenca.
- Mas, A., & Beltrán, G. (2013). Metabolismo nitrogenado de *Saccharomyces cerevisiae* durante la fermentación vínica. *Acenología*.
- Mejía, L., & Argüello, O. (2000). *Tecnología para el Mejoramiento del Sistema de Producción de Cacao*. Bucaramanga: Corpoica.
- Miguel, J. (01 de Agosto de 2017). *EspacioCiencia.com*. Obtenido de EspacioCiencia.com: <https://espaciociencia.com/los-organismos-fotosinteticos/>
- Monsalve, G., & Jhon, F. (2006). Producción de etanol a partir de la cáscara de banano y de almidón de yuca. *SciELO*, 21-27.
- Morata, A. (2010). Nuevas tecnologías de conservación de alimentos . En A. Morata, *Nuevas tecnologías de conservación de alimentos* (págs. 255-256). Madrid: Service Point, S.A.
- Ogata, N. (2007). El Cacao. *Biodiversitas*, 5.
- Ortiz, K. (2013). *Efecto del Vertimiento de Subproductos del Beneficio de Cacao sobre algunas Propiedades Químicas y Biológicas en el Suelo de una Finca Cacaotera, Municipio de Yaguará (Huila)* . Manizales : Universidad de Manizales.
- Pachano, A. M. (04 de Agosto de 2017). *Corporación para la investigación energética*. Obtenido de <http://energia.org.ec/cie/el-desarrollo-de-la-energia-renovable-en-el-ecuador/>
- Patiño, P. (2014). Biomasa Residual Vegetal: Tecnologías de transformación y estado actual. . *Innovaciencia*, 52.

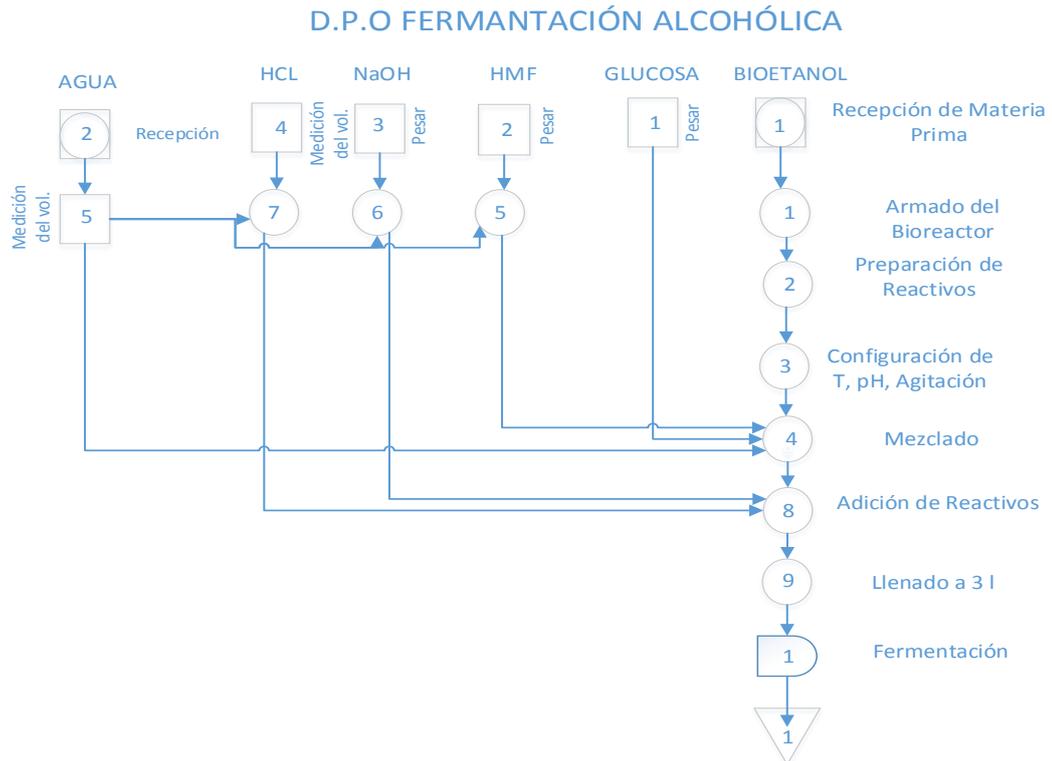


- Peláez, M., & Espinoza, J. (2015). Energías Renovables en el Ecuador . En M. Peláez, & J. Espinoza, *Energías Renovables en el Ecuador* (págs. 34-35). Cuenca: Universidad de Cuenca.
- Petrenko, O. (2005 ). *Estudio de algunas características de las cepas de levaduras y de su rendimiento celular utilizando un medio de cultivo a base de suero lácteo*. Buenos Aires : Universidad de Belgrano.
- Petroleum, B. (2018). *Informe Estadístico Mundial de Energía de BP*. Mexico: BP.
- Piñeros, Y. (2014). *Aprovechamiento de biomasa lignocelulósica, algunas experiencias de investigación en Colombia*. Bogota: UTadeo.
- Querol, A. (2003). Molecular evolution in yeast of biotechnological interest. *Publmed*, 201-205.
- Ramos, F. D., Díaz, M. S., & Villar, M. A. (2016). Biocombustibles . *Asociación Civil Ciencia Hoy*, 69-73.
- Ross, P., Morgan, S., & Hill, C. (2002). Preservation and Fermentation. En P. Ross, *Preservation and Fermentation* (págs. 79, 3-16). Food Microbiol.
- Suárez, J., & Morata, A. (2015). *Levaduras para vinificación en tinto* . Madrid: AMV Ediciones.
- Uribe, L. (2007). *Caracterización fisiológica de levaduras aisladas de la filósfera de mora* . Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana.
- Vázquez, H., & Acosta, O. (2007). Alcoholic fermentation: An option for renewable energy production from agricultural residues. *Ingeniería Investigación y Tecnología VII*, 252-253.
- Vázquez, H., & Dacosta, O. (2007). Alcoholic fermentation: An option for renewable energy production from agricultural residues. *Scielo*, 250-251.
- Vega, E. Z. (2008). *Producción de alimentos por actividad Bacteriana - Fermentación*. Rio Piedras: Universidad de Puerto Rico.
- Viñals-Verde, M. (2012). Obtencion de etanol a partir de biomasa Lignocelulosica. *ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar*, 8-9.
-

7. ANEXOS

Diagrama de procesos y operaciones

*Ilustración 18. Diagrama de procesos y operaciones para la preparación de la solución a fermentar.*



Actividades	Cantidad
Inspecciones	5
Operaciones	9
Demora	1
Transporte	--
Operación y control.	2

Fuente y Elaboración: Autoría propia

### Armado del Bioreactor.

- Desmontar el equipo para hacer el mantenimiento de sus partes.
- Lavar las partes del equipo cuidadosamente, homogeneizar las partes del equipo con agua destilada y secarlas de forma individual.
- Montar el equipo, colocar los respectivos seguros y verificar que no exista fugas.

### Fotografías de los experimentos más relevantes.

*Ilustración 19. Experimento 3*



Fuente y Elaboración: Autoría propia

**Ilustración 20. Experimento 7**



Fuente y Elaboración: Autoría propia

**Ilustración 21. Experimento 9**



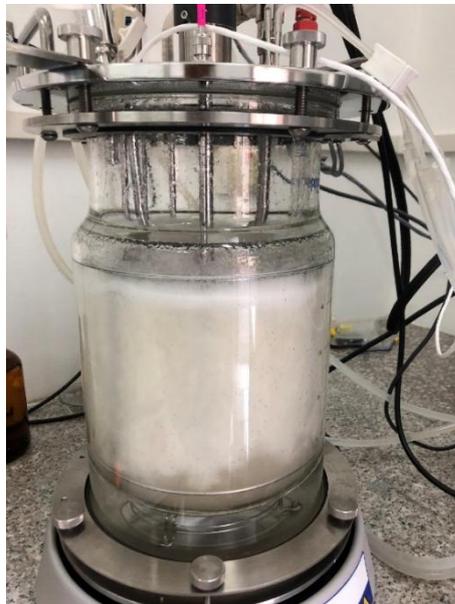
Fuente y Elaboración: Autoría propia

**Ilustración 22.** Experimento 16



Fuente y Elaboración: Autoría propia

**Ilustración 23.** Experimento 17



Fuente y Elaboración: Autoría propia



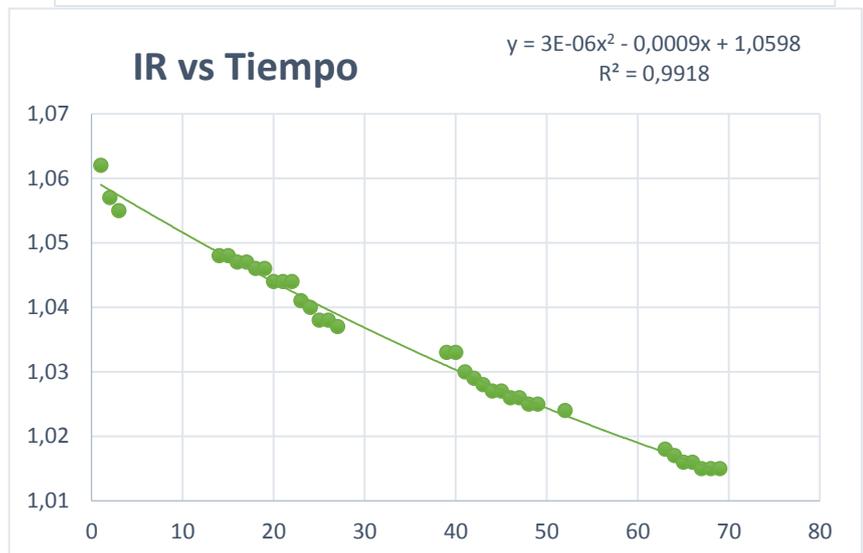
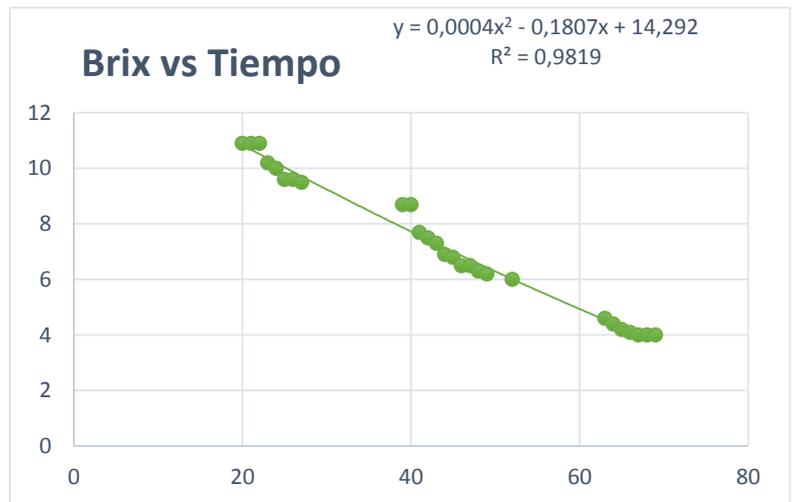
**Gráficas con sus tiempos respectivos de fermentación**

En las siguientes graficas se muestra a detalle el tiempo de fermentación que se toma en cada experimento planteado.

**Experimento #1**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPM/RPM	Oligoelementos g/l
6	6	450	1
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9893	0,99463561	Regresión Polinómica	$y=0,0005x^2-0,1909x+14,462$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9918	0,99589156	Regresión Polinómica	$y=6E-06x^2-0,001x+1,055$

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Brix</b>	<b>IR</b>
1	15	1,062
2	14	1,057
3	13,5	1,055
14	12	1,048
15	11,4	1,048
16	11,3	1,047
17	11,3	1,047
18	11,1	1,046
19	11,1	1,046
20	10,9	1,044
21	10,9	1,044
22	10,9	1,044
23	10,2	1,041
24	10	1,04
25	9,6	1,038
26	9,6	1,038
27	9,5	1,037





39	8,7	1,033
40	8,7	1,033
41	7,7	1,03
42	7,5	1,029
43	7,3	1,028
44	6,9	1,027
45	6,8	1,027
46	6,5	1,026
47	6,5	1,026
48	6,3	1,025
49	6,2	1,025
52	6	1,024
63	4,6	1,018
64	4,4	1,017
65	4,2	1,016
66	4,1	1,016
67	4	1,015
68	4	1,015
69	4	1,015

Nota:

Se procede a preparar NaOH 05 N y HCl 0.5 N para mantener el pH constante con el valor que indique la matriz de trabajo.

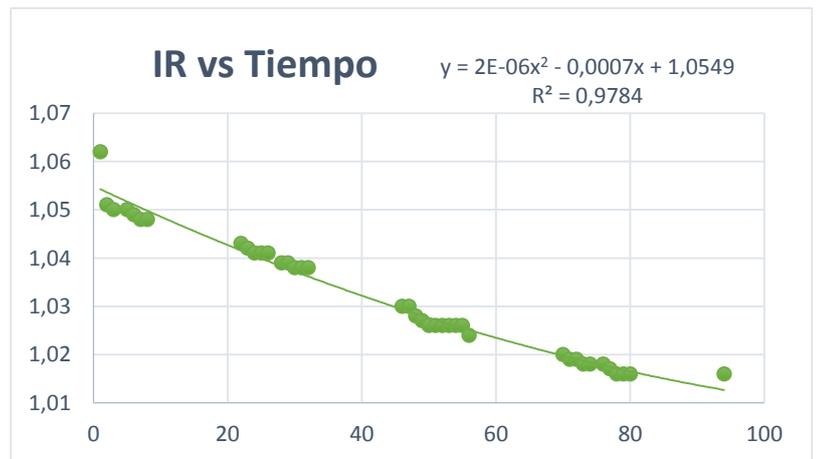
En el experimento de observa la generación de espuma, por tanto, se agrega 1 ml de antiespumante por cada litro de fermentación o de volumen.



**Experimento #2**

pH	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
5	4	300	2
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
R2	R	Tipo de regresión	Modelo de Ecuación
0,9835	0,99171569	Regresión Exponencial	$y=14,157 e^{-0,014x}$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
R2	R	Tipo de regresión	Modelo de Ecuación
0,9835	0,99171569	Regresión Polinómica	$y=2E-06x^2-0,0006x+1,0549$

Tiempo (h)	Brix	IR
1	15	1,062
2	12,6	1,051
3	12,4	1,05
5	12,4	1,05
6	12,2	1,049
7	12	1,048
8	12	1,048
22	10,8	1,043
23	10,6	1,042
24	10,2	1,041
25	10,2	1,041
26	10,2	1,041
28	9,8	1,039
29	9,8	1,039
30	9,6	1,038
31	9,6	1,038
32	9,6	1,038
46	7,8	1,03
47	7,8	1,03
48	7,4	1,028
49	7,2	1,027





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

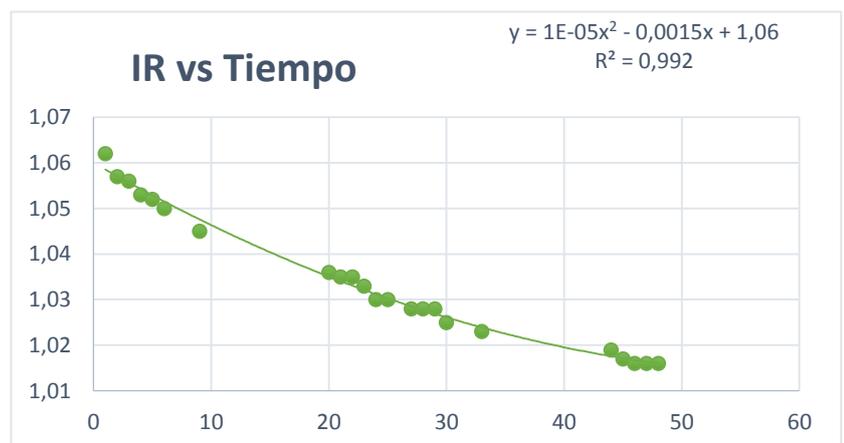
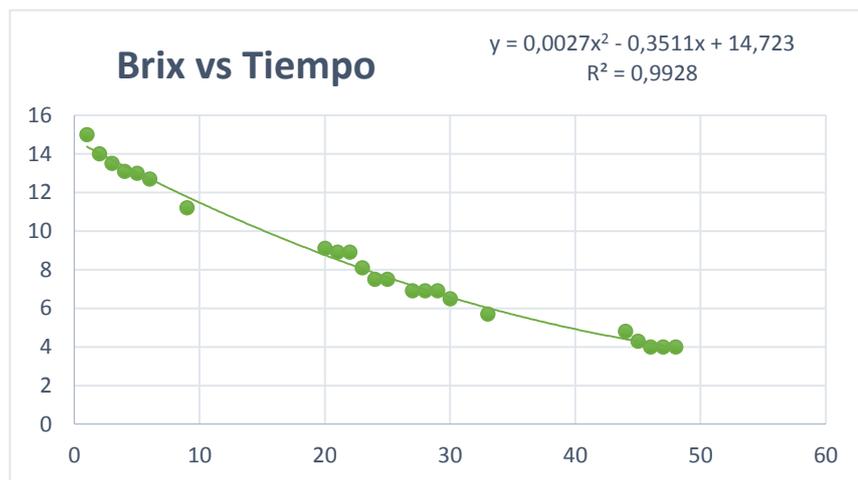
50	7	1,026
51	6,8	1,026
52	6,8	1,026
53	6,8	1,026
54	6,8	1,026
55	6,8	1,026
56	6,2	1,024
70	5,1	1,02
71	5	1,019
72	5	1,019
73	4,8	1,018
74	4,8	1,018
76	4,8	1,018
77	4,6	1,017
78	4,4	1,016
79	4,4	1,016
80	4,2	1,016
94	4	1,015



**Experimento #3**

pH	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
5	8	300	0
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
R2	R	Tipo de regresión	Modelo de Ecuación
0,9905	0,99523866	Regresión Polinómica	$y=0,0025x^2-0,3409x+14,695$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
R2	R	Tipo de regresión	Modelo de Ecuación
0,9899	0,99493718	Regresión Polinómica	$y=1E-05x^2-0,0014x+1,0599$

Tiempo (h)	Brix	IR
1	15	1,062
2	14	1,057
3	13,5	1,056
4	13,1	1,053
5	13	1,052
6	12,7	1,05
9	11,2	1,045
20	9,1	1,036
21	8,9	1,035
22	8,9	1,035
23	8,1	1,033
24	7,5	1,03
25	7,5	1,03
27	6,9	1,028
28	6,9	1,028
29	6,9	1,028
30	6,5	1,025
33	5,7	1,023
44	4,8	1,019
45	4,3	1,017
46	4	1,016
47	4	1,016
48	4	1,016



Nota:

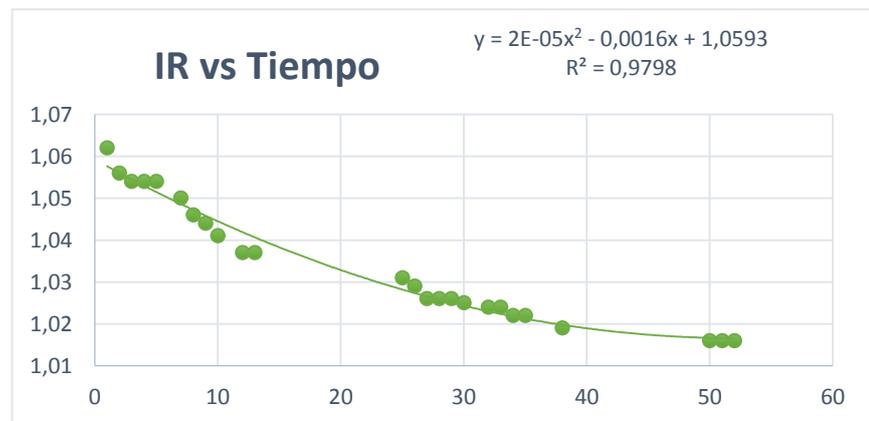
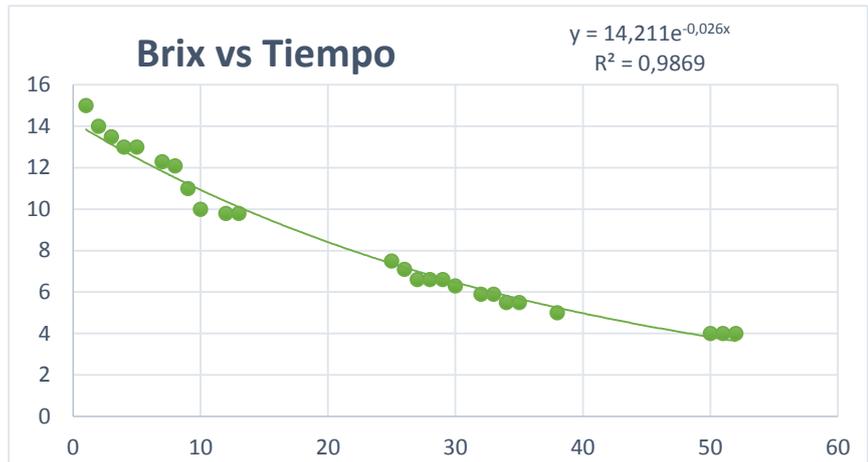
Al acercarse a la fase estacionaria, el experimento tiende a tomar una coloración tomaterosado, se debe a la cantidad de NaOH consumido.



**Experimento #4**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
7	8	600	0
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9869	0,99342841	Regresión Exponencial	$y=14,211 e^{-0,026x}$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9798	0,98984847	Regresión Polinómica	$y=2E-05x^2-0,0016x+1,0593$

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Brix</b>	<b>IR</b>
1	15	1,062
2	14	1,056
3	13,5	1,054
4	13	1,054
5	13	1,054
7	12,3	1,05
8	12,1	1,046
9	11	1,044
10	10	1,041
12	9,8	1,037
13	9,8	1,037
25	7,5	1,031
26	7,1	1,029
27	6,6	1,026
28	6,6	1,026
29	6,6	1,026
30	6,3	1,025
32	5,9	1,024
33	5,9	1,024
34	5,5	1,022
35	5,5	1,022
38	5	1,019
50	4	1,016
51	4	1,016
52	4	1,016





Nota:

Este experimento tiene un consumo excesivo de NaOH 0.5 N, por tanto se procedió a preparar solución de NaOH 1 N y NaOH 2 N

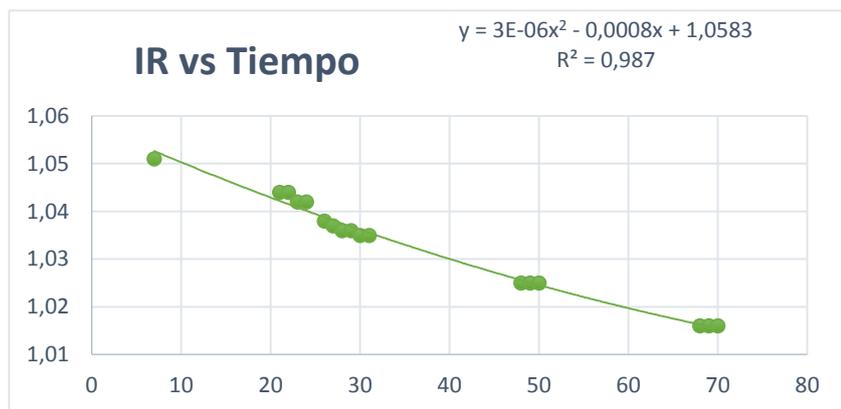
También tiene presencia de espuma, a esto se le añadió 1ml de antiespumante por cada litro de fermentado.



Experimento #5

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
6	6	450	1
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9846	0,99227012	Regresión Polinómica	$y=0,0005x^2-0,1733x+13,971$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9665	0,98310732	Regresión Polinómica	$y=3E-06x^2-0,0007x+1,0563$

Tiempo (h)	Brix	IR
1	15	1,062
2	13,6	1,05
4	12,9	1,053
5	12,9	1,053
6	12,1	1,047
7	12,4	1,051
21	10,9	1,044
22	10,9	1,044
23	10,4	1,042
24	10,4	1,042
26	9,8	1,038
27	9,6	1,037
28	9,2	1,036
29	9,2	1,036
30	9	1,035
31	9	1,035
48	6,6	1,025
49	6,6	1,025
50	6,5	1,025
68	4	1,016
69	4	1,016
70	4	1,016

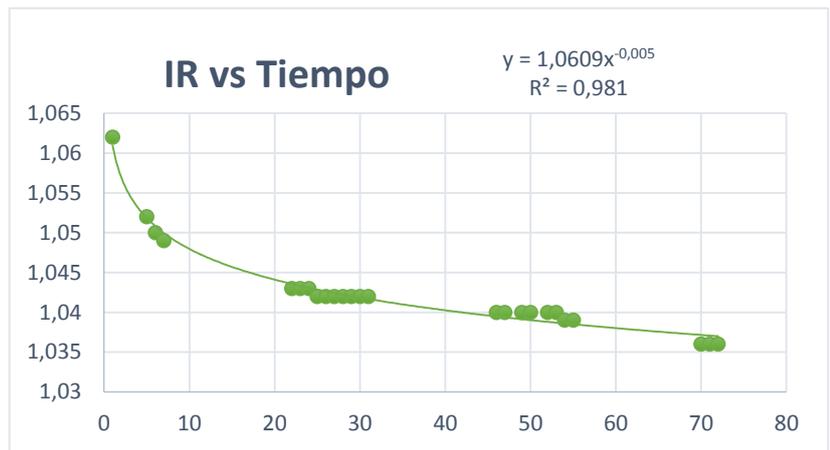
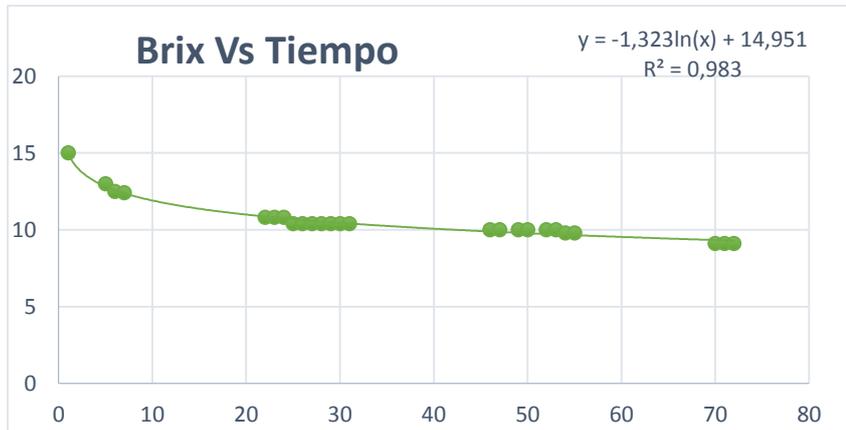




**Experimento #6**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
7	4	600	2
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9748	0,9873196	Regresión Potencial	$y=15,321x-0,114$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,981	0,99045444	Regresión Potencial	$y=1,0609 x -0,005$

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Brix</b>	<b>IR</b>
1	15	1,062
5	13	1,052
6	12,5	1,05
7	12,4	1,049
22	10,8	1,043
23	10,8	1,043
24	10,8	1,043
25	10,4	1,042
26	10,4	1,042
27	10,4	1,042
28	10,4	1,042
29	10,4	1,042
30	10,4	1,042
31	10,4	1,042
46	10	1,04
47	10	1,04
49	10	1,04
50	10	1,04
52	10	1,04
53	10	1,04
54	9,8	1,039
55	9,8	1,039
70	9,1	1,036
71	9,1	1,036
72	9,1	1,036

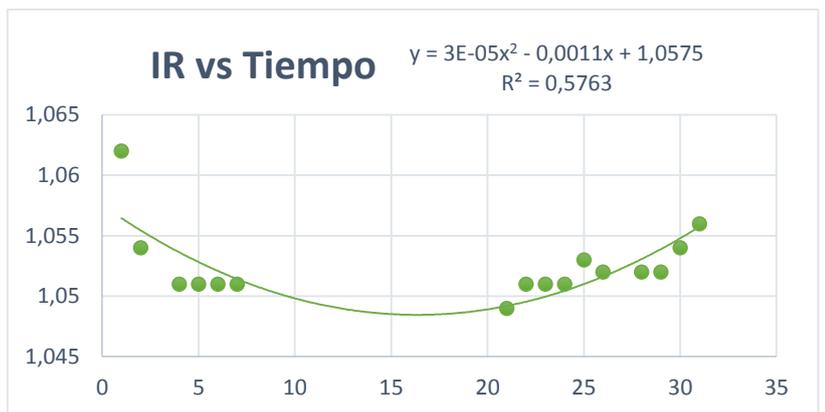
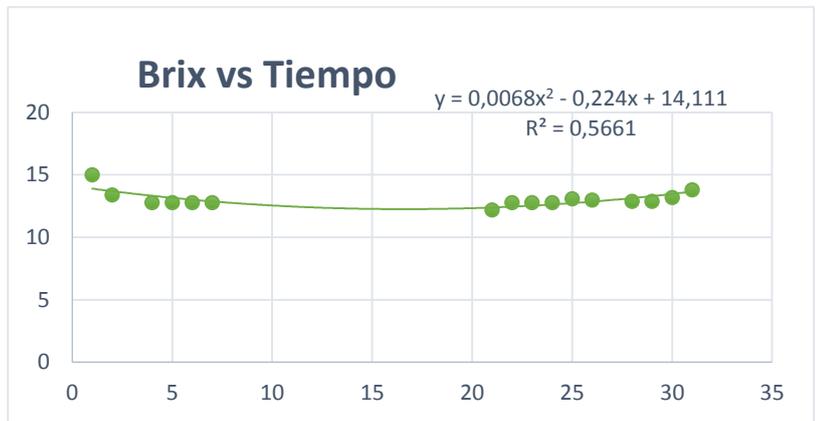




**Experimento #7A**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
7	8	600	2
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,5661	0,75239617	Regresión Polinómica	$y=0,0068x^2-0,224x+14,111$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,5763	0,75914426	Regresión Polinómica	$y=3E-05x^2-0,0011x+1,0575$

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Brix</b>	<b>IR</b>
1	15	1,062
2	13,4	1,054
4	12,8	1,051
5	12,8	1,051
6	12,8	1,051
7	12,8	1,051
21	12,2	1,049
22	12,8	1,051
23	12,8	1,051
24	12,8	1,051
25	13,1	1,053
26	13	1,052
28	12,9	1,052
29	12,9	1,052
30	13,2	1,054
31	13,8	1,056



Nota:

Se observa una generación de espuma, por tanto se procede a adicionar 1 ml de antiespumante por cada litro de fermentado.



A partir de la sexta hora el experimento empieza a cambiar de color, pasándose a amarillo

Se procede a preparar solución NaOH 2 N por rápido el consumo rápido.

Segundo día, la coloración se acentúa siendo mostaza

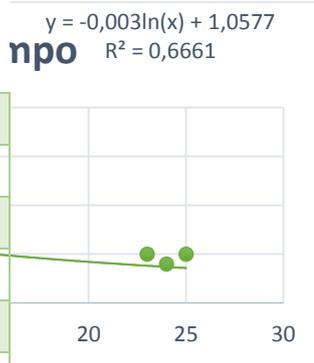
Tercer día, la coloración se oscurece, y se procede a parar la fermentación, los grados Brix no bajan se mantienen en un rango de 12,8 a 13,8 desde el primer día, hasta el tercer día.

**Experimento #7B**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
7	8	600	2
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,2439	0,49386233	Regresión logarítmica	$y=0,507\ln(x)+14,14$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,6661	0,8161495	Regresión logarítmica	$y=0,003\ln(x)+1,0577$



Tiempo (h)	Brix	IR
1	15	1,062
2	13	1,052
3	13,2	1,054
4	13,2	1,054
5	13	1,052
6	13,2	1,054
8	13,6	1,05
9	13,6	1,05
23	10,4	1,05
24	13,6	1,049
25	13,4	1,05



Nota:

En la primera hora se observa una generación de espuma en la solución. En la hora seis se comienza a observar una coloración beige. Se procede a preparar una solución NaOH, 2 N por estabilizar según lo requerido. Segundo día, la coloración se acentúa siendo mostaza, y sigue con las mismas características que el experimento 7<sup>a</sup>, por tanto se procede a para el experimento.

**Experimento #8**

pH	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
7	8	300	0

**Datos de la Curva Brix vs Tiempo**

R2	R	Tipo de regresión	Modelo de Ecuación
0,9892	0,99458534	Regresión Polinómica	$y=0,0018x^2-0,2669x+14,359$

**Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo**

R2	R	Tipo de regresión	Modelo de Ecuación
----	---	-------------------	--------------------



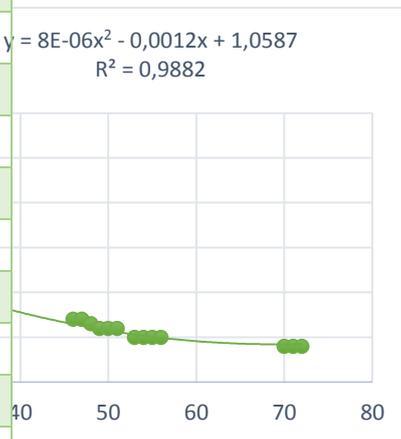
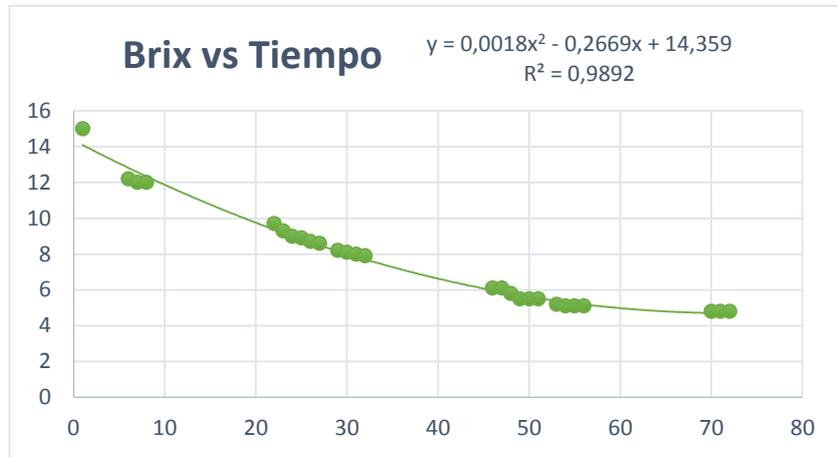
## UNIVERSIDAD DE CUENCA

0,9882

0,99408249	Regresión Polinómica	$y=8E-06x^2-0,0012x+1,0587$
------------	-------------------------	-----------------------------



Tiempo (h)	Brix	IR
1	15	1,062
6	12,2	1,05
7	12	1,049
8	12	1,049
22	9,7	1,038
23	9,3	1,037
24	9	1,036
25	8,9	1,034
26	8,7	1,033
27	8,6	1,032
29	8,2	1,031
30	8,1	1,031
31	8	1,031
32	7,9	1,03
46	6,1	1,024
47	6,1	1,024
48	5,8	1,023
49	5,5	1,022
50	5,5	1,022
51	5,5	1,022
53	5,2	1,02
54	5,1	1,02
55	5,1	1,02
56	5,1	1,02
70	4,8	1,018
71	4,8	1,018
72	4,8	1,018

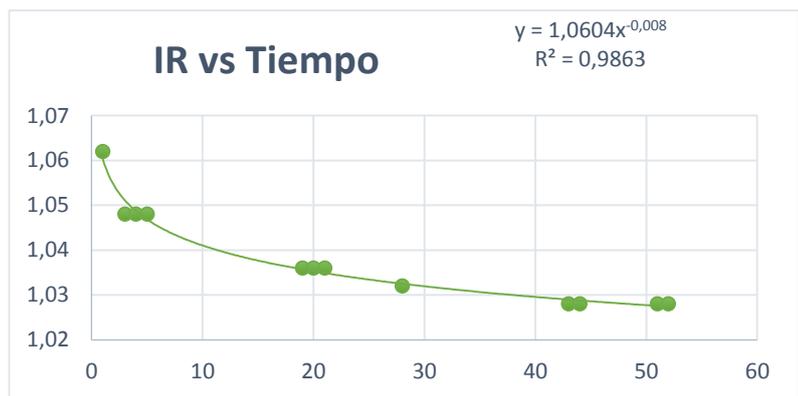




**Experimento #9**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
7	8	300	2
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,989	0,99448479	Regresión logarítmica	$y=1,959\ln(x)+14,767$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9863	0,99312638	Regresión Potencial	$y=1,0604 x^{-0,008}$

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Brix</b>	<b>IR</b>
1	15	1,062
3	12	1,048
4	12	1,048
5	12	1,048
19	9	1,036
20	9	1,036
21	9	1,036
28	8	1,032
43	7,2	1,028
44	7,2	1,028
51	7,2	1,028
52	7,2	1,028



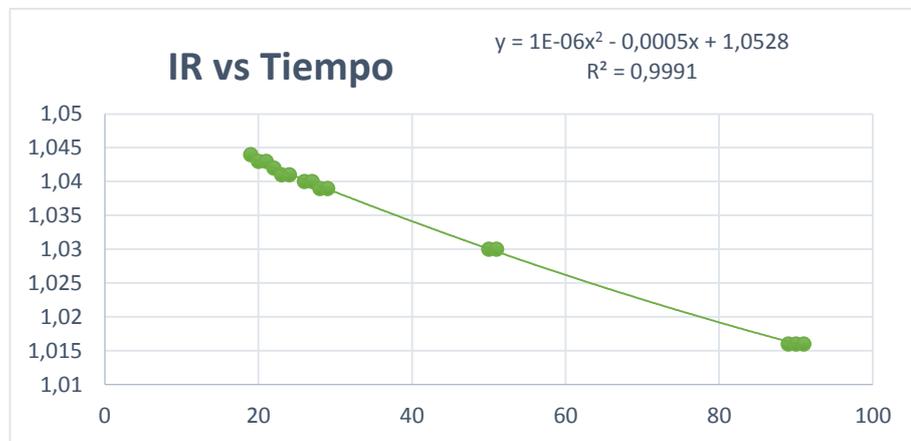
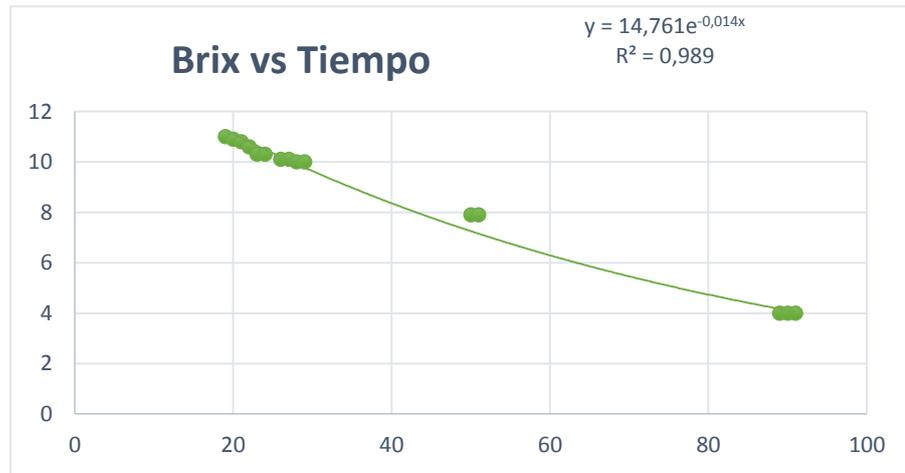
Nota: en las primeras horas se puede observar que el experimento tiene un consumo excesivo de NaOH, posterior toma una coloración obscura con poca generación de espuma y finalmente el volumen rebosa la camisa del reactor por un excesivo consumo de reactivos amortiguadores para mantener constante el pH.



**Experimento #10**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
5	4	600	0
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9813	0,99060588	Regresión Exponencial	$y=14,171e^{-0,014x}$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9723	0,98605274	Regresión Polinómica	$y=2E-06x^2-0,0006x+1,055$

Tiempo (h)	Brix	IR
1	15	1,062
2	12,5	1,05
3	12,8	1,052
4	12,8	1,052
5	12,5	1,05
19	11	1,044
20	10,9	1,043
21	10,8	1,043
22	10,6	1,042
23	10,3	1,041





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

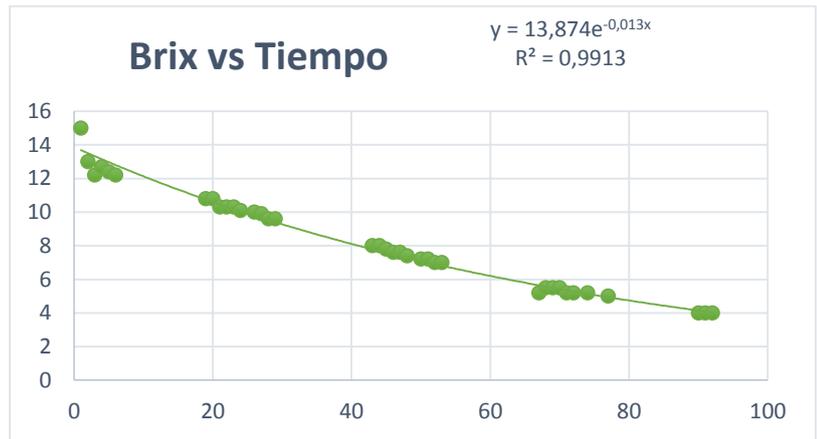
<b>24</b>	10,3	1,041
<b>26</b>	10,1	1,04
<b>27</b>	10,1	1,04
<b>28</b>	10	1,039
<b>29</b>	10	1,039
<b>50</b>	7,9	1,03
<b>51</b>	7,9	1,03
<b>89</b>	4	1,016
<b>90</b>	4	1,016
<b>91</b>	4	1,016



**Experimento #11**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
5	4	300	0
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9913	0,9956405	Regresión Exponencial	$y=13,874e^{-0,013x}$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9771	0,98848369	Regresión Polinómica	$y=3E-06x^2-0,0007x+1,0548$

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Brix</b>	<b>IR</b>
1	15	1,062
2	13	1,053
3	12,2	1,049
4	12,7	1,051
5	12,4	1,05
6	12,2	1,049
19	10,8	1,044
20	10,8	1,044
21	10,3	1,041
22	10,3	1,041
23	10,3	1,041
24	10,1	1,041
26	10	1,04
27	9,9	1,04
28	9,6	1,038
29	9,6	1,038
43	8	1,031
44	8	1,031
45	7,8	1,03





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

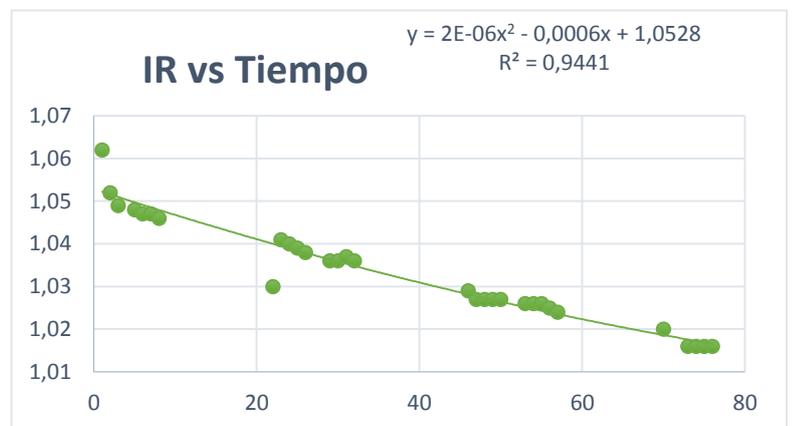
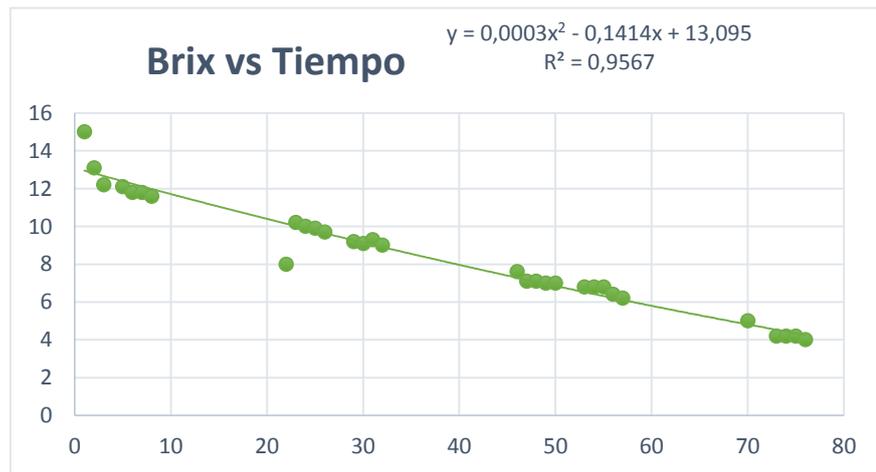
46	7,6	1,029
47	7,6	1,029
48	7,4	1,028
50	7,2	1,027
51	7,2	1,027
52	7	1,026
53	7	1,026
67	5,2	1,022
68	5,5	1,023
69	5,5	1,023
70	5,5	1,023
71	5,2	1,022
72	5,2	1,022
74	5,2	1,022
77	5	1,021
90	4	1,015
91	4	1,015
92	4	1,015



**Experimento #12**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
5	4	600	2
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9567	0,97811042	Regresión Polinómica	$y=0,0003x^2-0,1436x+13,124$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9441	0,97164808	Regresión Polinómica	$y=2E-06x^2-0,0006x+1,0529$

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Brix</b>	<b>IR</b>
1	15	1,062
2	13,1	1,052
3	12,2	1,049
5	12,1	1,048
6	11,8	1,047
7	11,8	1,047
8	11,6	1,046
22	8	1,03
23	10,2	1,041
24	10	1,04
25	9,9	1,039
26	9,7	1,038
29	9,2	1,036
30	9,1	1,036
31	9,3	1,037
32	9	1,036
46	7,6	1,029
47	7,1	1,027
48	7,1	1,027





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

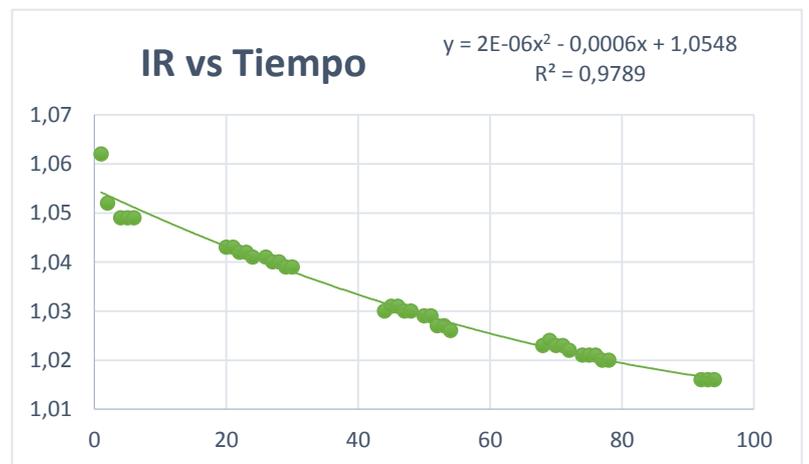
49	7	1,027
50	7	1,027
53	6,8	1,026
54	6,8	1,026
55	6,8	1,026
56	6,4	1,025
57	6,2	1,024
70	5	1,02
73	4,2	1,016
74	4,2	1,016
75	4,2	1,016
76	3,9	1,015



**Experimento #13**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
7	4	300	0
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9857	0,99287461	Regresión Exponencial	$y = 13,85e^{-0,013x}$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9789	0,99151399	Regresión Polinómica	$y = 2E-06x^2 - 0,0006x + 1,0548$

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Brix</b>	<b>IR</b>
1	15	1,062
2	12,6	1,052
4	12,2	1,049
5	12,2	1,049
6	12,2	1,049
20	10,6	1,043
21	10,6	1,043
22	10,4	1,042
23	10,4	1,042
24	10,2	1,041
26	10,1	1,041
27	10	1,04
28	9,9	1,04
29	9,8	1,039
30	9,8	1,039
44	7,8	1,03
45	8	1,031
46	8	1,031
47	7,8	1,03





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

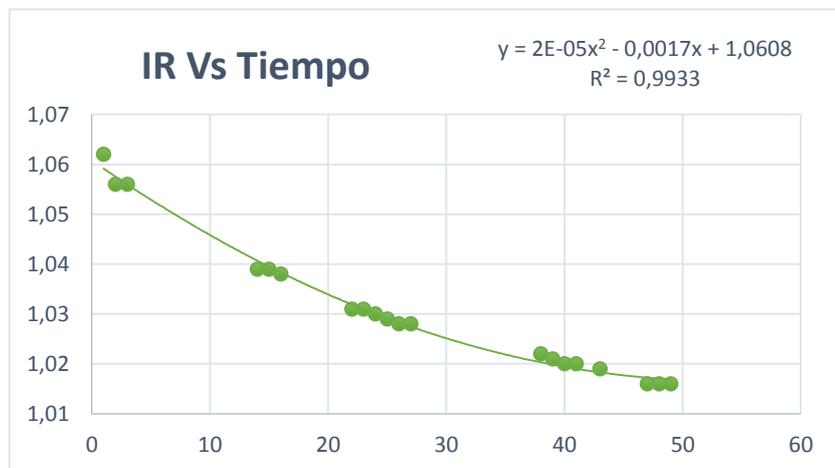
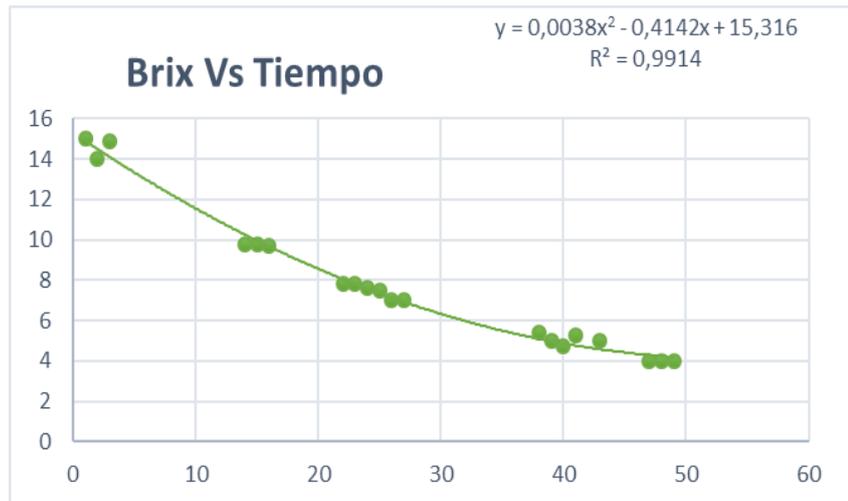
48	7,8	1,03
50	7,6	1,029
51	7,6	1,029
52	7,4	1,027
53	7,4	1,027
54	7,2	1,026
68	6	1,023
69	6,1	1,024
70	6	1,023
71	6	1,023
72	5,9	1,022
74	5,4	1,021
75	5,4	1,021
76	5,4	1,021
77	5,2	1,02
78	5,2	1,02
92	4	1,016
93	4	1,016
94	4	1,016



**Experimento #14**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
5	8	300	2
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9955	0,99774746	Regresión Exponencial	$y=15,139e-0,028x$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9917	0,99584135	Regresión Polinómica	$y=2E-05x^2-0,0018x+1,0638$

Tiempo (h)	Brix	IR
1	15	1,062
2	14	1,056
3	14,9	1,056
14	9,8	1,039
15	9,8	1,039
16	9,7	1,038
22	7,8	1,031
23	7,8	1,031
24	7,6	1,03
25	7,5	1,029
26	7	1,028
27	7	1,028
38	5,4	1,022
39	5	1,021
40	4,7	1,02
41	5,3	1,02
43	5	1,019
47	4	1,016
48	4	1,016
49	4	1,016





**Experimento #15**

pH	Inoculo g/l	RPM	Oligoelementos g/l
5	8	600	0

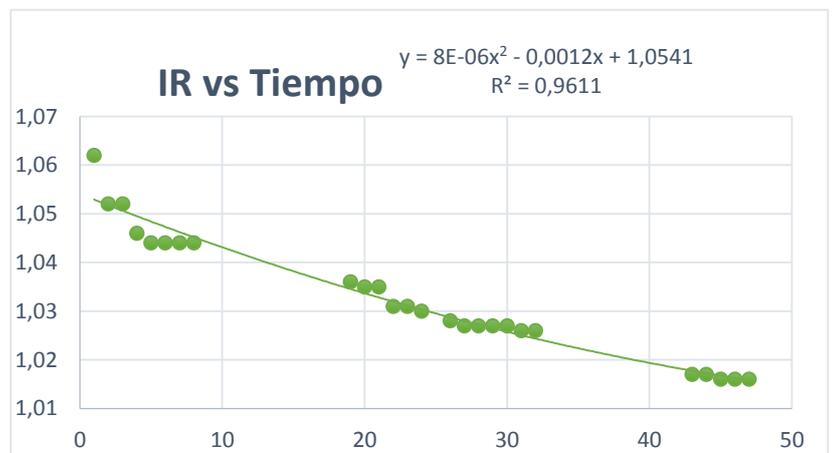
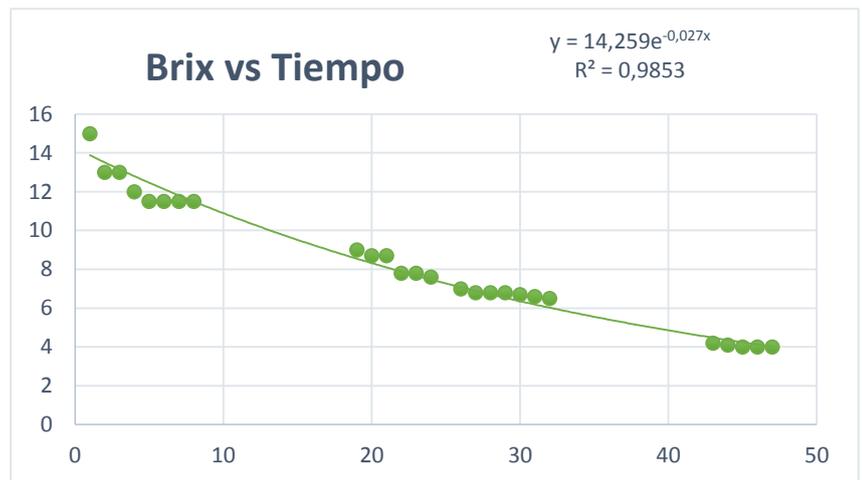
**Datos de la Curva Brix vs Tiempo**

R2	R	Tipo de regresión	Modelo de Ecuación
0,9853	0,99262279	Regresión Exponencial	$y = 14,259e^{-0,027x}$

**Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo**

R2	R	Tipo de regresión	Modelo de Ecuación
0,9611	0,98035708	Regresión Polinómica	$y = 8E-06x^2 - 0,0012x + 1,0541$

Tiempo	Brix	IR
1	15	1,062
2	13	1,052
3	13	1,052
4	12	1,046
5	11,5	1,044
6	11,5	1,044
7	11,5	1,044
8	11,5	1,044
19	9	1,036
20	8,7	1,035
21	8,7	1,035
22	7,8	1,031
23	7,8	1,031
24	7,6	1,03
26	7	1,028
27	6,8	1,027
28	6,8	1,027
29	6,8	1,027
30	6,7	1,027
31	6,6	1,026
32	6,5	1,026
43	4,2	1,017
44	4,1	1,017
45	4	1,016
46	4	1,016
47	4	1,016

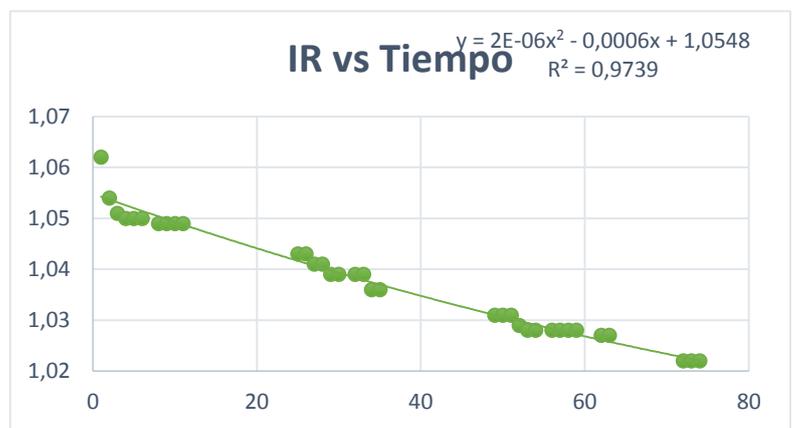
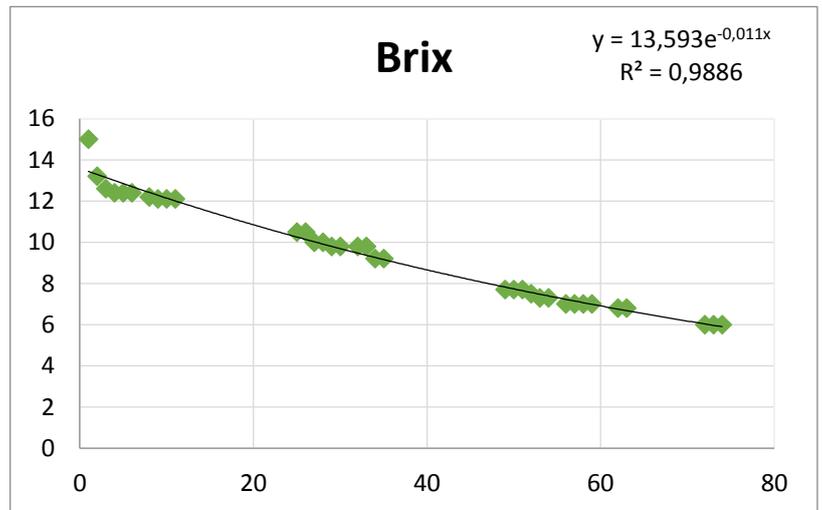




**Experimento #16**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
7	4	600	0
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9886	0,99287461	Regresión Exponencial	$y = 13,593e^{-0,011x}$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9739	0,99151399	Regresión polinómica	$y = 2E-06x^2 - 0,0006x + 1,0548$

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Brix</b>	<b>IR</b>
1	15	1,062
2	13,2	1,054
3	12,6	1,051
4	12,4	1,05
5	12,4	1,05
6	12,4	1,05
8	12,2	1,049
9	12,1	1,049
10	12,1	1,049
11	12,1	1,049
25	10,5	1,043
26	10,5	1,043
27	10	1,041
28	10	1,041
29	9,8	1,039
30	9,8	1,039
32	9,8	1,039
33	9,8	1,039
34	9,2	1,036





## UNIVERSIDAD DE CUENCA

35	9,2	1,036
49	7,7	1,031
50	7,7	1,031
51	7,7	1,031
52	7,5	1,029
53	7,3	1,028
54	7,3	1,028
56	7	1,028
57	7	1,028
58	7	1,028
59	7	1,028
62	6,8	1,027
63	6,8	1,027
72	6	1,022
73	6	1,022
74	6	1,022



**Experimento #17**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
5	8	600	2
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,9085	0,99287461	Regresión Exponencial	$y = 13,006e^{-0,005x}$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,8799	0,99151399	Regresión Logarítmica	$y = -0,004\ln(x) + 1,0582$

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Brix</b>	<b>IR</b>
1	15	1,062
2	12,5	1,051
3	12,5	1,051
5	13	1,052
6	12,3	1,049
7	12,1	1,048
8	12,1	1,048
22	11,9	1,047
23	11,9	1,047
24	11,4	1,046
25	11,2	1,046
27	11	1,044
29	11	1,044
32	11	1,044
33	10,9	1,044
47	10,3	1,042
48	10	1,041
52	10	1,041
53	10	1,041
54	10	1,041
55	10	1,041
56	10	1,041
70	9,5	1,038
71	9	1,036
72	9	1,036

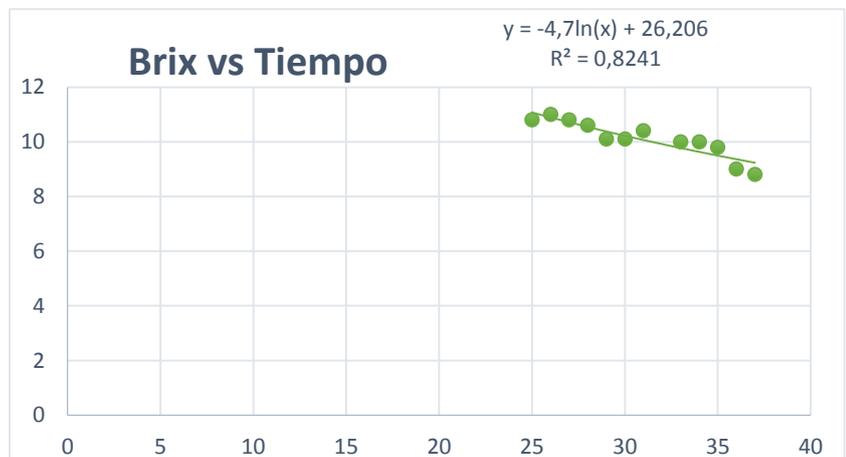
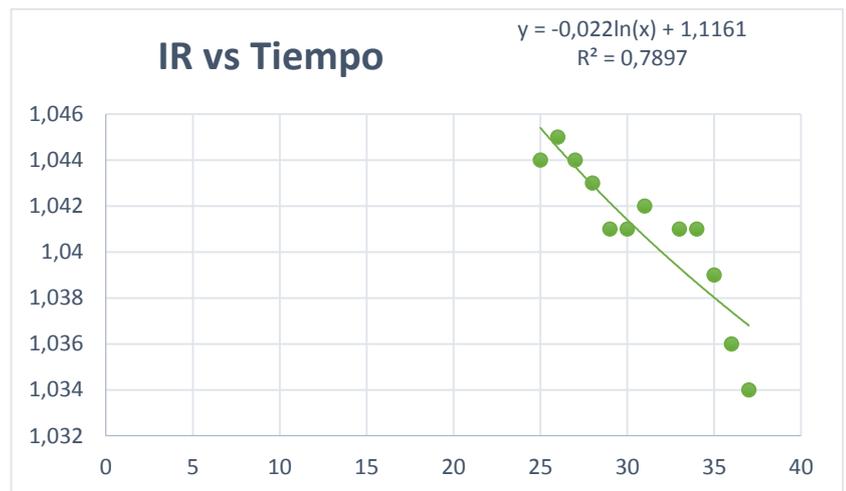




**Experimento #18**

<i>pH</i>	Inoculo g/l	RPMRPM	Oligoelementos g/l
7	4	300	2
<b>Datos de la Curva Brix vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,8913	0,94408686	Regresión Logarítmica	$y=15,123x-0,108$
<b>Datos de la Curva Índice de Refracción vs Tiempo</b>			
<b>R2</b>	<b>R</b>	<b>Tipo de regresión</b>	<b>Modelo de Ecuación</b>
0,8593	0,92698436	Regresión Logarítmica	$y=1,0605 x -0,005$

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Brix</b>	<b>IR</b>
1	15	1,062
2	12,8	1,052
3	12,8	1,052
7	12,1	1,049
12	11,2	1,045
25	10,8	1,044
26	11	1,045
27	10,8	1,044
28	10,6	1,043
29	10,1	1,041
30	10,1	1,041
31	10,4	1,042
33	10	1,041
34	10	1,041
35	9,8	1,039
36	9	1,036
37	8,8	1,034





**UNIVERSIDAD DE CUENCA**