

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**Producción de bioetanol a partir del corazón y la cáscara de la piña utilizando  
la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*.**

PROYECTO DE GRADUACIÓN SOMETIDO A LA CONSIDERACIÓN DE LA ESCUELA  
DE INGENIERIA QUÍMICA COMO REQUISITO FINAL PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIATURA EN INGENIERIA QUIMICA

BYRON ANTONIO CORELLA QUIRÓS

CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO BRENES

SAN JOSÉ, COSTA RICA

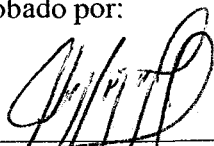
2013

Proyecto de graduación sometido a consideración de la Escuela de Ingeniería química como requisito final para optar el grado de Licenciatura en Ingeniería química.

Sustentante:

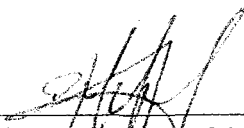
Byron Antonio Corella Quirós

Aprobado por:



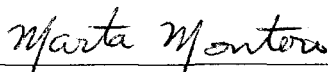
Ing. Alexander Vásquez Calvo, M.Sc  
Profesor Adjunto  
Escuela de Ingeniería Química

Presidente del Tribunal



Ing. Manuel Molina Córdoba  
Profesor Asociado  
Escuela de Ingeniería Química

Director del proyecto



Ing. Marta Montero Calderón, Ph.D  
Profesora Catedrática  
Escuela de Ingeniería Agrícola

Lectora del proyecto



Ing Esteban Durán Herrera, Ph.D.  
Profesor Catedrático  
Escuela de Ingeniería Química

Lector del proyecto



Ing. Silvia Pérez Vargas  
Profesora  
Escuela de Ingeniería Química

Lectora invitada

*"Exígete mucho a ti mismo  
y espera poco de los demás.  
Así te ahorrarás disgustos."*

*Confucio*

## **Agradecimientos**

A la doctora Marta Montero por estar atenta de los resultados del proyecto y la ayuda recibida a lo largo del mismo, además por las ideas y algunas recomendaciones para seguir durante el proyecto.

Al Ingeniero Esteban Durán, por la revisión y las observaciones realizadas durante la realización del proyecto.

A mi hermano Pedro Corella y mi cuñada Paola Orozco por siempre darme apoyo y guía durante estos años en la universidad.

A mis compañeros y amigos que prácticamente se convirtieron en mi familia durante estos años.

## Resumen

Este proyecto tuvo el objetivo evaluar el desempeño de la producción de bioetanol a partir del corazón, la cáscara de piña, utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, en la cual se obtuvo una producción máxima de 1,6 %v/v.

La investigación se dividió en una etapa de caracterización y cinco etapas experimentales.

Se determinaron los contenidos de glucosa, azúcares reductores y totales, humedad, cenizas, fibra cruda y contenido de sólidos solubles del corazón y la cáscara de piña dorada (MD2), utilizados como sustrato de estudio. La cáscara tenía un mayor contenido de sólidos solubles, contenido de fibra, cenizas y un menor contenido de humedad y azúcares reductores.

En la primera etapa experimental se realizó una fermentación de sacarosa comercial, con el objetivo de corroborar el método de medición de CO<sub>2</sub> y se midió el pH del agua en la que se recolecta gas, para estimar las pérdidas del gas, al comparar el método no se observa gran variación entre muestras, por lo que es reproducible y las pérdidas de CO<sub>2</sub> fueron al menos de 22%.

En la segunda etapa experimental al comparar los métodos de medición de etanol, por recolección de CO<sub>2</sub> y cromatografía de gases, se encontró que para concentraciones de 0 a 0,79% v/v los resultados mostraron un comportamiento cuadrático (polinomio de segundo grado con  $0,83173x^2 + 0,0024 x$ ,  $R^2=0,9984$ ) mientras que para concentraciones mayores a 0,79 % la relación fue lineal ( $0,6372 x - 0,099$ ,  $R^2=0,9424$ ), en el cual x es el %v/v de etanol, del método cromatográfico.

En la tercera etapa experimental se compararon los efectos de la filtración. No se encontraron diferencias significativas de este efecto para ninguno de los dos sustratos empleados: corazones y cáscaras.

Los parámetros del ajuste de la ecuación modificada de Gompertz para mezclas de 53% corazón y 47% cáscara, y concentración de 280g/L fueron: Pm 0,72 %v/v;  $\lambda$  0,3 h, Rm 0,047 (%v/v)/h; para una concentración 400 g/L, fueron Pm 1,3 %v/v  $\lambda$  1,8 h y Rm 0,068 (%v/v)/h y para 523 g/L, utilizando extracto de levadura fueron Pm 1,6 %v/v,  $\lambda$  2,5 y Rm 0,21 (%v/v)/h.

Los resultados de rendimiento y productividad para mezclas de 53% corazón y 47% cáscara, y concentración de 280g/L fueron: Y 0,020 g<sub>EtOH</sub>/g<sub>sustrato</sub>, P 0,000676 g<sub>EtOH</sub>/(g<sub>sustrato</sub> h); para una

concentración 400 g/L, fueron  $Y=0,026 \text{ g}_{\text{EtOH}}/\text{g}_{\text{sustrato}}$   $P=0,00073 \text{ g}_{\text{EtOH}}/(\text{g}_{\text{sustrato}} \text{ h})$  y para 523 g/L, utilizando extracto de levadura fueron  $Y= 0,024 \text{ g}_{\text{EtOH}}/\text{g}_{\text{sustrato}}$   $P 0,0030 (\text{g}_{\text{EtOH}}/\text{g}_{\text{sustrato}} \text{ h})$ .

## Índice General

Agradecimientos .....	iii
Resumen.....	iv
Índice General.....	vi
Índice de Cuadros .....	ix
Índice de Figuras.....	xiii
CAPÍTULO 1.....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO 2.....	4
MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Generalidades de la piña: .....	4
2.2 Residuos de piña: .....	5
2.3 Azúcares .....	9
2.3.1 Azúcares reductores y azúcares no reductores .....	9
2.4 Fermentación anaeróbica: .....	10
2.4.1 Condiciones para la fermentación: .....	10
2.4.1 Mecanismos de fermentación .....	10
2.5 Cinética de reacciones las reacciones bioquímicas .....	12
2.5.1 Cinética de fermentaciones alcohólicas batch .....	12
2.5.3 Cinética del crecimiento celular .....	13
2.6 Estudios previos de fermentaciones alcohólicas con desechos de piña: .....	15
CAPÍTULO 3.....	16
METODOLOGÍA EXPERIMENTAL, MATERIALES Y EQUIPO .....	16
3.1 Materiales y equipo. ....	16
3.1.2 Equipo Experimental .....	17
3.1.3 Sustrato .....	17
3.1.4 Microorganismos para la fermentación .....	17
3.2 Métodos para caracterización del sustrato .....	17
3.2.1 Humedad.....	18
3.2.2 Cenizas.....	18

3.2.3 Fibra cruda.....	18
3.2.4 Glucosa.....	18
3.2.5 Azúcares reductores y azúcares totales .....	18
3.2.6 Medición de pH .....	19
3.2.7 Contenido de sólidos solubles .....	19
3.3. Variables del Trabajo experimental.....	19
3.3.1 Variables fijas.....	19
3.5 Segunda etapa experimental. Determinación del etanol producido. ....	26
3.5.1 Variable de respuesta.....	27
3.6.1 Procedimiento.....	27
3.6.2 Variable respuesta.....	28
3.6.3 Modelo estadístico a utilizar.....	28
3.7 Cuarta etapa experimental. Efectos de mezclas de corazón y cáscara. ....	28
3.7.1 Procedimiento.....	28
3.7.2 Variables respuesta.....	29
3.8 Quinta etapa experimental. Efecto del uso de extracto de levadura.....	29
3.8.1 Procedimiento.....	29
3.8.2 Variables respuesta.....	29
CAPÍTULO 4.....	30
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	30
4.1 Caracterización de la cáscara y el corazón de la piña. ....	30
4.2 Primera etapa experimental. Reproducibilidad del método de recolección de CO <sub>2</sub> .....	31
4.3 Segunda etapa experimental. Determinación del etanol producido. ....	33
4.4 Tercer etapa experimental. Efecto de la filtración del sustrato. ....	38
4.5 Cuarta etapa experimental. Efectos de mezclas de corazón y cáscara. ....	39
4.6 Quinta etapa experimental. Efecto del uso de extracto de levadura.....	41
CAPÍTULO 5.....	43
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	43
5.1 Conclusiones .....	43
5.2 Recomendaciones:.....	45
CAPÍTULO 6.....	46



NOMENCLATURA.....	46
CAPÍTULO 7.....	47
BIBLIOGRAFÍA .....	47

## Índice de Cuadros

Cuadro 2.1 Escala de grados de maduración de la piña Monte lirio.....	5
Cuadro 2.2 Escala de tamaños de la piña Monte lirio.....	5
Cuadro 2.3 Composición química de un desecho líquido de piña en el procesamiento de la producción de la piña enlatada de la variedad no reportada).....	8
Cuadro 3.1 Reactivos utilizados en el trabajo experimental.....	16
Cuadro 3.2 Equipo empleado durante la investigación. ....	17
Cuadro 4.1 Caracterización del corazón y la cáscara de la piña utilizada MD2.....	30
Cuadro 4.2 %v/v de etanol determinado a partir de la medición CO <sub>2</sub> y por determinación cromatográfica. ....	33
Cuadro 4.3 Resultados de los ajustes en la segunda etapa experimental. ....	34
Cuadro 4.4 Parámetros de la cinética de reacción en de la segunda etapa experimental. .	37
Cuadro 4.5 Producción de etanol de los estados filtrados y sin filtrar.....	39
Cuadro 4.6 Parámetros de la cinética de reacción de la mezcla de corazón y cáscara a 280 g/L. ....	40
Cuadro 4.7 Parámetros de la cinética de reacción en de la quinta etapa experimental.....	42
Cuadro A.1 Datos para la solución madre de la disolución de glucosa. ....	52
Cuadro A.2 Datos para la curva de calibración para la medición de glucosa por medio del método de Trinder.....	52
Cuadro A.3 Datos para curva de calibración para la medición de azúcares reductores por el método de Nelson Somogyi. ....	52
Cuadro A.4 Absorbancias de las pruebas de cuantificación de glucosa empleando el método de Trinder.....	52
Cuadro A.5 Resultados de las pruebas de cuantificación de azúcares reductores en la piña empleando el método de Nelson Somogyi.....	53
Cuadro A.6 Resultados de las pruebas de cuantificación de azúcares totales empleando el método de Nelson Somogyi. ....	53
Cuadro A.7 Medición de grados Brix de los distintos sustratos preparados. ....	53
Cuadro A.8 Datos para la cuantificación de humedad de la cáscara y el corazón de piña.53	
Cuadro A.9 Datos para la cuantificación de cenizas en la cáscara y el corazón de piña. ..	53
Cuadro A.10 Datos para la cuantificación de fibra cruda.....	54

Cuadro A.11 Datos para la preparación del licor de fermentación utilizado en la primera etapa experimental. ....	54
Cuadro A.12 Datos experimentales para la cuantificación de la producción de gases de la primera etapa experimental.....	54
Cuadro A.13 Medición de pH realizado en la primera etapa experimental.....	55
Cuadro A.14 Diámetros y alturas iniciales del nivel del líquido de las probetas de recolección de gas de la primera repetición durante las fermentaciones en la primera etapa experimental.....	55
Cuadro A.15 Masa utilizada para realizar las fermentaciones en la segunda etapa experimental.....	55
Cuadro A.16 Datos para la cuantificación del gas producido en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la Segunda etapa experimental (muestras 1 y 2). 56	
Cuadro A.17 Datos para la cuantificación del gas producido en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la Segunda etapa experimental (muestra 3). ....	60
Cuadro A.18 Diámetros y alturas iniciales del nivel del líquido de las probetas de recolección de gas producto de las fermentaciones de la mezcla de corazón y cáscara en la segunda etapa experimental. ....	63
Cuadro A.19 Absorbancia medida para la medición de azúcares reductores residuales por el método de Nelson Somogyi de la segunda etapa experimental, para la mezcla corazón y cáscara.....	63
Cuadro A.20 Índices de refracción de los destilados de la etapa segunda etapa experimental, utilizando una mezcla de corazón y cáscara. ....	64
Cuadro A.21 pH inicial y grados brix del licor que se va a fermentar antes de ajustar a 4,5 y agregar reactivos. En la etapa segunda etapa experimental.....	64
Cuadro A.22 Cantidad de masa utilizada para las disoluciones probando los diferentes sustratos.En la tercera etapa experimental. ....	64
Cuadro A.23 Altura del volumen desplazado en la primera repetición durante las fermentaciones. En la tercera etapa experimental.....	64
Cuadro A.24 Diámetros y alturas iniciales del nivel del líquido de las probetas de recolección de gas de la primera repetición durante las fermentaciones en la tercera etapa experimental.....	66
Cuadro A.25 Altura del volumen desplazado en la segunda repetición durante las fermentaciones. En la tercera etapa experimental.....	67

Cuadro A.26 Diámetros y alturas iniciales del nivel del líquido de las probetas de recolección de gas de la segunda repetición durante las fermentaciones en la tercera etapa experimental.....	69
Cuadro A.27 Absorbancia medida para la medición de azúcares reductores residuales por el método de Nelson Somogyi de la tercera etapa experimental. ....	69
Cuadro A.28 Altura del volumen desplazado durante las fermentaciones de la etapa cuarta etapa experimental. ....	69
Cuadro A.29 Diámetros y alturas iniciales del nivel del líquido de las probetas de recolección de gas de la segunda repetición durante las fermentaciones en la cuarta etapa experimental.....	74
Cuadro A.30 Volúmenes de reacción de la cuarta etapa experimental.....	74
Cuadro A. 31 Altura del volumen desplazado en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la quinta etapa experimental. ....	74
Cuadro A.32 Diámetros y alturas iniciales del nivel del líquido de las probetas de recolección de gas producto de las fermentaciones de la quinta etapa experimental. ....	75
Cuadro A.33 Volúmenes de reacción de la etapa quinta etapa experimental.....	75
Cuadro B.1 Datos para la elaboración de la curva de calibración para la determinación de glucosa por medio del método de Trinder para la caracterización. ....	76
Cuadro B.2 Coeficientes y parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la determinación de glucosa por el método de Trinder.....	76
Cuadro B.3 Concentración de glucosa m/m en las diferentes muestras .....	76
Cuadro B.4 Datos para la elaboración de la curva de calibración para la determinación de Azúcares por medio del método de Nelson-Somogyi para la caracterización.....	77
Cuadro B.5 Coeficientes y parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la determinación de azúcares reductores y azucares totales por el método de Nelson Somogyi. ....	77
Cuadro B.6 Concentración de azúcares reductores m/m en las diferentes muestras .....	77
Cuadro B.7 Porcentaje de humedad de los diferentes sustratos de la piña utilizados. ....	78
Cuadro B. 8 Porcentaje de cenizas de los diferentes sustratos de la piña utilizados. ....	78
Cuadro B.9 Porcentaje de fibra cruda de los diferentes sustratos de la piña utilizados.....	78
Cuadro B.10 Volumen desplazado y presión de gas en la primera repetición durante las	78
Cuadro B.11 Volumen desplazado y presión de gas en la primera repetición durante las fermentaciones de la sacarosa en la segunda etapa experimental.....	79
Cuadro B.12 Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales...	83

en función volumen de la muestra extraída. En la segunda etapa experimental.....	83
Cuadro B.13 Coeficientes y parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la determinación de etanol por refractometría. ....	88
Cuadro B.14 índices de refracción y concentraciones de las muestras líquidas extraídas en la segunda etapa experimental. ....	89
Cuadro B.15 Volumen desplazado y presión de gas en la primera repetición durante las fermentaciones y de los distintos sustratos. En la tercera etapa experimental.....	89
Cuadro B.16 Volumen desplazado y presión de gas en la segunda repetición durante las fermentaciones y presión del gas producido durante la fermentación. En la tercera etapa experimental.....	91
Cuadro B.17 Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída y la concentración calculada a partir del mismo. En la tercera etapa experimental. ....	93
Cuadro B.18 Volumen desplazado y presión de gas durante las fermentaciones, de la mezcla de corazón y cáscara en la cuarta etapa experimental. ....	95
Cuadro B.19 Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales... en función volumen de la muestra extraída y la concentración calculada a partir del mismo. En la cuarta etapa experimental. ....	99
Cuadro B.20 Volumen desplazado y presión de gas durante las fermentaciones, de la mezcla de corazón y cáscara en la quinta etapa experimental. ....	103
Cuadro B.21 Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída y la concentración calculada a partir del mismo. En la quinta etapa experimental. ....	104

## Índice de Figuras

Figura 2.1 Equipo para cortar piña.....	6
Figura 2.2 Diagrama de flujo del procesamiento de la piña.....	7
Figura 2.3 Estructura de la glucosa, galactosa, fructuosa y sacarosa.....	9
Figura 2.4 Formación de los aniones piruvato. ....	10
Figura 2.5 Formación del acetaldehído.....	11
Figura 2.6 Formación del etanol.....	11
Figura 2.7 Reacción general de fermentación alcohólica.....	11
Figura 3.1 Equipo para la medición del volumen gas producto de las fermentaciones.	20
Figura 4.1 Producción de Etanol de dos muestras con sacarosa.....	31
Figura 4.2 Comparación de métodos de determinación de etanol. ....	34
Figura 4.4 Cinética de la producción de etanol utilizando mezcla de corazón y cáscara con una concentración de 400g/L.....	36
Figura 4.5 Residuales del modelo planteado para correlacionar la producción del etanol en función del tiempo.....	37
Figura 4.6 Cinética de la producción de etanol utilizando diferentes sustratos. ....	38
Figura 4.7 Cinética de la producción de etanol y consumo de azúcares utilizados en la cuarta etapa experimental.....	39
Figura 4.8 Residuales de la correlación de producción de etanol con respecto al ajuste planteado en el modelo de la Etapa II. ....	40
Figura 4.9 Cinética de la producción de etanol en la quinta etapa experimental.....	41
Figura 4.10 Residuales de la correlación del modelo de Dr. Hill, de los resultados de la quinta etapa experimental.....	42
Figura B.1 Curva de calibración para la determinación de glucosa por el método de Trinder.....	76
Figura B.2 Curva de calibración para la determinación de azúcares reductores y azúcares totales por el método de Nelson Somogyi.....	77
Figura B.3 Índices de refracción de mezclas de etanol agua (Perry, 2008). ....	88

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN

Actualmente la piña dorada encabeza la lista de productos de exportación seguido por el banano, en el primer semestre del año 2012 se exportaron 413,5 millones de dólares, lo que económicamente representa un incremento de un 5% respecto al mismo periodo del año anterior, así mismo, se incrementó el área cultivada y los residuos generados de esta actividad, por eso encontrar una forma adecuada de dar tratamiento a estos residuos es un desafío importante para el país y para las regiones de la zona norte, atlántica y pacífica que son las regiones donde se cultiva la piña dorada (MD2). En total, las áreas cultivadas de piña en estas regiones suman aproximadamente 45 000 hectáreas (CNP, 2012).

Por otra parte, el precio de los combustibles se encuentra en aumento y como acción para disminuir estos precios, uno de los objetivos de la Refinadora Costarricense de Petróleo es promover la investigación y el desarrollo para incorporar el uso de biocombustibles en el país (Villegas, 2011).

El uso de aditivos oxigenados como el etanol en los combustibles, ha tenido muy buenos resultados en países como Brasil y es por esto que desde el año 2006, RECOPE S.A. comenzó a adicionar etanol a la gasolina Plus 91 que se expende en Barranca y se perfila a extender la mezcla hacia la gasolina Súper y hacia sus otros planteles de distribución. Actualmente, el Decreto de Biocombustibles MAG-MINAET N°35091 le permite a RECOPE preparar mezclas de 0-8% de etanol con gasolina.

En el país la mayor producción de etanol se da por parte de algunos ingenios azucareros, que generan como subproducto la melaza, la cual por ser muy rica en azúcares, puede convertirse fácilmente en etanol.

El etanol que se produce no es etanol anhidro, es etanol en su composición azeotrópica, por lo que sin un tratamiento posterior, no podría emplearse como biocombustible en los automóviles de gasolina convencionales.

LAICA, la Liga Agroindustrial de la Caña, tiene la capacidad de tomar el alcohol producido por los ingenios y deshidratarlo mediante un tratamiento con zeolitas. El alcohol anhidro que produce LAICA se exporta a Estados Unidos para ser utilizado como aditivo en combustibles, en el año 2010 las exportaciones de LAICA fueron de 9,3 millones de galones a un precio promedio de 2,05 dólares por galón. Por su parte, la Fábrica Nacional de Licores, utiliza ciclo hexano para poder romper el azeótropo y lograr obtener el alcohol anhidro (LAICA, 2010).

A pesar de que en el país existe capacidad instalada para la producción de etanol anhidro a partir de la caña y de que RECOPE S.A. busca promover el uso de alcohol como biocombustible; tradicionalmente, las iniciativas nacionales de usar el alcohol producido como aditivo en las gasolinas han fracasado por factores de precios.

En la década de los 70, con la primera crisis petrolera, Costa Rica, al igual que Brasil, hizo un primer intento por introducir alcohol en las gasolinas. Cuando los precios internacionales del petróleo volvieron a la normalidad, en Costa Rica esta iniciativa se abandonó; Brasil por su parte continuó desarrollando su industria de biocombustibles.

En el año 2006, Costa Rica decide impulsar nuevamente el uso de gasolinas con etanol. A través de RECOPE se pone en marcha el proyecto piloto de mezcla de gasolina con etanol en el Plantel Barranca con la intención de extenderlo a todo el país. Entre el periodo 2006 a 2013, el proyecto no prospera, ni se extiende al resto del país, entre otros factores, debido a que no se logra establecer un suministro de alcohol de origen nacional y a decisiones políticas en torno al precio de los productos importados.

Es evidente entonces que el desarrollo de un proyecto congruente para el uso de alcohol como aditivo en las gasolinas requiere de una planificación y compromiso de los sectores



agroindustriales y energéticos del país a largo plazo, que no fluctúe a merced de los precios internacionales del petróleo.

Dada esta situación el objetivo principal de este proyecto es: evaluar el desempeño de la producción de bioetanol a partir del corazón y la cáscara de la piña y una mezcla de estos, utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

## CAPÍTULO 2

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Generalidades de la piña:

La piña, *Ananas comusus*, es una fruta de la familia de las bromelias (sub Clase de Monocotiledóneas) tiene alrededor de 1400 especies en todo el mundo; es oriunda de Suramérica, sin embargo su cultivo se ha logrado extender de manera considerable a múltiples zonas tropicales. El cultivo debe de realizarse en zonas con poco drenaje, abundante luz solar, poca altura y temperaturas entre los 20°C y los 32°C (Herrera, 2008).

Esta fruta está compuesta principalmente por agua en un 80-90%, los carbohidratos son cerca de un 85% de los sólidos totales en la piña, los cuales representan un alto contenido de azúcar (entre 15° y 17° Brix), estos azúcares son principalmente: glucosa, fructuosa y sacarosa; mientras que la fibra representa de un 2 a 3% de los sólidos totales. También se encuentra pequeñas cantidades de otras sustancias como: ácidos orgánicos, sales, proteínas minerales, pigmentos, gomas, pectina entre otros (Araya, 2010).

En Costa Rica se cultivan principalmente la Piña Dorada (MD-2) la cual representa un 97%, y en menor cantidad Monte Lirio, Champaca, Reyna y la española roja. La Piña Dorada, en comparación con las otras especies tiene un color dorado brillante, es más dulce, es altamente resistente a parásitos y tiene una cinética de descomposición más baja (Aranguren, 2006). Su forma es ovalada, con un diámetro máximo de 12 cm, con una cáscara gruesa y marcada por hexágonos los cuales encierran estambres y estigmas resistentes (MEIC, 1987).

Como toda fruta la piña también posee ciertos grados de maduración los cuales los definió el MIEC en 1987, en la norma oficial para la calidad de piña Monte lirio de consumo en estado fresco. En la maduración de la piña se puede ver cómo cambia de un color verde a un color amarillo desde la base de la piña hasta la corona. Estos grados se muestran en el Cuadro 2.1.

**Cuadro 2.1** Escala de grados de maduración de la piña Monte lirio.

<b>Grados de maduración</b>	<b>Características:</b>
Grado 1	Coloración verde amarillenta o amarillo naranja, que cubre el cuarto inferior de la fruta.
Grado 2	Coloración amarillo naranja que cubre hasta la mitad de la fruta.
Grado 3	Coloración amarillo naranja que cubre desde la mitad hasta la totalidad de la fruta.

Fuente: (MEIC, 1987)

Asimismo, en esta norma para la calidad de la piña viene una categoría para el tamaño, las cuales las agrupa en tres categorías dependiendo del peso. Estas categorías se presentan en el Cuadro 2.2.

**Cuadro 2.2** Escala de tamaños de la piña Monte lirio.

<b>Tamaño</b>	<b>Intervalo de peso</b>
Pequeña	0,8 kg – 1,5 kg
Mediana	> 1,5 kg – 2 kg
Grande	> 2 kg

Fuente: (MEIC, 1987)

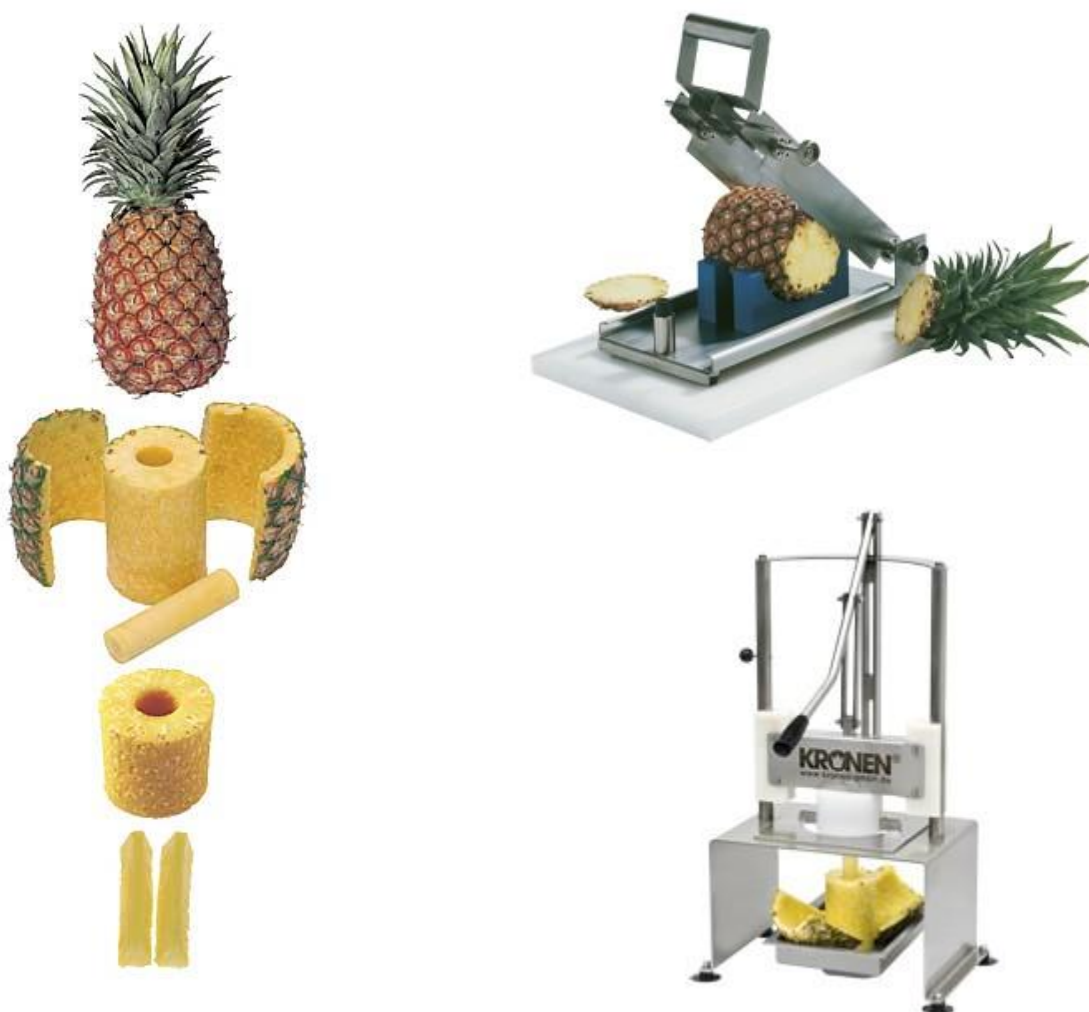
Como es de esperarse la composición de la piña va a depender de múltiples factores, tales como el origen, especie, zona de cultivo y grado de maduración de la fruta. La piña tiene una alta presencia de azúcares en su composición, lo que la hace un sustrato muy conveniente para los procesos de fermentación por su alto contenido de carbohidratos fermentables (Araya, 2010).

## **2.2 Residuos de piña:**

El rendimiento de la piña respecto al fruto entero usualmente es de un 45% a un 55%. A partir de esta se obtienen una gran variedad de productos como: piña enlatada, deshidratada, jugo o néctar

de piña, piña concentrada, jaleas entre otros. En el año 2010 la exportación de piña fue de unas 1 651 525 toneladas con un valor de 662,4 millones de dólares, mientras que las exportaciones en jugos y concentrados de frutas fue de 179 152,3 toneladas con un valor de 162,6 millones de dólares (Procomer, 2011).

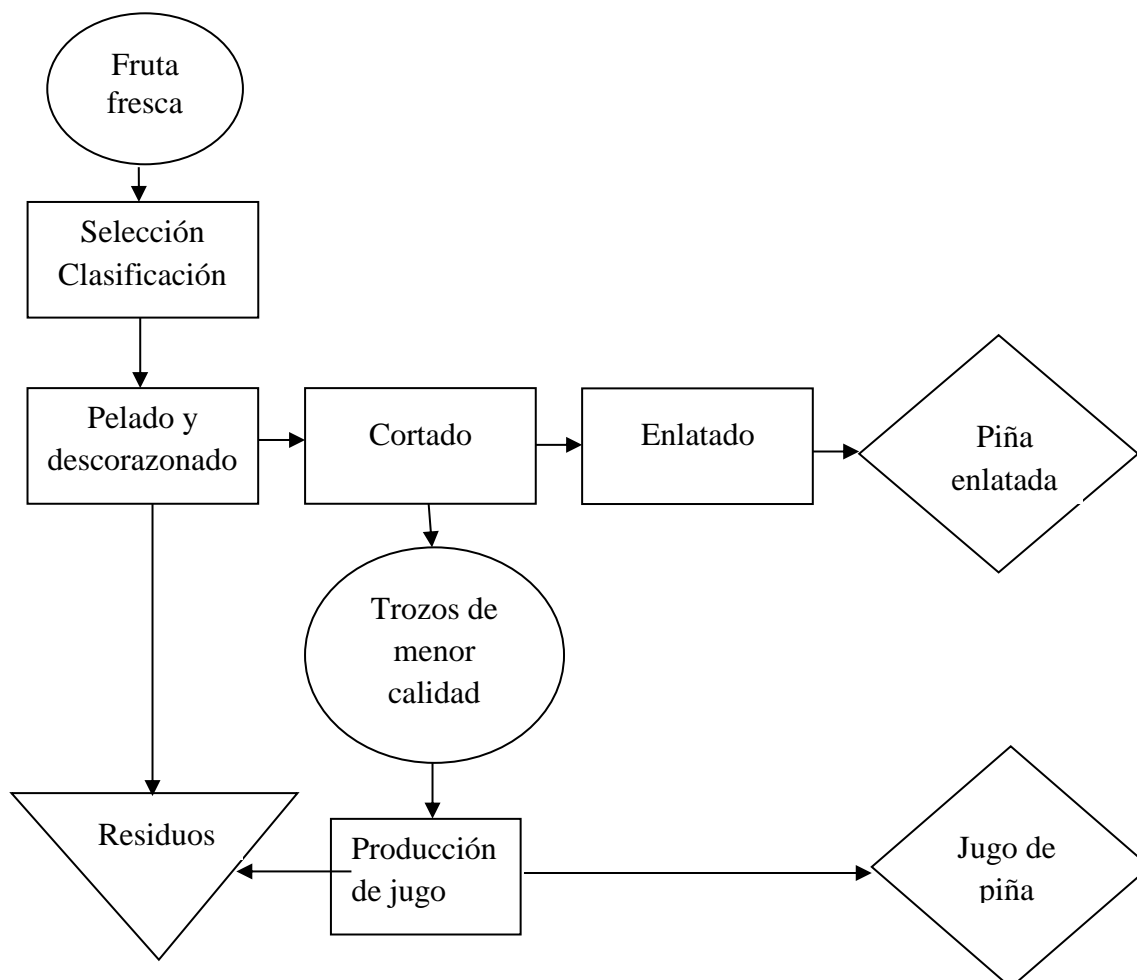
Comercialmente para la preparación de los aros de piña, se le realizan varios cortes, las dimensiones de estos aros varían con respecto a cada empresa, un ejemplo de estas dimensiones son: longitud después de remover la base y la corona de 9 a 15 cm, el diámetro para de los corazones 25 mm y el diámetro interno del aro de 84 mm. En la Figura 2.1 se presentan algunos ejemplos de estos cortes. (Kronen, 2013).



**Figura 2.1** Equipo para cortar piña.

Fuente: (Kronen, 2013)

Los principales desechos generados en el procesamiento de la piña son: las cáscaras, semillas, corazón y entre otros. En la Figura 2.2 se presenta el proceso de básico del procesamiento de la piña (Bin & Moch, 2007).



**Figura 2.2** Diagrama de flujo del procesamiento de la piña.

Fuente: (Bin & Moch, 2007)

Los residuos, se tratan mediante un sistema de prensado y triturado, sedimentado y separado se recupera cerca de un 50% fracción en masa en fase líquida y un 50% en fase sólida. En el Cuadro 2.3 se presenta la composición de la fase líquida (de una variedad de piña no reportada). Además, de estos componentes se encuentran pequeñas cantidades nitrógeno y trazas de otros

elementos tales como el magnesio, el manganeso, sodio y potasio, los cuales pueden ser beneficiosos para el crecimiento de bacterias u otros microorganismos (Rashid, 2008).

**Cuadro 2.3** Composición química de un desecho líquido de piña en el procesamiento de la producción de la piña enlatada de la variedad no reportada)

Composición (g/L)	Desecho líquido de la piña	
	Antes de esterilizar	Después de esterilizar
Oxígeno disuelto	100,8	103,7
Azúcares reductores	39,20	41,20
Azúcares totales	100,0	100,9
Dextrano	1,50	1,50
Rafinosa	2,60	1,50
Sacarosa	40,1	40,1
Glucosa	23,6	23,6
Galactosa	1,70	2,10
Fructuosa	14,0	15,6
Proteína	0,90	-

Fuente: (Sasaki *et al.*, 1991)

Actualmente hay varias formas para disponer los desechos de la piña, una de ellas es incorporarla con el alimento para ganado; sin embargo, no siempre las fincas ganaderas están cerca de las industrias procesadoras de piña. Otra forma de manejar los desechos es aprovechar las fibras de las cáscaras y hojas para hacer tejidos biodegradables que se pueden usar para empaques, mientras que los corazones o piñas golpeadas se pueden utilizar para producir jabones terapéuticos (Barrantes, 2006).

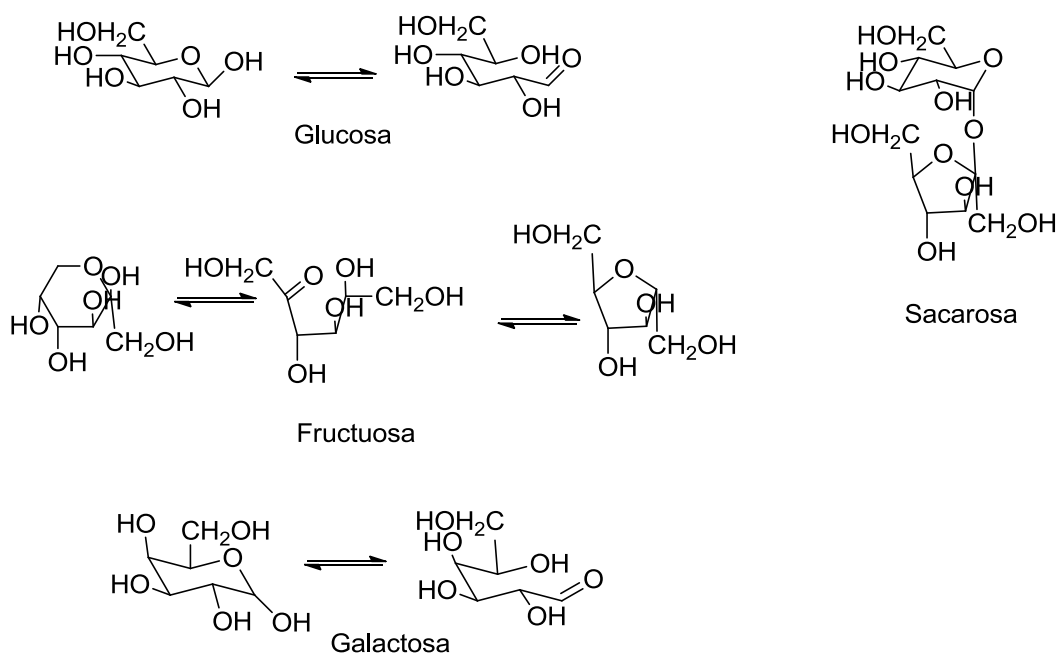
Los desechos de la cáscara de piña, al igual que la cascarilla de arroz y el aserrín del roble, son ricos en lignina y celulosa que pueden ser bencilados con la finalidad de obtener un material similar al plástico (Montoya *et al.*, 1998).

## 2.3 Azúcares

Estos se dividen en 2 clases, los más sencillos son los monosacáridos, mientras que los más complejos contienen dos o más monosacáridos unidos, dentro de estos se encuentran los disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos.

### 2.3.1 Azúcares reductores y azúcares no reductores

Un azúcar reductor es aquel que posee un grupo aldehído, cetona, hemiacetal o hemicetal que se puede reducir por lo que se considera un azúcar reductor, si carece de estos grupos se considera un azúcar no reductor. Entre los principales azúcares reductores presentes en la piña se encuentran: la glucosa, galactosa y fructuosa; también se encuentra en abundancia la sacarosa que es un azúcar no reductor ya que su enlace glucosídico se establece entre el carbono anomérico de la glucosa y el carbono anomérico de la fructuosa, lo que evita la presencia de enlaces hemiacetales o hemicetales. Con ayuda de enzimas como la invertasa se puede hidrolizar y romper el enlace glucosídico. En la Figura 2.3 se muestra la estructura de los azúcares mencionados anteriormente (Bruice, 2008).



**Figura 2.3** Estructura de la glucosa, galactosa, fructuosa y sacarosa

## 2.4 Fermentación anaeróbica:

La fermentación anaeróbica es una oxidación incompleta que se da en un medio anaerobio oxidando los azúcares formando alcoholes o ácido láctico.

### 2.4.1 Condiciones para la fermentación:

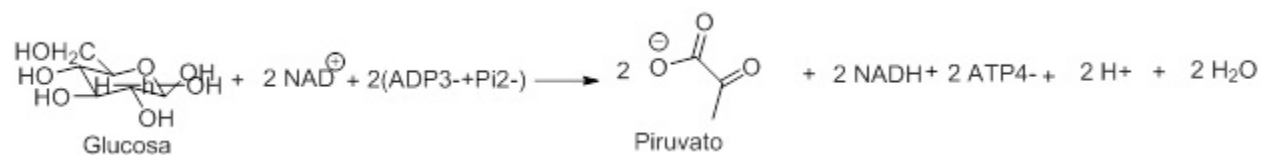
Se sabe que las condiciones de operación más importantes en este tipo de reacciones son la temperatura, el pH, el inóculo, la concentración de oxígeno, el pretratamiento, las fuentes de carbono y nitrógeno así como presencia de contaminantes.

El escoger la cepa de microorganismo para el proceso fermentativo es uno de los puntos más importantes a considerar, ya que este debe tener una reproducción mayor con respecto a los otros los posibles contaminantes, para disminuir los productos no deseados en la reacción, además debe de resistir concentraciones relativamente altas de alcohol (Makien *et al*, 2004).

En este trabajo se utiliza la *Saccharomyces cerevisiae*, ya que esta levadura en medios anaeróbicos, a temperaturas de 30 °C y pH de 5, produce alcohol y dióxido de carbono (R.D Tyagi, .T.K Ghose, 2004).

### 2.4.1 Mecanismos de fermentación

El mecanismo de la fermentación empieza con la glucólisis, es decir, la ruptura enzimática del azúcar por la ruta de Embden Meyerholft, tal y como se muestra a continuación: (McGuilvery, 1977).



**Figura 2.4** Formación de los aniones piruvato.

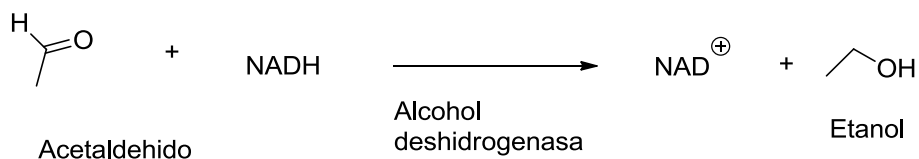


Una vez con las 2 moléculas de piruvato, actúa una enzima llamada piruvato descarboxilasa, la cual cataliza una reacción de descarboxilación, lo que hace que se forme un acetaldehído, ver Figura 2.5.



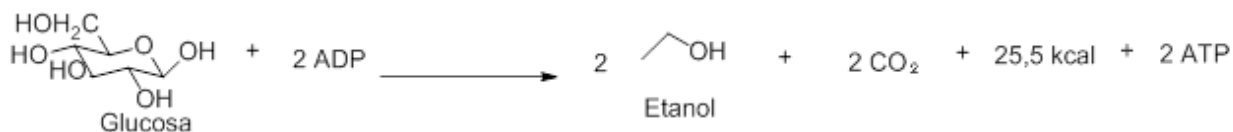
**Figura 2.5** Formación del acetaldehído

Por último se da la reducción del acetaldehído a etanol (Figura 2.6) la cual es catalizada por la enzima alcohol deshidrogenasa, lo cual regenera el  $\text{NAD}^+$  que se consumió en la formación del piruvato (Voet, *et al* 2009).



**Figura 2.6** Formación del etanol

Entonces, la reacción global de la fermentación está dada por la ecuación que se muestra en a Figura 2.7:



**Figura 2.7** Reacción general de fermentación alcohólica

De los productos de esta reacción, la energía en forma de ATP y en forma de calor es aprovechada por la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, para sus funciones vitales y su

reproducción, el etanol es nuestro producto de interés, y el dióxido de carbono se utiliza como un método de medición del avance de la reacción.

## 2.5 Cinética de las reacciones bioquímicas

La cinética de una reacción se define como la velocidad de formación o consumo de una sustancia, esta velocidad depende de muchas variables, las más comunes son: temperatura y las concentraciones de reactivos y productos, sin embargo en las reacciones donde intervienen microorganismos tales como: hongos, algas y bacterias, la cinética es más compleja ya que hay formaciones de productos intermedios y las reacciones ya no se comportan como reacciones elementales, estas reacciones dependen de las condiciones en las que se encuentre el organismo (pH, presencia de sustancias inhibitorias, fuentes de nitrógeno, fosforo, magnesio, vitaminas, minerales, trazas de otros compuestos como cobre, hierro entre otros) para que este se pueda reproducir y formar el producto de interés.

### 2.5.1 Cinética de fermentaciones alcohólicas batch

En reactores “*batch*” o por lotes, en las fermentaciones anaeróbicas se presentan cuatro zonas típicas:

La primera es una zona de retraso o de adaptación celular en la cual no hay crecimiento de la población celular ni se observa una gran producción de etanol, en esta zona los microorganismos se adaptan al sistema, el tiempo de esta zona varía dependiendo de los microorganismos y que tan diferentes sean las condiciones con respecto a las condiciones que tenían originalmente, industrialmente esta etapa no se realiza en un reactor de tamaño industrial, para disminuir los costos operativos.

La segunda zona es de crecimiento exponencial del número de microorganismos, en esta zona se observa una gran producción de etanol.

La tercer es una zona estacionaria en la cual se da una muy baja formación de etanol y el crecimiento celular es nulo, ya que se da el agotamiento del sustrato, de alguno de los

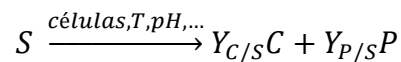
componentes necesarios para el crecimiento, o la acumulación de productos que son inhibidores tóxicos para las células (como el etanol), en este caso para maximizar la producción se recomienda diluir la solución o trabajar con una concentración inicial de sustrato que sea menor, en el caso de agotamiento de sustrato, no hay nada que se pueda hacer para maximizar la producción.

La cuarta zona que es la de muerte celular, no es importante ni deseable a nivel industrial, en esta zona no hay producción etanol y se da la muerte de las levaduras (Izquierdo, 2004).

### 2.5.2 Estequiometria de bioreactores por lotes

Dado que en este proceso se forman muchos productos intermedios, y el crecimiento celular depende de muchas variables como ya se mencionó anteriormente, una manera simplificada de tratar esto es analizar la estequiometria en función del consumo de sustrato.

*Sustrato* → *células* + *producto*



Donde:

$Y_{C/S}$ : es el coeficiente de la masa de células nuevas entre la masa del sustrato consumido para formar este producto, adim

$Y_{P/S}$ : es la masa del producto formado entre la masa del sustrato consumido para formar este producto, adim. (Fogler, 2001)

### 2.5.3 Cinética del crecimiento celular

Generalmente se cree que el crecimiento en la zona exponencial es proporcional al número de células presentes en ese instante, lo cual se describe en la ley de Malthus:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \quad (2.1)$$

Donde:

$x$ : es la concentración de células, g/L.

$t$ : es tiempo, h.

$\mu$ : es la constante de crecimiento celular g/ L h.

Como resultado de esta integración se obtiene una ecuación exponencial y evaluando la condición de frontera en la que en el tiempo 0 corresponde la concentración de células iniciales  $x_0$ , se obtiene:

$$x = e^{\mu t} + x_0 \quad (2.2)$$

De esto se derivan muchos modelos matemáticos, conocidos como las ecuaciones de crecimiento (Rao, 2010).

Sin embargo las reacciones de fermentación normalmente atraviesan las cuatro zonas mencionadas anteriormente, ya que la velocidad de crecimiento varía en cada zona, y depende de la concentración del sustrato, por lo cual se han desarrollado muchos modelos empíricos, tales como el de Monod:

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + s} \quad (2.3)$$

Dónde:

$\mu_m$ : es crecimiento celular máximo, g/L h.

$s$ : es concentración del sustrato, mg/L.

$K_s$ : Es la concentración limitante de crecimiento, es decir, es la concentración de sustrato que se tiene cuando la velocidad de crecimiento es el valor de la mitad del crecimiento máximo. (Izquierdo, 2004)

En el caso de la *Saccharomyces cerevisiae* utilizando glucosa como sustrato el valor de la  $K_s$  es de 0,5 mg/L. Como se mencionó antes, existen muchas otras variables que afectan el proceso de la reproducción de los microorganismos, se han desarrollado otros modelos que incluyen aspectos como la cantidad de nitrógeno y la presencia de etanol que en este caso es una sustancia inhibitoria, estos otros modelos ganan precisión, pero pierden sencillez y son más complejos de utilizar ya que al medir más variables los costos aumentan (Rao, 2010).

Otro modelo comúnmente usado en fermentaciones en las que se produce gas es una ecuación modificada de Gompertz, la cual considera el tiempo de producción máxima, el máximo producido y el tiempo de adaptación celular (Montoya, 2012).

$$Cn_{et} = Pm e^{-e^{\left(\frac{2,71 Rm}{Pm}(\lambda-t)+1\right)}} \quad (2.4)$$

Donde:

Pm: Es la producción máxima, % v/v.

Rm: Es la tasa de producción máxima, (% v/v)/h.

$\lambda$ : Es el tiempo de adaptación celular, h.

## 2.6 Estudios previos de fermentaciones alcohólicas con desechos de piña:

En el trabajo de Murillo, se estudió el efecto de la fermentación anaeróbica de la piña Cayena Lisa ya que al madurar se acumula acetaldehído que es un primer metabolito, el cual se convierte a etanol por medio enzimático, esta producción de etanol fue a temperatura ambiente (22 °C) en 4 días produjo 27 mg de Etanol/g de pulpa de piña (Murillo, 2001).

En el trabajo de Córdoba, se realizó un estudio del efecto de la concentración de NaOH, celulosa y celobiasa en hidrólisis enzimática del rastrojo de piña, se fermentó durante 25 horas y se trabajó con concentraciones de rastrojo de 25,10 g/L, 35,10g/L y 50,30 g/L, obteniendo concentraciones de etanol de 1,9 %v/v 1,8 %v/v y 1,9%v/v, respectivamente (Córdoba, 2011).

En el trabajo de Fonseca, se realizó una hidrólisis de la celulosa de la corona de piña, y se trabajó con concentraciones de corona de 0 g/L, 40 g/L, 60 g/L 80 g/L y 100 g/L obteniendo una concentración de etanol de 0,28 %v/v, 1,19 %v/v 1,28 %v/v, 2,05 %v/v y 2,21%v/v, respectivamente (Fonseca, 2011).

En el trabajo de Rodríguez, se realizó un estudio del efecto del tamaño de partícula y concentración de celulosa y celobiasa en hidrólisis enzimática del rastrojo de piña, se fermentó durante 32 horas y se trabajó con concentraciones de rastrojo de 60 g/L obteniendo una concentración máxima de 1,5% m/m (Rodríguez, 2012).

## CAPÍTULO 3

### METODOLOGÍA EXPERIMENTAL, MATERIALES Y EQUIPO

Este proyecto tiene como objetivo general estudiar la producción de etanol a partir del corazón y la cáscara de la piña utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Para esto se emplean varias pruebas de caracterización de los sustratos y, se realizan varias etapas experimentales, de las cuales las primeras tres etapas son independientes entre sí y se hacen de manera preliminar, con el fin de obtener las mejores condiciones para la producción de etanol y una determinación exacta del mismo. En este capítulo se presentaran los materiales, equipos, variables, métodos y el diseño estadístico en las etapas en las que se requiera.

#### 3.1 Materiales y equipo.

En esta sección se detallan los materiales y equipos empleados en la investigación.

##### 3.1.1 Reactivos

Los reactivos y su pureza, utilizadas en la investigación se describen en el Cuadro 3.1.

**Cuadro 3.1** Reactivos utilizados en el trabajo experimental.

Reactivo	Proveedor	Pureza
Ácido clorhídrico	Gamma	38%
Ácido sulfúrico	Honeywell Ridel-de Haën	98%
Fosfato diácido de sodio	Adrick Company	98%
Glucosa	Sigma	-
Hidróxido de sodio	J. T Baker	98,1%
Nitrato de amonio	Merck	99%
Reactivo (para medición de glucosa)	Biocientifica	-
Sulfato de cobre	Gamma	95-98%
Sulfato de magnesio heptahidratado	Baker Chemical phillpsburg	99,2%

### 3.1.2 Equipo Experimental

En el Cuadro 3.2 se detalla el equipo experimental empleado en el trabajo experimental.

**Cuadro 3.2** Equipo empleado durante la investigación.

<b>Equipo</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Ámbito</b>	<b>Placa UCR</b>
Autoclave	TOMIN	0,3 kg cm <sup>-2</sup>	215001
Balanza semianalítica	Adam	0-360 g	223343
Balanza analítica	Denver instrument	0-210 g	240466
Baño de agua con control de temperatura	Lab Companion	0-100 °C	320390
Horno	Blue M	0-300 °C	120757
Espectrofotómetro Bio Mate 3	Thermo Scientific	-	27046
Licuadora	Oster	-	-
Micropipeta	Trasferpette	10-100 µL	-
Mufla	Jelrus	0-900 °C	77540
pHmetro	OAKTON	-	131914
Refractómetro de Abbe	Reichert	1,3000-1,7000	31795

### 3.1.3 Sustrato

Para el trabajo experimental se emplearon corazones y cáscaras de piña dorada MD-2, grado de maduración 3, la cual se adquirió en un super mercado local.

### 3.1.4 Microorganismos para la fermentación

Para el trabajo experimental se utilizó la levadura de panificación *Saccharomyces cerevisiae*, ésta se compró el un paquete de 100 g marca Parapan, en su presentación deshidratada, la cual también fue adquirida en un super mercado local.

## 3.2 Métodos para caracterización del sustrato

Para la caracterización de los sustratos empleados (cáscaras de piña y corazones de piña), se utilizaron 2 piñas grandes y maduras (grado 3), debido al tamaño y peso de las piñas, se utilizaron trozos para poder utilizarse en los métodos de caracterización y a lo largo del experimento, los cuales se describen a continuación:

### 3.2.1 Humedad

La determinación de humedad se realizó según el método descrito en la A.O.A.C. 15th ed. (A.O.A.C, 1990) El cual se detalla en el apéndice D.

### 3.2.2 Cenizas

La determinación de cenizas se realizó mediante el procedimiento de la norma ASTM 1102-84 (ASTM, 2007). El cual se detalla en el apéndice D.

### 3.2.3 Fibra cruda

La determinación de fibra cruda se hizo con el procedimiento descrito por la *Food and Agriculture Organization* (FAO, 1993), el cual se detalla en el apéndice D.

### 3.2.4 Glucosa

Para la determinación de glucosa se emplea el método de Trinder, el cual se describe en el trabajo de Torres (2009). Las lecturas de absorbancia se hacen en un espectrofotómetro Biomate 3 a una longitud de onda de 500 nm, el cual se detalla en el apéndice D.

### 3.2.5 Azúcares reductores y azúcares totales

Para la prueba de azúcares reductores se emplea el método de Nelson-Somogyi que se describe en el trabajo de Torres (2009). Al igual que el método de la Trinder, se usa un espectrofotómetro Biomate 3 y las lecturas de absorbancia se hacen a una longitud de onda de 500 nm. Para la determinación la determinación de azúcares totales también se utiliza el mismo método, solo que las muestras se hidrolizan previamente por vía ácida, el cual se detalla en el apéndice D.



### 3.2.6 Medición de pH

Se midió el pH luego de realizar la calibración del pHmetro en los buffer de pH 4 y pH 10, posteriormente se hace la inmersión del electrodo en la solución de interés, la cual el volumen varió dependiendo de la muestra entre 250 mL y 500 mL.

### 3.2.7 Contenido de sólidos solubles

Se trituraron las muestras en un mortero, se filtró el líquido y se hizo la medición de grados Brix en el refractómetro de Abbe a 20 °C.

## 3.3. Variables del Trabajo experimental

Las variables de estudio se definirán en cada etapa del trabajo experimental.

### 3.3.1 Variables fijas

Para todas las fermentaciones durante las etapas experimentales, se fijaron las variables siguiendo las recomendaciones del trabajo de graduación de Francisco Torres (Torres, 2009).

- Temperatura en 32 °C
- pH inicial en 4,5.
- Concentración inicial de levadura 0,2 g/L.
- Tiempo de fermentación en 30 h y sin agitación.
- Concentración de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  en 1g/L
- Concentración de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  en 0,3 g/L
- Concentración de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  en 0,75 g/L

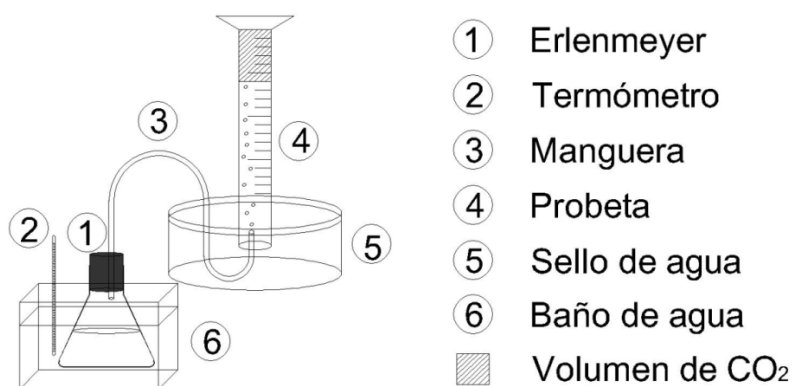
### 3.3.2 Variables de respuesta

La variable de respuesta fue la producción de gas, así como el índice de refracción de un destilado de la fermentación de los corazones y las cáscaras de la piña, el rendimiento con respecto a la cantidad de azúcares reductores y la cinética de reacción.

Para la determinación de la cantidad de etanol producido se utilizaron dos métodos, los cuales se describen a continuación:

1) Refractometría: consiste en utilizar 50,00 mL del licor fermentado (es el licor que se produce en los erlenmeyers luego de estar sometido a las condiciones que se describen a partir de la sección 3.4), a este licor se le adicionaron 50,00 mL de agua destilada, se destiló y se midió el índice de refracción de los primeros 50,00 mL del producto destilado, este índice de refracción se le asocia directamente con la concentración de etanol, ver Apéndice B. Figura B.3 , debido a que este método se utiliza en FANAL.

2) Recolección de CO<sub>2</sub>: se utilizaron erlenmeyers de 500 mL o de 1000 mL los cuales contenían los licores a fermentar (ver sección 3.4 en adelante), estos se introdujeron en un baño de agua a 32 °C, cada erlenmeyer estaba cerrado con un tapón y tenía una manguera conectada a un dispositivo desplazamiento de agua con la finalidad de medir el volumen de CO<sub>2</sub> producido, tal y como se muestra en la Figura 3.1.



**Figura 3.1** Equipo para la medición del volumen gas producto de las fermentaciones.

Una vez medido el volumen del gas se calculan los moles producidos de  $\text{CO}_2$  y la concentración de etanol con ayuda de los siguientes datos experimentales, suposiciones y ecuaciones 3.1 a la 3.5 que aparecen más adelante:

Datos experimentales:

- Diámetro de la probeta.
- Altura del líquido desplazado.
- Temperatura del agua de recolección.
- Altura de la columna de agua sobre el nivel del sello.

Suposiciones:

- El gas producido es únicamente  $\text{CO}_2$ .
- La producción de  $\text{CO}_2$  mantiene la estequiometría de la ecuación 2.7, la cual implica una relación 1 a 1 con respecto a la producción de etanol.
- El gas se comporta como un gas ideal.
- No hay pérdidas de gas en el sistema.
- La temperatura del gas es igual a la temperatura del sello de agua.
- A cada mol de gas le corresponde un mol de etanol que se encuentra en el licor.
- No hay evaporación de agua ni etanol en el licor de fermentación.
- El sistema se encuentra en equilibrio mecánico.
- La presión de la atmósfera es constante y tiene el valor de 88 kPa.
- Solamente hay cambio en el volumen de reacción cuando se extraen muestras líquidas del licor para realizar otros análisis.
- La densidad del agua en el sello es constante y con el valor de  $1000 \text{ kg/m}^3$ .
- El cambio de volumen de mezcla es despreciable para las concentraciones de etanol con las que se trabaja.
- El diámetro de las probetas es constante longitudinalmente.

Método de cálculo:

a) Se calculó el volumen de gas desplazado:

Para esto se utilizan los valores del diámetro y la altura del líquido desplazado

$$V_g = \frac{\pi D^2}{4} \cdot h \quad (3.1)$$

Donde:

D: es Diámetro de la probeta, cm.

h: es La altura del líquido desplazado, cm.

b) Se calculó la presión de CO<sub>2</sub>.

Para esto se utilizó el valor de la temperatura del agua del sello y la altura de la columna de agua respecto al nivel del sello de agua.

$$P_{CO_2} = P_o - \rho g H - P_v \quad (3.2)$$

Donde:

P<sub>o</sub>: es Presión atmosférica con el valor 88 kPa.

P: es la densidad del agua con el valor de 1000 kg / m<sup>3</sup>.

H: es la altura de la columna de agua de la probeta con respecto al nivel del sello de agua, cm.

P<sub>v</sub>: es la presión de vapor correspondiente a la temperatura del sello de agua, kPa.

g: gravedad de la tierra 9,81 m/s<sup>2</sup>.

c) Se calculan los moles de gas.

Para esto se utilizan los valores calculados en los pasos a y b y la temperatura del sello de agua

$$n = \frac{V_g P_{CO_2}}{RT} \quad (3.3)$$

Donde:

$n$ : es el número de moles de  $\text{CO}_2$ , moles.

$P_{\text{CO}_2}$ : es la Presión de  $\text{CO}_2$ , kPa.

$R$ : es la constante de gases ideales, 8,3144 J/ (mol K).

$T$ : es Temperatura del sello de agua, K.

d) Se calculó el volumen de etanol en fase líquida correspondiente a los moles de gas producidos.

$$V_{\text{EtOH}} = n \frac{M_{\text{EtOH}}}{\rho_{\text{EtOH}}} \quad (3.4)$$

Donde:

$V_{\text{EtOH}}$ : es el volumen de etanol, % v/v.

$n$ : es el número de moles de  $\text{CO}_2$ ,  $n$ .

$M_{\text{EtOH}}$ : es la masa molar del etanol 46,07, g/mol.

$\rho_{\text{EtOH}}$ : es la densidad del etanol, 789 kg / m<sup>3</sup>.

e) Se calculó la concentración de etanol correspondiente

$$Cn = \frac{V_{\text{EtOH}}}{V_{\text{sol}}} 100 \quad (3.5)$$

Donde:

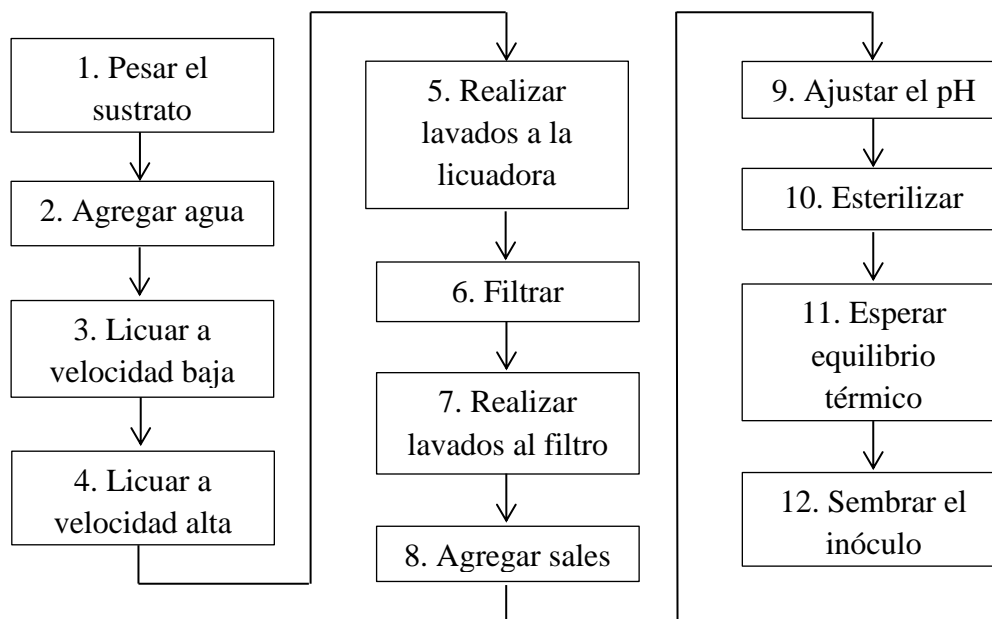
$Cn$ : es la concentración de etanol, % v/v.

$V_{\text{EtOH}}$ : es el volumen de etanol, mL.

$V_{\text{sol}}$ : es volumen del licor, mL.

### 3.3.3 Método de preparación de las disoluciones a fermentar

En la Figura 3.2 se describe el procedimiento general que se empleó para preparar las disoluciones que se van a fermentar, las variaciones de los mismos se detallarán en cada etapa.



**Figura 3.2** Diagrama del procedimiento general empleado para la preparación de las disoluciones.

Descripción del diagrama y pasos de la Figura 3.2

Paso 1: dado que es imposible pesar los corazones y cáscaras sin hacer algún tratamiento previo a las piñas, primero se cortaron las piñas en trozos pequeños y luego se pesaron los diferentes sustratos.

Paso 2: la cantidad de agua se agrega junto con la piña en una licuadora, esta cantidad varía según cada etapa experimental.

Paso 3: se licuó a velocidad baja por 5 minutos.

Paso 4: se licuó a velocidad alta por 3 minutos.

Paso 5: los lavados en que se realizan a la licuadora son para disminuir las pérdidas de sustrato, ya que esta mezcla no es homogénea (debido a la fibra es sólida que no se disuelve), la cantidad de agua empleada varía en cada etapa.

Paso 6: la filtración se realizó con gaza.

Paso 7: los lavados de la gaza se realiza para garantizar la mayor extracción de azúcares solubles en el sustrato.

Paso 8: la cantidad de sales, o nutrientes varían para cada etapa, sin embargo se mantiene la concentración descrita en la sección 3.3.1.

Paso 9: el pH se ajusta agregando gota a gota, soluciones de HCl y NaOH 6 mol/ L.

Paso 10: la esterilización se realizó en un autoclave durante 15 minutos a 121 °C.

Paso 11: se espera que los erlemeyers autoclavados alcancen la temperatura de 32°C, ver sección 3.3.1 y la Figura 3.1

Paso 12: la cantidad de levadura varía en cada etapa, sin embargo se mantiene la concentración de 0,2g/L tal y como se indica en la sección 3.3.1. Y una vez que se siembra el inóculo empieza a contar el tiempo de reacción

### *Etapas preliminares y sus interacciones*

Como ya se mencionó, las primeras tres etapas son preliminares e independientes; sin embargo, para su análisis dependen unas de otras de la siguiente forma:

En la primera etapa se estudia la reproducibilidad del método de recolección de CO<sub>2</sub>, para la determinación de etanol, debido a que se sospechan las posibles pérdidas de CO<sub>2</sub> en el sistema lo que se corrobora con los resultados de la segunda etapa.

En la segunda etapa se realiza la determinación de etanol por 3 métodos diferentes, sin embargo para esta etapa se utilizó el sustrato filtrado, ya que en la tercera etapa se determinó que esta es la mejor forma de trabajar, debido a los resultados de la tercera etapa.

En la tercera etapa se estudia el efecto de la filtración, en esta se realiza la determinación de etanol a partir de la medición de CO<sub>2</sub>, lo cual depende de la primera etapa, ya que con esto se determina que el método es confiable y las diferencias observadas no son por la variación del método en lugar de la variación de la muestras.

### **3.4 Primera etapa experimental. Reproducibilidad del método de recolección de CO<sub>2</sub>.**

Esta etapa experimental tenía como objetivos estudiar la reproducibilidad del método de recolección de CO<sub>2</sub> y estimar la cantidad de CO<sub>2</sub> que se pierde por efecto de transferencia de masa, para esto se midió el pH del agua del sello, ya que el CO<sub>2</sub> disuelto en el agua reacciona

con el agua para producir ácido carbónico  $H_2CO_3$ . En esta etapa se hizo por duplicado y se utilizó sacarosa comercial, ya que es un sustrato de composición definida, se determinó la cantidad de etanol producido por refractometría en el licor fermentado (licor producido después de hacer el procedimiento de fermentación), y se midió del volumen de gas producido durante la fermentación, ver Figura 3.1.4. y la sección 3.3.2.

#### 3.4.1 Procedimiento.

Se siguió el procedimiento descrito en la Figura 3.2, para este caso las muestras eran de 5 g de sacarosa comercial, se diluyeron con 250 mL de agua destilada en Erlenmeyers de 500 mL, para este caso los pasos 3, 4, 5 y 6 no se realizaron debido a que ya la sacarosa se disuelve sin problemas.

#### 3.4.2 Variable de respuesta

Se midió la variación entre muestras, durante una fermentación, para corroborar la precisión del método, así como el cambio de pH en el agua de recolección para estimar cuanto podría ser el mínimo de pérdidas debido a la solubilización del  $CO_2$  y la formación de ácido carbónico.

### **3.5 Segunda etapa experimental. Determinación del etanol producido.**

Esta etapa tuvo como objetivo comparar tres métodos de determinación de etanol, para cuantificar el etanol en las etapas experimentales posteriores.

#### 3.5.1 Procedimiento.

Para esta etapa se trabajó con el procedimiento de la Figura 3.2, en este caso la muestra se pesó 280 g de sustrato (53% corazones de piña y 47% cáscaras de piña), se licuó en 500 mL de agua, se hicieron 2 lavados a la licuadora de 50 mL cada uno, y los otros 100 mL para lavar el filtro, por lo que la concentración en esta etapa es de 400 g/L.



### 3.5.1 Variable de respuesta.

Como variable de respuesta en esta etapa se midió el volumen de CO<sub>2</sub> producido durante la fermentación, así mismo se extrajeron muestras por duplicado de 50 mL del licor de fermentación cada 4 horas, para luego analizarse el contenido de etanol por refractometría y se enviaron los respectivos duplicados al laboratorio de Química Industrial de la Universidad Nacional para analizarse por cromatografía de gases.

Para estudiar la cinética de la reacción se realizó un ajuste al modelo cinético de crecimiento de Gompertz (ver sección 2.5.3) y se estudiaron los valores de los siguientes parámetros cinéticos: el tiempo de retraso, la tasa máxima de producción y la máxima cantidad de etanol producida.

## **3.6 Tercer Etapa experimental. Efecto de la filtración del sustrato.**

Esta etapa tuvo como propósito comparar el efecto en la producción de etanol, al utilizarse el sustrato filtrado y sin filtrar.

### 3.6.1 Procedimiento.

Para esta etapa se sigue el procedimiento de la Figura 3.2, se pesaron 70 g del sustrato que se va a fermentar (corazones o cáscaras) y se trasvasan a una licuadora.

En el caso sin filtración, se agregaron 200 mL de agua destilada en la licuadora, se enjuagó la licuadora con 50 mL de agua destilada, y se colocó directamente el producto en erlenmeyers de 500 mL, omitiendo los pasos 6 y 7 de la Figura 3.2.

En el caso con filtración los 70 g de sustrato se licuaron con 180 mL, se enjuagó la licuadora con 50 mL de agua destilada, se filtró el producto con gaza y luego se realiza un lavado a la gaza con 20 mL, recolectado el filtrado en erlenmeyers de 500 mL.

En ambos casos la concentración de sustrato fue de 280 g/L.

### 3.6.2 Variable respuesta.

Como variable respuesta se midió el volumen de CO<sub>2</sub> producido, luego se determinó la cantidad de etanol correspondiente.

### 3.6.3 Modelo estadístico utilizado

Para esta parte se utilizó un modelo estadístico de comparación de medias en los pares de datos de cada corrida, para esto se utilizó la prueba t-student considerando varianzas constantes.

## **3.7 Cuarta etapa experimental. Efectos de mezclas de corazón y cáscara.**

La cuarta etapa experimental tuvo como objetivo estudiar el comportamiento del gas producido en las fermentaciones utilizando una mezcla de 53% corazones de piña y 47% cáscaras de piña, (debido a la proporción peso corazones y peso de cáscaras en las piñas utilizadas) con la misma concentración que en la etapa anterior, es decir 280 g/L.

### 3.7.1 Procedimiento.

En esta etapa se trabajó con una muestra, y siguiendo el procedimiento de la Figura 3.2, para esta etapa se pesaron 196 g de sustrato que es una mezcla de 53% corazones de piña y 47% cáscaras de piña, se licuaron con 500, se enjuagó la licuadora con 100 mL de agua destilada, se filtró el producto con gaza, luego se realiza un lavado a la gaza con 100 mL, recolectado el filtrado en erlenmeyers de 1000 mL.

Para esta prueba se utilizaron 2 erlenmeyers y se varió el tiempo de inicio de la fermentación en cada erlenmeyer, el primero se inició cerca de las 8:20 am y el segundo a las 12 horas después, se sigue el supuesto de que ambos por tener las mismas condiciones se comportaran de la misma manera.

Se extrajeron alícuotas de 100,00 mL cada 4 horas para determinar cantidad de azúcares reductores y cantidad de etanol. Para la determinación de etanol se utilizó el método de recolección de CO<sub>2</sub> ver sección 3.3.2.

### 3.7.2 Variables respuesta.

Como variable respuesta se utilizarón los resultados de la concentración de etanol obtenida, por medio de la medición del volumen del CO<sub>2</sub> producido y se extraerán alícuotas de 100,00 mL cada 4 horas para hacer la medición de la cantidad de azúcares reductores y para realizar la prueba de refractometría a lo largo de la fermentación y se estudiará la cinética de la reacción.

## **3.8 Quinta etapa experimental. Efecto del uso de extracto de levadura**

En esta etapa tuvo como objetivo trabajar con una concentración posible utilizando el procedimiento de la Figura 3.2, además se agregó extracto de levadura para acelerar la fermentación y disminuir el tiempo de la reacción ya que el extracto de levadura da un medio más rico en nutrientes y vitaminas, lo que favorece la reproducción de la levadura.

### 3.8.1 Procedimiento.

En esta etapa se trabajó con una muestra, se pesaron 366 g de sustrato, se licuaron con 500 mL, una vez terminado este tiempo se enjuagó la licuadora con 100 mL de agua destilada, se filtró el producto con gaza, luego se realizó un lavado a la gaza con 100 mL, recolectado el filtrado en erlenmeyers de 1000 mL. Se siguió el mismo procedimiento descrito en etapas anteriores y se agregó 0,14 g de extracto de levadura junto con la levadura, por lo que para esta etapa la concentración es de 523 g/L.

### 3.8.2 Variables respuesta.

Como variable respuesta se utilizaron los resultados de la concentración de etanol obtenida, por medio de la medición del volumen del CO<sub>2</sub> producido y la cinética de la reacción.

## CAPÍTULO 4

### DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1 Caracterización de la cáscara y el corazón de la piña.

Se realizaron las pruebas de caracterización descritas en la metodología y sus resultados se presentan en el Cuadro 4.1.

**Cuadro 4.1** Caracterización del corazón y la cáscara de la piña utilizada MD2.

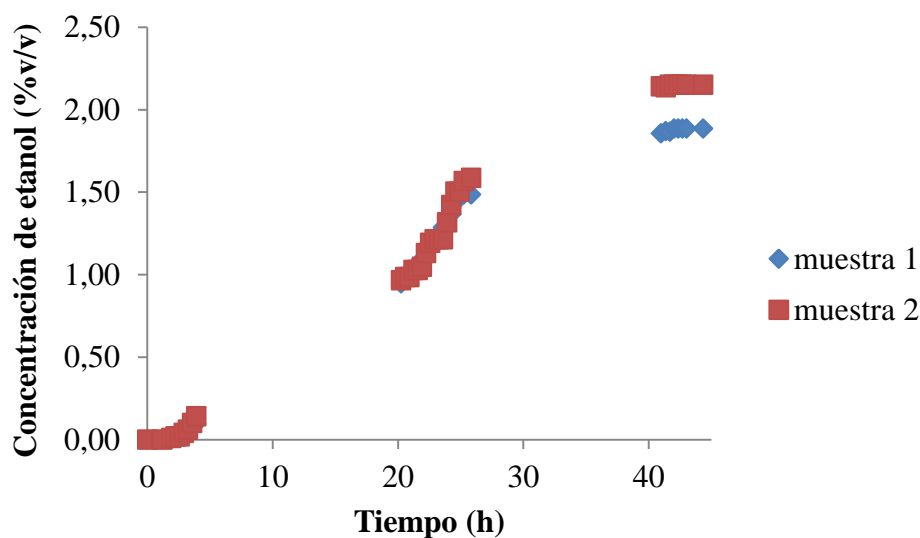
Ensayo	Corazón	Varianza	Cáscara	Varianza
Glucosa (g glucosa / g sustrato)	0,0047	0,00000018	0,0067	0,000 000 16
Azúcares reductores (g A.R / g sustrato)	0,042	0,0000061	0,017	0,0000037
Azúcares totales (g / g sustrato)	0,15	0,000011	0,15	0,00013
Humedad %	86,09	0,000025	81,34	0,00013
Cenizas %	0,2349	0,0000480	0,8249	0,0000014
Fibra cruda %	1,25	0,017	1,81	0,012
Contenido de sólidos solubles (°Brix)	13	0,08	17	0,125

\*Estas pruebas se realizaron por duplicado, debido a las limitaciones de los recursos disponibles.

El Cuadro 4.1 muestra la caracterización química de los sustratos utilizados en este estudio (corazones y cáscaras de piña), el principal componente de la piña es agua, seguido de la fibra y de los azúcares. Los azúcares reductores poseen una mayor concentración en el corazón que en la cáscara; sin embargo, la cantidad de azúcares totales fue similar en ambos sustratos, esto se atribuye a que la cáscara, tiene adherida parte de la pulpa y contiene azúcares que pueden hidrolizarse para producir azúcares reductores. Con respecto a la humedad se ve que ésta es mayor en el corazón de la fruta que en la cáscara. Tal y como se menciona en las sección 2.4 son los azúcares reductores los que se reaccionan para la producción de etanol, sin embargo si se observa en la sección 2.3 muchos azúcares totales se pueden hidrolizar por vía ácida o vía enzimática para la formación de azúcares reductores, y dado que hay azúcares en ambos sustratos esos se pueden utilizar para producir etanol

#### 4.2 Primera etapa experimental. Reproducibilidad del método de recolección de CO<sub>2</sub>.

Los resultados de la prueba de refractometría se descartaron y se utilizó, la prueba de determinación de etanol a partir de la cantidad de CO<sub>2</sub> producido, (ver sección 3.3.2). En la Figura 4.1 se muestra la cantidad de CO<sub>2</sub> expresado como porcentaje de etanol v/v, (ver sección 3.3.2) luego de hacer los cálculos descritos en la sección 3.3.2.



**Figura 4.1** Producción de Etanol de dos muestras con sacarosa.

En la Figura 4.1 se observa cómo el comportamiento en ambas muestras fue muy similar y típico de una fermentación como se indica en la sección 2.5.1; durante las primeras 25 h no se pueden distinguir diferencias entre las muestras, lo cual muestra que el método tiene una alta reproducibilidad en este periodo, luego se empezó a ver una pequeña diferencia, que a las 40 h esta diferencia es una desviación de un 6,5% con respecto al valor promedio de la producción final, lo cual es un valor relativamente bajo e indica que el método es preciso. Debido a las limitaciones del horario de trabajo en los laboratorios de no se pudieron recolectar los datos entre la hora 4 y la 20, ni tampoco el periodo entre la hora 25 y la 41.

Por otra parte se midió el pH en las probetas y el sello de agua (ver Figura 3.1.4 y 3.1.5) antes de someter el sistema a la reacción, el cual era de 7,22. Al terminar la reacción el pH del sello bajó a

6,08. También se midió el pH del agua de dentro de las probetas, estos pHs fueron de 5,78 y 5,81 para las muestras 1 y 2 respectivamente. El agua que se encontraba dentro de la probeta, tenía un pH más ácido que el del agua del sello. A raíz de estas observaciones se puede pensar que hay perfiles de pH dentro de las probetas en la que se recolecta el gas. La variación del pH es producto de la formación de ácido carbónico, arrastre del licor del erlenmeyer que tiene un pH de 4,5 (aunque el flujo de gas es bajo y es poco probable) y a factores externos no controlables.

Dado que la concentración de  $\text{HCO}^-$  es la misma que la de  $[\text{H}_3\text{O}]^+$ , con las ecuaciones 4.1 y 4.2 se calcula la cantidad de  $\text{CO}_2$  disuelto a partir de la medición del pH.

Suponiendo que la reacción de formación hidronio a partir de  $\text{H}_2\text{CO}_3$  está en el equilibrio y que el valor de la constante de acidez es de  $4,5 \times 10^{-7}$  para la reacción 4.1 (Brown, 2004).



Además sabiendo que el valor de la constante de equilibrio de la reacción 4.2 es de  $1,7 \times 10^{-3}$  (Brown, 2004).



Para la realización de un cálculo aproximado se consideró que la variación de pH se debe únicamente a la formación ácido carbónico, esto implicaría un aumento en la concentración de los iones hidronio  $[\text{H}_3\text{O}]^+$  y un descenso en el pH.

A partir del cambio de pH en el agua de las probetas, se encontró el cambio de concentración de iones de  $[\text{H}_3\text{O}]^+$ , y se determinó que la concentración del  $\text{CO}_2$  disuelto, que fue en promedio de: 0,00336 mol/L, y esto en un volumen de 750 mL (el volumen restante en la probetas) son 0,0027 moles y este valor con respecto a los 0,0086 moles, que se encuentran en la fase gaseosa, implicaría que al menos hay un 22% de  $\text{CO}_2$  producido que se encuentra disuelto en el agua de las probetas, por otra parte no se puede cuantificar cuanto es el  $\text{CO}_2$  que por transferencia de masa va hacia la atmósfera o disuelto en el sello de agua.

Ahora estos 0,0086 moles en fase gaseosa sumados a los 0,0027 moles en las probetas son un total de 0,0113 moles de CO<sub>2</sub> que si se convierten etanol, dando 0,5198 gramos de etanol, calculando el rendimiento de esto con respecto a los 5 gramos de sacarosa iniciales, nos da un rendimiento de 0,104 g etanol/ g sacarosa, comparado al valor de la literatura de 0,45 g/g de glucosa (Fogler, 2001), es prácticamente la cuarta parte, por lo cual se sospecha que las pérdidas de CO<sub>2</sub> son mucho mayores.

### 4.3 Segunda etapa experimental. Determinación del etanol producido.

En esta etapa se compararon los resultados de la medición por refractometría, cromatografía y por medición del CO<sub>2</sub> producido; de los tres métodos se consideró como método más exacto el realizado por cromatografía de gases, por lo que se comparan con respecto a este, los resultados se muestran en la Figura 4.2. Cuando se al realizó la medición por refractometría no mostró resultados coherentes por fallas en el equipo disponible para realizar esta prueba.

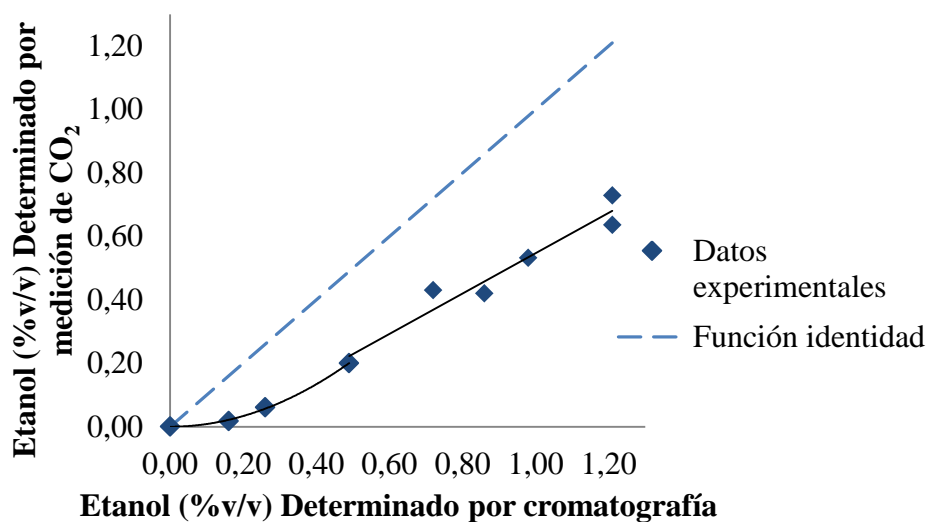
La cantidad de CO<sub>2</sub> producida en esta etapa experimental al igual que en todas las etapas posteriores se obtiene por estequiometría de la reacción la cual dice que un mol de CO<sub>2</sub> equivale a un mol de etanol.

**Cuadro 4.2** %v/v de etanol determinado a partir de la medición CO<sub>2</sub> y por determinación cromatográfica.

Tiempo (h)	%v/v de etanol determinado por medición de CO <sub>2</sub>	%v/v de etanol determinado por cromatografía
3	0,004	0,16
6	0,061	0,26
9	0,200	0,49
12	0,429	0,72
16	0,420	0,86
20	0,532	0,98
24	0,635	1,21
35	0,728	1,21

Como se observa en el Cuadro 4.2 el primer valor que se logra detectar a partir de la cantidad de CO<sub>2</sub> es prácticamente 0 (0,004%), sin embargo para este punto, la medición es más imprecisa,

debido a que si bien es cierto que en el sistema se produce  $\text{CO}_2$ , inicialmente este gas no empieza a desplazar el agua en la probeta, sino que empieza a subir la presión en el erlenmeyer y a desplazar el agua que se encuentren dentro de las mangueras.



**Figura 4.2** Comparación de métodos de determinación de etanol.

Al comparar los datos experimentales con respecto a la función identidad (el comportamiento ideal que debería seguir en caso de que el método no tenga pérdidas de gas), se observa como todos los valores son menores, lo que nuevamente demuestra que en el sistema hay pérdidas de  $\text{CO}_2$ , ya que parte de este gas no se puede cuantificar por estar las mangueras, disuelto en el agua o liberado a la atmósfera. En el Cuadro 4.3 se muestran los dos ajustes realizados en los datos experimentales, para los primeros cuatro datos se realizó un ajuste de polinomio de orden 2, mientras que para los otros 5 un ajuste lineal, con una pendiente menor a la unidad. Se observa como las desviaciones con respecto a la función identidad van creciendo, lo cual se debe al efecto de que entre mayor es la cantidad de  $\text{CO}_2$  en el sistema, mayores son las pérdidas del mismo y experimentalmente implica mayor tiempo de exposición del gas con el agua del sello.

**Cuadro 4.3** Resultados de los ajustes en la segunda etapa experimental.

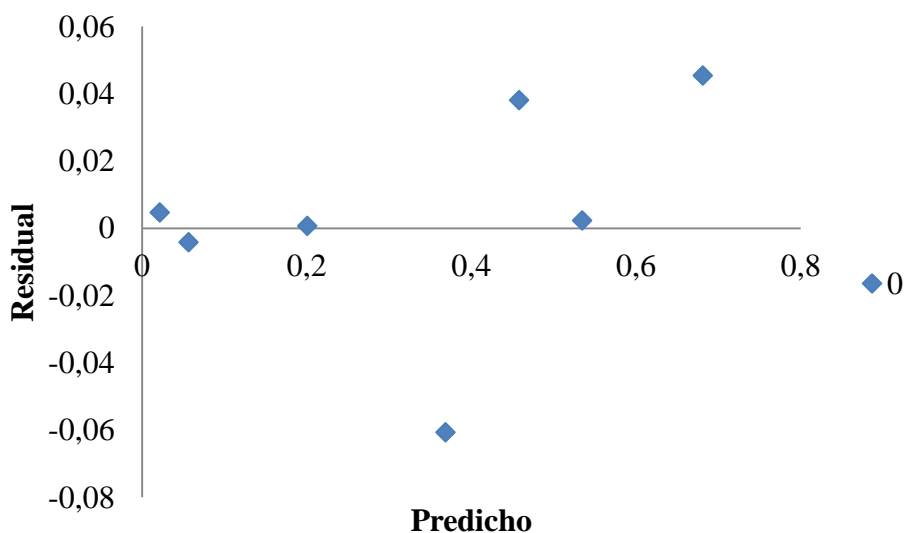
Método	Parámetro de ajuste a	Parámetro de ajuste b	Intervalo	Coefficiente de correlación
Ajuste cuadrático	0,8317	0,0024	0 -0,2	0,9984
Ajuste lineal	0,6372	-0,0899	0,2 - 1,21	0,9424



En el Cuadro 4.3 se muestran los parámetros de ajuste, en el caso del modelo cuadrático:  $a$  es el coeficiente de orden 2, mientras que  $b$ , es el parámetro de orden 1, en este caso se forzó el ajuste a pasar por el origen, por lo que no hay intercepto, mientras que para el caso del ajuste lineal, el coeficiente  $a$  es la pendiente, mientras que el coeficiente  $b$  es el intercepto.

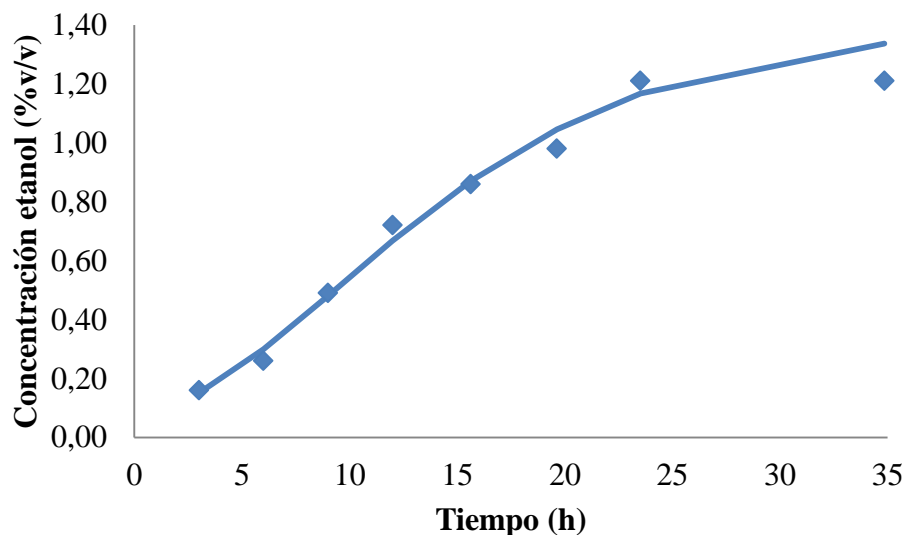
Debido a los altos costos del método de cromatografía de gases se utilizaron estas correlaciones para realizar la conversión del %v/v obtenido por el método de recolección de  $\text{CO}_2$ , en términos del %v/v obtenido para todas las demás etapas de esta investigación.

Como se observa en la Figura 4.3, el modelo presenta una distribución aleatoria de los residuales lo que implica que los datos siguen esta tendencia y se utilizará el método de producción de  $\text{CO}_2$  para calcular la cantidad de etanol en las siguientes etapas experimentales.



**Figura 4.3** Residuales del modelo planteado por el método de cromatografía con respecto al método de medición de  $\text{CO}_2$

Para el estudio de la cinética de reacción en esta etapa, se utilizaron los valores reportados por la determinación de cromatografía de gases, esta se detalla en la Figura 4.4.



**Figura 4.4** Cinética de la producción de etanol utilizando mezcla de corazón y cáscara con una concentración de 400g/L.

En este experimento no se pudo recolectar información de la concentración de la fase de adaptación, ya que antes de las tres horas la concentración es baja y no se tomaron muestras para enviarlas a un análisis de cromatografía; sin embargo, ya a las 23 horas se muestra como la producción de etanol cesa, lo cual indicaba que la reacción está en la zona estacionaria o en la zona de muerte celular, tal y como se describe en la sección 2.5.3.

De los datos anteriores se procede a realizar un ajuste con el programa CurveExpert profesional 1.6 y se realizó un ajuste a un modelo de Gompertz.

$$Cn_{et} = Pm e^{-e^{\left(\frac{2,71 Rm}{Pm}(\lambda-t)+1\right)}} \quad (4.3)$$

Donde los valores de los parámetros se muestran en el Cuadro 4.4

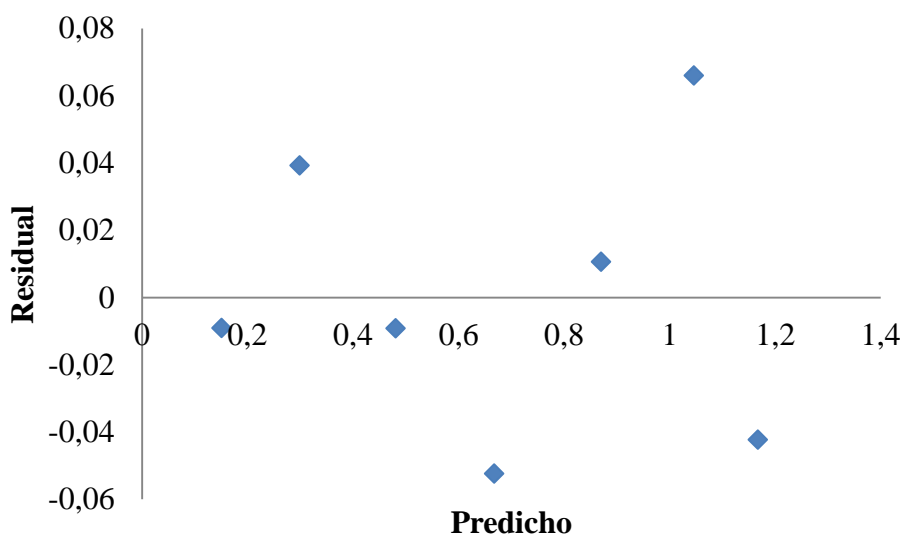
A este experimento se le realiza un ajuste Gompertz ya que se parte del supuesto de que la cinética solamente está en función del tiempo y que la concentración de azúcares es mucho mayor al valor de  $K_s$ , por lo cual en la ecuación de Monod la velocidad de crecimiento celular siempre tiene el valor del crecimiento máximo posible.

**Cuadro 4.4** Parámetros de la cinética de reacción en de la segunda etapa experimental.

Parámetro	Valor	Error estándar	Unidades
Pm	1,3	0,16	% v/v
$\lambda$	1,8	0,93	h
Rm	0,068	0,0068	(%v/v)/h
R <sup>2</sup>	0,9878		

Se tiene que para este caso, la producción máxima de etanol fue de 1,3 %v/v, mientras, el tiempo de adaptación fue de 1,8 horas, mientras que la producción máxima fue de 0,068 (%v/v)/h, y se da en la zona de crecimiento exponencial, el rendimiento de 0,026 g<sub>EtOH</sub>/g<sub>sustrato</sub> y la productividad de 0,00073 (g<sub>EtOH</sub>/g<sub>sustrato</sub> h).

El análisis de normalidad de los datos se presenta en la Figura 4.5.

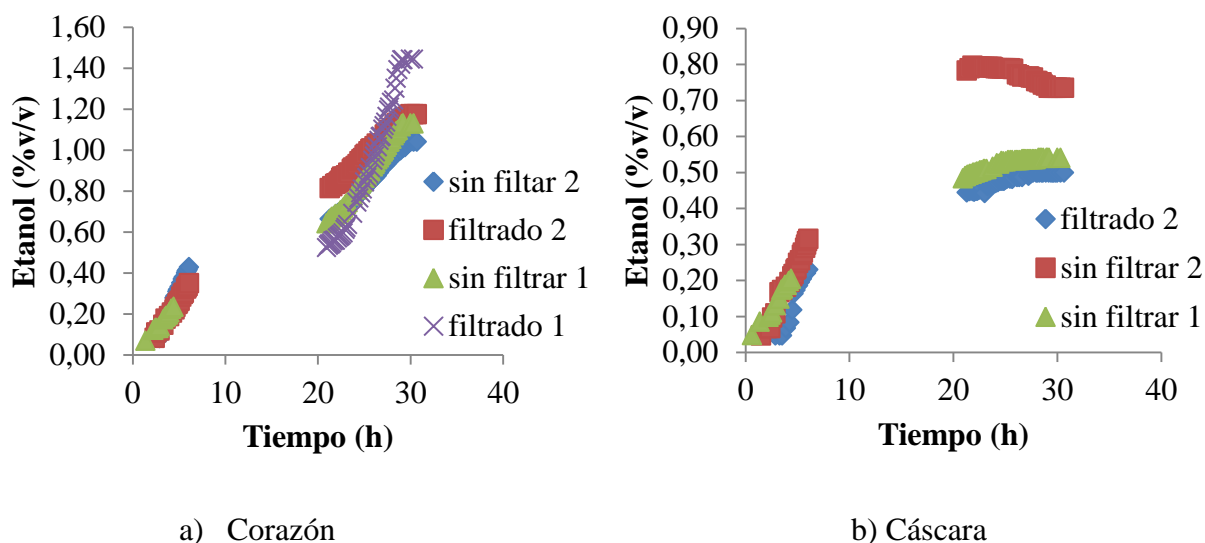


**Figura 4.5** Residuales del modelo planteado para correlacionar la producción del etanol en función del tiempo.

Los residuales de la segunda etapa experimental, presentan una tendencia aleatoria, por lo cual parece predecir bastante bien la cinética de la reacción.

#### 4.4 Tercer etapa experimental. Efecto de la filtración del sustrato.

En las Figuras 4.6 a y b se observan las concentraciones de etanol en %v/v para el corazón y la cáscara respectivamente con y sin filtrado.



**Figura 4.6** Cinética de la producción de etanol utilizando diferentes sustratos.

La cantidad de etanol producida con ambos sustratos fue similar mostrando una concentración mayor en las mezclas con corazones que en las mezclas con cáscaras. Después de 30 horas se hizo la comparación para corroborar si realmente eran diferentes, se realizó una prueba de t-student cuyos resultados se muestran en el Cuadro 4.5, la cual indicó de que no se encontró suficiente información para comprobar que existía diferencia significativas entre las muestras que se filtraron y las que no.

La recolección de los datos desde la hora 6 a la 21, no fue posible debido a las limitaciones de tiempo de trabajo disponible en el laboratorio, así mismo no se pudo el gas para la muestra de cáscara filtrada.

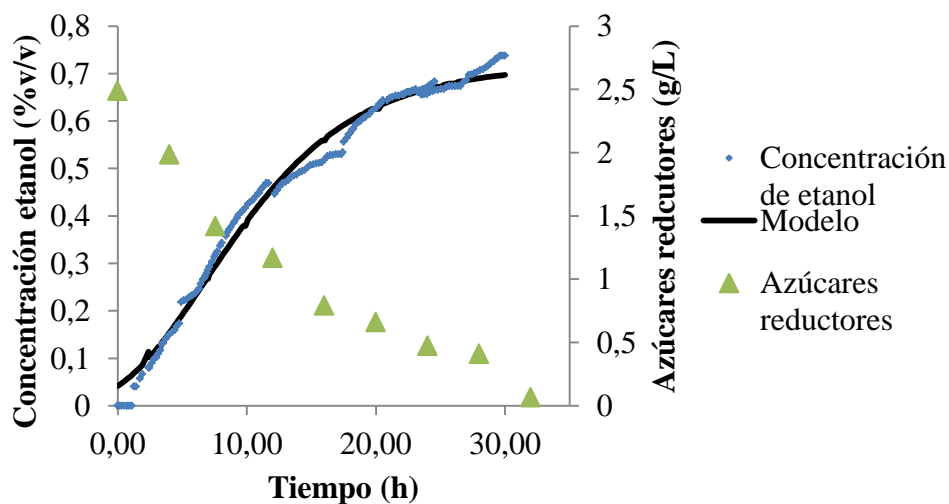
**Cuadro 4.5** Producción de etanol de los estados filtrados y sin filtrar.

Réplica	Corazón		Cáscara	
	Filtrado	Sin filtrar	Filtrado	Sin filtrar
1	1,42	1,12	-	0,54
2	1,17	1,10	0,54	0,73
Promedio	1,31	1,11	0,54	0,64
Diferencia de significativa 95% confianza	No		No	

La mayor cantidad de etanol producida fue utilizando solamente el corazón, esto se atribuyó a la cantidad de azúcares reductores presentes y al hecho a que estos azúcares presentes en el corazón son más fáciles de consumir que los que están presentes en la cáscara, al ser cadenas de azúcares cortas, en su mayoría monosacáridos y disacáridos, que no requieren un tratamiento de hidrólisis, para romper cadenas de azúcares largas y consumirse.

#### 4.5 Cuarta etapa experimental. Efectos de mezclas de corazón y cáscara.

En la Figura 4.7. se observa la producción de etanol, los azúcares reductores y el modelo planteado, en esta etapa se observó el mismo comportamiento de una reacción biológica de las etapas anteriores de la investigación que se describe en la sección 2.5.



**Figura 4.7** Cinética de la producción de etanol y consumo de azúcares utilizados en la cuarta etapa experimental.

Como se observa, se consume la totalidad de los azúcares reductores, y el rendimiento (2 veces la concentración de etanol /concentración de azúcares reductores) fue de 488%; sin embargo, si se observa la cantidad de azúcares totales con los datos del Cuadro 4.1 y se calculan las razones entre azúcares totales/azúcares reductores y se obtienen los valores de 3,56 para el corazón y de 8,59 para la cáscara, lo que muestra es que se consumen gran parte de los azúcares totales ya que estos se hidrolizan por vía enzimática con la levadura.

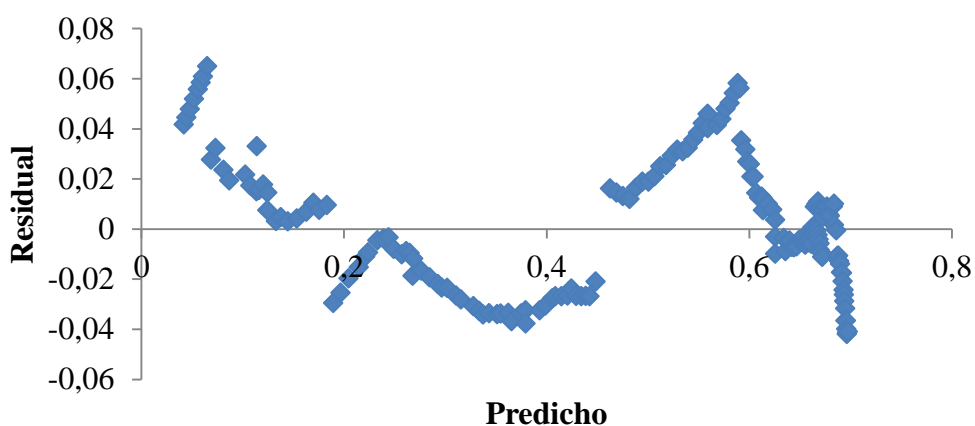
Para etapa se utilizó el modelo de Gompertz que se describe en la ecuación 4.3. Donde los resultados del ajuste se muestran en el Cuadro 4.6

**Cuadro 4.6** Parámetros de la cinética de reacción de la mezcla de corazón y cáscara a 280 g/L.

Parámetro	Valor	Error estándar	Unidades
Pm	0,72	0,0058	% v/v
$\lambda$	0,3	0,17	h
Rm	0,047	0,0085	(% v/v)/h
R <sup>2</sup>	0,9867		

En este caso al tener una menor concentración de sustrato inicial, la producción máxima así como la productividad máxima fue menor; sin embargo, el tiempo de activación celular también es menor; en esta etapa el rendimiento fue de 0,020 g<sub>EtOH</sub>/g<sub>sustrato</sub> y la productividad de 0,00068 g<sub>EtOH</sub>/(g<sub>sustrato</sub> h).

La Figura 4.8 se muestran los residuales de este modelo.



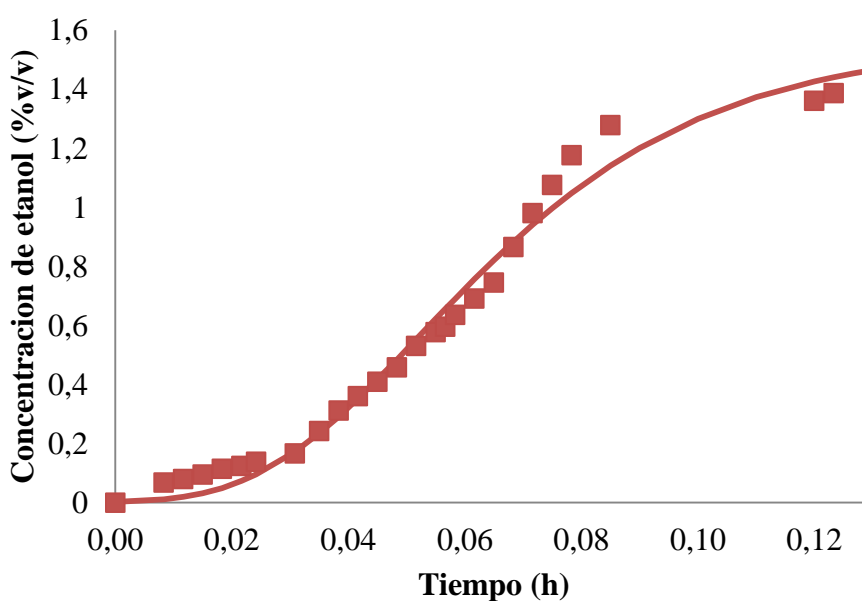
**Figura 4.8** Residuales de la correlación de producción de etanol con respecto al ajuste planteado en el modelo de la Etapa II.

Estos residuales aparentan tener una serie de picos, esto se debe a que durante la extracción de las muestras líquidas, hay fugas y caídas de presión en los momentos de tapar y destapar los erlemneyers.

#### 4.6 Quinta etapa experimental. Efecto del uso de extracto de levadura.

En la quinta etapa se utilizó extracto de levadura, el cual es un sustrato rico en nutrientes, tales como aminoácidos y vitaminas del complejo B, potasio, sodio, magnesio, calcio y otros. Con la presencia de estos nutrientes se espera que la reproducción de la levadura aumente su velocidad.

La Figura 4.9 muestra los resultados obtenidos en esta los cuales siguen el comportamiento esperado, típico de las etapas anteriores del trabajo de investigación (sección 2.5).



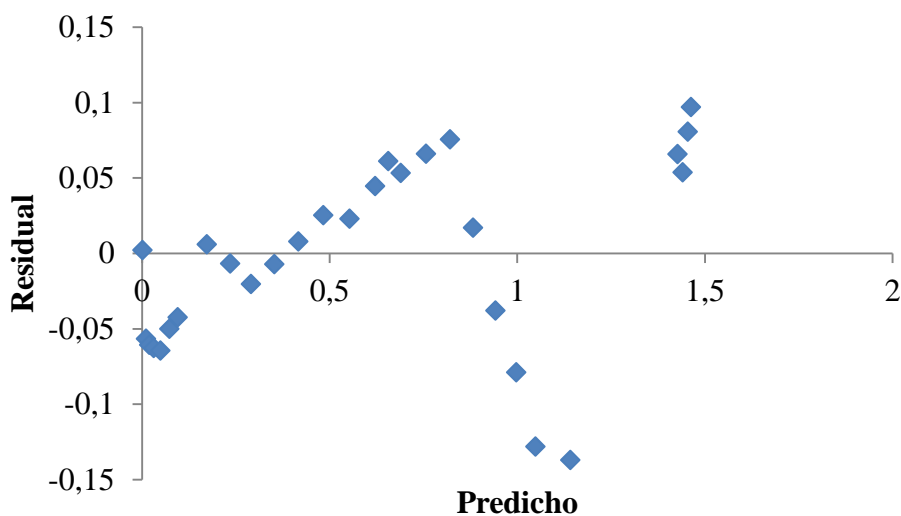
**Figura 4.9** Cinética de la producción de etanol en la quinta etapa experimental.

Se usó el modelo de Gompertz, y los resultados de los parámetros se muestran en el Cuadro 4.7 se detallan para el ajuste correspondiente a la quinta etapa experimental.

**Cuadro 4.7** Parámetros de la cinética de reacción en de la quinta etapa experimental.

Parámetro	Valor	Error Estándar	Unidades
Pm	1,6	0,073	% v/v
$\lambda$	2,5	0,18	h
Rm	0,21	0,012	(%v/v)/h
R <sup>2</sup>	0,9811		

En este caso, la producción máxima de etanol fue de 1,6 % v/v, el tiempo de adaptación celular fue de 2,5 horas, mientras que la tasa máxima de producción fue de 0,21 (%v/v)/h. Lo cual muestra que con estas condiciones se dio una mayor producción de etanol en un menor tiempo, y que el contenido de vitaminas del complejo B, y nutrientes adicionales la fermentación favorecieron la velocidad y eficacia de la producción de etanol, dando un rendimiento de 0,024 g<sub>EtOH</sub>/g<sub>sustrato</sub> y una productividad de 0,0030 g<sub>EtOH</sub>/(g<sub>sustrato</sub> h).

**Figura 4.10** Residuales de la correlación del modelo de Dr. Hill, de los resultados de la quinta etapa experimental.

Al igual que en la etapa anterior, se observan 2 picos, que se debe a que en este caso solamente se extrajeron 2 muestras líquidas una en la hora 4 y otra en la hora 8, sin embargo estas desviaciones se encuentran dentro de la incertidumbre de la medición por lo que se puede utilizar para una determinación de la cinética de esta reacción.



## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- Se logró la producción de bioetanol a partir de corazón y cáscara de piña dorada utilizando la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*, la mayor concentración de etanol obtenida fue de 1,6 %v/v, lo cual comparado con las producciones industriales es un valor bajo.
- La medición de la producción de CO<sub>2</sub> posee una precisión y reproducibilidad alta, debido a que entre dos muestras la variación con respecto al valor final fue de un 6%.
- Se determinó que las pérdidas de CO<sub>2</sub> en la primera etapa fueron en promedio de al menos de un 22%, por el efecto de solubilización del gas en el agua de las probetas y el sello.
- Los resultados del ajuste del método de producción de CO<sub>2</sub> fueron un término cuadrático para los primeros 4 puntos, con un valor de a: 0,8317, b: 0,0024 y c: 0, mientras que para los otros 5 puntos se ajustó un modelo lineal con una pendiente de 0,6372 y un intercepto de -0,099.
- No se encontraron diferencias significativas al filtrar los sustratos, para el proceso de fermentación alcohólica para concentraciones de 280g/L, tanto para los licores hechos con corazones como para los licores hechos con de cáscaras.
- Los parámetros preliminares del ajuste de la ecuación modificada de Gompertz para mezclas de 53% corazón y 47% cáscara, y concentración de 280g/L fueron: Pm 0,72 %v/v;  $\lambda$  0,3 h, Rm 0,047 (%v/v)/h; para una concentración 400 g/L, fueron Pm 1,3 %v/v

$\lambda$  1,8 h y  $R_m$  0,068 (%v/v)/h y para 523 g/L, utilizando extracto de levadura fueron  $P_m$  1,6 %v/v,  $\lambda$  2,5 y  $R_m$  0,21 (%v/v)/h.

- Los resultados de rendimiento y productividad para mezclas de 53% corazón y 47% cáscara, y concentración de 280g/L fueron:  $Y$  0,020  $g_{EtOH}/g_{sustrato}$ ,  $P$  0,0008  $g_{EtOH}/(g_{sustrato} h)$ ; para una concentración 400 g/L, fueron  $Y$  0,026  $g_{EtOH}/g_{sustrato}$ ,  $P$  0,00073  $g_{EtOH}/(g_{sustrato} h)$  y para 523 g/L, utilizando extracto de levadura fueron  $Y$  0,024  $g_{EtOH}/g_{sustrato}$ ,  $P$  0,0030 ( $g_{EtOH}/g_{sustrato} h$ ).
- El uso de extracto de levadura disminuyó el tiempo de reacción prácticamente a la mitad atribuido al aporte de otros nutrientes, y lo cual ayuda a mejorar la eficacia de la producción de etanol.

## 5.2 Recomendaciones:

- Investigar más el tema, utilizando concentraciones más altas de sustrato, utilizando equipos despulpadores que permitan utilizar menos agua, tener licores más concentrados y por tanto poder tener una mayor eficiencia en el proceso.
- Usar una mayor cantidad de materia prima y homogenizarla, para garantizar una mayor uniformidad en el sustrato y disminuir la incertidumbre del uso de diferentes lotes entre muestras, utilizadas.
- Utilizar un sistema diferente para la medición de los gases para disminuir los problemas generados por la difusión, o implementar el uso de cromatografía de gases para determinar la cantidad de etanol presente el licor fermentado.
- Incorporar el uso de un sistema automatizado para la recolección de datos (volumen de gas, temperatura, concentración de etanol), debido a la gran extensión temporal de las corridas experimentales para recopilar datos a lo largo de las 30 horas de corrida experimental.
- Realizar una mayor cantidad de repeticiones para validar la metodología y asegurar la reproducibilidad, debido a la poca homogeneidad del sustrato y por la precisión en la recolección de datos que esta implica.

## CAPÍTULO 6

### NOMENCLATURA

Abs	Absorbancia	Adimensional
Cn	Concentración	g/L %v/v
D	Diámetro	cm
Fd	Factor de dilución	Adimensional
g	gravedad	m/s <sup>2</sup>
h	Altura de gas	mm
H	Altura de agua	mm
K	Concentración limitante de crecimiento	mg/L
M	Masa molecular	g/mol
m	masa	g
n	Índice de refracción	adimensional
P	peso	g
P	Productividad	
Pm	Producción máxima	%v/v
R	Constante de gases ideales	J/ mol K
Rm	Tasa de productividad máxima	(%v/v)/h
T	temperatura	°C
t	tiempo	h
V	Volumen	cm <sup>3</sup>
W	Peso libre de grasa	g
x	Concentración de células	g/L
Y	Rendimiento	g <sub>EtOH</sub> /g <sub>s</sub>
λ	Tiempo de adaptación celular	h
μ	Constante de crecimiento celular	g/ L h
ρ	densidad	kg/m <sup>3</sup>
Subíndices		
A.R	Azúcar reductor	
EtOH	Etanol	
m	máxima	
g	Glucosa	
s	Sustrato	
sol	Solución	

## CAPÍTULO 7

### BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado, F. (2008) *Pre factibilidad técnica y económica de una planta para la extracción de broméila con solventes orgánicos a partir de Rastrojo de piña (Ananas comosus)*. Proyecto de graduación sometido a la consideración de la escuela de Ingeniería Química como requisito final para optar por el grado de licenciatura en Ingeniería Química. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- Aranguren, I. (2006) *Desarrollo de un producto fresco cortado, utilizando piña dorada*. Dentro del marco del Acuerdo específico para el Programa de Intercambio de Estudiantes del Convenio Básico de Colaboración Universitaria Internacional entre la Universidad Pública de Navarra (Pamplona, España) y la Universidad de Costa Rica
- Araya, C. (2010) *Desarrollo de un proceso de fermentación para la producción de ácido láctico, utilizando un sustrato a base de desecho de piña (Ananas comosus) y el microorganismo Lactobacillus casei subespecie rhamnosus*. Tesis de Licenciatura en Tecnología de Alimentos. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- Barrantes, M. (2006). *Beneficios económicos en el uso de sistemas alternativos de manejo de desechos para la piñera agroindustrial Piñas del Bosque en Guácimo Limón* Informe de Proyecto de Graduación para optar por el grado académico de Licenciado en Economía Agrícola con énfasis en Agroambiente San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica.

Bin, H & Moch, A. (2007). Production of organic acid from local raw materials. Final Report.

Technological University of Malaysia, Faculty of Chemical and natural Resources Engineering. Johor Bahru, Malasia

Brown, T *et al* (2004) *Química la ciencia central* 9ed, México: Pearson Education

Camacho, A.C (2009). Insensatez piñera. El Financiero. San José Costa Rica Edición 724.

CNP (2010) *Análisis de mercado de piña fresca*. Extraído el 15 de octubre del 2011 de:

[http://web.cnp.go.cr/images/SIIM/analisis/frutas/pinafres/2011/A\\_pinafresca\\_01\\_04-11.pdf](http://web.cnp.go.cr/images/SIIM/analisis/frutas/pinafres/2011/A_pinafresca_01_04-11.pdf)

CNP (2010) *Boletín informativo del jugo de piña* Extraído el 15 de octubre del 2011 de:

[http://web.cnp.go.cr/images/SIIM/analisis/frutas/pinaproc/2010/Pina\\_01-10.pdf](http://web.cnp.go.cr/images/SIIM/analisis/frutas/pinaproc/2010/Pina_01-10.pdf)

Córdoba, M. (2011) *Determinación del efecto de la concentración de la base NaOH, de la*

*celulosa y la celobiasa en la hidrólisis para la producción de etanol a partir del rastrojo de la piña*. Proyecto de graduación sometido a consideración de la escuela de ingeniería química como requisito final para optar por el grado de licenciatura en ingeniería química. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica.

FAO (2012) *Depósito de documentos de la FAO* Extraído el 12 de marzo del 2012 de:

<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S03.htm#ch3.4>

Fogler, S (2006) *Elements of Chemical Reaction Engineering* 4ed, New York:Pearson Education

Fonseca, K. (2011) *Efecto del pretratamiento, concentración de celulosa y tiempo de hidrólisis*

*en la producción de bioetanol a partir de la corona de piña*. Proyecto de graduación sometido a la consideración de la escuela de ingeniería química como requisito final para optar por el grado licenciatura en ingeniería química. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica.

Herrera, K.(2008) *Determinación de la vida útil de un producto con alto contenido de azúcares*

- elaborado mediante un fritura*. Proyecto de graduación presentado a la escuela de Tecnología de Alimentos como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Tecnología de Alimentos. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- Izquierdo, J *et al* (2004) *Cinética de las reacciones químicas* Barcelona: Publications de la Universitat de Barcelona.
- Laica (2012) *Informe anual zafra 2010-2011* Extraído el 2 de diciembre del 2012 de: <http://www.laica.co.cr/docs/Zafra2010/Zafra2010-2011.pdf>
- Levenspiel, O. (2005) *Ingeniería de las reacciones químicas* 2ed New York: Reverté
- Mayra-Makien, A & Bigret, M. (2004) *Industrial use and production of lactic acid bacteria*. En Salmien,S.; Von Wright, A & Ouehand, A. *Lactic Acid bacteria: microbiology and functional aspects*. 3 ed. Marcel-Dekker, New York.
- Meléndez, I (2002) *Estudio de la Hidrolisis Enzimática y del Proceso Fermentativo para la producción de Alcohol a partir de Yuca, Ñame y Malanga*. Proyecto de Graduación Sometido a la Consideración de la Escuela de Ingeniería Química como requisito final para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Química. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica
- Montoya & Duran (1998) *Utilización de residuos agroindustriales y plastificación de los residuos de piña*. En *Ciencia e Ingeniería Colegio Federado de Químicos e Ingenieros Químicos de Costa Rica*, San José, Costa Rica.
- Montoya, L (2012) *Producción de hidrógeno a partir dela fermentación de residuos agroindustriales de la piña* Proyecto de graduación sometido a la consideración de la escuela de Ingeniería Química para optar por el grado de licenciatura en ingeniería química. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Murillo, A. (2001) *Método por cromatografía de gases para la determinación de compuestos de fermentación alcohólica en frutos de piña (Ananas comosus (L.) Merry)*. Proyecto de graduación presentado a la Facultad de Agronomía para optar por el grado de Licenciado en Ingeniería Agronómica con énfasis en Fitotecnia. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Rao, D. (2010) *Introduction to Biochemical Engineering* 2 ed. New Delhi: McGraw-Hill.
- Rashid, R. (2008). *Optimization and modeling of acid lactic acid production from pineapple*

- waste. *Final Report*. Technological University of Malaysia, Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering. Jhon Bahru, Malasia.
- Rodríguez, A (2012) *Efecto del Tamaño de Partícula y Concentración de las Enzimas Celulasa y Celobiasa, en la Hidrólisis del Rastrojo de la Piña para la Producción de Etanol*. Proyecto de Graduación sometido a consideración de la Escuela de Ingeniería Química como requisito final para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Química. San José, Costa Rica.
- Sasaki, K., Noparatnaraphorn, N & Nagai, S. (1991) *Use of photosynthetic bacteria for production of SCP and chemicals from agro industrial waste*. En: Martin, A.M. Bioconversion of waste material to industrial product. Elvise Applied Science, London.
- Torres, F (2009) *Evaluación del rendimiento de la hidrólisis de la celulosa con pre tratamiento Alcalino*. Proyecto de graduación Sometido a la Consideración de la Escuela de Ingeniería Química para optar por el grado de licenciatura en Ingeniería Química Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Tyagi, R.D and Ghose, T.K (2004) *Studies on immobilizes Saccharomyces cerevisiae I. Analysis of continuos rapid ethanol fermentation in immobilized cell reactor*. Parte de Biotechnology and Bioengineering Volumen 24. Extraído el 15 de octubre del 2011 de: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bit.260240403/abstract>
- Wayne, E , Wentworth, S. & Lander, J (1972) *Fundamentals of Physical Chemistry*. España: Reveté
- Wee, Y., Kim, J. & Ryu, H. (2006) *Biotechnological production of lactic acid and its recent applications*. *Foods Technology and Biotechnology* 44(2): 163-172
- Villegas, J (2011) *Recope pretende extender el uso de etanol en todo el país*. Extraído el 10 de octubre del 2011 de: <http://www.nacion.com/2011-04-07/ElPais/UltimaHora/ElPais2740643.aspx>



# **Apéndice**

## APÉDICE A

### DATOS EXPERIMENTALES

**Cuadro A.1** Datos para la solución madre de la disolución de glucosa.

Dato	Valor
Masa de glucosa (g)	1,0238
Volumen de aforo (L)	1,000

**Cuadro A.2** Datos para la curva de calibración para la medición de glucosa por medio del método de Trinder.

Muestra	$V_{s,m}$ (mL)	Volumen de aforo (mL)	Absorbancia (adim)
1	10,00	100,00	0,042
2	20,00	100,00	0,109
3	30,00	100,00	0,176
4	40,00	100,00	0,259

**Cuadro A.3** Datos para curva de calibración para la medición de azúcares reductores por el método de Nelson Somogyi.

Muestra	$V_{s,m}$ (mL)	Volumen de aforo (mL)	Absorbancia (adim)
1	1	100,00	0,001
2	2	100,00	0,009
3	3	100,00	0,018
4	4	100,00	0,028
5	5	100,00	0,035
6	6	100,00	0,041
7	7	100,00	0,050

**Cuadro A.4** Absorbancias de las pruebas de cuantificación de glucosa empleando el método de Trinder.

Sustrato	Réplica	Masa de la muestra (g)	Volumen de dilución (mL)	Factor de dilución	Absorbancia (adim)
Corazón	1	38,0843	1000,00	10	0,166
	2				0,161
Cáscara	1	29,7612	500,00	20	0,223
	2				0,208

**Cuadro A.5** Resultados de las pruebas de cuantificación de azúcares reductores en la piña empleando el método de Nelson Somogyi.

Sustrato	Réplica	Masa de la muestra (g)	Volumen de dilución (mL)	Factor de dilución	Absorbancia (adim)
Corazón	1	2,6996	500,00	100	0,028
	2				0,031
Cáscara	1	2,3009	500,00	100	0,005
	2				0,007

**Cuadro A.6** Resultados de las pruebas de cuantificación de azúcares totales empleando el método de Nelson Somogyi.

Sustrato	Réplica	Masa de la muestra (g)	Volumen de dilución (mL)	Factor de dilución	Absorbancia (adim)
Corazón	1	2,69965	500,00	400	0,026
	2				0,025
Cáscara	1	2,30095	500,00	400	0,022
	2				0,019

**Cuadro A.7** Medición de grados Brix de los distintos sustratos preparados.

Sustrato	Masa de la muestra (g)	Volumen de dilución (mL)	Grados Brix	Temperatura (°C)
Corazón	25,3048	100,00	1,75	25,2
Cáscara	33,2372	100,00	2,00	28,4

**Cuadro A.8** Datos para la cuantificación de humedad de la cáscara y el corazón de piña.

Sustrato	Número de Réplica	Masa sustrato húmedo + crisol (g)	Masa sustrato seco + crisol (g)	Masa del crisol (g)
Corazón	1	59,6839	52,3373	51,1156
	2	53,3511	46,5383	45,4705
Cáscara	1	53,5120	44,1220	42,0810
	2	64,0165	53,0902	50,4482

**Cuadro A.9** Datos para la cuantificación de cenizas en la cáscara y el corazón de piña.

Sustrato	Réplica	Masa sustrato húmedo + crisol (g)	Masa de cenizas+ crisol (g)	Masa del crisol (g)
Corazón	1	59,6839	51,1353	51,1156
	2	53,3511	45,4894	45,4705
Cáscara	1	53,5120	42,1754	42,0810
	2	64,0165	50,5600	50,4482

**Cuadro A.10** Datos para la cuantificación de fibra cruda.

<b>Sustrato</b>	<b>Réplica</b>	<b>W (g)</b>	<b>P1 (g)</b>	<b>P2 (g)</b>
Corazón	1	1,6818	50,2350	47,9706
	2	1,4188	43,1481	41,4988
Cáscara	1	1,0771	51,1373	49,1034
	2	1,3743	53,2759	50,8920

**Cuadro A.11** Datos para la preparación del licor de fermentación utilizado en la primera etapa experimental.

<b>Valor</b>	<b>Muestra 1</b>	<b>Muestra 2</b>
Masa de sacarosa (g)	5,001	5,003
Volumen (mL)	250	250

**Cuadro A.12** Datos experimentales para la cuantificación de la producción de gases de la primera etapa experimental.

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Altura del agua desplazada (mm)</b>	<b>Altura del agua desplazada (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección (°C)</b>
0,00	0	0	23,0
1,17	0	0	23,0
1,92	0	0,5	23,0
2,25	0,5	1	23,0
2,58	1	1	23,0
2,92	1	2	23,0
3,25	2	3	23,0
3,58	4	5	23,0
3,92	5	7	23,0
20,25	48	47	21,0
20,58	50	48	21,0
20,92	51	48	21,0
21,25	52	50	21,0
21,58	54	50	21,0
21,92	54	51	21,0
22,25	56	55	21,0
22,58	60	58	21,0
22,92	61	59	21,0
23,25	63	59	21,0
23,58	65	59	21,0
23,92	67	64	21,0
24,25	69	69	21,0
24,58	74	73	21,0
24,92	74	73	21,0

**Cuadro A.12 (continuación)** Datos experimentales para la cuantificación de la producción de gases de la primera etapa experimental.

Tiempo (h)	Altura del agua desplazada (mm)	Altura del agua desplazada (mm)	Temperatura del agua de recolección (°C)
25,25	75	76	21,0
25,83	75	77	21,0
40,97	93	103	20,0
41,35	94	103	20,5
41,68	94	104	21,0
42,02	95	104	21,0
42,35	95	104	21,0
42,68	95	104	21,0
43,02	95	104	21,0
44,35	95	104	21,0

**Cuadro A.13** Medición de pH realizado en la primera etapa experimental.

Líquido de muestreo	Valor pH
Inicial del agua de recolección	7,22
Final del agua de recolección	6,66
Final en la probeta de recolección de gas de la muestra 1	5,78
Final en la probeta de recolección de gas de la muestra 2	5,81

**Cuadro A.14** Diámetros y alturas iniciales del nivel del líquido de las probetas de recolección de gas de la primera repetición durante las fermentaciones en la primera etapa experimental.

Sustrato	Diámetro de la probeta utilizada (cm)	Altura de la probeta (mm)
Muestra 1	5,665	409
Muestra 2	5,780	412

**Cuadro A.15** Masa utilizada para realizar las fermentaciones en la segunda etapa experimental.

Sustrato	Muestra 1 (g)	Muestra 2 (g)	Muestra 3 (g)
Corazón	148,403	148,452	148,361
Cáscara	131,203	131,682	131,432
Total	279,606	280,134	279,793
Sólidos retenidos ( húmedos)	27,905	29,94	24,95

**Cuadro A.16** Datos para la cuantificación del gas producido en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la Segunda etapa experimental (muestras 1 y 2)

Tiempo 1 (h)	Altura desplazada 1 (mm)	Temperatura del agua de recolección 1 (°C)	Tiempo 2 (h)	Altura desplazada 2 (mm)	Temperatura del agua de recolección 2 (°C)
0,00	0	23,0	0,00	0	23,0
0,93	1	23,0	0,87	0	23,0
1,80	2	23,0	1,33	4	23,0
2,27	3	23,0	1,62	4	24,0
2,55	4	24,0	1,77	4	24,0
2,70	5	24,0	1,97	4	24,0
2,90	5	24,0	2,07	5	24,0
3,00	6	24,0	2,25	5	24,0
3,18	9	24,0	2,43	5	24,0
3,37	9	24,0	2,55	5	24,0
3,48	10	24,0	2,72	6	24,0
3,65	12	24,0	2,88	8	25,0
3,82	13	25,0	3,02	9	25,0
3,95	15	25,0	3,30	10	25,0
4,23	17	25,0	3,33	13	25,0
4,27	22	25,0	3,50	13	25,0
4,43	24	25,0	4,22	16	25,0
5,15	25	25,0	4,37	26	25,0
5,30	42	25,0	4,53	28	25,0
5,47	47	25,0	4,62	33	25,0
5,55	52	25,0	4,77	36	25,0
5,70	54	25,0	4,88	44	25,0
5,82	61	25,0	4,95	45	25,0
5,88	65	25,0	5,00	52	25,0
5,93	72	25,0	5,07	54	25,0
6,00	75	25,0	5,17	55	25,0
6,10	79	25,0	5,25	58	25,0
6,18	84	25,0	5,37	68	25,0
6,30	84	25,0	5,58	83	25,0
6,52	84	25,0	5,67	93	25,0
6,60	84	25,0	5,75	100	25,0
6,68	84	25,0	5,82	105	25,0
6,75	85	25,0	5,92	115	25,0
6,85	87	25,0	5,98	122	25,0
6,92	93	25,0	6,07	128	25,0
7,00	94	25,0	6,20	140	25,0

**Cuadro A.16 (continuación)** Datos para la cuantificación del gas producido en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la Segunda etapa experimental (muestras 1 y 2)

<b>Tiempo 1 (h)</b>	<b>Altura desplazada 1 (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección 1 (°C)</b>	<b>Tiempo 2 (h)</b>	<b>Altura desplazada 2 (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección 2 (°C)</b>
7,13	101	25,0	6,27	145	25,0
7,20	104	25,0	6,38	155	25,0
7,32	110	25,0	6,47	164	25,0
7,40	116	25,0	6,53	169	25,0
7,47	120	25,0	6,60	175	25,0
7,53	125	25,0	6,67	181	25,0
7,60	129	25,0	6,75	189	25,0
7,68	133	25,0	6,92	207	25,0
7,85	147	25,0	7,00	215	25,0
7,93	153	25,0	7,45	255	25,0
8,38	180	25,0	7,50	260	25,0
8,43	185	25,0	7,60	270	25,0
8,53	191	25,0	7,68	280	25,0
8,62	198	25,0	7,82	290	25,0
8,75	204	25,0	7,93	302	25,0
8,87	207	25,0	7,98	308	25,0
8,92	210	25,0	8,07	315	24,0
9,00	216	24,0	8,17	328	24,0
9,10	230	24,0	8,40	345	24,0
9,33	230	24,0	8,52	355	25,0
9,45	240	25,0	8,55	360	25,0
9,48	250	25,0	8,67	373	24,0
9,60	250	25,0	8,73	380	24,0
9,67	260	24,0	8,90	10	24,0
9,83	268	24,0	9,15	32	25,0
10,08	275	24,0	9,38	45	26,0
10,32	295	24,0	9,67	73	27,0
10,60	310	24,0	9,87	89	24,0
10,80	326	24,0	10,02	100	24,0
10,95	341	24,0	10,17	113	24,0
11,10	350	24,0	10,28	122	24,0
11,22	361	24,0	10,45	134	24,0
11,38	367	24,0	10,65	146	24,0
11,58	373	24,0	10,73	152	23,5
11,67	382	23,5	10,88	162	23,5
11,82	386	23,5	11,00	166	23,0

**Cuadro A.16 (continuación)** Datos para la cuantificación del gas producido en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la Segunda etapa experimental (muestras 1 y 2)

<b>Tiempo 1 (h)</b>	<b>Altura desplazada 1 (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección 1 (°C)</b>	<b>Tiempo 2 (h)</b>	<b>Altura desplazada 2 (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección 2 (°C)</b>
11,93	395	23,5	11,07	170	23,0
12,00	403	24,0	11,22	180	23,0
12,15	408	24,0	11,38	190	23,0
-	-	-	11,47	197	23,0
-	-	-	23,03	351	21,0
-	-	-	23,23	7	21,0
-	-	-	23,38	10	21,0
-	-	-	23,68	16	21,0
-	-	-	23,77	17	21,0
-	-	-	23,85	20	21,0
-	-	-	23,93	21	21,0
-	-	-	24,02	24	21,0
-	-	-	24,10	25	21,0
-	-	-	24,18	26	21,0
-	-	-	24,30	28	21,0
-	-	-	24,42	31	21,0
-	-	-	24,53	33	21,0
-	-	-	24,62	35	21,0
-	-	-	24,70	35	21,0
-	-	-	24,80	38	21,0
-	-	-	24,92	40	21,0
-	-	-	25,00	43	21,0
-	-	-	25,10	43	21,0
-	-	-	25,22	45	21,0
-	-	-	25,30	47	21,0
-	-	-	25,38	50	21,0
-	-	-	25,45	50	21,0
-	-	-	25,53	52	21,0
-	-	-	25,67	53	21,0
-	-	-	25,80	57	21,0
-	-	-	25,95	60	21,0
-	-	-	26,08	62	21,0
-	-	-	26,17	65	21,0
-	-	-	26,30	67	21,0
-	-	-	26,42	70	21,0
-	-	-	26,63	73	21,0



**Cuadro A.16 (continuación)** Datos para la cuantificación del gas producido en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la Segunda etapa experimental (muestras 1 y 2)

Tiempo 1 (h)	Altura desplazada 1 (mm)	Temperatura del agua de recolección 1 (°C)	Tiempo 2 (h)	Altura desplazada 2 (mm)	Temperatura del agua de recolección 2 (°C)
-	-	-	26,85	78	21,0
-	-	-	26,97	78	21,5
-	-	-	27,08	79	22,0
-	-	-	27,13	79	22,0
-	-	-	27,23	82	22,0
-	-	-	27,35	86	22,0
-	-	-	27,43	90	22,0
-	-	-	27,97	113	22,0
-	-	-	28,08	119	22,0
-	-	-	28,27	126	22,0
-	-	-	28,47	133	22,0
-	-	-	28,60	140	23,0
-	-	-	28,68	142	23,0
-	-	-	28,77	145	23,0
-	-	-	28,93	148	23,0
-	-	-	28,95	153	23,0
-	-	-	29,05	155	23,0
-	-	-	29,13	158	23,0
-	-	-	29,25	163	23,0
-	-	-	29,35	165	23,0
-	-	-	29,43	167	23,0
-	-	-	29,63	173	23,0
-	-	-	29,77	178	23,0
-	-	-	29,95	182	23,0
-	-	-	30,08	185	23,0
-	-	-	30,30	190	24,0
-	-	-	30,43	195	24,0
-	-	-	30,52	197	24,0
-	-	-	30,60	198	24,0
-	-	-	30,85	205	23,0
-	-	-	30,97	208	23,0
-	-	-	31,13	210	23,0
-	-	-	31,35	213	23,0
-	-	-	31,43	214	23,0
-	-	-	31,80	220	23,0
-	-	-	31,85	221	23,0

**Cuadro A.16 (continuación)** Datos para la cuantificación del gas producido en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la Segunda etapa experimental (muestras 1 y 2)

Tiempo 1 (h)	Altura desplazada 1 (mm)	Temperatura del agua de recolección 1 (°C)	Tiempo 2 (h)	Altura desplazada 2 (mm)	Temperatura del agua de recolección 2 (°C)
-	-	-	32,07	224	23,0
-	-	-	32,23	227	23,0
-	-	-	32,52	230	23,0
-	-	-	32,67	235	23,0
-	-	-	32,77	237	23,0
-	-	-	32,97	239	23,0
-	-	-	33,18	241	23,0
-	-	-	33,38	243	23,0
-	-	-	33,48	244	23,0
-	-	-	33,63	245	23,0
-	-	-	33,85	245	23,0
-	-	-	34,05	245	23,0
-	-	-	34,20	246	23,0
-	-	-	34,40	246	23,0
-	-	-	34,52	246	23,0
-	-	-	34,73	249	23,0
-	-	-	34,85	249	23,0
-	-	-	35,02	250	23,0
-	-	-	35,18	250	23,0
-	-	-	35,35	250	23,0

**Cuadro A.17** Datos para la cuantificación del gas producido en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la Segunda etapa experimental (muestra 3).

Tiempo 3 (min)	Altura desplazada 3 (mm)	Temperatura del agua de recolección 3 (°C)
0,00	0	23,0
0,17	0	23,0
0,25	0	23,0
11,82	217	21,0
12,02	223	21,0
12,17	225	21,0
12,47	241	21,0
12,55	243	21,0
12,63	245	21,0
12,72	247	21,0

**Cuadro A.17 (continuación)** Datos para la cuantificación del gas producido en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la segunda etapa experimental (muestra 3)

<b>Tiempo 3 (min)</b>	<b>Altura desplazada 3 (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección 3 (°C)</b>
12,80	248	21,0
12,88	250	21,0
12,97	253	21,0
13,08	255	21,0
13,20	258	21,0
13,32	259	21,0
13,40	261	21,0
13,48	263	21,0
13,58	265	21,0
13,70	267	21,0
13,78	269	21,0
13,88	270	21,0
14,00	273	21,0
14,08	275	21,0
14,17	276	21,0
14,23	277	21,0
14,32	279	21,0
14,45	281	21,0
14,58	283	21,0
14,73	285	21,0
14,87	289	21,0
14,95	290	21,0
15,08	294	21,0
15,20	297	21,0
15,42	300	21,0
15,63	303	21,0
15,75	304	21,5
15,87	305	22,0
15,92	305	22,0
16,02	309	22,0
16,13	313	22,0
16,22	315	22,0
16,75	325	22,0
16,87	327	22,0
17,05	331	22,0
17,25	335	22,0
17,38	339	22,0

**Cuadro A.17 (continuación)** Datos para la cuantificación del gas producido en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la segunda etapa experimental (muestra 3)

<b>Tiempo 3 (min)</b>	<b>Altura desplazada 3 (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección 3 (°C)</b>
17,47	339	23,0
17,55	343	23,0
17,72	343	23,0
17,73	344	23,0
17,83	345	23,0
17,92	349	23,0
18,03	350	23,0
18,13	352	23,0
18,22	353	23,0
18,42	355	23,0
18,55	358	23,0
18,73	360	23,0
18,87	362	23,0
19,08	364	23,0
19,22	366	23,0
19,30	368	23,0
19,38	370	23,0
19,63	373	23,0
19,75	379	23,0
19,92	381	23,0
20,13	384	23,0
20,22	386	23,0
20,58	390	23,0
20,63	393	23,0
20,85	395	23,0
21,02	400	23,0
21,30	402	23,0
21,45	403	23,0
21,55	406	23,0
21,75	408	23,0
21,97	411	23,0
22,17	413	23,0
22,27	416	23,0
22,42	417	23,0
22,63	417	23,0
22,83	419	23,0
22,98	421	23,0

**Cuadro A.17 (continuación)** Datos para la cuantificación del gas producido en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la segunda etapa experimental (muestra 3)

Tiempo 3 (min)	Altura desplazada 3 (mm)	Temperatura del agua de recolección 3 (°C)
23,18	423	23,0
23,30	425	23,0
23,52	426	23,0
23,63	427	23,0
23,80	436	23,0
23,97	438	23,0
24,13	440	23,0

**Cuadro A.18** Diámetros y alturas iniciales del nivel del líquido de las probetas de recolección de gas producto de las fermentaciones de la mezcla de corazón y cáscara en la segunda etapa experimental.

Muestra	Tiempo de inicio (h)	Diámetro de la probeta utilizada (cm)	Altura de la probeta (mm)
1	0	5,67	405
2	0	5,71	380
	8,9	5,65	391
	11,47	5,71	351
	23,03	5,67	410
3	0	7,75	448

**Cuadro A.19** Absorbancia medida para la medición de azúcares reductores residuales por el método de Nelson Somogyi de la segunda etapa experimental, para la mezcla corazón y cáscara.

Tiempo (h)	Absorbancia (adim)	Factor de dilución	Volumen de reacción
0	0,046	2500	790
3	0,044	2500	690
6	0,038	2500	590
9	0,035	2500	490
12	0,030	2500	766
15,6	0,030	2000	666
19,6	0,026	2000	566
23,5	0,023	2000	466
34,8	0,019	2000	783

**Cuadro A.20** Índices de refracción de los destilados de la etapa segunda etapa experimental, utilizando una mezcla de corazón y cáscara.

Tiempo (h)	Índice de refracción	Temperatura (°C)
3	1,333	21,5
6	1,333	22,1
9	1,333	22,4
12	1,333	23,5
15,6	1,334	23,0
19,6	1,335	21,7
23,5	1,335	22,8
34,8	1,335	24,3

**Cuadro A.21** pH inicial y grados brix del licor que se va a fermentar antes de ajustar a 4,5 y agregar reactivos. En la etapa segunda etapa experimental.

Número de muestra	pH	Grados Brix	Temperatura (°C)
1	4,17	2,0	26,0
2	4,23	2,0	26,1
3	4,18	2,0	26,0

**Cuadro A.22** Cantidad de masa utilizada para las disoluciones probando los diferentes sustratos. En la tercera etapa experimental.

Sustrato	Número de repetición.	Masa usada (g)
Cáscara sin filtrar	1	69,942
	2	70,094
Cáscara filtrada	1	70,026
	2	70,045
Corazón sin filtrar	1	70,005
	2	70,016
Corazón filtrado	1	70,047
	2	70,009

**Cuadro A.23** Altura del volumen desplazado en la primera repetición durante las fermentaciones. En la tercera etapa experimental.

Tiempo (h)	Altura desplazada corazón sin filtrar (mm)	Temperatura del agua de recolección (°C)	Altura desplazada corazón filtrado (mm)	Altura desplazada cáscara sin filtrar (mm)	Temperatura del agua de recolección (°C)
0,00	0	22,5	0	0	22,5
0,63	0	23,0	0	1	23,0
1,37	2	23,0	0	3	23,0

**Cuadro A.23 (continuación)** Altura del volumen desplazado en la primera repetición durante las fermentaciones. En la tercera etapa experimental.

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Altura desplazada corazón sin filtrar (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección (°C)</b>	<b>Altura desplazada corazón filtrado (mm)</b>	<b>Altura desplazada cáscara sin filtrar (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección (°C)</b>
2,23	6	23,5	0	4	23,5
2,43	7	24,0	0	4	24,0
2,57	7	24,0	0	5	24,0
2,78	7	24,0	0	7	24,0
2,92	8	24,0	0	7	24,0
3,30	10	24,0	0	9	24,0
3,48	13	24,0	0	10	24,0
3,62	15	24,0	0	11	24,0
3,82	17	24,0	0	14	24,0
3,98	20	24,0	0	14	24,0
4,18	25	24,0	0	17	24,0
4,40	28	24,0	0	19	24,0
20,92	147	21,0	109	102	21,0
21,15	150	21,0	112	104	21,0
21,25	152	21,0	114	104	21,0
21,35	153	21,0	114	105	21,0
21,48	156	21,0	116	105	21,5
21,62	156	21,0	119	106	22,0
21,78	158	21,0	120	106	22,0
21,90	160	21,0	120	107	22,0
22,10	160	21,0	123	107	22,0
22,27	163	21,5	125	108	22,0
22,42	166	22,0	126	108	22,0
22,55	167	22,0	128	109	22,0
22,72	170	22,0	130	109	22,0
22,93	174	22,0	135	110	22,0
23,03	175	22,0	138	110	22,0
23,20	178	22,0	142	110	22,0
23,78	188	22,5	158	112	22,5
24,20	197	22,5	174	115	23,0
24,43	201	23,0	181	115	24,0
24,63	205	23,0	187	117	23,0
24,82	209	24,0	193	117	23,5
25,05	215	24,0	203	117	23,5
25,28	218	24,0	209	118	23,5
25,50	222	24,0	215	118	24,0
25,68	225	24,0	224	118	24,0
25,93	232	24,0	234	118	24,0
26,10	235	24,0	240	118	24,0

**Cuadro A.23 (continuación)** Altura del volumen desplazado en la primera repetición durante las fermentaciones. En la tercera etapa experimental.

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Altura desplazada corazón sin filtrar (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección (°C)</b>	<b>Altura desplazada corazón filtrado (mm)</b>	<b>Altura desplazada cáscara sin filtrar (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección (°C)</b>
26,23	238	24,0	246	118	24,0
26,42	242	24,0	253	118	24,0
26,62	245	24,0	262	119	24,0
26,75	248	24,0	267	119	24,0
26,85	250	24,0	268	119	24,0
27,00	253	24,0	278	119	24,0
27,17	256	24,0	283	119	24,0
27,32	260	24,0	288	119	24,0
27,47	263	24,0	296	119	24,0
27,65	267	24,0	305,00	119	24,0
27,75	268	24,0	309,00	119	24,0
27,95	272	24,0	316,00	119	24,0
28,20	277	24,0	319,00	120	24,0
28,33	280	24,0	336,00	120	24,0
28,48	283	24,0	350,00	120	24,0
28,65	285	28,65	362,00	120	24,0
28,97	290	28,97	370,00	120	24,0
29,07	293	29,07	376,00	120	24,0
29,20	294	29,20	376,00	120	24,0
30,00	294	30,00	377,00	120	24,0
30,33	294	30,33	377,00	120	24,0

**Cuadro A.24** Diámetros y alturas iniciales del nivel del líquido de las probetas de recolección de gas de la primera repetición durante las fermentaciones en la tercera etapa experimental.

<b>Sustrato</b>	<b>Diámetro de la probeta utilizada (cm)</b>	<b>Altura de la probeta (mm)</b>
Corazón sin filtrar	5,82	392
Corazón filtrado	5,90	388
Cascara filtrada	5,58	368



**Cuadro A.25** Altura del volumen desplazado en la segunda repetición durante las fermentaciones. En la tercera etapa experimental.

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Altura desplazada corazón sin filtrar (mm)</b>	<b>Altura desplazada cáscara filtrada (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección (°C)</b>	<b>Altura desplazada corazón filtrado (mm)</b>	<b>Altura desplazada cáscara sin filtrar (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección (°C)</b>
0,00	0	0	24,0	0	0	24,0
1,50	0	0	24,5	0	1	24,5
2,05	0	0	25,0	0	2	25,0
2,38	0	0	25,0	3	2	25,0
2,57	0	0	25,0	5	4	25,0
2,90	3	1	25,0	6	5	25,0
3,30	10	1	25,0	9	8	25,0
3,55	17	1	25,0	11	10	25,0
3,92	27	2	25,0	15	13	25,0
4,25	34	3	25,0	20	17	25,0
4,53	45	6	25,0	25	22	25,0
4,63	48	7	25,0	29	24	25,0
4,82	55	10	25,0	33	28	25,0
4,92	58	13	25,0	35	29	25,0
5,07	63	14	25,0	38	34	25,0
5,25	69	17	25,0	44	36	25,0
5,43	75	20	25,0	48	41	25,0
5,53	78	22	25,0	50	43	25,0
5,75	85	25	25,0	56	47	25,0
5,83	88	25	25,0	58	50	25,0
5,95	90	28	25,0	60	53	25,0
6,07	94	28	25,0	64	55	25,0
21,28	168	94	22,0	203	199	22,0
21,57	170	95	22,0	206	201	22,0
21,85	174	95	22,0	209	203	22,0
22,02	175	95	23,0	211	203	23,0
22,18	178	96	23,0	212	203	23,0
22,30	178	96	23,0	214	203	23,0
22,45	180	97	23,0	216	203	23,0
22,52	181	97	23,0	219	203	23,0
22,63	183	98	23,0	221	203	23,0
22,82	184	98	23,0	221	203	23,0
23,03	187	94	23,0	223	203	23,0
23,30	192	100	23,0	227	203	23,0
23,42	192	101	23,0	227	203	23,0
23,67	197	102	23,0	232	203	23,0

**Cuadro A.25 (continuación)** Altura del volumen desplazado en la segunda repetición durante las fermentaciones. En la Etapa I

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Altura desplazada corazón sin filtrar (mm)</b>	<b>Altura desplazada cáscara filtrada (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección (°C)</b>	<b>Altura desplazada corazón filtrado (mm)</b>	<b>Altura desplazada cáscara sin filtrar (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección (°C)</b>
23,77	198	102	23,0	234	203	23,0
23,85	199	102	23,5	235	203	23,5
24,08	203	103	24,0	238	203	24,0
24,30	207	104	24,0	241	203	24,0
24,50	209	105	24,0	245	203	24,0
24,70	213	105	24,0	248	203	24,0
24,87	217	105	24,0	250	203	24,0
25,03	218	106	24,0	254	203	24,0
25,18	221	107	24,0	256	203	24,0
25,47	225	107	24,0	260	203	24,0
25,67	230	107	24,5	264	203	24,5
25,77	232	108	24,5	265	203	24,5
26,13	236	109	25,0	269	199	25,0
26,35	240	109	25,0	273	198	25,0
26,62	245	109	25,0	273	197	25,0
27,23	256	110	25,0	286	197	25,0
27,33	258	112	25,0	287	197	25,0
27,45	259	112	25,0	289	196	25,0
27,68	263	113	25,0	293	196	25,0
27,98	269	113	25,0	296	193	25,0
28,10	270	113	25,0	296	193	25,0
28,30	273	113	25,0	300	192	25,0
28,50	275	113	25,0	303	192	25,0
28,62	277	113	25,0	304	190	25,0
28,90	280	113	25,0	307	189	25,0
29,18	284	113	25,0	308	187	25,0
29,38	285	113	25,0	312	187	25,0
29,55	288	113	25,0	312	187	25,0
29,68	290	113	25,0	313	187	25,0
29,85	293	113	25,0	315	187	25,0
30,00	294	113	25,0	317	187	25,0
30,33	294	113	25,0	317	187	25,0
30,67	294	113	25,0	317	187	25,0

**Cuadro A.26** Diámetros y alturas iniciales del nivel del líquido de las probetas de recolección de gas de la segunda repetición durante las fermentaciones en la tercera etapa experimental.

Sustrato	Diámetro de la probeta utilizada (cm)	Altura de la probeta (mm)
Corazón sin filtrar	5,570	398
Corazón filtrado	5,750	404
Cáscara filtrada	5,670	382
Cáscara sin filtrar	5,670	402

**Cuadro A.27** Absorbancia medida para la medición de azúcares reductores residuales por el método de Nelson Somogyi de la tercera etapa experimental.

Sustrato	Prueba	Absorbancia (adim)	Factor de dilución
Cáscara sin filtrar	1	0,027	200
	2	0,002	200
Cáscara filtrada	1	0,014	200
	2	0,007	200
Corazón sin filtrar	1	0,022	200
	2	0,023	200
Corazón filtrado	1	0,027	200
	2	0,042	200

**Cuadro A.28** Altura del volumen desplazado durante las fermentaciones de la etapa cuarta etapa experimental.

Tiempo 1(h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	Altura desplazada H1 (mm)	Altura desplazada H2 (mm)	Altura desplazada H3 (mm)	Temperatura del agua de recolección n T1 (°C)	Temperatura del agua de recolección n T2 (°C)	Temperatura del agua de recolección n T3 (°C)
0,00	-	-	0	-	-	21,0	21,0	-
0,23	-	-	0	-	-	21,0	21,0	-
0,32	-	-	0	-	-	21,0	21,0	-
0,60	0,00	-	1,5	0	-	21,0	21,0	-
0,75	0,15	-	1,5	0	-	21,0	21,0	-
0,92	0,32	-	1,5	0	-	21,0	21,0	-
1,12	0,52	-	1,5	0	-	21,0	21,0	-
1,30	0,70	-	1,5	0	-	21,0	21,0	-
1,42	0,82	-	1,5	0	-	21,0	21,0	-
1,53	0,93	-	1,5	0	-	21,0	21,0	-
1,70	1,10	-	2	0	-	21,0	21,0	-

**Cuadro A.28 (continuación)** Altura del volumen desplazado durante las fermentaciones de la etapa cuarta etapa experimental.

Tiem po 1(h)	Tiem po (h) 2	Tiem po (h) 3	Altura desplaz ada H1 (mm)	Altura desplaz ada H2 (mm)	Altura desplaz ada H3 (mm)	Temperat ura del agua de recolectió n T1 (°C)	Temperat ura del agua de recolectió n T2 (°C)	Temperat ura del agua de recolectió n T3 (°C)
1,85	1,25	-	5	1	-	21,0	21,0	-
2,98	2,38	-	14	7	-	22,0	22,0	-
3,07	2,47	-	14	7	-	22,0	22,0	-
3,23	2,63	-	15	9	-	22,0	22,0	-
3,42	2,82	-	19	11	-	22,5	22,5	-
3,50	2,90	-	20	12	-	22,5	22,5	-
3,62	3,02	-	21	12	-	23,0	23,0	-
3,75	3,15	-	23	14	-	23,0	23,0	-
3,92	3,32	-	27	16	-	23,0	23,0	-
4,00	3,40	-	32	20	-	23,0	23,0	-
4,13	3,53	-	33	21	-	23,0	23,0	-
4,33	3,73	-	35	24	-	23,0	23,0	-
4,58	3,98	-	40	27	-	23,5	23,5	-
4,83	4,23	-	44	30	-	23,5	23,5	-
5,02	4,42	-	48	31	-	23,8	23,8	-
5,17	4,57	-	50	34	-	23,8	23,8	-
5,37	4,77	-	55	37	-	23,8	23,8	-
5,53	4,93	-	59	39	-	23,8	23,8	-
5,72	5,12	-	63	42	-	23,5	23,5	-
5,92	5,32	-	68	44	-	24,0	24,0	-
6,17	5,57	-	69	49	-	24,0	24,0	-
6,33	5,73	-	75	51	-	24,0	24,0	-
6,40	5,80	-	79	52	-	24,0	24,0	-
6,63	6,03	-	83	56	-	24,0	24,0	-
6,78	6,18	-	90	61	-	24,0	24,0	-
6,90	6,30	-	95	65	-	24,0	24,0	-
7,03	6,43	-	100	74	-	24,0	24,0	-
7,22	6,62	-	110	83	-	24,0	24,0	-
7,33	6,73	-	124	86	-	24,0	24,0	-
7,42	6,82	-	128	90	-	24,0	24,0	-
7,50	6,90	-	133	95	-	24,0	24,0	-
7,58	6,98	-	141	101	-	24,0	24,0	-
7,70	7,10	-	142	107	-	24,0	24,0	-
7,90	7,30	-	150	117	-	24,0	24,0	-
8,10	7,50	-	158	127	-	24,0	24,0	-

**Cuadro A.28 (continuación)** Altura del volumen desplazado durante las fermentaciones de la cuarta etapa experimental.

Tiempo 1(h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	Altura desplazada H1 (mm)	Altura desplazada H2 (mm)	Altura desplazada H3 (mm)	Temperatura del agua de recolección T1 (°C)	Temperatura del agua de recolección T2 (°C)	Temperatura del agua de recolección T3 (°C)
8,20	7,60	-	163	132	-	24,0	24,0	-
8,33	7,73	-	167	137	-	24,0	24,0	-
8,55	7,95	-	175	148	-	24,0	24,0	-
8,67	8,07	-	180	154	-	24,0	24,0	-
8,98	8,38	-	194	168	-	24,0	24,0	-
9,12	8,52	-	198	175	-	24,0	24,0	-
9,22	8,62	-	203	180	-	24,0	24,0	-
9,37	8,77	-	208	185	-	24,0	24,0	-
9,58	8,98	-	215	193	-	24,0	24,0	-
9,67	9,07	-	217	196	-	24,0	24,0	-
9,87	9,27	-	223	203	-	24,0	24,0	-
9,95	9,35	-	228	209	-	24,0	24,0	-
10,20	9,60	-	231	215	-	24,0	24,0	-
10,32	9,72	-	236	218	-	24,0	24,0	-
10,48	9,88	-	238	223	-	24,0	24,0	-
10,70	10,10	-	245	230	-	23,0	23,0	-
10,85	10,25	-	249	234	-	23,5	23,5	-
11,05	10,45	-	252	238	-	23,5	23,5	-
11,13	10,53	-	254	240	-	23,5	23,5	-
11,30	10,70	-	258	245	-	23,0	23,0	-
11,47	10,87	-	263	251	-	23,5	23,5	-
11,58	10,98	-	265	252	-	23,5	23,5	-
11,72	11,12	-	273	260	-	24,0	24,0	-
11,87	11,27	-	274	265	-	24,0	24,0	-
12,00	11,40	-	280	269	-	24,0	24,0	-
12,12	11,52	-	-	273	-	-	24,0	-
12,30	11,70	-	-	273	-	-	24,0	-
12,35	11,75	-	-	278	-	-	24,0	-
23,63	23,03	11,63	-	425	135	-	21,0	21,0
23,87	23,27	11,87	-	0	139	-	21,0	21,0
23,95	23,35	11,95	-	1	140	-	21,0	21,0
24,15	23,55	12,15	-	2	142	-	21,0	21,0
24,35	23,75	12,35	-	2,5	146	-	21,0	21,0
24,57	23,97	12,57	-	3	150	-	21,0	21,0

**Cuadro A.28 (continuación)** Altura del volumen desplazado durante las fermentaciones de la cuarta etapa experimental.

Tiempo 1(h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	Altura desplazada H1 (mm)	Altura desplazada H2 (mm)	Altura desplazada H3 (mm)	Temperatura del agua de recolección n T1 (°C)	Temperatura del agua de recolección n T2 (°C)	Temperatura del agua de recolección n T3 (°C)
24,78	24,18	12,78	-	7	154	-	21,0	21,0
25,00	24,40	13,00	-	9	155	-	21,0	21,0
25,22	24,62	13,22	-	11	157	-	21,0	21,0
25,43	24,83	13,43	-	11	160	-	21,0	21,0
25,65	25,05	13,65	-	13	162	-	21,0	21,0
25,87	25,27	13,87	-	13	163	-	21,0	21,0
26,08	25,48	14,08	-	18	166	-	21,5	21,5
26,30	25,70	14,30	-	20	167	-	21,5	21,5
26,52	25,92	14,52	-	20	169	-	21,5	22,0
26,73	26,13	14,73	-	21	172	-	22,0	22,0
26,95	26,35	14,95	-	21	174	-	22,0	22,0
27,17	26,57	15,17	-	21	175	-	22,0	22,0
27,38	26,78	15,38	-	29	176	-	22,0	22,0
27,60	27,00	15,60	-	33	177	-	22,0	22,5
27,82	27,22	15,82	-	45	178	-	22,5	23,0
28,03	27,43	16,03	-	47	181	-	23,0	23,0
28,25	27,65	16,25	-	50	185	-	23,0	23,0
28,47	27,87	16,47	-	52	186	-	23,0	23,0
28,68	28,08	16,68	-	56	186	-	23,0	23,0
28,90	28,30	16,90	-	57	187	-	23,0	23,0
29,12	28,52	17,12	-	61	187	-	23,0	23,0
29,33	28,73	17,33	-	65	188	-	23,0	24,0
29,43	28,83	17,43	-	70	190	-	24,0	24,0
29,52	28,92	17,52	-	73	200	-	24,0	24,0
29,77	29,17	17,77	-	75	203	-	23,5	23,5
29,88	29,28	17,88	-	80	206	-	23,5	23,5
30,02	29,42	18,02	-	82	208	-	24,0	24,0
30,13	29,53	18,13	-	85	211	-	24,0	24,0
30,27	29,67	18,27	-	87	212	-	24,0	24,0
30,43	29,83	18,43	-	87	216	-	24,0	24,0
30,60	30,00	18,60	-	87	218	-	24,0	24,0
30,77	30,17	18,77	-	88	219	-	24,0	24,0
30,87	30,27	18,87	-	88	220	-	24,0	24,0
31,03	30,43	19,03	-	90	222	-	24,0	24,0
31,20	30,60	19,20	-	91	223	-	24,0	24,0

**Cuadro A.28 (continuación)** Altura del volumen desplazado durante las fermentaciones de la cuarta etapa experimental.

Tiempo 1(h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	Altura desplazada H1 (mm)	Altura desplazada H2 (mm)	Altura desplazada H3 (mm)	Temperatura del agua de recolección T1 (°C)	Temperatura del agua de recolección T2 (°C)	Temperatura del agua de recolección T3 (°C)
31,52	30,92	19,52	-	91	226	-	24,0	24,0
31,73	31,13	19,73	-	92	229	-	24,0	24,0
32,07	31,47	20,07	-	92	232	-	24,0	24,0
32,23	31,63	20,23	-	93	235	-	24,0	24,0
32,40	31,80	20,40	-	95	236	-	24,0	24,0
32,53	31,93	20,53	-	94	239	-	24,0	24,0
32,90	32,30	20,90	-	95	239	-	24,0	24,0
33,08	32,48	21,08	-	95	241	-	24,0	24,0
33,28	32,68	21,28	-	95	242	-	24,0	24,0
33,53	32,93	21,53	-	95	243	-	24,0	24,0
33,78	33,18	21,78	-	96	243	-	24,0	24,0
34,03	33,43	22,03	-	96	244	-	24,0	24,0
34,17	33,57	22,17	-	96	244	-	24,0	24,0
34,33	33,70	22,30	-	97	245	-	24,0	24,0
34,42	33,83	22,43	-	99	246	-	24,0	24,0
34,58	33,97	22,57	-	99	246	-	24,0	24,0
34,75	34,10	22,70	-	99	246	-	24,0	24,0
34,83	34,23	22,83	-	99	247	-	24,0	24,0
34,92	34,37	22,97	-	99	247	-	24,0	24,0
35,05	34,50	23,10	-	99	248	-	24,0	24,0
35,22	34,63	23,23	-	100	246	-	24,0	24,0
35,38	34,77	23,37	-	100	247	-	24,0	24,0
35,55	34,90	23,50	-	101	247	-	24,0	24,0
35,72	35,03	23,63	-	101	248	-	24,0	24,0
35,88	35,17	23,77	-	103	248	-	24,0	24,0
36,05	35,30	23,90	-	103	249	-	24,0	24,0
36,22	35,43	24,03	-	105	250	-	24,0	24,0
36,38	35,57	24,17	-	105	251	-	24,0	24,0
36,55	35,70	24,30	-	106	252	-	24,0	24,0
36,72	35,83	24,43	-	106	253	-	24,0	24,0
36,88	35,97	24,57	-	108	254	-	24,0	24,0
37,05	36,10	24,70	-	110	255	-	24,0	24,0
37,22	36,23	24,83	-	110	256	-	24,0	24,0
37,38	36,37	24,97	-	110	257	-	24,0	24,0
37,55	36,50	25,10	-	110	261	-	24,0	24,0

**Cuadro A.29** Diámetros y alturas iniciales del nivel del líquido de las probetas de recolección de gas de la segunda repetición durante las fermentaciones en la cuarta etapa experimental.

Muestra	Tiempo de inicio (h)	Diámetro de la probeta utilizada (cm)	Altura de la probeta (mm)
1	0	5,590	432
2	0	5,670	425
	23,27	5,590	412
3	0	7,690	445

**Cuadro A.30** Volúmenes de reacción de la cuarta etapa experimental.

Tiempo de reacción (h)	Volumen de reacción (cm <sup>3</sup> )
0,00	782
4,00	682
7,90	582
11,63	7,15
17,43	615
21,78	515

**Cuadro A. 31** Altura del volumen desplazado en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la quinta etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Altura desplazada (mm)	Temperatura del agua de recolección (°C)
0,00	0	19,5
0,83	2	20
1,17	4	20
1,50	7	20
1,83	12	20
2,17	15	20
2,42	20	20
3,08	32	20
3,50	53	20,5
3,83	118	21
4,17	158	21
4,50	198	21
4,83	238	21
5,17	297	21
5,50	335	21
5,67	350	21
5,83	32	21
6,17	76	21
6,50	47	21
6,83	214	21



**Cuadro A. 31 (continuación)** Altura del volumen desplazado en las mezclas de corazón y cáscara durante las fermentaciones. En la quinta etapa experimental.

<b>Tiempo 1 (h)</b>	<b>Altura desplazada (mm)</b>	<b>Temperatura del agua de recolección (°C)</b>
7,17	305	21
7,50	381	21
7,83	97	21
8,50	180	21
12,00	493	17
12,33	17	17
12,67	25	17
12,92	28	17
13,25	31	17
13,58	38	17
13,92	41	18,5
14,25	46	18,5

**Cuadro A.32** Diámetros y alturas iniciales del nivel del líquido de las probetas de recolección de gas producto de las fermentaciones de la quinta etapa experimental.

<b>Muestra</b>	<b>Tiempo de inicio (h)</b>	<b>Diámetro de la probeta utilizada (cm)</b>	<b>Altura de la probeta (mm)</b>
1	0,00	5,59	350
2	5,67	5,67	398
3	7,50	5,59	463
4	8,50	7,69	498
5	12,00	5,67	308

**Cuadro A.33** Volúmenes de reacción de la etapa quinta etapa experimental.

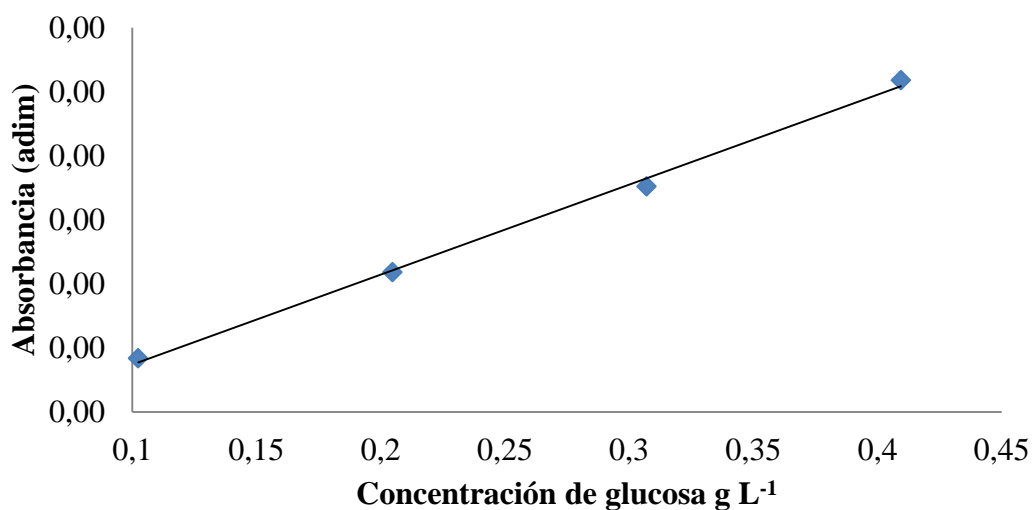
<b>Tiempo de reacción (h)</b>	<b>Volumen de reacción (cm<sup>3</sup>)</b>
0,00	780
4,17	680
8,50	580
12,00	740

## APÉDICE B

### RESULTADOS INTERMEDIOS

**Cuadro B.1** Datos para la elaboración de la curva de calibración para la determinación de glucosa por medio del método de Trinder para la caracterización.

Muestra	Concentración de la solución madre (g /L)	Concentración (g/L)	Absorbancia (adim)
1	1,024	0,102	0,042
2		0,205	0,109
3		0,307	0,176
4		0,410	0,259



**Figura B.1** Curva de calibración para la determinación de glucosa por el método de Trinder.

**Cuadro B.2** Coeficientes y parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la determinación de glucosa por el método de Trinder.

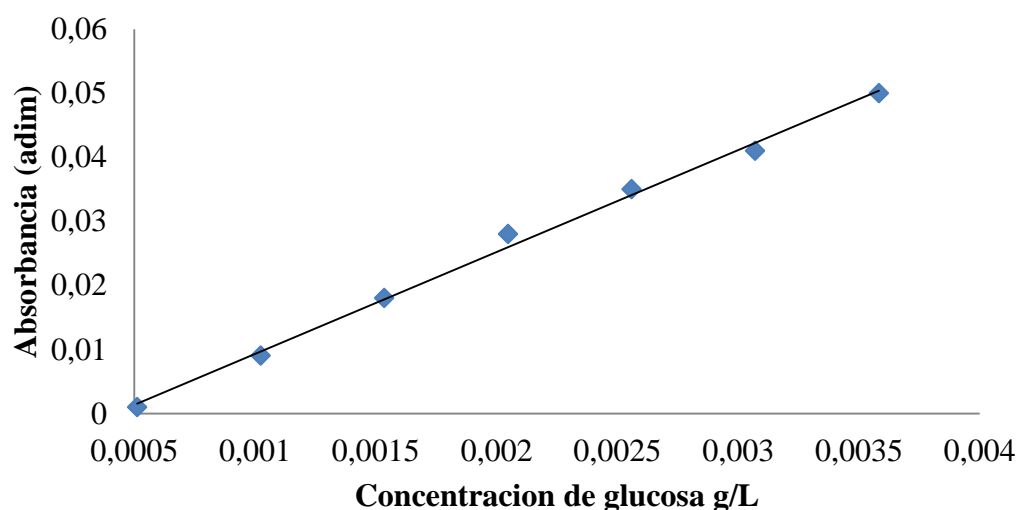
Pendiente (L/g)	Intercepto	R <sup>2</sup>
0,701	-0,033	0,09970

**Cuadro B.3** Concentración de glucosa m/m en las diferentes muestras

Muestra	Corazón	Cáscara
Replica 1	0,004837	0,006972
Replica 2	0,004650	0,006410
Promedio	0,004744	0,006691

**Cuadro B.4** Datos para la elaboración de la curva de calibración para la determinación de Azúcares por medio del método de Nelson-Somogyi para la caracterización.

Muestra	Concentración de la solución madre (g/L)	Concentración (g/L)	Absorbancia (adim)
1		0,000512	0,001
2		0,00102	0,007
3		0,00154	0,018
4	1,024	0,00205	0,029
5		0,00256	0,036
6		0,00307	0,043
7		0,00358	0,047



**Figura B.2** Curva de calibración para la determinación de azúcares reductores y azúcares totales por el método de Nelson Somogyi

**Cuadro B.5** Coeficientes y parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la determinación de azúcares reductores y azúcares totales por el método de Nelson Somogyi.

Pendiente (L/g)	Intercepto	R <sup>2</sup>
15,908	-0,0067	0,09960

**Cuadro B.6** Concentración de azúcares reductores m/m en las diferentes muestras

Muestra	Corazón	Cáscara
Replica 1	0,04040	0,015982
Replica 2	0,043892	0,018714
Promedio	0,042146	0,017348

**Cuadro B.7** Porcentaje de humedad de los diferentes sustratos de la piña utilizados.

<b>Muestra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Cáscara</b>
Replica 1	85,742	82,145
Replica 2	86,450	80,528
Promedio	86,096	81,336

**Cuadro B. 8** Porcentaje de cenizas de los diferentes sustratos de la piña utilizados.

<b>Muestra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Cáscara</b>
Replica 1	0,230	0,8258
Replica 2	0,240	0,8241
Promedio	0,235	0,825

**Cuadro B.9** Porcentaje de fibra cruda de los diferentes sustratos de la piña utilizados.

<b>Muestra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Cáscara</b>
1	1,346383	1,888353
2	1,162436	1,734645
Promedio	1,254409	1,811499

**Cuadro B.10** Volumen desplazado y presión de gas en la primera repetición durante las fermentaciones de la sacarosa en la primera etapa experimental.

<b>Tiempo (h)</b>	<b>V 1 (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V 2 (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>P 1 CO<sub>2</sub> (kPa)</b>	<b>P 2 CO<sub>2</sub> (kPa)</b>
0,00	0,00	0,00	81,20	81,17
1,17	0,00	0,00	81,20	81,17
1,92	0,00	1,31	81,20	81,17
2,25	1,26	2,62	81,20	81,18
2,58	2,52	2,62	81,21	81,18
2,92	2,52	5,25	81,21	81,19
3,25	5,04	7,87	81,22	81,20
3,58	10,08	13,12	81,24	81,22
3,92	12,60	18,37	81,25	81,24
20,25	120,98	123,32	81,99	81,95
20,58	126,03	125,95	82,01	81,96
20,92	128,55	125,95	82,02	81,96
21,25	131,07	131,19	82,03	81,98
21,58	136,11	131,19	82,05	81,98
21,92	136,11	133,82	82,05	81,99
22,25	141,15	144,31	82,07	82,03
22,58	151,23	152,19	82,11	82,06
22,92	153,75	154,81	82,12	82,07
23,25	158,79	154,81	82,14	82,07

**Cuadro B.10 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas en la primera repetición durante las fermentaciones de la sacarosa en la primera etapa experimental.

Tiempo (h)	V 1 (cm <sup>3</sup> )	V 2 (cm <sup>3</sup> )	P 1 CO <sub>2</sub> (kPa)	P 2 CO <sub>2</sub> (kPa)
23,58	163,83	154,81	82,16	82,07
23,92	168,87	167,93	82,18	82,12
24,25	173,92	181,05	82,20	82,17
24,58	186,52	191,54	82,25	82,21
24,92	186,52	191,54	82,25	82,21
25,25	189,04	199,42	82,26	82,24
25,83	189,04	202,04	82,26	82,25
40,97	234,41	270,26	82,58	82,65
41,35	236,93	270,26	82,52	82,58
41,68	236,93	272,88	82,44	82,51
42,02	239,45	272,88	82,45	82,51
42,35	239,45	272,88	82,45	82,51
42,68	239,45	272,88	82,45	82,51
43,02	239,45	272,88	82,45	82,51
44,35	239,45	272,88	82,45	82,51

**Cuadro B.11** Volumen desplazado y presión de gas en la primera repetición durante las fermentaciones de la sacarosa en la segunda etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V 1 (cm <sup>3</sup> )	V 2 (cm <sup>3</sup> )	V 3 (cm <sup>3</sup> )	P 1 CO <sub>2</sub> (kPa)	P 2 CO <sub>2</sub> (kPa)	P 3 CO <sub>2</sub> (kPa)
0,00	-	-	0,00	0,00	0,00	84,02	0,00	0,00
0,93	0,00	-	1,26	0,00	0,00	84,02	84,26	0,00
1,80	0,87	-	3,79	0,00	0,00	84,03	84,26	0,00
2,27	1,33	-	6,31	10,22	0,00	84,04	84,30	0,00
2,55	1,62	-	11,36	10,22	0,00	84,06	84,30	0,00
2,70	1,77	-	12,62	10,22	0,00	84,07	84,30	0,00
2,90	1,97	-	12,62	11,50	0,00	84,07	84,31	0,00
3,00	2,07	-	13,89	11,50	0,00	84,07	84,31	0,00
3,18	2,25	-	22,72	11,50	0,00	84,11	84,31	0,00
3,37	2,43	-	22,72	12,78	0,00	84,11	84,31	0,00
3,48	2,55	-	26,51	12,78	0,00	84,12	84,31	0,00
3,65	2,72	-	30,30	15,34	0,00	84,14	84,32	0,00
3,82	2,88	-	32,82	20,45	0,00	84,15	84,34	0,00
3,95	3,02	-	37,87	23,01	0,00	84,17	84,35	0,00
4,23	3,30	-	42,92	25,56	0,00	84,19	84,36	0,00
4,27	3,33	-	55,55	33,23	0,00	84,24	84,39	0,00
4,43	3,50	-	60,60	33,23	0,00	84,26	84,39	0,00
5,15	4,22	-	63,12	40,90	0,00	84,26	84,42	0,00

**Cuadro B.11 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas en la primera repetición durante las fermentaciones de la sacarosa en la segunda etapa experimental.

<b>Tiempo 1 (h)</b>	<b>Tiempo 2 (h)</b>	<b>Tiempo 3 (h)</b>	<b>V 1 (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V 2 (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V 3 (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>P 1 CO<sub>2</sub> (kPa)</b>	<b>P 2 CO<sub>2</sub> (kPa)</b>	<b>P 3 CO<sub>2</sub> (kPa)</b>
5,30	4,37	-	106,05	66,46	0,00	84,43	84,52	0,00
5,47	4,53	-	118,67	71,57	0,00	84,48	84,54	0,00
5,55	4,62	-	131,30	84,36	0,00	84,53	84,59	0,00
5,70	4,77	-	136,35	92,02	0,00	84,55	84,62	0,00
5,82	4,88	-	154,02	112,47	0,00	84,62	84,70	0,00
5,88	4,95	-	164,12	115,03	0,00	84,66	84,71	0,00
5,93	5,00	-	181,80	132,92	0,00	84,73	84,78	0,00
6,00	5,07	-	189,37	138,04	0,00	84,76	84,79	0,00
6,10	5,17	-	199,47	140,59	0,00	84,79	84,80	0,00
6,18	5,25	-	212,10	148,26	0,00	84,84	84,83	0,00
6,30	5,37	-	212,10	173,82	0,00	84,84	84,93	0,00
6,52	5,58	-	212,10	212,17	0,00	84,84	85,08	0,00
6,60	5,67	-	212,10	237,73	0,00	84,84	85,18	0,00
6,68	5,75	-	212,10	255,62	0,00	84,84	85,25	0,00
6,75	5,82	-	214,62	268,40	0,00	84,85	85,30	0,00
6,85	5,92	-	219,67	293,97	0,00	84,87	85,39	0,00
6,92	5,98	-	234,82	311,86	0,00	84,93	85,46	0,00
7,00	6,07	-	237,35	327,20	0,00	84,94	85,52	0,00
7,13	6,20	-	255,02	357,87	0,00	85,01	85,64	0,00
7,20	6,27	-	262,60	370,65	0,00	85,04	85,69	0,00
7,32	6,38	-	277,75	396,22	0,00	85,10	85,79	0,00
7,40	6,47	-	292,90	419,22	0,00	85,16	85,87	0,00
7,47	6,53	-	303,00	432,00	0,00	85,20	85,92	0,00
7,53	6,60	-	315,62	447,34	0,00	85,25	85,98	0,00
7,60	6,67	-	325,72	462,68	0,00	85,29	86,04	0,00
7,68	6,75	-	335,82	483,13	0,00	85,32	86,12	0,00
7,85	6,92	-	371,17	529,14	0,00	85,46	86,30	0,00
7,93	7,00	-	386,32	549,59	0,00	85,52	86,37	0,00
8,38	7,45	-	454,49	651,84	0,00	85,79	86,77	0,00
8,43	7,50	-	467,12	664,62	0,00	85,83	86,82	0,00
8,53	7,60	-	482,27	690,18	0,00	85,89	86,91	0,00
8,62	7,68	-	499,94	715,75	0,00	85,96	87,01	0,00
8,75	7,82	-	515,09	741,31	0,00	86,02	87,11	0,00
8,87	7,93	-	522,67	771,98	0,00	86,05	87,23	0,00
8,92	7,98	-	530,24	787,32	0,00	86,08	87,29	0,00
9,00	8,07	-	545,39	805,21	0,00	86,14	87,36	0,00
9,10	8,17	-	580,74	838,45	0,00	86,28	87,48	0,00
9,33	8,40	-	580,74	881,90	0,00	86,28	87,65	0,00
9,45	8,52	-	605,99	907,46	0,00	86,37	87,75	0,00

**Cuadro B.11 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas en la primera repetición durante las fermentaciones de la sacarosa en la segunda etapa experimental.

<b>Tiempo 1 (h)</b>	<b>Tiempo 2 (h)</b>	<b>Tiempo 3 (h)</b>	<b>V 1 (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V 2 (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V 3 (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>P 1 CO<sub>2</sub> (kPa)</b>	<b>P 2 CO<sub>2</sub> (kPa)</b>	<b>P 3 CO<sub>2</sub> (kPa)</b>
9,48	8,55	-	631,24	920,25	0,00	86,47	87,80	0,00
9,60	8,67	-	631,24	953,48	0,00	86,47	87,92	0,00
9,67	8,73	-	656,49	971,37	0,00	86,57	87,99	0,00
9,83	8,90	-	676,69	996,44	0,00	86,65	84,16	0,00
10,08	9,15	-	694,37	1051,60	0,00	86,72	84,37	0,00
10,32	9,38	-	744,87	1084,19	0,00	86,91	84,50	0,00
10,60	9,67	-	782,74	1154,39	0,00	87,06	84,78	0,00
10,80	9,87	-	823,14	1194,51	0,00	87,22	84,93	0,00
10,95	10,02	-	861,01	1222,09	0,00	87,36	85,04	0,00
11,10	10,17	-	883,74	1254,68	0,00	87,45	85,17	0,00
11,22	10,28	-	911,51	1277,25	0,00	87,56	85,26	0,00
11,38	10,45	-	926,66	1307,33	0,00	87,62	85,37	0,00
11,58	10,65	-	941,81	1337,42	0,00	87,68	85,49	0,00
11,67	10,73	-	964,54	1352,46	0,00	87,77	85,55	0,00
11,82	10,88	-	974,64	1377,53	0,00	87,81	85,65	0,00
11,93	11,00	-	997,36	1387,56	0,00	87,89	85,69	0,00
12,00	11,07	-	1017,56	1397,59	0,00	87,97	85,73	0,00
12,15	11,22	0,00	1030,19	1422,66	0,00	88,02	85,82	87,99
12,32	11,38	0,17	0,00	1447,74	0,00	87,99	85,92	83,60
12,40	11,47	0,25	0,00	1465,29	0,00	87,99	85,99	83,60
23,97	23,03	11,82	0,00	0,00	1023,65	87,99	83,97	83,60
24,17	23,23	12,02	0,00	1887,86	1051,96	87,99	84,04	85,73
24,32	23,38	12,17	0,00	1895,43	1061,39	87,99	84,07	85,79
24,62	23,68	12,47	0,00	1910,58	1136,87	87,98	84,13	85,81
24,70	23,77	12,55	0,00	1913,11	1146,30	87,99	84,14	85,96
24,78	23,85	12,63	0,00	1920,68	1155,74	87,99	84,17	85,98
24,87	23,93	12,72	0,00	1923,21	1165,17	87,99	84,18	86,00
24,95	24,02	12,80	0,00	1930,78	1169,89	87,99	84,21	86,02
25,03	24,10	12,88	0,00	1933,31	1179,32	87,99	84,22	86,03
25,12	24,18	12,97	0,00	1935,83	1193,48	87,99	84,23	86,05
25,23	24,30	13,08	0,00	1940,88	1202,91	87,99	84,25	86,08
25,35	24,42	13,20	0,00	1948,46	1217,06	87,99	84,27	86,10
25,47	24,53	13,32	0,00	1953,51	1221,78	87,99	84,29	86,13
25,55	24,62	13,40	0,00	1958,56	1231,21	87,99	84,31	86,14
25,63	24,70	13,48	0,00	1958,56	1240,65	87,99	84,31	86,16
25,73	24,80	13,58	0,00	1966,13	1250,08	87,99	84,34	86,18
25,85	24,92	13,70	0,00	1971,18	1259,52	87,99	84,36	86,20
25,93	25,00	13,78	0,00	1978,76	1268,95	87,99	84,39	86,22
26,03	25,10	13,88	0,00	1978,76	1273,67	87,99	84,39	86,24

**Cuadro B.11 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas en la primera repetición durante las fermentaciones de la sacarosa en la segunda etapa experimental.

<b>Tiempo 1 (h)</b>	<b>Tiempo 2 (h)</b>	<b>Tiempo 3 (h)</b>	<b>V 1 (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V 2 (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V 3 (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>P 1 CO<sub>2</sub> (kPa)</b>	<b>P 2 CO<sub>2</sub> (kPa)</b>	<b>P 3 CO<sub>2</sub> (kPa)</b>
26,15	25,22	14,00	0,00	1983,81	1287,82	87,99	84,41	86,25
26,23	25,30	14,08	0,00	1988,86	1297,26	87,99	84,43	86,28
26,32	25,38	14,17	0,00	1996,43	1301,97	87,99	84,46	86,30
26,38	25,45	14,23	0,00	1996,43	1306,69	87,99	84,46	86,31
26,47	25,53	14,32	0,00	2001,48	1316,13	87,99	84,48	86,32
26,60	25,67	14,45	0,00	2002,74	1325,56	87,99	84,49	86,33
26,73	25,80	14,58	0,00	2014,11	1335,00	87,99	84,53	86,35
26,88	25,95	14,73	0,00	2021,68	1344,43	87,99	84,56	86,37
27,02	26,08	14,87	0,00	2026,73	1363,30	87,99	84,58	86,39
27,10	26,17	14,95	0,00	2034,31	1368,02	87,99	84,61	86,43
27,23	26,30	15,08	0,00	2039,36	1386,89	87,99	84,63	86,44
27,35	26,42	15,20	0,00	2046,93	1401,04	87,99	84,66	86,48
27,57	26,63	15,42	0,00	2054,51	1415,19	87,99	84,69	86,51
27,78	26,85	15,63	0,00	2067,13	1429,34	87,99	84,74	86,54
27,90	26,97	15,75	0,00	2067,13	1434,06	87,99	84,74	86,57
28,02	27,08	15,87	0,00	2069,66	1438,78	87,99	84,75	86,58
28,07	27,13	15,92	0,00	2069,66	1438,78	87,99	84,75	86,59
28,17	27,23	16,02	0,00	2077,23	1457,64	87,99	84,78	86,59
28,28	27,35	16,13	0,00	2087,33	1476,51	87,99	84,81	86,63
28,37	27,43	16,22	0,00	2097,43	1485,95	87,99	84,85	86,67
28,90	27,97	16,75	0,00	2155,50	1533,12	87,99	85,08	86,69
29,02	28,08	16,87	0,00	2170,65	1542,56	87,99	85,14	86,79
29,20	28,27	17,05	0,00	2188,33	1561,43	87,99	85,21	86,81
29,40	28,47	17,25	0,00	2206,00	1580,29	87,99	85,28	86,84
29,53	28,60	17,38	0,00	2223,68	1599,16	87,99	85,34	86,88
29,62	28,68	17,47	0,00	2228,73	1599,16	87,99	85,36	86,92
29,70	28,77	17,55	0,00	2236,30	1618,03	87,99	85,39	86,92
29,87	28,93	17,72	0,00	2243,88	1618,03	87,99	85,42	86,96
29,88	28,95	17,73	0,00	2256,50	1622,75	87,99	85,47	86,96
29,98	29,05	17,83	0,00	2261,55	1627,47	87,99	85,49	86,97
30,07	29,13	17,92	0,00	2269,13	1646,34	87,99	85,52	86,98
30,18	29,25	18,03	0,00	2281,75	1651,05	87,99	85,57	87,02
30,28	29,35	18,13	0,00	2286,80	1660,49	87,99	85,59	87,03
30,37	29,43	18,22	0,00	2291,85	1665,21	87,99	85,61	87,05
30,57	29,63	18,42	0,00	2307,00	1674,64	87,99	85,67	87,06
30,70	29,77	18,55	0,00	2319,63	1688,79	87,99	85,72	87,08
30,88	29,95	18,73	0,00	2329,73	1698,23	87,99	85,76	87,11
31,02	30,08	18,87	0,00	2337,30	1707,66	87,99	85,79	87,13
31,23	30,30	19,08	0,00	2349,93	1717,10	87,99	85,83	87,15



**Cuadro B.11 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas en la primera repetición durante las fermentaciones de la sacarosa en la segunda etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V 1 (cm <sup>3</sup> )	V 2 (cm <sup>3</sup> )	V 3 (cm <sup>3</sup> )	P 1 CO <sub>2</sub> (kPa)	P 2 CO <sub>2</sub> (kPa)	P 3 CO <sub>2</sub> (kPa)
31,37	30,43	19,22	0,00	2362,55	1726,53	87,99	85,88	87,17
31,45	30,52	19,30	0,00	2367,60	1735,97	87,99	85,90	87,19
31,53	30,60	19,38	0,00	2370,13	1745,40	87,99	85,91	87,21
31,78	30,85	19,63	0,00	2387,80	1759,55	87,99	85,98	87,23
31,90	30,97	19,75	0,00	2395,38	1787,86	87,99	86,01	87,26
32,07	31,13	19,92	0,00	2400,43	1797,29	87,99	86,03	87,32
32,28	31,35	20,13	0,00	2408,00	1811,44	87,99	86,06	87,34
32,37	31,43	20,22	0,00	2410,53	1820,88	87,99	86,07	87,36
32,73	31,80	20,58	0,00	2425,68	1839,75	87,99	86,13	87,38
32,78	31,85	20,63	0,00	2428,20	1853,90	87,99	86,14	87,42
33,00	32,07	20,85	0,00	2435,78	1863,33	87,99	86,17	87,45
33,17	32,23	21,02	0,00	2443,35	1886,92	87,99	86,20	87,47
33,45	32,52	21,30	0,00	2450,93	1896,35	87,99	86,23	87,52
33,60	32,67	21,45	0,00	2463,55	1901,07	87,99	86,28	87,54
33,70	32,77	21,55	0,00	2468,60	1915,22	87,99	86,30	87,55
33,90	32,97	21,75	0,00	2473,65	1924,66	87,99	86,32	87,58
34,12	33,18	21,97	0,00	2478,70	1938,81	87,99	86,33	87,60
34,32	33,38	22,17	0,00	2483,75	1948,24	87,99	86,35	87,63
34,42	33,48	22,27	0,00	2486,28	1962,40	87,99	86,36	87,65
34,57	33,63	22,42	0,00	2488,80	1967,11	87,99	86,37	87,68
34,78	33,85	22,63	0,00	2488,80	1967,11	87,99	86,37	87,69
34,98	34,05	22,83	0,00	2488,80	1976,55	87,99	86,37	87,69
35,13	34,20	22,98	0,00	2491,33	1985,98	87,99	86,38	87,71
35,33	34,40	23,18	0,00	2491,33	1995,42	87,99	86,38	87,73
35,45	34,52	23,30	0,00	2491,33	2004,85	87,99	86,38	87,75
35,67	34,73	23,52	0,00	2498,90	2009,57	87,99	86,41	87,77
35,78	34,85	23,63	0,00	2498,90	2014,29	87,99	86,41	87,78
35,95	35,02	23,80	0,00	2501,43	2056,74	87,99	86,42	87,79
36,12	35,18	23,97	0,00	2501,43	2066,18	87,99	86,42	87,88
36,28	35,35	24,13	0,00	2501,43	2075,61	87,99	86,42	87,89

**Cuadro B.12** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída. En la segunda etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V <sub>g1</sub> (cm <sup>3</sup> )	V <sub>g1</sub> (cm <sup>3</sup> )	V <sub>g3</sub> (cm <sup>3</sup> )
0,00			0,00	0,00	0,00
0,93	0,00		1,26	0,00	0,00
1,80	0,87		3,79	0,00	0,00

**Cuadro B.12 (continuación)** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída. En la segunda etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V <sub>g1</sub> (cm <sup>3</sup> )	V <sub>g1</sub> (cm <sup>3</sup> )	V <sub>g3</sub> (cm <sup>3</sup> )
2,27	1,33	-	6,31	10,22	0,00
2,55	1,62	-	11,36	10,22	0,00
2,70	1,77	-	12,62	10,22	0,00
2,90	1,97	-	12,62	11,50	0,00
3,00	2,07	-	13,89	11,50	0,00
3,18	2,25	-	24,01	11,50	0,00
3,37	2,43	-	24,01	12,78	0,00
3,48	2,55	-	28,34	12,78	0,00
3,65	2,72	-	32,68	15,34	0,00
3,82	2,88	-	35,57	20,45	0,00
3,95	3,02	-	41,35	23,01	0,00
4,23	3,30	-	47,13	25,56	0,00
4,27	3,33	-	61,59	33,23	0,00
4,43	3,50	-	67,37	33,23	0,00
5,15	4,22	-	70,26	40,90	0,00
5,30	4,37	-	119,41	66,46	0,00
5,47	4,53	-	133,86	71,57	0,00
5,55	4,62	-	148,31	84,36	0,00
5,70	4,77	-	154,10	92,02	0,00
5,82	4,88	-	174,33	112,47	0,00
5,88	4,95	-	185,90	115,03	0,00
5,93	5,00	-	206,13	132,92	0,00
6,00	5,07	-	214,81	138,04	0,00
6,10	5,17	-	228,33	140,59	0,00
6,18	5,25	-	245,23	148,26	0,00
6,30	5,37	-	245,23	173,82	0,00
6,52	5,58	-	245,23	212,17	0,00
6,60	5,67	-	245,23	237,73	0,00
6,68	5,75	-	245,23	255,62	0,00
6,75	5,82	-	248,61	268,40	0,00
6,85	5,92	-	255,38	293,97	0,00
6,92	5,98	-	275,66	311,86	0,00
7,00	6,07	-	279,04	327,20	0,00
7,13	6,20	-	302,71	357,87	0,00
7,20	6,27	-	312,85	370,65	0,00
7,32	6,38	-	333,14	396,22	0,00
7,40	6,47	-	353,42	419,22	0,00
7,47	6,53	-	366,95	432,00	0,00

**Cuadro B.12 (continuación)** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída. En la segunda etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V <sub>g1</sub> (cm <sup>3</sup> )	V <sub>g1</sub> (cm <sup>3</sup> )	V <sub>g3</sub> (cm <sup>3</sup> )
7,53	6,60	-	383,85	447,34	0,00
7,60	6,67	-	397,37	462,68	0,00
7,68	6,75	-	410,90	483,13	0,00
7,85	6,92	-	458,23	529,14	0,00
7,93	7,00	-	478,51	549,59	0,00
8,38	7,45	-	569,80	651,84	0,00
8,43	7,50	-	586,70	664,62	0,00
8,53	7,60	-	606,99	690,18	0,00
8,62	7,68	-	630,65	715,75	0,00
8,75	7,82	-	650,94	741,31	0,00
8,87	7,93	-	661,08	771,98	0,00
8,92	7,98	-	671,23	787,32	0,00
9,00	8,07	-	691,51	805,21	0,00
9,10	8,17	-	748,50	838,45	0,00
9,33	8,40	-	748,50	881,90	0,00
9,45	8,52	-	789,21	907,46	0,00
9,48	8,55	-	829,92	920,25	0,00
9,60	8,67	-	829,92	953,48	0,00
9,67	8,73	-	870,63	971,37	0,00
9,83	8,90	-	903,20	996,44	0,00
10,08	9,15	-	931,69	1051,60	0,00
10,32	9,38	-	1013,11	1084,19	0,00
10,60	9,67	-	1074,17	1154,39	0,00
10,80	9,87	-	1139,31	1194,51	0,00
10,95	10,02	-	1200,37	1222,09	0,00
11,10	10,17	-	1237,01	1254,68	0,00
11,22	10,28	-	1281,79	1277,25	0,00
11,38	10,45	-	1306,21	1307,33	0,00
11,58	10,65	-	1330,64	1337,42	0,00
11,67	10,73	-	1367,27	1352,46	0,00
11,82	10,88	-	1383,56	1377,53	0,00
11,93	11,00	-	1420,20	1387,56	0,00
12,00	11,07	-	1452,76	1397,59	0,00
12,15	11,22	0,00	1478,34	1422,66	0,00
12,32	11,38	0,17	-	1447,74	0,00
12,40	11,47	0,25	-	1465,29	0,00
23,97	23,03	11,82	-	0,00	1023,65
24,17	23,23	12,02	-	1887,86	1051,96

**Cuadro B.12 (continuación)** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída. En la segunda etapa experimental.

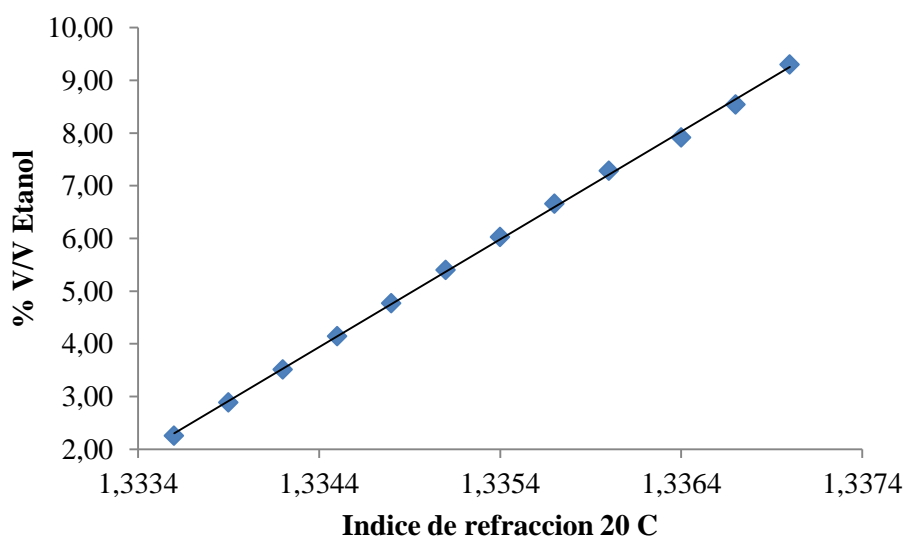
<b>Tiempo 1 (h)</b>	<b>Tiempo 2 (h)</b>	<b>Tiempo 3 (h)</b>	<b>V<sub>g1</sub> (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V<sub>g1</sub> (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V<sub>g3</sub>(cm<sup>3</sup>)</b>
24,32	23,38	12,17	-	1895,43	1061,39
24,62	23,68	12,47	-	1910,58	1136,87
24,70	23,77	12,55	-	1913,11	1146,30
24,78	23,85	12,63	-	1920,68	1155,74
24,87	23,93	12,72	-	1923,21	1165,17
24,95	24,02	12,80	-	1930,78	1169,89
25,03	24,10	12,88	-	1933,31	1179,32
25,12	24,18	12,97	-	1935,83	1193,48
25,23	24,30	13,08	-	1940,88	1202,91
25,35	24,42	13,20	-	1948,46	1217,06
25,47	24,53	13,32	-	1953,51	1221,78
25,55	24,62	13,40	-	1958,56	1231,21
25,63	24,70	13,48	-	1958,56	1240,65
25,73	24,80	13,58	-	1966,13	1250,08
25,85	24,92	13,70	-	1971,18	1259,52
25,93	25,00	13,78	-	1978,76	1268,95
26,03	25,10	13,88	-	1978,76	1273,67
26,15	25,22	14,00	-	1983,81	1287,82
26,23	25,30	14,08	-	1988,86	1297,26
26,32	25,38	14,17	-	1996,43	1301,97
26,38	25,45	14,23	-	1996,43	1306,69
26,47	25,53	14,32	-	2001,48	1316,13
26,60	25,67	14,45	-	2002,74	1325,56
26,73	25,80	14,58	-	2014,11	1335,00
26,88	25,95	14,73	-	2021,68	1344,43
27,02	26,08	14,87	-	2026,73	1363,30
27,10	26,17	14,95	-	2034,31	1368,02
27,23	26,30	15,08	-	2039,36	1386,89
27,35	26,42	15,20	-	2046,93	1401,04
27,57	26,63	15,42	-	2054,51	1415,19
27,78	26,85	15,63	-	2067,13	1429,34
27,90	26,97	15,75	-	2067,13	1434,77
28,02	27,08	15,87	-	2069,66	1440,19
28,07	27,13	15,92	-	2069,66	1440,19
28,17	27,23	16,02	-	2077,23	1461,89
28,28	27,35	16,13	-	2087,33	1483,60
28,37	27,43	16,22	-	2097,43	1494,45
28,90	27,97	16,75	-	2155,50	1548,70

**Cuadro B.12 (continuación)** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída. En la segunda etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V <sub>g1</sub> (cm <sup>3</sup> )	V <sub>g1</sub> (cm <sup>3</sup> )	V <sub>g3</sub> (cm <sup>3</sup> )
29,02	28,08	16,87	-	2170,65	1559,56
29,20	28,27	17,05	-	2188,33	1581,26
29,40	28,47	17,25	-	2206,00	1602,96
29,53	28,60	17,38	-	2223,68	1624,66
29,62	28,68	17,47	-	2228,73	1624,66
29,70	28,77	17,55	-	2236,30	1646,37
29,87	28,93	17,72	-	2243,88	1646,37
29,88	28,95	17,73	-	2256,50	1651,79
29,98	29,05	17,83	-	2261,55	1657,22
30,07	29,13	17,92	-	2269,13	1678,92
30,18	29,25	18,03	-	2281,75	1684,34
30,28	29,35	18,13	-	2286,80	1695,20
30,37	29,43	18,22	-	2291,85	1700,62
30,57	29,63	18,42	-	2307,00	1711,47
30,70	29,77	18,55	-	2319,63	1727,75
30,88	29,95	18,73	-	2329,73	1738,60
31,02	30,08	18,87	-	2337,30	1749,45
31,23	30,30	19,08	-	2349,93	1760,30
31,37	30,43	19,22	-	2362,55	1771,15
31,45	30,52	19,30	-	2367,60	1782,01
31,53	30,60	19,38	-	2370,13	1792,86
31,78	30,85	19,63	-	2387,80	1809,13
31,90	30,97	19,75	-	2395,38	1847,44
32,07	31,13	19,92	-	2400,43	1860,21
32,28	31,35	20,13	-	2408,00	1879,36
32,37	31,43	20,22	-	2410,53	1892,13
32,73	31,80	20,58	-	2425,68	1917,66
32,78	31,85	20,63	-	2428,20	1936,82
33,00	32,07	20,85	-	2435,78	1949,59
33,17	32,23	21,02	-	2443,35	1981,51
33,45	32,52	21,30	-	2450,93	1994,27
33,60	32,67	21,45	-	2463,55	2000,66
33,70	32,77	21,55	-	2468,60	2019,81
33,90	32,97	21,75	-	2473,65	2032,58
34,12	33,18	21,97	-	2478,70	2051,73
34,32	33,38	22,17	-	2483,75	2064,50
34,42	33,48	22,27	-	2486,28	2083,65
34,57	33,63	22,42	-	2488,80	2090,04

**Cuadro B.12 (continuación)** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída. En la segunda etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V <sub>g1</sub> (cm <sup>3</sup> )	V <sub>g1</sub> (cm <sup>3</sup> )	V <sub>g3</sub> (cm <sup>3</sup> )
34,78	33,85	22,63	-	2488,80	2090,04
34,98	34,05	22,83	-	2488,80	2102,81
35,13	34,20	22,98	-	2491,33	2115,57
35,33	34,40	23,18	-	2491,33	2128,34
35,45	34,52	23,30	-	2491,33	2141,11
35,67	34,73	23,52	-	2498,90	2147,50
35,78	34,85	23,63	-	2498,90	2157,37
35,95	35,02	23,80	-	2501,43	2246,22
36,12	35,18	23,97	-	2501,43	2265,97
36,28	35,35	24,13	-	2501,43	2285,71



**Figura B.3** Índices de refracción de mezclas de etanol agua (Perry, 2008).

**Cuadro B.13** Coeficientes y parámetros de la ecuación de mejor ajuste para la determinación de etanol por refractometría.

Pendiente (adim)	Intercepto (%v/v)	R <sup>2</sup>
2046,2	-2726,5	0,09993

**Cuadro B.14** índices de refracción y concentraciones de las muestras líquidas extraídas en la segunda etapa experimental.

<b>Muestra</b>	<b>Tiempo (h)</b>	<b>n<sub>20</sub></b>	<b>% v/v</b>
1	3,00	1,3337	2,47
2	6,00	1,3339	3,02
3	9,00	1,3341	3,29
4	12,00	1,3346	4,31
5	15,63	1,3354	5,89
6	19,63	1,3358	6,74
7	23,52	1,3363	7,76
8	34,85	1,3369	9,14

**Cuadro B.15** Volumen desplazado y presión de gas en la primera repetición durante las fermentaciones y de los distintos sustratos. En la tercera etapa experimental.

<b>Tiempo (h)</b>	<b>V Corazón sin filtrar (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V Corazón filtrado (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V Cáscara sin filtrar (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>P CO<sub>2</sub> Corazón sin filtrar (kPa)</b>	<b>P CO<sub>2</sub> Corazón filtrado (kPa)</b>	<b>P CO<sub>2</sub> Cáscara sin filtrar (kPa)</b>
0,00	0,00	0,00	0,00	85,45	85,45	85,45
0,63	0,00	0,00	0,78	85,37	85,37	85,37
1,37	1,69	0,00	2,34	85,37	85,37	85,37
2,23	5,08	0,00	3,11	85,28	85,28	85,28
2,43	5,93	0,00	3,50	85,19	85,19	85,19
2,57	5,93	0,00	3,89	85,19	85,19	85,19
2,78	5,93	0,00	5,45	85,19	85,19	85,19
2,92	6,77	0,00	5,45	85,19	85,19	85,19
3,30	8,47	0,00	7,01	85,19	85,19	85,19
3,48	11,01	0,00	7,78	85,19	85,19	85,19
3,62	12,70	0,00	8,56	85,19	85,19	85,19
3,82	14,40	0,00	10,90	85,19	85,19	85,19
3,98	16,94	0,00	10,90	85,19	85,19	85,19
4,18	21,17	0,00	13,23	85,19	85,19	85,19
4,40	23,71	0,00	14,79	85,19	85,19	85,19
20,92	124,48	94,86	79,40	85,69	85,69	85,69
21,15	127,02	97,47	80,95	85,69	85,69	85,69
21,25	128,72	99,21	80,95	85,69	85,69	85,69
21,35	129,56	99,21	81,73	85,69	85,69	85,69
21,48	132,10	100,95	81,73	85,69	85,61	85,61
21,62	132,10	103,56	82,51	85,69	85,53	85,53
21,78	133,80	104,43	82,51	85,69	85,53	85,53
21,90	135,49	104,43	83,29	85,69	85,53	85,53
22,10	135,49	107,04	83,29	85,69	85,53	85,53
22,27	138,03	108,78	84,07	85,61	85,53	85,53

**Cuadro B.15 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas en la primera repetición durante las fermentaciones y de los distintos sustratos. En la tercera etapa experimental.

<b>Tiempo (h)</b>	<b>V Corazón sin filtrar (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V Corazón filtrado (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>V Cáscara sin filtrar (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>P CO<sub>2</sub> Corazón sin filtrar (kPa)</b>	<b>P CO<sub>2</sub> Corazón filtrado (kPa)</b>	<b>P CO<sub>2</sub> Cáscara sin filtrar (kPa)</b>
22,42	140,57	109,65	84,07	85,53	85,53	85,53
22,55	141,42	111,39	84,85	85,53	85,53	85,53
22,72	143,96	113,13	84,85	85,53	85,53	85,53
22,93	147,34	117,48	85,63	85,53	85,53	85,53
23,03	148,19	120,09	85,63	85,53	85,53	85,53
23,20	150,73	123,58	85,63	85,53	85,53	85,53
23,78	159,20	137,50	87,18	85,45	85,45	85,45
24,20	166,82	151,42	89,52	85,45	85,37	85,37
24,43	170,21	157,52	89,52	85,37	85,19	85,19
24,63	173,60	162,74	91,07	85,37	85,37	85,37
24,82	176,98	167,96	91,07	85,19	85,28	85,28
25,05	182,06	176,66	91,07	85,19	85,28	85,28
25,28	184,60	181,88	91,85	85,19	85,28	85,28
25,50	187,99	187,10	91,85	85,19	85,19	85,19
25,68	190,53	194,94	91,85	85,19	85,19	85,19
25,93	196,46	203,64	91,85	85,19	85,19	85,19
26,10	199,00	208,86	91,85	85,19	85,19	85,19
26,23	201,54	214,08	91,85	85,19	85,19	85,19
26,42	204,93	220,17	91,85	85,19	85,19	85,19
26,62	207,47	228,01	92,63	85,19	85,19	85,19
26,75	210,01	232,36	92,63	85,19	85,19	85,19
26,85	211,70	233,23	92,63	85,19	85,19	85,19
27,00	214,24	241,93	92,63	85,19	85,19	85,19
27,17	216,78	246,28	92,63	85,19	85,19	85,19
27,32	220,17	250,63	92,63	85,19	85,19	85,19
27,47	222,71	257,59	92,63	85,19	85,19	85,19
27,65	226,10	265,43	92,63	85,19	85,19	85,19
27,75	226,95	268,91	92,63	85,19	85,19	85,19
27,95	230,33	275,00	92,63	85,19	85,19	85,19
28,20	234,57	277,61	93,41	85,19	85,19	85,19
28,33	237,11	292,40	93,41	85,19	85,19	85,19
28,48	239,65	300,24	93,41	85,19	85,19	85,19
28,65	241,34	307,20	93,41	85,19	85,19	85,19
28,97	245,57	324,60	93,41	85,19	85,19	85,19
29,07	247,27	327,21	93,41	85,19	85,19	85,19
29,20	248,96	328,08	93,41	85,19	85,19	85,19
30,00	248,96	328,08	93,41	85,19	85,19	85,19
30,33	248,96	328,08	93,41	85,19	85,19	85,19



**Cuadro B.16** Volumen desplazado y presión de gas en la segunda repetición durante las fermentaciones y presión del gas producido durante la fermentación. En la tercera etapa experimental.

Tiempo (h)	V Corazón sin filtrar (cm <sup>3</sup> )	V Corazón filtrado (cm <sup>3</sup> )	V Cáscara sin filtrar (cm <sup>3</sup> )	V Cáscara filtrada (cm <sup>3</sup> )	P CO <sub>2</sub> Corazón sin filtrar (kPa)	P CO <sub>2</sub> Corazón filtrado (kPa)	P CO <sub>2</sub> Cáscara sin filtrar (kPa)	P CO <sub>2</sub> Cáscara filtrada (kPa)
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	85,19	85,19	85,19	85,19
1,50	0,00	0,00	0,00	2,52	85,10	85,10	85,10	85,10
2,05	0,00	0,00	0,00	5,05	85,01	85,01	85,01	85,01
2,38	0,00	0,00	7,79	5,05	85,01	85,01	85,01	85,01
2,57	0,00	0,00	12,98	10,10	85,01	85,01	85,01	85,01
2,90	7,31	2,52	15,58	12,62	85,01	85,01	85,01	85,01
3,30	24,37	2,52	23,37	20,20	85,01	85,01	85,01	85,01
3,55	41,42	2,52	28,56	25,25	85,01	85,01	85,01	85,01
3,92	65,79	5,05	38,95	32,82	85,01	85,01	85,01	85,01
4,25	82,85	7,57	51,93	42,92	85,01	85,01	85,01	85,01
4,53	109,65	15,15	64,92	55,55	85,01	85,01	85,01	85,01
4,63	116,96	17,67	75,30	60,60	85,01	85,01	85,01	85,01
4,82	134,02	25,25	85,69	70,70	85,01	85,01	85,01	85,01
4,92	141,33	32,82	90,89	73,22	85,01	85,01	85,01	85,01
5,07	153,51	35,35	98,68	85,85	85,01	85,01	85,01	85,01
5,25	168,13	42,92	114,26	90,90	85,01	85,01	85,01	85,01
5,43	182,75	50,50	124,64	103,52	85,01	85,01	85,01	85,01
5,53	190,06	55,55	129,84	108,57	85,01	85,01	85,01	85,01
5,75	207,12	63,12	145,42	118,67	85,01	85,01	85,01	85,01
5,83	214,43	63,12	150,61	126,25	85,01	85,01	85,01	85,01
5,95	219,30	70,70	155,80	133,82	85,01	85,01	85,01	85,01
6,07	229,05	70,70	166,19	138,87	85,01	85,01	85,01	85,01
21,28	409,36	237,35	527,13	502,47	85,53	85,53	85,53	85,53
21,57	414,24	239,87	534,92	507,52	85,53	85,53	85,53	85,53
21,85	423,98	239,87	542,72	512,57	85,53	85,53	85,53	85,53
22,02	426,42	239,87	547,91	512,57	85,37	85,37	85,37	85,37
22,18	433,73	242,40	550,51	512,57	85,37	85,37	85,37	85,37
22,30	433,73	242,40	555,70	512,57	85,37	85,37	85,37	85,37
22,45	438,60	244,92	560,89	512,57	85,37	85,37	85,37	85,37
22,52	441,04	244,92	568,68	512,57	85,37	85,37	85,37	85,37
22,63	445,91	247,45	573,88	512,57	85,37	85,37	85,37	85,37
22,82	448,35	247,45	573,88	512,57	85,37	85,37	85,37	85,37
23,03	455,66	237,35	579,07	512,57	85,37	85,37	85,37	85,37
23,30	467,84	252,50	589,46	512,57	85,37	85,37	85,37	85,37
23,42	467,84	255,02	589,46	512,57	85,37	85,37	85,37	85,37
23,67	480,03	257,55	602,44	512,57	85,37	85,37	85,36	85,37
23,77	482,46	257,55	607,63	512,57	85,37	85,37	85,36	85,37

**Cuadro B.16 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas en la segunda repetición durante las fermentaciones y presión del gas producido durante la fermentación. En la tercera etapa experimental

Tiempo (h)	V Corazón sin filtrar (cm <sup>3</sup> )	V Corazón filtrado (cm <sup>3</sup> )	V Cáscara sin filtrar (cm <sup>3</sup> )	V Cáscara filtrada (cm <sup>3</sup> )	P CO <sub>2</sub> Corazón sin filtrar (kPa)	P CO <sub>2</sub> Corazón filtrado (kPa)	P CO <sub>2</sub> Cáscara sin filtrar (kPa)	P CO <sub>2</sub> Cáscara filtrada (kPa)
23,85	484,90	257,55	610,23	512,57	85,28	85,28	85,28	85,28
24,08	494,65	260,07	618,02	512,57	85,19	85,19	85,19	85,19
24,30	504,39	262,60	625,81	512,57	85,19	85,19	85,19	85,19
24,50	509,27	265,12	636,20	512,57	85,19	85,19	85,19	85,19
24,70	519,01	265,12	643,99	512,57	85,19	85,19	85,19	85,19
24,87	528,76	265,12	649,18	512,57	85,19	85,19	85,19	85,19
25,03	531,20	267,65	659,57	512,57	85,19	85,19	85,19	85,19
25,18	538,51	270,17	664,76	512,57	85,19	85,19	85,19	85,19
25,47	548,26	270,17	675,15	512,57	85,19	85,19	85,19	85,19
25,67	560,44	270,17	685,53	512,57	85,10	85,10	85,10	85,10
25,77	565,31	272,70	688,13	512,57	85,10	85,10	85,10	85,10
26,13	575,06	275,22	698,52	502,47	85,01	85,01	85,01	85,01
26,35	584,81	275,22	708,91	499,94	85,01	85,01	85,01	85,01
26,62	596,99	275,22	708,91	497,42	85,01	85,01	85,01	85,01
27,23	623,79	277,75	742,66	497,42	85,01	85,01	85,01	85,01
27,33	628,67	282,80	745,26	497,42	85,01	85,01	85,01	85,01
27,45	631,10	282,80	750,45	494,89	85,01	85,01	85,01	85,01
27,68	640,85	285,32	760,84	494,89	85,01	85,01	85,01	85,01
27,98	655,47	285,32	768,63	487,32	85,01	85,01	85,01	85,01
28,10	657,91	285,32	768,63	487,32	85,01	85,01	85,01	85,01
28,30	665,22	285,32	779,02	484,79	85,01	85,01	85,01	85,01
28,50	670,09	285,32	786,81	484,79	85,01	85,01	85,01	85,01
28,62	674,96	285,32	789,40	479,74	85,01	85,01	85,01	85,01
28,90	682,27	285,32	797,19	477,22	85,01	85,01	85,01	85,01
29,18	692,02	285,32	799,79	472,17	85,01	85,01	85,01	85,01
29,38	694,46	285,32	810,18	472,17	85,01	85,01	85,01	85,01
29,55	701,77	285,32	810,18	472,17	85,01	85,01	85,01	85,01
29,68	706,64	285,32	812,77	472,17	85,01	85,01	85,01	85,01
29,85	713,95	285,32	817,97	472,17	85,01	85,01	85,01	85,01
30,00	716,39	285,32	823,16	472,17	85,01	85,01	85,01	85,01
30,33	716,39	285,32	823,16	472,17	85,01	85,01	85,01	85,01
30,67	716,39	285,32	823,16	472,17	85,01	85,01	85,01	85,01

**Cuadro B.17** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída y la concentración calculada a partir del mismo. En la tercera etapa experimental.

<b>Tiempo 1 (h)</b>	<b>Tiempo 2 (h)</b>	<b>Cn Co sf 1 EtOH (%v/v)</b>	<b>Cn Co f 1 EtOH (%v/v)</b>	<b>Cn Ca sf 1 EtOH (%v/v)</b>	<b>Cn Co sf 2 EtOH (%v/v)</b>	<b>Cn Co f 2 EtOH (%v/v)</b>	<b>Cn Ca sf 2 EtOH (%v/v)</b>	<b>Cn Ca f 2 EtOH (%v/v)</b>
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,63	1,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,37	2,05	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
2,23	2,38	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00
2,43	2,57	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00
2,57	2,90	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00
2,78	3,30	0,01	0,00	0,01	0,02	0,02	0,02	0,00
2,92	3,55	0,02	0,00	0,01	0,03	0,02	0,02	0,00
3,30	3,92	0,02	0,00	0,02	0,05	0,03	0,03	0,00
3,48	4,25	0,03	0,00	0,02	0,07	0,04	0,03	0,01
3,62	4,53	0,03	0,00	0,02	0,09	0,05	0,04	0,01
3,82	4,63	0,04	0,00	0,03	0,09	0,06	0,05	0,01
3,98	4,82	0,04	0,00	0,03	0,11	0,07	0,06	0,02
4,18	4,92	0,05	0,00	0,04	0,11	0,07	0,06	0,03
4,40	5,07	0,06	0,00	0,04	0,12	0,08	0,07	0,03
20,92	5,25	0,32	0,24	0,22	0,13	0,09	0,07	0,03
21,15	5,43	0,33	0,25	0,22	0,15	0,10	0,08	0,04
21,25	5,53	0,33	0,26	0,22	0,15	0,10	0,09	0,04
21,35	5,75	0,33	0,26	0,22	0,17	0,12	0,10	0,05
21,48	5,83	0,34	0,26	0,22	0,17	0,12	0,10	0,05
21,62	5,95	0,34	0,26	0,23	0,18	0,12	0,11	0,06
21,78	6,07	0,34	0,27	0,23	0,18	0,13	0,11	0,06
21,90	21,28	0,35	0,27	0,23	0,33	0,43	0,41	0,19
22,10	21,57	0,35	0,27	0,23	0,34	0,44	0,41	0,20
22,27	21,85	0,35	0,28	0,23	0,35	0,44	0,42	0,20
22,42	22,02	0,36	0,28	0,23	0,35	0,44	0,42	0,19
22,55	22,18	0,36	0,28	0,23	0,35	0,45	0,42	0,20
22,72	22,30	0,37	0,29	0,23	0,35	0,45	0,42	0,20
22,93	22,45	0,38	0,30	0,23	0,36	0,45	0,42	0,20
23,03	22,52	0,38	0,31	0,23	0,36	0,46	0,42	0,20
23,20	22,63	0,39	0,32	0,23	0,36	0,46	0,42	0,20
23,78	22,82	0,41	0,35	0,24	0,36	0,46	0,42	0,20
24,20	23,03	0,43	0,39	0,24	0,37	0,47	0,42	0,19
24,43	23,30	0,43	0,40	0,24	0,38	0,48	0,42	0,20
24,63	23,42	0,44	0,41	0,25	0,38	0,48	0,42	0,21

**Cuadro B.17 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas en la segunda repetición durante las fermentaciones y presión del gas producido durante la fermentación. En la tercera etapa experimental.

Tiempo (h)	V Corazón sin filtrar (cm <sup>3</sup> )	V Corazón filtrado (cm <sup>3</sup> )	V Cáscara sin filtrar (cm <sup>3</sup> )	V Cáscara filtrada (cm <sup>3</sup> )	P CO <sub>2</sub> Corazón sin filtrar (kPa)	P CO <sub>2</sub> Corazón filtrado (kPa)	P CO <sub>2</sub> Cáscara sin filtrar (kPa)	P CO <sub>2</sub> Cáscara filtrada (kPa)
24,82	23,67	0,45	0,43	0,25	0,39	0,49	0,42	0,21
25,05	23,77	0,46	0,45	0,25	0,39	0,49	0,42	0,21
25,28	23,85	0,47	0,46	0,25	0,39	0,49	0,41	0,21
25,50	24,08	0,48	0,47	0,25	0,40	0,50	0,41	0,21
25,68	24,30	0,48	0,49	0,25	0,41	0,50	0,41	0,21
25,93	24,50	0,50	0,52	0,25	0,41	0,51	0,41	0,21
26,10	24,70	0,50	0,53	0,25	0,42	0,52	0,41	0,21
26,23	24,87	0,51	0,54	0,25	0,43	0,52	0,41	0,21
26,42	25,03	0,52	0,56	0,25	0,43	0,53	0,41	0,22
26,62	25,18	0,52	0,58	0,25	0,43	0,54	0,41	0,22
26,75	25,47	0,53	0,59	0,25	0,44	0,54	0,41	0,22
26,85	25,67	0,54	0,59	0,25	0,45	0,55	0,41	0,22
27,00	25,77	0,54	0,61	0,25	0,45	0,55	0,41	0,22
27,17	26,13	0,55	0,62	0,25	0,46	0,56	0,40	0,22
27,32	26,35	0,56	0,63	0,25	0,47	0,57	0,40	0,22
27,47	26,62	0,56	0,65	0,25	0,48	0,57	0,40	0,22
27,65	27,23	0,57	0,67	0,25	0,50	0,59	0,40	0,22
27,75	27,33	0,57	0,68	0,25	0,50	0,60	0,40	0,23
27,95	27,45	0,58	0,70	0,25	0,51	0,60	0,40	0,23
28,20	27,68	0,59	0,70	0,25	0,51	0,61	0,40	0,23
28,33	27,98	0,60	0,74	0,25	0,52	0,62	0,39	0,23
28,48	28,10	0,61	0,77	0,25	0,53	0,62	0,39	0,23
28,65	28,30	0,61	0,80	0,25	0,53	0,62	0,39	0,23
28,97	28,50	0,62	0,81	0,25	0,54	0,63	0,39	0,23
29,07	28,62	0,63	0,83	0,25	0,54	0,63	0,38	0,23
29,20	28,90	0,63	0,83	0,25	0,55	0,64	0,38	0,23
30,00	29,18	0,63	0,83	0,25	0,55	0,64	0,38	0,23
30,33	29,38	0,63	0,83	0,25	0,56	0,65	0,38	0,23
-	29,55	-	-	-	0,56	0,65	0,38	0,23
-	29,68	-	-	-	0,57	0,65	0,38	0,23
-	29,85	-	-	-	0,57	0,66	0,38	0,23
-	30,00	-	-	-	0,57	0,66	0,38	0,23
-	30,33	-	-	-	0,57	0,66	0,38	0,23
-	30,67	-	-	-	0,57	0,66	0,38	0,23

**Cuadro B.18** Volumen desplazado y presión de gas durante las fermentaciones, de la mezcla de corazón y cáscara en la cuarta etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V1 (cm <sup>3</sup> )	V2 (cm <sup>3</sup> )	V3 (cm <sup>3</sup> )	P CO <sub>2</sub> 1 (kPa)	P CO <sub>2</sub> 2 (kPa)	P CO <sub>2</sub> 3 (kPa)
0,00	-	-	0,00	-	-	81,29	-	-
0,23	-	-	0,00	-	-	81,29	-	-
0,32	-	-	0,00	-	-	81,29	-	-
0,60	0,00	-	3,68	0,00	-	81,28	89,69	-
0,75	0,15	-	3,68	0,00	-	81,28	89,69	-
0,92	0,32	-	3,68	0,00	-	81,28	89,69	-
1,12	0,52	-	3,68	0,00	-	81,28	89,69	-
1,30	0,70	-	3,68	0,00	-	81,28	89,69	-
1,42	0,82	-	3,68	0,00	-	81,28	89,69	-
1,53	0,93	-	3,68	0,00	-	81,28	89,69	-
1,70	1,10	-	4,91	0,00	-	81,27	89,69	-
1,85	1,25	-	12,27	2,52	-	81,24	89,68	-
2,03	1,43	-	14,73	2,52	-	81,08	89,52	-
2,33	1,73	-	22,09	7,57	-	81,05	89,50	-
2,53	1,93	-	24,54	11,36	-	81,04	89,49	-
2,98	2,38	-	34,36	17,67	-	81,00	89,47	-
3,07	2,47	-	35,59	17,67	-	80,99	89,47	-
3,23	2,63	-	36,81	22,72	-	80,99	89,45	-
3,42	2,82	-	46,63	27,77	-	80,87	89,34	-
3,50	2,90	-	49,08	29,04	-	80,86	89,34	-
3,62	3,02	-	51,54	30,30	-	80,76	89,25	-
3,75	3,15	-	56,45	35,35	-	80,74	89,23	-
3,92	3,32	-	66,26	40,40	-	80,71	89,21	-
4,00	3,40	-	78,54	50,50	-	80,66	89,17	-
4,13	3,53	-	80,99	53,02	-	80,65	89,16	-
4,33	3,73	-	85,90	60,60	-	80,63	89,13	-
4,58	3,98	-	98,17	68,17	-	80,49	89,02	-
4,83	4,23	-	107,99	74,49	-	80,45	88,99	-
5,02	4,42	-	116,58	78,27	-	80,37	88,93	-
5,17	4,57	-	123,94	87,11	-	80,34	88,89	-
5,37	4,77	-	134,98	93,42	-	80,29	88,87	-
5,53	4,93	-	144,80	98,47	-	80,25	88,85	-
5,72	5,12	-	154,62	106,05	-	80,27	88,87	-
5,92	5,32	-	166,89	111,10	-	80,13	88,76	-
6,17	5,57	-	169,34	123,72	-	80,12	88,71	-
6,33	5,73	-	184,07	128,77	-	80,06	88,69	-
6,40	5,80	-	193,88	131,30	-	80,02	88,68	-
6,63	6,03	-	203,70	141,40	-	79,98	88,64	-

**Cuadro B.18 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas durante las fermentaciones, de la mezcla de corazón y cáscara en la cuarta etapa experimental.

<b>Tiempo 1</b>	<b>Tiempo 2</b>	<b>Tiempo 3</b>	<b>V1</b>	<b>V2</b>	<b>V3</b>	<b>P CO<sub>2</sub> 1</b>	<b>P CO<sub>2</sub> 2</b>	<b>P CO<sub>2</sub> 3</b>
<b>(h)</b>	<b>(h)</b>	<b>(h)</b>	<b>(cm<sup>3</sup>)</b>	<b>(cm<sup>3</sup>)</b>	<b>(cm<sup>3</sup>)</b>	<b>(kPa)</b>	<b>(kPa)</b>	<b>(kPa)</b>
6,78	6,18	-	220,88	154,02	-	79,91	88,60	-
6,90	6,30	-	233,15	164,12	-	79,86	88,56	-
7,03	6,43	-	245,42	186,85	-	79,82	88,47	-
7,22	6,62	-	269,96	209,57	-	79,72	88,38	-
7,33	6,73	-	304,32	217,15	-	79,58	88,35	-
7,42	6,82	-	314,14	227,25	-	79,54	88,31	-
7,50	6,90	-	326,41	239,87	-	79,49	88,26	-
7,58	6,98	-	346,05	255,02	-	79,41	88,20	-
7,70	7,10	-	348,50	270,17	-	79,40	88,15	-
7,90	7,30	-	368,13	295,42	-	79,33	88,05	-
8,10	7,50	-	387,77	320,67	-	79,25	87,95	-
8,20	7,60	-	400,04	333,30	-	79,20	87,90	-
8,33	7,73	-	409,85	345,92	-	79,16	87,85	-
8,55	7,95	-	429,49	373,70	-	79,08	87,74	-
8,67	8,07	-	441,76	388,85	-	79,03	87,68	-
8,98	8,38	-	476,12	424,19	-	78,89	87,55	-
9,12	8,52	-	485,94	441,87	-	78,85	87,48	-
9,22	8,62	-	498,21	454,49	-	78,81	87,43	-
9,37	8,77	-	510,48	467,12	-	78,76	87,38	-
9,58	8,98	-	527,66	487,32	-	78,69	87,30	-
9,67	9,07	-	532,57	494,89	-	78,67	87,27	-
9,87	9,27	-	547,29	512,57	-	78,61	87,20	-
9,95	9,35	-	559,56	527,72	-	78,56	87,15	-
10,20	9,60	-	566,92	542,87	-	78,53	87,09	-
10,32	9,72	-	579,20	550,44	-	78,48	87,06	-
10,48	9,88	-	584,10	563,07	-	78,46	87,01	-
10,70	10,10	-	601,28	580,74	-	78,57	87,11	-
10,85	10,25	-	611,10	590,84	-	78,44	86,99	-
11,05	10,45	-	618,46	600,94	-	78,41	86,95	-
11,13	10,53	-	623,37	605,99	-	78,39	86,93	-
11,30	10,70	-	633,19	618,62	-	78,44	86,97	-
11,47	10,87	-	645,46	633,77	-	78,31	86,82	-
11,58	10,98	-	650,37	636,29	-	78,29	86,81	-
11,72	11,12	-	670,00	656,49	-	78,12	86,65	-
11,87	11,27	-	672,46	669,12	-	78,11	86,60	-
12,00	11,40	-	687,18	679,22	-	78,05	86,56	-
12,12	11,52	-		689,32	-		86,52	-

**Cuadro B.18 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas durante las fermentaciones, de la mezcla de corazón y cáscara en la cuarta etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V1 (cm <sup>3</sup> )	V2 (cm <sup>3</sup> )	V3 (cm <sup>3</sup> )	P CO <sub>2</sub> 1 (kPa)	P CO <sub>2</sub> 2 (kPa)	P CO <sub>2</sub> 3 (kPa)
12,30	11,70	-	-	689,32	-	-	86,52	-
12,35	11,75	-	-	701,94	-	-	86,47	-
23,63	23,03	11,63	-	1073,11	627,01	-	85,53	82,49
23,87	23,27	11,87	-	1073,11	645,59	-	89,56	82,53
23,95	23,35	11,95	-	1075,64	650,24	-	89,55	82,54
24,15	23,55	12,15	-	1078,16	659,52	-	89,54	82,56
24,35	23,75	12,35	-	1079,42	678,10	--	89,54	82,60
24,57	23,97	12,57	-	1080,69	696,68	-	89,53	82,63
24,78	24,18	12,78	-	1090,79	715,26	-	89,49	82,67
25,00	24,40	13,00	-	1095,84	719,90	-	89,48	82,68
25,22	24,62	13,22	-	1100,89	729,19	-	89,46	82,70
25,43	24,83	13,43	-	1100,89	743,13	-	89,46	82,73
25,65	25,05	13,65	-	1105,94	752,42	-	89,44	82,75
25,87	25,27	13,87	-	1105,94	757,06	-	89,44	82,76
26,08	25,48	14,08	-	1118,56	770,99	-	89,31	82,71
26,30	25,70	14,30	-	1123,61	775,64	-	89,29	82,72
26,52	25,92	14,52	-	1123,61	784,93	-	89,29	82,66
26,73	26,13	14,73	-	1126,14	798,86	-	89,20	82,69
26,95	26,35	14,95	-	1126,14	808,15	-	89,20	82,71
27,17	26,57	15,17	-	1126,14	812,79	-	89,20	82,72
27,38	26,78	15,38	-	1146,34	817,44	-	89,12	82,73
27,60	27,00	15,60	-	1156,44	822,08	-	89,08	82,66
27,82	27,22	15,82	-	1186,74	826,73	-	88,88	82,59
28,03	27,43	16,03	-	1191,79	840,66	-	88,78	82,62
28,25	27,65	16,25	-	1199,36	859,24	-	88,75	82,66
28,47	27,87	16,47	-	1204,41	863,88	-	88,73	82,67
28,68	28,08	16,68	-	1214,51	863,88	-	88,69	82,67
28,90	28,30	16,90	-	1217,03	868,53	-	88,68	82,67
29,12	28,52	17,12	-	1227,13	868,53	-	88,64	82,67
29,33	28,73	17,33	-	1237,23	873,17	-	88,60	82,51
29,43	28,83	17,43	-	1249,86	882,46	-	88,38	82,53
29,52	28,92	17,52	-	1257,43	928,91	-	88,35	82,63
29,77	29,17	17,77	-	1262,48	942,84	-	88,42	82,75
29,88	29,28	17,88	-	1275,11	956,77	-	88,37	82,77
30,02	29,42	18,02	-	1280,16	966,06	-	88,26	82,71
30,13	29,53	18,13	-	1287,73	980,00	-	88,23	82,74
30,27	29,67	18,27	-	1292,78	984,64	-	88,21	82,75
30,43	29,83	18,43	-	1292,78	1003,22	-	88,21	82,78
30,43	29,83	18,43	-	1292,78	1003,22	-	88,21	82,78

**Cuadro B.18 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas durante las fermentaciones, de la mezcla de corazón y cáscara en la cuarta etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V1 (cm <sup>3</sup> )	V2 (cm <sup>3</sup> )	V3 (cm <sup>3</sup> )	P CO <sub>2</sub> 1 (kPa)	P CO <sub>2</sub> 2 (kPa)	P CO <sub>2</sub> 3 (kPa)
30,60	30,00	18,60	-	1292,78	1012,51	-	88,21	82,80
30,77	30,17	18,77	-	1295,31	1017,15	-	88,20	82,81
30,87	30,27	18,87	-	1295,31	1021,80	-	88,20	82,82
31,03	30,43	19,03	-	1300,36	1031,09	-	88,18	82,84
31,20	30,60	19,20	-	1302,88	1035,73	-	88,17	82,85
31,52	30,92	19,52	-	1302,88	1049,67	-	88,17	82,88
31,73	31,13	19,73	-	1305,41	1063,60	-	88,16	82,91
32,07	31,47	20,07	-	1305,41	1077,53	-	88,16	82,94
32,23	31,63	20,23	-	1307,93	1091,47	-	88,15	82,97
32,40	31,80	20,40	-	1312,98	1096,11	-	88,14	82,98
32,53	31,93	20,53	-	1310,46	1110,04	-	88,15	83,01
32,90	32,30	20,90	-	1312,98	1110,04	-	88,14	83,01
33,08	32,48	21,08	-	1312,98	1119,33	-	88,14	83,03
33,28	32,68	21,28	-	1312,98	1123,98	-	88,14	83,04
33,53	32,93	21,53	-	1312,98	1128,62	-	88,14	83,05
33,78	33,18	21,78	-	1315,51	1128,62	-	88,13	83,05
34,03	33,43	22,03	-	1315,51	1133,27	-	88,13	83,06
34,17	33,57	22,17	-	1315,51	1133,27	-	88,13	83,06
34,33	33,70	22,30	-	1318,03	1137,91	-	88,12	83,07
34,42	33,83	22,43	-	1323,08	1142,56	-	88,10	83,08
34,58	33,97	22,57	-	1323,08	1142,56	-	88,10	83,08
34,75	34,10	22,70	-	1323,08	1142,56	-	88,10	83,08
34,83	34,23	22,83	-	1323,08	1147,20	-	88,10	83,09
34,92	34,37	22,97	-	1323,08	1147,20	-	88,10	83,09
35,05	34,50	23,10	-	1323,08	1151,85	-	88,10	83,10
35,22	34,63	23,23	-	1325,61	1142,56	-	88,09	83,08
35,38	34,77	23,37	-	1325,61	1147,20	-	88,09	83,09
35,55	34,90	23,50	-	1328,13	1147,20	-	88,08	83,09
35,72	35,03	23,63	-	1328,13	1151,85	-	88,08	83,10
35,88	35,17	23,77	-	1333,18	1151,85	-	88,06	83,10
36,05	35,30	23,90	-	1333,18	1156,49	-	88,06	83,11
36,22	35,43	24,03	-	1338,23	1161,13	-	88,04	83,12
36,38	35,57	24,17	-	1338,23	1165,78	-	88,04	83,13
36,55	35,70	24,30	-	1340,76	1170,42	-	88,03	83,14
36,72	35,83	24,43	-	1340,76	1175,07	-	88,03	83,15
36,88	35,97	24,57	-	1345,81	1179,71	-	88,01	83,16



**Cuadro B.18 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas durante las fermentaciones, de la mezcla de corazón y cáscara en la cuarta etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V1 (cm <sup>3</sup> )	V2 (cm <sup>3</sup> )	V3 (cm <sup>3</sup> )	P CO <sub>2</sub> 1 (kPa)	P CO <sub>2</sub> 2 (kPa)	P CO <sub>2</sub> 3 (kPa)
37,05	36,10	24,70	-	1350,86	1184,36	-	87,99	83,17
37,22	36,23	24,83	-	1350,86	1189,00	-	87,99	83,18
37,38	36,37	24,97	-	1350,86	1193,65	-	87,99	83,19
37,55	36,50	25,10	-	1350,86	1212,22	-	87,99	83,23

**Cuadro B.19** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída y la concentración calculada a partir del mismo. En la cuarta etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V1g (cm <sup>3</sup> )	V2 g(cm <sup>3</sup> )	V3 g (cm <sup>3</sup> )	Cn EtOH 1 (%v/v)	Cn EtOH (%v/v)	Cn EtOH (%v/v)
0,00	-	-	0,00	-	-	0,00	-	-
0,23	-	-	0,00	-	-	0,00	-	-
0,32	-	-	0,00	-	-	0,00	-	-
0,60	0,00	-	4,22	0,00	-	0,00	0,00	-
0,75	0,15	-	4,22	0,00	-	0,00	0,00	-
0,92	0,32	-	4,22	0,00	-	0,00	0,00	-
1,12	0,52	-	4,22	0,00	-	0,00	0,00	-
1,30	0,70	-	4,22	0,00	-	0,00	0,00	-
1,42	0,82	-	4,22	0,00	-	0,00	0,00	-
1,53	0,93	-	4,22	0,00	-	0,00	0,00	-
1,70	1,10	-	5,63	0,00	-	0,00	0,00	-
1,85	1,25	-	14,07	2,52	-	0,00	0,00	-
2,03	1,43	-	16,88	2,52	-	0,00	0,00	-
2,33	1,73	-	25,33	7,57	-	0,01	0,00	-
2,53	1,93	-	28,14	11,36	-	0,01	0,00	-
2,98	2,38	-	39,40	17,67	-	0,01	0,01	-
3,07	2,47	-	40,80	17,67	-	0,01	0,01	-
3,23	2,63	-	42,21	22,72	-	0,01	0,01	-
3,42	2,82	-	53,47	27,77	-	0,01	0,01	-
3,50	2,90	-	56,28	29,04	-	0,02	0,01	-
3,62	3,02	-	59,10	30,30	-	0,02	0,01	-
3,75	3,15	-	64,72	35,35	-	0,02	0,01	-
3,92	3,32	-	75,98	40,40	-	0,02	0,01	-
4,00	3,40	-	90,05	50,50	-	0,02	0,01	-

**Cuadro B.19 (continuación)** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída y la concentración calculada a partir del mismo. En la cuarta etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V1 g (cm <sup>3</sup> )	V2 g (cm <sup>3</sup> )	V3 g (cm <sup>3</sup> )	Cn EtOH 1 (%v/v)	Cn EtOH 2 (%v/v)	Cn EtOH 3 (%v/v)
4,13	3,53	-	93,35	53,02	-	0,02	0,02	-
4,33	3,73	-	99,94	60,60	-	0,03	0,02	-
4,58	3,98	-	116,43	68,17	-	0,03	0,02	-
4,83	4,23	-	129,62	74,49	-	0,03	0,02	-
5,02	4,42	-	141,16	78,27	-	0,04	0,02	-
5,17	4,57	-	151,06	87,11	-	0,04	0,03	-
5,37	4,77	-	165,90	93,42	-	0,04	0,03	-
5,53	4,93	-	179,09	98,47	-	0,05	0,03	-
5,72	5,12	-	192,28	106,05	-	0,05	0,03	-
5,92	5,32	-	208,76	111,10	-	0,06	0,03	-
6,17	5,57	-	212,06	123,72	-	0,06	0,04	-
6,33	5,73	-	231,85	128,77	-	0,06	0,04	-
6,40	5,80	-	245,04	131,30	-	0,06	0,04	-
6,63	6,03	-	258,23	141,40	-	0,07	0,04	-
6,78	6,18	-	281,31	154,02	-	0,07	0,04	-
6,90	6,30	-	297,80	164,12	-	0,08	0,05	-
7,03	6,43	-	314,29	186,85	-	0,08	0,05	-
7,22	6,62	-	347,26	209,57	-	0,09	0,06	-
7,33	6,73	-	393,43	217,15	-	0,10	0,06	-
7,42	6,82	-	406,62	227,25	-	0,11	0,07	-
7,50	6,90	-	423,11	239,87	-	0,11	0,07	-
7,58	6,98	-	449,49	255,02	-	0,12	0,07	-
7,70	7,10	-	453,47	270,17	-	0,12	0,08	-
7,90	7,30	-	485,32	295,42	-	0,13	0,09	-
8,10	7,50	-	517,18	320,67	-	0,13	0,09	-
8,20	7,60	-	537,09	333,30	-	0,14	0,10	-
8,33	7,73	-	553,01	345,92	-	0,14	0,10	-
8,55	7,95	-	584,87	373,70	-	0,15	0,11	-
8,67	8,07	-	604,78	388,85	-	0,16	0,11	-
8,98	8,38	-	660,52	424,19	-	0,17	0,12	-
9,12	8,52	-	676,45	441,87	-	0,18	0,13	-
9,22	8,62	-	696,36	454,49	-	0,18	0,13	-
9,37	8,77	-	716,27	467,12	-	0,19	0,13	-
9,58	8,98	-	744,14	487,32	-	0,19	0,14	-
9,67	9,07	-	752,10	494,89	-	0,19	0,14	-
9,87	9,27	-	775,99	512,57	-	0,20	0,15	-

**Cuadro B.19 (continuación)** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída y la concentración calculada a partir del mismo. En la cuarta etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V1 g (cm <sup>3</sup> )	V2 g (cm <sup>3</sup> )	V3 g (cm <sup>3</sup> )	Cn EtOH 1 (%v/v)	Cn EtOH 2 (%v/v)	Cn EtOH 3 (%v/v)
9,95	9,35	-	795,90	527,72	-	0,21	0,15	-
10,20	9,60	-	807,85	542,87	-	0,21	0,16	-
10,32	9,72	-	827,75	550,44	-	0,21	0,16	-
10,48	9,88	-	835,72	563,07	-	0,22	0,16	-
10,70	10,10	-	863,59	580,74	-	0,22	0,17	-
10,85	10,25	-	879,52	590,84	-	0,23	0,17	-
11,05	10,45	-	891,46	600,94	-	0,23	0,17	-
11,13	10,53	-	899,43	605,99	-	0,23	0,17	-
11,30	10,70	-	915,35	618,62	-	0,24	0,18	-
11,47	10,87	-	935,26	633,77	-	0,24	0,18	-
11,58	10,98	-	943,22	636,29	-	0,24	0,18	-
11,72	11,12	-	975,08	656,49	-	0,25	0,19	-
11,87	11,27	-	979,06	669,12	-	0,25	0,19	-
12,00	11,40	-	1002,95	679,22	-	0,26	0,19	-
12,12	11,52	-	-	689,32	-	-	0,20	-
12,30	11,70	-	-	689,32	-	-	0,20	-
12,35	11,75	-	-	701,94	-	-	0,20	-
23,63	23,03	11,63	-	1073,11	627,01	-	0,31	0,17
23,87	23,27	11,87	-	1073,11	645,59	-	0,32	0,18
23,95	23,35	11,95	-	1075,64	650,24	-	0,32	0,18
24,15	23,55	12,15	-	1078,16	659,52	-	0,32	0,18
24,35	23,75	12,35	-	1079,42	678,10	-	0,32	0,19
24,57	23,97	12,57	-	1080,69	696,68	-	0,32	0,19
24,78	24,18	12,78	-	1090,79	715,26	-	0,32	0,20
25,00	24,40	13,00	-	1095,84	719,90	-	0,33	0,20
25,22	24,62	13,22	-	1100,89	729,19	-	0,33	0,20
25,43	24,83	13,43	-	1100,89	743,13	-	0,33	0,20
25,65	25,05	13,65	-	1105,94	752,42	-	0,33	0,21
25,87	25,27	13,87	-	1105,94	757,06	-	0,33	0,21
26,08	25,48	14,08	-	1118,56	770,99	-	0,33	0,21
26,30	25,70	14,30	-	1123,61	775,64	-	0,33	0,21
26,52	25,92	14,52	-	1123,61	784,93	-	0,33	0,21
26,73	26,13	14,73	-	1126,14	798,86	-	0,33	0,22
26,95	26,35	14,95	-	1126,14	808,15	-	0,33	0,22
27,17	26,57	15,17	-	1126,14	812,79	-	0,33	0,22
27,38	26,78	15,38	-	1146,34	817,44	-	0,34	0,22

**Cuadro B.19 (continuación)** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída y la concentración calculada a partir del mismo. En la etapa cuarta etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V1g (cm <sup>3</sup> )	V2 g(cm <sup>3</sup> )	V3 g (cm <sup>3</sup> )	Cn EtOH 1 (%v/v)	Cn EtOH (%v/v)	Cn EtOH (%v/v)
27,60	27,00	15,60	-	1156,44	822,08	-	0,34	0,22
27,82	27,22	15,82	-	1186,74	826,73	-	0,35	0,23
28,03	27,43	16,03	-	1191,79	840,66	-	0,35	0,23
28,25	27,65	16,25	-	1199,36	859,24	-	0,35	0,23
28,47	27,87	16,47	-	1204,41	863,88	-	0,35	0,24
28,68	28,08	16,68	-	1214,51	863,88	-	0,36	0,24
28,90	28,30	16,90	-	1217,03	868,53	-	0,36	0,24
29,12	28,52	17,12	-	1227,13	868,53	-	0,36	0,24
29,33	28,73	17,33	-	1237,23	873,17	-	0,36	0,24
29,43	28,83	17,43	-	1249,86	882,46	-	0,36	0,24
29,52	28,92	17,52	-	1257,43	936,46	-	0,37	0,25
29,77	29,17	17,77	-	1262,48	952,66	-	0,37	0,26
29,88	29,28	17,88	-	1275,11	968,86	-	0,37	0,26
30,02	29,42	18,02	-	1280,16	979,66	-	0,37	0,27
30,13	29,53	18,13	-	1288,97	995,86	-	0,37	0,27
30,27	29,67	18,27	-	1294,84	1001,26	-	0,38	0,27
30,43	29,83	18,43	-	1294,84	1022,86	-	0,38	0,28
30,60	30,00	18,60	-	1294,84	1033,66	-	0,38	0,28
30,77	30,17	18,77	-	1297,77	1039,05	-	0,38	0,28
30,87	30,27	18,87	-	1297,77	1044,45	-	0,38	0,28
31,03	30,43	19,03	-	1303,64	1055,25	-	0,38	0,29
31,20	30,60	19,20	-	1306,58	1060,65	-	0,38	0,29
31,52	30,92	19,52	-	1306,58	1076,85	-	0,38	0,29
31,73	31,13	19,73	-	1309,51	1093,05	-	0,38	0,30
32,07	31,47	20,07	-	1309,51	1109,25	-	0,38	0,30
32,23	31,63	20,23	-	1312,45	1125,45	-	0,38	0,31
32,40	31,80	20,40	-	1318,32	1130,85	-	0,38	0,31
32,53	31,93	20,53	-	1315,39	1147,05	-	0,38	0,31
32,90	32,30	20,90	-	1318,32	1147,05	-	0,38	0,31
33,08	32,48	21,08	-	1318,32	1157,85	-	0,38	0,32
33,28	32,68	21,28	-	1318,32	1163,25	-	0,38	0,32
33,53	32,93	21,53	-	1318,32	1168,65	-	0,38	0,32
33,78	33,18	21,78	-	1321,26	1168,65	-	0,38	0,32
34,03	33,43	22,03	-	1321,26	1175,10	-	0,38	0,32
34,17	33,57	22,17	-	1321,26	1175,10	-	0,38	0,32
34,33	33,70	22,30	-	1324,19	1181,55	-	0,38	0,32

**Cuadro B.19 (continuación)** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída y la concentración calculada a partir del mismo. En la cuarta etapa experimental.

Tiempo 1 (h)	Tiempo 2 (h)	Tiempo 3 (h)	V1 g (cm <sup>3</sup> )	V2 g (cm <sup>3</sup> )	V3 g (cm <sup>3</sup> )	Cn EtOH 1 (%v/v)	Cn EtOH 2 (%v/v)	Cn EtOH 3 (%v/v)
34,42	33,83	22,43	-	1331,20	1187,99	-	0,39	0,32
34,58	33,97	22,57	-	1331,20	1187,99	-	0,39	0,32
34,75	34,10	22,70	-	1331,20	1187,99	-	0,39	0,32
34,83	34,23	22,83	-	1331,20	1194,44	-	0,39	0,33
34,92	34,37	22,97	-	1331,20	1194,44	-	0,39	0,33
35,05	34,50	23,10	-	1331,20	1200,89	-	0,39	0,33
35,22	34,63	23,23	-	1334,71	1187,99	-	0,39	0,32
35,38	34,77	23,37	-	1334,71	1194,44	-	0,39	0,33
35,55	34,90	23,50	-	1338,21	1194,44	-	0,39	0,33
35,72	35,03	23,63	-	1338,21	1200,89	-	0,39	0,33
35,88	35,17	23,77	-	1345,23	1200,89	-	0,39	0,33
36,05	35,30	23,90	-	1345,23	1207,34	-	0,39	0,33
36,22	35,43	24,03	-	1352,24	1213,79	-	0,39	0,33
36,38	35,57	24,17	-	1352,24	1220,23	-	0,39	0,33
36,55	35,70	24,30	-	1355,74	1226,68	-	0,39	0,34
36,72	35,83	24,43	-	1355,74	1233,13	-	0,39	0,34
36,88	35,97	24,57	-	1362,75	1239,58	-	0,39	0,34
37,05	36,10	24,70	-	1369,76	1246,03	-	0,40	0,34
37,22	36,23	24,83	-	1369,76	1252,48	-	0,40	0,34
37,38	36,37	24,97	-	1369,76	1258,92	-	0,40	0,34
37,55	36,50	25,10	-	1369,76	1284,72	-	0,40	0,35

**Cuadro B.20** Volumen desplazado y presión de gas durante las fermentaciones, de la mezcla de corazón y cáscara en la quinta etapa experimental.

Tiempo (h)	V (cm <sup>3</sup> )	P CO <sub>2</sub> 1 (kPa)
0,00	0	85,75
0,83	4,91	85,68
1,17	9,82	85,67
1,50	17,18	85,68
1,83	29,45	85,68
2,17	36,81	85,68
2,42	49,08	85,68
3,08	78,54	85,68
3,50	130,07	85,60
3,83	289,60	85,53

**Cuadro B.20 (continuación)** Volumen desplazado y presión de gas durante las fermentaciones, de la mezcla de corazón y cáscara en la quinta etapa experimental.

Tiempo (h)	V (cm <sup>3</sup> )	P CO2 1 (kPa)
4,17	387,77	85,53
4,50	485,94	85,53
4,83	584,10	85,53
5,17	728,90	85,53
5,50	822,16	85,53
5,67	858,98	85,53
5,83	939,78	85,52
6,17	1050,88	85,53
6,50	977,65	85,53
6,83	1399,32	85,53
7,17	1629,09	85,53
7,50	1820,99	85,53
7,83	2059,05	85,53
8,50	2262,75	85,53
12,00	2289,76	86,08
12,33	2332,68	86,08
12,67	2352,88	86,08
12,92	2360,46	86,08
13,25	2368,03	86,08
13,58	2385,71	86,08
13,92	2393,28	85,89
14,25	2405,91	85,89

**Cuadro B.21** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída y la concentración calculada a partir del mismo. En la quinta etapa experimental.

Tiempo (h)	Vg (cm <sup>3</sup> )	Cn EtOH (%v/v)
0,00	0,00	0,00
0,83	4,91	0,00
1,17	9,82	0,00
1,50	17,18	0,01
1,83	29,45	0,01
2,17	36,81	0,01
2,42	49,08	0,01
3,08	78,54	0,02
3,50	130,07	0,04
3,83	289,60	0,08
4,17	402,20	0,12
4,50	514,81	0,15

**Cuadro B.21 (continuación)** Volumen producido considerando factores de corrección proporcionales en función volumen de la muestra extraída y la concentración calculada a partir del mismo. En la quinta etapa experimental.

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Vg (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Cn EtOH (%v/v)</b>
4,83	6,27,41	0,18
5,17	793,51	0,23
5,50	900,48	0,26
5,67	942,71	0,27
5,83	1035,39	0,30
6,17	1162,83	0,34
6,50	1287,37	0,37
6,83	1562,51	0,45
7,17	1826,08	0,53
7,50	2046,19	0,59
7,83	2277,04	0,66
8,50	2511,37	0,73
12,00	2647,53	0,79
12,33	2706,35	0,80
12,67	2657,21	0,79
12,92	2657,91	0,79
13,25	2657,92	0,79
13,58	26,75	0,79
13,92	2657,91	0,78
14,25	2664,83	0,78

## APENDICE C

### MUESTRA DE CÁLCULO

#### C.1 Determinación de glucosa

$$Cn_g = \frac{\frac{Abs - b}{m} \cdot fd \cdot V_{sol}}{m_{muestra}} \quad (C.1)$$

Del Cuadro A.4: la masa de la muestra en la columna 3 fila 2 con el valor de 38,0843, el volumen de la dilución en la columna 4, fila 2 que es 1000 mL, el factor de dilución se encuentra en la columna 5, fila 2 tiene un valor de 10 y la absorbancia en la columna 6, fila 2 la cual tiene un valor de 0,166, el valor, del Cuadro B.2 columna 1, fila 2 se obtiene el valor de la pendiente que es de 0,701 L/g y en la columna 2, fila 2 se obtiene el valor del intercepto que es -0,033.

$$Cn_g = \frac{\frac{0,166 - (-0,033)}{0,701 \frac{L}{g}} \cdot 10 \cdot 1,00 \text{ 0L}}{38,0843 \text{ g}} \quad (C.1)$$

$$Cn_g = 0,004837 \quad (C.1)$$

Este valor se encuentra reportado en el Cuadro B.3 en la columna 2, fila 2

#### C.2 Determinación de azúcares reductores

$$Cn_{A.R} = \frac{\frac{Abs - b}{m} \cdot fd \cdot V_{sol}}{m_{muestra}} \quad (C.2)$$

En el Cuadro B.5 columna 1 fila 2 se encuentra la pendiente con un valor de 15,908 L/g y el intercepto en la columna 2, fila 2 con un valor de -0,0067, del Cuadro A.5 en la columna 3 se encuentra la masa de la muestra y esta tiene un valor de 2,69965 g, en la columna 4, fila 2 se encuentra el volumen de la disolución utilizado que tiene un valor de 500 mL, en la columna 5,



fila 2 se encuentra el valor del factor de disolución que en este caso es de 100 y en la columna 6, fila 2 se encuentra el valor de la absorbancia medida.

$$Cn_{A.R} = \frac{\frac{0,028 - (-0,0067)}{15,908 \frac{L}{g}} \cdot 500 \cdot 100 \text{ ml} \frac{1 L}{1000 \text{ ml}}}{2,69965 \text{ g}} \quad (\text{C.2})$$

$$Cn_{A.R} = 0,0404 \quad (\text{C.2})$$

Este valor se encuentra reportado en el Cuadro B. 6 columna 2 fila 2.

### C.3 Determinación de humedad

$$\% \text{ Humedad} = \left[ 1 - \left( \frac{m_{seca} - m_{crisol}}{m_{inicial} - m_{crisol}} \right) \right] \cdot 100 \quad (\text{C.3})$$

Del Cuadro A.8 columna 3 fila, 2 se encuentra el valor de la masa inicial el cual es de 59,6839 g, la masa del sustrato seco se encuentra en la columna 4, fila 2 con un valor de 52,3373 g y la masa del crisol en la columna 5, fila 2 con un valor de 51,1156 g

$$\% \text{ Humedad} = \left[ 1 - \left( \frac{52,3373 \text{ g} - 51,1156 \text{ g}}{59,6839 \text{ g} - 51,1156 \text{ g}} \right) \right] \cdot 100 \quad (\text{C.3})$$

$$\% \text{ Humedad} = 85,742 \quad (\text{C.3})$$

Este valor se encuentra reportado en el Cuadro B.7 columna 2, fila 2

## C.4 Determinación de cenizas

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{m_{\text{cenizas}} - m_{\text{crisol}}}{m_{\text{inicial}} - m_{\text{crisol}}} \cdot 100 \quad (\text{C.4})$$

Del Cuadro A.9 columna 3 fila, 2 se encuentra el valor de la masa inicial el cual es de 59,6839 g , la masa de las cenizas se encuentra en la columna 4, fila 2 con un valor de 51,1353 g y la masa del crisol en la columna 5, fila 2 con un valor de 51,1156 g

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{51,1353 - 51,1156}{59,6839 - 51,1156} \cdot 100 \quad (\text{C.4})$$

$$\% \text{ Cenizas} = 0,230 \quad (\text{C.4})$$

Este valor se encuentra reportado en el Cuadro B.8 columna 2, fila 2

## C.5 Determinación de fibra cruda

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{P_1 - P_2}{W} \quad (\text{C.5})$$

Del Cuadro A.10 columna 3 fila, 2 se obtiene el valor de W que es 1,16818 g, en la columna 4, fila 2 se obtiene el valor de P1 que es 50,2350 y en la columna 5, fila 2 se encuentra el valor de P2 que es 47,9706 g

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{50,2350 \text{ g} - 47,9706 \text{ g}}{1,16818 \text{ g}} \quad (\text{C.5})$$

$$\% \text{ Fibra cruda} = 1,3463 \quad (\text{C.5})$$

Este valor se encuentra reportado en el Cuadro B.9 en la columna 2, fila 2

### C.6 Determinación del índice de refracción a 20 °C

$$n_{20} = n_T + 0,00045 (T - 20) \quad (\text{C.6})$$

Del Cuadro A.20 columna 2, fila 2 se encuentra el índice de refracción con un valor de 1,333 y en la columna 3, fila 2 la temperatura de 21,5 °C

$$n_{20} = 1,333 + 0,00045 (21,5 - 20) \quad (\text{C.6})$$

$$n_{20} = 1,333 + 0,00045 (21,5 - 20) \quad (\text{C.6})$$

$$n_{20} = 1,333675 \quad (\text{C.6})$$

Este valor se encuentra reportado en el Cuadro B. 45 columna 3, fila 2

### C.7 Cálculo de la concentración de Etanol V%V por refractometría

$$V\%/V_{Et} = \frac{n_{20} - b}{m} \quad (\text{C.7})$$

Donde el valor de la pendiente se encuentra en el Cuadro B.13 columna 1, fila 2 y el valor del intercepto en la columna 2, fila 2

$$V\%/V_{Et} = \frac{1,3337 - (-2726,5)}{2046,2} \quad (\text{C.7})$$

$$V\%/V_{Et} = 2,47 \quad (\text{C.7})$$

Este valor se encuentra reportado en el Cuadro B.14 columna 4, fila 2

### C.8 Cálculo del volumen desplazado

$$V_g = \frac{\pi D^2}{4} \cdot h \quad (\text{C.8})$$

Del Cuadro A14 columna 2, fila 2 se obtiene el valor de 5,665 cm y del Cuadro A.12 columna 2 fila 5 se obtiene el valor de 0,5 mm sustituyendo esto en la ecuación C.1

$$V_{CO_2} = \frac{\pi(5,665 \text{ cm})^2 0,5 \text{ mm}}{4} \frac{1 \text{ cm}}{10 \text{ mm}} = 1,26 \text{ cm}^3 \quad (\text{C.8})$$

Este valor se encuentra reportado en el Cuadro B.10 en la columna 2 fila 5

### C.9 Cálculo de la presión de CO<sub>2</sub>

$$P_{CO_2} = P_o - \rho g H - P_v \quad (\text{C.9})$$

#### C.9.1 Cálculo de la presión de vapor (ecuación de Antoine)

$$P_v = 10^{A - \frac{B}{C+T}} \quad (\text{C.10})$$

Sustituyendo la ecuación C.9 en la C.10

$$P_{CO_2} = P_o - \rho g (H - h) - 10^{A - \frac{B}{C+T}} \quad (\text{C.11})$$

Donde la P<sub>o</sub> es la presión atmosférica la cual se considerará como 88 kPa, la densidad del agua como 1g/cm<sup>3</sup>. Para calcular el valor del Cuadro A.12 columna 2, fila 5 se encuentra el valor de h el cual equivale 0,5; del Cuadro A.14 columna 3, fila 2 se encuentra el valor de 409 mm y del Cuadro A.12 columna 4, fila 5 se encuentra el valor de 23,0 °C

$$P_{CO_2} = 88 \text{ kPa} - \frac{1 \text{ kg}}{\text{m}^3} 9,81 \frac{\text{m}}{\text{s}^2} (409 \text{ mm} - 0,5 \text{ mm}) \frac{1 \text{ m}}{1000 \text{ mm}} \frac{1 \text{ kPa}}{1000 \text{ Pa}} \quad (\text{C.11})$$

$$- 10^{7,96687 - \frac{1668,21}{228 + 23^\circ \text{C}}} \text{ mmHg} \frac{101,325 \text{ kPa}}{760 \text{ mmHg}}$$

$$P_{CO_2} = 81,20 \text{ kPa} \quad (\text{C.11})$$

Este valor se encuentra reportado en el Cuadro B.10 columna 4, fila 5.

#### C.10 Cálculo de la concentración de etanol

$$Cn = \frac{V_{EtOH}}{V_{sol}} 100 \quad (\text{C.12})$$

Del Cuadro B.8 fila 5 se encuentra el valor del volumen del CO<sub>2</sub> el cual es de 1,26 cm<sup>3</sup> y en la columna 4 fila, 5 se encuentra el valor de 81,20 kPa, del Cuadro A.12 columna 4, fila 5 se encuentra el valor de 23,0 °C, R es la constante de gases ideales la cual es 8,3144 J/mol K, la masa molar del etano es de 46,07 g/mol, la densidad es de 0,789 kg/m<sup>3</sup> y el volumen de la solución es de 250 mL, tal y como se describe en la metodología.

$$Cn = \frac{81,20 \text{ kPa} \frac{1000 \text{ Pa}}{1 \text{ kPa}} 1,26 \text{ cm}^3 \frac{1 \text{ m}^3}{(100 \text{ cm})^3} 46,07 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{8,3144 \frac{\text{J}}{\text{mol K}} (273,15 + 23,0) \text{ K} \frac{789 \text{ g}}{\text{cm}^3}} 100 \quad (\text{C.12})$$

$$Cn = 0,009713 \%V/V \quad (\text{C.12})$$

Este valor aparece reportado en la Figura 4.1

C.11 Cálculo del volumen a producir considerando el escalamiento debido a las extracciones del líquido para realizar los análisis.

$$V_{g.e} = V_o + (V_{i+1} - V_i) \cdot \frac{V_{r i}}{V_{r i+1}} \quad (C.13)$$

Primera extracción líquida segunda etapa experimental 3 h donde el valor inicial se encuentra reportado en el Cuadro B.9 columna 4, fila 8 es de  $13,89 \text{ cm}^3$  y el valor de volumen desplazado se encuentra en la columna 4, fila 9 y es de  $22,72 \text{ cm}^3$  y el factor volumen de reacción se encuentra en el Cuadro A. 19 columna 4, fila 2 y fila 3.

$$V_{g.e} = 13,89 \text{ cm}^3 + (22,72 - 13,89) \cdot \frac{790 \text{ cm}^3}{690 \text{ cm}^3} \quad (C.13)$$

$$V_{g.e} = 24,01 \text{ cm}^3 \quad (C.13)$$

Este valor se encuentra reportado en el Cuadro B.12 columna 4, fila 9

Cálculo de la concentración de %v/v EtOH, en función de la concentración %v/v en función del volumen de gas recolectado

$$V\%/V_{Et} = \frac{V\%/V_{Etg} - b}{m} \quad (C.14)$$

Donde el valor de la pendiente se encuentra en el Cuadro 4.3 columna 2, fila 3 y tiene un valor de 0,6372, y el intercepto se reporta en el Cuadro 4.3 columna 3, fila 3 y tiene el valor de -0,0899 y el valor de la concentración de %v/v Etanol se encuentra en el Cuadro 4.2 columna 5, fila 2

$$V\%/V_{Et} = \frac{0,429 - (-0,0899)}{0,6372} \quad (C.14)$$

$$V\%/V_{Et} = 0,81\% \quad (C.14)$$

Este valor aparece reportado en la figura 4.6

C.12 Cálculo de rendimiento, con respecto a los azúcares reductores

$$R = \frac{\text{moles de EtOH producidos}}{2 \text{ moles de azúcares reductores consumidos}} 100 \quad (C.15)$$

De la figura 4.7 se observa que la cantidad inicial de azúcares reductores es de 2,49 g/L y el final es de 0,06 g/L. Mientras que la cantidad de etanol que se produce es de 0,76 % v/v, sustituyendo lo anterior en la ecuación C.15:

$$R = \frac{0,76 \frac{mL}{mL} / 100 \cdot 1000 \frac{mL}{L} \cdot 0,7989 \frac{g}{mL} \cdot \frac{mol}{46,07g}}{2 \cdot \left( 2,49 \frac{g}{L} - \frac{0,06g}{L} \right) \frac{mol}{180,01g}} 100 \quad (C.15)$$

$$R = 488\% \quad (C.15)$$

C.13 Cálculo de concentración de células por mL, de la cantidad de levadura utilizada.

$$Cn_{cel} = Cn_{lev} \cdot \rho \cdot f \quad (C.16)$$

De la sección 3.3.1 se define la concentración del inóculo de levadura en 0,2 g/L

$$Cn_{cel} = 0,2 \frac{g}{L} \cdot 1 \times 10^{12} \frac{cel}{g} \cdot 0,4 \cdot \frac{1 L}{1000 mL} \quad (C.16)$$

$$Cn_{cel} = 8 \times 10^7 \frac{cel}{mL} \quad (C.16)$$

C.14 Cálculo de la cantidad de CO<sub>2</sub> disuelto en la etapa I

Del Cuadro A.13 columna 2 fila, 2 y fila se tienen los valores de pH en el agua de recolección y el pH en el agua de las probetas al finalizar la reacción, por lo que:

Valor	pH	[H <sub>3</sub> O] <sup>+</sup> (mol/L)
Inicial	7,22	6,02 x 10 <sup>-8</sup>
Final	5,78	1,66x10 <sup>-6</sup>
Cambio	1,44	1,60x10 <sup>-6</sup>

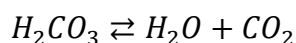
Luego suponiendo que está en el equilibrio y que el valor de la constante de acidez es de 4,5x10<sup>-7</sup> (Brown, 2004) y que la concentración de HCO<sup>-</sup> es igual a la concentración de H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>

$$k_a = \frac{[HCO]^- [H_3O]^+}{H_2CO_3}$$

$$4,5 \times 10^{-7} = \frac{1,60 \times 10^{-6} \frac{\text{mol}}{\text{L}} 1,60 \times 10^{-6} \frac{\text{mol}}{\text{L}}}{H_2CO_3} \quad (\text{C.17})$$

$$[H_2CO_3] = 5,68 \times 10^{-6} \text{ mol/L.} \quad (\text{C.17})$$

Ahora sí se sabe que:



Y el valor de la constante de equilibrio para esta reacción es de 1,7x10<sup>-3</sup> (Brown, 2004).

$$k_{eq} = \frac{[CO_2]}{H_2CO_3}$$

$$1,7 \times 10^{-3} = \frac{[CO_2]}{5,68 \times 10^{-6} \text{ mol/L.}} \quad (\text{C.18})$$



$$[CO_2] = 0,003344 \text{ mol/L} \quad (\text{C.18})$$

Entonces el valor de la concentración del CO<sub>2</sub> es de: 0,003344 mol/L

#### C.15 Cálculo del número de moles disueltos en una probeta

Suponiendo que el volumen de las probetas restantes es de 750 mL

$$n = 0,003344 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \cdot 0,75\text{L} \quad (\text{C.18})$$

$$n = 0,002508 \text{ mol}$$

Lo cual se reporta en la discusión.

#### C.16 Cálculo del rendimiento

$$Y = 10 \frac{\% \frac{v}{v}}{Cn} \rho_{EtOH} \quad (\text{C.19})$$

Obteniendo el porcentaje de etanol del Cuadro 4.4 columna 2, fila 2 con un valor de 1,3 %v/v la concentración es la definida en la metodología para la segunda etapa experimental, que es 400g/L.

$$Y = 10 \frac{1,3}{400\text{g/L}} 0,7989 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \quad (\text{C.19})$$

$$Y = 0,026 \frac{g_{EtOH}}{g_{sustrato}} \quad (\text{C.19})$$

Lo cual se reporta en la discusión.

### C.17 Cálculo de la productividad

$$P = \frac{Y}{t} \quad (\text{C.20})$$

Donde el valor del rendimiento se obtiene del cálculo anterior y el tiempo de reacción de la Figura 4.4

$$P = \frac{0,026 \frac{g_{EtOH}}{g_{sustrato}}}{35h} \quad (\text{C.20})$$

$$P = 0,00073 \frac{g_{EtOH}}{g_{sustrato} h} \quad (\text{C.20})$$

De la cual el resultado se reporta en la discusión.

**Apéndice D**  
**MÉTODOS DE ANÁLISIS**

**D1. Determinación de fibra cruda.**

La determinación de fibra cruda se hace por el método de análisis proximales (FAO, 2012).

- 1.- Pesar de 1 a 2 gramos de muestra libre de grasa. El residuo después del extracto etéreo en la determinación de grasa es la ideal. Anotar el peso "W".
- 2.- Calentar las plantillas. Estas deben estar calientes cuando los vasos de precipitados se coloquen sobre ellas.
- 3.- Transvasar la muestra libre de grasa en cada vaso beacker.
- 4.- Agregar 200 mL de ácido sulfúrico al 1,25 % hirviendo e inmediatamente colocarlo en la plantilla. Hervir por 30 minutos exactos.
- 5.- Filtrar la solución caliente a través del papel de filtro. Lavar con agua hirviendo varias veces con porciones de 50 mL cada vez, hasta que el agua de lavado no tenga reacción ácida. Filtrar con succión.
- 6.- Regresar el residuo con mucho cuidado a su vaso de precipitados original utilizando la pizeta, conteniendo 200 mL de NaOH al 1,25 % hirviendo. Hierva durante 30 minutos.
- 7.- Retirar de la plantilla, filtrar inmediatamente sobre crisol Gooch. Lavar el residuo con agua hirviendo, hasta la eliminación del hidróxido de sodio en el filtrado, y lavar finalmente con pequeñas porciones de alcohol.
- 8.- Llevar el residuo a la estufa y secar a 105 ° C por espacio de 2 horas. Enfriar y pesar (peso P1).
- 9.- Colocar en la mufla a 500-600° C hasta que el contenido sea de color blanco (aproximadamente una hora).
- 10.- Retirar de la mufla, enfriar y pesar (peso P2).

Ecuaciones:

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{P_1 - P_2}{W} \quad (\text{C.5})$$

Donde:

$P_1$ : es Peso de la muestra seca, g.

$P_2$ : es el peso de las cenizas de la muestra, g.

$W$ : es el peso de la muestra libre de grasa, g.

## **D.2 Determinación de azúcares reductores por el método de Nelson Somogyi y glucosa por el método de Trinder.**

La determinación de azúcares reductores se hace por el método de Nelson Somogy, descrito en el trabajo de Francisco Torres en el 2009

Reactivos

### Reactivo de sulfato de cobre

1. Disolver 28 g de fosfato monoácido anhidro ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) y 40 g de tartrato de sodio y potasio, en 500 mL de agua destilada
2. Añadir 100 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 1 M con agitación y 80 mL de una solución de sulfato de cobre al 10% p/v.
3. Cuando todo lo anterior se haya disuelto, añadir 180 g de sulfato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y agite.
4. Diluir a 1 litro. Dejar reposar el reactivo por un día y luego decantar el líquido supernatante claro.

### Reactivo de arsenomolibdato

1. Disolver 25g de heptamolibdato de amonio en 450 mL de agua destilada
2. Anadir 21 mL de ácido sulfúrico concentrado y agitar
3. Agregar 3 g de arseniato de sodio heptahidratado disueltos en 25 mL de agua destilada
4. Mezclar e incubar a 37 °C por 24-48 h. Almacenar en una botella oscura, preferiblemente dentro de un armario.

### Solución estándar de glucosa

1. Disuelva 1 g de glucosa previamente secada en agua destilada y adorar a 1 litro. De esta solución se debe refrigerar a 4 °C.
2. Preparar los estándares de la curva de calibración con 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 mL y aforar a 100 mL para tener los estándares de calibración.

Determinación:

1. Un blanco y una serie de patrones deben ser corridos con cada serie de muestras desconocidas.
2. Colocar las soluciones estándar si va a realizar la curva de calibración, o 2 mL de la solución de prueba y 2 mL del reactivo de cobre en cada tubo de ensayo, Agitar en conjunto y tapar los tubo.
3. Poner el lote de tubos en un baño de agua en ebullición y luego dejar que se enfríe por 5 min en agua de cañería.
4. Añadir 1 mL del reactivo de arsenomolibdato y mezclar.
5. Disolver el contenido de los tubos a un volumen definido de 10 o 15 mL.
6. Medir absorbancia a una longitud de onda de 500 nm.

Determinación de glucosa por el método de Trinder.

Reactivos:

#### Reactivo de color para la glucosa

Para eso se utiliza un reactivo comercial ya preparado por Biocientifica S.A, este reactivo debe mantenerse en refrigeración desde la entrega hasta su uso.

Solución estándar de glucosa

1. Disuelva 1 g de glucosa previamente secada en agua destilada y adorar a 1 litro. De esta solución se debe refrigerar a 4 °C.
2. Preparar los estándares de la curva de calibración con 0, 10, 20, 30, 40, mL y aforar a 100 mL para tener los estándares de calibración.

Determinación:

1. Debe correrse un blanco y una serie de patrones con cada serie de muestras desconocidas.
2. Agregar 3 mL del blanco, patrón y de las muestras.
3. Agregar 30  $\mu$ L del reactivo de color y se mezcla suavemente.
4. Incubar todos los tubos a 37 °C por 10 minutos.
5. Medir la absorbancia a 500 nm.

Ecuaciones:

$$Cn_g = \frac{\frac{Abs - b}{m} \cdot fd \cdot V_{sol}}{m_{muestra}} \quad (C.1)$$

Donde:

Cn: es la concentración de azúcares reductores o glucosa g/L

Abs: es la absorbancia, b es el intercepto en la recta de ajuste, adm.

m: es la pendiente en la recta de ajuste, %v/v.

fd: es el factor de dilución, adim.

V<sub>sol</sub>: es el valor del volumen de la disolución, L.

m<sub>muestra</sub> es el valor de la masa de la muestra utilizada ,g.

### D.3 Determinación de cenizas

El procedimiento de la determinación de cenizas, se encuentra en la norma ASTM 1102-84. (2007)

Procedimiento:

1. Someta un crisol con tapa vacío a una mufla a 600 °C, enfríelo en un desecador y repita este procedimiento hasta que el peso no varíe 0,1 mg. Anotar el peso ( $m_{\text{crisol}}$ )
2. Pese cerca de 2 g de la sustancia a la que desea examinar ( $m_{\text{inicial}}$ ) y séquela en un horno a 100 -105 °C durante una hora, enfríe y pese, repita este procedimiento seque la muestra hasta que su peso no varíe más de 0,1 mg.
3. Una vez el producto seco caliente lentamente, hasta una temperatura final de 580-600 °C, saque la muestra, deje que se enfríe en un desecador y mida el peso, repita el procedimiento con calentamientos de 30 min hasta que la masa varíe menos de 0,2 mg. ( $m_{\text{cenizas}}$ )

Ecuaciones:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{m_{\text{cenizas}} - m_{\text{crisol}}}{m_{\text{inicial}} - m_{\text{crisol}}} 100 \quad (\text{C.4})$$

Donde:

$m_{\text{cenizas}}$ : es la masa final del residuo después de someter la muestra a 600 °C.

$m_{\text{crisol}}$ : es la masa del crisol vacío y seco de someterlo a 600 °C

$m_{\text{inicial}}$ : es la masa inicial de la muestra y el crisol limpio y seco.

### D.4 Determinación de humedad

La determinación de humedad se realizó según el método descrito en la A.O.A.C. 15th ed



Procedimiento:

1. Colocar la cápsula destapada y la tapa durante al menos 1 hora en la estufa a la temperatura de secado del producto. Empleando pinzas, trasladar la cápsula tapada al desecador y dejar enfriar durante 30 a 45 minutos. Pesarse la cápsula con tapa con una aproximación de 0.1 mg. Registrar ( $m_{\text{crisol}}$ ).
2. Pesarse al menos g de muestra previamente homogeneizada. Registrar ( $m_{\text{inicial}}$ ). Colocar la muestra con cápsula destapada y la tapa en la estufa a la temperatura y tiempo recomendado 105 °C x 5 horas.
3. Tapar la cápsula con la muestra, sacarla de la estufa, enfriar en desecador durante 30 a 45 minutos.
4. Repetir el procedimiento de secado por una hora adicional, hasta que las variaciones entre dos pesadas sucesivas no excedan de 5 mg ( $m_{\text{seca}}$ )

$$\% \text{ Humedad} = \left[ 1 - \left( \frac{m_{\text{seca}} - m_{\text{crisol}}}{m_{\text{inicial}} - m_{\text{crisol}}} \right) \right] \cdot 100 \quad (\text{C.3})$$

Donde:

$m_{\text{seca}}$ : es la masa final del residuo después de someter la muestra a 100 °C.

$m_{\text{crisol}}$ : es la masa del crisol vacío y seco de someterlo a 600 °C.

$m_{\text{inicial}}$ : es la masa inicial de la muestra y el crisol limpio y seco.

## **Anexo**

### Análisis de Metanol y Etanol

Profesor: Manuel Molina

Se siguió la metodología descrita en "Cromatography Products for Analysis and Purification, Supelco 2009/2010".

<u>Muestra</u>	<u>Concentración Metanol (% V/V)</u>	<u>Concentración de Etanol (% V/V)</u>
1	0,11	0,16
2	< 0,4	0,26
3	< 0,4	0,49
4	< 0,4	0,72
5	< 0,4	0,86
6	< 0,4	0,98
7	< 0,4	1,21
8	< 0,4	1,21

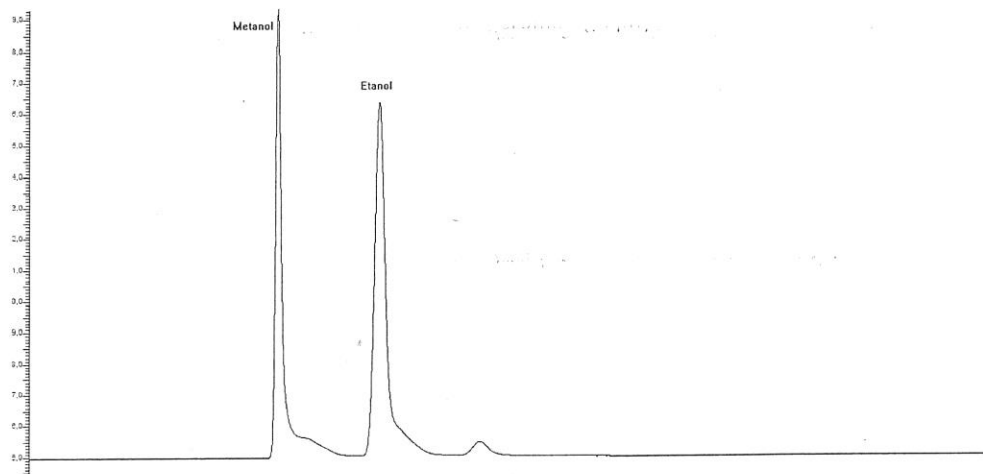


Figura 1. Cromatograma obtenido mediante Cromatografía de Gases con detector FID, del patrón 2 de la curva de calibración.

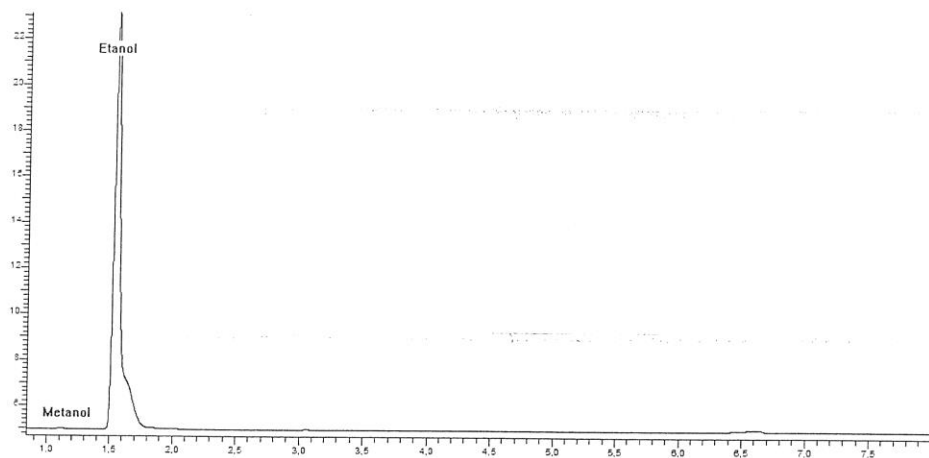


Figura2. Cromatograma obtenido mediante Cromatografía de Gases con detector FID, de la muestra 5.