



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
SEDE MORONA SANTIAGO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL

**EXTRACCIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES A PARTIR DEL
NOPAL (*Opuntia ficus*) DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL
TUNSHI-RIOBAMBA MEDIANTE HIDRÓLISIS ÁCIDA COMO
FUENTE DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL**

Trabajo de Titulación:

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para obtener el grado académico de:

INGENIERA AMBIENTAL

AUTORA: NATHALI ALEJANDRA GUARACA VALLEJO

DIRECTOR: ING. JAVIER IGNACIO BRIONES GARCÍA M.Sc.

Macas – Ecuador

2023

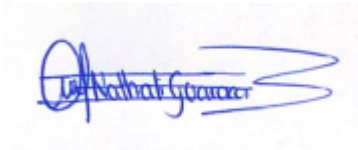
©2023, Nathali Alejandra Guaraca Vallejo

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Nathali Alejandra Guaraca Vallejo, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Macas, 16 de junio del 2023.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Nathali Guaraca Vallejo', with a stylized flourish extending to the right.

Nathali Alejandra Guaraca Vallejo
0605238013

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
SEDE MORONA SANTIAGO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Proyecto de Investigación, **EXTRACCIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES A PARTIR DEL NOPAL (OPUNTIA FICUS) DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI-RIOBAMBA MEDIANTE HIDRÓLISIS ÁCIDA COMO FUENTE DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL.**, realizado por la señorita: **NATHALI ALEJANDRA GUARACA VALLEJO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Ximena Rashell Cazorla Vinueza PRESIDENTA DEL TRIBUNAL		2023-06-16
Ing. Javier Ignacio Briones García DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2023-06-16
Ing. Alex Estuardo Erazo Lara ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2023-06-16

DEDICATORIA

Quiero dedicar esto a mis padres y a mi hermano, ya que ellos han sido la pieza fundamental en mi vida y mi motivación para seguir avanzando cada día, por darme ese amor incondicional en todo momento, se por los momentos difíciles que hemos atravesado como familia y con la ayuda de Dios hemos podido resurgir como un ave fenix.

Se la dedico a mis tías Liliana y Gisela, quienes siempre han estado pendientes de mi apoyándome de distintas maneras desde que era muy niña.

Para mis abuelitos maternos Adelaida quien con su problema de salud siempre se ha entregado a sus hijos y Mario quien todos esos sábados me llevaba a la iglesia y me enseñaba la palabra de Dios, para mis abuelitos paternos Margarita un beso y abrazo de aquí al cielo y a José quien está perdiendo muchos recuerdos, pero sé que aún me encuentras en aquellos días de mi niñez cuando me llevabas en tu bicicleta al jardín.

Nathali

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer primeramente a Dios sin él no soy nadie, pero con él en mi vida lo soy y lo puedo todo.

Gracias infinitas a mis padres, Alba por hacerte cargo de nosotros tu sola durante 3 años e inculcarnos buenos valores darnos ese amor y consejos que solo tú nos sabes dar eres el amor de vida mami, Vicente gracias por sacarnos adelante arriesgando todo por tu familia lo que un día cosechaste ahora darán frutos gracias por enseñarnos lo bonito que se siente cuando uno es justo en la vida y se gana las cosas de manera honrada.

Te agradezco a ti mi único hermano Anderson mi compañero, mi cómplice el que todos los domingos me ayudaba con las tareas de la casa cuando apenas tenía 5 años. A mi única prima por parte de mi madre, cuentas conmigo como si fuera una hermana más te quiero mucho, gracias por tu confianza se lo difícil que fue tu infancia y aquí me tienes para las que sea. A mis primas/os por parte de mi padre son muy especial en mi vida gracias por las ocurrencias y los momentos compartidos en nuestra niñez y adolescencia.

Gracias a mi enamorado Jeanfranco quien ha estado pendiente de mí, apoyándome de manera incondicional, ayudándome a estudiar para pasar mis exámenes, por el tiempo y paciencia en la relación. Sin olvidarme de agradecer a mis compañeras de aventuras en toda esta bonita vida universitaria, quienes juntas reímos, lloramos, nos enojamos, pero ahí seguimos con una bonita amistad que nos dio la universidad Yadira, Priscila y Nancy.

Quiero agradecer de manera especial a mi director de tesis Ing. Javier Briones por el tiempo que se ha tomado para realizar las revisiones y sugerencias, de la misma manera al Ing. Alex Erazo quien me apoyó con la obtención de los cladodios y un agradecimiento a Wladimir quien estuvo ahí para poder culminar mi tesis.

Agradezco de manera infinita por ese apoyo en el laboratorio al Ing. Jorge Baños y a Gabriela por ese apoyo moral que me ha estado brindando.

Nathali

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	X
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	XI
ÍNDICE DE ANEXOS.....	XII
RESUMEN	XIII
ABSTRACT.....	XIV
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	3
1.1. Planteamiento del problema.....	3
1.2. Limitaciones y delimitaciones.....	4
1.3. Problema general de la investigación.....	5
1.4. Problemas específicos de la investigación.....	5
1.5. Objetivos.....	5
1.5.1. <i>Objetivo general</i>	5
1.5.2. <i>Objetivos específicos</i>	5
1.6. Justificación de la investigación	6
1.6.1. <i>Justificación teórica</i>	6
1.6.2. <i>Justificación práctica</i>	7

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	9
2.1. Antecedentes.....	9
2.2. Bases teóricas	11
2.2.1. <i>Nopal</i>	11
2.2.1.1. <i>Requerimientos agroecológicos</i>	11
2.2.1.2. <i>Propiedades de la biomasa del nopal</i>	12
2.2.1.3. <i>Producción de nopal en Ecuador</i>	13
2.2.1.4. <i>Importancia agrícola y comercial</i>	14
2.2.2. <i>Biomasa (energías renovables)</i>	15
2.2.2.1. <i>Natural</i>	15
2.2.2.2. <i>Cultivos energéticos</i>	16

2.2.2.3.	<i>Residual</i>	17
2.2.3.	<i>Biocombustibles</i>	17
2.2.3.1.	<i>Biodiesel</i>	17
2.2.3.2.	<i>Biometano</i>	18
2.2.3.3.	<i>Bioetanol</i>	18
2.2.3.4.	<i>Bioetanol en el ecuador</i>	18
2.2.4.	<i>Hidrólisis de biomasa</i>	20
2.2.4.1.	<i>Hidrólisis ácida</i>	20
2.2.4.2.	<i>Hidrólisis alcalina</i>	20
2.2.4.3.	<i>Hidrólisis enzimática</i>	20
2.2.5.	<i>Fermentación Alcohólica</i>	21
2.3.	Bases conceptuales	22
2.3.1.	<i>Estación experimental Tunshi</i>	22
2.3.2.	<i>Cladodios de nopal</i>	22
2.3.3.	<i>Biomasa residual de nopal</i>	23
2.3.4.	<i>Hidrolisis ácida</i>	23
2.3.5.	<i>Azucares fermentables</i>	23
2.3.6.	<i>Bioetanol 2G</i>	23

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	25
3.1.	Enfoque de la investigación	25
3.2.	Nivel de investigación	25
3.3.	Diseño de investigación	25
3.3.1.	<i>Según la manipulación de la variable independiente</i>	25
3.3.2.	<i>Según las intervenciones en el trabajo de campo</i>	26
3.4.	Tipo de estudio	26
3.5.	Población de estudio	26
3.5.1.	<i>Tamaño de la muestra</i>	26
3.5.2.	<i>Método de muestreo</i>	27
3.5.3.	<i>Localización de estudio</i>	27
3.6.	Métodos, técnicas e instrumentos de investigación	28
3.6.1.	<i>Técnicas de recolección de datos</i>	28
3.6.2.	<i>Diseño experimental</i>	28
3.6.2.1.	<i>Arreglo factorial</i>	28
3.6.3.	<i>Caracterización fisicoquímica de la biomasa de los cladodios de nopal</i>	29

3.6.3.1.	<i>Características físicas de los cladodios</i>	29
3.6.3.2.	<i>Pretratamiento de la muestra</i>	29
3.6.3.3.	<i>Potencial de hidrógeno (pH) y conductividad eléctrica (CE)</i>	30
3.6.3.4.	<i>Sólidos totales y contenido de humedad</i>	30
3.6.3.5.	<i>Celulosa</i>	31
3.6.3.6.	<i>Hemicelulosa</i>	31
3.6.3.7.	<i>Contenido de cenizas</i>	32
3.6.3.8.	<i>Sólidos solubles totales</i>	32
3.6.3.9.	<i>Almidón</i>	33
3.6.3.10.	<i>Contenido de amilosa y amilopectina</i>	33
3.6.4.	<i>Obtención del hidrolizado a partir de los cladodios de nopal</i>	34
3.6.4.1.	<i>Caracterización del hidrolizado obtenido a partir de los cladodios de Nopal</i>	35
3.6.4.2.	<i>Cuantificación de azúcares totales</i>	36
3.6.4.3.	<i>Análisis estadístico</i>	36
3.6.5.	<i>Obtención del bioetanol producido a partir del hidrolizado de nopal</i>	36
3.6.5.1.	<i>Fermentación</i>	36
3.6.5.2.	<i>Destilación y evaluación de calidad del bioetanol</i>	37

CAPÍTULO IV

4.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	38
4.1.	Caracterización fisicoquímica de la biomasa de los cladodios de nopal	38
4.1.1.	<i>Morfología y estado físico de los cladodios</i>	38
4.1.2.	<i>Propiedades fisicoquímicas de la biomasa</i>	39
4.2.	Obtención del hidrolizado a partir de los cladodios de nopal	42
4.3.	Caracterización del perfil de azúcares fermentables	45
4.4.	Evaluación de calidad del Bioetanol del hidrolizado de los cladodios del nopal	

¡Error! Marcador no definido.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES	48
RECOMENDACIONES	50
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Distribución del cultivo de nopal en Ecuador	13
Tabla 2-2: Biomasa disponible para la producción de bioetanol 2G en el Ecuador	19
Tabla 2-3: Variables críticas en la hidrólisis de biomasa	21
Tabla 2-4: Factores que intervienen en la fermentación alcohólica	22
Tabla 3-1: Matriz de arreglo trifactorial 3x3x3 con el cruce de factores y niveles	29
Tabla 3-2: Procedimiento para la hidrólisis ácida	34
Tabla 3-3: Parámetros del etanol anhidro grado carburante (NTE INEN 2478:2009).....	37
Tabla 4-1: Caracterización de cladodios de nopal: medidas, color y viabilidad	38
Tabla 4-2: Características físicoquímicas de la biomasa de nopal	40
Tabla 4-3: Azúcares totales determinados por el método del fenol-sulfúrico modificado.....	42
Tabla 4-4: Análisis de la varianza trifactorial de la hidrólisis ácida del nopal.....	43
Tabla 4-5: Medias \pm desviación estándar del contenido de azúcares totales bajo el efecto de 27 tratamientos de hidrólisis ácida.....	44

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 3-1: ESPOCH – Campus Morona Santiago (Lugar de estudio)	27
Ilustración 3-2: Etapas de la investigación	28
Ilustración 4-1: Rendimiento del proceso de etanol.....	46

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: PROCEDIMIENTO PARA EL PRETRATAMIENTO DE LA MUESTRA

ANEXO B: PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE PH Y CE

ANEXO C: PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE SOLIDOS TOTALES Y
HUMEDAD

ANEXO D: PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CENIZAS

ANEXO E: PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE SOLIDOS SOLUBLES
TOTALES

ANEXO F: PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE AZUCARES TOTALES

ANEXO G: CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA NORMATIVA

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo extraer azúcares fermentables a partir del nopal (*Opuntia ficus*) de la Estación Experimental Tunshi-Riobamba mediante hidrólisis ácida para obtener bioetanol. Se utilizó biomasa de cladodios de nopal de 6 a 12 meses de edad y se determinó que la biomasa de nopal presentaba una acidez moderada, baja presencia de sales y alto contenido de agua. A pesar de su bajo contenido de almidón, su alto contenido de celulosa y hemicelulosa sugiere un alto potencial para la producción de bioetanol a partir de la hidrólisis de estas moléculas. Su contenido de azúcares fermentables indica un alto potencial para la producción de bioetanol. Se identificaron las condiciones óptimas para la producción de azúcares totales a partir de la hidrólisis de biomasa de nopal. Los resultados indicaron que a medida que aumentan los valores de temperatura, tiempo y concentración de ácido, se obtiene un mayor grado de hidrólisis. El rendimiento máximo obtenido fue de 12 gramos a una temperatura de 60°C, un tiempo de 1.5 horas y una concentración de ácido de 1 normal. La evaluación de la calidad del bioetanol de nopal producido mediante hidrólisis ácida indicó que los valores obtenidos de etanol, acidez, conductividad eléctrica, densidad y residuos por evaporación son significativamente más bajos que los establecidos por la norma técnica para etanol anhidro. Además, los resultados indican que el contenido de etanol obtenido a partir del nopal es mucho más bajo que el obtenido a partir de otras fuentes de biomasa, como la caña de azúcar o el maíz. Se recomienda optimizar el proceso de producción de bioetanol de nopal, explorar la hidrólisis enzimática, seleccionar una cepa adecuada de levadura y aprovechar los residuos de la cáscara o pulpa de tuna para mejorar el rendimiento y reducir los residuos agroindustriales en la producción de bioetanol.

Palabras clave: <NOPAL>, <HIDRÓLISIS ÁCIDA>, < AZÚCARES FERMENTABLES>, < BIOETANOL 2G>, <BIOMASA >.

1261-DBRA-UPT-2023



ABSTRACT

The objective of the study was to extract fermentable sugars from prickly pear cactus (*Opuntia ficus*) located at “Estación Experimental Tunshi-Riobamba” through acid hydrolysis, in order to obtain bioethanol. It used biomass of nopal cladodes from 6 to 12 months old, determining that the nopal biomass presented moderate acidity, low presence of salts and high water content. Despite its low starch content, its high cellulose and hemicellulose content suggests a high potential for bioethanol production from the hydrolysis of this kind of molecules. At the same time, its fermentable sugar content indicates a high potential for bioethanol production, identifying optimal conditions for the production of total sugars from the hydrolysis of nopal biomass. The results indicated when temperature, time, and acid concentration values increase; a higher degree of hydrolysis is obtained. The maximum yield obtained was 12 grams at a temperature of 60°C, a time of 1.5 hours and an acid concentration of 1 normal. On the other hand, the quality evaluation of the nopal bioethanol produced by acid hydrolysis indicated that the values obtained for ethanol, acidity, electrical conductivity, density and evaporation residues are significantly lower than those established by the technical standard for anhydrous ethanol. Furthermore, the results indicate that the ethanol content obtained from nopal is much lower than the obtained from other biomass sources such as: sugarcane or corn. Finally, it is recommended to optimize the bioethanol production process from prickly pear cactus, explore enzymatic hydrolysis, select a suitable yeast strain and take advantage of prickly pear pulp, or peel residues to improve yield and reduce agroindustrial waste in bioethanol production.

Keywords: <NOPAL>, <ACID HYDROLYSIS>, <FERMENTABLE SUGARS>, <BIOETHANOL 2G>, <BIOMASS>.



By Lic. Maurioto Martínez P

0602902504

INTRODUCCIÓN

El crecimiento económico, los avances tecnológicos, la medicina moderna y la digitalización global de la cual se goza actualmente, han sido impulsados por los combustibles fósiles, en un inicio la energía era producida mecánicamente, ya sea por tracción humana o animal, de manera que tenía aplicaciones limitadas (Posso, 2002, p. 55). Sin embargo, con la revolución industrial emergieron nuevas fuentes de energía, propiamente los combustibles fósiles como el carbón, el petróleo y el gas natural, permitiendo mecanizar labores pesadas como el arado, el transporte, la construcción, e incluso la misma explotación de recursos naturales (Ferrari, 2013, p. 36; Pacheco y Melo, 2015, p. 108; Martínez y Quezada, 2021, p. 67-68). Tras décadas de dependencia del petróleo también han surgido problemas, como bien se sabe, los combustibles fósiles son producto de la remanencia y acumulación de la energía solar en la biomasa de hace cientos de miles de años, que fue acumulada y transformada geológicamente (Vershina et al., 2019, p. 297).

Las energías renovables, tienen gran disponibilidad y capacidad de regeneración, se obtienen directamente del entorno natural, se presenta como energía solar, energía eólica, energía geotérmica, energía oceánica, energía hidroeléctrica y la bioenergía (Naciones Unidas, 2022, párr. 1-10). Los biocombustibles representan un avance en el aprovechamiento de energía a partir de la biomasa, puesto que son el resultado de una transformación de la biomasa sólida a su forma líquida (bioetanol y biodiesel) o gaseosa (metano y biohidrógeno), adecuada para la industria moderna (Bessou et al., 2011, p. 1).

Las plantas almacenan energía de reserva a manera de polisacáridos, sustancias compuestas a base de monómeros de glucosa, como el almidón y la celulosa, así como azúcares libres para sus requerimientos energéticos inmediatos, las plantas con alta concentración de polisacáridos y azúcares se denominan cultivos energéticos (UNED, 2010, párr. 1-4). Entre los principales cultivos energéticos se encuentran: la caña de azúcar, el maíz, en trigo, remolacha, soja, entre otros (Nava y Doldán, 2014, pp. 25-34), sin embargo, se debate el uso en la producción de energía; para no comprometer la seguridad alimentaria se están investigando cultivos energéticos no comestibles y la tecnología de la biomasa residual (Nava y Doldán, 2014, p. 25-30; Cortés et al., 2019, pp. 20-25).

El nopal es un cultivo endémico de la zona tropical del continente americano, por lo que se encuentra extendido en gran parte de la región, desde México, pasando por Ecuador, y países más al sur de América latina, al tratarse de una planta de bajo requerimiento nutricional con gran retención de humedad, tiene la versatilidad de adaptarse a áreas desérticas, produce un fruto con alto contenido de nutrientes y azúcares, responsable de su valor comercial, los cladodios (ramas aplastadas) salvo en México carecen de valor comercial, sin embargo poseen una gran cantidad

de agua, azúcares libres y polisacáridos de reserva (celulosas), que pueden emplearse en la producción de bioetanol mediante su fermentación (Gongora, 2017, pp. 6-10; Fraga, 2021, pp. 11-14; Alves et al., 2020, pp. 1-3). El Ecuador cuenta con al menos cuatro variedades de nopal, su cultivo se extiende mayoritariamente en las provincias de Imbabura, Loja, Santa Elena y Tungurahua, aunque se lo puede encontrar por de forma silvestre en todo el país (MAG, 2017, párr. 1-8).

Los cladodios de nopal presentan concentraciones de azúcares de hasta 40 %, la mayor parte almacenada como polisacáridos, una fracción menor como azúcares libres, para tener acceso a esta reserva es necesario aplicar procesos hidrolíticos, que debiliten los enlaces poliméricos, liberando glucosa, entre otros azúcares sencillos, la hidrólisis consiste en una reacción mediada por una sustancia (ácidos, bases, enzimas) que degrada los polisacáridos, y condiciones de temperatura, tiempo, presión, agitación, entre otras, aumentando la disponibilidad de azúcar para que sea consumido por las levaduras durante la fermentación alcohólica (Do Nascimento Santos et al., 2016, p. 218).

El presente estudio en términos generales pretende probar la factibilidad de la extracción de azúcares fermentables a partir del cultivo del nopal (cladodios), para aprovechar su biomasa residual, distribuida en el cantón Riobamba, provincia de Chimborazo, de la Estación Experimental Tunshi de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ya que hasta la fecha se subestima el valor energético y comercial de este cultivo en el Ecuador, y obtener así bioetanol a partir de la hidrólisis de sus cladodios.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

La población mundial sufrió un gran crecimiento vinculado al desarrollo industrial, científico y tecnológico del siglo XX, desencadenando un mayor consumo de recursos para satisfacer la demanda moderna de bienes y servicios, siendo una de las principales la demanda de energía. Entre las principales fuentes de energía se encuentran los combustibles fósiles, que han generado una serie de problemas ambiental, como la contaminación del aire por material particulado (PM_{2.5}), gases de combustión contaminantes (monóxido de carbono, hidrocarburos, óxidos de azufre, ozono troposférico) o de efecto invernadero (dióxido de carbono, metano, óxidos de nitrógeno, vapor de agua, y otros) (Rojas Isaza et al., 2019, pp. 109-122).

El suelo y el agua son matrices que también se han visto gravemente afectados por derrames accidentales y por la contaminación inherente al proceso de explotación de hidrocarburos, dejando inhabilitadas grandes territorios, poniendo en riesgo la biodiversidad e incluso la salud humana de grupos aborígenes y residentes locales; sin embargo, pese a sus impactos negativos, sigue siendo una fuente importante, sino la principal fuente de energía en todo el mundo, por lo tanto, se siguen explotando mientras corren el riesgo de agotar sus reservas. En respuesta a la problemática energética se han investigado fuentes alternativas de energía como: la energía eólica, solar, nuclear, y los biocombustibles (biohidrógeno, biodiesel y bioetanol) producidos a partir de la biomasa vegetal, por lo general a partir de cultivos energéticos (Jiménez et al., 2012, p. 152).

El uso de los biocombustibles ganó relevancia a partir de la crisis petrolera de la década de los setenta, más tarde, debido al interés por reducir las emisiones que provocan el cambio climático, países como Estados Unidos, Brasil y Holanda apostaron por la producción de biocombustibles a partir de caña de azúcar, maíz, girasol, soja, entre otros productos. Sentando el debate sobre los beneficios de los biocombustibles, puesto que se han destinado tierras y alimentos para producción energética en lugar de aprovecharlos en la producción de alimentos (Ramos et al., 2016, p. 70).

El bioetanol producido a partir de cultivos energéticos (alimentos) requiere de grandes extensiones de terreno para el monocultivo, promoviendo la pérdida de biodiversidad, degradación de los suelos agrícolas, y a su vez incrementando el precio de los alimentos; lo que

compromete la seguridad alimentaria de la población, especialmente en los países en vías de desarrollo, como en América latina (Romero García et al., 2018, p. 3; Cortés-Sánchez et al., 2019, p. 20).

Los biocombustibles de segunda generación son una alternativa bastante prometedora, consisten en la producción de etanol a partir de biomasa residual que carece de valor comercial y/o alimenticio, reemplazando cultivos energéticos por residuos agroindustriales y/o forestales, que comúnmente son desechados, incinerados, o apenas aprovechados en la producción de abonos orgánicos. Efectivamente se trata de una producción mucho más ecológica, no obstante, el bioetanol por sí solo, no resolverá todos los problemas energéticos, socioeconómicos y ambientales, ni mucho menos podrá reemplazar por completo a los combustibles fósiles (Ramos et al., 2016, p. 73; Cortés-Sánchez et al., 2019, p. 22).

1.2. Limitaciones y delimitaciones

- Limitaciones

Las limitaciones que se presentaron en el desarrollo de la investigación correspondieron a factores metodológicos, y en segundo lugar a factores logísticos. La metodología empleada fue adaptada a partir de otros estudios recientes; sin embargo, la gran mayoría de los estudios en los que se sustentó la metodología contaron con suficiente presupuesto, así como también instalaciones y equipos modernos, por ende, la metodología fue adaptada considerando las limitaciones de infraestructura, optando por metodologías y determinaciones analíticas convencionales, asequibles tanto económica como operacionalmente. En cuanto a la logística, debido a que las muestras debieron ser tomadas en la Estación Experimental Tunshi, perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, para ser enviadas hasta la ciudad de Macas, se presentaron puntos muertos en la cadena de custodia de la muestra, además, las Cladodios fueron almacenados por un largo tiempo, debido a que se debió esperar la disponibilidad de los laboratorios para ejecutar los análisis respectivos, ambos factores incrementan el valor de incertidumbre, provocando un aumento de ruido en la trazabilidad del procesos y los resultados.

- Delimitaciones

La parte experimental de la investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Sede Morona Santiago, bajo condiciones controladas; no obstante, las muestras consisten en cladodios de nopal (*Opuntia ficus*) las cuales fueron tomadas de la Estación Tunshi ESPOCH, ubicada en la Ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo, las características físico químicas de la biomasa del nopal son representativas únicamente de dicha

región, del mismo modo, para la obtención de los azúcares fermentables se utilizó como agente catalizador concentraciones (0.5,0.75,1) N de H₂SO₄ con variaciones en tiempo y temperatura, en la obtención del etanol a partir del hidrolizado se realizó mediante el proceso de fermentación con levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) y destilación.

1.3. Problema general de la investigación

¿Cuál sería la incidencia del bioetanol obtenido a partir de los azúcares fermentables, extraídos por hidrólisis ácida de los cladodios de nopal procedentes de la estación experimental Tunshi – Riobamba, sobre la reducción de emisiones de carbono y la demanda energética?

1.4. Problemas específicos de la investigación

¿Cuáles serían las características fisicoquímicas de los cladodios de nopal cultivados en la Estación Experimental Tunshi-Riobamba?

¿Cómo se podría estimar las condiciones óptimas de hidrólisis ácida de los cladodios de nopal, para la obtención de una concentración adecuada de azúcares para la fermentación?

¿Cuál sería el rendimiento y la calidad del bioetanol producido mediante la fermentación del hidrolizado glucosídico de nopal?

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo general

- Extraer azúcares fermentables a partir del nopal (*Opuntia ficus*) de la Estación Experimental Tunshi-Riobamba mediante hidrólisis ácida como fuente de obtención de bioetanol.

1.5.2. Objetivos específicos

- Determinar las características fisicoquímicas de la biomasa potencialmente hidrolizable de los cladodios de nopal.
- Identificar las condiciones óptimas para obtener un mayor rendimiento de azúcares fermentables por hidrólisis ácida de los cladodios de nopal.

- Caracterizar el perfil de azúcares fermentables obtenidos a partir de la hidrólisis ácida de los cladodios de nopal.
- Evaluar la calidad del bioetanol producido por la fermentación del hidrolizado de nopal mediante los estándares de calidad para etanol anhidro (NTE INEN 2478:2009).

1.6. Justificación de la investigación

1.6.1. Justificación teórica

El nopal es un cultivo energético de alto rendimiento, con bajos requerimientos (agua y nutrientes) para su cultivo, facilitando la rehabilitación de suelos pobres para la producción de tuna, nopalitas, forraje y grana de cochinilla (Gongora, 2017, p. 1; Carrillo, 2021, p. 22; Fraga, 2021, p. 3). Dadas las propiedades energéticas, su facilidad de cultivo y su gran disponibilidad en el país, surge la necesidad de caracterizar su biomasa y evaluar su capacidad para la producción de bioetanol.

Existe diversos de estudios que prueban el potencial del nopal en la producción energética, el cultivo entra en la categoría de cultivos energéticos, al igual que el maíz, la caña de azúcar, la remolacha azucarera entre otros, no obstante, a diferencia de los demás cultivos mencionados, el nopal tiene menor importancia alimentaria, y puede desarrollarse en lugares inhóspitos, sin competir por el suelo agrícola, que debería priorizarse para la producción de alimentos y no para la producción masiva de cultivos energéticos, además, la presente investigación se enfoca en el aprovechamiento de la biomasa residual del nopal, que se deriva de la poda y manteniendo del cultivo, así como también del nopal que crece libremente, de forma silvestre (Bessou et al., 2011; Do Nascimento Santos et al., 2016; Quintanar-Orozco et al., 2018; Alves Alencar et al., 2020; Carrillo Verástegui, 2021; Fraga Delgado, 2021). Además, al emplearse biomasa residual, se hace referencia a los biocombustibles de segunda generación, los cuales se caracterizan por presentar un balance de materia ideal, con una huella de carbono nula (Cortés-Sánchez et al., 2019, p. 22).

Las propiedades de la biomasa (agrícola y forestal) dependen de su origen y composición, hasta un 75 % corresponde a sustancias lignocelulósicas, sin embargo, no es aprovechada y se depositan en el terreno para su deshidratación e incineración (Cortés-Sánchez et al., 2019, p. 22). De acuerdo con varias investigaciones, es posible liberar una alta concentración de azúcares a partir de residuos lignocelulósicos mediante tratamientos mecánicos e hidrolíticos, obteniendo una solución azucarada denominada hidrolizado glucosídico, fermentada para la producción de bioetanol, el cual ha sido utilizado como sustituto o aditivo de las gasolinas, disminuyendo las emisiones de CO₂ y el volumen de metil-terbutil éter. La producción de etanol está determinada por la

eficiencia hidrolítica, y esta depende de las propiedades fisicoquímicas de la biomasa, que varían en función de la localidad, del suelo y las condiciones de cultivo, por lo tanto, es necesario replicar y adaptar las metodologías para cada localidad (Jiménez Islas et al., 2012, p. 152).

Tras una revisión bibliográfica se identificó que la hidrólisis ácida puede hidrolizar la biomasa de los cladodios de nopal más eficientemente que la hidrólisis enzimática, además debido a la naturaleza ácida del extracto del nopal, se requiere una adición mínima de ácido, y a diferencia de la hidrólisis enzimática es más económica y brinda un mayor espectro de temperaturas de trabajo, lo que facilitaría la producción de bioetanol, promoviendo el desarrollo local, ya que abre la posibilidad de obtener ingresos económicos mediante la producción de bioenergía y la revalorización de los residuos agrícolas del cultivo de la tuna.

1.6.2. Justificación práctica

El cultivo del nopal es relativamente sencillo de mantener en comparación con los cultivos tradicionales, la principal diferencia se debe a su baja demanda de agua y adecuación del terreno, los nopales se extienden a lo largo del País, concentrándose en la zonas desérticas de las provincias de la sierra, particularmente, la provincia de Chimborazo presenta terrenos desérticos y erosionados en una parte considerable de su territorio, es así, que la producción de la tuna ha ido ganado aceptación (Márquez, 2018, p. 5; Fraga Delgado, 2021, pp. 10-23). El mantenimiento del cultivo requiere de la adición de nutrientes y poda periódica, lo que genera una gran cantidad de biomasa residual (Márquez, 2018, p. 6). Desde el punto de vista energético, se cuenta con abundante materia prima potencialmente utilizable para la producción de bioetanol de segunda generación, pero, para conseguir una producción eficiente la biomasa debe presentar características aceptables y homogéneas a lo largo del año, de acuerdo con Alves et al. (2020, p. 2) propiedades fisicoquímicas como el contenido de humedad y el pH varía notablemente entre estaciones secas y húmedas, y también entre periodos diurnos y nocturnos.

Es necesario el establecimiento de un protocolo para la producción de bioetanol a partir de la biomasa del nopal, el mismo que debe considerar varias etapas, desde la siembra y el mantenimiento del cultivo (poda), recolección, almacenamiento, tratamiento de la biomasa, hidrólisis, fermentación y control de calidad del bioetanol de acuerdo con norma técnica NTE INEN 2478:2009. Además, con la caracterización inicial se refinará y reforzará los hallazgos de otros estudios nacionales en materia de biocombustibles, con el fin de estandarizar el proceso de producción de bioetanol de nopal, y abordar los puntos críticos del proceso, además de cubrir variables que no se estimaron inicialmente, pero que suelen jugar un rol importante en la eficiencia de la fermentación.

Por último, para llevar a cabo el presente proyecto de investigación, se cuenta con los recursos necesarios, puesto que el material vegetal de los cladodios de nopal será provisto por la estación experimental Tunshi de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, así mismo, con la infraestructura, materiales, insumos de laboratorio y el respaldo técnico científico por parte de la institución, por lo cual, la investigación cuenta con plena viabilidad científica, técnica y económica.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

El cambio climático y la contaminación ambiental que se percibe en la actualidad es debido a la intensa explotación de los recursos naturales, uno de los principales objetivos de la revolución industrial fue el abastecimiento energético a partir de combustibles fósiles, inicialmente empezando por el carbón, que fue el causante de graves problemas atmosféricos y afecciones cardiorrespiratorias, luego con el petróleo y sus derivados que redujeron en algo las emisiones de material particulado, pero continuaron produciendo gases tóxicos (CO, COV_s, SO_x) y de invernadero (CO₂, NO_x y CH₄) (Bollen et al., 2010, pp. 4021-4030).

Los biocombustibles han estado presentes desde incluso antes del auge del petróleo, por ejemplo, hasta mediados del siglo XIX, se empleaba aceite de ballena para alimentar las lámparas de iluminación, luego, con la aparición del petróleo y su explotación intensiva (Bessou et al., 2011, p. 2). Los biocombustibles pasaron a segundo plano, no obstante, las reservas de petróleo son limitadas, y ya se han empezado a notar los problemas económicos y operativos, sin embargo, la dependencia de hidrocarburos persiste, y aunque existen fuentes alternativas de energía como la nuclear, solar, eólica, de hidrogeno, entre otras, no son adecuadas para procesos donde se requiere de combustibles líquidos como el Diesel o la gasolina, es decir, que las mejores opciones para suplir su demanda son el bioetanol y el biodiesel extraídos de cultivos energéticos o a partir de biomasa residual (Fraga Delgado, 2021, p. 1).

Los biocombustibles pueden ser sólidos, líquidos o gaseosos, con la particularidad de que los tres emiten energía calórica mediante una reacción de combustión (Álvarez, 2009, p. 63). El biocombustible sólido por excelencia es la madera, de hecho, hoy en día, representa al menos un 15 % del consumo global de energía, otros biocombustibles sólidos consisten en biomasa residual de origen vegetal o animal, triturada y compactada a manera de bloques de madera. Por otro lado, los biocombustibles líquidos hacen referencia al bioetanol y al biodiesel, aunque, perfectamente se podrían incluirse aceites sin procesar de plantas y animales. Mientras que, los biocombustibles gaseosos hacen referencia al biogás (metano) y al biohidrógeno (Álvarez, 2009, p. 63; Bessou et al., 2011, pp. 2-3).

Los biocombustibles han pasado por cuatro generaciones de mejora, la primera generación estuvo enfocada en la producción de almidón, azúcares y aceites a partir de cultivos agrícolas de interés

alimentación, como el maíz, caña de azúcar, la palma africana, girasol, soja, entre otros, lo que provocó un conflicto de intereses con la seguridad alimentaria. La segunda generación consiste en el uso de biomasa residual con un alto contenido de azúcares y material celulósico y lignocelulósico, evitando competir con la producción de alimentos. La tercera generación se refiere a los cultivos energéticos, que, si bien son cultivados específicamente para este propósito, tienen un alto índice de crecimiento y almacenamiento energético, y demandan grandes extensiones de terreno para su producción; se trata de plantas silvestres como árboles, arbustos, pastos y microalgas. Por último, en la cuarta generación se encuentran los biocombustibles producidos a partir de organismos mejorados genéticamente, como bacterias metanogénicas, productoras de biohidrógeno y microalgas (Álvarez, 2009, pp. 63-65).

La investigación de energías alternativas es diversa, por lo que, este estudio estará segmentado a la tecnología de biomasa residual, así podremos mencionar algunos estudios que sustentan la propuesta de producción de bioetanol a partir de los cladodios de nopal.

En la investigación de Jiménez Islas et al. (2012, p. 151) se probó el efecto que tienen las condiciones de hidrólisis ácida (velocidad de agitación, concentración del ácido, masa de sustrato y temperatura de hidrólisis) sobre el rendimiento de bioetanol a partir del hidrolizado de remolacha (*Beta vulgaris L.*), obteniendo que el mejor tratamiento consistió en 10 gramos de sustrato, hidrolizado en un volumen de 50 ml, a 40 °C y con una agitación de 150 rpm.

Por su parte Gongora Cauich (2017, p. 2) evaluó el comportamiento de tres variedades de nopal para establecer las condiciones de hidrólisis química y enzimática, para la obtención de azúcares a partir de los cladodios frescos y de la harina de nopal mediante diferentes condiciones de tiempo, temperatura y tipo y concentración del hidrolizante, obteniendo el mejor rendimiento de etanol para la harina de la variedad Atlixco, cosechada a los seis meses con un valor de 0,12 g/Ld.

Texco-López et al. (2019, p. 1039) evaluó el desempeño de un pretratamiento térmico sobre el proceso de hidrólisis enzimática de los cladodios de nopal, así como el desempeño de cuatro condiciones de temperatura, cinco condiciones de acidez y dos tiempos de reacción, determinando que el pretratamiento en el reactor de alta presión redujo el tiempo e incremento el rendimiento de hidrólisis en un 70,4 %, produciendo 6,6 g/L de bioetanol.

Por su parte, Alves Alencar et al. (2020, p. 1) estuvo interesado en estudiar la influencia del tiempo de cosecha y la proporción de materia seca, sobre la hidrólisis enzimática de dos especies de nopal (*Nopalea cochenillifera* y *Opuntia stricta*), encontrando un incremento de pH de 3 a 5,6 durante el día, también que la concentración de azúcares fue similar para biomasa húmeda y seca,

con la diferencia que la biomasa húmeda requirió de 12 horas de secado, para concentrar la solución glucosídica hasta 80 g/L, produciendo 29,4 y 37,5 g/L de etanol para las especies de *N. cochenillifera* y *O. stricta*, como corresponde, por lo que se recomienda realizar la cosecha durante la época seca, en las primeras horas de la mañana, para ahorrar tiempo y recursos.

Así mismo, Fraga Delgado (2021, p. 12) en la Provincia de Imbabura realizó una caracterización del poder energético del nopal, para la producción de biogás, determinando un área de 20828 de zonas óptimas para el cultivo energético de nopal, que al realizar un balance de masas indica que podría aportar con 12,46 GWh/año de energía.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Nopal

El nopal es una planta suculenta, de la familia de las cactáceas, es originaria de México, donde se concentra la mayor diversidad de especies del género *Opuntia*, tales como: *Opuntia ficus-indica* (L.), *Opuntia robusta*, *Opuntia streptacantha*, entre otras (FINE DINING LOVERS, 2022, párr. 1-6; Barazarte et al., 2017, p. 177). Es una planta arbustiva, carnosas, con tallos y hojas oblongas, de color verde, capaces de tener una gran cantidad de agua, puede crecer libremente o ser cultivada en suelos áridos y semiáridos, ya que a diferencia de la mayoría de cultivos comerciales, tiene la capacidad de absorber y almacenar agua y nutrientes incluso de suelos poco favorables para la agricultura, puede desarrollarse en pisos climáticos que van desde regiones costeras hasta los 3000 metros sobre el nivel del mar (Do Nascimento Santos et al., 2016, p. 213; Barazarte et al., 2017, p. 177; FINE DINING LOVERS, 2022, p. 3).

2.2.1.1. Requerimientos agroecológicos

El tipo de metabolismo de las plantas determina los requerimientos nutricionales, hídricos y climáticos óptimos para cada cultivo; en este sentido, de acuerdo con el tipo fotosintético se tienen plantas del grupo C3 (fijadores de ácido 3-fosfoglicérico), del grupo C4 (fijadores de oxalacetato) y las del grupo CAM (metabolismo de ácido crasuláceo) (Alves et al., 2020, p. 1). Los grupos C3 y C4 corresponde a cultivos como: trigo, maíz, caña de azúcar y sorgo, que requieren de grandes cantidades de agua, a diferencia del grupo CAM, que incluye todas las especies de nopal y las demás cactáceas que se desarrollan vigorosamente en suelos áridos (Alves et al., 2020, p. 2).

Las cactáceas tienen la particularidad de abrir los estomas en la noche, para absorber dióxido de carbono y liberar oxígeno, evitando pérdidas de agua, produciendo una acumulación de ácido

málico, que bajo efecto de la luz solar es descarboxilado produciendo glucosa, provocando variaciones de pH a lo largo del día (Alves et al., 2020, p. 2).

- *Condiciones del cultivo*

Se trata de una planta perenne, con la capacidad de adaptarse a la escasez hídrica, variaciones de temperatura, y baja biodisponibilidad de nutrientes, en este sentido, es capaz de mantenerse anualmente con tan solo 150 mm de precipitaciones, es decir que, requiere 1/5 del volumen de precipitaciones necesario para mantener un cultivo de frutas y/o hortalizas (Bernabé, 2011, p. 68). Puede adaptarse a cualquier tipo de suelo, especialmente en aquellos que presentan dureza entre los primeros 25 cm de la capa superficial, con alto contenido de carbonato de calcio, no obstante, es sensible a la salinidad (< 1,76 ppt de NaCl) o el exceso de humedad, ya que las raíces son muy susceptibles a los eventos de anoxia (Inglese et al., 2008, p. 35). La temperatura promueve el desarrollo tanto de raíces como de cladodios, y de hecho es un factor incluso más determinante que la disponibilidad de agua; el intervalo de temperatura óptima para el buen desarrollo del nopal se encuentra entre 16 a 28 °C, soportando como máximo 35 °C (Bernabé, 2011, p. 68). El nopal requiere de entre 2 a 3 años para empezar a tener una producción significativa, alcanzando su mayor productividad a partir de los 5 años; bajo un régimen de precipitaciones de 150 mm puede producir alrededor de 100 toneladas de cladodios al año, mientras que si volumen del agua se duplica a 300 mm se puede alcanzar una producción de 15 ton/ha de tunas y 105 ton/año de cladodios, pudiendo producir hasta un metro cubico de bioetanol por hectárea (Bernabé, 2011, p. 68).

2.2.1.2. *Propiedades de la biomasa del nopal*

- *Humedad*

Los cladodios frescos de nopal (*Opuntia ficus-indica*) son un material atractivo para la producción de bioenergía debido a su alto contenido de humedad. La biomasa fresca contiene entre 75% y 85% de agua y un bajo contenido de lignina, favoreciendo la digestión durante la producción de biogás, reduciendo además el costo de pre-tratamiento. Además, su producción es una alternativa sostenible, ya que como cultivo de xerofilia, no requiere grandes cantidades de agua. También se destaca su potencial en la producción de bioetanol, convirtiéndolo en una opción interesante en la industria de la bioenergía (Ramírez-Arpide et al., 2018, pp. 2313-2315).

- *Composición química*

La composición química en base húmeda contiene un 91% de agua, 0.66% de proteínas, 0.11% de grasas, 5.5% de carbohidratos, 1.15% de celulosa y 1.58% de cenizas. Por otro lado, los

cladodios de nopal también son una fuente importante de biomasa seca, con un contenido que varía entre 15% y 25% (Torres-Ponce et al., 2015, p. 1131). La biomasa seca de nopal incluye azúcares simples, como sacarosa, fructosa y glucosa, que son fácilmente fermentables y, por lo tanto, adecuados para la producción de bioetanol. Además, también contiene fibras, proteínas y minerales, sin embargo, si se encuentran en altas concentración pueden llegar a interferir con la hidrólisis y la fermentación de la biomasa, respectivamente (Gongora Cauich, 2017, pp. 7-8).

- *Potencial hidrolítico*

La hidrólisis de la biomasa de los cladodios de nopal es un proceso importante en la producción de bioetanol. El proceso consiste en la liberación de azúcares a partir de las moléculas de celulosa y hemicelulosa presentes en la biomasa. La hidrólisis ácida es una técnica efectiva para la hidrólisis de la biomasa de nopal, logrando una conversión del 73% de la celulosa y del 60% de la hemicelulosa en azúcares simples. Mientras que la hidrólisis enzimática puede aumentar aún más la eficiencia de la hidrólisis, logrando una conversión del 80% de la celulosa y del 75% de la hemicelulosa en azúcares simples (Fjørtoft et al., 2014, p. 72-79; Olauson, 2018, pp. 322-331).

2.2.1.3. Producción de nopal en Ecuador

La producción de tuna en el Ecuador esta mayormente concentrada en la Sierra Norte, aunque en realidad su cultivo se ha distribuido a lo largo del país, llegando a establecer incluso región de la Costa. A la fecha, se ha registrado que Ecuador posee alrededor de 180 hectáreas dedicadas al cultivo de cuatro variedades de nopal, entre las que se encuentran: la tuna amarilla sin espina, la tuna amarilla con espina, la tuna blanca y la tuna silvestre (MAG, 2017, párr. 1-5).

Tabla 2-1: Distribución del cultivo de nopal en Ecuador

Provincia	Cantones
Imbabura	Valle del chota, Salina, Ambuqui
Pichincha	San Antonio de Pichincha, Malchingi, Perucho
Cotopaxi	Saquisilí y Pujilí
Tungurahua	Pelileo, Patate
Chimborazo	Guano, Riobamba, Chunchi, Guamote
Azuay	Paute y Gualaceo
Loja	La toma, Macará y Cécica
Manabí	Portoviejo, Manta
Guayas	Salinas
El oro	Arenilla y Santa Rosa
Santa Elena	Santa Elena
Carchi	Tulcán, Mira

Fuente: Adaptado de Novillo, 2015, p. 23.

2.2.1.4. Importancia agrícola y comercial

El cultivo de nopal se destina a la producción de tunas y cladodios con fines alimentarios, ya sea para el consumo humano o la alimentación del ganado (cabras, ovejas, vacas, etc.), no obstante, también existen otras aplicaciones que hacen del nopal un recurso valioso, por ejemplo, contribuye a la rehabilitación de suelos erosionados, produce grandes cantidades de biomasa, requiere menos recursos para su cultivo, y tiene un amplio rango de aplicaciones comerciales, como las que se describe a continuación (Barazarte et al., 2017, p. 178).

- Tuna

La tuna es el fruto del nopal, se caracteriza por su cascara gruesa, recubierta por pequeñas espinas, su pulpa presenta una gran cantidad de semillas, alto contenido de humedad y azúcares, además debido a la presencia de proteínas, vitaminas, minerales y fibra se considera como un alimento dietético, ya que mejora la digestión (Fideicomiso de Riesgo Compartido, 2017, párr. 1-4). La coloración, morfología y las propiedades del fruto varían dependiendo de la variedad y las condiciones de cultivo, se tienen coloraciones como: morada, naranja, amarilla y verde (Inglese et al., 2008, p. 140).

- Cladodio

Los cladodios son la estructura mayoritaria de los nopales, constituyen las hojas y ramas de las especies de *Opuntia*, se caracterizan por su cuerpos oblongos y aplanados, en promedio llegan a medir 30 cm de largo, 18.5 cm de ancho y 1.92 cm de grosor, con un peso de aproximadamente 0.6 kg en base húmeda, entre el 70 a 90 % de la masa de los cladodios es agua, el resto, biomasa seca contiene polisacáridos como celulosa, lignocelulosa, minerales, proteínas y fibra. De manera que tiene propiedades nutricionales que los facultan para ser consumidos tanto en la dieta humana, como forraje para la alimentación animal. La producción de nopal para forraje ganadero cobra interés sobre todo en regiones áridas, no obstante, el forraje debe concentrar sus nutrientes mediante procesos de ensilaje o suplementación nutricional, para poder cubrir los requerimientos proteicos del ganado (Sánchez et al., 2018, p. 115; Inglese et al., 2008, pp. 78-79).

- Cochinilla

La cochinilla es un insecto perteneciente al grupo de los hemípteros, distribuidos entre las especies de *Dactylopius spp*, son considerados como uno de los principales parásitos que se alojan en los nopales, no obstante, la cochinilla es mejor conocida por producir ácido carmínico, que es un colorante natural que se encuentra en la sangre de la especie *Dactylopius coccus*, el ácido

carmínico es empleado en una variedad de productos, desde alimenticios, pasando por cosméticos, textiles, entre otros. También se han empleado como control biológico de cactáceas, en entornos donde han sido introducidos y han empezado a desplazar a la flora nativa. Por último, se está utilizando el ácido carmínico en aplicaciones farmacéuticas y de bioingeniería por sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Inglese et al., 2008, p. 110).

- Contenido de polisacáridos de nopal

La fracción líquida de la biomasa del nopal está constituida por mucilago, una sustancia gelatinosa formada por carbohidratos de bajo y alto peso molecular como: arabinosa, galactosa, ramnosa, xilosa, ácido galacturónico, amilosa y amilopectina. Estas sustancias se encuentran formando redes altamente ramificadas, de manera que el mucilago presenta alta plasticidad que es aprovechada en aplicaciones en la industria alimenticia, farmacéutica, en materiales de construcción y como sustancias empleadas en aplicaciones y análisis ambientales (Rodríguez, 2017, p. 17).

2.2.2. Biomasa (energías renovables)

La biomasa es cualquier fracción de materia orgánica, que se ha formado a partir de un proceso biológico, dicho de otro modo, la biomasa está integrada por: plantas, animales, microbios, y toda materia orgánica que se encuentra recirculando y conformando la biosfera, cuyo origen se remonta a la aparición de los primeros organismos vivos, quienes fueron capaces de tomar la energía solar y transformarla en energía química mediante el proceso de fotosíntesis (Posso, 2002, p. 61). Desde un enfoque energético, el término biomasa hace referencia a la materia orgánica que compone la madera, los residuos agroindustriales, el estiércol de animales de granja, residuos municipales, y toda sustancia capaz de aportar energía calórica aprovechada por procesos de combustión o transformación química, física o biológica (Posso, 2002, p. 62; APPA, 2019, p. 1).

2.2.2.1. Natural

Es aquella que se encuentra disponible en la naturaleza, ha sido producida sin intervención humana, y se refiere principalmente a la biomasa forestal, puntualmente a la madera, que es de hecho, la fuente más primitiva de energía, no obstante, también se considera a los residuos agroforestales producidos durante la explotación de la madera. La biomasa forestal puede aprovecharse en la generación de energía, ya sea por incineración directa, o mediante procesos fisicoquímicos que incrementan el potencial energético de la madera (pellets), o transformación química por procesos de pirolisis y/o gasificación (Posso, 2002, p. 32; Biomasa, 2011, párr. 3).

2.2.2.2. Cultivos energéticos

Los cultivos energéticos consisten en cultivos agrícolas, acuáticos e industrializados que se producen con el objetivo de emplearlos en la generación de energía, aunque diversos autores plantean un concepto más amplio, incluyendo al excedente de cosechas de productos alimentación que poseen un alto valor energético. Idealmente, los cultivos energéticos deberían realizarse con plantas de bajo valor comercial y costo de mantenimiento, y que la producción completa sea transformada en energía, se trata principalmente de excluir a cultivos alimenticios (maíz, soja, trigo, palma, etc.), no obstante, ante sobreproducción de alimentos y un mercado competitivo, parte de las cosechas están siendo destinadas para complementar la producción de cultivos energéticos (Nava y Doldán, 2014, p. 27).

Brasil y Estados Unidos han sido capaces de liderar el mercado de los biocombustibles, debido a que poseen miles de hectáreas desinadas al cultivo de caña de azúcar y maíz, para la síntesis de bioetanol. En Brasil la producción de bioetanol tiene una eficiencia de hasta el 85%, y está siendo complementada por la producción de etanol a partir de biomasa residual agrícola y forestal, además, la investigación en materia de biocombustibles esta creciendo rápidamente, por lo tanto, se continua caracterizando y evaluando el potencial energético de las tres principales categorías de cultivos energéticos (Posso, 2002, p. 63).

- *Oleaginosos*: Son cultivos capaces de sintetizar y almacenar una gran concentración de aceites, grasas y ceras en su interior, como la soja, la palma africana, el girasol, a partir de los cuales se pueden obtener biocarburantes como el biodiesel (Nava y Doldán, 2014, pp. 28-31).
- *Alcoholícenos*: Se trata de cultivos que poseen una gran concentración de azúcares y polisacáridos de glucosa como el almidón, que al hidrolizarse y exponerse a fermentación alcohólica producen bioetanol, entre estos destacan la caña de azúcar, el maíz y la soja (Nava y Doldán, 2014, pp. 28-31).
- *Lignocelulósicos*: En esta categoría se encuentran plantas leñosas y arbustivas, que debido al contenido de carbono y lignocelulosa comúnmente se emplean como combustible de calderas para la producción de energía termoquímica y generación de vapor, sus mejores representantes son el pino, el eucalipto y el cardo (Nava y Doldán, 2014, pp. 28-31).

2.2.2.3. Residual

La biomasa residual se genera a partir de actividades agrícolas, forestales y ganaderas, por lo tanto, sus propiedades físico-químicas son bastante heterogéneas, siendo necesario caracterizar la biomasa, para establecer las mejores condiciones de pH, CE, humedad relativa, contenido de azúcares, celulosa, lignocelulosa para la conversión energética, especialmente a la hora de producir biocombustibles líquidos (Posso, 2002, p. 63; Biomasa, 2011, párr. 6-7).

2.2.3. Biocombustibles

Por biocombustibles se refiere a todo combustible o material con potencial de liberación energética, que han sido producidos mediante la tecnología de reconversión de biomasa, pudiendo producir biocombustibles sólidos, líquidos y gaseosos. Los biocombustibles pueden categorizarse en función del material de partida, la tecnología de conversión y por el estado físico, aunque a nivel comercial se habla principalmente de bioetanol, biodiesel, biometano y biohidrógeno (Álvarez, 2009, p. 63). Los biocombustibles sólidos se incineran directamente, liberando una gran cantidad de energía y calor, aprovechada en centrales termoeléctricas, o convencionalmente para la cocción de alimentos y calefacción; por otro lado, los combustibles líquidos y gaseosos requieren que la biomasa sea procesada mediante operaciones termoquímicas, bioquímicas y de extracción, permitiendo obtener combustibles estables, fáciles de almacenar y transportar, y sobre todo, con propiedades homogéneas con mayor potencial energética que la biomasa natural (Callejas y Quezada, 2009, p. 75-77; Bessou et al., 2011, p. 5).

2.2.3.1. Biodiesel

La categoría del biodiesel reúne a toda clase de aceites vegetales y grasas animales, ya sea en estado natural o procesados, están caracterizados bioquímicamente por consistir en una mezcla de ácidos grasos, triglicéridos, fosfolípidos, esteroides, odorantes, y fracciones de agua e impurezas. Los cultivos oleaginosos preferidos para la producción de biodiesel son: la colza, canola, soja, girasol y la palma africana, los cuales crecen en climas tropicales, sin embargo, la producción de biodiesel no se limita a dichos cultivos, en la actualidad las semillas de mostaza, lino, ricino, coco, y las microalgas contribuyen en gran medida a la demanda de aceites y grasas para la producción de biodiesel, por lo tanto, existe una gran variedad de biodiesel con diferente calidad y valor comercial (Bessou et al., 2011, p. 7).

2.2.3.2. *Biometano*

Comúnmente conocido como biogás, o simplemente metano, se produce mediante la reacción de digestión anaerobia, el proceso es mediado por bacterias metanogénicas, a partir de una mezcla de biomasa residual (agrícola, forestal, municipal e industrial) y purines o estiércol del ganado, es deseable que la materia prima tenga un alto contenido de ácidos grasos. La producción del metano genera subproductos que pueden aprovecharse como enmiendas orgánicas para la fertilización de cultivos, por otro lado, también se generan gases como dióxido de carbono, sulfuro de hidrogeno, amoníaco entre otros subproductos gaseosos. Por tal motivo, el uso del biogás depende de la calidad del mismo, por ejemplo, en caso de emplearlo para consumo doméstico, el gas debe pasar por procesos de depuración que eliminen compuestos nocivos e incluso peligrosos para la salud humana y animal (Bessou et al., 2011, pp. 8-9).

2.2.3.3. *Bioetanol*

El bioetanol es el producto de la fermentación alcohólica de azúcares, un proceso de bioquímico mediado por cepas de levadura, tanto comerciales, naturales e incluso mejoradas genéticamente, por lo tanto, su producción depende de biomasa con alto contenido de azúcares y polisacáridos de reserva. Los cultivos más populares en la producción de bioetanol son la caña de azúcar, remolacha azucarera, seguido de cereales como sorgo, maíz, trigo, papas, entre otros, por ejemplo, la biomasa agrícola posee una gran cantidad de polisacáridos, por hidrólisis pueden liberar una gran concentración de azúcares para la fermentación, la cantidad y calidad del bioetanol depende principalmente de la eficiencia de hidrólisis y la capacidad fermentativa de las cepas de levadura empleadas (Bessou et al., 2011, pp. 7-8; Ecología, 2020, párr. 2-4).

2.2.3.4. *Bioetanol en el Ecuador*

Ecuador al ser signatario del Protocolo Kioto, a partir del 2010 implementó estrategias para la producción y aprovechamiento de energías limpias, puntualmente, refiriéndose al bioetanol a partir de la caña de azúcar, de manera que el Ministerio de Electricidad y Energía Renovable en el Ecuador implemento las bases legales para el uso de energías limpias. La propuesta inicial planteaba incorporar un 10 % de bioetanol en las gasolinas que se comercialicen en el país, no obstante, únicamente se ha podido alcanzar un 5 %, y la gasolina suplementada con etanol, denominada Ecopaís (E5), apenas se comercializa en algunas provincias del Ecuador. Ecuador se posiciona como el tercer país latinoamericano en la producción de bioetanol de caña de azúcar, puesto que el cultivo de caña de azúcar se encuentra ampliamente establecido en varias provincias

del país, como: Guayas, Loja, Cañar, Imbabura, Los Ríos y Carchi, en conjunto representa al menos un 1.4 % del producto interno bruto de la nación (Mendoza et al., 2022, pp. 41-42).

Hasta el momento, el único cultivo formal para la producción de bioetanol en el país es la caña de azúcar, sin embargo, es de conocimiento público que el Ecuador tiene una altísima producción agrícola, es decir anualmente se producen toneladas de biomasa agrícola y forestal, despertando el interés por la producción de bioetanol a partir de biomasa residual (bioetanol de segunda generación), sin poner en riesgo la seguridad alimentaria y promoviendo la protección ambiental, al reducir las emisiones de gases de invernadero a la atmósfera; a continuación se presenta una matriz con los principales tipos de residuos que se sospecha, poseen alto potencial para la producción de bioetanol 2G (Mendoza et al., 2022, p. 45).

Tabla 2-2: Biomasa disponible para la producción de bioetanol 2G en el Ecuador

Tipo de biomasa	Capacidad productiva potencial de etanol
Paja (Stipa ichu)	0,18 g etanol/g paja hidrolizada
Melaza con cáscaras de banano	Melaza de banano 0,04%
Melaza con cáscaras de naranja	Melaza de naranja 6,50%
Melaza con cáscara de maracuyá	Melaza de Maracuyá 0,18%
Tallo de plátano	0,259 kg et/kg MP
Cáscara de arroz	0,257 kg et/kg MP
Bagazo de caña	0,255 kg et/kg MP
Elote /Maíz	0,253 kg et/kg MP
Aserrín	0,168 kg et/kg MP
Corteza de madera	0,166 kg et/kg MP
Otros desperdicios de palma	0,108 kg et/kg MP
Cáscara de piña	0,049 kg et/kg MP
Desechos de mango	0,034 kg et/kg MP
Cáscara de plátano	0,009 kg et/kg MP
Papel usado	
Desecho de madera	100 a 350 L/ton en base seca
Estiércol de vaca	
Cáscaras de mandarina	3,8 ± 0,2 % (ml etanol/100 ml de fermentado)
Maracuyá	4,2 ± 0,1 % (ml etanol/100 ml de fermentado)
Hojas de eucalipto	4,7 ± 0,1 % (ml etanol/100 ml de fermentado)
Mucílago de cacao CCN51	25,41 g/L
Pseudotallo del plátano	99,7 % en base seca
Jacinto de agua	0,1289 g/g en base seca

Fuente: Adaptado de Mendoza et al., 2022, p. 46.

2.2.4. Hidrólisis de biomasa

La biomasa se encuentra integrada por biomoléculas que forman estructuras ramificadas de alto peso molecular, las mismas que tienen baja solubilidad, tal como ocurre con los polisacáridos como: el almidón, el glucógeno, la celulosa y la lignocelulosa. La estructura química de los polisacáridos depende muchas veces de la estabilidad de los puentes de hidrógeno y los enlaces covalentes de sus monómeros, es decir, pueden ser hidrolizados para obtener azúcares como fuente de carbono para procesos de fermentación. La reacción de hidrólisis puede tomar unas cuantas horas o incluso varios días, dependiendo del método (ácida, alcalina o enzimática) y de las condiciones de reacción como: pH del medio, temperatura, tamaño de la biomasa y la composición del sustrato (Fraga, 2021, p. 15).

2.2.4.1. Hidrólisis ácida

Consiste en una reacción química de sustitución nucleofílica, que tiene lugar en medio acuoso donde el agua puede actuar tanto como ácido o como base, el ácido por su parte cataliza la ruptura de los enlaces químicos de los polisacáridos y demás sustancias estructurales y de reserva. Los ácidos más empleados para la hidrólisis de biomasa con fines energéticos (biocombustibles) son: ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, ácido fosfórico y ácido nítrico, a concentraciones entre 0,7 a 3,0 %, y temperaturas comprendidas entre 50 a 220 °C. Produciendo un hidrolizado concentrado de azúcares (pentosas y hexosas) y una fracción sólida que comúnmente corresponde a celulosa y lignina que no fueron hidrolizadas por completo (Gongora, 2017, p. 17).

2.2.4.2. Hidrólisis alcalina

Se desarrolla en medio acuoso, el cual debido a la adición de hidróxido de sodio o de potasio y temperaturas de hasta 180 °C presenta un entorno alcalino altamente hidrolítico, capaz de descomponer proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y particularmente polisacáridos complejos (Briceño, 2018, párr. 10). La reacción de hidrólisis alcalina es exotérmica, por lo tanto, el proceso no requiere altas temperaturas, no obstante, los tiempos de reacción son prolongados, y en ocasiones cuando la matriz de reacción tiene pH muy bajo, se debe estabilizar con una gran cantidad de bases, generando la aparición de precipitado indeseable para la fermentación (Gongora, 2017, p. 17).

2.2.4.3. Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática es uno de los tratamientos por excelencia en la biorrefinería para la producción de bioetanol a partir de cultivos energéticos y biomasa residual agrícola, el proceso

es mediado por varios de tipos de enzimas (celulasas) que actúan digiriendo los biopolímeros como el almidón y celulosa en glucosa. Las enzimas presentan una alta especificidad de sustrato, y se requieren en cantidades relativamente pequeñas; a diferencia de la hidrólisis química, las enzimas actúan como catalizadores y no como reactivos propiamente, y facilitando la hidrólisis en sistemas de alimentación continua, no obstante, las condiciones de hidrólisis deben ser más tolerantes, con pH entre 3,8 a 9,5 y temperaturas mesofílica entre los 45 a 50 °C, para no desestabilizar ni la función ni la estructura de las enzimas (Gongora, 2017, p. 18).

Tabla 2-3: Variables críticas en la hidrólisis de biomasa

Variable	Conceptualización
Temperatura	Es un factor importante en la hidrólisis, ya que influye en la velocidad y eficiencia de la reacción. Una temperatura óptima puede maximizar la liberación de azúcares y minimizar la degradación de los productos.
pH	Este influye en la actividad y selectividad de las enzimas involucradas en la reacción. Un pH óptimo puede maximizar la hidrólisis y minimizar la inactivación de las enzimas.
Tiempo de hidrólisis	Es el período durante el cual se lleva a cabo la hidrólisis. Un tiempo adecuado puede maximizar la liberación de azúcares y minimizar la formación de productos secundarios no deseados. Sin embargo, un tiempo demasiado largo puede resultar en una disminución en la eficiencia de la hidrólisis.

Fuente: Lugani et al., 2020, pp. 1267-1295.

2.2.5. Fermentación Alcohólica

La fermentación consiste en una reacción bioquímica, mediada por levaduras del género *Saccharomyces*, que se encargan de metabolizar los azúcares del medio de reacción (glucosa, fructosa, sacarosa, entre otros) en etanol y dióxido de carbono, además de la liberación de ATP. Este es el mismo proceso que se sigue para la producción de bebidas alcohólicas como vino, cerveza y los demás licores destilados. La producción de bioetanol de segunda generación sigue el mismo protocolo, no obstante, al no tratarse de un producto destinado al consumo humano su control de calidad se restringe al potencial calorífico que puede brindar como biocombustible, por lo tanto, los estándares de calidad son más flexibles, lo que también promueve la producción de bioetanol a partir de biomasa residual. El proceso de fermentación está bien estudiado y puede parecer relativamente sencillo, sin embargo, asegurar una fermentación óptima a nivel industrial se torna bastante complejo, debido a las distintas variables que se deben controlar, como son: mantener un ambiente libre o muy pobre de oxígeno, temperatura mesofílica, pH, CE, concentración de azúcares y otros micronutrientes que son indispensables para la multiplicación celular de las levaduras, y su funcionamiento correcto (Vázquez y Dacosta, 2007, p. 252).

Tabla 2-4: Factores que intervienen en la fermentación alcohólica

Variable	Conceptualización
Acidez	El pH del medio depende de las propiedades químicas de la biomasa de partida, las levaduras pueden adaptarse tanto a medio ácido como a medio básico, pero se produce una mejor fermentación a pH ácido, entre 3,5 a 5,5.
Concentración de azúcares	Las levaduras pueden fermentar varios tipos de monosacáridos y disacáridos, sin embargo, una buena fracción de los azúcares totales son no fermentables, así mismo, la fermentación puede verse inhibida por escasez o exceso de azúcares, o debido a subproductos de la hidrólisis química.
Anaerobiosis	La fermentación es una reacción exclusivamente anaeróbica, cuando es mediada por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , aunque también pueden actuar otras cepas de hongos y bacterias, en ciertos casos tolerando bajos niveles de oxígeno, no obstante, el oxígeno puede detener por completo la fermentación.
Temperatura	Las levaduras son organismos mesófilos, no obstante, la fermentación es una reacción exotérmica que genera el calor, manteniendo la temperatura cercana al óptimo de 30 °C.
Biomasa celular	La biomasa celular se refiere a la concentración de células de levadura por unidad de volumen, que se encuentran activas metabólicamente, el crecimiento celular depende de la disponibilidad de una fuente de carbono, nutrientes y condiciones fisicoquímicas óptimas y estables.
Concentración de etanol	La concentración de etanol depende de la capacidad de las distintas cepas de levadura, para tolerar concentraciones de etanol cercanas o superiores al 20 % v/v, la tolerancia de las cepas puede ser modelada mediante las ecuaciones de Tessier, Moser y Monod.

Fuente: Vázquez y Dacosta, 2007, pp. 250-257.

2.3. Bases conceptuales

2.3.1. Estación experimental Tunshi

La Estación Experimental Tunshi área pecuaria es parte de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, misma que fue adquirida el 10 de Noviembre de 1973 por medio de convenio de Integración y contrato con la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, y en ese entonces el Instituto Tecnológico Superior de Chimborazo, con una extensión de 145.5 ha, según la Subsecretaría de tierras y el Departamento de Desarrollo Físico de la ESPOCH, de las cuales 65 ha es uso de la Facultad de Ciencias Pecuarias con la Carrera de Ingeniería en Zootécnica e Industrias Pecuarias (ESPOCH, 2021).

2.3.2. Cladodios de nopal

Los cladodios son las hojas jóvenes de la planta de nopal, las cuales son una fuente importante de alimento y materiales para la producción de biocombustibles y productos biológicos en muchos países. Varios estudios indican que los cladodios de nopal tienen un alto contenido de

carbohidratos y fibra, lo que los hace adecuados para su uso en la producción de bioetanol. Además, también tienen un alto contenido de antioxidantes y compuestos bioactivos que podrían ser utilizados en la producción de alimentos funcionales y productos farmacéuticos (Hernández-Becerra et al., 2022, pp. 1-8).

2.3.3. Biomasa residual de nopal

La cosecha y el mantenimiento de los cultivos de nopal tunero generan una gran cantidad de biomasa residual, la mayor proporción de esta biomasa corresponde a los cladodios que se cortan durante la poda del cultivo, y una menor proporción que corresponde a las cascaras de la tuna que se producen ya sea por consumo directo o por el procesamiento industrial del fruto, esta biomasa residual presenta una gran cantidad de agua, azúcares libres y polisacáridos que tiene un alto valor energético aprovechable mediante la producción de bioetanol y biometano (Do Nascimento Santos et al., 2016, pp. 215-221).

2.3.4. Hidrolisis ácida

Se trata de una reacción de hidrolisis que se lleva a cabo mediante la acción de un ácido, que ha sido añadido al medio acuoso a una concentración determinada. Los iones de hidrogeno liberados por el ácido se encargan de desestabilizar la estructuras de los polímeros con conforman la biomasa, liberando altas concentraciones de azúcares y monómeros de otras biomoléculas (Parada, 2021, pp. 1-5).

2.3.5. Azúcares fermentables

El termino fermentable se refiere a un grupo de azúcares que son susceptibles a la fermentación, entre los principales se encuentran: la glucosa, la fructosa y la maltosa, este parámetro puede servir como un indicador del proceso de hidrolisis, y también como indicador de la fermentación, ya que en ocasiones no es consumido por completo, e indica la tolerancia de las cepas de levadura a una concentración de bioetanol (Cerveza Artesana, 2021, pp. 3-4).

2.3.6. Bioetanol 2G

El bioetanol de segunda generación (2G) es producido a partir de biomasa residual rica en polisacáridos, celulosa y lignocelulosa, la biomasa empleada generalmente corresponde a los residuos agrícolas y forestales, aunque también se incluye residuos agroindustriales del procesamiento de alimentos, y residuos municipales, que se producen en los mercados. Si bien la

biomasa residual tiene bajos o incluso nulos costos, su pretratamiento demanda tecnologías avanzadas que encarecen su procesamiento, por lo cual, es común encontrar sistemas de producción híbridos donde se combinan la producción de etanol de primera y segunda generación, simultáneamente (Melendez et al., 2021, pp. 79-80).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Enfoque de la investigación

La presente investigación tuvo un enfoque mixto, puesto que siguió un protocolo secuencial para medir el comportamiento de las variables dependientes, y luego procesar y analizar estadísticamente los resultados, procedimiento necesario para llegar a los objetivos planteados. Por otro lado, la materia prima fue seleccionada de acuerdo con criterios de calidad cualitativos (Hernández Sampieri et al., 2014, pp. 2-4).

3.2. Nivel de investigación

Según el nivel de profundización en el objeto de estudio, fue de carácter explicativo, ya que se planteó indicar como las variables independientes determinan el grado de hidrólisis de la biomasa de nopal. Es decir, que se buscó identificar el grado de causalidad, tanto de las variables independientes, como de sus interacciones, sobre el rendimiento de azúcares fermentables del hidrolizado obtenido.

3.3. Diseño de investigación

3.3.1. *Según la manipulación de la variable independiente*

Según la manipulación de variables es experimental, debido a que se controlaran una serie de factores (variables independientes) y niveles (condiciones), que regulan la hidrólisis ácida de los cladodios de nopal, y en consecuencia determinan el rendimiento de azúcares fermentables que estarán disponibles para la producción de bioetanol (Pazmiño, 2014, p. 9). Este tipo de diseño de investigación desea alcanzar los objetivos planteados, mediante pruebas estadísticas que relacionen una o más variables independientes, con una o más variables dependientes, por lo tanto, es necesario identificarlas y categorizarlas adecuadamente para su posterior operacionalización.

- *Variables independientes*
 - Concentración Normal de ácido sulfúrico
 - Tiempo de hidrólisis
 - Temperatura de hidrólisis

- *Variables dependientes*

- Concentración en °Brix de azúcares fermentables

3.3.2. *Según las intervenciones en el trabajo de campo*

De acuerdo con el periodo de estudio (intervención) fue de carácter transversal, ya que el experimento se realizó solo una vez, con el fin de establecer las condiciones óptimas de hidrolisis de los cladodios de nopal, sin evaluar la época de la cosecha, o mucho menos la edad del cultivo (Hernández Sampieri et al., 2014, pp. 2-4).

3.4. Tipo de estudio

Según el tipo de estudio, se llevó a cabo un estudio experimental dado a que la muestra de la biomasa del nopal fue intervenida y manipulada, para realizar las pruebas de caracterización fisicoquímica, tratamiento de hidrolisis y fermentación alcohólica, en los laboratorios de la ESPOCH en la sede de Morona Santiago, donde se realizaron pruebas de caracterización fisicoquímica, tratamiento de hidrolisis y fermentación alcohólica.

3.5. Población de estudio

La población de estudio se basó en todas las parcelas con cultivo de tuna (*Opuntia Ficus-indica*), existentes en la Estación Experimental Tunshi de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

3.5.1. *Tamaño de la muestra*

El tamaño de la muestra fue determinado utilizando criterios técnicos de selección de materia prima bajo criterios de calidad (Hernández Sampieri et al., 2014, pp. 2-4), la muestra fue de 10 kg, que resultó adecuada para las pruebas de laboratorio. Se recolectaron entre 15 a 20 cladodios de nopal en buenas condiciones físicas y evitando los necróticos, con el objetivo de mantener la homogeneidad y trazabilidad del estudio durante la caracterización, procesamiento y fermentación alcohólica.

3.5.2. Método de muestreo

Se utilizó el método de muestreo aleatorio simple para recolectar un total de 10 kg de cladodios de nopal (cultivos con edad de un año) en buenas condiciones fitosanitarias. Se seleccionaron los cladodios intermedios de la planta ya que los tejidos cercanos al suelo tienen un mayor contenido de lignina, mientras que los más alejados tienen un mayor contenido de agua, ya que se trata de tejidos más viejos o jóvenes, respectivamente. Además, la recolección debió llevarse a cabo entre las 14:00 a 18:00 pm, para evitar una acidificación excesiva de la biomasa, que pueda interferir con la hidrólisis del nopal (Alves Alencar et al., 2020, p. 3).

3.5.3. Localización de estudio

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios de la carrera de Ingeniería Ambiental de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Sede Morona Santiago, ubicada en el Cantón Macas, Provincia de Morona Santiago con coordenadas Geográficas UTM WGS 84 18S, latitud -2.29682 y longitud -78.11906. Mientras que la biomasa de los cladodios de nopal provino de la Estación Experimental Tunshi - ESPOCH, ubicada en el cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo.

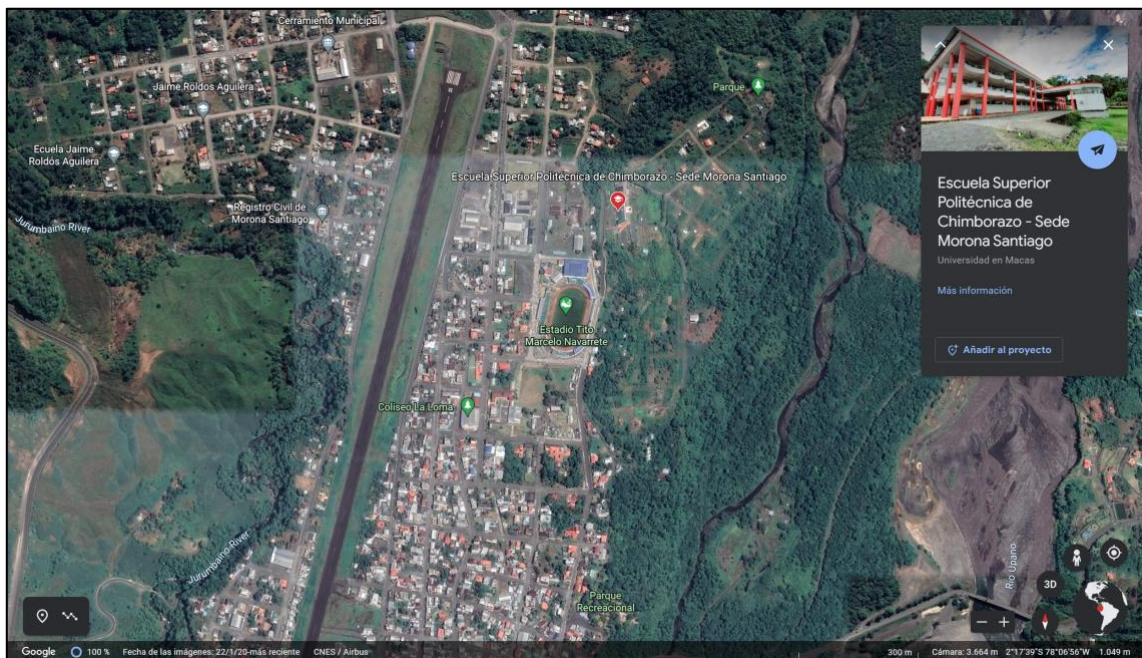


Ilustración 3-1: ESPOCH – Campus Morona Santiago (Lugar de estudio)

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

3.6. Métodos, técnicas e instrumentos de investigación

3.6.1. Técnicas de recolección de datos

La presente investigación tuvo varios componentes, desde bibliográficos, hasta metodológicos y técnicos, de manera que cubrió una serie de etapas que se detallan a continuación.

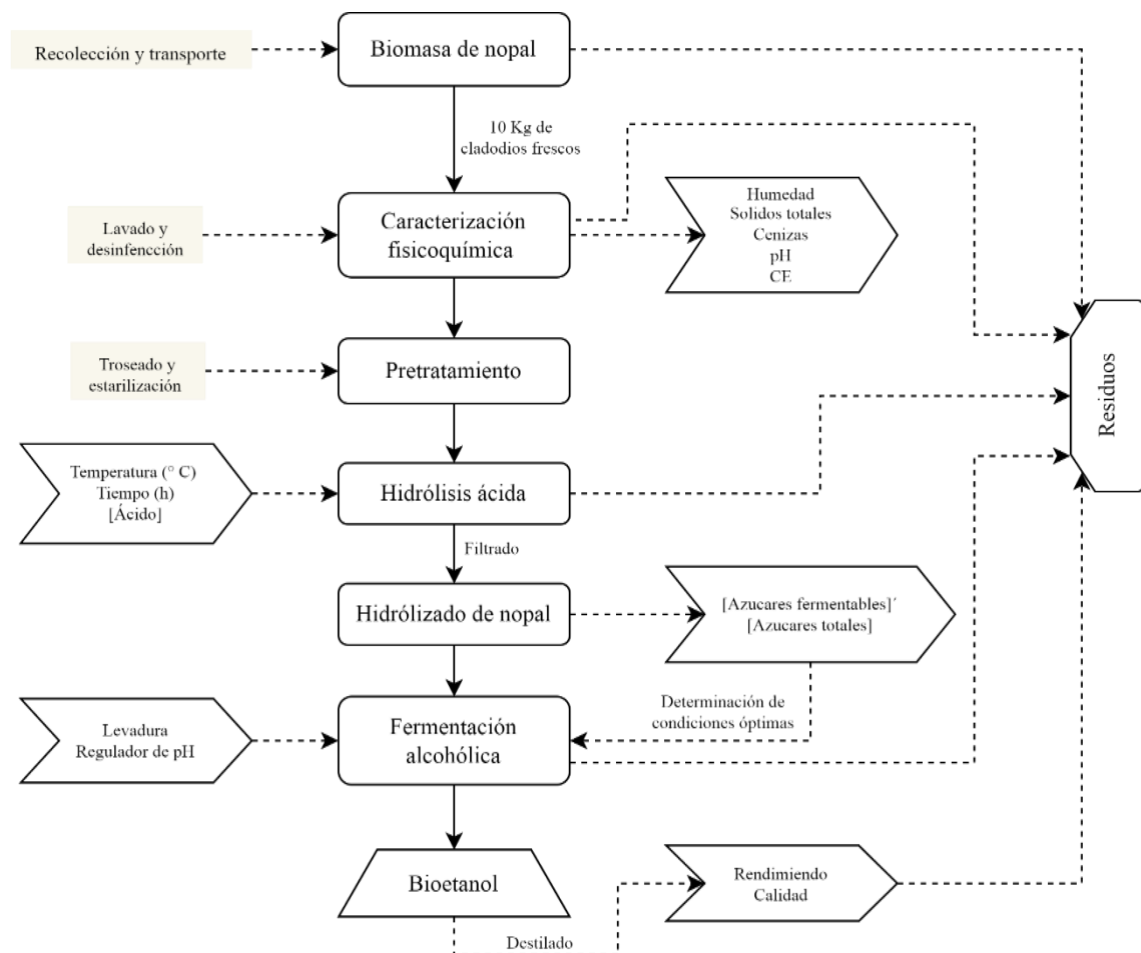


Ilustración 3-2: Etapas de la investigación

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

3.6.2. Diseño experimental

3.6.2.1. Arreglo factorial

El diseño experimental correspondió a un arreglo trifactorial 3x3x3 para las variables de concentración del ácido (0.5, 0.75 y 1.00 N), temperatura (30, 45 y 60 °C) y tiempo de hidrólisis (0.5, 1.0 y 1.5 h), cada una de las cuales contó con tres niveles (Gongora, 2017, p. 120). Se utilizó un modelo de análisis basado en un diseño completamente al azar, y cada tratamiento se realizó por

triplicado utilizando una solución de 50 ml. Esta solución se mezcló en proporción 1:1 con una solución de ácido sulfúrico a tres diferentes concentraciones.

Tabla 3-1: Matriz de arreglo trifactorial 3x3x3 con el cruce de factores y niveles

Ácido	Temperatura de hidrólisis (°C)								
	T ₁			T ₂			T ₃		
	Tiempo de hidrólisis (h)			Tiempo de hidrólisis (h)			Tiempo de hidrólisis (h)		
	t ₁	t ₂	t ₃	t ₁	t ₂	t ₃	t ₁	t ₂	t ₃
C ₁	C ₁ T ₁ t ₁	C ₁ T ₁ t ₂	C ₁ T ₁ t ₃	C ₁ T ₂ t ₁	C ₁ T ₂ t ₂	C ₁ T ₂ t ₃	C ₁ T ₃ t ₁	C ₁ T ₃ t ₂	C ₁ T ₃ t ₃
C ₂	C ₂ T ₁ t ₁	C ₂ T ₁ t ₂	C ₂ T ₁ t ₃	C ₂ T ₂ t ₁	C ₂ T ₂ t ₂	C ₂ T ₂ t ₃	C ₂ T ₃ t ₁	C ₂ T ₃ t ₂	C ₂ T ₃ t ₃
C ₃	C ₃ T ₁ t ₁	C ₃ T ₁ t ₂	C ₃ T ₁ t ₃	C ₃ T ₂ t ₁	C ₃ T ₂ t ₂	C ₃ T ₂ t ₃	C ₃ T ₃ t ₁	C ₃ T ₃ t ₂	C ₃ T ₃ t ₃

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

3.6.3. Caracterización fisicoquímica de la biomasa de los cladodios de nopal

3.6.3.1. Características físicas de los cladodios

Se registraron las condiciones físicas de los cladodios, tomando en cuenta su tamaño, peso, color y la presencia de cladodios necróticos. Los cladodios necróticos fueron descartados para evitar interferencias en los análisis de caracterización, hidrólisis y fermentación. Se mantuvo un registro fotográfico y documental para llevar un control de las condiciones de los cladodios.

3.6.3.2. Pretratamiento de la muestra

Antes de realizar las pruebas de laboratorio, los cladodios debieron ser sometidos a un proceso de pretratamiento, que incluyó tanto el lavado como la desinfección. Con ello se buscó garantizar que las muestras se encontraran en las excelentes condiciones para el análisis, asegurando así la precisión y confiabilidad de los resultados.

Se lavaron los cladodios con agua corriente y jabón líquido, utilizando un cepillo suave para remover la tierra sin dañar el tejido. Después, se enjuagaron hasta remover los residuos de jabón, se dejaron secar a temperatura ambiente y se almacenaron en refrigeración. Antes de utilizarlos en cada proceso, se escogió solo la cantidad necesaria de cladodios y se retiraron cuidadosamente las espinas con un bisturí. Cuando fue necesario, se enjuagaron con agua corriente antes de desinfectar superficialmente con etanol al 70%.

3.6.3.3. *Potencial de hidrógeno (pH) y conductividad eléctrica (CE)*

Se selecciono de 1 a 2 cladodios, se formó una estructura líquida y homogénea, y se procedió a colocar en un vaso de precipitación. Si es demasiado espesa, se agrega 10 ml de agua por cada 100 gramos de muestra. Si sigue siendo demasiado espesa, se adiciona 10 ml adicionales para ajustar a una proporción de 20 ml por cada 100 gramos de muestra (NOM-F-317-S-1978, 1978). Posteriormente, se ajustó a la temperatura de 20 °C en un baño maría. Para determinar el pH y la conductividad eléctrica (CE), se utilizó un potenciómetro (Alves et al., 2020, p. 2; Do Nascimento et al., 2016, p. 217).

3.6.3.4. *Sólidos totales y contenido de humedad*

Para determinar el contenido de sólidos totales (%ST) y humedad (%H), primero se tuvo que etiquetar y tarar bandejas de aluminio (pequeñas, las que se usa para lasaña) a 105 °C por una hora, luego dejar enfriar a temperatura ambiente y tomar el peso (P_b). Luego, homogenizar bien y verter el extracto de nopal en cada bandeja, aproximadamente 16 gramos, depositar la masa líquida hasta la profundidad de 1 cm, tomar el peso (P_{Bh}) y depositar las bandejas en una estufa de convección forzada a 105 °C por 48 h para su secado.

Transcurrido ese tiempo, se verifico la consistencia de la muestra, si la muestra tiene apariencia seca dejarla enfriar a 45 °C y registrar el peso, y volver depositarla en la estufa por una hora, repetir la medición del peso y verificar si es constante. Si el peso vario, se deberá extender el secado por 2 horas más, volver a tomar el peso, y repetir el proceso cada hora hasta que la muestra tenga peso constante (P_{Bs}). El contenido de sólidos totales (%ST) y humedad (%H) se determinó mediante las siguientes ecuaciones (Alves Alencar et al., 2020, p. 2):

$$\% ST = \frac{(P_{Bs} - P_b)}{(P_{Bh} - P_b)} \times 100$$

$$\% H = 100 - \%ST$$

Donde:
 P_b = Peso de la bandeja
 P_{Bh} = Peso de la bandeja con biomasa húmeda
 P_{Bs} = Peso de la bandeja con biomasa seca

Para finalizar, es necesario triturar cuidadosamente la masa seca, en un mortero o con la ayuda de un molino. Es importante almacenar la muestra en bolsas plásticas herméticas, con las etiquetas correspondientes para garantizar su correcta identificación y almacenamiento.

3.6.3.5. Celulosa

Se utilizó el método de Kurschner & Hoffer. Se empezó por pesar 1 g de muestra y depositar en un matraz de fondo plano de 250 ml, se añadió 20 ml de etanol al 99% y 5 ml de ácido nítrico concentrado. Se ensabló el refrigerante, y se hirvió en baño María por 30 minutos, bajo condiciones de reflujo, se filtró la solución. parafrasea en tercera persona pasado: El residuo sólido se digesto nuevamente con 20 ml de etanol al 99% y 5 ml de ácido nítrico concentrado (30 minutos a reflujo). Se filtró y el residuo sólido se volvió a digerir con 100 ml de agua destilada durante 1 hora. Se filtró la solución, se lavó con agua destilada caliente, luego con 100 ml de acetato de sodio (solución saturada) y por último con 500 ml de agua destilada caliente. Se secó el residuo en una estufa a 105°C (peso constante) (Parapi y Pintado, 2022, pp. 39-40).

El porcentaje de celulosa se determinó por duplicado, mediante la ecuación.

$$\% \text{ Cel.} = \frac{PSR}{PM} \times 100$$

Donde: % Cel. = Porcentaje de celulosa
PSR = Peso seco del residuo (g)
PM = Peso de muestra libre de extractos (g)

3.6.3.6. Hemicelulosa

Esta se determina como la diferencia de pesos entre la celulosa y la holocelulosa. Para lo cual Se tomaron 2 g de muestra sin extractos y se mezclaron con clorito de sodio (1 g), ácido acético glacial (0,2 ml) y agua destilada (160 ml) en un Erlenmeyer de 500 ml. La solución se mantuvo caliente en baño maría (80 °C) durante tres horas, añadiendo más clorito de sodio y ácido acético glacial cada hora, hasta que la muestra se volvió blanca. Después se enfrió la solución en un baño de hielo, se filtró y se lavó el residuo con agua destilada fría. El residuo se secó en una estufa a 105 °C durante 8 horas y se determinó la holocelulosa por duplicado, mediante la ecuación (Parapi y Pintado, 2022, pp. 39-40).

$$\% \text{ Hol.} = \frac{PSR}{PM} \times 100$$

Donde: % Hol. = Porcentaje de celulosa
PSR = Peso seco del residuo (g)
PM = Peso de muestra libre de extractos (g)

$$\% \text{ Hem.} = \% \text{ Hol.} - \% \text{ Cel.}$$

Donde: % Hem. = Porcentaje de hemicelulosa
% Hol. = Porcentaje de holocelulosa
% Cel. = Porcentaje de celulosa

3.6.3.7. Contenido de cenizas

Para esta etapa utilizaron crisoles de porcelana de 5 ml, lavando y luego secando a 105 °C por 30 minutos, etiquetarlos y registrar su peso (P_V). Para preparar la muestra se transfirió una pequeña porción de la muestra seca a una canastilla de papel aluminio, extenderla y tomar 2 gramos de muestra, aplicando la técnica de cuarteo. Proceder a colocar el crisol con la muestra en una estufa a 105 °C por 24 h, dejar que enfríe a temperatura ambiente en un desecador de vacío con silica gel, y tomar el peso (P_{Bs}). Finalmente, se debe incinerar la muestra en una mufla a 600 °C por 4 horas, y transferir los crisoles al desecador de vacío, hasta que se alcance temperatura ambiente para medir el peso de las cenizas (P_C), el peso de las cenizas se calcula por medio de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_C - P_V}{P_{Bs} - P_V} \times 100$$

Donde: P_V = Peso del crisol vacío.
 P_{Bs} = Peso del crisol con la biomasa seca
 P_C = Peso del crisol con las cenizas

3.6.3.8. Sólidos solubles totales

En la industria alimentaria, es común determinar la concentración de sólidos solubles totales para cuantificar la cantidad de azúcares disueltos en una muestra líquida. Para ello, se filtraron aproximadamente 10 ml de muestra utilizando la técnica de filtrado al vacío y se midió la concentración con un refractómetro o brixómetro, lo que proporcionó una lectura en °Brix. Antes de medir la muestra, se mezcló bien para asegurarse de que la concentración de sólidos fuera uniforme y se realizó la lectura en triplicado para obtener una media más precisa. Es importante

destacar que la temperatura de la muestra puede afectar la medición, por lo que se debe controlar la temperatura para obtener resultados precisos y reproducibles (INEN, 1998, p. 1-9).

3.6.3.9. Almidón

El proceso para obtener almidón de nopal (*Opuntia ficus*) puede variar ligeramente según el método utilizado, pero en general se realiza una trituración molienda del nopal para obtener una pulpa uniforme. La pulpa se lava varias veces con agua para eliminar el exceso de mucílago y otras impurezas. Una vez realizado esto se deja reposar para que las partículas más finas se sedimenten y separen del líquido, la pulpa sedimentada se deja secar por el sol o a temperatura baja en un horno. Se procede a moler y a tamizar nuestro almidón para obtener las partículas más finas para sus respectivos análisis.

$$\% \text{ Almidón} = (W_a / W_n) \times 100$$

Donde: W_a = peso del almidón
 W_n = peso de la muestra de nopal

3.6.3.10. *Contenido de amilosa y amilopectina*

Para producir biocombustibles a partir de la biomasa de nopal, es necesario conocer la estructura química del almidón presente en la materia prima. El almidón contiene amilosa, una molécula lineal de glucosa que se encuentra en una proporción del 20% al 30%, y amilopectina, una molécula ramificada de glucosa presente en una proporción del 70% al 80%. La proporción de amilosa y amilopectina es un parámetro crítico en la producción de biocombustibles a partir de la biomasa de nopal, ya que puede afectar la eficiencia de la hidrólisis ácida y la posterior producción de biocombustibles. Por lo tanto, es importante determinar la proporción de amilosa y amilopectina en el almidón para optimizar la producción de biocombustibles a partir de la biomasa de nopal (Hassan et al., 2013, p. 17).

Se procedió a la pesa de 0,1 g del almidón obtenido del nopal y se disolvió en una solución compuesta por 1 ml de etanol al 97% y 9 ml de NaOH 1 M. La muestra fue sometida a calentamiento durante 10 minutos hasta lograr su gelatinización. Para obtener una solución uniforme, se completó el volumen a 100 ml con agua destilada. Luego, se tomó una alícuota de 5 ml de la solución y se le agregó 1 ml de ácido acético 1 M y 2 ml de solución de yodo.

La solución fue aforada a 100 ml con agua destilada y se midió la absorbancia a 620 nm en el espectrofotómetro con el fin de determinar la cantidad de amilosa presente en la solución. El contenido de amilopectina se obtiene restando la masa de amilosa de la masa total de almidón (Hassan et al., 2013, p. 17).

$$\% \text{ Amilosa} = 3,06 * \text{abs} * 20$$

$$\% \text{ amilopectina} = 100 - \% \text{amilosa}$$

3.6.4. Obtención del hidrolizado a partir de los cladodios de nopal

En la etapa de hidrólisis, se empleó aproximadamente un kilogramo de nopal, lo que correspondió a tres cladodios. Estos se procesaron de la misma manera que en la extracción de zumo para la determinación del pH y la conductividad eléctrica, utilizando una licuadora, hasta obtener una muestra líquida homogénea. Se obtuvieron aproximadamente dos litros de triturado, el cual fue empleado para evaluar los diferentes tratamientos de hidrólisis ácida, como se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 3-2: Procedimiento para la hidrólisis ácida

Parámetro	Materiales	Reactivos	Procedimiento	Cálculo
Hidrólisis ácida	<ul style="list-style-type: none"> • Vaso de precipitación • Cuchillo • Licuadora • Calentador • Agitador • Termómetro • Pipeta • Refractómetro 	<ul style="list-style-type: none"> • H₂SO₄ 	<p>Picar y licuar 3 cladodios.</p> <p>Colocar 25 mL del licuado en un vaso de precipitación.</p> <p>Colocar en la muestra 25 mL del ácido sulfúrico (0,5-0,75-1) N</p> <p>Colocar en un calentador a la temperatura deseada para cada tratamiento (30-45-60) °C.</p> <p>Colocar un agitador hasta homogeneizar la muestra.</p> <p>Controlar los °Brix con un refractómetro.</p>	Lectura directa

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

3.6.4.1. Caracterización del hidrolizado obtenido a partir de los cladodios de Nopal

La caracterización del hidrolizado obtenido a partir de los cladodios de nopal se realizó al tratamiento que presenta mayor grados Brix, donde se determinó lo siguiente:

- Perfil de azúcares (Glucosa, Manosa, Xilosa y Galactosa) del hidrolizado

El método AOAC Official Method 977.20 es un método para la separación y cuantificación de azúcares en la miel utilizando cromatografía líquida. Este método es ampliamente utilizado para determinar el perfil de azucares en la industria alimentaria, porque se puede emplear para la determinación de azucares en sumos, jarabes e hidrolizados, como en el presente estudio. La técnica se basa en la separación de los azúcares mediante cromatografía líquida de alta resolución, para su cuantificación por espectrofotometría de absorción (AOAC, 2006, p. 5).

Se empezó por mezclar la muestra con agua y homogenizar la solución, se procede a la extracción líquido-líquido con una solución de acetato de etilo para separar los azúcares de la muestra. Se purifica la solución de acetato de etilo mediante cromatografía líquida, separando los diferentes azúcares según su tiempo de retención. Se identifica y cuantifica los azúcares mediante un detector de índice de refracción o de absorbancia ultravioleta. Para verificar la sensibilidad se realizan ensayos de recuperación y reproducibilidad con muestras de control. El contenido de azúcares en la muestra se expresa en porcentaje (Mellado y López, 2013, pp. 1-9).

- pH y conductividad eléctrica

Se tomo en 3 vasos de precipitación una muestra de 50 mL, mismas que fueron sometidas a un ajuste de temperatura 20 °C en un baño maría. Al realizar esto se prosiguió a determinar el pH con la ayuda de un peachimetro y la conductividad eléctrica (CE) se midió con un conductimetro (Alves et al., 2020, p. 2; Do Nascimento et al., 2016, p. 217).

- Sólidos solubles totales

Se midió la concentración con un refractómetro o brixómetro, lo que permite tener una lectura en °Brix que se encuentran en la muestra hidrolizada. Para medir la muestra se procedió a mezclar bien para asegurarnos de que la concentración de los sólidos sea uniforme. Este procedimiento se realizó por una lectura en triplicado para obtener una media más precisa. La temperatura es uno de los factores importantes que se debe tener en cuenta para no afectar la medición de la muestra y así obtener resultados precisos.

3.6.4.2. Cuantificación de azúcares totales

Se cuantificaron los azúcares totales mediante el método de Fenol-Sulfúrico modificado. Para ello, se preparó la muestra de reacción en tubos de 10 mL, a los que se agregó 1 mL de hidrolizado previamente diluido, 600 µL de Fenol al 5% y 3.6 mL de ácido sulfúrico. Posteriormente, se agitaron los tubos con un Vortex para homogeneizar las muestras y se dejaron reposar durante 30 minutos. Luego, se analizaron las muestras en un espectrofotómetro midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 490 nm. Antes de la prueba, se realizó una curva patrón como referencia para la cuantificación de los azúcares reductores (Jiménez Islas et al., 2012, p. 102).

3.6.4.3. Análisis estadístico

Los resultados analíticos y experimentales de las propiedades fisicoquímicas de la biomasa y del rendimiento de hidrólisis fueron analizados con estadística descriptiva e inferencial, respectivamente. La estadística descriptiva se utilizó para evaluar las tendencias y la homogeneidad de las características fisicoquímicas del nopal. Los datos de los tratamientos fueron sometidos a un análisis de varianza y pruebas post hoc, mediante los softwares Excel y IBM SPSS V25, para determinar cuáles tratamientos presentaban diferencias estadísticamente significativas, y cuales producían un mayor rendimiento de azúcares totales. Se seleccionó el mejor tratamiento para establecer las condiciones óptimas de hidrólisis ácida de la biomasa de nopal. Estas condiciones fueron utilizadas para obtener el hidrolizado de nopal necesario para la etapa de fermentación alcohólica.

3.6.5. Obtención del bioetanol producido a partir del hidrolizado de nopal

Una vez identificado el tratamiento que produjo una mayor cantidad de sólidos solubles totales, se establecieron dichas condiciones para hidrolizar la biomasa que sería empleada en la fermentación alcohólica, para la producción de bioetanol.

3.6.5.1. Fermentación

El proceso consistió en la obtención de dos litros de 2000 mL de hidrolizado que presente el mejor tratamiento donde se añade 3 gramos de levadura activada en una botella y se selló herméticamente, con un corcho perforado conectado a una vía para la eliminación del CO₂, que se dejó sumergida en una botella de agua. La botella se dejó fermentar en un lugar oscuro a temperatura ambiente, entre 20 y 23 °C, durante 10 días.

3.6.5.2. Destilación y evaluación de calidad del bioetanol

Una vez que el proceso de fermentación finalizo, el hidrolizado de nopal fermentado se sometió a un proceso de destilación para poder obtener una muestra de mayor concentración y pureza, que se utilizó para evaluar las propiedades fisicoquímicas del bioetanol producido a partir de la biomasa del nopal, verificando su calidad según como se establece en la norma técnica NTE INEN 2478:2009.

Se realizo una destilación simple con equipo de destilación compuesto por un matraz redondo, un manto caloror, un condensador, una refrigeración para el condensador, una bureta graduada de 100 ml y un soporte universal. Con el fin de optimizar el tiempo de destilación, se realizó un precalentamiento de los 2 litros fermentado en autoclave a 78 °C, luego se colocó la muestra fermentada en el balón, se conectó a un condensador, se procedió a calentar la muestra hasta 80-85 °C, temperatura adecuada para la evaporación del etanol. El destilado se recogió en frascos receptores, y se usó para evaluación de la calidad del etanol. Finalmente, se registraron los resultados, incluyendo el volumen, la concentración y calidad del destilado.

A continuación, se presenta los parámetros del etanol anhidro grado carburante que se establecen de acuerdo con la norma técnica INEN 2478:2009

Tabla 3-3: Parámetros del etanol anhidro grado carburante (NTE INEN 2478:2009)

Requisitos	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Contenido de etanol	%	99.6	-	NTE INEN 340
Acidez total	mg/100ml	-	3.0	NTE INEN 341
Conductividad eléctrica	µs/m	-	500	ASTM D 1125
Densidad (20 °C)	kg/m ³	-	791.5	ASTM D 4052
Contenido de cloruros	mg/l	-	32	ASTM D 512
Contenido de agua	%	-	0.3	ASTM D 203
Contenido de cobre	mg/kg	-	0.1	ASTM D 1688
Residuo por evaporación	mg/100ml	-	5.0	ASTM D 381

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Caracterización fisicoquímica de la biomasa de los cladodios de nopal

4.1.1. Morfología y estado físico de los cladodios

La biomasa de nopal empleada en la presente investigación consistió en 10 cladodios procedentes de los cultivos de tuna de la estación experimental Tunshi, perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Los cladodios de nopal fueron seleccionados a partir de cultivos de entre 6 a 12 meses de edad, y fueron transportados a los laboratorios de la ESPOCH, campus Morona Santiago, donde se evaluó las características y condiciones físicas de la muestra.

Tabla 4-1: Caracterización de cladodios de nopal: medidas, color y viabilidad

Numero de muestra	Dimensiones (cm)			Peso (g)	Coloración	Calidad fisiológica
	Largo	Ancho	Grosor			
Cladodio 1	36	14	1.3	867,062	Verde	Necrótico
Cladodio 2	35	14.5	1.4	1014,678	Verde	Sano
Cladodio 3	32	14.5	1.25	897,14	Verde	Necrótico
Cladodio 4	38	14	1.28	1082,587	Verde	Sano
Cladodio 5	32	13.5	1.4	834,106	Verde	Sano
Cladodio 6	31	13.9	1.15	742,14	Verde	Sano
Cladodio 7	34	15	1.6	1029,841	Verde	Sano
Cladodio 8	34	14	1.08	824,15	Verde	Sano
Cladodio 9	29	12.5	0.98	899,566	Verde	Sano
Cladodio 10	31	14	1.5	833,24	Verde	Sano
$\bar{x} \pm \sigma$	33.20 ± 2.70	13.99 ± 0.67	1.29 ± 0.19	902.451 ± 107.421	-	-

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

Todos los cladodios presentaron características homogéneas, a manera general presentaron dimensiones promedio de 33.2 centímetros de largo, 14 cm de ancho y 1.3 cm de grosor, se registró un peso promedio de 902.4 gramos, esta variable permitió observar una diferencia más marcada entre los cladodios, debido a que se registró un peso mínimo y máximo de 742.1 y 1082.6 gramos, respectivamente. Esta diferencia puede estar relacionada a la edad del cultivo, o incluso la parte de la planta de donde se extrajo el cladodio. En relación con la coloración y al estado

fisiológico después del transporte, se observó que todos los cladodios presentaron una coloración uniforme de tono verde. Sin embargo, los cladodios uno y tres presentaron puntos de necrosis propios del campo, lo que indica que estos no estuvieron relacionados con el transporte.

Este resultado sugiere que el material se transportó adecuadamente y no sufrió daños significativos. El trabajo de laboratorio incluyó varias etapas de procesamiento de la muestra, por lo tanto, con el objetivo conservar la muestra en buenas condiciones para todo el análisis, se debió realizar un pretratamiento de lavado y desinfección superficial, con el propósito de eliminar impurezas, suelo y espinas que pudieran provocar la descomposición del material.

Las dimensiones de los nopales empleados presentaron valores comparables a lo reportado por Gongora (2017, p. 34), que trabajo con cladodios de largo, ancho y grosor promedio de 32.4, 15.84 y 1.35 cm, respectivamente. Sin embargo, al tratarse de cladodios jóvenes presentaron un peso promedio de 399.15 gramos, menos de la mitad del peso promedio de 902.4 gramos del presente estudio. Por otro lado, Barazarte et al. (2017, p. 181) realizó la caracterización fisicoquímica de la biomasa de nopal en tres periodos de tiempo; de 1 a 4, de 5 a 8 y de 9 a 12 meses de cultivo. Donde se puede observar que los cladodios del segundo y tercer grupo de edad presentaron un largo, ancho y grosos entre 33.08 a 40.04, 19.89 a 22.95 y 0.9 a 1.55 cm, al igual que un peso entre 674.75 a 1298.25 gramos, como corresponde. Es decir que los cladodios cumplen con las dimensiones esperadas para el nopal *Opuntia ficus-indica*.

Las dimensiones y las propiedades fisicoquímicas de la biomasa de nopal son bastante variables y dependen de varios factores, tales como la variedad del nopal, la geografía de cada lugar y los factores climáticos de cada zona, entre otros. Por lo tanto, algunos autores han reportado valores menores en la biomasa de los cladodios, con una longitud 15 a 25 cm de longitud y un peso de 125,35 y 163,04 g, o incluso de 21,66 y 23,86 cm, un ancho de 11,44 y 12,36 cm, y un peso de 50 a 80 g por tallo (Maki-Díaz et al., 2015, p. 31-51; Hernández-Becerra et al., 2022, p. 3).

4.1.2. Propiedades fisicoquímicas de la biomasa

La caracterización de la biomasa de nopal indicó que esta presenta una acidez moderada con un pH de 4.55, un bajo contenido de sales, cuya conductividad media fue de 2.76 mS/cm. Por otro lado, la biomasa registró un alto contenido de agua con 92.1% del peso total, mientras que los sólidos totales obtenidos fueron bajos, con un valor de 7.9%.

Tabla 4-2: Características físicoquímicas de la biomasa de nopal

Parámetro	Valor	Unidad
pH	4,55 ± 0.06	Escala logarítmica de 0 a 14
Conductividad eléctrica	2,76 ± 0.21	μS/cm
Humedad	92.1 ± 0.12	%
Sólidos totales	7.9 ± 0.12	%
Contenido de cenizas	9.62 ± 0.66	%
Celulosa	17.5 ± 0.08	%
Hemicelulosa	79.8 ± 0.12	%
Almidón	12.2 ± 0.15	%
Amilosa	0.49 ^a	%
Amilopectina	48.96 ^a	%
Sólidos solubles totales	2.03 ± 0.06	°Brix

^a= el mismo valor en las 3 replicas

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

En cuanto a la composición química, se realizaron mediciones adicionales para determinar la presencia de cenizas en la muestra. Se encontró que la muestra tenía un contenido de cenizas de 9.62%, lo que corresponde a la fracción mineral de la biomasa. Por otro lado, presento un contenido de celulosa de 17,5% de los cuales 79.8% correspondieron puntualmente a hemicelulosa. También se cuantifico el contenido de almidón, corroborando que la biomasa de nopal tiene una baja cantidad de 12,2 % almidón. A pesar de ello, se midió la amilosa (0.49%), y amilopectina (48.96%). En la cuantificación de sólidos totales se obtuvo un valor de 2.03 °Brix, lo que indica la presencia de azúcares simples junto con otros solutos, como ácidos orgánicos, vitaminas y minerales. Esto indica que el extracto de nopal tiene una baja concentración de azúcares libres; no obstante, la metodología centra su interés en la fracción celulósica (polisacáridos hidrolizables), que al ser hidrolizada libera una gran cantidad de azúcares, sustrato indispensable para la producción de bioetanol.

Al comparar estos resultados con los datos del estudio de Gongora (2017, p. 39), se observa en ambos casos un pH ácido, aunque el valor obtenido en este estudio es ligeramente menor (4.55 vs 4.81). En cuanto a la humedad, para este estudio es un poco más baja (92.1% vs 95%), y el contenido de cenizas es significativamente menor (9.62% vs 22.08%), lo que sugiere que la biomasa tiene una menor cantidad de sales minerales.

Por otro lado, al comparar los resultados con los datos de Barazarte et al. (2017, p. 183), se puede apreciar que los valores de pH y humedad son similares, aunque los sólidos solubles totales son significativamente menores en este estudio (2.03 vs 4.98-5.09 °Brix), lo que sugiere un menor

contenido de azúcares solubles. Además, la cantidad de cenizas es mayor que en el estudio de Barazarte (9.62% vs 1.49-1.51%), lo que indicaría mayor presencia de sales en esta muestra.

Finalmente, al comparar los resultados con los obtenidos en el estudio de Do Nascimento Santos et al. (2016, p. 218), se observa que el valor de pH es de $4,66\pm 0.25$ y conductividad eléctrica a $2,78\pm 0.36$ valores similares en ambos estudios, mientras que la humedad es de $91,2\pm 1.3$ y la cantidad de cenizas es de $7,8\pm 2.1$, siendo un poco más bajas. Sin embargo, los resultados de Santos muestran un rango de valores más amplio que los obtenidos en este estudio, lo que podría estar relacionado con las diferencias metodológicas, la variabilidad de la biomasa o los métodos de análisis utilizados.

El contenido de celulosa de la muestra correspondió a 226.6 gramos en peso seco, de los cuales el 79,8% correspondió a hemicelulosa, en porcentaje total de celulosa fue de alrededor del 17.5%. Valor que esta dentro del rango reportado por Texco-López et al. (2019, p. 4) que se encontraba entre 13.1 y 23.1%. De acuerdo con Alves Alencar et al. (2020, p. 5) el género *Opuntia* puede contener hasta 48% de celulosa, aunque se reporta que las especies *Opuntia cochenillifera* y *Opuntia stricta* contienen aproximadamente de 25 a 28% de celulosa. Además de la determinación de las propiedades fisicoquímicas de la biomasa de nopal, se evaluó el contenido de almidón 12,2%, donde los valores de amilosa y amilopectina son 0.49% y 48.96%, respectivamente. Sin embargo, a pesar de la baja concentración de estos componentes, la biomasa de nopal aún presenta un alto potencial para la producción de bioetanol. Según García-Cruz et al. (2014, p. 5), la biomasa de nopal contiene aproximadamente el 50% de su masa seca en celulosa y hemicelulosa, lo que sugiere un alto potencial para la producción de bioetanol a partir de la hidrólisis de estas moléculas. Por otro lado, López-Cortés et al. (2019, pp. 1-9) encontraron que el contenido de azúcares fermentables en la biomasa de nopal es de aproximadamente el 70%, lo que indica un alto potencial para la producción de bioetanol.

En general, se puede concluir que la biomasa de los cladodios de nopal presenta una variabilidad en sus propiedades fisicoquímicas, dependiendo de factores como la variedad del nopal, la ubicación geográfica y los factores climáticos. Los resultados obtenidos son consistentes con los hallazgos de otros autores, y muestran que la biomasa de nopal tiene un pH ácido, un alto contenido de agua y contenido moderado de cenizas, aunque con un bajo contenido de sólidos solubles totales.

4.2. Obtención del hidrolizado a partir de los cladodios de nopal

La hidrólisis de la biomasa es un paso crucial en la producción de bioetanol de segunda generación, ya que permite la liberación de azúcares simples a partir de los polisacáridos de reserva presentes en el nopal, tales como la pectina, mucílago, celulosa, hemicelulosa y una pequeña cantidad de almidón. Para lograr esto, se han diseñado una serie de tratamientos que implican la manipulación de tres variables: la temperatura de hidrólisis, el tiempo de hidrólisis y la concentración de ácido sulfúrico. Con el fin de determinar las condiciones óptimas de hidrólisis, se establecieron tres niveles para cada variable, de acuerdo con la bibliografía. Dicho de otra manera, se pretendía identificar las condiciones óptimas para la hidrólisis a través de la evaluación del efecto de cada variable y sus posibles interacciones sobre el rendimiento de azúcares totales. Una vez que se llevaron a cabo los tratamientos para la hidrólisis de la biomasa, se recogieron los resultados en una matriz, la cual contenía los valores de sólidos totales obtenidos a partir de cada uno de los 27 tratamientos realizados con 3 repeticiones. Luego, se cuantificó la concentración de azúcares totales en los tratamientos con mayor cantidad de sólidos totales. La información de la siguiente matriz se utilizó para realizar un análisis estadístico detallado con el paquete estadístico IBM SPSS V25. De esta manera, se pudo evaluar la eficacia de cada uno de los tratamientos según las diferencias significativas encontradas entre ellos, como se muestra en la tabla 4-3.

Tabla 4-3: Azúcares totales determinados por el método del fenol-sulfúrico modificado

Ácido (H ₂ SO ₄)	Temperatura de hidrólisis (°C)									Unidad
	30 °C			45 °C			60 °C			
	Tiempo de hidrólisis (h)			Tiempo de hidrólisis (h)			Tiempo de hidrólisis (h)			
	0.5 h	1.0 h	1.5 h	0.5 h	1.0 h	1.5 h	0.5 h	1.0 h	1.5 h	
0.5 N	2.5	2.7	2.7	2.9	3.0	3.1	3.2	3.5	3.7	°Brix
	2.6	2.7	2.8	2.8	2.9	3.1	3.1	3.5	3.6	
	2.6	2.6	2.8	2.7	3.0	3.0	3.2	3.4	3.7	
0.75 N	3.0	3.0	3.0	3.1	3.2	3.2	3.4	3.8	4.1	°Brix
	2.9	3.0	3.1	3.1	3.1	3.2	3.5	3.8	4.1	
	3.0	3.0	3.1	3.1	3.2	3.2	3.3	3.8	4.0	
1.00 N	3.7	3.9	4.0	4.2	4.7	5.0	7.0	8.8	12.0	°Brix
	3.5	4.0	4.0	4.1	4.5	4.9	7.0	9.0	12.0	
	3.9	4.1	4.0	4.2	4.9	5.1	7.0	9.2	12.0	

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

Tabla 4-4: Análisis de la varianza trifactorial de la hidrólisis ácida del nopal

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Temperatura	83.175	2	41.588	5522.279	.000
Tiempo	10.580	2	5.290	702.410	.000
H2SO4	141.344	2	70.672	9384.311	.000
Temperatura * Tiempo	9.463	4	2.366	314.131	.000
Temperatura * H2SO4	79.054	4	19.763	2624.328	.000
Tiempo * H2SO4	9.116	4	2.279	302.623	.000
Temperatura * Tiempo * H2SO4	11.346	8	1.418	188.328	.000
Error	.407	54	.008		
Total	1700.360	81			
a. R al cuadrado = .999 (R al cuadrado ajustada = .998)					
b. Se ha calculado utilizando Alpha = ,05					

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

El análisis de varianza trifactorial 3x3x3 tabla 4-4, reveló que la interacción entre temperatura, tiempo y concentración del ácido en la hidrólisis del nopal tuvo un efecto significativo en la producción de hidrolizado de nopal, con un valor $F_{(8,54)} = 188.328$ y un valor $p < 0.001$. A pesar de que se encontraron efectos estadísticamente significativos en las demás interacciones, eh incluso para variables independientes, se dio prioridad a la interacción global de los tres factores, pues así se tiene en cuenta el efecto global de la hidrólisis de nopal.

Después de analizar los resultados del ANOVA, se observó una diferencia estadísticamente significativa entre al menos dos de los tratamientos de hidrólisis. Para identificar las diferencias entre los grupos, se llevó a cabo la prueba de diferencia honestamente significativa de Tukey, la cual reagrupó los 27 tratamientos en 16 grupos distintos. Se pudo observar que a medida que aumentaban los valores de temperatura, tiempo de hidrólisis y concentración de ácido, se obtenía un mayor grado de hidrólisis, lo que resultó en un rendimiento máximo de 12 grados brix, con un pH de 0.41 y conductividad de 0.26. Rendimiento obtenido a 60 °C, durante 1.5 hora a una concentración de ácido 1 normal.

En la siguiente tabla 4-5, presenta los valores y las diferencias estadísticas de todos los tratamientos. Hallazgos que coinciden con otros estudios sobre la efectividad de la hidrólisis ácida para la producción de bioetanol a partir de diferentes tipos de biomasa (Zhang et al., 2021, p. 52; Hu et al., 2020, p. 3). Está claro que a medida que aumentaban los valores de temperatura, tiempo y concentración de ácido, la catálisis es mayor, siendo consistente con otros estudios de hidrólisis de diferentes tipos de biomasa (Wang et al., 2019, pp. 1-11; Chen et al., 2021, p. 6).

El tratamiento C3T3t3 obtuvo el rendimiento máximo de 12 grados brix. Aunque los valores pueden variar según las propiedades de la biomasa del nopal y las condiciones de hidrólisis utilizadas, estos resultados sugieren que la biomasa de nopal es viable para la obtención de azúcares fermentables.

Tabla 4-5: Medias \pm desviación estándar del contenido de azúcares totales bajo el efecto de 27 tratamientos de hidrólisis ácida

N° Grupo	Tratamientos	Media \pm D.E.	N° Grupo	Tratamientos	Media \pm D.E.
1	30°C:0.5h:0.5N	2.57 \pm 0.06 a	15	60°C:1h:0.5N	3.47 \pm 0.06 fgh
2	30°C:1h:0.5N	2.67 \pm 0.06 a	16	60°C:1.5h:0.5N	3.67 \pm 0.06 ghi
3	30°C:1.5h:0.5N	2.77 \pm 0.06 ab	17	30°C:0.5h:1N	3.70 \pm 0.20 hi
4	45°C:0.5h:0.5N	2.80 \pm 0.10 abc	18	60°C:1h:0.75N	3.80 \pm 0.00 ij
5	30°C:0.5h:0.75N	2.97 \pm 0.06 bcd	19	30°C:1h:1N	4.00 \pm 0.10 jk
6	45°C:1h:0.5N	2.97 \pm 0.06 bcd	20	30°C:1.5h:1N	4.00 \pm 0.00 jk
7	30°C:1h:0.75N	3.00 \pm 0.00 bcd	21	60°C:1.5h:0.75N	4.07 \pm 0.06 jk
8	30°C:1.5h:0.75N	3.07 \pm 0.06 cd	22	45°C:0.5h:1N	4.17 \pm 0.06 k
9	45°C:1.5h:0.5N	3.07 \pm 0.06 cd	23	45°C:1h:1N	4.70 \pm 0.20 l
10	45°C:0.5h:0.75N	3.10 \pm 0.00 d	24	45°C:1.5h:1N	5.00 \pm 0.10 m
11	45°C:1h:0.75N	3.17 \pm 0.06 de	25	60°C:0.5h:1N	7.00 \pm 0.00 n
12	60°C:0.5h:0.5N	3.17 \pm 0.06 de	26	60°C:1h:1N	9.00 \pm 0.20 o
13	45°C:1.5h:0.75N	3.20 \pm 0.00 def	27	60°C:1.5h:1N	12.00 \pm 0.00 p
14	60°C:0.5h:0.75N	3.40 \pm 0.10 efg	-	-	-

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

Por otro lado, los resultados de hidrólisis de papa china de Acán indican que los valores de sólidos totales para la sacarificación de la papa china estuvieron en el rango de 11.33 a 16.03, ligeramente superior a la concentración de sólidos totales solubles de la biomasa de nopal. Sin embargo, es importante destacar que estos valores pueden ser influenciados por factores de cada material, por ejemplo, la papa china a diferencia de materiales celulósicos posee un alto contenido de almidón que puede hidrolizarse fácilmente en azúcares simples (Acán, 2020, pp. 28-30).

Se realizó la cuantificación de azúcares totales, para un subgrupo de tratamientos, con el fin de identificar si tenían consistencia con los valores reportados para sólidos totales. El valor más alto fue de 12.28M, y en efecto correspondió al tratamiento de hidrólisis de 1.5 horas, a una concentración de ácido sulfúrico 1 normal, a 60 °C (8.44M a una concentración de ácido 0.75N, y 8.19M a 0.5N). Luego con una hidrólisis de 1 hora, a 45 °C, 1N se obtuvo una concentración

de 11.80M (8.38M a una concentración de ácido 0.75N, y 5.17M a 0.5N). Por último, una hidrólisis de 30 minutos, a 30 °C, 1N arrojó una concentración de 11.04M (10.63M a una concentración de ácido 0.75N, y 10.40M a 0.5N).

La concentración máxima de azúcares totales fue de 12.28 molar, obtenida bajo condiciones límite de hidrólisis es relativamente bajo, en comparación con los valores de 24.25 a 35.2 reportados por Do Nascimento Santos et al. (2016, p. 220), por lo cual, sería adecuado incrementar los valores superiores de hidrólisis para las tres variables dependientes.

4.3. Caracterización del perfil de azúcares fermentables

La cuantificación de grados Brix, o la concentración de azúcares totales son buenos indicadores del contenido de carbohidratos solubles, que pueden utilizarse como sustrato para la fermentación. No obstante, la levadura tiene afinidad metabólica específica con los azúcares reductores, por lo tanto, es importante determinar el perfil de azúcares de la muestra.

La determinación del tipo de azúcar de una muestra se determina por métodos cromatográficos, que permiten aislar, identificar y cuantificar los diferentes tipos de azúcares contenidos en una muestra. Como parte del análisis se incluyeron 4 tipos de azúcar: Glucosa con 0.20%, manosa, xilosa y galactosa con < 0.08% cada una. Si se compara con los valores reportados por Do Nascimento Santos et al. (2016, p. 218) de 25.4% de glucosa, 0.2% de manosa, 2.8% de xilosa y 6.8% de galactosa, se observa que existe una baja concentración de azúcares reductores, por lo que nuevamente, se anima a extender las condiciones de hidrólisis.

Tabla 4-6: Perfil de los azúcares del hidrolizado de nopal

	Unidad	Método	Resultado
Glucosa	%	PEE/LA/09 AOAC 977.20	0,20
Manosa	%	PEE/LA/09 AOAC 977.20	<0,08
Xilosa	%	PEE/LA/09 AOAC 977.20	<0,08
Galactosa	%	PEE/LA/09 AOAC 977.20	<0,08

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

4.4. Evaluación de calidad del Bioetanol del hidrolizado de los cladodios del nopal

Se utilizó el tratamiento C3T3t3 con 1084,585 g de los cladodios de nopal para obtener etanol. En el proceso de hidrólisis, se utilizó una relación de 1:1 entre la cantidad de los cladodios y el ácido sulfúrico. Luego se neutralizó el hidrolizado con NaOH hasta alcanzar un pH de 4,88, para

que el proceso de fermentación fuera efectivo. Finalmente, se produjeron 230 g de etanol al 8% a partir de los cladodios de nopal mediante destilación del mosto. El proceso se detalla en la ilustración 4-1.

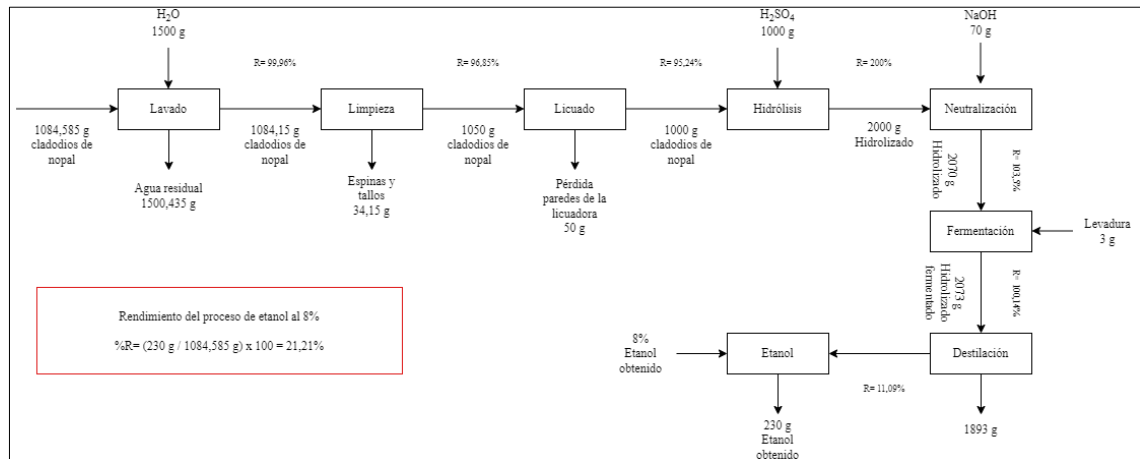


Ilustración 4-1: Rendimiento del proceso de etanol

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

Los resultados de la evaluación de calidad del bioetanol de nopal producido mediante hidrólisis ácida mostraron que el porcentaje de etanol obtenido es del 8%. Además, se obtuvo una acidez de 1,2, una conductividad eléctrica de 102,6, una densidad de 25,1 y residuos por evaporación de 0,402. Estos valores difieren significativamente de los límites permisibles establecidos por la norma técnica NTE INEN 2478 para el etanol anhidro, que establece un mínimo del 99,6% de etanol, una acidez mínima de 3,0, una conductividad eléctrica máxima de 500, una densidad máxima de 791,5 y residuos de fermentación de 5,0 mg/100 ml.

Es fundamental resaltar que los resultados obtenidos en esta evaluación muestran un bajo rendimiento y un pH muy bajo en comparación con los obtenidos a partir de otras fuentes de biomasa, como la caña de azúcar o el maíz. Estos resultados pueden ser un obstáculo importante para la escalabilidad y aceptación del producto, ya que los consumidores prefieren productos que cumplan con los estándares establecidos. En este sentido, se hace necesario considerar estrategias para optimizar el rendimiento y la calidad del bioetanol. Algunas posibles estrategias podrían incluir ajustar las condiciones del proceso de producción o combinar diferentes materias primas. Esto permitiría mejorar la calidad del bioetanol y, por tanto, aumentar su potencial de mercado.

Un estudio llevado a cabo por Ruiz et al. (2014, p. 9) encontró que la concentración de etanol producido a partir de la hidrólisis ácida de la caña de azúcar fue del 14.1%, mientras que otro estudio realizado por Alcantara et al. (2019, p. 24) encontró que la concentración de etanol producido a partir de la hidrólisis enzimática del maíz fue del 13.5%. En cuanto a la acidez del

bioetanol producido, es importante tener en cuenta que los valores de acidez pueden variar según la biomasa utilizada, el cultivo, la cosecha e incluso el proceso de producción empleado. Un estudio realizado por García et al. (2019, p. 51) encontró que la acidez del bioetanol producido a partir de la hidrólisis ácida del bagazo de caña de azúcar fue de 1.5, mientras que otro estudio llevado a cabo por Li et al. (2019, p. 92) encontró que la acidez del bioetanol producido a partir de la hidrólisis enzimática del maíz fue de 0.5.

En cuanto a la densidad y conductividad eléctrica. Un estudio realizado por Zhang et al. (2020, pp.1-11) encontró que la densidad del bioetanol producido a partir de la hidrólisis ácida del almidón de maíz fue de 28.6, mientras que otro estudio llevado a cabo por Khambhaty et al. (2019, p. 21) encontró que la conductividad eléctrica del bioetanol producido a partir de la hidrólisis enzimática de la caña de azúcar fue de 85.

Tabla 4-7: Propiedades del etanol 2G de nopal

Porcentaje de etanol	8 %
Acidez total	1.2 mg/100mL
Conductividad eléctrica	102.6 μ S/m
Densidad a 20 °C	25.01 kg/m ³
Residuo por evaporación	0.402 mg/100mL

Realizado por: Guaraca Vallejo, Nathali, 2023.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{230_g}{1084,585_g} \times 100 = 21,21\% \text{ ó } 17,29 \text{ L/Tn}$$

En este estudio, se obtuvo un rendimiento de etanol a partir del nopal de 17,29 L/Tn. Sin embargo, al comparar estos resultados con otros estudios realizados por Acán, se observa que el sorgo dulce presenta un rendimiento de 76,7 L/Tn, mientras que la yuca cuenta con un rendimiento de 180 L/Tn. Estos hallazgos indican que nuestro rendimiento es bajo en comparación con dichos resultados.

Es importante tener en cuenta que el proceso aplicado para la obtención del bioetanol a partir del nopal puede influir en los resultados obtenidos. Por lo tanto, sería conveniente explorar nuevas estrategias y optimizar el proceso para mejorar el rendimiento y la eficiencia en la producción de bioetanol a partir del nopal. De esta manera, se podrían alcanzar rendimientos más altos y competitivos en relación con otras fuentes de biomasa.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

- La caracterización de la biomasa de nopal presenta una acidez moderada $\text{pH } 4.55 \pm 0.06$, baja presencia de sales debido a que se obtuvo una conductividad eléctrica de $2,76 \pm 0.21 \text{ mS/cm}$ y alto contenido de agua de acorde al porcentaje de humedad que es de $92.1 \pm 0.12\%$. Aunque su contenido de almidón 12.2% es bajo y el porcentaje de amilosa es de 0.49% y 48.96% amilopectina, su alto contenido de celulosa y hemicelulosa sugieren un alto potencial para la producción de bioetanol a partir de la hidrólisis de estas moléculas. Además, los cladodios que se escogieron para este proceso estaban entre los 6 y 12 meses de edad, dimensiones $33,2 \text{ cm}$ largo, 14 cm ancho y $1,3 \text{ cm}$ de grosor, peso mínimo de 742 g y un peso máximo de $1082,6 \text{ g}$ por el contenido de celulosa 17.5% y hemicelulosa 79.8% dado material es fuente de obtención de azúcares a partir de hidrólisis.
- Las condiciones que presentan un mayor rendimiento en el proceso de hidrólisis es bajo una temperatura de 60°C , concentración del ácido sulfúrico a 1N , en un tiempo de $1,5 \text{ h}$, obteniendo 12°Brix . Siendo el tratamiento C3T3t3 el que presenta las mejores condiciones.
- Se procedió a realizar una caracterización con los resultados que se obtuvo en el proceso del hidrolizado obteniendo los datos de pH que fue de $0,41 \pm 0.07$ que para poder dejar fermentar la muestra se le añadió NaOH para neutralizar entre los parámetros de $\text{pH } 4-5$ dejar fermentar la muestra y obtener un mejor rendimiento al momento de extraer los azúcares fermentables de nuestra muestra, se obtuvo una conductividad eléctrica (CE) de $0,26 \pm 0.05 \text{ mS/cm}$, es decir que mientras más ácida es la muestra su conductividad también disminuye, sólidos solubles totales obtuvimos el mismo resultado de los grados Brix según lo establecido ya que entre 12 y 14 grados Brix son óptimos para someter a fermentar una muestra. La caracterización del hidrolizado presenta los siguientes azúcares reductores glucosa $0,20\%$, manosa, xilosa y galactosa $0,08\%$.
- Se comparó la calidad del bioetanol de nopal producido mediante hidrólisis ácida indica que los valores obtenidos de etanol, $1,2 \text{ mg/100mL}$ de acidez presente en la muestra, $102,6 \text{ mS/m}$ conductividad eléctrica, $25,01 \text{ kg/m}^3$ densidad a una temperatura de 20 grados centígrados y residuos por evaporación $0,402 \text{ mg/100mL}$ siendo significativamente más bajos que los establecidos por la norma técnica para etanol anhidro. Para medir los grados de etanol del nopal se utilizó el alcoholímetro de Gay-Lussac dando resultados del 8% siendo mucho más bajo que el obtenido a partir de otras fuentes de biomasa, como la caña de azúcar o el maíz.

El bioetanol a partir de los cladodios de nopal no cumple con los parámetros del etanol anhidro según lo indica la NTE INEN 2478:2009. Sin embargo, es importante tener en cuenta que los valores de calidad pueden variar según la fuente de biomasa utilizada y el proceso de producción empleado.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda centrar el enfoque en la hidrólisis de componentes como la celulosa, la hemicelulosa, la pectina y el mucílago presentes en la biomasa de nopal. Estos componentes tienen un alto potencial para la producción de azúcares fermentables y, por lo tanto, son cruciales para el éxito del proceso de producción de bioetanol. Además, se debe tener en cuenta la cantidad de agua presente en la biomasa, ya que esta puede afectar la hidrólisis de los componentes y la calidad del bioetanol producido.
- Se recomienda utilizar las condiciones óptimas identificadas en el estudio (temperatura de 60°C, tiempo de 1.5 horas y concentración de ácido de 1 normal) como punto de partida. Sin embargo, dado que los valores críticos de hidrólisis pueden variar según la composición de la biomasa utilizada, es importante ampliar el intervalo de los niveles de temperatura, tiempo y concentración de ácido para permitir una mayor flexibilidad en el proceso de producción. Además, se debe monitorear cuidadosamente el proceso de hidrólisis y ajustar las condiciones según sea necesario para garantizar una alta producción de azúcares totales.
- Para mejorar la calidad del bioetanol producido a partir de la biomasa de nopal, se recomienda investigar y optimizar el proceso de producción, teniendo en cuenta la variación en las condiciones de hidrólisis ácida y la selección de la cepa de levadura adecuada para la fermentación. Asimismo, se sugiere explorar otros métodos de producción de bioetanol, como la hidrólisis enzimática, para aumentar el rendimiento y mejorar la calidad del producto final. Además, se podría aprovechar los residuos de la cáscara o pulpa de tuna, que son un subproducto de la producción de mermeladas y bebidas de tuna, para mejorar el rendimiento de la producción de bioetanol y reducir los residuos agroindustriales.

BIBLIOGRAFÍA

ACÁN ACÁN, Ángel Euclides. Efecto de la temperatura y pH sobre el proceso industrial para la obtención de bioetanol por hidrólisis enzimática a partir de *Colocasia esculenta* (Papa China). [en línea]. (Trabajo de titulación). (Grado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2020. pp. 1 - 78. [Consulta: 28 febrero 2023]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/14502>.

ÁLVAREZ MACIEL, Carlos. "Biocombustibles: desecanormíoa inlfloormahistórico-tecnológico,". *Economía informa*, 2009, vol. 359, pp. 27.

ALVES ALENCAR, Bárbara Ribeiro. et al. "Bioethanol production from cactus cladode biomass: considerations of harvesting time, dry matter concentrations, and enzymatic hydrolysis". *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2020, pp. 1-8., ISSN 2190-6815, 2190-6823. DOI 10.1007/s13399-020-00960-2.

AOAC 977-20 (HPLC_IR). *Separation of Sugars in Honey* [en línea]. 2006. [Consulta: 6 mayo 2023]. Disponible en: <https://dokumen.tips/documents/separation-of-sugars-in-honey-aoac-977-20-hplcir.html>.

APPA. "¿Qué es la biomasa?". *APPA Renovables* [en línea]. [Consulta: 16 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.appa.es/appa-biomasa/que-es-la-biomasa/>.

BARAZARTE, Humberto. et al. "Características físicas y químicas de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill." *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*, 2017, vol. 34, no 2, pp. 175-186., ISSN 2477-9407.

BERNABÉ, M.A. "Aptitud agroclimática de áreas áridas y semiáridas de Argentina para el cultivo de tuna (*Opuntia ficus indica*) como fuente de bioetanol". *Quebracho - Revista de Ciencias Forestales*, 2011, vol. 19, no 1-2, pp. 66-74.

BESSOU, Cécile. et al. "Biofuels, greenhouse gases and climate change. A review". *Agronomy for Sustainable Development*, 2011, vol. 31, no 1, pp. 1-79., ISSN 1774-0746, 1773-0155. DOI 10.1051/agro/2009039.

BIOMASA. "Que es la Biomasa - Tienda Biomasa". [en línea]. [Consulta: 16 diciembre 2022]. Disponible en: <https://tiendabiomasa.com/biomasa>.

BOLLEN, Johannes. et al. "An integrated assessment of climate change, air pollution, and energy security policy". *Energy Policy*, 2010, vol. 38, no 8, pp. 4021-4030., ISSN 0301-4215. DOI 10.1016/j.enpol.2010.03.026.

BRICEÑO, Gabriela. "Hidrólisis | Qué es, tipos, grado, química, ácida, alcalina, enzimática, ejemplos". *Euston96* [en línea]. [Consulta: 16 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.euston96.com/hidrolisis/>.

CALLEJAS, Edmar Salinas. & QUEZADA, Víctor Gasca. "Los biocombustibles". *El Cotidiano*, 2009, no 157, pp. 75-82., ISSN 0186-1840.

CARRILLO VERÁSTEGUI, Kenia Aylín. Evaluación del nopal como materia prima para la obtención de bioproductos y bioenergéticos [en línea]. (Trabajo de titulación), (Grado) Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León, México. pp. 1 - 72. 2021. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/22392/1/1080315398.pdf>.

CERVEZA ARTESANA. "Como medir los azúcares fermentables en el mosto de cerveza". [en línea]. [Consulta: 16 diciembre 2022]. Disponible en: <https://cervezartesana.es/blog/post/los-azucars-fermentables-en-el-mosto-de-cerveza.html>.

CORTÉS-SÁNCHEZ, Maria Dolores. et al. "Biocombustibles: tipos y estrategias de producción.". *Moleqta*, 2019, no 53, pp. 20-25., ISSN 2173-0903.

CRISTINA MÁRQUEZ. "La tuna atrae a más agricultores". *Lideres* [en línea]. [Consulta: 8 diciembre 2022]. Disponible en: <http://www.revistalideres.ec/lideres/tuna-agricultores-chimborazo-cultivos-produccion.html>.

DO NASCIMENTO SANTOS, Taciana. et al. "Potential for biofuels from the biomass of prickly pear cladodes: Challenges for bioethanol and biogas production in dry areas". *Biomass and Bioenergy*, 2016, vol. 85, pp. 215-222. ISSN 09619534. DOI 10.1016/j.biombioe.2015.12.005.

ECOLOGÍA. "Biocombustibles - Concepto, obtención, tipos y ventajas". *Concepto* [en línea]. [Consulta: 16 diciembre 2022]. Disponible en: <https://concepto.de/biocombustible/>.

ESPOCH. "Tunshi". *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo* [en línea]. [Consulta: 16 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.espoch.edu.ec/index.php/estaciones-experimentales/274-tunshi.html>.

FERRARI, L. "Energías fósiles: diagnóstico, perspectivas e implicaciones económicas". *Revista Mexicana de Física*, 2013, vol. 59, no 2, pp. 36-43.

FIDEICOMISO DE RIESGO COMPARTIDO. "La TUNA, una fruta muy mexicana". *gob.mx* [en línea]. [Consulta: 15 diciembre 2022]. Disponible en: <http://www.gob.mx/firco/articulos/la-tuna-una-fruta-muy-mexicana?idiom=es>.

FINE DINING LOVERS. "Qué es el nopal, sus propiedades y recetas". [en línea]. [Consulta: 14 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.finedininglovers.com/es/noticia/que-es-nopal>.

FJØRTOFT, Kristian. et al. "Methane production and energy evaluation of a farm scaled biogas plant in cold climate area". *Bioresource Technology*, 2014, vol. 169, pp. 72-79., ISSN 09608524. DOI 10.1016/j.biortech.2014.06.077.

FRAGA DELGADO, Andrés Fernando. Evaluación del potencial energético del nopal (*Opuntia Ficus-Indica (l.) Miller*) como alternativa para la producción de biogás en la provincia de Imbabura [en línea]. (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador: 2021. [Consulta: 2 agosto 2022]. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/11385>.

GONGORA CAUCH, José Vicente. Establecimiento de un proceso de hidrólisis a partir de cladodios frescos y secos de nopal (*Opuntia spp.*) para la obtención de azúcares fermentables [en línea]. (Trabajo de titulación). (Maestría) Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Mérida, México: 2017. [Consulta: 23 julio 2022]. Disponible en: <http://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/378>.

HASSAN, L.G. et al. "Extraction and Characterisation of Starches from Four Varieties of *Mangifera indica* Seeds". *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 2013, vol. 3, no 6, pp. 16-23., ISSN 22785736. DOI 10.9790/5736-0361623.

HERNÁNDEZ SAMPIERI, Roberto. et al., Metodología de la investigación. 6ta. México D.F.: McGRAW-HILL,. 2014. ISBN 978-1-4562-2396-0.

HERNÁNDEZ-BECERRA, Ezequiel. et al. "Nopal cladodes (*Opuntia Ficus Indica*): Nutritional properties and functional potential". *Journal of Functional Foods*, 2022, vol. 95, pp. 105183., ISSN 1756-4646. DOI 10.1016/j.jff.2022.105183.

INGLESE, Paolo. et al. Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal. Roma, Italia: La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y el Centro Internacional de Investigaciones Agrícolas en Zonas Áridas, 2008.

ISRAEL PARADA. "¿Qué es la hidrólisis? Definición química". *YuBrain* [en línea]. [Consulta: 16 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.yubrain.com/ciencia/quimica/hidrolisis-definicion/>.

JIMÉNEZ ISLAS, Donaji. et al. "Obtención de azúcares fermentables mediante hidrólisis ácida de *Beta vulgaris* L.". *Revista internacional de contaminación ambiental*, 2012, vol. 28, no 2, pp. 151-158., ISSN 0188-4999.

LUGANI, Yogita. et al. "Recent advances in bioethanol production from lignocelluloses: a comprehensive review with a focus on enzyme engineering and designer biocatalysts". *Biofuel Research Journal*, 2020, vol. 7, no 4, pp. 1267-1295., ISSN 2292-8782. DOI 10.18331/BRJ2020.7.4.5.

MAG. "La producción de tuna, una actividad rentable". *Ministerio de Agricultura y Ganadería* [en línea]. [Consulta: 21 octubre 2022]. Disponible en: <https://www.agricultura.gob.ec/la-produccion-de-tuna-una-actividad-rentable/>.

MAKI-DÍAZ, Griselda. et al. "Características físicas y químicas de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) para exportación y consumo nacional". *Agrociencia*, 2015, vol. 49, no 1, pp. 31-51., ISSN 1405-3195.

MARTÍNEZ ROJAS, Vanessa C. & QUEZADA QUIROZ, Joshua Manolo. "LAS ENERGÍAS RENOVABLES Y LA TERCERA REVOLUCIÓN INDUSTRIAL". *Innova Biology Sciences*, 2021, vol. 1, no 2, pp. 67-76.

MELENDEZ, Jesus R. et al. "Gestión para la Producción de biocombustibles 2G: revisión del escenario tecnológico y económico". *Revista Venezolana de Gerencia*, 2021, vol. 26, no 93, pp. 78-91.

MELLADO-MOJICA, Erika. & LÓPEZ-PÉREZ, Mercedes Gpe.
"http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1405-31952013000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=es". *Agrociencia*, 2013, vol. 47, no 3, pp. 233-244., ISSN 1405-3195.

MENDOZA, Ana Madelaine Macias. et al. "Pasado, presente y perspectiva del bioetanol en Ecuador". *CIENCIA UNEMI*, 2022, vol. 15, no 40, pp. 38-51., ISSN 2528-7737. DOI 10.29076/issn.2528-7737vol15iss40.2022pp38-51p.

NACIONES UNIDAS. "¿Qué son las energías renovables?". *United Nations* [en línea]. [Consulta: 21 octubre 2022]. Disponible en: <https://www.un.org/es/climatechange/what-is-renewable-energy>.

NAVA-GARCÍA, Francisco J. & DOLDÁN-GARCÍA, Xoán R. "Cultivos energéticos". *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 2014, vol. 11, no 1, pp. 25-34., ISSN 1870-5472.

NOM-F-317-S-1978. "DOF - Diario Oficial de la Federación". [en línea]. [Consulta: 13 octubre 2022]. Disponible en: https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4704689&fecha=23/05/1978#gsc.tab=0.

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA. *Conservas vegetales. Determinación de sólidos solubles. Metodo refractometrico.* [en línea]. 1998. S.l.: s.n. [Consulta: 6 mayo 2023]. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/380.pdf>.

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA. *PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS – DETERMINACIÓN DE pH (IDT)* [en línea]. 2013. S.l.: s.n. [Consulta: 13 octubre 2022]. Disponible en: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_iso_1842_extracto.pdf.

NOVILLO ALVARADO, Magaly Belén. Plan de exportación de pulpa de tuna por la Empresa Procesadora Agroindustrial "Mis Frutales" de la parroquia San Luis provincia de Chimborazo hacia la ciudad de Hamburgo-Alemania durante el periodo 2014-2016 [en línea]. (Trabajo de titulación). (Grado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2015. [Consulta: 15 diciembre 2022]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/11284>.

OLAUSON, Jon. "ERA5: The new champion of wind power modelling?". *Renewable Energy*, 2018, vol. 126, pp. 322-331., ISSN 09601481. DOI 10.1016/j.renene.2018.03.056.

PACHECO - FLOREZ, Melisa. & MELO - POVEDA, Yormy Eliana. "Recursos naturales y energía. Antecedentes históricos y su papel en la evolución de la sociedad y la teoría económica". *Energética*, 2015, pp. 107-115., ISSN 0120-9833.

PARAPI PLAZA, Maritza Dayanna. & PINTADO GARATE, Ariana Angelica. Obtención de bioetanol de segunda generación a partir de vainas de fréjol (*Phaseolus vulgaris L.*) [en línea]. (Trabajo de titulación). (Grado) Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador: 2022. [Consulta: 6 mayo 2023]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/39407>.

POSSO, Fausto. "Energía y ambiente: pasado, presente y futuro. Parte dos: Sistema energético basado en energías alternativas". *Geoenseñanza*, 2002, vol. 7, no 1-2, pp. 54-73.

QUINTANAR-OROZCO, Erendira Tonantzin. et al. "Enhancement of the biogas and biofertilizer production from *Opuntia heliabravoana* Scheinvar". *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, vol. 25, no 28, pp. 28403-28412., ISSN 0944-1344, 1614-7499. DOI 10.1007/s11356-018-2845-x.

RAMÍREZ-ARPIDE, Félix Rafael. et al. "Life cycle assessment of biogas production through anaerobic co-digestion of nopal cladodes and dairy cow manure". *Journal of Cleaner Production*, 2018, vol. 172, pp. 2313-2322., ISSN 0959-6526. DOI 10.1016/j.jclepro.2017.11.180.

RAMOS, Fernando Daniel. et al. "Biocombustibles". En: Accepted: 2017-10-03T18:02:24Z, *Ciencia Hoy*, 2016, vol. 25, no 147, pp. 69-73., ISSN 1666-5171.

RODRÍGUEZ HENAO, Yurley. Evaluación del mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) como agente estabilizante en néctar de maracuyá (*Passiflora edulis*) [en línea]. (Trabajo de titulación (Grado)). Universidad de La Salle,. Bogotá, Colombia: 2017. Disponible en: https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/67.

ROJAS ISAZA, Daniela. et al. "Problemática de la contaminación del aire en Colombia". *Revista Ambiental Éolo*, 2019, no 18, pp. 109-122.

ROMERO GARCÍA, Jesús Andrés. et al. "Los Biocombustibles en México: El Futuro Energético". *Memorias del Congreso Científico Tecnológico de las carreras de Ingeniería Mecánica Eléctrica, Industrial y Telecomunicaciones, sistemas y electrónica* [en línea]. CDMX, México: Instituto Politécnico Nacional. 2018. pp. 1-5. Disponible en:

http://virtual.cuautitlan.unam.mx/CongresoCiTec/Memorias_Congreso/Anio3_No3/Extensos/IE-09.pdf.

SÁNCHEZ, Héctor. et al. "Evaluación de la capacidad forrajera de *Opuntia ficus*". *Manglar*, 2018, vol. 14, no 2, pp. 115-124., ISSN 1816-7667. DOI 10.17268/manglar.2017.015.

TEXCO-LÓPEZ, Andrés. et al. "EFECTO DEL PRETRATAMIENTO HIDROTÉRMICO (ALTA PRESIÓN) E HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE CLADODIOS DE *Opuntia ficus-indica* SOBRE LA LIBERACIÓN DE AZÚCARES Y SU USO POTENCIAL EN LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL". *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 2019, vol. 35, no 4, pp. 1039-1049., ISSN 01884999. DOI 10.20937/RICA.2019.35.04.21.

TORRES-PONCE, Reyna Lizeth. et al. "El nopal: planta del semidesierto con aplicaciones en farmacia, alimentos y nutrición animal". *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 2015, vol. 6, no 5, pp. 1129-1142., ISSN 2007-0934.

UNED. "Guía de Alimentación y Salud UNED: Guía de nutrición > La composición de los alimentos > Hidratos de carbono". [en línea]. [Consulta: 21 octubre 2022]. Disponible en: https://www2.uned.es/pea-nutricion-y-dietetica-I/guia/guia_nutricion/compo_hidratos.htm.

VÁZQUEZ, H.J. & DACOSTA, O. "Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas". *Ingeniería, investigación y tecnología*, 2007, vol. 8, no 4, pp. 249-259., ISSN 1405-7743.

VERSHININA, K. Yu. et al. "Environmental Aspects and Energy Characteristics of the Combustion of Composite Fuels Based on Peat, Oil, and Water". *Solid Fuel Chemistry*, 2019, vol. 53, no 5, pp. 294-302., ISSN 0361-5219, 1934-8029. DOI 10.3103/S0361521919050100.



ANEXOS

ANEXO A: PROCEDIMIENTO PARA EL PRETRATAMIENTO DE LA MUESTRA

Materiales	Procedimiento
<ul style="list-style-type: none">• Guantes de látex• Agua• Jabón líquido• Bisturí• Toallas de cocina• Etanol al 70%• Cepillo de ropa	<p>Tomar de manera cuidadosa cada uno de los cladodios para realizar el pretratamiento.</p> <p>Utilizar agua corriente, un cepillo y jabón líquido para retirar las partículas de suciedad de la muestra.</p> <p>Eliminar las espinas y tallos de las pencas de nopal con la ayuda de un bisturí.</p> <p>Limpiar las muestras con toallas de cocina.</p> <p>Desinfectar los cladodios con etanol al 70%.</p>

ANEXO B: PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE PH Y CE

Parámetro	Materiales	Procedimiento	Cálculos
Potencial de Hidrogeno (pH)	<ul style="list-style-type: none">• Cuchillo• Licuadora industrial• Vaso de precipitación• Soporte de laboratorio• Baño maría• pH-metro• Termómetro• Guantes de látex	<p>Picar y licuar 2 cladodios.</p> <p>Colocar en 3 vasos de precipitación 100 g de la muestra.</p> <p>Sostener las muestras con un soporte universal dentro del baño maría.</p> <p>Medir con el termómetro si la muestra se encuentra a 20°C.</p> <p>Medir con el pH-metro para obtener el resultado.</p>	Lectura directa
Conductividad eléctrica	<ul style="list-style-type: none">• Baño maría• Termómetro• Conductímetro	Medir con el conductímetro para obtener el resultado.	Lectura directa.

ANEXO C: PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES Y HUMEDAD

Parámetro	Material	Procedimiento	Cálculos
Sólidos totales	<ul style="list-style-type: none"> • Cinta scotch • Guantes de látex • Bandejas de aluminio • Cuchillo • Licuadora • Estufa de convección • Balanza digital 	<p>Picar y licuar un cladodio.</p> <p>Pesar la bandeja vacía.</p> <p>Colocar 16 g de la muestra en 3 bandejas de aluminio.</p> <p>Pesar la bandeja con la muestra.</p> <p>Depositar las bandejas de aluminio en una estufa de convección a 105°C por 48h.</p> <p>Retirar las muestras de la estufa de convección y pesar.</p>	$\% ST = \frac{(P_{Bs} - P_b)}{(P_{Bh} - P_b)} \times 100$ <p>(Alves Alencar et al., 2020, p. 2)</p>
Humedad		<p>Obtener mediante un cálculo de diferencia.</p>	$\% H = 100 - \%ST$ <p>(Alves Alencar et al., 2020, p. 2)</p>

ANEXO D: PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Parámetro	Material	Procedimiento	Cálculos
Cenizas	<ul style="list-style-type: none"> • Cuchillo • Guantes de látex • Balanza digital • Cinta scotch • Bandeja de aluminio • Crisol • Estufa • Mufla 	<p>Lavar y secar los crisoles a 105°C por 30 minutos.</p> <p>Etiquetar y pesar el crisol.</p> <p>Colocar 2 g del cladodio seco en un crisol y depositarla en una estufa de convección por 24h a 105°C y después tomar su peso.</p> <p>Depositar en una mufla a 600°C por 4h hasta incinerar la muestra.</p>	$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_C - P_V}{P_{Bs} - P_V} \times 100$

ANEXO E: PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES

Parámetro	Material	Procedimiento	Cálculos
Sólidos solubles	<ul style="list-style-type: none"> • Guantes de látex • Cuchillo • Licuadora • Kitasato • Büchner • Cono de goma • Compresor • Refractómetro 	<p>Filtrar 10 ml del sumo del cladodio aplicando la técnica de filtrado al vacío.</p> <p>Tomar parte de la muestra filtrada y colocar en refractómetro para medir los °Brix.</p>	Lectura directa

ANEXO F: PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE AZUCARES TOTALES

Parámetro	Material	Reactivo	Procedimiento	Cálculo
Azúcares totales	<ul style="list-style-type: none">• Tubos de ensayo• Tapón• Vortex• Espectrofotómetro• Gradilla• Guantes de látex• Mandil• Gafas• Pipeta• Pipeta en μL	<ul style="list-style-type: none">• Muestra hidrolizada• Fenol al 5%• H_2SO_4	Tomar 1 mL de la muestra hidrolizada y colocar en un tubo de ensayo. Colocar 600 μL de fenol al 5% y 3,6 mL de H_2SO_4 . Agitar con un vortex hasta que la muestra sea homogénea. Dejar enfriar la muestra por 30 minutos. Tomar parte de la muestra para colocarla en el espectrofotómetro a una absorbancia de 490 nm.	Lectura directa

ANEXO G: CLADODIOS DE NOPAL OPUNTIA FICUS-INDICA PREVIO AL PRETRATAMIENTO DE LA MUESTRA

ANEXO F: INFORME DE CUANTIFICACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES



Orden de trabajo N°231335
Informe N° 231335
Hoja 1 de 1

DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE

Nombre: NATHALI ALEJANDRA GUARACA VALLEJO
Dirección: Av. Francisco Flor, Macas
Muestra: **Jugo hidrolizado de nopal**
Descripción de la muestra: Líquido con sedimentos
Fecha Elaboración: 24 de marzo del 2023
Fecha Vencimiento: ---
Fecha de Toma: 24 de marzo del 2023
Lote: ---
Localización: ---
Envase: Envase vidrio
Conservación de la muestra: Refrigeración

DATOS DEL LABORATORIO

Fecha de recepción: 05 de abril del 2023
Toma de muestra por: Cliente
Fecha de realización del ensayo: 05 – 21 de abril del 2023
Fecha de emisión del informe: 21 de abril del 2023
Condiciones ambientales: 21,0°C 58%HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADO
Glucosa	%	PEE/LA/09 AOAC 977.20	0,20
Manosa	%	PEE/LA/09 AOAC 977.20	< 0,08
Xilosa	%	PEE/LA/09 AOAC 977.20	< 0,08
Galactosa	%	PEE/LA/09 AOAC 977.20	< 0,08

CECILIA MARIA
LUZURIAGA GOMEZ
Dra. Cecilia Luzuriaga
GERENTE GENERAL

Firmado digitalmente por CECILIA
MARIA LUZURIAGA GOMEZ
Fecha: 2023.04.21 15:49:35 -05'00'

El presente informe solo es válido para la muestra analizada tal como fue recibida en LABOLAB.
LABOLAB no se responsabiliza por los datos proporcionados por el cliente.
Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.
Las opiniones e interpretaciones no se encuentran dentro del alcance de acreditación del SAE.



INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA NOTIFICACION SANITARIA

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
Fco. Andrade Marín E7-29 y Diego de Almagro Telf.: 2563-225 / 2561-350 / 3238-503/ 3238-504 Cel.: 099 959 0412 / 099 944 2153 / 098 700 1591
E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec / informes@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 11 / 07 / 2023

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Nathali Alejandra Guaraca Vallejo
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Ingeniería Ambiental
Título a optar: Ingeniera Ambiental
f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo

1261-DBRA-UPT-2023

