



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FELIX LOPEZ**

INGENIERIA AMBIENTAL

TESIS PREVIA ALA OBTENCION DEL TITULO DE INGENIERO AMBIENTAL

Tema:

Obtencion de bioetanol del jacinto de agua (*eichhornia crassipe*) proveniente del embalse Sixto Durán Ballen mediante proceso enzimático

Autores:

TERÁN GUERRERO JOHNNY EFRAIN

SOLORZANO SOLÍS PABLO DAVID

Tutor:

ING: MANUEL SALTOS GILER M.SC

CALCETA 2013

DERECHOS DE AUTORIA

Nosotros Johnny Terán Guerrero y Pablo Solórzano Solís, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y que se ha consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A Través de la presente declaración cedemos nuestros derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López", según lo establecido por la Ley de propiedad intelectual y su reglamento.

Johnny Efraín Terán Guerrero

Pablo David Solórzano Solís

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Ingeniero Manuel Saltos Giler, Certifica Haber dirigido la tesis titulada OBTENCIÓN DE BIOETANOL DEL JACINTO DE AGUA (*EICHHORNIA CRASSIPE*) PROVENIENTE DEL EMBALSE SIXTO DURÁN BALLEEN MEDIANTE PROCESO ENZIMÁTICO. La misma que ha sido desarrollada por Johnny Terán Guerrero y Pablo Solórzano Solís, previo a la obtención del título de Ingeniero en Medio Ambiente, de acuerdo al REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López".

ING: MANUEL SALTOS GILER

TUTOR DE TESIS

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos miembros del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** La tesis titulada "**APOREVECHAMIENTO DEL JACINTO DE AGUA**" que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por Johnny Terán Guerrero y Pablo Solórzano Solís, previa a la obtención del título de Ingeniero en Medio Ambiente, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TEISIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López".

Ing. Carlos Villafuerte
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por la fortaleza salud y esperanza para cumplir con las metas planteadas en nuestra vida.

A nuestras familias en especial a nuestros padres quienes nos apoyaron de diferente manera dándonos su apoyo emocional haciendo posible la realización y culminación de este trabajo por lo tanto constituye un triunfo para ellos y para nosotros.

A nuestros amigo y compañeros que a lo largo de la vida estudiantil estuvieron apoyándonos de manera emocional, ha nuestro tutor quien fue guía para culminar la tesis al Ing. Piero Fajardo quien nos ayudo con mucha información literaria y conocimientos en el laboratorio y a los decentes que estuvieron dándonos su apoyo.

JOHNNY EFREIN TERAN GUERRERO

PABLO DAVID SOLORZANO SOLIS

DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo con cariño.

A Dios que supo guiarnos por el buen camino dándonos fuerzas para seguir adelante y no desalentarnos por los inconvenientes que se presentaron en el camino y enseñarnos a enfrentar las adversidades, yo Johnny Terán a mi familia y a mis hijas que con su alegría me daban fuerzas para seguir adelante, yo Pablo Solórzano a mi familia en especial a mi Madre y Padre que siempre estuvieron apoyándome incondicionalmente y dándome fuerzas para seguir adelante.

JOHNNY EFREIN TERAN GUERRERO

PABLO DAVID SOLORZANO SOLIS

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORIA.....	ii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA.....	vi
CONTENIDO GENERAL	vii
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCION	xiii
1 ANTECEDENTES.....	1
1.1 PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2 JUSTIFICACIÓN	3
1.3 OBJETIVOS	5
1.3.1 OBJETIVO GENERAL.....	5
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
1.4 HIPÓTESIS	6
2 MARCO TEÓRICO	7
2.1 JACINTO DE AGUA (<i>Eichhornia crassipes</i>)	7
2.2 MATERIAL LIGNOCELULÓSICO	8
2.2.1 COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA.....	9
2.2.2 CELULOSA.....	9
2.2.3 HEMICELULOSA.....	10
2.2.4 LIGNINA	10
2.2.5 OTRAS SUSTANCIAS	11

2.3	ENZIMAS	11
2.3.1	CONTENIDO ENZIMÁTICO	11
2.3.2	HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA.....	12
2.3.3	CONDICIONES DE LA HIDRÓLISIS.....	13
2.4	PRETRATAMIENTO DEL MATERIAL LIGNOCELULOSICO PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL.....	13
2.4.1	SECADO - DESHIDRATADO.....	14
2.4.2	TRITURACIÓN O MOLIDO.	15
2.4.3	PRETRATAMIENTO QUÍMICO DE LA LIGNOCELULOSA.....	15
2.5	ETANOL – BIOETANOL	15
2.5.1	FERMENTACIÓN.....	16
2.5.2	DESTILACIÓN.....	16
2.6	IMPACTO AMBIENTAL.....	17
2.6.1	IMPACTOS AMBIENTALES CAUSADOS POR EL LECHUGUIN DE AGUA.....	17
2.6.2	ANÁLISIS DE pH.....	18
2.6.3	CONDUCTIVIDAD ELECTRICA EN MEDIOS LÍQUIDOS.....	19
2.6.4	MEDICION DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA.....	19
2.6.5	IMPORTANCIA DE LA CONDUCTIVIDAD.....	20
2.6.6	COSTO DE PRODUCCION.....	20
2.7	COSTOS VARIABLES	21
2.8	COSTOS FIJOS.....	21
3	METODOLOGÍA	22
3.1	UBICACIÓN	22
3.2	DURACIÓN DE TRABAJO.....	22
3.3	DISEÑO METODOLÓGICO	22
3.3.1	MÉTODO.....	22

3.3.2	TÉCNICAS.....	23
3.3.3	DISEÑO EXPERIMENTAL	24
3.3.4	DISEÑO EXPERIMENTAL DCA.....	24
3.3.5	ADEVA	25
3.3.6	VARIABLES EN ESTUDIO	25
3.3.7	PROCESO EXPERIMENTAL DEL OBJETO DE ESTUDIO	25
3.3.8	FASE I.- SACARIFICACIÓN DEL MATERIAL LIGNOCELULOSICO MEDIANTE PROCESO ENZIMÁTICO.	26
3.3.9	FASE II.- OBTENER ALCOHOL DEL MATERIAL LIGNOCELULÓSICO MEDIANTE FERMENTACIÓN.....	28
3.3.10	FERMENTACIÓN.....	28
3.3.11	DESTILACIÓN.	29
3.3.12	FASE III.- DETERMINAR EL IMPACTO AMBIENTAL EN EL APROVECHAMIENTO DEL LECHUGUIN DE AGUA	30
3.3.13	FASE IV.- ANÁLISIS ECONÓMICO DEL PROCESO	31
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1	FASE I.- REALIZAR LA SACARIFICACIÓN DEL MATERIAL LIGNOCELULOSÍCO MEDIANTE PROCESO ENZIMATÍCO	32
4.1.1	Primera actividad.....	32
4.1.2	FASE II.- OBTENER BIOETANOL DEL MATERIAL LIGNOCELULÓSICO MEDIANTE FERMENTEACIÓN	34
4.1.3	FASE III.- DETERMINAR EL IMPACTO AMBIENTAL POSITIVO EN EL APROVECHAMIENTO DEL LECHUGUIN DE AGUA	
	37	
4.1.4	FASE IV.- REALIZAR ANALISIS ECÓNÓMICO DEL PROCESO.....	38
5	RECOMENDACIONES.....	41
6	BIBLIOGRAFIA.....	42

7	ANEXO	48
7.1	ANEXO 1.....	49
7.2	ANEXO 2.....	57
7.3	ANEXO 3.....	67

RESUMEN

El objetivo fue obtener bioetanol de la planta Jacinto de agua (*Eicchornia Crassipes*), procedente del embalse Sixto Duran Vallen. Las plantas fueron sometidas a un pre tratamiento físico y caracterización mediante análisis bromatológicos, una vez adecuada las muestras están fueron hidrolizadas con el microorganismo (*Trichoderma Arzzianun*) en tres concentraciones ($1.5 \times 10^{-3} \text{ m}^3$, $3.4 \times 10^{-3} \text{ m}^3$ y $4.5 \times 10^{-3} \text{ m}^3$) a una mismo tiempo de reacción de 840 horas a temperatura ambiente, luego se realizó la respectiva fermentación de la muestra, el cual se inoculo en 0.001 m^3 de agua la muestra hidrolizada con 0.01 kg de microorganismo (*Saccharomyces cereviceae*) durante 360 horas. La planta sometida a estudios presento valores idóneos para su experimentación dando de solubilidad de alcohol - benceno 11.24%, Lignina 19.13% y celulosa 40.24% datos que permitieron continuar, también se realizó un análisis en donde se determinó que la cantidad de Oxígeno Disuelto (OD) es muy bajo debido a la capa vegetal que habita en ella ocasionando también que exista un pH con un mínimo valor de alcalinidad y una conductividad media. Se logró obtener un máximo de 16 G° de alcohol a partir del Jacinto de agua mediante el proceso enzimático.

Palabras Claves: Jacinto de agua, hidrolizadas, temperatura, fermentación, inoculo

ABSTRACT

The objective was to obtain bioethanol from Water Jacinto plant (*Eichhornia crassipes*), from the reservoir Sixto Duran Ballen. Plants were subjected to a pre physical treatment a characterization through Chemical analyzes, the samples were adequate for hydrolyzed with the microorganism (*Trichoderma Arzzianun*) in three concentrations ($1.5 \times 10^{-3} \text{ m}^3$, $3.4 \times 10^{-3} \text{ m}^3$ and $4.5 \times 10^{-3} \text{ m}^3$) to a same reaction time of 840 hours at room temperature, then followed the respective fermentation of the sample, which was inoculated in 0.001 m^3 of water the sample hydrolyzed with 0.01 kg of microorganism (*Saccharomyces cereviceae*) for 360 hours. The plant subjected to previous studies presented suitable values for the experimentation giving alcohol solubility - benzene 11.24%, Lignin 19.13% and cellulose 40.24% we also made an analysis that determinate that the amount of dissolved oxygen DO) is very low because of the topsoil causing a pH with a minimum value of alkalinity and average conductivity. It managed to get up to 16 G ° of alcohol starting from the Water Jacinto Plant through the enzymatic process.

Keywords: Water Jacinto Plant (*Eichhornia crassipes*), hydrolyzed, temperature, fermentation, inoculum

INTRODUCCION

El Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) es una planta libre flotadora miembro de familia de las pontederiáceae, que ocupa un lugar entre las comunidades de hidrófilas de agua dulce, se encuentra distribuido ampliamente a nivel mundial debido a que crece una gran diversidad de hábitats dulceacuícolas localizadas hasta los 2250 m.s.n.m. (metros sobre el nivel de mar), puede sobrevivir en cuerpos de agua con niveles muy bajos de nitratos y fosfatos (Harly K., 1996).

En regiones fuera de su área natural de distribución, el Jacinto de agua puede considerarse como una maleza sobre todo en habitas lénticos donde no existen medidas de control y balance natural, que regulen el crecimiento agresivo invasor de la especie, su capacidad de adaptación le permiten fácilmente propagarse cubriendo en corto lapso de tiempo una superficie de cuerpo de agua, los mismos modifican la calidad del agua, tales efectos trascienden a otros aspectos del medio, desde los ecológicos, salud pública, sociales económicos y políticos. (Quiroz *et al.*, 2008).

El alcohol de origen vegetal se produce a través de un proceso de fermentación, de distintos tipos de materias primas como cereales, cultivos con alto contenido de azúcares y también a partir de distintos compuestos lignocelulósico, es uno de los principales combustibles en estado puro, bien sea mezclado con algún otro tipo de combustible para uso en vehículos automotores a gasolina. Brasil y Estados Unidos son los países donde en el año 2007 se reporto la mayor producción de bioetanol, a partir de la caña de azúcar y Maíz (Castro *et al.*, 2012). La utilización de dichos productos, compromete y encarece la producción de ciertos alimentos, por lo cual una alternativa tecnológica, amigable con el ambiente y la soberanía alimentaria es la utilización de residuos o biomasa celulósica (Pérez *et al.*, 2010).

Lo que justifica definitivamente la presente investigación es que al usar el Jacinto de Agua para la obtención de bioetanol se plantea, una posible disminución de impactos sociales, económicos y ambientales, debido a que la proliferación de esta planta crea una densa capa vegetal que obstaculiza

la fluidez y acceso de las embarcaciones, de igual forma altera la calidad del agua porque dicha planta impide su oxigenación (Miranda, 2008), sumado a ello la descomposición de las mismas generan malestar a los lugareños por los malos olores que se emiten, este es el hábitat propicia para el desarrollo de vectores que afectan a la salud de las personas, siendo así beneficiarios directos los habitantes del lugar e instituciones gubernamentales que ha invertido grandes cantidades de dinero en tratar de controlar el Jacinto de agua. con este antecedente se planteo como objetivo y cumplió mi objetivo de obtener bioetanol.

1 ANTECEDENTES

1.1 PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) es una planta libre flotadora miembro de familia de las pontederiaceae, que ocupa un lugar entre las comunidades de hidrófilas de agua dulce, se encuentra distribuido ampliamente a nivel mundial debido a que crece una gran diversidad de hábitats dulceacuícolas localizadas hasta los 2250 m.s.n.m. (metros sobre el nivel de mar), puede sobrevivir en cuerpos de agua con niveles muy bajos de nitratos y fosfatos.

En regiones fuera de su área natural de distribución, el Jacinto de agua puede considerarse como una maleza sobre todo en hábitats lénticos donde no existen medidas de control y balance natural, que regulen el crecimiento agresivo invasor de la especie, su capacidad de adaptación le permiten fácilmente propagarse cubriendo en corto lapso de tiempo una superficie de cuerpo de agua, los mismos modifican la calidad del agua, tales efectos trascienden a otros aspectos del medio, desde los ecológicos, salud pública, sociales económicos y políticos. (Quiroz, A. et. al. 2008). Dentro de los impactos económicos se pueden citar las pérdidas de agua por efecto de la evo transpiración, el azolvamiento prematuro de los embalses y la limitación de actividades pesqueras, turística y recreativa la acumulación del Jacinto de agua constituye el hábitat propicio para el desarrollo de vectores de enfermedades, como malaria, filariosis, dengue, paludismo entre otras, como problema ecológico esta planta crea pequeñas islas que provocan estancamiento del agua, disminuyendo el oxígeno disuelto, causando así la muerte o desaparición de especies acuáticas. Martínez, M. (2005).

En Ecuador un desplazamiento inusitado del Jacinto de agua por los ríos, embalses está causando estragos a nivel social y económico, porque las grandes islas que se forman con la maleza obstruyen la navegación, ocasiona daños en las turbinas de las presas y puentes donde se acumula

perjudicando a el hábitat de varias especies acuáticas, el Jacinto de agua se ha confirmado que está presente en los embalses de Paute (Azuay) que es una presa muy alta, Daule-Peripa (Guayas), Poza Honda y La Esperanza (Manabí) y en las cabeceras de ríos en todo el país.

El acelerado crecimiento de la variedad del Jacinto de agua (*Eicchornia crassipes*) en el embalse La Esperanza del Cantón Bolívar hasta el año 2010 había cubierto una superficie estimada de 3 kilómetros cuadrados , causando un problema social, ambiental y económico para los habitantes de las zonas, al igual que está afectando la calidad del agua represada, al disminuir la cantidad de oxígeno, entorpecen la navegación en las tradicionales canoas a motor, único medio de transporte para las comunidades aledañas que carecen de vías Mendoza, S. 2011.

En la actualidad en Manabí son pocos los proyectos que existen con respecto al uso y aprovechamiento del Jacinto de Agua en el embalse Sixto Duran Ballén, motivo por el cual la presente investigación pretenden utilizar el Jacinto de agua para la obtención de bioetanol aportando así con una posible resolución a este problema.

Por lo ya expuesto se proyecta con esta investigación plantear una posible solución de manera que ¿será posible el uso del Jacinto de agua para la obtención de alcohol utilizando procesos biológicos?

1.2 JUSTIFICACIÓN

El alcohol es de origen vegetal se produce a través de un proceso de fermentación, de distintos tipos de materias primas como cereales, cultivos con alto contenido de azúcares y también a partir de distintos compuestos lignocelulósicos, es uno de los principales combustibles en estado puro, bien sea mezclado con algún otro tipo de combustible para uso en vehículos automotores a gasolina. Brasil y Estados Unidos son los países donde en el año 2007 se reportó la mayor producción de bioetanol, a partir de la caña de azúcar y Maíz, pero la utilización de dichos productos, compromete y encarece la producción de ciertos alimentos, por lo cual una alternativa tecnológica, amigable con el ambiente y la soberanía alimentaria es la utilización de residuos o biomasa celulósica. (Arburto. J, *et.al* 2008).

El etanol producido desde material lignocelulósico es parte de las conocidas energías renovables no convencionales, para la producción de bioetanol de segunda generación, por lo cual en esta investigación se pretende utilizar del Jacinto de agua acumulado en el embalse Sixto Duran Ballén como fuente de biomasa, para la obtención de bioetanol mediante proceso enzimático, a pesar de que esta planta contiene bajo contenido de lignocelulosa se desea realizar la investigación para ver qué resultados se obtienen. En caso de que el presente trabajo demuestre ser factible, esta podría ser una alternativa de solución a los problemas que generan la presencia de esta planta en el embalse y otros cuerpos de agua dulce.

Lo que justifica definitivamente la presente investigación es que al usar el Jacinto de Agua para la obtención de bioetanol se plantea, una posible disminución de impactos sociales, económicos y ambientales, debido a que la proliferación de esta planta crea una densa capa vegetal que obstaculiza la fluidez y acceso de las embarcaciones, de igual forma altera la calidad del agua porque dicha planta impide su oxigenación sumado a ello la descomposición de las mismas generan malestar a los lugareños por los malos olores que se emiten, este es el hábitat propicia para el desarrollo de vectores que afectan a la salud de las personas, siendo así beneficiarios directos los habitantes del lugar e instituciones gubernamentales que ha

invertido grandes cantidades de dinero en tratar de controlar el Jacinto de agua.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Obtener bioetanol utilizando el Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) mediante proceso enzimático.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Realizar la sacarificación del material lignocelulósico mediante proceso enzimático
- Obtener alcohol del material lignocelulósico mediante fermentación
- Determinar el impacto ambiental en el aprovechamiento del Lechuguin de agua
- Realizar el análisis económico del proceso

1.4 HIPÓTESIS

“El uso o aplicación de diferentes dosis de microorganismos *Trichoderma* como complejo enzimático incide en la sacarificación del material lignocelulósico del Jacinto de agua, lo que favorece la obtención de bioetanol”.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 JACINTO DE AGUA (*Eichhornia crassipes*)

El Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) es una planta denominada como maleza acuática perenne que flota libremente en la superficie del agua, Esta planta es nativa del sur de América, La reproducción de esta planta agua ocurre principalmente de forma vegetativa por medio de la producción de estolones. La producción de semillas también ocurre aunque con un bajo porcentaje de germinación. Bajo temperaturas óptimas de crecimiento, su biomasa puede duplicarse en un mes por medio de reproducción vegetativa; El cual provoca la formación de colonias densas flotando en el agua. Por consiguiente se reduce el flujo de agua en los embalses, la cantidad de oxígeno, navegación y crecimiento de otras plantas acuáticas. Además el Jacinto de agua puede ser utilizado como hospedero de larvas de mosquito.

El Jacinto de agua habita en cuerpos de agua dulce como los son: ríos, lagos, charcas, embalses de los trópicos y subtropicos localizados a latitudes no mayores de 40°N y 45°S. Temperaturas menores de 0°C afectan su crecimiento al igual que alta salinidad. Sin embargo, cuerpos de agua eutroficados que contienen niveles altos de nitrógeno, fosforo, potasio al igual que aguas contaminada con metales pesados como cobre y plomo no limitan su crecimiento. El Jacinto de agua puede anclarse y enraizar en suelos saturados de agua por un corto periodo de tiempo (Robles, W. 2009).

Según una investigación realizada por (Alomía, A. *et.al.* 2011). Para la caracterización química del Jacinto de agua, Se tomó una muestra de la planta se secó al sol y se llevó al laboratorio para determinar Por medio del protocolo USP- 731- (USP Compendial Methods), el porcentaje de humedad de la planta; de este modo se pesó 0.01 kg del Jacinto de agua recién extraído se llevo a un horno a 103°C durante 12 horas, Se realizaron 10 repeticiones. Finalizado este tiempo se retiraron las muestras, se dejaron reposar 4 horas a temperatura ambiente y se pesaron hasta obtener peso seco constante. La diferencia entre el peso fresco y el peso seco,

correspondió a la cantidad de agua presente en las muestras (% humedad). En el laboratorio se determinaron los porcentajes de carbono, nitrógeno, lignina, celulosas y hemicelulosa del jacinto de agua.

Tabla 1.- caracterización de los componentes químicos del Jacinto de agua

Material	Jacinto de agua
Parámetro	Resultado
C (C orgánico total)	33.70%
N (Nitrógeno-espectrometría)	1.97%
Relación C:N	17.1
Porcentaje de humedad <small>(n=10; Desv. Estándar=0,02)</small>	1.30%
Lignina	6.98%
Celulosas	34.80%
Hemicelulosas	34.30%
Materia orgánica (Incineración)	71.60%
Fósforo (Colorimetría)	0.25%

Fuente.- Alomía, A. 2011.

2.2 MATERIAL LIGNOCELULÓSICO

Se describe que la lignocelulosa es el principal componente de la pared celular de las plantas, está compuesta por (celulosa, hemicelulosa y lignina) es el principal y más abundante componente de la biomasa producida por la fotosíntesis, anualmente se forman 200,000 millones de toneladas en el mundo (Ragauskas et. al. 2006). La conversión biológica de las diferentes materias primas lignocelulósicas, como los son los bosques y los residuos agrícolas o los cultivos lignocelulósicos dedicados a la obtención de bioetanol ofrece numerosos beneficios, pero su desarrollo se ve obstaculizado por los factores económicos y técnicos (Sánchez & Cardona, 2008). Las principales dificultades que presentan la explotación de este tipo de materiales son su recolección y el almacenaje. Desde el punto de vista técnico, las plantas no madereras ofrecen una gran variedad de cualidades en sus fibras, que explotadas apropiadamente, se pueden utilizar en el desarrollo de pastas con propiedades innovadoras (Maddern y French,1995).

2.2.1 COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

Compuestos principalmente de tres tipos diferentes de polímeros, celulosa, hemicelulosa y lignina, envueltos en una compleja estructura. Este tipo de materiales son los más abundantes en la naturaleza. (Fengel y Wegener, 1984). La composición química de las fibras depende de la fuente de la cual procedan, pero de una manera general se puede decir que se existe una parte mayoritaria que corresponde a la celulosa, entre un 40 y 50%, aunque algunas veces es superior como en el caso de los linters de algodón, entre un 10 y 30% de lignina y de 20 a 30% de hemicelulosas. Estas últimas sustancias que son heteropolímeros presentan una gran variedad en composición según las diferentes especies. El contenido de cenizas varía de una manera sustancial como en el caso de la madera cuyo contenido es inferior al 1% o en el caso de fibras naturales cuyo contenido normalmente es superior. En el caso de ciertas pajas de cereales como en el trigo y avena, existen porcentajes superiores al 3% y en el caso particular del arroz, el orden es del 14%. Otras fibras como la hierba elefante hay un contenido de cenizas importante (Stewart, et al., 1997; Reguant y Rinaudo, 2000; Hon,2000).

2.2.2 CELULOSA

La celulosa es un polisacárido compuesto exclusivamente de moléculas de glucosa y de todas las sustancias naturales del carbono, es la biomolécula orgánica más abundante ya que forma la mayor parte de la biomasa terrestre se encuentra generalmente en la pared celular de todos los árboles, arbustos, pajas y pastos, es un carbohidrato que generalmente se encuentra en estado fibroso, posee gran resistencia a la tensión, constituye el más importante componente de la pulpa y del papel, está conformada por subunidades de D-glucosa, unidas por β -1,4 glicosídicos monosacárido de gran importancia en la fermentación. La celulosa posee dos estructuras una cristalina (organizada) y otra amorfa. Las cepas de

celulosa son “empaquetados” denominados fibrillas de celulosa. Estas fibrillas de celulosa son en su mayoría independientes débilmente vinculados a través de uniones de hidrógeno (Fengel, D. y Weneger, G. 1984). Estas moléculas se pueden hidrolizar con dificultad en medios catalizados por ácido. Entre las principales propiedades fisicoquímicas de la celulosa se encuentran el índice o grado de polimerización, la cristalinidad y la porosidad (Browning, 1967; Stone et al., 1967; Sjöström, 1981; Fan et al., 1982; Blanch et al., 1983; Thonart et al., 1983).

2.2.3 HEMICELULOSA

La hemicelulosa es uno de los polisacáridos que constituyen la parte principal de los componentes esqueléticos de las paredes celulares de las plantas y se parecen a la celulosa, aunque son más solubles y se extraen y descomponen con más facilidad, conocidos como carbohidrato complejo y heterogéneo ya que su estructura posee diferentes polímeros como pentosas (xilosa y arabinosa), hexosas (manosa, glucosa y galactosa), azúcar y ácidos, entrelazadas entre sí glucosídicamente. Muchas de ellas, en la degradación hidrolítica, dan junto a glucosa, manosa, galactosa, la hemicelulosa sirve de conexión entre la lignina y las fibras de celulosa y da toda la rigidez a la red de celulosa, hemicelulosa y lignina (Pérez, L. et al. 2005.)

2.2.4 LIGNINA

La lignina representa el 30 % de los componentes del vegetal, es el constituyente intercelular incrustante o cementante de las células fibrosas de los vegetales. Se concentra en la lámina media y funciona prácticamente como relleno para impartir rigidez al tallo de la planta. El segundo elemento en importancia de la composición vegetal, es un heteropolímero amorfo que consta de tres diferentes unidades de fenilpropano (p-coumaril, coniferil y sinapil alcohol) que se mantienen unidos por diferentes enlaces. El heteropolímero amorfo no es soluble en agua y ópticamente inactivo; todo

esto hace que la degradación de la lignina sea muy complicada (Fengel, D. y Wegener, G 1984).

2.2.5 OTRAS SUSTANCIAS

No forman parte de la estructura de la pared vegetal, y la mayoría son solubles en solventes neutros. Los componentes solubles en solventes neutros, representan entre el 4-10% del peso seco de la madera. Hay una gran variedad de compuestos orgánicos, grasas, ceras, alcaloides, proteínas, fenoles simples y complejos, azúcares simples, pectinas, mucílagos, gomas, resinas, terpenos, entre otros. Actúan como intermediarios metabólicos, reserva de energía o parte de los mecanismos de defensa contra los ataques microbianos. Contribuyen al color, olor y resistencia al marchitamiento (Riaño, S. s/f).

2.3 ENZIMAS

Puede definirse a las enzimas como catalizadores, capaces de acelerar las reacciones químicas en ambos sentidos, sin consumirse en ella, ni formar parte de los productos, la diferencia fundamental que tienen gran especificidad de reacción o sea por el sustrato sobre el cual actúan ciertas requieren de ciertos compuestos orgánicos, termoestables para poder cumplir con su función catalítica, estas moléculas se denominan coenzimas, generalmente tiene bajo peso molecular y suelen ser claves en el mecanismo catalítico (Franco, L. 2007).

2.3.1 CONTENIDO ENZIMÁTICO

(Gómez, F. 2008); Las enzimas del complejo celulasas y el mecanismo de la hidrólisis enzimática, han sido agrupadas en tres componentes mayores:

- Endo β -glucanasas ó 1,4- β -glucanglucanohidrolasas, que rompen los enlaces β -glucosídicos en forma aleatoria en el interior de las moléculas de celulosa.

- Exo β -glucanasas ó 1,4- β -glucancelobiohidrolasas, que atacan gradualmente las moléculas de celulosa de los terminales no reductores liberando subunidades de celobiosa.
- β -glucosidasas ó celobiosas , la que hidroliza celobiosas y celodextrinas de bajo peso molecular (celotriosas y celotetrosas) en glucosa.
- Para el caso de la hemicelulosa esta corresponde a un heteropolisacárido, ya que sus ramificaciones están compuestas por más de un tipo de monómeros ó polisacáridos como es el caso de la xilosa (principal constituyente), arabinosa, galactosa, manosa, glucosa y ácido glucorónico, a su vez unidos por un solo tipo de monosacáridos unidos por enlaces β (1-4), que forman cadena lineal ramificada. Entre los cuales destacan la glucosa, la galactosa ó la fructosa (dependiendo del tipo de material a emplear) Por ello, con el fin de aprovechar la fracción hemicelulosa se suelen emplear enzimas tales como xilasas, xilanasas, arabinofuranosidasa, xylosidasa, entre otras.

2.3.2 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Para que los polisacáridos de la biomasa lignocelulósica den lugar a azúcares potencialmente fermentables, se debe someter la biomasa a una etapa de hidrólisis, de los polisacáridos que puede llevarse a cabo con catalizadores ácidos (hidrólisis ácida) o con catalizadores enzimáticos (hidrólisis enzimática), El proceso de producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica basado en la hidrólisis enzimática consta básicamente de las siguientes etapas: pre tratamiento, fermentación y destilación las enzimas, debe alterar las características estructurales de la celulosa, tales como la cristalinidad o el grado de polimerización, y provocar la solubilización y/o redistribución de la lignina (Pejo, E. 2009).

2.3.3 CONDICIONES DE LA HIDRÓLISIS

Deben ser definidas las condiciones de la reacción del proceso de hidrólisis. Las principales variables que determinan el resultado de la reacción son temperatura, pH, relación enzima-sustrato y el tiempo de reacción estos 3 factores determinan la velocidad de reacción y pueden influir en la especificidad de la enzima. El tiempo de reacción solamente determina el grado final de hidrólisis, los efectos interactivos entre los parámetros de la hidrólisis también influyen en la composición del hidrolizado. (Benítez, R. et, al. 2008.)

2.4 PRETRATAMIENTO DEL MATERIAL LIGNOCELULOSICO PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL

Cuando en la etapa de hidrólisis de la lignocelulosa se emplean catalizadores enzimáticos, debido a las características estructurales de este material, el pretratamiento es una etapa crucial , ya que la fuerte asociación de la celulosa con la lignina constituye una verdadera barrera física a la penetración de las enzimas por lo que un pretratamiento efectivo debe disociar el revestimiento que la lignina y la hemicelulosa mismas forman alrededor de la celulosa con el fin de aumentar la accesibilidad de ésta a las enzimas.

El objetivo del pretratamiento es alterar las características estructurales de la celulosa, tales como la cristalinidad o el grado de polimerización, y provocar la solubilización y/o redistribución de la lignina desde un punto de vista económico, existen diferentes tecnologías de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica, que pueden ser clasificadas según su naturaleza como físicos, químicos, biológicos y físico-químicos.

Dentro de los pretratamientos físicos se engloba la molienda que utiliza fuerzas de impacto y cizalla para disminuir la cristalinidad de la celulosa los requerimientos energéticos en este tipo de pretratamientos dependen del tamaño final de partícula que se quiera alcanzar y de la materia prima a pretratar, pero en todos los casos supone altos costes energéticos y de capital.

Los pretratamientos químicos emplean diferentes agentes como el ozono, ácidos, álcalis, peróxido y solventes orgánicos entre los diferentes químicos se tiene el pretratamiento con ácido diluido ha sido el más estudiado y mejora significativamente la hidrólisis enzimática.

Los pretratamientos biológicos implican el uso de microorganismos como los hongos de la podredumbre blanca, parda o blanda, capaces de degradar la lignina y hemicelulosa, el principal inconveniente es que dichos hongos también consumen celulosa, lo que supone un problema para el rendimiento total del proceso, a demás, la lentitud a la que se desarrollan estos procesos supone una desventaja adicional.

El pretratamiento con agua caliente en fase líquida también se muestran como pretratamiento físico-químicos eficientes para la biomasa lignocelulósica este método consiste en someter a la biomasa a agua caliente en estado líquido y alta presión durante un periodo determinado de tiempo de pretratamiento se obtiene una gran recuperación de los azúcares hemicelulósicos y se generan concentraciones bajas de productos de degradación (Cuervo, et, al 2001).

2.4.1 SECADO - DESHIDRATADO

Para la deshidratación del Jacinto de agua y con el fin evitar la descomposición, se empleara un sistema de secado solar, el cual consistirá de las siguientes características y materiales: Una superficie metálica,

preferiblemente de color negro, orientada hacia la dirección del Sol. Una cobertura transparente (vidrio o plástico), que deja pasar la radiación luminosa y que evita el escape del aire caliente., el tiempo de secado será en un lapso de 120 horas, para garantizar un secado adecuado la muestra se cortara en trozos hasta llegar a un espesor de 0,05 a 0.01 m de grosor (Almada, M. 2005).

2.4.2 TRITURACIÓN O MOLIDO.

El material lignocelulósico es fragmentado, triturado y molido (hasta 0.2–2 mm) mediante la utilización de un molino, para aumentar el área de contacto, facilitando el acceso de las celulasas a las fibras de celulosa y aumentando su conversión (Cuervo, L. et, al 2001).

2.4.3 PRETRATAMIENTO QUÍMICO DE LA LIGNOCELULOSA

Esta actividad consiste en el pretratamiento del material lignocelulósico con agua líquida caliente manteniendo el pH entre 4 y 7 a 160 °C durante 20 minutos. Esta metodología alcanza un máximo del 96% eficacia en el proceso de sacarificación que realiza la enzima, su éxito proviene de la alta penetrabilidad que tiene el agua caliente en estado líquido y su incapacidad de solubilizar y degradar la lignina. (Anderson, f. 2009).

2.5 ETANOL – BIOETANOL

El alcohol etílico o etanol de fórmula química C_2H_5OH es un producto químico obtenido a partir de la fermentación de los azúcares que se encuentran en los productos vegetales, esto se lo realiza en ausencia de aire, tales como cereales, remolacha, caña de azúcar o biomasa, estos azúcares están combinados en forma de sacarosa, almidón, hemicelulosa.

Donde las levaduras convierten los carbohidratos en una mezcla de etanol y C donde se formula la siguiente ecuación $C_6H_{12}O_6$ (ac) levadura

$2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}(\text{ac}) + 2\text{CO}(\text{g})$ y actualmente, el bioetanol es el biocombustible con mayor producción mundial, del que se elaboraron más de 40.000 millones de litros durante el año 2004 en todo el mundo. Para su fabricación se pueden utilizar una gran cantidad de materias primas (Monbiot, G. s/f).

2.5.1 FERMENTACIÓN.

Es el proceso químico de producción de bioetanol el cual se basa simplemente en una fermentación, que es un cambio químico en las sustancias de naturaleza orgánica llevado a cabo por la acción de enzimas lo que ocurre, es que las sustancias orgánicas complejas se transforman en otras simples. Llevada a cabo mayoritariamente por levaduras, ya que una de las características más conocida de las levaduras es su capacidad para fermentar los azúcares para la producción de etanol (Lesly, P. et, al 2010).

2.5.2 DESTILACIÓN

La destilación es una técnica de laboratorio utilizada en la separación de sustancias miscibles la cual consiste en hacer hervir una mezcla, normalmente una disolución, y condensar después, por enfriamiento, los vapores que han producido si se parte de una mezcla de dos sustancias en la que sólo una de ellas es volátil, se pueden separar ambas mediante una destilación el componente más volátil se recogerá por condensación del vapor y el compuesto no volátil quedará en el matraz de destilación. Si ambos componentes de una mezcla son volátiles la destilación simple no logrará su completa destilación la mezcla comenzará a hervir a una temperatura intermedia entre los puntos de ebullición de los dos componentes, produciendo un vapor que es más rico en el componente más volátil (de menor punto de ebullición) si se condensa este vapor se obtendrá un líquido enriquecido notablemente en este componente, mientras que el líquido que queda en el matraz estará enriquecido en el componente menos volátil (mayor punto de ebullición). (Guerra, M. 2008).

2.6 IMPACTO AMBIENTAL

Cuando una acción o actividad produce una alteración, favorable o desfavorable, en el medio o en alguno de los componentes del medio. Esta acción puede ser un proyecto de ingeniería, un programa, un plan, una ley o una disposición administrativa con implicaciones ambientales. El término "impacto" no implica negatividad, ya que éstos pueden ser tanto positivos como negativos.

Es la diferencia entre la situación del medio ambiente futuro modificado, tal y como se manifestaría como consecuencia de la realización del proyecto, y la situación del medio ambiente futuro tal como habría evolucionado normalmente sin tal actuación humana y este puede ser positivo o negativo; alto, medio o bajo; puntual, parcial, total o de ubicación crítica; latente, inmediato o de momento crítico; temporal o permanente; irrecuperable, irreversible, reversible, mitigable, recuperable o fugaz; directo o indirecto; simple, acumulativo o sinérgico; continuo, discontinuo, periódico o de aparición irregular; moderado, severo o crítico; entre otros (Mussi, J. 2013.).

2.6.1 IMPACTOS AMBIENTALES CAUSADOS POR EL LECHUGUIN DE AGUA.

2.6.1.1 OXIGENO DISUELTO

El Oxígeno que se encuentra disuelto en el agua proviene, generalmente de la disolución del oxígeno atmosférico (en el aire se encuentra en la proporción del 21%). Siendo un gas muy poco soluble en el agua y además como no reacciona químicamente, su solubilidad obedece a la Ley de Henry, la cual expresa que la solubilidad de un gas en un líquido es proporcional a su concentración o a la presión parcial del gas en la disolución. Entre otros factores que influyen en la solubilidad del oxígeno están los siguientes

2.6.1.2 LA TEMPERATURA Y LA SALINIDAD

Ambos influyen de igual manera, es decir, una menor salinidad y temperatura puede guardar más oxígeno en ella que el agua más caliente y mas salada, a menor temperatura y salinidad, mayor solubilidad presentara el oxígeno.

2.6.1.3 LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA

En el caso de las aguas naturales superficiales, tales como lagos, lagunas, ríos, entre otros, el oxígeno proviene de los organismos vegetales que contienen clorofila o cualquier otro pigmento capaz de efectuar la fotosíntesis. Los pigmentos facultan a las plantas, tanto inferiores como superiores a utilizar la energía radiante del sol y convertir el Dióxido de Carbono (CO₂) en compuestos orgánicos. La energía lumínica procedente del sol, permite que el agua y el Dióxido de Carbono (como única fuente de carbono) reaccionen para producir un azúcar simple (glucosa), desprendiéndose oxígeno como subproducto

Tabla 2.- Lineamientos para la calidad del agua según la OMS.

NIVEL DE OD (ppm)	CALIDAD DE AGUA
0,0 - 4,0	Mala Algunas poblaciones de peces y macro invertebrados empezarán a bajar
4,1 - 7,9	Aceptable
8,0 - 12,0	Bueno
12,0 +	Repita la prueba El agua puede airearse artificialmente.

Fuente.- Organización Mundial de la salud (OMS).

2.6.2 ANALISIS DE pH

El pH indica el contenido ácido en el agua. La escala de pH (mide desde 0,0 a 14,0) es una escala logarítmica de la concentración del ión hidrógeno (H⁺). Soluciones con un pH mayor que 7,0 son clasificadas como básicas y

aquellas que tienen pH menor de 7,0 son ácidas. Un pH de 7,0 es neutro. El pH tiene una fuerte influencia sobre lo que puede vivir en el agua; los organismos acuáticos tienen determinados rangos de pH que ellos prefieren o necesitan para vivir. Salamandras, ranas y otros anfibios, así como muchos macro invertebrados, son particularmente sensibles a los valores extremos de pH. La mayoría de los insectos, anfibios y peces están ausentes en aguas con pH por debajo de 4,0 o por encima de 10,0.

2.6.3 CONDUCTIVIDAD ELECTRICA EN MEDIOS LÍQUIDOS

La conductividad en medios líquidos (Disolución) está relacionada con la presencia de sales en solución, es la capacidad que tiene el agua para conducir electricidad, se mide como la conductividad que existe entre dos electrodos paralelos de 0.01 y 0.02 m de superficie cada uno y separados a 0.01 m, situados en el seno del agua a medir, cuya disociación genera iones positivos y negativos capaces de transportar la energía eléctrica si se somete el líquido a un campo eléctrico. Estos conductores iónicos se denominan electrolitos o conductores electrolíticos. Se expresa en microsiemens /cm ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

2.6.4 MEDIOCIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

Un sistema completo para la medida de conductividad está formado por los siguientes elementos

BÁSICOS:

- Célula de conductividad.
- Sonda de temperatura.
- Instrumento de medida.

El conducímetro mide la conductividad eléctrica de los iones en una disolución. Para ello aplica un campo eléctrico entre dos electrodos y mide la resistencia eléctrica de la disolución. Para evitar cambios en las sustancias.

2.6.5 IMPORTANCIA DE LA CONDUCTIVIDAD

La estimación de la conductividad permite determinar los Solidos Disueltos Totales (TDS) es una medida primaria de la calidad del agua que permite evaluar y dictaminar riesgos para diferentes tipos de y usos de agua, una pobre conductividad indica que el agua es pura y que por lo tanto tiene alta resistencia al flujo eléctrico.

Tabla 3.- lineamiento para calidad en conductividad de agua OMS

CONDUCTIVIDAD ELECTRICA $\mu\text{S}/\text{cm}$	MINERILAZACION
Menor de 100	Muy débil
100 -200	Débil
200-700	Media
700-1000	Importante
Mas de 1000	Excesiva

Fuente: Organización Mundial de la Salud (OMS)

2.6.6 COSTO DE PRODUCCION

Los costos de producción (también llamados costos de operación) son los gastos necesarios para mantener un proyecto, línea de procesamiento o un equipo en funcionamiento. En una compañía estándar, la diferencia entre el ingreso (por ventas y otras entradas) y el costo de producción indica el beneficio bruto.

Esto significa que el destino económico de una empresa está asociado con: el ingreso (por ejemplo; los bienes vendidos en el mercado y el precio obtenido) y el costo de producción de los bienes vendidos. Mientras que el ingreso, particularmente el ingreso por ventas, está asociado al sector de comercialización de la empresa, el costo de producción está estrechamente relacionado con el sector tecnológico; en consecuencia, es esencial que el tecnólogo pesquero conozca de costos de producción, estos se clasifican en dos grupos costos variables y costos fijos.(FAO. 1999).

2.7 COSTOS VARIABLES

Son aquellos que se modifican de acuerdo con el volumen de producción, es decir, si no hay producción no hay costos variables y si se producen muchas unidades el costo variable es alto. Son los costos por "producir" o "vender". Por ejemplo:

Mano de obra directa (a destajo, por producción), Materias Primas directa, materiales e Insumos directos, impuestos específicos, Envases, Embalajes y etiquetas, Comisiones sobre ventas entre otros (Kelly Z. 2011).

2.8 COSTOS FIJOS

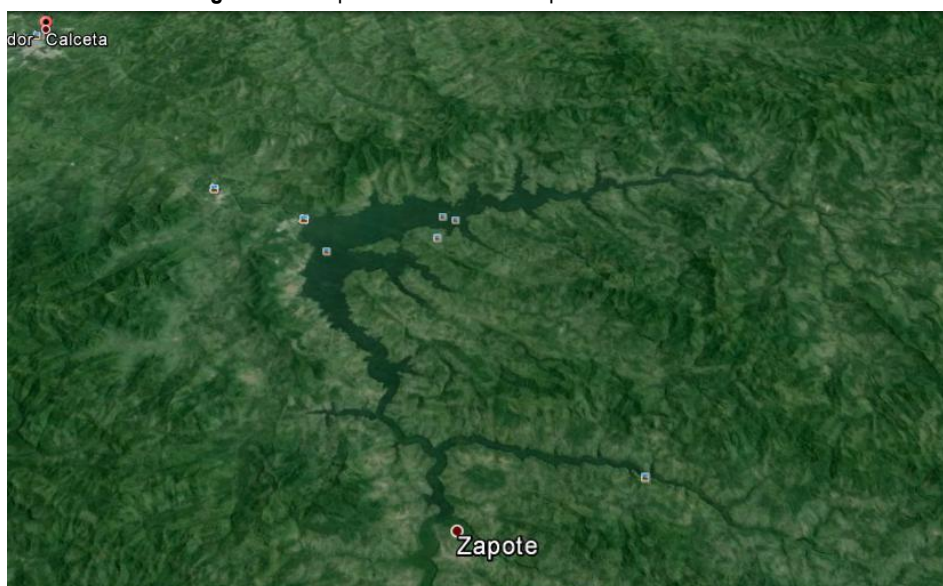
Son aquellos ligados a las características del proyecto y no dependen del volumen de producción o unidades producidas, una vez determinada la decisión de producir un determinado bien o adquirir un activo, necesariamente debe de incurrirse en ellos, es decir, permanecen invariables cualquiera sea el nivel de ventas alcanzado: Alquileres, Amortizaciones o depreciaciones, Seguros, Impuestos fijos, Servicios Públicos (Luz, agua, gas, etc.), (Magdon. 2011).

3 METODOLOGÍA

3.1 UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en el embalse Sixto Duran Ballén ubicada en la microrregión centro norte de Manabí a 11 km de la ciudad de Calceta en la Parroquia Quiroga a $0^{\circ}52'56,99''$ S $80^{\circ}03'51,09''$ O a una elevación de 46 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.).

Fotografía 1.- Mapa referencial de la represa Sixto Duran Ballen.



Fuente.- Google earth versión 2012.

3.2 DURACIÓN DE TRABAJO

El periodo de trabajo tendrá una duración de 12 meses a partir de mayo del 2012, por los procesos de hidrólisis enzimática y de destilación el tiempo de la investigación se extiende 3 meses más.

3.3 DISEÑO METODOLÓGICO

3.3.1 MÉTODO

La siguiente investigación se basa en el método cuantitativo científico el cual consistió en la recolección de datos para definir las acciones y pasos a seguir para llevar a cabo el tema planteado que es: "OBTENCION DE BIOETANOL UTILIZANDO EL JACINTO DE AGUA (Eichhornia crassipe)

PROVENIENTE DE EMBALSE SIXTO DURAN BALLEEN BAJO PROCESO ENZIMATICOS". La parte científica consistió en el análisis de síntesis cuyo fin es el procesar los datos obtenidos, de manera estadística.

3.3.2 TÉCNICAS

Las técnicas empleadas para el desarrollo de la presente investigación fueron:

- Actividades de campo
- Observación
- Experimentación

Las técnicas de investigación consistió en realizar un recorrido al lugar donde se presenta el problema que es la acumulación del Jacinto de Agua en el embalse Sixto duran Ballén, para observar el estado actual del mismo, seguidamente se obtuvo información conceptual primaria sobre el objeto de estudio, mediante el uso de fuentes bibliográficas como libros revistas, folletos, tesis, internet y cualquier otro medio del cual se pudo obtener información, luego para lograr una mejor interpretación de los datos encontrados, se procedió a conversar con personas del lugar que tengan mayor conocimiento sobre el tema, esto como actividad de campo, una vez interpretada la naturaleza en lo concerniente a la temática expuesta, se realizo las actividades de laboratorio de manera experimental sobre el objeto de estudio que es el Jacinto de Agua, para lo cual se desarrollo un diseño completamente al azar (DCA) donde se aplicarán las condiciones adecuadas para las variables de estudio, se manipularon condiciones recomendadas para las actividades de pre-tratamiento físico de las muestras para la posterior hidrólisis enzimática, fermentación y destilación con el fin de obtener bioetanol del Jacinto de Agua.

3.3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el proceso de hidrólisis enzimática se realizó un diseño experimental unifactorial (DCA), el cual estará estructurado de la siguiente manera:

3.3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL DCA

3.3.4.1 ARREGLO FACTORIAL DE TRATAMIENTOS:

El factor de estudio fue la dosis del microorganismo (*Trichoderma arzzianun*) sobre el Jacinto de Agua (*Eicchornia crassipes*).

Número de tratamiento: 3

Número de repeticiones: 8

Tabla 4.- Planteamiento de tratamientos en estudio

CONCENTRACION DE <i>Trichoderma harzianun</i> (m ³ /Kg)
1,5 x 10 ⁻⁶ m ³ (<i>Trichoderma harzianun</i>) / 0.1 Kg de Jacinto de agua
3,5 x 10 ⁻⁶ m ³ (<i>Trichoderma harzianun</i>) / 0.1 kg de Jacinto de agua
4,5 x 10 ⁻⁶ m ³ (<i>Trichoderma harzianun</i>) / 0.1 Kg de Jacinto de agua

Fuente: (Terán, J. y Solórzano, P. 2013).

3.3.4.2 DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL

La presente investigación se desarrolló bajo un modelo de diseño experimental completamente al azar cuyo arreglo factorial es T+1 con un total de tres tratamientos y ocho replicas para cada tratamiento, la unidad experimental a manejar para cada tratamiento fue una muestra de 0.1 Kg de Jacinto de agua. Una vez que se desarrolló el experimento, los resultados fueron procesados con el programa estadístico especializado InfoStat.

3.3.4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables de respuestas en la presente investigación serán procesadas y analizadas de manera estadística.

3.3.4.4 ANÁLISIS DE VARIANZA

3.3.5 ADEVA

Tabla5. – Esquema del análisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad (n-1)
Total $(r * t) - 1$	23
Tratamiento $(t - 1)$	2
Error $t(r - 1)$	21

Fuente: Terán, J. y Solórzano, P. 2013.

3.3.5.1 ANÁLISIS FUNCIONAL

La variable sometida a estudio mediante el arreglo factorial se medio e interpreto de manera estadística, para lo cual se aplico la prueba de Tukey al 95 % de probabilidad, se obtuvo así la media entre tratamientos; de igual manera se comprobó la variabilidad de los datos obtenidos con respecto a la varianza.

3.3.6 VARIABLES EN ESTUDIO

3.3.6.1 VARIABLE INDEPENDIENTE

- Contenido de lignocelulosa en el Jacinto de Agua (*Eicchornia crassipes*).

3.3.6.2 VARIABLE DEPENDIENTE

- Obtención de grados de alcohol

3.3.7 PROCESO EXPERIMENTAL DEL OBJETO DE ESTUDIO

3.3.7.1 PROCEDIMIENTO

Para la ejecución de la presente investigación se determino 3 fases que se describen a continuación.

3.3.8 FASE I.- SACARIFICACIÓN DEL MATERIAL LIGNOCELULOSICO MEDIANTE PROCESO ENZIMÁTICO.

Como primera actividad para la ejecución del presente objetivo se realizo una visita técnica al Embalse Sixto Duran Ballen, con el fin de realizar un reconocimiento y delimitar los puntos de muestreo para la georreferenciación con ayuda de un GPS Garmin modelo Etrex con una precisión de 1 a 2 m.

Foto 2: toma de puntos de georreferenciación



Luego se procedió a realizar la extracción de la planta Jacinto de Agua, de cada uno de los puntos muestreados, una vez que se extrajo la cantidad necesaria se tomo el peso en estado húmedo para determinar el porcentaje de humedad, como siguiente paso las plantas fueron sometidas a un pretratamiento físico, para lo cual las muestras fueron trasladadas al ato bovino de la Universidad Técnica de Manabí y con ayuda de una picadora de pasto modelo ggS 2.0 de 4 Hp de potencia, las plantas fueron picadas hasta obtener un tamaño de 0.003 a 0.03 m, el siguiente pretratamiento consistió en el secado de las muestras, el consistió en un pre deshidratado, donde estas fueron colocadas y esparcidas en un tendal de plástico negro de 3 m de largo por 2 m de ancho, durante un periodo de 384 horas a un

secado natural, para realizar una deshidratación completa las muestras fueron trasladadas hasta los laboratorios de química general de la ESPAM MFL donde se colocaron en una estufa de esterilización a 80 °C durante 24 h, como último proceso, fueron pasadas por un molino manual, tolva baja y cernido en un tamiz de 35 micras para homogenizar las partículas, luego fueron preparadas y se conservaron en fundas plásticas para su futura utilización.

Fotografía 3: Molido de la muestra en molino manual



Como parte de esta fase se realizó los respectivos análisis bromatológicos (celulosa, lignina, alcohol benceno) para lo cual se envió una muestra de 0.07 Kg de la planta al laboratorio de alimentos y biotecnología de la Escuela Politécnica Nacional en la ciudad de Quito, donde se realizaron los análisis de celulosa por el método TAPPI T-1717 m-55, lignina por el método TAPPI T-13-0S-54, solubilidad alcohol benceno TAPPI T-60S-59 y humedad para análisis TAPPI T-412-M. (Ver anexo 1).

3.3.9 FASE II.- OBTENER ALCOHOL DEL MATERIAL LIGNOCELULÓSICO MEDIANTE FERMENTACIÓN

3.3.9.1 HIDROLISIS

Se efectuaron pruebas pilotos con el microorganismo *Trichordema arzzianun* a diferentes grados de humedad, dosis y tiempo de reacción, con el fin de establecer el mejor método idóneo para realizar el proceso de hidrólisis para lo cual se realizaron los procesos de fermentación y destilación para determinar el grado de alcohol.

Una vez que se obtuvieron los resultados mediante las pruebas piloto se logro establecer un diseño experimental anteriormente suscrito.

El proceso de hidrólisis se lo realizo en recipientes plásticos previamente esterilizados mediante un autoclave, las muestras fueron pesadas en una balanza analítica 0.1 Kg de materia seca para cada unidad experimental, la cual se le ajusto una humedad del 70 % a cada una de las unidades experimentales y diferentes dosis del microorganismo (*Trichoderma arzzianun*), sometidas a un mismo tiempo de reacción (120 horas) con una temperatura ambiente.

Para realizar la sacarificación de las muestras de la Planta de Lechuguin, estas fueron adecuadas a nivel de laboratorio, se pesaron 0.1 Kg de muestras y se depositaron en un recipiente plástico, 24 en total, se adecuo la humedad al 60 % luego se llevo al autoclave por 0.25 horas, en un transcurso de 24 horas se realizo la siembra del microorganismo (*trichordema Arzzianun*), este proceso se llevo a cabo en un periodo de 120 horas. (Ver anexo 2).

3.3.10 FERMENTACIÓN

La fermentación anaerobia se la realizo en embases plásticos con capacidad para 0.002 m³ en el cual se colocaron 0.001 m³ de agua esterilizada, se utilizo todo el material hidrolizado, se inoculo a fin de dejar en suspensión las muestras luego se coloco 0.01 Kg de levadura

(*Sacharomyze cervicceae*), se agito con el fin de homogenizar el hidrolizado y la levadura y se dejo por un periodo máximo de 840 horas.

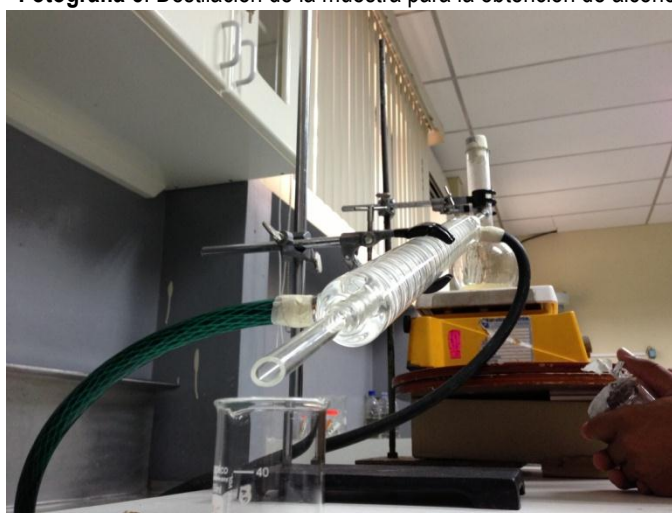
Fotografia 4: Fermentación de las muestras de lechuguin de agua



3.3.11 DESTILACIÓN.

El material fermentado fue filtrado en una tela con el fin de obtener solo el residuo liquido, se medio su volumen y en un sistema de destilación de laboratorio se uso 0.00025 m^3 de muestra en un balón de destilación de vidrio pirex 0.001 m^3 de capacidad, acoplado aun refrigerante con recirculación de agua fría, el destilado se colecto en un vaso de precipitación de 0.0001 m^3 , una vez recolectados los 0.0001 m^3 de destilado se realizo la prueba de alcohol utilizando el alcoholímetro de Gay Lussac.

Fotografia 5: Destilación de la muestra para la obtención de alcohol



3.3.12 FASE III.- DETERMINAR EL IMPACTO AMBIENTAL EN EL APROVECHAMIENTO DEL LECHUGUIN DE AGUA

Para determinar el impacto ambiental que se genera al extraer la planta del Lechuguin de agua, se realizaron pruebas físicas y químicas al agua de donde se retiró la planta, se tomó una muestra del líquido a una profundidad aproximada de 0.003 m, se la almacenó en una botella de vidrio de 0.002 m³ de capacidad y fueron transportadas hasta los laboratorios de química general de la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA AGROPECUARIA DE MANABI "MANUEL FELIX LOPEZ" los análisis que se realizaron fueron los siguientes: Oxígeno disuelto, conductividad y pH, estos como principales indicadores de calidad para riego y desarrollo de vida en agua dulce.

3.3.12.1 ANALISIS DE OXIGENO DISUELTO

El análisis de cantidad de oxígeno disuelto de la muestra de agua obtenida del Embalse Sixto Duran Ballen se lo realizó por medio del método volumétrico con Hiposulfato, mismo que consiste en titular la muestra con el reactivo tiosulfato al 0.01 N, hasta obtener un color amarillo claro, con el volumen consumido se realizan los cálculos correspondientes. (Ver anexo 3).

3.3.12.2 DETERMINACION DE pH

Para medir el pH se procedió a llenar un vaso de precipitación de 5×10^{-3} m³ para luego introducir el electrodo a unos 0.002 m del vaso agitando suavemente hasta conseguir una lectura estable, este procedimiento se lo realizó 2 veces para conseguir un valor real. (Ver anexo 3).

3.3.12.3 MEDICION DE CONDUCTIVIDAD

Para realizar el análisis de conductividad eléctrica se empleó un conductivímetro marca ATC modelo ATC HI 9835, se colocó 0.0001 m³ de

agua en base de precipitación y se introdujo los dos electrodos en la muestra (Ver anexo 3)

3.3.13 FASE IV.- ANÁLISIS ECONÓMICO DEL PROCESO

Se utilizo el costo de producción, se tomaron en cuenta todos los gastos utilizados para la obtención del producto, se lo clasifico en tres factores de producción según lo detalla el método que son los siguientes.

- materia prima
- mano de obra directa
- gasto de producción

La suma de estos tres factores proporcionó el costo económico total para la obtención del producto.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 FASE I.- REALIZAR LA SACARIFICACIÓN DEL MATERIAL LIGNOCELULOSÍCO MEDIANTE PROCESO ENZIMÁTICO

4.1.1 Primera actividad

Como primera actividad para la ejecución del presente objetivo se realizó una visita técnica al Embalse Sixto Duran Vallen, donde se establecieron tres puntos de muestreo del cual se extrajeron las muestras de la planta de Lechuguin de Agua (*Eichhornia crassipes*). (ver Anexo 1).

Tabla 6.- Coordenadas de puntos de muestreo

PUNTO	COORDENADAS UTM	M.S.N.M
PUNTO A	9901725 - 0604300	45
PUNTO B	9401920 - 0603300	48
PUNTO C	9901912 - 0613200	53

Fuente.- Terán J. y Solórzano S. 2012

4.1.1.1 Segunda actividad

Como segunda actividad se tomó el peso de las muestras y se realizaron los pertinentes pretratamientos físicos con el fin de adecuar las muestras para ejecutar los respectivos análisis físicos – químicos. (Ver anexo 2).

Tabla 7.- Peso de las muestras de Jacinto de Agua (*Eichhornia crassipes*).

MUESTRA	PESO HUMEDO	UNIDADES
PUNTO 1	126	Kg
PUNTO 2	100	Kg
PUNTO 3	88	Kg
TOTAL	314	Kg

Fuente.- Terán. J, y Solórzano, S 2012

Se obtuvo un total de 314 kg de muestra húmeda, por cada metro cuadrado se extraía aproximadamente de 12 a 14 kg, esto varía según al tamaño de la planta y a la cantidad de material en suspensión que existía en la raíz, luego de realizar el picado de las plantas, como parte del primer pretratamiento físico, el peso se redujo significativamente quedando un total de 125 kg.

4.1.1.2 Tercera actividad

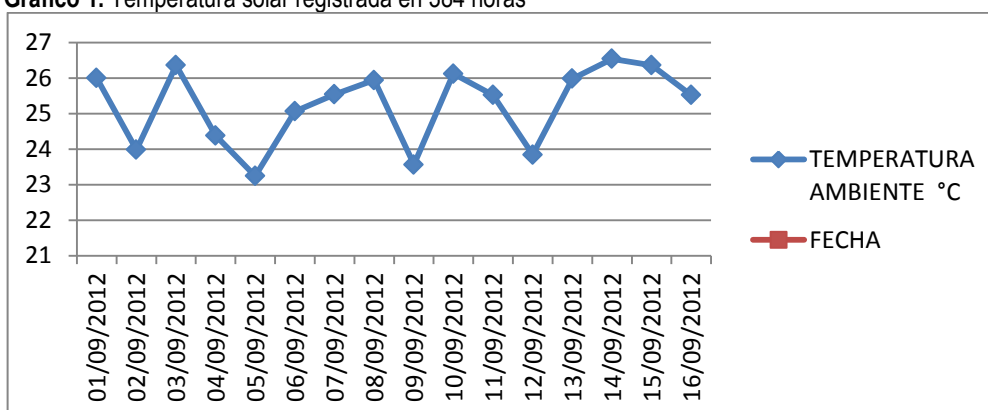
Como tercera actividad las plantas fueron sometidas a un proceso de secado natural aprovechando la energía solar.

Tabla 8.- Temperatura solar registra en 384 horas

DIAS	FECHA	TEMPERATURA AMBIENTE °C
1	9/1/2012	26
2	9/2/2012	23.98
3	9/3/2012	26.36
4	9/4/2012	24.38
5	9/5/2012	23.24
6	9/6/2012	25.06
7	9/7/2012	25.54
8	9/8/2012	25.94
9	9/9/2012	23.56
10	9/10/2012	26.12
11	9/11/2012	25.52
12	9/12/2012	23.84
13	9/13/2012	25.98
14	9/14/2012	26.54
15	9/15/2012	26.36
16	9/16/2012	25.52
PROMEDIO		25.24

Fuente.- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI) 2012.

Grafico 1. Temperatura solar registrada en 384 horas



Fuente.- Teran J, y Solorzano S. 2012.

Durante los 384 horas que se sometió la muestra al proceso de secado solar, existió un promedio de 25 °C de temperatura lo cual influyo en la perdida de humedad, el peso que se registro luego de este periodo fue de

15 kg en las actividades de deshidratado y molido las muestras presentaron cambio de peso quedando un total de 6 kg de masa.

4.1.1.3 Cuarta actividad

Adecuada ya la muestra se procedió a realizar los respectivos análisis físicos químicos.

Tabla 9.- Composición del Jacinto de Agua (*Eichhornia crassipes*)

MUESTRA	ANALITO	UNIDAD	RESULTADOS
Jacinto de agua	Humedad para análisis	%	5.15
	Solubilidad alcohol-benceno	%	11.24
	Lignina	%	19.13
	Celulosa	%	40.24
	Humedad total	%	99.33

Fuente.- Johnny T y Pablo S 2012.

Los resultados que se obtuvieron en Lignina y celulosa son de 19.13 % de y 40.24 % respectivamente, estos dos carbohidratos son los principales componentes para que se de origen a la obtención de alcohol, mediante el proceso de hidrólisis son los que se sacarifican hasta obtener azúcares reductores, realizando una comparación con la cantidad que obtuvo Alomia, A. (Tabla 1 del marco teórico) que es 6.98 % en celulosa y 34.8 % en lignina, los valores que se muestran en la tabla 9 son muy significativos y alentadores para la investigación.

4.1.2 FASE II.- OBTENER BIOETANOL DEL MATERIAL LIGNOCELULÓSICO MEDIANTE FERMENTACIÓN

4.1.2.1 FERMENTACIÓN

Para realizar la fermentación, a las muestras se le coloco 0.001 ml de agua dejándolas en suspensión, luego se incorporo 0.1 kg de levadura (*saccharomyces cerevisiae*) comercial a cada muestra.

Tabla 10.- Detalle de fermentación

TRATAMIENTOS	TIEMPO DE FERMENTACIÓN	CANTIDAD DE LEVADURA
T1	480 horas	0.01 kg
T2	684 horas	0.01 kg
T3	840 horas	0.01 kg

Fuente.- Teran J y Solorzano S 2013.

La fermentación se la realizo en total de 840 horas, en 480 horas se paró el proceso del primer tratamiento, a los 648 horas el segundo tratamiento y por último el tercer tratamiento a los 840 horas.

4.1.2.2 DESTILACIÓN

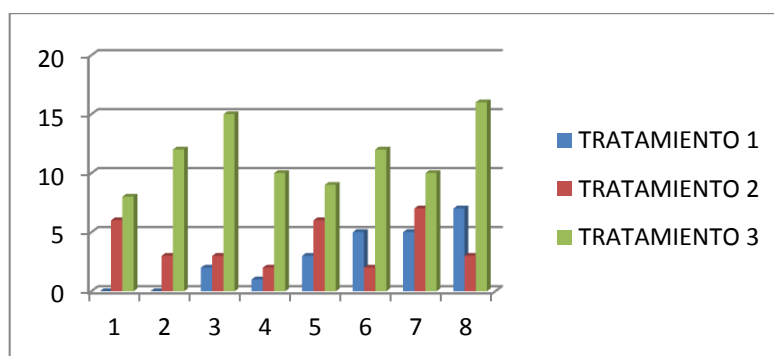
La destilación de alcohol se llevo a cabo en un equipo simple de destilación los resultados obtenidos se midieron mediante el alcoholímetro de Gay Lussac.

Tabla 11.-Resultados de contenido grados de alcohol

MUESTRA	GRADOS DE ALCOHOL		
	TRATAMIENTO 1	TRATAMIENTO 2	TRATAMIENTO 3
1	0	6	8
2	0	3	12
3	2	3	15
4	1	2	10
5	3	6	9
6	5	2	12
7	5	7	10
8	7	3	16

Fuente.- Johnny T. Y Pablo S. 2013

Grafico 2. Grados de alcohol



En la grafico 4 se expresan los resultados de alcohol que se obtuvo y donde las barras indican que el mejor resultado se dio en el tratamiento 3 de la réplica 8, lo cual indica que el tiempo y la concentración de levadura influye de manera positiva en el proceso de fermentación.

4.1.2.3 ANÁLISIS DE VARIANZA

Tabla 12. Análisis de Varianza

.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
modelo	351.75	2	175.88	28.22	<0.0001
Tratamiento	351.75	2	175.88	28.22	<0.0001
Error	130.88	21	6.23		
Total	482.63	23			

4.1.2.4 PROMEDIO DE ACOHOL

Tabla 13.- Promedios de alcohol de los diferentes tratamientos.

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	E.E.	CATEGORIA	
T3	11.5	8	0.88	A	
T2	4	8	0.88		B
T1	2.88	8	0.88		B

El análisis de varianza permitió detectar que no hubo diferencia significativa entre los dos primeros tratamientos con respecto el tercero, en cuanto a las replicas los valores de grados alcohol, en el tercer tratamiento son el de mayor eficiencia con respecto a los dos primeros.

4.1.3 FASE III.- DETERMINAR EL IMPACTO AMBIENTAL POSITIVO EN EL APROVECHAMIENTO DEL LECHUGUIN DE AGUA

Tabla 11.-Parametros de calidad de agua a causa del Lechuguin de agua

PARAMETRO	UNIDADES	AGUA CON LA PRESENCIA DEL LECHUGIN
Conductividad	$\mu\text{S/cm}$	500
Oxigeno Disuelto	PpmO ₂ /L	3.36
Ph		7.8

Fuente.- Johnny T y Pablo S 2013.

Los resultados obtenidos en los análisis de agua para determinar su calidad como parte del componente ambiental, el oxígeno disuelto dio un resultado de 3.36 ppm / O₂, haciendo una comparación con lineamientos para la calidad del agua según la OMS, este valor incide en que algunas poblaciones de peces y macro invertebrados desaparezcan, debido a que existe una cantidad insuficiente de oxígeno disuelto, esto se origina debido a que al acumularse la planta, cubre la capa superficial del agua evitando que el oxígeno del ambiente haga contacto con la misma, sumado a esto la planta también aporta con una gran carga de materia orgánica al momento de su descomposición, que a la vez genera malos olores y producción de gas metano. El valor de pH que es de 7.8 que da una tendencia alcalina lo cual es un valor normal para este tipo de aguas, y puede para diversos usos agrícolas, en la conductividad eléctrica dio un valor de 500 $\mu\text{S/cm}$, (micro siemens sobre centímetro) lo cual según a la tabla 3 (Marco teórico) los lineamientos para la calidad en conductividad de agua según la OMS, indica que esta dentro parámetros de Moderados, esto se asocia a las escorrentías que se genera en los ríos que alimenta al embalse.

El crecimiento del Lechuguin de agua es de entre 0.1 y 0.5 kg de biomasa por metro cuadrado por día, esto da entre 400 y 1700 toneladas por año, lo que equivale entre 20 a 120 Toneladas por año de materia seca en una hectárea, 1 Kg de masa en descomposición produce en promedio 0.04 m³ de gas metano en 24 horas, una hectárea de Lechuguin de agua genera un aproximado de 36.28 m³ en 24 horas, de gas metano siendo un potencial contaminante ambiental si no se aprovecha la planta de forma adecuada.

4.1.4 FASE IV.- REALIZAR ANALISIS ECÓNOMICO DEL PROCESO

Tabla 12.-Costo de Materia Prima

CANTIDAD	RUBRO	PRECIO UNIT.	PRECIO TOTAL
1	Transporte terrestre	\$10	\$10.00
1	Transporte fluvial	\$10.00	\$10.00
2	Mano de obra (dia)	\$10.00	\$20.00
TOTAL			\$ 40.00

Tabla 13.-Costo de Mano de Obra

CANTIDAD	MEDIDA	DETALLE	PRECIO UNIT.	PRECIO TOTAL
2	Kw/hora	PICADO	\$1.00	\$2.00
24	Kw/hora	DESHIDRATADO	\$0.90	\$21.06
2	Mano de obra	MOLIDO	\$10.00	\$20.00
TOTAL				\$43.06

Tabla 14.-Costo de Gasto de Producción

CANTIDAD	MATERIALES	PRECIO UNIT,	PRECIO TOTAL
1	Cinta de papel	\$0.90	\$0.90
1	Caja de guantes	\$5.00	\$5.00
24	Recipiente de vidrio	\$0.30	\$7.20
24	Recipientes Plásticos	\$0.15	\$3.60
8.80 Kw/h	Consumo energético	\$0.04	\$3.52
12 m ³	Gasto de agua	\$0.35	\$4.20
1	Levadura Sacharomicce Serviceae	\$5.00	\$5.00
1	Medio de cultivo	\$15.00	\$15.00
TOTAL			\$44.42

Ecuación para determinar el costo de Producción.

$$CP = MP + MOD + GP$$

$$CP = 40.00 + 43.06 + 44.42$$

$$CP = 127.48$$

El costo de producción para obtener 0.005 m^3 de bioetanol procesando 70 kg de Lechuguin de Agua con los procesos de extracción y pretratamiento es de \$ 127.48 dólares americanos.

Omitiendo los costos de extracción, transporte y proceso de pretratamiento a las plantas, tomando en cuenta solo el trabajo de laboratorio el costo en obtener los 0.005 m^3 de bioetanol sería de \$ 44.42 dólares americanos.

Una comparación en costos con el combustible de marca súper comercializado en el País y que su valor no supera los \$ 2.50 dólares, existe una diferencia significativa con el costo del bioetanol obtenido del Lechuguin de agua.

El beneficio ambiental que genera aprovechar este recurso es que desde el proceso de extracción se disminuye la emisión de gases, el motor de un vehículo emite aproximadamente $0,17 \text{ kg}$ de CO_2 por $0.001 \text{ m}^3/\text{km}$ de recorrido mientras que 0.001 m^3 de bioetanol emite $0,12 \text{ kg}$ de CO_2 por km de recorrido y a su vez disminuye la generación de metano que existe en la descomposición de la misma.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- El contenido de lignina (% 19.13) y celulosa (40.24) de la planta Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) son concentraciones adecuadas y fuente importante de carbohidratos para realizar un proceso de sacarificación.
- Con el pretratamiento físico realizado a las plantas se logro adecuar muestras manipulables a nivel de laboratorio.
- La prueba piloto realizada con el microorganismo *Trichoderma Arzzianun* permitió establecer condiciones y método adecuado para la obtención de alcohol de la planta Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) .
- El tratamiento numero tres (T3) a una concentración de 4.5 ml de (*Trichoderma Arzzianun*) en 100 gr de muestra de Jacinto de agua por un tiempo de 5 días permitió obtener los mayores porcentaje de presencia de alcohol.
- En el proceso de fermentación de las muestras del Jacinto de agua hidrolizadas en periodo de tiempo de 35 días dio un rendimiento de 16 grados de alcohol.
- El uso de esta especie de planta puede ser una alternativa para la obtención de energía, ya que no atenta a la soberanía alimentaria, su control podría superar muchos problemas ambientales, económicos y sociales.
- Al extraer la planta del agua y aprovecharla para cualquier proceso o actividad se convierte en un impacto ambiental positivo ya que al estar presente en el agua baja el nivel de oxigeno disuelto lo que atenta a la supervivencia de microorganismos.
- El costo de producción de bioetanol es elevado comparado al costo del combustible obtenido de los recursos no renovables.

5 RECOMENDACIONES

- Es recomendable poder realizar el proceso de de hidrólisis con un producto enzimático específico para obtener un mayor rendimiento y grados de alcohol.
- Se puede utilizar los residuos resultantes de la fermentación como un sustrato para abonos organicos.
- Para disminuir el costo de producción se recomienda poder realizar todo los procesos en mismo lugar y cercano al sitio de donde se obtiene la materia prima.

6 BIBLIOGRAFIA

- Anderson, F. 2009. Pretratamiento de la celulosa y biomasa para la sacarificación, Universidad del Quindío, Scientia et Technica Año XV, No 42, Universidad Tecnológica de Pereira.
- Almada, M., Cáceres, M. Machaín, S. Claude, P. 2005. Guía de uso de secadores, solares para frutas, legumbres, Hortalizas, plantas medicinales y carnes, Fundación Celestina Pérez de Almada, Asunción, Paragua.
- Alomía, A., Peña, J., Bolaños, B., Pedraza, G. 2011. Efecto de la actividad del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. en la calidad de compost elaborado a partir de *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms-Laubach y estiércol bovino. Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Universidad del Valle, Calle 13 No 100-00 Cali-Colombia, Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria (CIPAV). Cali, Colombia
- Cortínez, V. 2010. Comparación de pretratamiento en residuos forestales para la producción de bioetanol de segunda generación: hidrólisis ácida y líquidos iónicos. Universidad de Chile Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas Departamento de Ingeniería Química y Biotecnología.
- Cuervo, L. Folch, G., Quiroz, R. 2001. Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para la Producción de Etanol. 1 Centro de Investigación

en Biotecnología, UAEM. Instituto de Biotecnología, UNAM. Col. Chamilpa, Cuernavaca, Mor. 62209, México.

- Cruz, A. 2011Cómo convertir la plaga de lirio acuático en azúcar o bioetanol, Universidad Autónoma Metropolitana de México.
- Dreher, L. 2001. L. Handbook of Dietary Fiber. University of California, Berkeley Department of Nutritional Sciences and Toxicology Berkeley, CA. Marcel Dekker, New York.
- Diario hoy. 1995 Sixto Inauguro presa la esperanza en Manabí. Publicado el 16/Diciembre/1995 | 00:00 En la ciudad de Guayaquil.
- Favela, E. 2008 Gaceta Innovación. Foro Consultivo Científico y Tecnológico AC Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa tomado de la pagina: <http://www.pcti.gob.mx/eses/comunicados/Paginas/20110803LirioAcuaticodePlagaaMatPrima.aspx>.
- Guerra, M. Mallen, W. Struck, G. Varela, V. 2008 Destilación Simple Laboratorio de Procesos de Separación, Universidad Iberoamericana de México D.F
- Gómez, F. (2008). Métodos secuenciales de pretratamiento químico y enzimático de residuos agrícolas para la producción de metano.

(Tesis Doctoral). San Luis de Potosí – México. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C

- Hernández M. (1997) Decoloración de efluentes alcalinos de industrias papeleras por *Strptomycesspp*,: aspectos químicos y enzimáticos. Tesis doctoral.Universidad de Alcala de Henares.
- Krishna, S. . Reddy, J. Chowdary, G. 2001 . Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic wastes to ethanol using a thermotolerant yeast. *Bioresource Technology*.
- Lesly P. Tejada, Candelaria Tejada, Ángel Villabona, Mario R. Alvear, Carlos R. Castillo, Daniela L. Henao, Wilfredo Marimón, Natali.
- Madariaga, Arnulfo Taró 2010. producción de bioetanol a partir de la fermentación alcohólica de jarabes glucosados derivados de cáscaras de naranja y piña. Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, (Colombia). *Revista de educación en ingeniería*.
- Malagon, M. 2008. Hidrólisis enzimática de la celulosa de residuos vegetales, por medio de celulasas par a producción de bioetanol, revista de investigación. *Universidad americana*, volumen 1.
- Martinez, M. 2005. Manual para la cria masiva de *Neochetinaspp* utilizado en el control biológico de lirio acuatico.

- Monbiot, G. s/f. contará con la primera planta del mundo para reconvertir los residuos cítricos, iniciativa basada en las investigaciones de los profesores de la Universidad Politécnica de Valencia. *Cómo parar el calentamiento global*. Barcelona: RBA libros. ISBN 978-84-9867-053-0. Tomado de la página <http://www.cpi.upv.es/en/noticias-y-eventos/noticias-y-eventos-cpi/i/22327/163/>.
- Willian, M. 2005. Proceso de la Investigación, Los conceptos básicos de la investigación. Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Pérez, L. et al. 2005. Teymouri, F., Alizadeh, H., y Dale, B.E. (2005). Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 124 (1-3): 1081–1099
- Ragauskas J, Williams CK, Davison BH, Britovsek G., Cairney J, Eckert, C., Frederick W, Hallett JP, Leak J., Liotta, C., Mielenz J., Murphy, R., Templer, R., Tschaplinski T. 2006. El camino adelante para biocombustible y biomateriales. School of Chemistry and Biochemistry, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA 30332, USA *Science*. 2006 Jan 27;311(5760):484-9
- Riaño, S. Gutiérrez, M. Muñoz, H. y Barrero, C. s/f. Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos, *Revista Tumbaga* 2010 | 5 | 61-9
- Pejo, E. 2009. Bioetanol de paja de trigo estrategias de integración de las etapas del proceso. Tesis doctoral universidad Complutense de Madrid.

Madrid facultad de ciencias biológicas Departamento de Microbiología
III.

- Pérez, A. et al . 2010. Evaluación del buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) como fuente de materia prima para la obtención de etanol Universidad EAFIT. Grupo de Investigación en Procesos Químicos y Biotecnológicos (GIPAB) Semillero de Investigación Ambiental (SIAM). Revista de la Asociación Latinoamericana de Estudiantes de Ingeniería Química y Ramas Afines Volumen 1, Número .
- Quiroz, A. et. al. 2008. Estudio comparativo de algunas variables fisicoquímicas del agua en canales secundarios de xochimilco con y sin *Eichhornia crassipes*. Instituto Politecnico Nacional Distrito Federal Mexico.
- Robles, W. 2009. Jacinto de agua (*Eichhornia crassipe*). Aquatic Ecosystem Restoration Foundation (AERF). Biology and Control of Aquatic Plants: A Best Management Practices Handbook. Universidad de Puerto Rico, Mayagüez.
- Soto, L. S/F. Metodología de Investigación de Campo Ensenada, BC, México. Tomado el 8 de Enero del 2011.

- Torres, M y Vargas, M. 2011. Modificación enzimática de la fibra dietaria del pergamino de café (*Coffea arabica* L.). Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos 1 (2): 262-271
- Vanegas, M y Zapata, M. s/f. aislamiento de levaduras capaces de producir alcohol a partir de macrofitas acuáticas extraídas mecánicamente de la laguna Fuquene. Pontificia universidad javeriana facultad de ciencias , Bogotá.

7 ANEXO

7.1 ANEXO 1

VISITA AL EMBALSE SIXTO DURAN BALLEEN, GEORREFERENCIACIÓN
Y EXTRACCIÓN DE LA PLANTA

ACUMULACION DEL JACINTO DE AGUA



TOMA DE COORDENADAS



EXTRAXCION DE LAS PLANTAS DE JACINTO DE AGUA



PESO DE LAS MUESTRAS HUMEDAS



PICADO



SECADO SOLAR



DESHIDRATACIÓN DE LAS MUESTRAS EN ESTUFA



MOLIDO Y PULVERIZADO



ALMACENADO



ANALISIS BROMATOLOGICOS



ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB)
 Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte
 Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138
 Personas de Contacto: Dra. Irma Paredes. Telf.: 2507 144 ext. 2490 e-mail: Irma.paredes@epn.edu.ec
 Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: elisabeth.venegas@epn.edu.ec
 Quito- Ecuador



INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS O TRABAJO

ORDEN: DC-OT 0086-2012

IDENTIFICACIÓN DE LA(S) MUESTRA(S) Y SERVICIO (S)


No. muestra	ID Muestra	Muestra	Servicio/Analito	Laboratorio
1	DC-MU0660	JACINTO DE AGUA	Humedad para análisis; solubilidad en alcohol benceno; contenidos de lignina y celulosa	ENVASE Y EMBALAJE PULPA Y PAPEL

RESULTADOS

Muestra-ID Muestra	Servicio/Analito	Resultado	Unidades	Método
JACINTO DE AGUA ca (DC- MU0660)	-Humedad para análisis	5,15	%	TAPPI T-412-m(6)
	-Solubilidad alcohol – benceno	11,24	%	TAPPI T- 60S-59
	-Lignina	19,13	%	TAPPI T-13 - 0S -54
	- Celulosa	40,24	%	TAPPI T- 1717 m -55

COMENTARIOS:

PROFESIONAL RESPONSABLE
DEL ANÁLISIS


Ing. Osw3aldo Acuña G
QUEJAS Y SUGERENCIAS

AUTOMÁTICAMENTE ENTENDIDA
JEFATURA



Ing. Gastón Guerra

7.2 ANEXO 2

HIDROLISIS

PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO,
REPRODUCCION Y SIEMBRA DEL MICROORGANISMO
EN LAS MUESTRAS DE JACINTO DE AGUA (*Trichoderma*
harzianum)

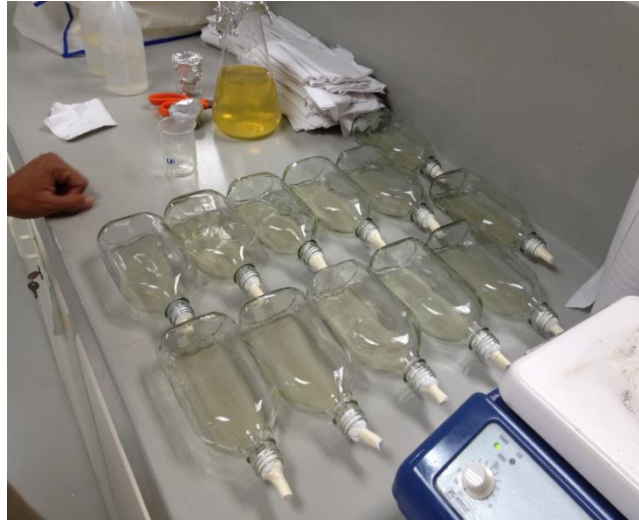
PREPARACION DE RECIPIENTES



PREPARACION DE MEDIO CULTIVO



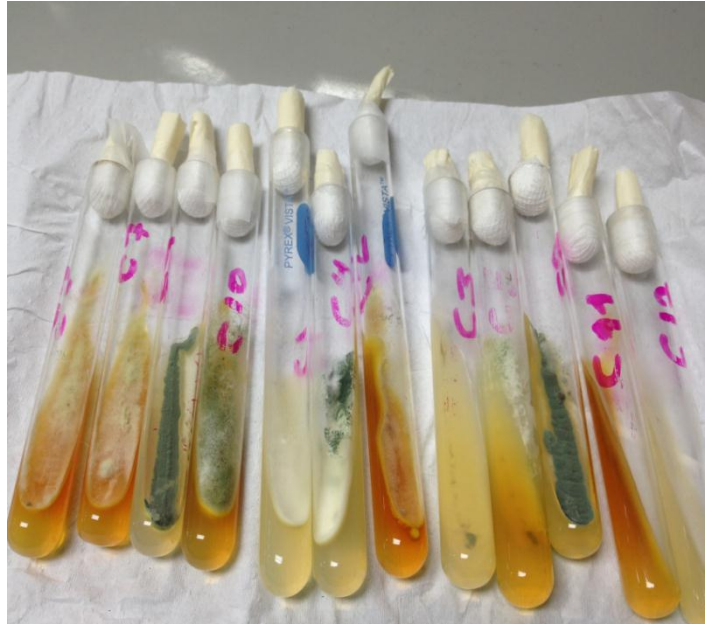
MEDIOS DE CULTIVOS



SIEMBRA DE MICROORGANISMO (*Trichoderma arzzianum*)



CEPAS DE MICROORGANISMO



SIEMBRA DE MICROORGANISMO EN EL JACINTO DE AGUA

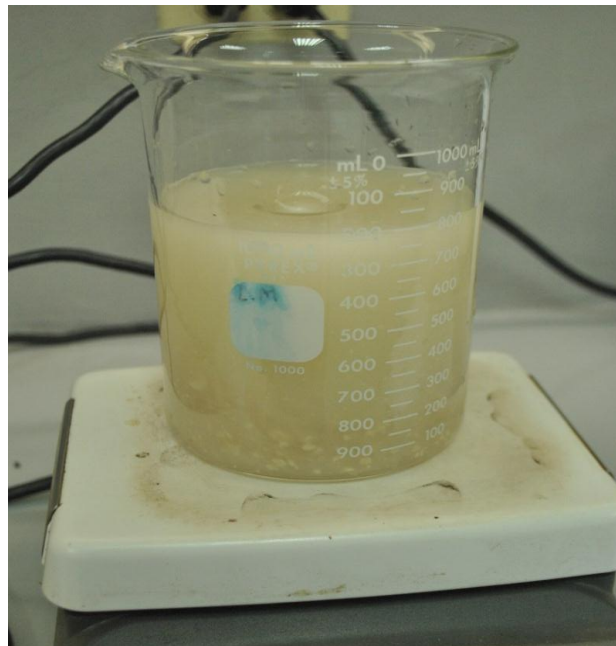
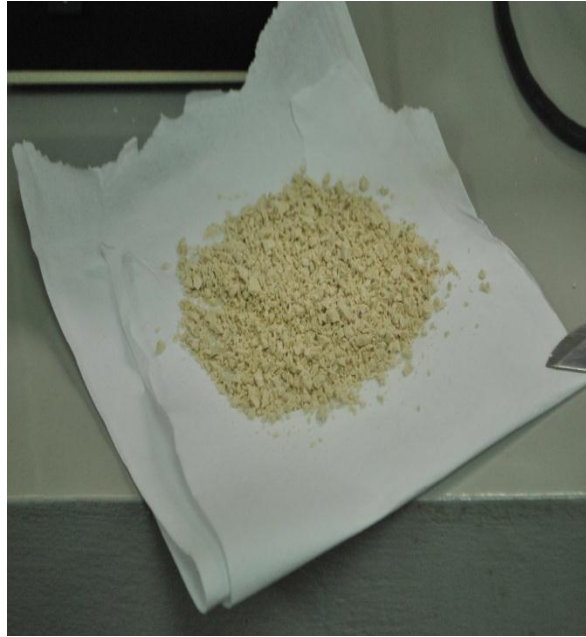


PROPAGACION DE MICROORGANISMO EN LAS MUESTRAS



FERMENTACIÓN

PREPARACION DE LEVADURA *Saccharomyces cerevisiae*



PREPARACION DE RECIPIENTES PARA FERMENTACION



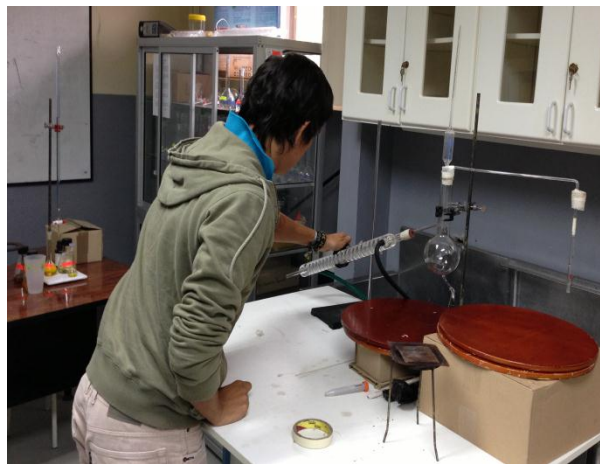
SIEMBRA DE LEVADURA



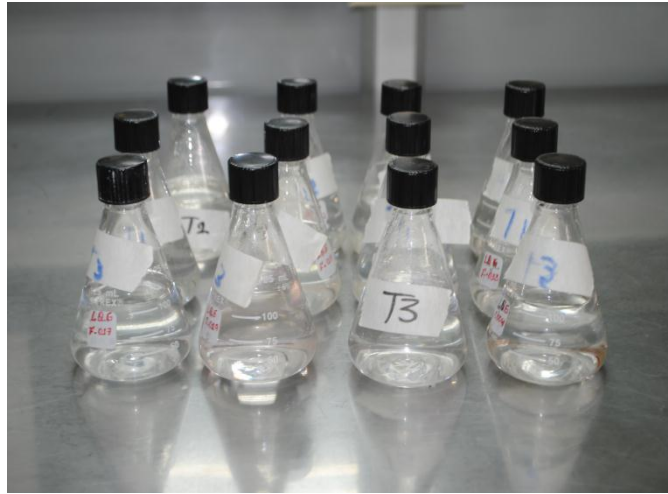
FERMENTACION



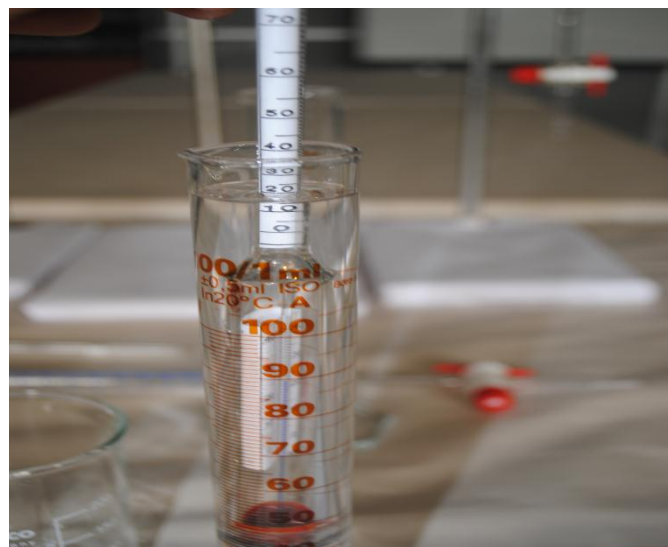
PREPARACION DE EQUIPO DE DESTILACION



RESULTADOS DE DESTILADO



MEDICION DE GRADOS DE ALCHOL



7.3 ANEXO 3

DETERMINACION DE IMPACTO AMBIENTAL

DETERMINACIÓN DE OXÍGENO DISUELTOS (OD) EN MUESTRAS DE AGUA POR MÉTODO VOLUMÉTRICO CON HIPOSULFATO

OBJETIVO

Determinar la concentración de oxígeno disuelto en muestra de agua.

. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS.

MATERIALES	REACTIVO	EQUIPOS
Botella Yodometrica de 125 ml	Tiosulfato de Sodio	Campana de Extracción
Cilindro graduado de 50 ml o Pipeta	Acido Sulfúrico concentrado	Balanza
Volumétrica de 25 ml	Cloruro Manganoso	
Matraz Erlenmeyer o fiola de 125 ml	Yoduro de Potasio	
Pipeta graduada de 1 ml	Hidróxido de Sodio	
Bureta graduada de 25 ml	Agua de Río, Lago, Riachuelo, Estanque, chorro.	
Soporte universal con pinzas para Bureta	Agua destilada	
Espátula		

PARTE EXPERIMENTAL

PRUEBA	PROCEDIMIENTO	CANTIDAD
ANALISIS DE TITULACION VOLUMETRICA	Llene la Botella yodometrica de agua y tape sin dejar burbujas de aire	
	Agregue reactivo alcalino de oduro de Potasio por debajo de la superficie del liquido	1 ml
	Agregue sulfato $MnSO_4$ 16.25% por debajo de la superficie del liquido	1 ml
	Tape la botella sin dejar burbujas de aire, deseche el sobrante en la tapa y mezcle fuertemente durante 20 segundos.	
	Deje sedimentar el precipitado y vuelva a mezclar fuertemente , mantenga en reposo hasta que haya clarificado la tercera parte de la botella	
	Destape la botella y agregue Acido Sulfurico concentrado dejándolo caer por la pared de envase y encima de la superficie del liquid.	1 ml
	Tape la botella sin dejar burbujas de aire y deseche el liquido sobrante	
	Mezcle fuertemente hasta disolver por completo el precipitado para lograr la reacción completa y de la distribución uniforme	
	Tome la solución y trasvase a un matraz erlenmeyer	50ml
	Titular con tiosulfato de Sodio 0.01 N hasta obtener un color amarillo claro	
	Añada almidon al 10%	1 ml
Titule nuevamente hasta la desaparición del color existente		
	Anote el volumen total gastado	
	Realizar los cálculos	

ECUACIONES	LEYENDA
N = Equivalentes / volumen (L)	N = Normalizada (equivalente gramo por volumen de $\text{Na}_2 \text{S}_2\text{O}_3$ Equivalentes = Equivalentes de $\text{Na}_2 \text{S}_2\text{O}_3$ V = Volumen gastado de $\text{Na}_2 \text{S}_2\text{O}_3$ (Litros)
PM = M soluto / PE	PM = Peso molecular M Solute = Masa de soluto PE = Peso Equivalente
Equivalente $\text{Na}_2 \text{S}_2\text{O}_3$ = Equiv I_2 = Equiv O_2	
Equivalentes O_2 = Masa O_2 /masa equivalente O_2	Masa O_2 = Masa de Oxigeno expresada en mg masa miliequivalente O_2 Masa miliequivalente del Oxigeno expresado en mg/mequiv
Mg/L = masa / volumen (L)	V = Volumen de la muestra de agua expresada en Litros mg/L O_2 = ppm O_2

TÉCNICA PARA MEDIR LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA EN AGUA.

Materiales:

- Conducimetro.
- Balanza analítica.
- 5 vasos pirex de 100 ml cada uno.
- Probeta graduada de 25 ml.



Vaso de precipitación

Reactivos:

- Agua destilada
- Cloruro de sodio



Conducimetro

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Solución de NaCl:

- Preparamos 1000 ml de solución de cloruro de sodio en un vaso de precipitado.
- Colocamos cierta cantidad de la muestra en un vaso de precipitado y procedemos a medir su temperatura y conductividad.
- Se anota el resultado en una hoja de campo.
- Se analizan los resultados.

TECNICA PARA MEDICIÓN DE PH

Materiales

- pH metro
- Toallas de papel o de tejido suave
- Vaso de precipitación de 100 ml
- Guantes de látex



Reactivos

- 25 ml de solución buffer de pH 7,0 en un embase con tapa. Este embase debe estar etiquetado con pH 7,0
- 25 ml de solución tampón de pH 4,0 en un embase con tapa. Este embase debe estar etiquetado con pH 4,0
- 25 ml de solución tampón de pH 10,0 en un embase con tapa. Este embase debe estar etiquetado con pH 10,0

Procedimiento

Se Procedió el lavado del electrodo según el fabricante utilizando las soluciones descritas luego se enjuago el mismo con agua destilada y se seco muy suavemente utilizando toallas de papel, en un vaso de precipitación se colocan 50 ml del agua analizar y se coloca el electrodo esperando la estabilización de su pH