

EVALUACIÓN DE LEVADURAS EN LA PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE MELAZA DE CAÑA DE AZÚCAR

EVALUATION OF YEAST FOR ETHANOL PRODUCTION FROM SUGAR CANE MOLASSES

Miguel Alejandro Tuárez Párraga^{1,3}, Mabel Leonela Laz Mero^{1,2}, Stephany Judith Bermello Ochoa^{1,2}, Edison Geovanny Díaz Campozano^{1,2,4}

¹Posgrado Agroindustria. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria Manabí. Sitio El limón, Calceta, Manabí – Ecuador

²Universidad Técnica de Manabí, Av. Urbina y Ché Guevara. Portoviejo, Manabí – Ecuador

³Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Av. Circunvalación, vía San Mateo, Manta, Manabí – Ecuador

⁴Instituto Tecnológico Superior Paulo Emilio Macías. Ubicación: Portoviejo Cdma. San Jorge, Manabí - Ecuador

Email: alejandro_tuarez@hotmail.com

Información del artículo

Tipo de artículo:
Nota técnica

Recibido:
14/01/2020

Aceptado:
30/11/2020

Licencia:
CC BY-NC-SA 4.0

Revista
ESPAMCIENCIA
11(2): 115-119

DOI:
https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.193

Resumen

El objetivo de la investigación consistió en evaluar el efecto de la adición de tres tipos de levaduras comerciales *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces exiguus* y *Candida utilis*, utilizando disolución de melaza, las etapas del experimento consistieron en la activación de levadura y fermentación para la producción de etanol mediante una destilación simple; determinando la producción de etanol más óptima del experimento, con diferentes concentraciones de sacarosa (19°Bx, 23°Bx y 27°Bx) y diferentes condiciones ambientales (27°C, 30°C y 33°C). Se aplicó un modelo estadístico de diseño cuadrado latino utilizando el programa Microsoft Excel, tomando como factor de interés tipos de levaduras y factores secundarios los sólidos solubles (°Bx) y temperaturas de almacenamiento (°C). Se formularon nueve tratamientos (T), de los cuales se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los sólidos solubles (°Bx) y ($p > 0,05$) para los tipos de levaduras estudiadas y las temperaturas de almacenamiento. Durante la producción de etanol a partir de la disolución de melaza de caña, el mejor tratamiento fue el T8, utilizando levadura *Saccharomyces cerevisiae* a 27°Bx y con temperatura de 30°C.

Palabras clave: etanol, *Saccharomyces cerevisiae*, producción, melaza, fermentación.

Abstract

The objective of the research was to evaluate the effect of the addition of three types of commercial yeast: *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces exiguus* and *Candida utilis*, using molasses solution. The stages of the experiment consisted of yeast activation and fermentation for ethanol production through simple distillation; determining the most optimal ethanol production of the experiment, with different concentrations of sucrose (19°Bx, 23°Bx and 27°Bx) and different environmental conditions (27°C, 30°C and 33°C). A Latin-square design was applied using Microsoft Excel, taking as a factor of interest the types of yeasts and secondary factors the soluble solids (°Bx) and storage temperatures (°C). Nine treatments (T) were formulated, of which significant differences ($p < 0.05$) were observed between the soluble solids (°Bx) and ($p > 0.05$) for the types of yeast studied and the storage temperatures. During ethanol production from sugar cane molasses solution. The best treatment was T8, using *Saccharomyces cerevisiae* yeast at 27°Bx, with a temperature of 30°C.

Keywords: ethanol, *Saccharomyces cerevisiae*, production, molasses, fermentation.

INTRODUCCIÓN

La mayor producción mundial de caña de azúcar se encuentra concentrada entre los países de Brasil, India y China. En Brasil el 48% de su producción de caña se utiliza para producir etanol y el 52% se utiliza para la producción de azúcar (Chimbo y Vega, 2015).

De acuerdo a lo citado por Elizalde (2015) gracias a la biotecnología en los próximos años la caña de azúcar no solo será un cultivo estratégico para producir exclusivamente azúcar o etanol, sino también plásticos biodegradables, vacunas, entre otros.

Mientras que en Ecuador los cultivos de caña de azúcar son utilizados para obtención de azúcar, melaza, miel, panela y etanol (Chimbo y Vega, 2015). El etanol de caña de azúcar es utilizado al 5 % en la gasolina extra o llamada Ecopaís (Diario El Comercio, 2018). De acuerdo a lo mencionado por Diario El Telégrafo (2019) en el año 2017 el Ecuador registró 79 364 ha cosechadas.

Inicialmente el etanol fue utilizado para la producción de bebidas alcohólicas, vinagres y conservas, pero actualmente tiene aplicaciones farmacéuticas, perfumes y cosméticos, materiales explosivos, seda artificial y materiales plásticos (Brooks, 2008). Sin embargo, por su alto contenido de oxígeno y combustión limpia es considerado un potencial combustible (Angulo, 2010).

Cabe destacar que el etanol se utiliza para el aumento de octanaje de la gasolina o como aditivo de la misma e insumo para la producción de biodiésel (González et al., 2017). Mientras que las emisiones de CO₂ se reducen con el uso de biocombustibles a diferencia de los combustibles fósiles, encontrando el equivalente de 1000 tn de caña de azúcar a 16 259 tn de petróleo (Chimbo y Vega, 2015).

Teniendo en cuenta que la producción energética alternativa proveniente de derivados de petróleo, genera biocombustibles mediante el uso de materias primas naturales, dentro de las cuales destaca el bioetanol, con el objetivo de preservar los recursos tanto renovables como no renovables y maximizar su uso (Sánchez et al., 2010).

También es evidente que el 70% de la producción mundial de alcohol está liderada por Brasil utilizando la base de caña de azúcar y Estados Unidos a base de maíz, seguidos por países como China, India y Francia, adicionalmente se esta incrementando considerablemente la producción en países como Tailandia, Filipinas, Guatemala, Colombia, República Dominicana, Alemania y España, pero la producción de estos últimos es pequeña en comparación con los países que lideran la producción mundial (Suárez et al., 2016).

Para la producción de etanol se emplean diferentes levaduras, tanto con el uso de bagazo de caña de azúcar como sustrato, considerado como una gran opción

industrial por disponibilidad de materia prima (Intriago y Sabando, 2017).

Una de las levaduras más utilizadas es la *Saccharomyces sp.*, por su eficiencia en convertir azúcares a etanol, además de amplia aceptación en los procesos industriales (Argote et al., 2015), concordando con Suárez et al. (2016) donde mencionan que la fermentación de azúcares por medio de una levadura generalmente *Saccharomyces cerevisiae* da paso a la producción del etanol.

Por otra parte, la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) es muy reconocida durante la elaboración de pan y cerveza (Nandy y Srivastava, 2018). En la investigación realizada por Shurson (2018) indica que son heterótrofas definiéndolas como incapaces para generar su propia materia orgánica y de acuerdo de acuerdo con Fajardo y Sarmiento (2007) son tolerables en altas concentraciones de azúcar.

Adicionalmente, durante la producción de la fermentación de una proteína unicelular (SCP) la levadura *Saccharomyces exiguus* puede ser utilizada como agente biológico en la alimentación animal y/o humanas, posee excelentes características fisiológicas para desarrollarse en ácido acético, es tolerante al pH ácido, responde rápidamente a la adición de tiamina, niacina, biotina y ácido pantoténico del extracto de levadura, por no presentar fase de latencia lo cual incrementa su rendimiento de biomasa en el menor tiempo de fermentación (Saldaña y Zapata, 2017).

De modo similar la levadura *Candida utilis* es un microorganismo de importancia industrial. Esta levadura se ha utilizado como fuente de nutrientes a través de la producción a gran escala de proteínas unicelulares. Por lo tanto, se puede esperar que *C. utilis* produzca una gran cantidad de pigmentos carotenoides al dirigir el flujo de carbono para la biosíntesis de ergosterol a una nueva vía para la síntesis de carotenoides a través de FPP a través de la introducción de los genes carotenogénicos de *Erwinia*.

Por último, se describe la producción de licopeno por una cepa recombinante de *C. utilis* (Miura et al., 1998). Adicionalmente, las levaduras *C. utilis* y de *S. cerevisiae* son utilizadas como aditivos alimentarios según la Food and Drug Administration (FDA).

En consecuencia, el objetivo de la presente investigación consistió en evaluar el efecto de la adición de tres tipos de levaduras comerciales en disolución de melaza durante la producción de Etanol.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. Las etapas de la

investigación consistieron en la activación de levadura y fermentación de las mismas.

Para ello se utilizó tres tipos de levaduras comerciales las cuales se detallan a continuación:

- Levadura activa seca Levapan y su nombre científico *Saccharomyces cerevisiae*,
- Levadura salvaje saf – instant y su nombre científico *Saccharomyces exiguus*
- Levadura con su nombre comercial *Candida utilis* ATCC9950.

Se determinó la producción de etanol más óptima del experimento, con diferentes concentraciones de sacarosa (19°Bx, 23°Bx y 27°Bx) y diferentes condiciones ambientales (27°C, 30°C y 33°C).

Activación de las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces exiguus* y *Candida utilis*)

Para la activación de las levaduras se procedió a la preparación de un jarabe el cual consta de 25 g de melaza, 0,5 g de urea, 1 g de levadura *Saccharomyces cerevisiae*; todo esto en un recipiente estéril, se aforó hasta 500 ml de agua destilada; se mezcló hasta obtener la solución completamente homogénea. Seguidamente se dejó reposar a temperatura ambiente durante 5 minutos, se adaptó el aireador al envase por un lapso de 24 horas para realizar el proceso de oxigenación y posterior activación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Este mismo proceso se lo realizó con las levaduras: *Saccharomyces exiguus* y *Candida utilis*.

Fermentación de las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces exiguus* y *Candida utilis*)

Para la fermentación se utilizó melaza de caña de azúcar con el nombre comercial Super Melaza la cual consta de una concentración de sólidos a 85°Bx, por lo que se realizó un balance de materia para determinar cuántos gramos de agua destilada se debe añadir para preparar los mostos hasta obtener concentraciones de 19°Bx, 23°Bx y 27°Bx.

Como fermentadores o biorreactores se utilizaron envases con tapas de 1000 ml de capacidad que fueron esterilizados previamente a fin de evitar la contaminación y el desarrollo de otro tipo de microorganismos que alteren el proceso de obtención de alcohol.

Para el primer grupo de tratamientos de acuerdo a un balance de materia se añadió en tres recipientes diferentes 250 g de melaza y en cada uno se completó con 750 g de agua destilada, a continuación, se verificó los sólidos solubles por refractometría, como indica la norma Association of Official Analytical Chemists (AOAC 932.14, 1990), obteniendo un valor de 19° Bx, posteriormente se lo lleva a temperatura de 27° C, 30°C y

33°C; asimismo para el segundo grupo de tratamiento, en tres envases diferentes se añadió 250 g de melaza y de forma individual se completó con 600 g de agua destilada, se verificó los sólidos solubles obteniendo un valor de 23°Bx, posteriormente se llevó a temperatura de 27° C, 30°C y 33°C; y finalmente para el tercer grupo de tratamiento se procedió a pesar en tres envases diferentes 250 g de melaza y se completó con 450 g de agua destilada, se verificó los sólidos solubles obteniendo un valor de 27°Bx, y por consiguiente se llevó a temperatura de 27° C, 30°C y 33°C

En cada uno de los envases con mosto de melaza se inoculó de forma individual 5 ml de las levaduras activadas (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces exiguus* y *Candida utilis*), se cerró herméticamente cada envase, colocando mangueras conectadas desde el frasco a un vaso con agua con el objetivo de permitir la salida de CO₂ generado durante la fermentación.

Los mostos de melaza se dejaron fermentar durante tres semanas en condiciones anaerobias.

Proceso de destilación

Transcurrido el tiempo estimado de fermentación se procedió con el proceso de destilación, este se realizó con el objetivo de obtener el rendimiento de la producción de etanol de cada grupo de tratamientos.

Se realizó una destilación simple tomando como referencia la norma INEN 340-2014, a un rango de temperatura desde 78 a 96 °C para eliminar la presencia de alcoholes superiores, este proceso tardó alrededor de 3 a 4 hrs.

Diseño experimental

Se aplicó un modelo estadístico de diseño cuadrado latino utilizando el programa Microsoft Excel, el cual permite agrupar los resultados del experimento.

Factor de interés: Tipos de levaduras

Letra latina:

Tipos de levaduras

A = *S. cerevisiae*

B = *S. exiguus*

C = *C. utilis*

Factores secundarios:

1.-Concentración de Sacarosa (°Bx)

2.-Temperatura del ambiente (°C)

De esta forma se obtendrán 9 tratamientos como se observa en el Cuadro 1. de diseño experimental; de los cuales se podrá determinar el tratamiento con la mayor producción de etanol como se aprecia en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Diseño experimental

°Bx	Temperaturas		
	27°C	30°C	33°C
19	C	B	A
23	A	C	B
27	B	A	C

Cuadro 2. Producción de etanol por cada tratamiento.

Trat.	°Bx	°C	Levaduras	Volumen (ml)
T1	19	27	<i>C. utilis</i>	93,07
T2	19	30	<i>S. cerevisiae</i>	91,68
T3	19	33	<i>S. exiguus</i>	94,92
T4	23	27	<i>S. cerevisiae</i>	85,75
T5	23	30	<i>C. utilis</i>	84,98
T6	23	33	<i>S. exiguus</i>	85,37
T7	27	27	<i>S. exiguus</i>	97,98
T8	27	30	<i>S. cerevisiae</i>	98,92
T9	27	33	<i>C. utilis</i>	97,66

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Gráfico 1, se muestra el comportamiento durante las pruebas experimentales para la obtención de etanol expresado en (ml). Evidenciando que el mejor tratamiento es el T8, con 27 °Bx y 30°C utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, esto se debe a que esta levadura tiene alto potencial metabólico (Sánchez *et al.*, 2012); y coincidiendo con las temperaturas óptimas para producción de etanol de 32±2°C establecidas por Mukhtar, *et al.* (2010).

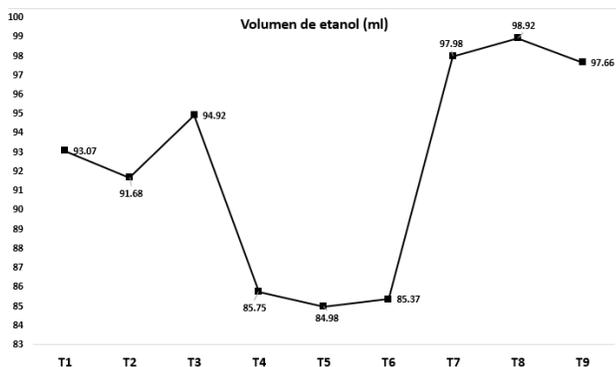


Gráfico 1. Producción de etanol por cada tratamiento.

En el Cuadro 3. Con respecto a la producción de etanol se evidencia que no existe diferencia significativa entre los tres tipos de levaduras y temperaturas de almacenamiento ($p > 0.05$), sin embargo, existe diferencia significativa entre °Bx ($p < 0.05$), lo que concuerda con Macías (2015).

Cuadro 3. Análisis de varianza (ANOVA).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F Calculada	F Tabla	Significancia
Tratamientos (Tipos de levaduras)	4,03	2	2,02	2,75	19	$p > 0,05$
Renglones (°Bx)	250,71	2	125,36	170,85	19	$p < 0,05$
Columnas (°T)	0,94	2	0,47	0,64	19	$p > 0,05$
Error	1,47	2	0,73			
Total	257,15	8				

CONCLUSIONES

La aplicación del diseño experimental cuadrado latino permitió establecer las condiciones óptimas de operación generando mayor producción de etanol en el T8 utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* con temperatura de 30°C y 27°bx.

El análisis de varianza indicó que no existen diferencias significativas entre los tipos de levaduras utilizadas en este experimento y las diferentes condiciones de temperatura; sin embargo, se evidencia diferencia significativa en los niveles de °Bx aplicados.

LITERATURA CITADA

Angulo, A. 2010. Efectividad de microorganismos nativos en relación a *Aspergillus niger*, *Clostridium thermocellum* ATCC 27405 y *Zymomonas mobilis* para la producción de bioetanol a partir de residuos de sandía *citrullus lanatus* a escala piloto. (Tesis pregrado). Escuela Politécnica del Ejército, Sangolquí. Recuperado el 14 de octubre de 2019.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Solids in Syrups - Official Method 932.14. Recuperado el 31 de mayo de 2019, de http://members.aoac.org/aoac_prod_imis/AOAC_Docs/OMA/OMA_932.14_Revised_3-16-17.pdf.

Argote, F., Cuervo, R., Osorio, E., Delgado, J., & Villada, H. (2015). Evaluación de la producción de etanol a partir de melaza con cepas nativas *Saccharomyces cerevisiae*. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 13(2), 40-48. doi:10.18684/BSAA(13)40-48

Brooks, A. (2008). Ethanol production potential of local yeast strains isolated from ripe banana peels. African Journal of Biotechnology, 7(20), 3749-3752. Recuperado el 10 de 08 de 2019, de <http://www.academicjournals.org/AJB>

- Chimbo, F., & Vega, J. 2015. Efecto de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y la temperatura en la obtención de etanol a partir de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), en la Universidad Estatal de Bolívar. (Tesis pregrado). Universidad Estatal de Bolívar. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Guaranda. Recuperado el 13 de octubre de 2019, de <http://www.dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/854/1/023.pdf>.
- Diario El Comercio. 2018. La venta de etanol para elaboración de la gasolina ecopaís. Recuperado el 2 de octubre de 2019, de <https://www.elcomercio.com/actualidad/venta-etanol-elaboracion-gasolina-ecopaís.html>.
- Diario El telégrafo. 2019. La industria producirá 560.000 t de azúcar. Recuperado el 10 de octubre de 2019, de <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/economia/4/zucar-ingeniovaldez-sancarlos>.
- Elizalde, M. 2015. Mejoramiento de la rentabilidad con diversificación de subproductos de la caña de azúcar en Chaguarpamba Loja. (Tesis pregrado). Universidad Técnica de Machala, Machala. Retrieved octubre 2, 2020, from <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/1983>.
- Fajardo, E., & Sarmiento, S. 2007. Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*. (Tesis pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. Recuperado el 6 de octubre de 2019, de <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis26.pdf>.
- González, A., Del Angel, J., González, J., Rodríguez, N., & Bustos, G. 2017. Evaluation of producing ethanol native yeasts present in sugar cane bagasse. *CienciaUAT*, 2(2):80-92.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). NTE INEN 340. 2014. *Bebidas alcoholicas. Determinación del grado alcoholico*. Recuperado el 30 de septiembre de 2020, de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/340.pdf>.
- Intriago, G., & Sabando, T. 2017. Aprovechamiento del residuo del bagazo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), para la obtención de alcohol, sitio agua fría, Junín. (Tesis pregrado). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López", Calceta. Retrieved octubre 2, 2020, from <http://repositorio.esпам.edu.ec/handle/42000/674>.
- Macías, J. 2015. Aplicación de un diseño experimental en la producción de alcohol etílico en la melaza de caña de azúcar en los procesos artesanales en la ciudad de Manta. (Tesis pregrado). Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Manta. Recuperado el 6 de octubre de 2019, de <http://repositorio.uleam.edu.ec/handle/123456789/514>.
- Miura, Y., Kondo, K., Shimada, H., Saito, T., Nakamura, K., & Misawa, N. 1998. Production of lycopene by the food yeast, *Candida utilis* that does not naturally synthesize carotenoid. *Biotechnology and bioengineering*, 58(2-3):306-308.
- Mukhtar, K., Asgher, M., Afghan, F., Hussain, K., & Zia-ul-Hussain, S. 2010. Comparative study on two commercial strains of *Saccharomyces cerevisiae* for optimum ethanol production on industrial scale. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 1-5.
- Nandy, S., & Srivastava, R. 2018. A review on sustainable yeast biotechnological processes and applications. *Microbiological research*, 207:83-90. doi:doi.org/10.1016/j.micres.2017.11.013.
- Saldaña, J., & Zapata, E. 2017. Obtención de Proteína Unicelular (SCP) a partir de Ácido Acético por *Saccharomyces exiguus*. *Revista de Investigación y Desarrollo*, 3(9):1-10.
- Sánchez, A., Gutiérrez, A., Muñoz, J., & Rivera, C. 2010. Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Revista Tumbaga*, 1(5): 61-91.
- Sánchez, L., Otiniano, M., Arellano, J., Chávez, M., Robles, H., & Lescano, L. 2012. Efecto del complejo enzimático producido por *Aspergillus oryzae* sobre producción de etanol por *Saccharomyces cerevisiae*. *Sciéndo*, 15(2):1-12.
- Suárez, C., Garrido, N., & Guevara, C. 2016. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. *ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar*, 50(1): 20-28.
- Shurson, G. 2018. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. *Animal feed science and technology*, 235:60-76. doi:doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.010.