

OBTENCIÓN DE BIOETANOL PRIMARIO A PARTIR DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA DEL MATE (*Crescentia cujete*)

OBTAINING PRIMARY BIOETANOL FROM LIGNOCELLULOSIC BIOMASS (*Crescentia cujete*)

Ely Fernando Sacón Vera¹, Rosanna Katherine Looor Cusme¹, Oscar Vicente Cevallos García², Francisco Manuel Demera Lucas², Rody José Marcillo Quiroz², Mario René López Vera²

¹Carrera de Agroindustrias, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón ubicado en el km 2.7 vía Calceta-El Morro –El Limón, sector La Pastora

²Programa Semillero de Investigadores, Coordinación de Investigación Científica ESPAM MFL

Contacto: crody10marcquir@gmail.com

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue obtener bioetanol a partir de la biomasa lignocelulósica del mate (*Crescentia cujete*). Se empleó un Diseño Completamente al Azar en arreglo bifactorial AxB con tres réplicas por cada tratamiento. Se manipularon los factores de estudio: A. Concentración de ácido sulfúrico (2.5%, 5% y 7.5%) y B. Cantidad de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (2 y 5 mL). Se evaluaron las variables: acidez, °Brix, Grado Gay Lussac, Azúcares totales y reductores. Los resultados encontrados demostraron que la hidrólisis ácida permitió desdoblar la lignocelulosa ya que incrementaron los azúcares reductores fue de 13.82% en comparación con los encontrados en la pulpa 6.46%; de la misma forma se obtuvo mayor contenido de alcohol (20.70 GL) en el tratamiento a2b2 (5% de ácido sulfúrico + 5 mL de levadura *S. cerevisiae*), el cual presentó menor contenido de acidez con 0.643%, los °Brix fue de 18.47, mientras que el tratamiento a2b2 presentó mayor contenido de acidez con 0.893%, el a2b1 obtuvo menor contenido de °Brix con 15.00, y el a1b1 presentó menor contenido de Grado Gay Lussac con 8.33. De esta forma se concluye que es posible obtener un alcohol primario a partir de la biomasa del mate sometido a una hidrólisis ácida al 5% y fermentación con *S. cerevisiae* al 2% en relación al peso de la pulpa del mate.

Palabras clave: Bioetanol, levadura, mate, ácido sulfúrico, biomasa.

ABSTRACT

The objective of this research was to obtain bioethanol from lignocellulosic biomass (*Crescentia cujete*). A completely randomized design was used in two-factor arrangement AxB with three replicates per treatment. Study factors were manipulated: A. Concentration of sulfuric acid (2.5 %, 5% and 7.5 %) and B. Amount of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) (2 to 5 mL). Different variables were evaluated: Acidity, °Brix , Gay Lussac grade, total and reducing sugars. The results showed that the hydrolysis acid allowed to unfold lignocellulose as it increased the reducing sugars that was 13.82% as compared with those found in the pulp 6.46%, in the same way a higher content of alcohol (20.70 GL) in the treatment a2b2 was obtained (5 mL of yeast *S. cerevisiae* + 5% sulfuric acid), which showed a lower content of acidity with 0.643 %, ° Brix was 18.47, while the A2B3 treatment had higher acidic content at 0.893 % , the a2b1 scored lower in °Brix with 15.00, and had lower content in a1b1 Gay Lussac Grade with 8.33. Thus it is concluded that it is possible to obtain a primary alcohol using hydrolysis acid at 5% and 5 mL of yeast.

Keywords: Bioethanol, yeast, sulfuric acid, biomass.

Recibido: 23 de Julio 2013

Aceptado: 10 de Diciembre 2013

ESPAMCIENCIA 4(2):99-103/2013

INTRODUCCIÓN

Según análisis realizado por el analista petrolero Tandazo (2012), el Ecuador podrá sostener su economía con el petróleo alrededor de 10 años más, esto en base a las estimaciones de las reservas remanentes de los campos que están en producción, los mismos que se podrían extender cerca de 10 años más si se toman en cuenta las reservas probadas de los campos que no están en producción, entre ellos el ITT. Manifiesta que la situación es preocupante ya que el crudo ha sido el sostén de la economía ecuatoriana en estos 40 años.

Esta situación debe despertar el interés y la atención de todos, analizando la disponibilidad de recursos de acuerdo a sus necesidades energéticas, procurando diagnosticar y principalmente evaluar la viabilidad real de aprovechamiento de las fuentes alternativas de energía renovables en el plano nacional (Chávez, 2003).

Un vegetal disponible para ser estudiado como alternativa de fuente energética es el mate (*Crescentia cujete*), una planta que no se aprovecha en el Ecuador, la misma que posee una elevada cantidad de azúcar. La biomasa producida es luego transformada en productos que poseen la capacidad energética de sustituir los derivados del petróleo, tal como ocurre con el alcohol (anhidro) carburante o etanol (Barreto (1980) citado por Chávez (2003)).

La EOI (Escuela de Negocios) y Centro de Eficiencia Energética de Gas Natural Fenosa, (2008) definen la biomasa como toda la materia orgánica de origen vegetal o animal, incluyendo también materiales procedentes de su transformación natural o artificial. Esta puede ser usada directamente como combustible o ser convertida en otras formas antes de su combustión (Ortiz, 2008). La lignocelulosa es el principal componente de la pared celular de las plantas (Cuervo *et al.*, 2009).

La conversión biológica y química de la biomasa son los medios para lograr la transformación, que generalmente involucran diversos pasos secuenciales: Pre-tratamiento, fraccionamiento de lignocelulosas, hidrólisis de la celulosa y fermentación (Geoffrey *et al.*, 2008). Por otra parte la transformación de material lignocelulósico en glucosa, se puede hacer por vía ácida o por vía enzimática y ha sido ampliamente documentada. López-Miranda *et al.*, (2009) probaron los métodos de pre-tratamiento alcalino, ácido y explosión

con vapor, para efectuar la hidrólisis enzimática de aserrín de pino y recuperar los azúcares contenidos en el mismo.

La hidrólisis ácida en un proceso químico que, mediante el empleo de catalizadores ácidos, transforma las cadenas de polisacáridos que forman la biomasa en sus monómeros elementales (azúcares fermentables o reductores). El grado de degradación de la sustancia depende de la concentración del ácido, la temperatura y el tiempo de hidrólisis. A medida que actúa el ácido, el peso molecular y la viscosidad de los productos decrecen y el poder reductor aumenta (Ferrer *et al.*, 2002). El bioetanol se obtiene por fermentación de los azúcares y éstos varían de acuerdo al genotipo, etapa fenológica, lugar donde se siembra, fertilidad (Almodares *et al.*, 2008). El objetivo de esta investigación fue obtener bioetanol a partir de la biomasa lignocelulósica del mate.

MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo de esta investigación se efectuó en las instalaciones de los laboratorios de bromatología, microbiología y química de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí ESPAM-MFL, de la carrera de Agroindustria, ubicada en el sitio El Limón en la ciudad de Calceta – Manabí – Ecuador. Se obtuvo seis tratamientos, combinando los factores A: Concentración de ácido sulfúrico (2.5% y 7.5%) y B: Cantidades de levadura líquida *S. cerevisiae* (2 y 5 mL). Cada variante fue aplicada en 100 g de pulpa de mate.

Materia prima

Se utilizó fruto de mate en estado maduro, con un peso promedio de 2.5 kg y diámetro aproximado de 30 cm, pulpa blanca con numerosas semillas; el cual se receiptó con sumo cuidado para que no sufrieran ningún golpe físico. Se tomaron 250 mL de pulpa de mate y 250 mL del jugo ya centrifugado con el propósito de determinar el porcentaje de azúcares reductores y totales.

Manejo experimental

Se diseñó un diagrama de procedimientos para la extracción de alcohol a partir del mosto de mate (Figura 1).

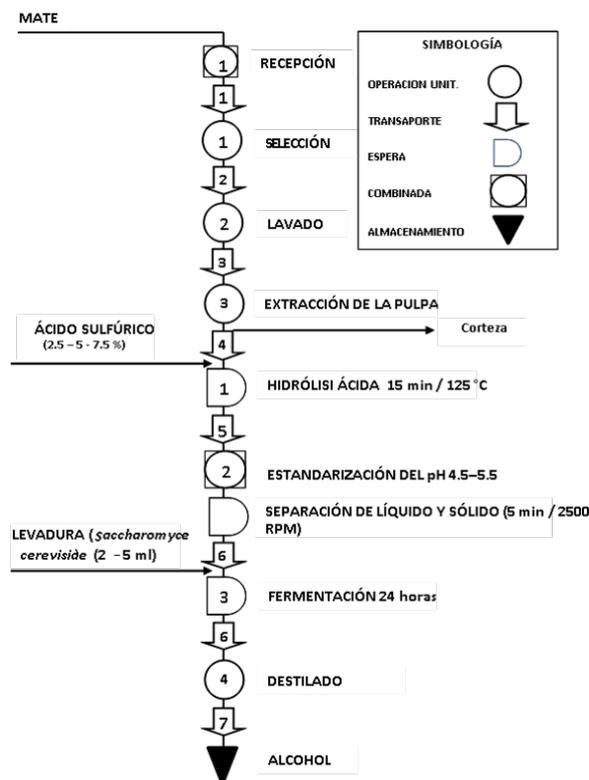


Figura 1. Diagrama de extracción de alcohol a partir del mosto de mate

Recepción: Para la recepción de los frutos se consideró su estado de madurez fisiológica establecida por su color verde-amarillo, de apariencia sana y en buen estado.

Selección: Se seleccionaron los frutos que presentaron las mejores condiciones requeridas para la investigación como: buen estado sin presencia de golpes y libres de cualquier partícula extraña.

Lavado: Una vez que se seleccionaron los frutos de mate, se lavaron para lo cual se empleó agua esterilizada, con el fin de eliminar cualquier contaminante adherido a la materia prima.

Extracción de la pulpa: se cortaron los frutos empleando cuchillo de acero inoxidable previamente esterilizado y se procedió a la extracción de la pulpa de manera manual utilizando guantes de látex, luego se procedió a licuar a 3600 rpm la pulpa en una licuadora semi-industrial durante 5 minutos hasta que la pulpa quedó pastosa, a la cual se le hicieron

los análisis respectivos para su caracterización

Conversión de celulosa: Para lograr el desdoblamiento de la celulosa en azúcares simples se empleó el método de hidrólisis ácida utilizado por Sung y Cheng (2002) citado por Gómez et al., (2013), se la realizó en vasos pyrex, adicionando 50 mL de ácido sulfúrico diluidos al 2.5%, 5.% y 7.5% de concentración, por cada 100 gramos de pulpa (mate), la mezcla se la llevó al autoclave a una temperatura de 125°C y 15 psi (libra/pulg²) por un periodo de 30 minutos. Se tomó una muestra de la concentración al 5% de ácido sulfúrico para determinar azúcares reductores y totales para analizar el comportamiento.

Estandarización del pH: Se procedió a estandarizar el pH del mosto a 4,6 por método de potenciómetro, empleando la solución de hidróxido de sodio al 5% en una fiola de 1000 mL

Separación de sólido y líquido: Para la separación de sólido-líquido se la realizó por dos métodos: mediante tamizado en tamices de acero inoxidable de 20 micras y posterior a estos mediante centrifugación a 2500 rpm por un periodo de tiempo de 5 minutos.

Adición de levadura: Una vez realizada la separación de sólidos se procedió a añadir la levadura líquida de acuerdo a los niveles establecidos en la fase experimental 2 y 5 mL por cada 100 mL de mosto.

Fermentación: se realizó una fermentación anaerobia por un periodo de 24 horas empleando trampas de agua para evacuar los gases producidos en este proceso y se dejaron las muestras en reposo hasta que culminara el proceso de fermentación.

Destilado: El producto obtenido de la fermentación se lo destiló por un periodo de 2 horas, para ello se usó el equipo de destilación y posteriormente a este proceso se midieron los grados de alcohol GL.

Diseño experimental

Se aplicó un Diseño Completamente al Azar en arreglo factorial con tres réplicas.

Variables evaluadas

En la materia prima.- Se realizó análisis a la materia prima para determinar: azúcares reductores totales según procedimientos realizados en el laboratorio de Santa Catalina-Quito del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), así como °Brix, pH y acidez.

En el producto final

°Brix.- se tomaron muestras del mosto para medir los sólidos solubles, empleando el método del refractómetro.

Grados Gay Lussac.- Según técnica descrita en la norma INEN 340:1994

Acidez.- se seleccionaron muestras de cada tratamiento tomando 10 mL, se le agrego 3 gotas Fenoltaleina y se procedió a titular con NaOH al 1 N (método volumétrico).

El análisis estadístico se lo realizó por el análisis de varianza en el programa de Microsoft Office Excel 2010 e InfoStat Versión Libre 2008.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la materia prima

Como se muestra en el cuadro 1, el mate tiene una cantidad de sólidos solubles de 20.7 (°Brix), lo cual le proporciona a la pulpa un sabor dulce e idónea para obtener alcohol.

El pH es de 3.5 valor típico en la mayoría de frutos mientras que la acidez fue de 0.82% con lo cual se deduce que la pulpa es ligeramente acida-dulce.

Se observa que la cantidad de azúcares reductores en la muestra de la pulpa del mate fue de 6.46% en comparación a la de azúcares después de la hidrolisis ácida, la cual fue de 13.82% de azucares reductores, esto evidencia que el proceso de hidrolisis ácida ayudó a que aumenten los azúcares reductores, estos datos tienen relación con los publicados por Larrahondo (1995), quien comunica que el jugo de cañas maduras tiene entre 1 a 5% de azúcares reductores. El porcentaje de azucares totales en la muestra de la pulpa fue de 13.93% y después del proceso de hidrólisis ácida fue de 13.86%, esto indica que disminuyeron los azucares totales en el mosto del mate.

Cuadro 1. Propiedades físico-químicas del mate

Análisis de la materia prima				
Item	Parametros	Método	Unidad	Resultados
1	°Brix	Refractómetro		20.7
2	pH	Potenciómetro	3.5
3	Acidez (expresada en ácido acético)	Volumétrico	%	0.82
4	Azúcares reductores	Watada 1955*	%	6.46
5	Azúcares Totales	Dubois 1956*	%	13.93

* Laboratorio INIAP, Santa Catalina-Quito

En el cuadro 2 se muestra que la concentración de levadura y el porcentaje de ácido sulfúrico influyeron significativamente sobre los parámetros en estudio. El tratamiento que mayores valores tuvo en acidez fue a2b2 con 0.64% y un °Brix de 18.47, datos que tienen relación con los publicados por Flórez (2012), quien manifiesta que la acidez del mosto del mate es de 0.54% este comportamiento se presentó debido al proceso de maduración del fruto. Aguirre (2011) manifiesta que los °Brix del mosto de la caña de azúcar fluctúan entre 10 y 16, lo anterior demuestra que el mosto del mate contiene una mayor concentración de sólidos solubles en su material lignocelulósico, todo lo anterior repercutió en la obtención de un bioetanol de mate con 20.7 GL siendo éste superior a lo que obtuvieron Vásquez y Dacosta (2007), quienes manifiestan que en la caña de azúcar se logran obtener Grados Gay Lussac que varían entre 8 y 12.

Cuadro 2. Promedio de las variables analizadas en el experimento

Tratamientos	Variables		
	° Brix	Gay lussac	Acidez
a1*b1	15.10	8.33 c	0.71 ab
a1*b2	16.17	14.00 b	0.88 b
a1*b3	15.43	11.57 bc	0.82 ab
a2*b1	15.00	12.17 bc	0.87 b
a2*b2	18.47	20.70 a	0.64 a
a2*b3	15.83	12.77 bc	0.89 b
Probabilidad	0.06	<0.001	0.01
Error estandar	0.76	1.16	0.05

a, b y c letras iguales en columnas no difieren estadísticamente según Tukey al 0.05 de probabilidades de error.

CONCLUSIONES

La hidrólisis ácida al 5% efectuada a la pulpa del mate logró desdoblar el material lignocelulósico de tal forma que permitió incrementar los azúcares reductores al 13.82% y reducir los azúcares totales al 13.86%.

El mayor grado de alcohol (20.70 GL) primario se obtuvo aplicando una hidrólisis ácida al 5% de ácido sulfúrico y 5 mL de levadura *S. cerevisiae*.

LITERATURA CITADA

- Aguirre, M. 2011. Jugo de Caña de Azúcar envasado en vidrio. (En línea). Ec. ESPOL. Consultado, 6 de Dic. 2012. Formato PDF. Disponible en <http://www.dspace.espol.edu.ec/>
- Almodares, A; Hadi, M; Ahmadpour, H. 2008. Sorghum stem yield and carbohydrates under different salinity levels. *Revista African of Biotechnology*. 22:4051-4055.
- Chaves 2003. Etanol, O Combustivel Do Brasil. (En línea). Br. Consultado, 2 de Nov. 2012. Formato PDF. Disponible en <http://www.laica.co.cr/>
- Chávez, Z. 2003. La caña de azúcar como materia prima para la producción de alcohol carburante (Etanol) en Costa Rica: Consideraciones sobre su potencial real de uso. (En línea). Costa Rica. Consultado, 29 de nov. 2012. Formato PDF. Disponible en <http://www.laica.co.cr/>
- Cuervo, L; Folch, J; Quiroz, R. 2009. Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol. (En línea). México. Consultado, 28 de Nov. 2012. Formato PDF. Disponible en <http://www.smbb.com.mx/>
- EOI (Escuela de Negocios) y Centro de Eficiencia Energética de Gas Natural Fenosa. c2008. Manual de Eficiencia Energética. Energías renovables: Cogeneración, Biomasa. (En línea). Consultado, 16 de may.2013. Formato PDF. Disponible en <http://www.empresaeeficiente.com>
- Ferrer, J; Páez, G; Arenas, L; Chandler, C; Mármol, Z; Sandoval, L. 2002. Cinética de la hidrólisis ácida de bagacillo de caña de azúcar. (En línea). Ve. *Revista Scielo*. Consultado, 9 de Sep. 2012. Formato PDF. Disponible en <http://www.scielo.org.ve/>
- Flórez E. 2012. Evaluación de pulpa de totumo (*crecidentia Cujete* l) ensilada en dos estados de maduración como alternativa en alimentación bovina. (En línea). Consultado 7 de julio 2013. Formato PDF. Disponible en <http://www.unicordoba.edu.co/>
- Geoffrey, M; Zhiguang, Z; Percival, Z. 2008. "Efficient Sugar Release by the Cellulose Solvent-Based Lignocellulose Fractionation Technology and Enzymatic Cellulose Hydrolysis", *J. Agricultural & Food Chemistry*, 56(17):7885.
- Gómez, E. Ríos, L. y Peña, J. 2013. Efecto del pretratamiento de biomasa maderera en el rendimiento a etanol.CO. *Información Tecnológica*. 24(5):113-122
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización), 1994. Bebidas alcohólicas. Determinación del grado alcohólico. EC. 1-12
- Larrahondo, J. 1995. Calidad de la caña de azúcar. Centro de Investigaciones de la Caña de Azúcar de Colombia (CENICAÑA). (En línea). CO. Consultado 12 abr. 2012. Formato PDF. Disponible en <http://www.cenicana.org/>
- López-Miranda, J. Soto-Cruz, N. Rutiaga-Quiñones, O. Medrano-Roldán, H. y Arévalo-Niño, K. 2009. Optimización del proceso de obtención enzimática de azúcares fermentables a partir de aserrín de pino. MX. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 25(2):95-102.
- Ortíz, A. 2008. Avances en bioenergía. Pretratamiento de la biomasa lignocelulósica para la producción de biocombustibles: Aspectos Técnicos y Económicos. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa. México D.F. p 54.
- Tandazo, A. 2009. Petróleo en Ecuador para dos décadas. La Hora, Manabí, E, jul,8.
- Vásquez, H; Dacosta, O. 2007. Fermentación alcohólico: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. (En línea). Me. Universidad Autónoma Metropolitana. Consultado, 28 de Nov. 2012. Formato PDF. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/iit/v8n4/v8n4a4.pdf>