

OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE SÓLIDOS SOLUBLES DE *Sechium edule*, EMPLEANDO *Saccharomyces cerevisiae* PARA LA FERMENTACIÓN.

ETHANOL ACQUISITION FROM *Sechium edule* SOLUBLE SOLID, USING *Saccharomyces cerevisiae* FOR FERMENTATION

¹Juliana Jaramillo Ramírez, ¹Patricia Alexandra Pianda Soto, ²Leonardo Padilla Sanabria ¹Clara María Mejía Doria.

¹Laboratorio de investigación Agroindustria de frutas tropicales, programa de Química, Universidad del Quindío – Colombia. cmmejia@uniquindio.edu.co

²Grupo de Inmunología Molecular (GYMOL), Universidad del Quindío – Colombia. leopadsa@yahoo.com

Recibido: Marzo 15 de 2010

Aceptado: Diciembre 1 de 2011

Correspondencia: Programa de Química, Universidad del Quindío, Av. Bolívar Calle 12 norte Armenia Quindío Colombia. Correo electrónico: leopadsa@yahoo.com

RESUMEN

Los biocombustibles, como el etanol, actualmente se han convertido en una alternativa para la generación de energía más amigable con el medio ambiente, pero su producción ha presentado una serie de inconvenientes dentro de los que se encuentran el uso de materias primas de origen alimenticio como el maíz y la caña de azúcar, por lo tanto es necesaria la búsqueda de alternativas para su producción; Sechium edule (cidra) es una fruta que posee buenos contenidos de azúcares, almidón y celulosa, se encuentra en la región cafetera y no es considerada un alimento básico. Por lo anterior en este trabajo se pretendió generar bioetanol partiendo de los sólidos solubles (SS), usando Saccharomyces cerevisiae como agente fermentador.

El rendimiento de etanol obtenido fue de 52,18mL/100g de SS y se determinó su pureza por espectrometría infrarroja.

Palabras clave: Sólidos solubles, bioetanol, *Sechium edule*.

ABSTRACT

Biofuels, like ethanol, have now become an alternative for power generation more environmentally friendly, but his production has shown a number of shortcomings within which are the use of raw materials and food corn and sugarcane, it is therefore necessary to seek alternatives for its production Chayote (citron) is a fruit that has good content of sugar, starch and cellulose, is found in the coffee region and is not considered a staple. For the above in this paper was intended to generate bioethanol based on soluble solids, using Saccharomyces cerevisiae as a leavening agent. The ethanol yield obtained was 52.18 ml/100g of ss and was determined by infrareds pectroscopy.

Keywords: Soluble solids, bioethanol, *Sechium edule*.

INTRODUCCIÓN

El etanol es un producto químico obtenido a partir de azúcares y polisacáridos que se encuentran en los productos vegetales. (1)

Los azúcares simples son fermentados directamente utilizando *Saccharomyces cerevisiae*; la cual transforma los azúcares en etanol. Las levaduras presentan mayor actividad metabólica debido a su crecimiento rápido, aunque, su poder fermentativo depende de sus características genéticas.

Un producto que podría representar una alternativa

como materia prima para la producción de etanol es la cidra o chayote (*Sechium edule*) pues dentro de su contenido se destaca la presencia de sólidos solubles y no es un alimento básico para el consumo humano por lo tanto no afecta la seguridad alimentaria como en el caso del maíz y la caña de azúcar, principales materias primas para la producción de este (2).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utiliza como sustrato para la obtención de etanol los sólidos solubles de cidra cultivada en la región del Quindío, seleccionada de acuerdo a su tamaño (longitud y diámetro).

Caracterización de la cidra

La caracterización se realizó evaluando los siguientes parámetros: °Brix, se determinaron en un refractómetro de mesa (Thermo Electron Corporation) manteniendo una temperatura constante de 25°C; humedad, según la A.O.A.C.; cenizas, de acuerdo con la norma TAPPI T 211 om-85; lignina, según la norma TAPPI 222 om-88; celulosa con el método del hipoclorito de sodio; azúcares reductores, por el método foto colorimétrico del ácido 3,5- dinitrosalicílico (DNS); contenido de nitrógeno por el método de micro kjeldhal; color, por medio de un Colorímetro Minolta CR-10 en el sistema CIELAB.

Producción de medio de cultivo para fermentación a partir de sólidos solubles

Se pesaron entre 4 y 6 kilos de *Sechium edule* por fermentación, se licuaron y se filtraron, el filtrado (sólidos solubles), se concentró por medio de calentamiento, hasta alcanzar 18 °Brix, se autoclavó, se le agregaron 4 gramos de levadura previamente activada, para esto la levadura inicial se sembró en una solución de panela, la cual se puso a fermentar durante tres días, al final de los cuales, la solución se centrifugó y decantó, el residuo, las levaduras activadas, fueron sembradas en el concentrado de *Sechium edule* y se fermentó durante 8 días a temperatura ambiente.

Las soluciones obtenidas en las fermentaciones se destilaron en un equipo de destilación fraccionada, la mezcla etanol-agua producida fue destilada nuevamente y rectificada. Al residuo de las fermentaciones se le midieron metales traza y se fermentó nuevamente con el fin de aprovechar su remanente de azúcares.

Al etanol rectificado se le realizaron análisis por espectrometría de infrarrojo y la concentración de etanol se determinó por el método de la picnometría.

Caracterización de sustratos para fermentar

Al sustrato obtenido después de la reducción de volumen y al obtenido después de la destilación del etanol se les determinó Nitrógeno, °Brix y metales trazas como: hierro, cobre, zinc, manganeso y magnesio.

El contenido de elementos trazas se determinó mediante absorción atómica, utilizando el espectrofotómetro de llama Thermo Electron Corporation S4 AA Spectrometer. Empleando la metodología descrita por Ross y Price para análisis de minerales en jugos de frutas (3).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la cidra

Tabla 1: Determinación de °Brix durante doce días de poscosecha.

Días	Brix
1	5,58 ± 0.15
2	5,58 ± 0.15
3	5,82 ± 0.11
4	6,12 ± 0.25
5	6,34 ± 0.15
6	6,18 ± 0.19
8	5,95 ± 0.2
9	5,79 ± 0.4
10	5,65 ± 0.2
12	5,46 ± 0.21

La determinación de grados brix en *Sechium edule* muestra una tendencia a aumentar durante los primeros cinco días de poscosecha, luego de estos disminuye, coincidiendo con lo reportado por Zaccari para las cucurbitáceas (4). Esto se debe posiblemente a que los azúcares empiezan lentamente a convertirse en alcoholes (5) o al consumo de carbohidratos por oxidación respiratoria. (6)

Tabla 2: Determinación de humedad, cenizas, lignina, celulosa y azúcares reductores.

Porcentaje de Humedad	91,2525 % ± 0,4
Porcentaje de Cenizas	0,5989 % ± 0.004
Porcentaje de Lignina	0,23 % ± 0.017
Porcentaje de Celulosa	16,37 % ± 1.08
Azúcares reductores (ppm)	32206 ppm ± 192.8

Los porcentajes de humedad y cenizas encontrados de 91.2525% ± 0.4 y 0,5989 % ± 0.004 respectivamente muestran un comportamiento similar a los reportados por IPGRI (Internacional Plant Genetic Resources Institute) (7) y por Peter et al (8) de 89 a 93.4 % humedad y 0.4-0.6% de cenizas para 100 gramos del fruto de chayote.

El contenido de celulosa y lignina coincide con los reportados por Modgil (9) quien analizó el contenido de carbohidratos y minerales presentes en el chayote reportando el porcentaje de lignina como 0,23% y el de celulosa 16,42%.

En el zumo de *Sechium edule*, se encontró una concentración de 32 gramos por kilogramo de fruto de azúcares reductores.

- 138 - Obtención de etanol a partir de sólidos solubles

Tabla 3: Determinación de Nitrógeno y proteína en fruto fresco

Porcentaje de nitrógeno		
Cáscara	Pulpa	Semilla
0.17192 ± 0.003	0.09699 ± 0.004	0.36227 ± 0.002
Porcentaje de proteínas		
1.075 ± 0.015	0.5625 ± 0.012	2.2637 ± 0.010

El porcentaje de proteína obtenido en la pulpa coincide con el reportado por Díaz et al, de 0.6g por 100 g de pulpa comestible; mientras que el promedio entre cascara y pulpa de 0.82g coincide con el publicado por la INCAP de 0.9g (10), según la FAO (11) la semilla contiene mayor cantidad de aminoácidos que el resto del fruto, por lo tanto la cidra se considera una materia prima pobre en proteínas. La cantidad de nitrógeno presente en el fruto es importante ya que servirá como nutriente para los diferentes microorganismos en los procesos de hidrólisis y fermentación.

Tabla 4: Valores de ΔE para cidra en determinación de Color

Cidra N°	Δ E
1	1,2
2	1,859
3	1,89

Los parámetros de color determinados no mostraron grandes variaciones durante los días de post cosecha en los cuales se realizaron las mediciones.

Siendo los mismos tres frutos los analizados durante dichos días se realizó el cálculo de la variación de color (ΔE).

El valor de ΔE promedio arrojado es de 1,649 lo cual significa que hubo un cambio de color apenas apreciable durante los días de análisis. (12) Por lo tanto el color no es un parámetro determinante para la selección de la materia prima.

FERMENTACION

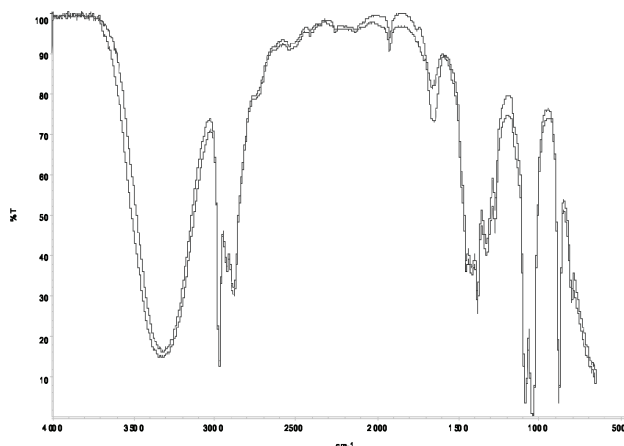
El rendimiento en mililitro por 100 g de sólidos solubles de las fermentaciones se presenta en la siguiente tabla:

Tabla 5: Rendimientos de etanol en los sustratos obtenidos a partir de los sólidos solubles (ss) de *Sechium edule*.

Peso sólidos solubles (g)	Rendimiento en etanol (mL/100g ss)
96,06	52.18

Análisis de los espectros Infrarrojo del etanol

Figura 1: espectros infrarrojos de etanol a partir de cidra (rojo) y etanol grado reactivo al 96% (azul).



La figura 1 muestra la comparación entre los espectros de etanol obtenido a partir de cidra y etanol grado reactivo al 96% donde se observan las bandas características de estiramiento del grupo hidroxilo entre 3200 y 3500 cm^{-1} y de los enlaces C-H en el intervalo de 2850 a 2960 cm^{-1} . Los alcoholes muestran también una fuerte absorción de estiramiento C-O cerca de los 1050 cm^{-1} . (13)

Las bandas reportadas del espectro Infrarrojo del etanol obtenido a partir de cidra coinciden con las presentadas por el etanol grado reactivo.

Caracterización de sustratos para fermentar y sus residuos

Tabla 6: Grados Brix y proteína en sustratos de fermentación

	Sustrato inicial	Residuo destilado
% Nitrógeno	0.022	0.027
° Brix	18	11

El valor medio de nitrógeno asimilable por la levadura es de 120 a 140 mg N/L (14), valor bajo en comparación con los encontrados al analizar los sustratos de

fermentación que arrojaron valores medios de 210.244 mg N/L en el inicial y 276.336 en el residuo destilado, pero estos valores de nitrógeno asimilable generalmente son considerados como no limitantes para lograr la fermentación alcohólica.

Tabla 7: Metales en sustratos de fermentación

Metales	Concentración de metal (ppm)	
	Sustrato inicial	Residuo destilado
Fe	2,08	3,8
Cu	2,5	2,8
Zn	15,9	18,3
Mn	1,4	1,9
Mg	15,1	15,5

Para la caracterización de los sustratos de fermentación se midieron los metales traza Fe, Cu, Zn, Mn y Mg antes de la fermentación y después de la destilación, observándose un aumento en su concentración después de reducir el volumen durante las destilaciones.

El hierro y el cobre son nutrientes esenciales para *Saccharomyces cerevisiae* ya que participan en procesos muy relevantes pero el exceso o la incorrecta distribución de estos metales puede resultar tóxico. Dadas sus propiedades redox, la acumulación de hierro y cobre libres da lugar a la generación de especies reactivas de oxígeno capaces de provocar daños a diferentes componentes celulares como lípidos, proteínas y DNA (15).

El hierro en estado reducido (Fe^{2+}), adicionado en células suspendidas en solución amortiguadora de fosfatos, puede estimular la formación de radical hidroxilo, el cual es capaz de iniciar el proceso de peroxidación de lípidos. Sin embargo la sensibilidad de esferoplastos de *S. cerevisiae* hacia la peroxidación de lípidos inducida por Fe^{2+} es prácticamente nula, mientras que el funcionamiento de la cadena de transporte de electrones de la mitocondria y la integridad de la célula no muestran tampoco alteraciones importantes a 50 y 100 μM de Fe^{2+} (2,792 y 5,584 ppm) (16).

Los resultados de las concentraciones de hierro arrojados en el análisis de los sustratos iniciales son inferiores a 50 μM mientras que los valores de los sustratos destilados se encuentran dentro del intervalo

de 50 y 100 μM , lo que indica que ninguna de las concentraciones encontradas es perjudicial para la levadura. Las células de *Saccharomyces cerevisiae* no presentan ningún efecto perjudicial en su crecimiento a concentraciones de manganeso inferiores a 15 mM (824.07 ppm) (17).

El zinc es un elemento importante en el metabolismo de *Saccharomyces cerevisiae* ya que es necesario para varias enzimas, tales como la alcohol deshidrogenasa, la aldolasa, la fosfatasa alcalina y las ADN y ARN polimerasas.

Al igual que el zinc el magnesio tiene mucha importancia en el proceso de fermentación, ya que los iones de este influyen directamente en la tasa de crecimiento de la levadura, el consumo de azúcar y la producción de etanol. Altas concentraciones de magnesio en el medio mejoran la supervivencia de las células a altas concentraciones de etanol.

Sin embargo, el zinc y otros oligoelementos necesarios para el crecimiento de levadura pueden ser tóxicos. La toxicidad podría disminuir debido a las interacciones con otros elementos traza o los nutrientes del sustrato.

Las concentraciones óptimas encontradas fueron, para zinc hasta 1mM (65.39ppm) y para magnesio hasta 50 mM (1215,25 ppm) (18), por lo tanto las concentraciones halladas para estos dos metales tanto en los sustratos iniciales como en los destilados se encuentran muy por debajo de las que podrían llegar a ser tóxicas.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que la cidra puede ser utilizada para la producción de etanol.

Las principales bandas de los espectros infrarrojos del etanol grado reactivo y el etanol obtenido a partir de cidra coinciden y existe similitud entre ambos espectros.

Los procesos fermentativos realizados con *saccharomyces cerevisiae* en los sólidos solubles produjeron 52,18 ml de etanol por cada 100g.

La caracterización de *Sechium edule* producida en el Quindío, permitió demostrar que sus componentes se encuentran en concentraciones similares a las reportadas en otras investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 García, J. M. y García, J. A. Informe de vigilancia tecnológica. Consultado Abril 15, 2009, en http://www.madrimasd.org/informacionIDI/biblioteca/publicacion/doc/VT/vt4_Biocarburantes_liquidos_bio_disel_y_bioetanol.pdf.
- 2 Spiritto, F. Introducción a la crisis alimentaria de 2008. Consultado Junio 20, 2009, en <http://www.icpcolombia.org/archivos/revista/No%2018/048-051.pdf>.
- 3 Ross T. H. y Price W. J. (1970). Analysis of fruit juices. Sci. Food Agr. Pg. 21, 51.
- 4 Zaccari, F. Cucurbitaceae. Consultado junio 25, 2009, en <http://www.fagro.edu.uy/~horticultura/CURSO%20HORTICULTURA/CUCURBITACEAS/Cucurbitaceas%20Introduccion%20Fisiologia.pdf>.
- 5 Dager, B, Cornejo, P, Demerutis, C. y Palacios R. (2007). "Determinación del estado de madurez óptimo para cosecha y caracterización post-cosecha de Canistel (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni)". *Tierra tropical*, 3(1), 109-116.
- 6 Cheftel, J.C. y Cheftel, H. (1976). *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*. Zaragoza: Editorial Acribia. Pg. 143.
- 7 International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). Consultado junio 11, 2009, en <http://www.ipgri.cgiar.org/publications/pdf/355.pdf>.
- 8 Peter, K.V. (2007). *Underutilized and Underexploited Horticultural Crops*. Editorial New India Publishing. Pg. 392.
- 9 Modgil, M, Modgil, R. y Kumar, R. (2004). "Carbohydrate and Mineral Content of Chayote (*Sechium edule*) and Bottle Gourd". *Journal of Human Ecology*, 15(2), 157-159.
- 10 Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Tabla de composición de alimentos de Centroamérica: instituto de nutrición de Centroamérica y Panamá. Consultado Noviembre 3, 2008, en <http://www.tabladealimentos.net/tca/index.php/producto/detalleProducto/11047>.
- 11 Spiritto, F. Introducción a la crisis alimentaria de 2008. Consultado Junio 20, 2009, en <http://www.icpcolombia.org/archivos/revista/No%2018/048-051.pdf>.
- 12 Sharma, A. (2003). *Understanding color management*. Editorial Cengage Learning. Pg 362.
- 13 McMurry J. (2001). *Química orgánica*. México: Internacional Thomson Editores. Quinta edición. Pg. 461, 463, 689.
- 14 Taillandier, P, Ramon, F, Fuster, A. y Strehaiano, P. Effect of ammonium concentration on alcoholic fermentation kinetics by wine yeasts for high sugar content. Consultado Julio 7, 2009, en http://oatao.univ-toulouse.fr/1553/1/Taillandier_1553.pdf
- 15 Serrano, R. (2006). Mecanismos de adaptación de *Saccharomyces cerevisiae* a la alcalinización ambiental. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. Departamento de Bioquímica y Biología molecular. Pg. 24
- 16 Cortes, C, Estrada, M, Manzo, S. y Saavedra, A. (2009). "Influencia de la Per oxidación de Lípidos sobre el Daño Oxidativo Mitocondrial y la Integridad de *Saccharomyces cerevisiae*". *Información tecnológica*, 20(2), 71-81.
- 17 Galiazzo, F, Pedersen, J. Z, Civitareale, P, Schiesser, A. y Rotilio, G. (1989). "Manganese accumulation in yeast cells". *Biology of Metals*, 2, 6-10.
- 18 Nikolić, S, Mojović, L, Rakin, M. y Pejčin, D. (2009). "Bioethanol production from corn meal by simultaneous enzymatic saccharification and fermentation with immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* var. *Ellipsoideus*". *ELSEVIER*, 88, 1602-1607.