



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ -MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

## **II EVENTO INTERNACIONAL LA UNIVERSIDAD EN EL SIGLO XXI**

**PONENCIA: SIMPOSIO 1**

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

### **AUTORES:**

**M.P.A. Ely Fernando Sacón Vera**

**Oscar Vicente Cevallos García**

**Francisco Manuel Demera Lucas**

**Rody José Marcillo Quiroz**

**Ing. Mario René López Vera**

**M.P.A. Rosanna Katerine Loor Cusme.**

**SEPTIEMBRE, 2013**

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe una gran preocupación por las consecuencias desastrosas que generaría el peligro de enfrentar una crisis energética. Es fácil deducir que el petróleo como combustible fósil es de amplio uso y por tanto potencialmente agotable, podría disminuir significativamente en el mediano o largo plazo sus reservas naturales. Esta situación debe despertar el interés y la atención de quienes se vean inmersos en ella, 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 un estudio 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 energía solar es utilizada a través del mecanismo de Conversión Fotosintética (Fotobiológica) de las plantas, por medio de la cual el CO<sub>2</sub> de la atmósfera es fijado por el vegetal en diversos compuestos de naturaleza orgánica, formando carbohidratos. 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).

La Agencia Internacional de Energía (2007), define como biomasa cualquier materia de origen vegetal. Esta puede ser usada directamente como combustible o ser convertida en otras formas antes de su combustión (Ortíz, 2008). La lignocelulosa es el principal componente de la pared celular de las plantas, esta biomasa es producida por la fotosíntesis, es decir que es una fuente de carbono renovable (Cuervo, 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, 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, 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 es 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 determinar el proceso de obtención de bioetanol primario a partir del desdoblamiento químico y biológico de la biomasa lignocelulósica del mate.

## **DESARROLLO**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

Esta investigación se realizó en las instalaciones del Taller de Frutas y Vegetales y los laboratorios de Microbiología y Química de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “ESPAM MFL”, entre los meses de junio a diciembre del 2012. La planta y los laboratorios están ubicados en el sitio “El Limón”, parroquia Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí, situada geográficamente entre las coordenadas 0o 49´27.9´´ de latitud sur y 80o 10´ 27.2´´ de Longitud Oeste a una altitud de 15.5 msnm (Vera, 2006).

#### **Materia prima**

Se utilizó fruto de mate en estado maduro de forma redondos, con un peso promedio de 2.5 kg, y con un diámetro aproximado de 30 cm, de color verdoso, contiene 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 (Crescentía cujete) y 250 mL del jugo ya centrifugado con el fin de realizarles análisis de azúcares reductores y totales.

#### **Diseño experimental**

Se utilizó levadura (*S. cerevisiae*) como agente de fermentación en dos concentraciones (2mL y 5mL) y ácido sulfúrico como hidrólisis ácida, en tres concentraciones de (2.5%, 5%, 7.5%) respectivamente. Cada tratamiento estuvo compuesto por 1000 mL de pulpa de mate. Se utilizó un diseño completamente al azar en arreglo bifactorial AxB, con tres replicas por cada tratamiento. Se empleó la prueba de Tukey al 0.05 probabilidades de error para la categorización de los promedios de las fuentes de variación.

**Cuadro 1. Detalle de los tratamientos**

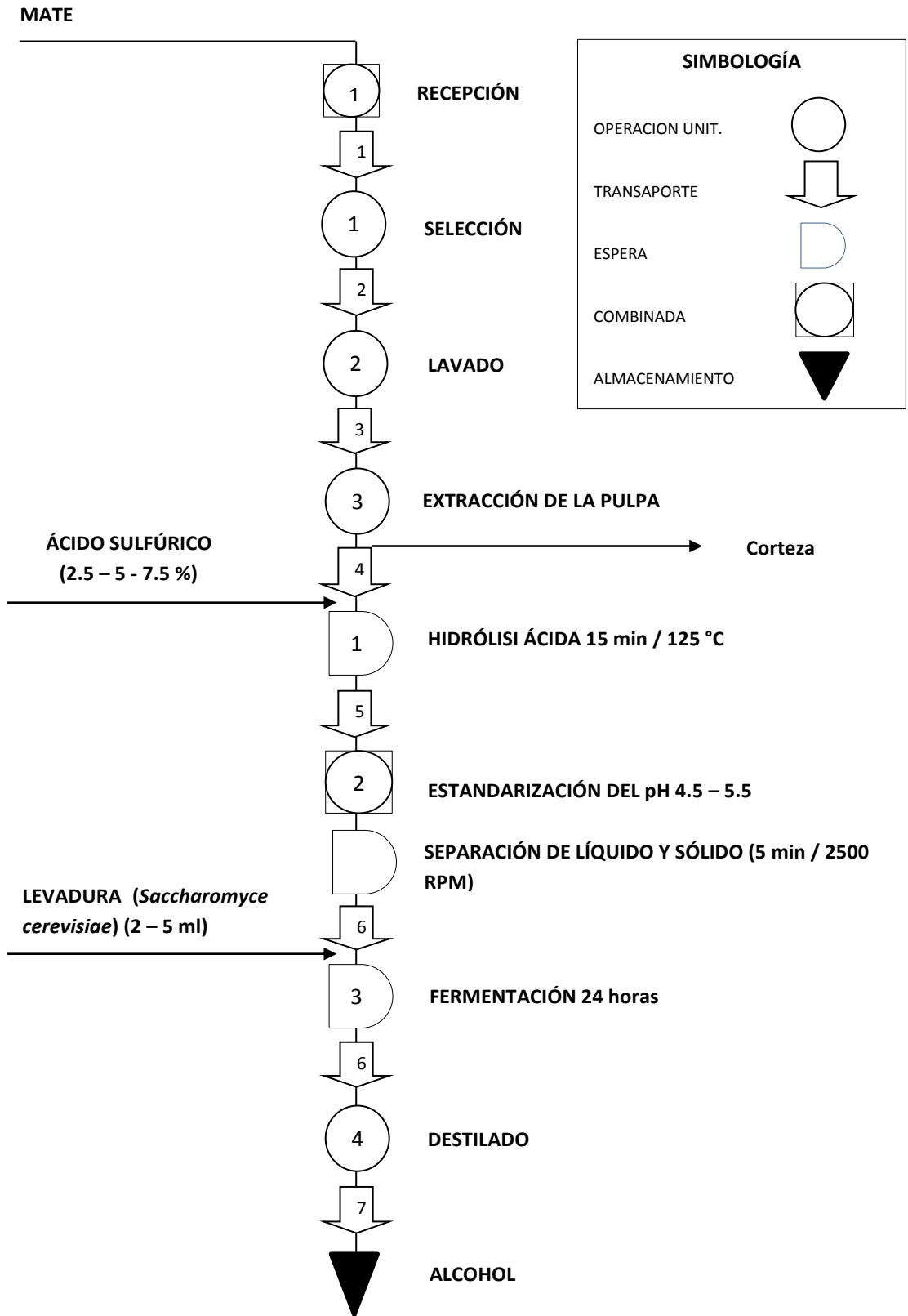
TRATAMIENTOS	CÓDIGOS	DESCRIPCIÓN	
		S. cerevisiae (mL)	Ácido sulfúrico (%)
T1	a1b1	2	2.5
T2	a1b2	2	5
T3	a1b3	2	7.5
T4	a2b1	5	2.5
T5	a2b2	5	5
T6	a2b3	5	7.5

### **Métodos**

A la materia prima se le realizaron los análisis físico-químicos en base a los métodos propuestos, entre estos se midieron: Acidez (Volumétrico), °Brix (Refractómetro), Grado Gay Lussac (Densímetro), Azúcares totales y reductores (Laboratorio INIAP de Quito).

### **Manejo experimental**

Se diseñó un diagrama de procedimientos para la extracción de alcohol a partir del mosto de mate, el cual se detalla a continuación:



**FIGURA 1. DIAGRAMA DE EXTRACCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DEL MOSTO DE MATE**

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### a. Caracterización de la materia prima:

En la materia prima se determinaron los parámetros físico-químicos, como se muestra en el Cuadro 2.

**Cuadro 2.** Propiedades físico-químicas del mate

ANÁLISIS DE LA MATERIA PRIMA				
ITEM	PARAMETROS	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADOS
1	°Brix	Refractómetro	%	20
2	pH	Potenciómetro	.....	3.5
3	acidez (expresada en ácido acético)	Volumétrico	%	0.82
4	Azúcares Reductores	-	%	6.46
5	Azúcares Totales	-	%	13.93

### b. Respuestas experimentales:

#### b.1. Parámetros físico químicos

- **Acidez**

Mediante el análisis estadístico ADEVA (cuadro 3.) se observa que no existieron diferencias significativas tanto para las concentraciones de ácido sulfúrico y concentraciones de levadura sobre esta variable, en el análisis estadístico la interacción de la concentraciones de ácido sulfúrico y concentraciones de levadura sobre esta variable se observa que presentaron diferencias altamente significativas, y según tukey la magnitud de diferencias entre tratamiento es de dos rangos, mostrando que el T5 (5% de ácido sulfúrico + 2 ml de levadura) predomina con una acidez de 0,643% en relación a los demás tratamientos. Estos datos tienen relación con los de (Florez, 2012), quien manifiesta que la acidez del mosto del mate fue de 0,54 este comportamiento se presentó por el mismo proceso de maduración del fruto.

**Cuadro 3.** Promedios de la concentración de levadura y porcentaje de ácido sulfúrico sobre la variable acidez en el mosto de mate

FACTORES	VARIABLE ACIDEZ
<b>CONCENTRACIONES DE LEVADURA</b>	<b>NS</b>
a <sub>1</sub>	0,80
a <sub>2</sub>	0,80
<b>% DE ÁCIDO SULFÚRICO</b>	<b>NS</b>
b <sub>1</sub>	0,79
b <sub>2</sub>	0,76
b <sub>3</sub>	0,85
<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>**</b>
a <sub>1</sub> *b <sub>1</sub>	0,71 ab
a <sub>1</sub> *b <sub>2</sub>	0,88 b
a <sub>1</sub> *b <sub>3</sub>	0,82 ab
a <sub>2</sub> *b <sub>1</sub>	0,87 b
a <sub>2</sub> *b <sub>2</sub>	0,64 a
a <sub>2</sub> *b <sub>3</sub>	0,89 b
<b>Tukey</b>	<b>0,22</b>
<b>C.V. (%)</b>	<b>10,09</b>

- **°Brix**

Mediante el análisis estadístico ADEVA (cuadro 4.) se observa que no existieron diferencias significativas en las concentraciones de levadura sobre esta variable, mientras que para el factor concentraciones de ácido sulfúrico existe diferencia significativas, y tukey proyectó dos rangos estadístico entre tratamiento, mostrando en primera categoría estadística el nivel b2 con 17,32 °Brix, sin embargo el nivel b3 comparten la misma categoría con 15,63 °Brix, mientras que la interacciones de los factores porcentajes de ácido sulfúrico y concentraciones de levadura sobre esta variable no presentaron diferencias significativas, en relación con (Aguirre, 2011) quien manifiesta que los °Brix del mosto de la Caña de azúcar fluctúan entre 10 y 16 %, esto se evidencia que el mosto del mate contiene una mayor concentración de solidos solubles.



**Cuadro 4.** Promedios de la concentración de levadura y porcentaje de ácido sulfúrico sobre la variable °Brix en el mosto de mate

FACTORES	VARIABLE
	°BRIX
<b>CONCENTRACIONES DE LEVADURA</b>	<b>NS</b>
a <sub>1</sub>	15,57
a <sub>2</sub>	16,43
<b>% DE ÁCIDO SULFÚRICO</b>	<b>*</b>
b <sub>1</sub>	15,05 b
b <sub>2</sub>	17,32 a
b <sub>3</sub>	15,63 ab
<b>Tukey</b>	<b>2,04</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>NS</b>
a <sub>1</sub> *b <sub>1</sub>	15,10
a <sub>1</sub> *b <sub>2</sub>	16,17
a <sub>1</sub> *b <sub>3</sub>	15,43
a <sub>2</sub> *b <sub>1</sub>	15,00
a <sub>2</sub> *b <sub>2</sub>	18,47
a <sub>2</sub> *b <sub>3</sub>	15,83
<b>C.V. (%)</b>	<b>8,28</b>

- **Grado Gay Lussac**

Mediante el análisis estadístico ADEVA (cuadro 5.) se observa que existieron diferencias altamente significativas de las concentraciones de levadura sobre esta variable, y tukey proyectó dos rangos estadísticos, mostrando en primera categoría estadística el nivel a1 con 15,21 °GL. Para el factor porcentaje de ácido sulfúrico presento diferencias altamente significativas, y tukey proyectó dos rangos estadísticos entre tratamientos, colocándolo en primera categoría estadística al nivel b2 con 17,35 °GL por encima de los otros niveles. La interacciones del porcentaje ácido sulfúrico y concentraciones de levadura sobre esta variable se observa que presentaron diferencias altamente significativas, y tukey proyectó tres rangos estadísticos sobresaliendo en primera categoría estadística el tratamiento a2b2 (5% de ácido sulfúrico + 5 mL de levadura) con 20,70 °GL, en relación con (Vásquez y Dacosta, 2007) quien manifiesta, que los Grado Gay Lussac de la caña de azúcar se logran obtener concentraciones finales de alcohol entre 8 y 12 °GL, esto se logra apreciar que el mosto del mate contiene una mayor cantidad de °GL que el de caña de azúcar.

**Cuadro 5.** Promedios de la concentración de levadura y porcentaje de ácido sulfúrico sobre la variable °GL en el mosto de mate

FACTORES	VARIABLE
	°GL
<b>CONCENTRACIONES DE LEVADURA</b>	
	**
a <sub>1</sub>	15,21 a
a <sub>2</sub>	11,30 b
Tukey	<b>2,08</b>
<b>% DE ÁCIDO SULFÚRICO</b>	
	**
b <sub>1</sub>	10,25 b
b <sub>2</sub>	17,35 a
b <sub>3</sub>	12,17 b
Tukey	<b>3,10</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	
	**
a <sub>1</sub> *b <sub>1</sub>	8,33 c
a <sub>1</sub> *b <sub>2</sub>	14,00 b
a <sub>1</sub> *b <sub>3</sub>	11,57 bc
a <sub>2</sub> *b <sub>1</sub>	12,17 bc
a <sub>2</sub> *b <sub>2</sub>	20,70 a
a <sub>2</sub> *b <sub>3</sub>	12,77 bc
Tukey	<b>5,52</b>
C.V. (%)	<b>15,18</b>

### b.2. Azúcares reductores

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 hidrólisis ácida la cual fue de 13,82% de azucares reductores, esto se evidencia que el proceso de hidrólisis ácida ayudó a que aumentes los azúcares reductores.

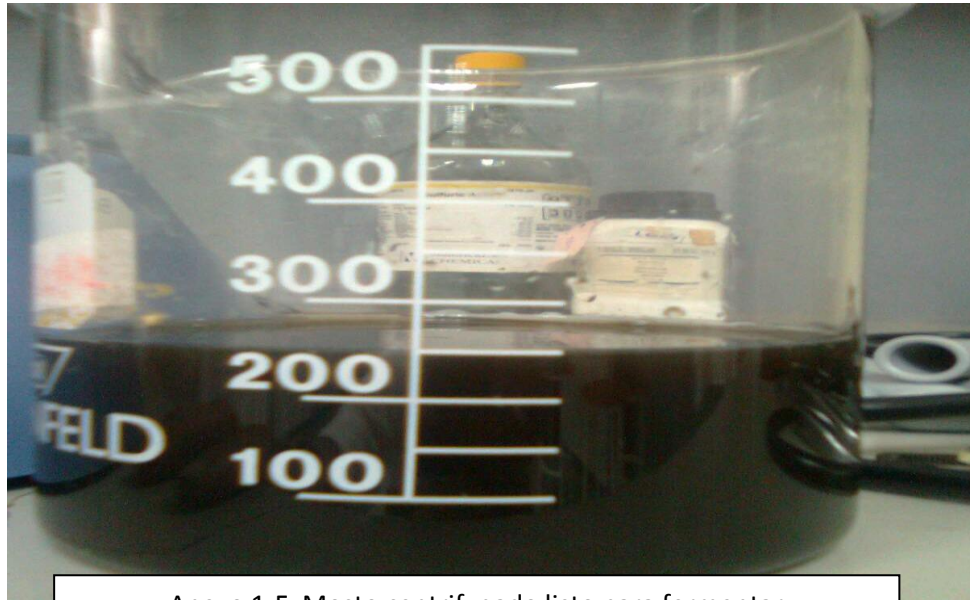
### b.3. Azúcares totales

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 antes disminuyeron los azucares totales en el mosto del mate.

## CONCLUSIONES

- El alcohol obtenido por la fermentación de la biomasa lignocelulósica del mate sólo es factible para obtener alcohol con 22 grados.
- La concentración al 5% de ácido sulfúrico desdobló la mayor cantidad de azúcares complejos.
- La combinación de los tratamientos a2 y b2 (5% ácido sulfúrico y 5% de levadura) dio el mayor porcentaje de grados de alcohol Gay Lussacc.
- La hidrólisis efectuada a la pulpa del mate logró desdoblar el material lignocelulósico de tal forma que los azúcares reductores aumentaron hasta un 13,82%, mientras que los totales disminuyeron a 13,86%.

## ANEXOS



Anexo 1-F; Mosto centrifugado listo para fermentar



Anexo 4-A; Obtención del bioetanol



Anexo 4-B; Análisis de Gay-Lussac

## BIBLIOGRAFÍA

- 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/bitstream/123456789/13423/1/ProyectoMAguirre.pdf>
- Almodares, A; Hadi, M; Ahmadpour, H. 2008. Sorghum stem yield and cabohydrates under different salinity levels. *Revista African of Biotechnology*. Vol 22. p 4051-4055.
- Barreto, M. (1980) citado por Chaves (2003). Etanol, O Combustivel Do Brasil. (En línea). Br. Consultado, 2 de Nov. 2012. Formato PDF. Disponible en <http://www.laica.co.cr/biblioteca/servlet/DownloadServlet?c=443&s>
- 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/revista/Revista\\_2009\\_3/Revista\\_2009\\_3.pdf](http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2009_3/Revista_2009_3.pdf)
- 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/scielo.php?pid=S0378-78182002000100003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-78182002000100003&script=sci_arttext)
- Flórez E. 2012. Evaluación de pulpa de totumo (*crescentia Cujete I*) 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/revistas/rta/documentos/17-1/4%20EVALUACION%20DE%20PULPA.pdf>.
- 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.
- 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.
- 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>

Vera, A. 2006. Determinación de curvas de retención de agua en suelos agrícolas del campus de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí. Tesis de Grado. Manabí Ecuador. Pag. 37.