

OBTENCIÓN DE BIOETANOL POR HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL ALMIDÓN DE PAPA CARDENAL

Huayta Mamani Braulio Wilfor ¹

¹ Investigador junior - Carrera de Ingeniería Química - Facultad de Ciencias y Tecnología
UAJMS - Tarija, Bolivia

Correo electrónico: b_w_htarija@hotmail.com

RESUMEN

Bolivia cuenta con una amplia variedad de papas (*solanum tuberosum*) de alta productividad que representan posibles alternativas industriales para la producción de azúcares fermentables y a partir de ellos obtener productos de mayor valor agregado como por ejemplo el alcohol biocombustible.

El objetivo del presente trabajo es obtener bioetanol por hidrólisis enzimática del almidón de papa cardenal con el fin de establecer la mejor condición para el proceso de hidrólisis enzimática. Para ello se utilizó una metodología de investigación científica diseño factorial de 23 dos niveles y tres variables: masa de enzima α -amilasa (MEA), pH de la solución y temperatura del proceso de hidrólisis. en un tiempo de 2 horas alcanzando una concentración de azúcares totales de 11%.

Una vez conocidos los parámetros óptimos se procedió a la optimización del tiempo alcanzando una concentración de azúcares totales de 14 % en un tiempo de 2 horas y 30 minutos. En el proceso de fermentación alcohólica se logró alcanzar un grado alcohólico de 6,041 OGL en un tiempo de fermentación del mosto (azúcares y dextrina) de 24 días a partir del uso de la levadura *Saccharomyces bayanus* PB2870 en las condiciones óptimas; recomendado por el fabricante consecutivamente se realizó el proceso de destilación alcohólica en un rota vapor.

Palabra Clave: papa, alcohol, enzimas, almidón.

ABSTRACT

Bolivia has a wide variety of high productivity potatoes (*solanum tuberosum*) that represent possible industrial alternatives for the production of fermentable sugars and from them to obtain higher added value products such as biofuel alcohol.

The objective of the present work is to obtain bioethanol by enzymatic hydrolysis of cardinal potato starch in order to establish the best condition for the enzymatic hydrolysis process. For this purpose, a scientific research methodology was used to design two 23 levels and three variables: α -amylase enzyme mass (MEA), solution pH and hydrolysis process temperature. In a time of two hours reaching a concentration of total sugars of 11%.

Once the optimum parameters were known, the optimization of the time was achieved reaching a total sugar concentration of 14% in a time of 2 hours and 30 minutes.

In the alcoholic fermentation process it was possible to reach an alcoholic level of 6.041 OGL in a fermentation time of the must (sugars and dextrin) of 24 days from the use of the yeast *Saccharomyces bayanus* PB2870 in the optimal conditions; which are recommended by the manufacturer, after it was performed the alcoholic distillation process in a steam steamer.

Key word: potato, alcohol, enzymes, starch.

INTRODUCCIÓN

Producción de Papa en Bolivia

La producción de papa en Bolivia genera 335 millones de dólares al Producto Interno Bruto (PIB) de Bolivia. El cultivo del tubérculo representa el 10 por ciento del PIB agrícola del país (INE, 2015).

La producción de papa en Bolivia del 2009 a 2014 según el Instituto Nacional de Estadística (INE), ha crecido un 18% (ver tabla 1).

Tabla 1. Superficie cultivada, producción y rendimiento de la papa.

Descripción	2012-2013	2013-2014
Superficie (ha)	187,520	190,209
Producción (T)	1.030,839	1.080,050
Rendimiento (T/ha)	5.897	5.678

Fuente: Instituto Nacional Estadísticas (INE), 2015

La producción de papa en la campaña 2013-2014 alcanzó 1,080,050.0 toneladas que se cultivan en un superficie de 190.209,0 hectáreas en toda Bolivia obteniendo un rendimiento del 5.678 T/ha (INE, 2014).

Según los datos del Instituto Boliviano de Comercio Exterior (IBCE) Bolivia requiere de al menos 490 mil toneladas del tubérculo para el abastecer su mercado interno.

En la industria de los biocombustibles es preciso establecer un modelo sostenible a partir del uso de fuentes renovables para proporcionar mayor seguridad al suministro de energía (biogás, biodiesel y etanol).

El bioetanol obtenido a partir del almidón de papa cardenal es una fuente renovable, sostenible y una alternativa económicamente viable debido a su alto rendimiento en la producción de bioetanol. Un estudio realizado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) indica que por cada tonelada métricas de papa se producen 110 litros de bioetanol.

La demanda anual de papa en Bolivia es de 490 mil toneladas que equivale aproximadamente a un medio de la oferta del producto en el mercado interno alcanzando un excedente de producción en Bolivia de 590,050 toneladas al año que equivalen en caso de ser procesadas, alrededor de 64.905,500 litros de alcohol al año.

A continuación se mencionan las razones más relevantes por las cuales este proyecto debe realizarse:

Aspecto social: Los productores de papa en las regiones tendrán una nueva alternativa para la venta de su producto como materia prima para la elaboración de bioetanol garantizando la compra del mismo; esto conlleva la ampliación de nuevas tierras agrícolas la generación de empleo en las regiones, mejorando la calidad de vida de los agricultores.

Aspecto ambiental: El etanol en la mezcla con gasolina reduce las emisiones de monóxido de carbono (CO) sin incrementar la de Óxidos Nitrosos (NOx). La mezcla de 10% de etanol al combustible trae los siguientes beneficios: reducción de un 30% de las emisiones de monóxido de carbono y disminución entre un 6% y un 10% de reducción de las emisiones de dióxido de carbono (CO₂) a la atmósfera.

ANÁLISIS DE LA MATERIA Y MÉTODOS

Análisis de la Materia Prima Papa Cardenal

La papa empleada para la obtención de bioetanol es la variedad cardenal de alta productividad en el departamento de Tarija, adquirida del mercado local ver tabla 2

Tabla 2. Composición proximal

COMPONENTE	COMPOSICIÓN %
Almidón	17,49
Humedad	77,48
Proteínas total	2,12
Azúcares totales	0,50

Fuente: CEANID, 2014.

Hipótesis

Es posible obtener bioetanol por hidrólisis enzimática del almidón de papa cardenal mediante el uso de enzimas α -amilasa.

METODOLOGÍA

Proceso de Hidrolisis Enzimática del Almidón

Para obtener etanol a partir del almidón es necesario romper las cadenas de este polisacárido para obtener jarabe de glucosa, el cual se puede convertir en etanol mediante las levaduras.

De cada 100 g de almidón se puede obtener teóricamente 111g de glucosa lo que implica una relación estequiometría de 9:10 (Sánchez, O. 2005).

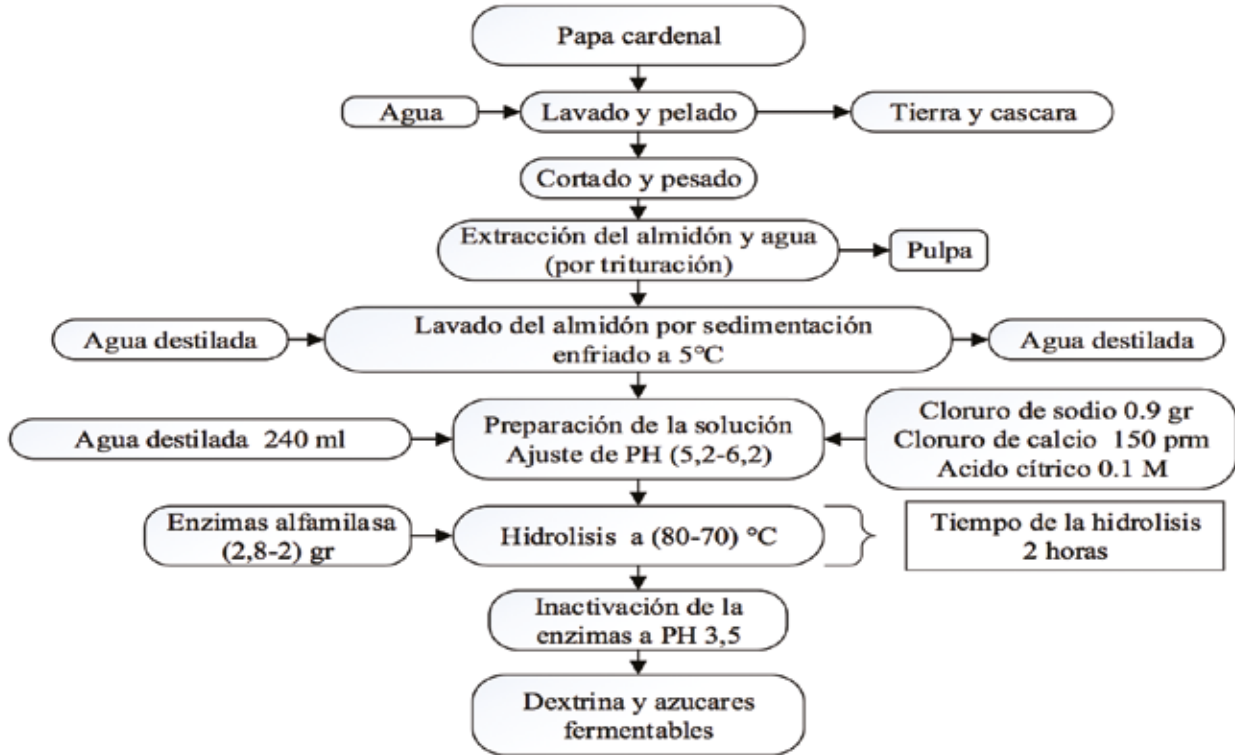
Para la hidrólisis del almidón se usa la α -amilasa lo que le hace idea para la primera etapa de la hidrólisis de la suspensión del almidón que tienen que ser llevadas a la temperaturas de (70 - 80) °C para el rompimiento de estos gránulos de almidón provenientes de un tubérculo. (Carrera, C. 2004)

Proceso de Hidrolisis Enzimática del Almidón

En la figura 1 se muestra el proceso de conversión del almidón a dextrina y azúcares fermentables.

El proceso se realizó bajo acción de enzimas dextrinizantes α -amilasa en cantidades de 8 gr/litro recomendó por el fabricante.

Figura 1. Diagrama de bloques del proceso de conversión del almidón a dextrina y azúcares fermentables.



Fuente: Elaboración propia, 2014

Cuantificación de la Cantidad de Almidón en Cada Muestra

Para la cuantificar de la cantidad de almidón que se encuentra en 250g de papa cardenal se procedió al secado en una estufa de 5 muestras, a 55 0C de temperatura y un tiempo determinado, hasta obtener un peso constante de las muestras (ver tabla 3).

Al extraer el almidón de papa cardenal se procedió a realizar el lavado con 500 cm3 de

agua, dejando reposar por un periodo de 30 min que dura el proceso de sedimentado del almidón; luego se eliminó toda el agua superficial, dejando una muestra humedad (almidón y agua) con un peso de la muestra 1 de 70,01 gr.

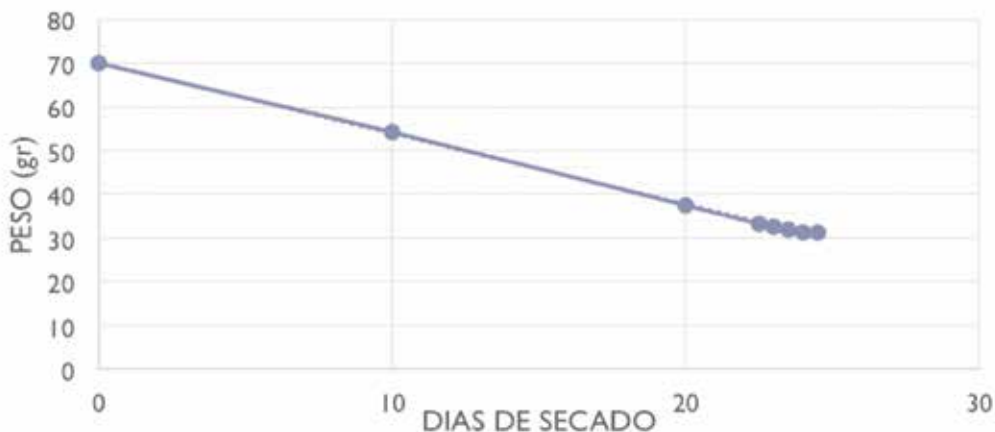
Para eliminación el agua de la muestra se procedió a realizar el secado de la muestra 1 en una estufa por un periodo de 24.5 horas. Al culminar el proceso de secado de la muestra 1 tiene un peso seco de 31,34 gr.

Tabla 3. Secado de la muestra 1

Peso(g)	70,01	54,23	37,40	33,29	32,7	31,85	31,34	31,34
t(h)	0	10	20	22,5	23	23,5	24	24,5

Fuente: Elaboración propia.

Figura 2. Curva de secado muestra 1



Fuente: Elaboración propia

A partir de los datos obtenidos en el secado se pudo cuantificar la masa de almidón que contiene 250g de papa cardenal y poder cuantificar el volumen de agua destilada en la hidrólisis a partir de la relación 1:10 sólido –líquido.

Diseño Factorial para la Hidrolisis

En base al marco teórico realizado para el presente trabajo se fijó dos temperaturas del proceso de hidrólisis de 70oC y 80oC, masa de

enzima α -amilasa de (2 gr y 2,8 gr) y un pH del proceso de hidrólisis (5,2 y 6,2) que se encuentra dentro del intervalo que se estableció por Jorge Carrera y el fabricante (ver tabla III-2).

El tiempo de hidrólisis se mantuvo constante durante un tiempo de 2 horas que luego de conocer las condiciones óptimas del proceso de hidrolisis se procedió a una optimización del tiempo.

Tabla 4. Parámetros para la conversión del almidón a dextrina y azúcares fermentables.

Nivel	masa de enzima α -amilasa (MEA) en (gr)	pH de hidrólisis en (pH)	Temperatura de hidrólisis (T) en (C°)
superior	2.8	6.2	80
inferior	2	5.2	70

Fuente: Elaboración propia.

Tomando estos datos como punto de partida se realiza un diseño factorial de 23 (dos niveles, tres variable).

- N° variables = 3
- Niveles = 2
- N° de experimentos = $2^3 = 8$

Como se harán dos repeticiones entonces.
 N° de experimentos = $8 * 2 = 16$

Considerando las combinaciones de estas variables se determinaran cuál de ellas es la más significativa cuando se analice la variable respuesta previo análisis de laboratorio de

azúcares totales ver tabla 5.

RESULTADOS DEL PROCESO DE HIDROLISIS.

El grado de hidrolisis de un almidón se expresa generalmente en función del equivalente de dextrosa el cual está directamente relacionado con la cantidad de grupos libres de azúcares.

Análisis de Azucares Totales

Las muestras de hidrolizado de almidón de papa cardenal fueron analizados por el Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID), cuyo resultados se expresa en la tabla 5

Tabla 5. Resultados de azúcares totales.

Muestra	MEA (gr)	pH-h (pH)	T (°C)	Azuceres Totales (%)	
				Análisis 1	Análisis 2
1	2	5,2	70	5,31	6,70
2	2	6,2	70	5,12	5,35
3	2,8	5,2	70	10,26	10,21
4	2,8	6,2	70	6,42	6,75
5	2	5,2	80	4,50	5,69
6	2	6,2	80	6,64	5,65
7	2,8	5,2	80	11,06	10,90
8	2,8	6,2	80	7,05	5,35

Fuente: Elaboración propia

Optimización del Tiempo de Hidrólisis

Una vez definidos los parámetros óptimos de la fase de hidrolizado se procedió a optimización del tiempo del proceso.

Para la optimización del tiempo se tomó muestras de la solución a diferentes tiempos ver tabla 6 de reacción de hidrolizado para realizar un

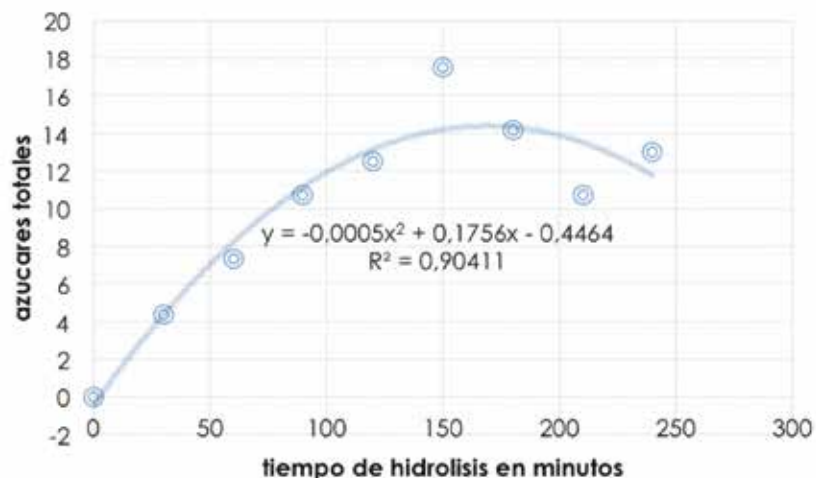
seguimiento del aumento de azúcares formados en el proceso.

A partir de la curva de hidrólisis del almidón de papa cardinal se procedió a calcular el tiempo óptimo del proceso de hidrólisis de 2 horas y 30 minutos (ver figura 3) pasado este tiempo no se justifica seguir la reacción porque la producción no aumenta considerablemente.

Tabla 6. Optimización del tiempo de hidrólisis

Azuceres totales (%)	0,0	4,35	7,30	10,70	12,50	17,50	14,20	10,70	13
Tiempo (min)	0	30	60	90	120	150	180	210	240

Fuente: Elaboración propia

Grafico IV-2. Curva de hidrólisis

Fuente: Elaboración propia

PROCESO DE FERMENTACIÓN

Los factores físicos que se deben considerar en la fermentación alcohólica son esencialmente el pH y la temperatura de fermentación.

La temperatura de fermentación del mosto (dextrina y azúcares) se conserva a temperatura constante de 38 oC que se encuentra dentro del intervalo especificado por el fabricante de (40 oC a 35 oC).

El pH de fermentación alcohólica según el fabricante de la levadura *Saccharomyces Bayanus* PB2870 tiene un pH óptimo comprendido entre 4,0 y 3,5

En la figura 4 se muestra el proceso de fermentación alcohólica y destilación.

Para el proceso de fermentación alcohólica se usó levadura *Saccharomyces bayanus* PB2870

previamente activada. Normalmente las levaduras actúan sobre la glucosa pero hay que considerar que el mosto obtenido por la hidrólisis del almidón es una mezcla de azúcares fermentables y dextrina. Por eso se recurrió a la levadura (hongo) *Saccharomyces bayanus* PB2870 que tiene una composición: levadura seca activa, lípidos, carbohidratos y enzima (proteínas) que hidroliza la dextrina del mosto de fermentación.

Figura 4. Diagrama de bloque del proceso de fermentación alcohólica y destilación



Fuente: Elaboración propia, 2014

RESULTADOS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHOLICA

(ver tabla 7) en un tiempo de fermentación de 22 días.

Datos Obtenidos en la Primera Fermentación

Los datos obtenidos en la fermentación alcohólica fueron densidad relativa (gr/cm³) y pH del mosto

Se observa un descenso en la densidad relativa y pH del mosto en el trascurso de los días. La disminución de la densidad relativa se debe a la formación de etanol que tiene menor densidad que el agua.

Tabla 7. Datos obtenidos en la primera fermentación.

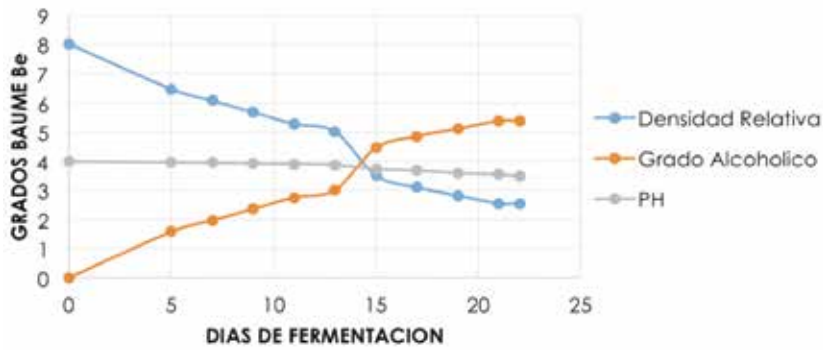
Tiempo (días)	Grados Baume (°Be)	Densidad Relativa (gr/cm ³)	Grado Alcohólico (°GL)	pH Fermentación
0	8,03	1,059	0	4
5	6,48	1,047	1,575	3,96
7	6,08	1,044	1,968	3,95
9	5,68	1,041	2,362	3,92
11	5,28	1,038	2,756	3,91
13	5,01	1,036	3,018	3,87
15	3,51	1,025	4,462	3,74
17	3,1	1,022	4,856	3,68
19	2,82	1,02	5,118	3,6
21	2,55	1,018	5,381	3,55
22	2,55	1,018	5,381	3,48

Fuente: Elaboración propia

(OGL) = (Dr inicial – Dr final)*131.25
 (OGL) = (1,059 - 1,018)*131.25 = 5.381

Nota: Cabe mencionar que le grado alcohólico (OGL) calculado por la ecuación es la cantidad de alcohol probable en la solución

Figura 5. Primera fermentación alcohólica.



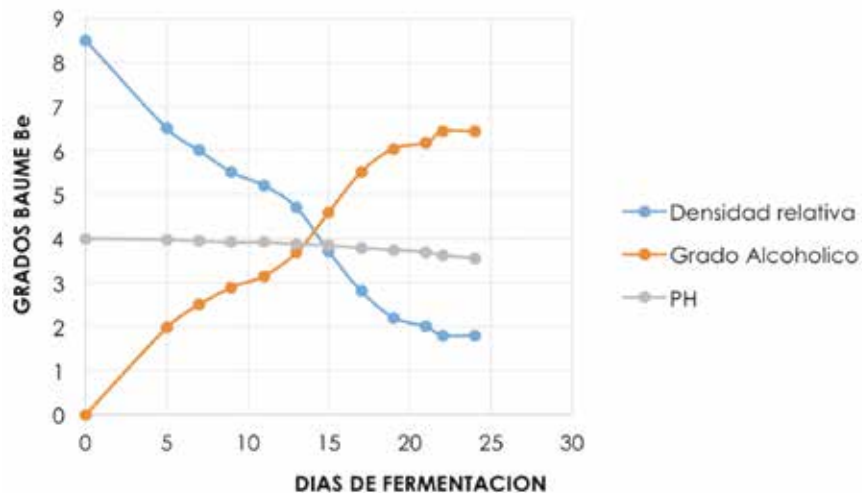
Fuente: Elaboración propia

Tabla 8. Datos obtenidos en la segunda fermentación.

Tiempo (días)	Grados Baume (°Be)	Densidad Relativa (gr/cm3)	Grado Alcohólico (°GL)	pH FERMENTACION
0	8,5	1,062	0	4
5	6,5	1,047	1,968	3,97
7	6,0	1,043	2,493	3,94
9	5,5	1,040	2,887	3,91
11	5,2	1,038	3,150	3,91
13	4,7	1,034	3,675	3,87
15	3,7	1,027	4,593	3,84
17	2,8	1,020	5,512	3,78
19	2,2	1,016	6,037	3,74
21	2,0	1,015	6,168	3,69
22	1,8	1,013	6,431	3,62
24	1,8	1,013	6,431	3,55

Fuente: Elaboración propia

Figura 6. Segunda fermentación alcohólica.



Fuente: Elaboración propia

Al comparar los resultados obtenidos en la primera fermentación y segunda fermentación alcohólica. Se evidenció que en la primera fermentación hubo un descenso de la densidad relativa de 8,03 oBe a 2,55 oBe en el transcurso de 22 días. En la segunda fermentación el descenso de la densidad relativa de 8,5 oBe e 1,8 oBe en el transcurso de 24 días.

La diferencia de 2 días de fermentación y una disminución mayor de la densidad relativa de la segunda fermentación alcohólica alcanzo una taza mayor de formación de alcohol a 6,43 oGL.

Los resultados obtenidos en la primera fermentación y segunda fermentación

Alcohólica, fueron satisfactorios debido a una aproximación de los resultados, que comprueba,

Tabla 9. Resultados de la destilación discontinua.

N	mostro filtrado (cm ³)	Resultados de la destilación		Grado alcohólico producto de cabeza (°GL)	Volumen de alcohol destilado (cm ³)
		Producto de cabeza (cm ³)	Producto de cola (cm ³)		
1	1000	278	722	22,5	62,55
2	1000	287,5	712,5	21,5	61,8125
3	1000	250,5	749,5	20,5	51,3525
4	1000	267,5	732,5	21	56,175
Promedio del Grado alcohólico				21.375	57,97

Fuente: Elaboración propia.

DISCUSIÓN

El porcentaje de almidón seco que se encuentra en 250g de papa cardenal se cuantifico mediante el secado de 5 muestras de almidón previamente lavada a 55 0C de temperatura y un tiempo determinado de 24 horas, obteniendo una masa promedio de 31.014 gr de almidón seco. Al obtener la masa se cuantifica el volumen de agua destilada para el proceso de hidrolisis a partir de la relación 1:10 solido-liquido.

La presente investigación determino que por cada 1000 gr de papa cardenal es posible obtener 124.059 gr de almidón. Obteniendo un rendimiento del 12,959 %.

Como resultado de los ensayos programados por el diseño factorial del proceso de hidrolisis la combinación óptima para el proceso es: masa de enzima α -amilasa de 2,8 gr , pH de solución 5,2 y temperatura 80 oC siendo esta la mejor combinación del proceso. Al obtener mayor concentración de azúcares totales expresados en porcentaje de 11,06% en un tiempo de 2 horas

Desarrollar un estudio concerniente a la hidrólisis

un procedimiento correcto de preparación del mosto (dextrina y azucares) para su posterior fermentación y la activación correcta de la levadura *Saccharomyces Bayanus* PB2870.

RESULTADOS DEL PROCESO DESTILACIÓN ALCOHÓLICA

Destilación Alcohólica

Finalmente para determinar la concentración del etanol producido a lo largo de la fermentación del mosto, se procedió a la destilar de las muestras del mosto filtrado en un destilador discontinuo. Los resultados se muestran en la tabla 9

enzimática con otros compuestos. Fuentes ricas en almidón, como cereales (maíz, trigo, cebada, etc.) y de tubérculos (yuca, biomato, etc.); materiales ricos en celulosa, madera y los residuos agrícolas, previa eliminación del lignito.

Complementar el presente estudio con un diseño factorial en el proceso de fermentación alcohólica, con el propósito de mejorar el rendimiento obtenido de alcohol que por motivos económicos no se pudo realizar.

BIBLIOGRAFÍA

Ariel, Ruiz. (2009). La seguridad Energética De América Latina Y El Caribe En El Contexto Mundial [libro en línea]. Serie de investigación (CEPAL). Fecha de consulta: 30 de marzo 2014. Disponible en: <http://www.eclac.cl/publicaciones/xml/3/32123/lcl2828e.pdf>

Abad, M. (2013). Biocombustibles. [libro en línea]. Serie de investigadores (Anuario OPYP 2013). Fecha de consulta 8 de abril de 2014. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/opypa/ANUARIOS/Anuario2013/material/pdf/pdf>

Ballesteros, M. (2006, noviembre 2). Carburante Sin Petróleo: Bioetanol. *Investigación y Ciencia* [artículo en línea]. pp 79-80. Fecha de consulta 1 de abril de 2014. Disponible en: <http://www.investigacionyciencia.es/files/5392.pdf>

Brumovsky, L. (2010). *Química del Almidón*. Fecha de consulta 8 de abril de 2014, de: <http://www.aulavirtual-exactas.dyndns.org/>

Centro Internacional de la Papa (CIP), (2012, noviembre 8). Producción de papa da \$us 335 millones. [La Prensa]. pp 10. Fecha de consulta: 4 abril 2014. Disponible en: http://www.laprensa.com.bo/diario/actualidad/economia/20121108/produccion-de-papa-da-us-335-millones_37399_59852.html

Dickinson, J. et al. (2003, febrero 3). *Metabolism and molecular physiology of Saccharomyces cerevisiae*. Inc, 4^o ed London.

Instituto Nacional de Estadística (INE). (2013, septiembre 15). Estadísticas Del Cultivo De Papa. Fecha de consulta: 4 abril 2014, de: <http://www.agrobolivia.gob.bo/compendio2012/files/assets/downloads/page0087.pdf>

Instituto de Innovación Agraria y Forestal (INIAF), (2013, abril 24). Al año, cada boliviano consume un promedio de 92 kilos de papa. [Radio FM Bolivi.Net]. pp 1. Fecha de consulta: 4 abril 2014. Disponible en: <http://www.fmbolivia.net/noticia58735-al-ao-cada-boliviano-consume-un-promedio-de-92-kilos-de-papa.html>

Instituto Nacional de Estadística (INE). (2013, septiembre 15). Estadísticas Del Cultivo De Papa. Fecha de consulta: 4 abril 2014, de: <http://www.agrobolivia.gob.bo/compendio2012/files/assets/downloads/page0087.pdf>

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). (2007). Atlas de la Agroenergía y los Biocombustibles en las Américas. [Libro en línea]. Serie de investigadores (IICA, 2007). Fecha de consulta 5 de mayo de 2014. Disponible en: <http://www.iica.int>

Mateos, P. (2010). Tipos de Fermentadores. Fecha de consulta 5 de junio de 2014, de: <http://darwin.usal.es/profesores/pfmg/sefin/MI/tema12MI.html>.