

Ingeniería

Revista Semestral de la Universidad de Costa Rica

Vol. 16 (1)

Ene/Jul 2006

CONTENIDO

Artículos

1. La compensación serie controlada y el relé de impedancia..... 15-26
Araya, Eddie.
2. Estudio de los factores que afectan la hidrólisis enzimática y el proceso fermentativo para la producción de alcohol a partir de papa (*Solanum tuberosum*) 27-37
Molina, Manuel; González, Jorge.
3. Reducción de la radiación electromagnética en las líneas de alta tensión 39-49
Araya, Eddie.
4. Gravity signatures of the Gibraltar Strait 51-58
Bakkali, Saad; Amrani, Mahacine.
5. Influencia de la distancia epicentral sobre los factores de reducción por ductilidad 59-79
Vielma, Juan Carlos; Lobo, William; Rivero, Pedro.
6. Diseño no lineal del AVR de un generador sincrónico 81-93
Araya, Eddie.
7. Despacho óptimo de MVAR en sistemas de potencia 95-104
Acuña, Marco; Araya, Eddie.
8. El concepto de calidad: un marco conceptual 105-119
Herrera, Rodolfo.

Nota técnica

9. Aspectos teóricos y aplicaciones de la operación unitaria de cristalización 121-131
Aguilar, Noé; Román, Carlos.

Normas

Normas para la presentación de artículos a la Revista Ingeniería..... 133-138



EDITORIAL DE LA UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

<http://www.revistaingenieria.inii.ucr.ac.cr>
www.ucr.ac.cr
ISSN 1409-2441

Ingeniería

Revista de la Universidad de Costa Rica

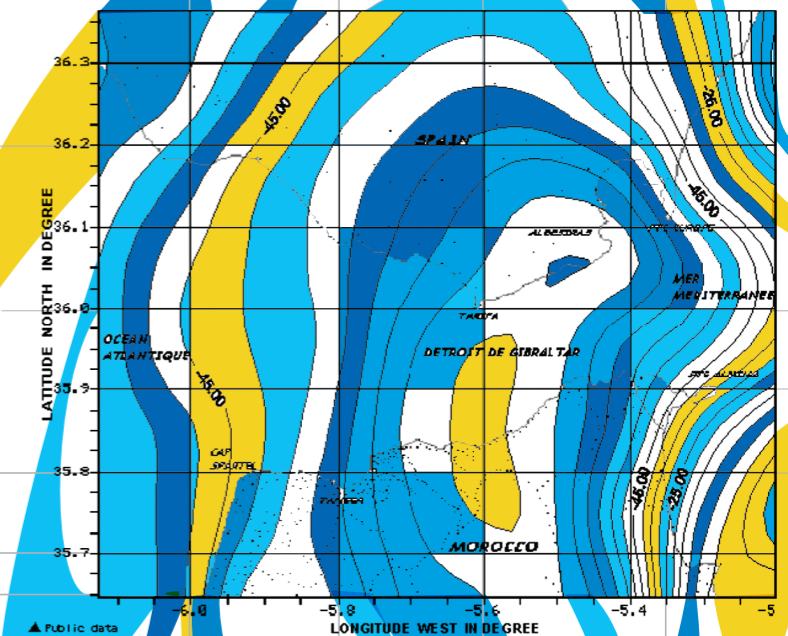
ENERO/JULIO 2006 - VOLUMEN 16 - Número (1)

Número (1)

Enero / Julio 2006

Volumen 16

REVISTA INGENIERÍA



ESTUDIO DE LOS FACTORES QUE AFECTAN LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA Y EL PROCESO FERMENTATIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE PAPA

(*Solanum tuberosum*)

Jorge González Fernández
Manuel Molina Córdoba

Resumen

Se estudió, a nivel de laboratorio, la hidrólisis enzimática y la fermentación de la papa (*Solanum tuberosum*), a fin de determinar las mejores condiciones para producir alcohol.

En la primera etapa experimental se analizó el efecto sobre la conversión a azúcares reductores, de la concentración de las enzimas α -amilasa y amiloglicosidasa, la concentración de sustrato y el tiempo de sacarificación. Se determinó que el efecto combinado entre las concentraciones de la enzima α -amilasa y el sustrato presentó significancia estadística; la conversión a azúcares reductores se ve favorecida al utilizar los valores de 0,8 mL/kg_{sustrato} y 20 % respectivamente. La concentración de la enzima amiloglicosidasa y el tiempo de sacarificación no presentaron significancia estadística, por lo que se recomienda utilizar 0,8 mL/kg_{sustrato} y un tiempo de 14 h.

En la segunda etapa experimental se realizó el seguimiento cinético de la hidrólisis y se sugiere disminuir el tiempo de acción de la enzima α -amilasa a 0,5 h y para la sacarificación utilizar un período de 15 h. Además, se encontró que el valor máximo de torque requerido para la agitación en el proceso de gelatinización fue de 11 N·cm y de 1 N·cm para la dextrinización y la sacarificación, respectivamente.

En la fermentación alcohólica del sustrato hidrolizado, se estudió el efecto de la concentración de células y la presencia de biotina como promotor de la fermentación. Se encontró que la concentración de células no es significativa y se recomienda utilizar una concentración de 50 millones células/mL. La presencia del promotor presentó significancia estadística entre los niveles utilizados. Al evaluar el efecto de cuatro concentraciones del promotor, se observó que la concentración de 0,2 mg/kg favorece la producción de alcohol.

En la etapa del seguimiento cinético de la fermentación, se obtuvo un consumo de azúcares reductores de 91 %, una concentración máxima de alcohol de 10,33 % v/v, un rendimiento de etanol con respecto al ideal de 0,98 y una eficiencia de la fermentación de 0,91. El rendimiento de etanol para el proceso global fue de 0,0746 kg_{etanol}/kg_{papa}.

Palabras clave: hidrólisis enzimática, producción de alcohol, biotecnología, almidón de papa, desarrollo sostenible.

Abstract

It was studied in the laboratory the enzymatic hydrolysis and fermentation of potatoes, in order to determine the best conditions to produce alcohol. The first experimental stage analyzed the effect on conversion of reducing sugars of the α -amylase and amiloglicosidase concentration, substrate concentration and saccharification time. It was found that the combined effect between α -amylase and substrate concentration had statistical significance, it means that conversion to reducing sugars was increased to values of 0,8 mL/kg_{substrate} and 20 %, respectively. The amiloglicosidase concentration and the saccharification time did not have statistical significance, therefore it is suggested to use 0,8 mL/kg_{substrate} for amiloglicosidase and a fermentation time of 14 h.

In the second experimental stage, the kinetic of hydrolysis was studied. It suggests that the action time for the α -amylase diminished to half hour and that for saccharification to use a time of 15 h. Furthermore, it was found that the maximum required torque for the mixing in the gelatinization process was 11 N·cm and 1 N·cm for the dextrinization and saccharification.

For the alcoholic fermentation of the hydrolyzed substrate, it was studied the effect of the cell concentration and the presence of biotina as a fermentation promoter. It was determined that cell concentration was not significant and it is recommended to use a cell concentration of 50 million cells/mL. The presence of the promoter had statistical significance in used levels. An evaluation of four different promoter concentrations was carried out. It was observed that the concentration of 0,2 mg/kg speeds up the alcohol production.

At last, in the kinetic study of fermentation, it was obtained a reducing sugars consumption of 91 %, a maximum alcohol concentration of 10,33 % v/v, an alcohol yield compared to ideal of 0,98 and a fermentation efficiency of 0,91. The ethanol yield for the global process was 0,0746 kg_{ethanol}/kg_{potato}.

Key word: enzymatic hydrolysis, ethanol production, biotechnology, potato starch, sustainable development.

1. INTRODUCCIÓN

La actividad agrícola en Costa Rica constituye una de las actividades económicas más importantes, especialmente para las áreas rurales. Actualmente, la papa presenta una sobreproducción debido a la falta de planificación de los agricultores, lo que provoca altos excedentes de producción.

Durante la recolecta, y en su traslado a los centros de acopio o a los mercados, es usual que el tubérculo sufra algún daño físico, además de daños por plagas; esto constituye las pérdidas poscosecha que se estiman en cerca de un 15 % Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG, 2002). Los excedentes por lo general se destinan a la alimentación de animales e inclusive, un porcentaje de ellos se desecha. Una alternativa es aprovecharlos para generar un producto con mayor valor agregado; una posibilidad es la producción de alcohol (López, 1998; Meléndez, 2002).

El almidón es un componente importante de la papa encontrándose en una concentración aproximada de 15,5 % (Treadway, 1984), por lo que se puede considerar una buena fuente de dicho polisacárido. La hidrólisis del almidón es el paso inicial para obtener los azúcares que se pueden utilizar en la fermentación. Este proceso puede realizarse por vía ácida o enzimática, esta última consiste de varias etapas: gelatinización, dextrinización y sacarificación (Crueger & Crueger, 1989).

Una vez obtenidos los azúcares a partir del almidón, estos se convierten a alcohol por medio de una fermentación anaerobia, utilizando la *Saccharomyces cerevisiae*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materia prima

Se utilizó papa, *Solanum tuberosum*, proveniente de un centro de acopio de Llano Grande de Cartago, donde se recolecta la cosecha de las plantaciones de la zona.

A esta papa se le eliminaron las partes que presentaban algún daño, sin quitarles la cáscara,

luego se realizó un corte manual en segmentos de menor tamaño para que se pudiera llevar a cabo la eliminación de la humedad en una forma más rápida. El secado se realizó a una temperatura de 95 °C, durante 24 h en un horno Blue M. Al finalizar el secado se molió la materia seca en un molino de martillos Allen Brodley hasta obtener una contextura de harina (malla 70), ésta se colocó en bolsas plásticas y selladas herméticamente para ser utilizada durante la experimentación como sustrato.

2.2 Caracterización de la papa

A la papa fresca se le determinó el contenido de humedad, incluyendo la cáscara. Las muestras se secaron a una temperatura de 95 °C durante 24 h, siguiendo el método descrito por Cunniff (Cunniff, 1995). Para determinar el contenido de cenizas, las muestras se colocaron en crisoles dentro de una mufla a una temperatura de 600 °C durante 3 h (Cunniff, 1995).

La determinación del contenido de almidón se realizó mediante el método descrito por Tomkinson (1986), que consiste en hidrolizar el almidón hasta moléculas de glucosa, utilizando la enzima amiloglucosidasa por un tiempo de 24 h. La concentración de glucosa se determinó en muestras hidrolizadas y sin hidrolizar como referencia, mediante el método enzimático Trinder (Tico Lab S.A. 2002) a una longitud de onda de 505 nm en un espectrofotómetro Jen Way. El porcentaje de almidón en la muestra se determinó multiplicando la concentración de glucosa por un factor de 0,9 (Cunniff, 1995).

Posteriormente, para una muestra de harina de papa, se determinó la concentración de glucosa, para lo que se preparó una solución de 5 g de materia prima en 25 mL de agua y se utilizó el método enzimático Trinder (Tico Lab S.A., 2002). Para la determinación del contenido de azúcares reductores, se preparó una solución de 1 g de materia prima en 100 mL de agua y a partir de esta solución se realizó la prueba utilizando el método de Nelson Somogyi (Southgate, 1976). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

2.3 Evaluación de las condiciones para la hidrólisis enzimática de la papa

El objetivo de esta evaluación fue encontrar aquella combinación de concentraciones de las enzimas α -amilasa ($0,6 \text{ mL/kg}_{\text{papa seca}}$ y $0,8 \text{ mL/kg}_{\text{papa seca}}$) y amiloglucosidasa ($0,8 \text{ mL/kg}_{\text{papa seca}}$ y $1,0 \text{ mL/kg}_{\text{papa seca}}$), concentración de sustrato (razón de sustrato seco y agua, 15 % y 20 %) y tiempo de reacción con la enzima amiloglucosidasa (14 h y 18 h). Se utilizó un diseño factorial completo de 2^4 a dos niveles, la variable de respuesta fue el rendimiento de azúcares reductores, expresado como masa de azúcares reductores producidos por unidad de masa de sustrato. Se compararon los valores de la variable de respuesta con el fin de encontrar las condiciones que maximizan la conversión del almidón en azúcares reductores, mediante un análisis de efectos (Box et al., 1978).

Para lograr esto, se colocó una masa conocida del sustrato en el recipiente destinado para la hidrólisis, según la corrida aleatorizada del diseño experimental, se le adicionó cloruro de calcio (40 ppm) y se llevó a un pH de 6,5. Con un baño térmico se elevó la temperatura de la mezcla hasta $95 \text{ }^\circ\text{C}$ y se llevó a cabo el proceso de dextrinización por un período de 2,5 h con una agitación constante de 225 r/min. Al final de esta etapa se debió enfriar la mezcla hasta $60 \text{ }^\circ\text{C}$ y agregar HCl hasta alcanzar un pH de 4,5 para desactivar la enzima. Se agregó la cantidad de amiloglucosidasa (AMG) que correspondiera según el diseño para continuar con la etapa de la sacarificación por el tiempo determinado, con una agitación de 150 r/min. Terminada esta etapa, se inactivó la enzima y se analizaron las muestras para determinar la cantidad de azúcares reductores.

2.4 Cinética de las enzimas α -amilasa y amiloglucosidasa (AMG) en la hidrólisis enzimática de la papa

El objetivo de esta etapa fue realizar un seguimiento de la cinética de las dos enzimas utilizadas durante la hidrólisis de la materia prima. Se tomaron muestras cada 30 min para

la primera enzima y cada hora durante la sacarificación para determinar el comportamiento de la cantidad producida de azúcares.

Para este estudio se realizó la hidrólisis enzimática de la papa, en un volumen de 3 L. Se utilizaron las mejores condiciones obtenidas de la fase experimental de la hidrólisis enzimática. Para el seguimiento de la cinética de las enzimas α -amilasa y AMG, se utilizó una concentración de sustrato de 20 %, una concentración de la enzima de α -amilasa de $0,8 \text{ mL/kg}_{\text{sustrato seco}}$, una concentración de la enzima de AMG de $0,8 \text{ mL/kg}_{\text{sustrato seco}}$, un tiempo de sacarificación de 20 h y las mismas condiciones de pH, concentración de cloruro de calcio, temperatura, agitación y tiempo utilizadas previamente en la dextrinización y sacarificación. Además se utilizaron los mismos métodos para la desactivación de cada una de las enzimas.

2.5 Estudio del requerimiento de torque en la hidrólisis enzimática de la papa

El estudio consistió en hacer un seguimiento del requerimiento de torque durante la hidrólisis de la papa, para determinar el valor máximo y poder posteriormente utilizar esta información para el cálculo de potencia para efectos de cambio de escala. Para poder realizar esto, se fija la velocidad de agitación a 225 r/min, utilizando un agitador de hélice y se fija una relación de diámetro de agitador a diámetro de recipiente de 0,39, una relación de altura de agitador a diámetro de agitador de 0,16 y una relación de altura de líquido a diámetro de recipiente de 1. El análisis consiste en varias etapas, una primer etapa que inicia en el momento en que el recipiente se coloca en el baño de agua a una temperatura de $95 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta 10 min después de la adición de la enzima α -amilasa; la segunda es inmediata y transcurre hasta finalizar la dextrinización y la última etapa, en la que ocurre el proceso de sacarificación.

El requerimiento de torque en la etapa de dextrinización se tomó cada 10 s, en la etapa de sacarificación cada minuto; además se realizaron mediciones de temperatura y pH.

2.6 Evaluación de las condiciones para la fermentación del sustrato hidrolizado

El objetivo fue encontrar aquella combinación de concentración del microorganismo *S. cerevisiae* (50 millones de células/mL_{sustrato hidrolizado} y 100 millones de células/mL_{sustrato hidrolizado}) y la ausencia o presencia de un promotor (0,2 mg/kg_{sustrato hidrolizado}) de la fermentación, según un diseño factorial completo 2², duplicado, que permita obtener el máximo rendimiento de etanol, expresado como la concentración de etanol (% v/v). El conteo de células se realizó con la ayuda de un microscopio y una cámara de Neubauer.

El sustrato se preparó hidrolizando la harina de papa de la misma manera como se preparó en el estudio de la cinética de las enzimas, pero utilizando recipientes de 3,5 L para hidrolizar una masa de disolución de 3000 g. Al final de la sacarificación, se filtró el hidrolizado obtenido, se reguló el pH a un valor de 4,5 y se agregaron nutrientes a las concentraciones que se muestran en el Cuadro 1, utilizando cantidades semejantes a las reportadas por Araya (1998). Este jarabe se distribuyó en erlenmeyers de 250 mL, con una cantidad de jarabe de 200 g, cerrados, pero con una prevista que funciona como una válvula reguladora de presión.

Cuadro 1. Concentraciones de los nutrientes a utilizar en la fermentación.

Nutriente	Concentración (g/L)
Nitrato de amonio (NH ₄ NO ₃)	2,00
Sulfato de magnesio (MgSO ₄)	1,00
Fosfato monoácido de potasio (K ₂ HPO ₄)	1,00
Extracto de levadura	2,00

Fuente: (Los autores)

La fermentación se realizó a una temperatura de 31 °C en un baño con agitación a 150 r/min. Al finalizar la fermentación se inactiva el microorganismo, se centrifugó y se realizó la determinación del índice de refracción del destilado, previa realización de una curva de calibración, con la que se interpoló

de ella la concentración de etanol en porcentaje en volumen.

2.7 Evaluación de la concentración del promotor en la fermentación de la papa hidrolizada

Para evaluar el efecto únicamente de la concentración del promotor sobre la conversión de etanol, se realizaron experimentos adicionales, a cuatro concentraciones de promotor (0, 0,1, 0,2 y 0,3) mg/kg_{sustrato hidrolizado}. Se utilizaron las mismas variables fijas mencionadas en la sección anterior y se utilizaron 50 millones células/mL_{sustrato hidrolizado}.

2.8 Seguimiento cinético de la fermentación en un reactor de cinco litros

El objetivo del seguimiento a mayor escala, es determinar los diferentes parámetros cinéticos del período de fermentación. Para esta etapa, se preparó una suspensión de harina de 6 L de sustrato, la cual se hidrolizó, obteniéndose un volumen de filtrado aproximado de 4,5 L y se dividió en dos porciones para realizar por duplicado la fermentación. Se utilizaron las mismas condiciones utilizadas en la primera evaluación de la fermentación. Al hidrolizado se le agregaron los nutrientes, se inoculó con una cantidad de microorganismos de 50 millones células/mL_{sustrato hidrolizado} y una concentración de promotor de 0,2 mg/kg_{sustrato hidrolizado}.

La fermentación se llevó a cabo en un reactor de 5 L, el cual tiene un sistema de agitación, calentamiento y/o enfriamiento y un puerto para toma de muestras. Para el seguimiento cinético se midió la concentración de etanol, de azúcares reductores y la concentración de microorganismos; el tiempo de fermentación es de 30 h y se tomaron periódicamente muestras para los análisis. Al finalizar la fermentación se tomó una muestra y se analizó en el Laboratorio de Control de Calidad de la Fábrica Nacional de Licores para determinar los congenéricos mediante HPLC, según el método IT-008 (FANAL, 2003).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la determinación de la composición de la papa, se cuantificó el contenido de humedad, almidón, glucosa, azúcares reductores y cenizas. Estos se detallan en el Cuadro 2.

3.1 Análisis de la evaluación de las condiciones para la hidrólisis enzimática de la papa

Al evaluar las concentraciones de materia prima y de las enzimas α -amilasa y AMG, así como el tiempo de sacarificación, se busca la combinación de estas variables que originen la mayor conversión de azúcares reductores, dado que el jarabe a obtener será el sustrato para la etapa de fermentación.

Del análisis estadístico se obtienen los valores de los efectos e interacciones en la conversión a azúcares reductores que se producen al realizar los cambios en los niveles de las variables estudiadas. La Figura 1, es un gráfico de calificación normal para un 95 % de confianza, que muestra el análisis de los efectos respecto a la conversión de azúcares reductores. Al analizar la normalidad de los efectos, se encuentra que hay un punto alejado de la curva de normalidad, el cual corresponde al efecto I_{12} , que es un efecto combinado de la concentración de sustrato y de la

Cuadro 2. Caracterización experimental de la papa.

Parámetro	Cantidad (% m/m)
Humedad	79,5
Almidón ¹	54,9
Azúcares reductores ¹	0,17
Cenizas ¹	4,45

¹Valor en base seca

Fuente: (Los autores)

concentración de la enzima α -amilasa, el cual es estadísticamente significativo.

Al considerar el resto de los valores de los efectos como razones porcentuales con respecto al promedio, se obtiene efectos porcentuales en el intervalo de 0,19 % al 4,85 % y estos se distribuyen normalmente alrededor de la curva de normalidad, por lo que estos efectos se atribuyen al error experimental.

Puesto que el efecto I_{12} resultó significativo, al analizarlo se encuentra que los mayores cambios en la conversión se presentan cuando la concentración de sustrato cambia de su valor menor a su valor mayor, es decir de una concentración de 15 % a 20 % de papa seca molida y cuando la concentración de la enzima α -amilasa cambia de

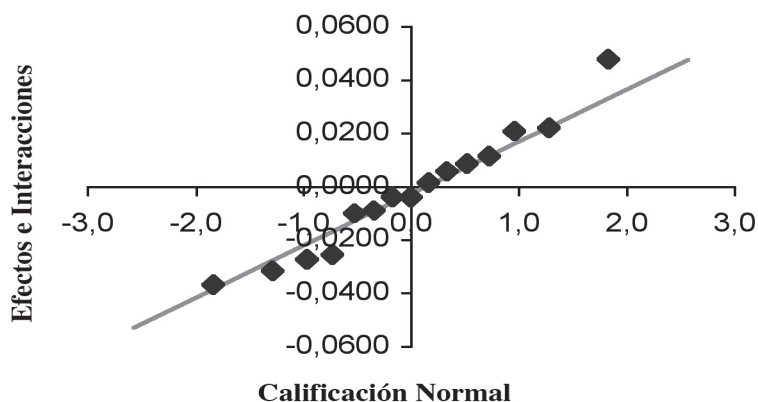


Figura 1. Gráfica de normalidad para análisis de los efectos e interacciones sobre la variable de conversión de azúcares reductores.

Fuente: (Los autores)

su valor menor a su valor mayor, es decir, cuando pasa de una concentración de 0,6 mL/kg_{papa} a 0,8 mL/kg_{papa}; o sea, la concentración de 20 % de papa seca molida y la concentración de la enzima α -amilasa de 0,8 mL/kg_{papa} son las mejores en el intervalo estudiado de las variables. Estos resultados son coincidentes con lo reportado por Vong Tsoi (1996) y López (1998), ya que dichas variables son significativas en un proceso de conversión.

Con respecto a la variable de la concentración de la enzima AMG no se puede concluir diferencia alguna entre los valores utilizados, por lo que se recomienda el valor de 0,8 mL/kg_{papa} y en el caso del tiempo de la etapa de sacarificación, igualmente no hay diferencia estadística para los tiempos utilizados.

3.2 Análisis de la cinética de las enzimas α -amilasa y β -glucosidasa y del pH

Se realizó el seguimiento de la hidrólisis del almidón a azúcares reductores a través del tiempo para las dos enzimas utilizadas; además, se realizó un seguimiento del pH en la etapa de dextrinización. Para encontrar el comportamiento cinético de la enzima α -amilasa, se realizaron dos corridas. En la Figura 2, se observa cómo la enzima α -amilasa alcanza prácticamente el valor final de conversión a azúcares reductores en los primeros treinta minutos. En los primeros quince minutos de la primera corrida se alcanza la mitad de la conversión final que se obtiene en

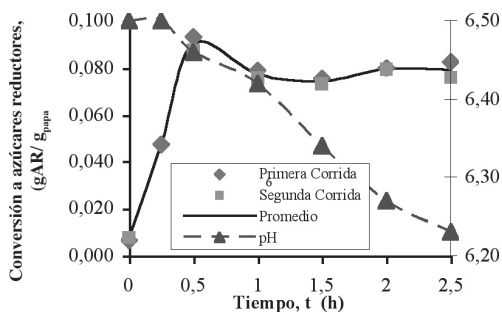


Figura 2. Seguimiento cinético durante la dextrinización y del pH.

Fuente: (Los autores)

la dextrinización; la conversión final promedio es 0,079 g_{AR}/g_{papa}.

Al utilizar tiempos de 0,5 h o de 2,5 h se obtiene prácticamente la misma conversión, por lo que se recomienda utilizar el menor tiempo ya que se logra un ahorro energético importante, puesto que se disminuye el tiempo de calentamiento a 95 °C. Además, en la Figura 2 se muestra el comportamiento del pH a través de las dos horas y media de dextrinización. Los valores que exhibe varían en 0,3 unidades, y la variable se encuentra siempre dentro del ámbito óptimo de pH de la enzima.

Para la sacarificación, se realizaron dos corridas, donde se observó el comportamiento de la enzima β -glucosidasa. En la Figura 3 se observa cómo la enzima alcanza un 62 % del valor final de conversión a azúcares reductores en las primeras dos horas y que además, la conversión entre las horas 17 a 20 es prácticamente constante, hasta alcanzar un valor final de conversión de 0,604 g_{AR}/g_{papa}. El tiempo de acción de la enzima β -glucosidasa puede disminuirse a un período de 15 h.

3.3 Análisis del requerimiento de torque para la agitación en la hidrólisis enzimática

Se midió el requerimiento de torque a través del proceso de hidrólisis, ya que este puede relacionarse con el consumo de potencia por medio de la velocidad angular y esto es

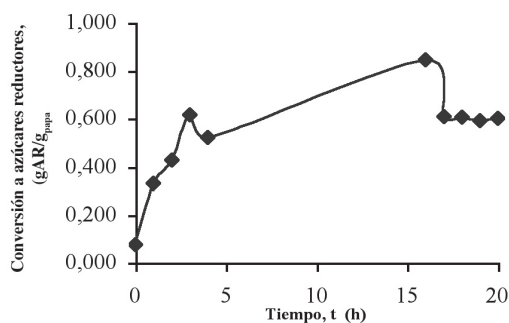


Figura 3. Seguimiento cinético de la enzima amilglucosidasa en la sacarificación.

Fuente: (Los autores)

esencial para escalar el proceso. La primera etapa que se estudió fue la gelatinización y de la cual se informan los resultados, puesto que es la etapa crítica. Se tomaron mediciones del torque, desde el momento en que se introdujo la muestra de papa al baño a una temperatura de 95 °C, hasta 10 min después de la adición de la enzima α -amilasa.

En la Figura 4, se observa un período en el cual el requerimiento del torque se mantiene constante, lapso de tiempo en el cual la suspensión alcanza 75 °C, temperatura en la cual empieza a ocurrir la gelatinización; a partir de este momento se tomó un tiempo de 10 min para que ocurriera la gelatinización y al cabo de dicho tiempo, se agregó la enzima. Conforme fueron transcurriendo los 10 min, el requerimiento de torque fue aumentando, consecuencia de un aumento en la viscosidad aparente, hasta alcanzar un requerimiento máximo de torque de 11 N·cm.

Posterior a la adición de la enzima, una vez homogeneizada, se presentó una disminución drástica de la viscosidad aparente, y por ende, el torque requerido por el agitador. La reducción del requerimiento de torque fue originado por la degradación o rompimiento de las moléculas de almidón.

El torque entregado se mantuvo constante en un valor de 1 N·cm durante el resto del tiempo en que se realizó la dextrinización e igualmente, durante las veinte horas de la sacarificación.

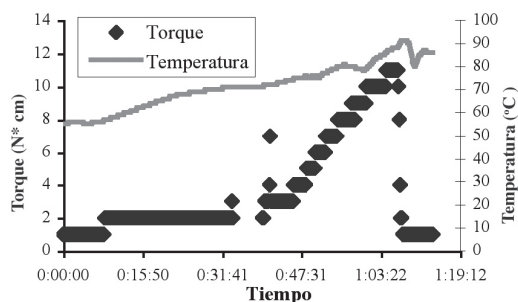


Figura 4. Seguimiento del consumo de potencia en la gelatinización

Fuente: (Los autores)

3.4 Análisis de la fermentación de la papa hidrolizada

Para el estudio de la fermentación alcohólica, se utilizó la papa previamente hidrolizada y se estableció un diseño experimental duplicado a dos niveles con las concentraciones de células y de promotor, como variables de diseño. En el Cuadro 3, se muestran los resultados obtenidos. Al realizar el análisis estadístico, se obtiene que para un 95 % de confianza, el efecto de la presencia del promotor es significativo. Al tomar el valor del efecto como una razón porcentual con respecto al promedio, se obtiene que la producción de etanol se beneficia aproximadamente en un 48 %, al utilizarse la presencia del promotor utilizado.

El efecto de la concentración de células de la levadura se confunde con el error experimental incurrido durante la realización de los experimentos y se puede decir que no existe una diferencia significativa en las concentraciones utilizadas del microorganismo, por lo que es conveniente utilizar una concentración 50 millones células/mL_{sustrato hidrolizado}.

3.5 Evaluación de la concentración del promotor en la fermentación del sustrato hidrolizado

Puesto que el uso del promotor de la fermentación resultó significativo, se analizó el efecto a

Cuadro 3. Concentración promedio de alcohol obtenida para las diferentes corridas al final de la fermentación alcohólica.

Corrida	Concentración promedio de alcohol (% v/v)
1	4,00
2	6,17
3	7,83
4	8,67

Fuente: (Los autores)

diferentes concentraciones; en la Figura 5 se muestra el comportamiento promedio de dos pruebas sobre la producción de etanol, según la concentración de promotor.

Se observa que al utilizar una concentración de promotor de 0,2 mg/kg, se beneficia la producción de etanol, la concentración de etanol casi duplica el valor obtenido con la ausencia del promotor. Crueger (1989), recomienda la utilización de promotores de la fermentación para mejorar la productividad.

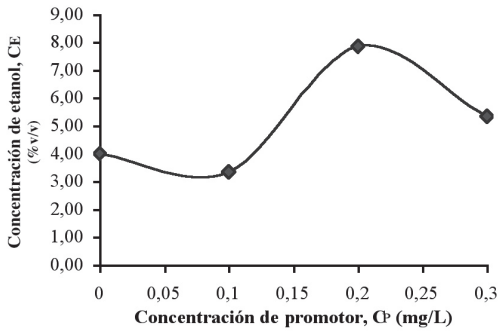


Figura 5. Efecto sobre la producción de etanol de diferentes concentraciones de promotor.

Fuente: (Los autores)

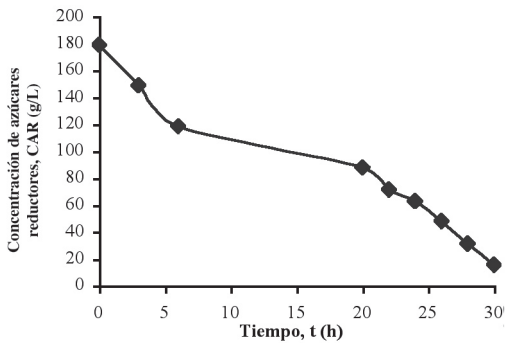


Figura 7. Variación de la concentración de azúcares reductores con el tiempo

Fuente: (Los autores)

3.6 Análisis de la cinética de la fermentación alcohólica de la papa hidrolizada

Luego de encontrar los valores que producen las mejores concentraciones en los niveles estudiados, se realizó la última etapa experimental, que consistió en fermentar dos lotes de la materia prima hidrolizada y realizar el monitoreo de la concentración de alcohol, azúcares reductores y microorganismos por un período de tiempo de 30 h. Los valores que se grafican son promedios.

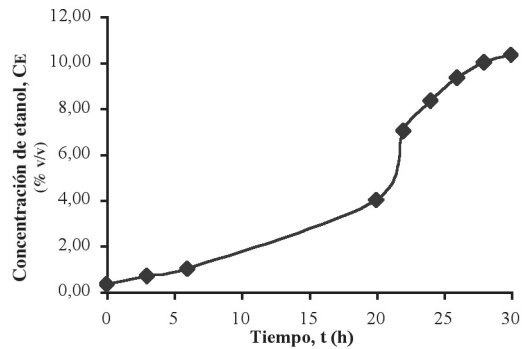


Figura 6. Variación de la concentración de alcohol con el tiempo

Fuente: (Los autores)

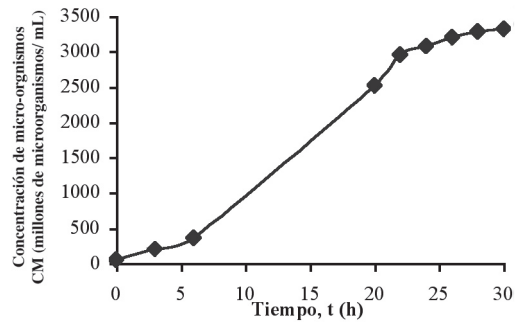


Figura 8. Variación de la concentración de microorganismos con el tiempo

Fuente: (Los autores)

En las Figuras 6, 7 y 8, se muestran los comportamientos cinéticos. En la Figura 6, se observa que la producción de etanol crece exponencialmente a partir de las 20 h, hasta alcanzar un máximo a las 30 h. Al comparar con la Figura 7, se muestra que la rápida disminución en el consumo de los azúcares reductores coincide con el intervalo de tiempo en el cual se presenta una gran producción de alcohol.

Se contrastaron las Figuras 6, 7 y 8, se encuentra que al inicio hay un lento consumo de azúcares reductores, que coincide con la parte en donde se da un pequeño crecimiento de microorganismos y donde la producción de alcohol es muy pequeña. Además, se muestra una rápida reproducción de los microorganismos hasta las 22 h, seguida de una gran disminución de la tasa de crecimiento en las horas finales.

El comportamiento anterior describe una fase inicial donde se presenta un crecimiento

pequeño y lento hasta la sexta hora, donde el microorganismo se adapta al medio del cual tiene que obtener los nutrientes, una segunda fase en donde se presenta un crecimiento exponencial y una fase estacionaria en la que se alcanza una máxima concentración de microorganismos, esto es típico de los sistemas biológicos (Crueger & Crueger, 1989).

El consumo de azúcares reductores alcanza un 91 % para el sustrato de papa, lo cual tiene un efecto directo en la producción de alcohol, donde se alcanza un 10,33 % v/v, valor que es superior al obtenido industrialmente que es de 7 % v/v a 8 % v/v (Araya, 1998).

En la corrida a escala de 5 L, para un tiempo de 24 h, se obtienen concentraciones de alcohol ligeramente mayores a las obtenidas en las corridas de 250 mL, lo cual puede deberse a un mejor sistema de agitación que provee el bioreactor, esto porque la influencia de la agitación mecánica sobre el rendimiento de etanol se puede deber a una mejor suspensión

Cuadro 4. Parámetros cinéticos de la fermentación alcohólica

Parámetro cinético	Valor
Tiempo máximo de fermentación (h)	30
Tiempo para la máxima concentración de etanol (h)	30
Concentración de etanol (g/L)	81,5
Productividad de etanol (g/L·h)	2,72
Azúcares reductores consumidos (g/L)	163
Rendimiento de etanol ($\frac{g_{\text{etanol}}}{g_{\text{AR consumidos}}}$)	0,50
Rendimiento de etanol con respecto al ideal	0,98
Eficiencia de fermentación ($\frac{g_{\text{AR consumidos}}}{g_{\text{AR iniciales}}}$)	0,91
Concentración de biomasa final (microorganismos/L)	3,32 12
Rendimiento de biomasa ($\frac{\text{microorganismos}}{g_{\text{AR consumidos}}}$)	2,04 10
Tasa específica de producción de etanol ($\frac{g_{\text{etanol}}}{\text{microorganismos}\cdot\text{h}}$)	8,18 -13
Tasa específica de producción de biomasa ($\frac{\text{microorganismos}}{g_{\text{AR consumidos}}\cdot\text{h}}$)	6,79 8
Tasa específica de consumo de azúcares reductores ($\frac{g_{\text{AR consumidos}}}{\text{microorganismos}\cdot\text{h}}$)	1,64 -12

Fuente: (Los autores)

del microorganismo, a una mejor remoción del calor y del dióxido de carbono, de tal manera que se minimizan los gradientes fisicoquímicos (Tatterson, 1993).

En el Cuadro 4 se encuentran tabulados los parámetros cinéticos de la fermentación del sustrato preparado a partir de la papa. Estos parámetros cinéticos sirven para facilitar el diseño de un sistema de fermentación a una mayor escala siguiendo las mismas condiciones de operación. El rendimiento de etanol obtenido para la papa es de 0,98, valor que muestra una buena eficiencia de fermentación, consecuencia de un buen aprovechamiento de los carbohidratos en la producción de etanol.

Del análisis realizado por el Laboratorio de Control de Calidad de la Fábrica Nacional de Licores, se obtuvieron los congénicos producidos en la fermentación, los cuales se muestran en el Cuadro 5.

El rendimiento experimental de etanol para todo el proceso, es decir la hidrólisis y la fermentación de la papa con cáscara es de $0,0746 \text{ kg}_{\text{etanol}}/\text{kg}_{\text{papa}}$, el cual es menor al informado (Advisory Committee on Technology Innovation, 1983) cuyo valor es de $0,0836 \text{ kg}_{\text{etanol}}/\text{kg}_{\text{PAPA}}$.

Sin embargo, este rendimiento del proceso para la papa es mayor al obtenido por (López, 1998) y (Vong, 1996) a partir de banano maduro y de banano verde respectivamente; ellos obtuvieron valores de $0,0578 \text{ kg}_{\text{etanol}}/\text{kg}_{\text{banano maduro}}$ y de $0,0564 \text{ kg}_{\text{etanol}}/\text{kg}_{\text{banano verde}}$ respectivamente; Meléndez (2002) trabajó con ñame y obtuvo un rendimiento prácticamente igual que en el caso de la papa.

A partir del proceso de producción de alcohol se generan desechos. El desecho sólido es el obtenido al final de la etapa de hidrólisis, el cual está constituido por fibra y demás constituyentes de las diferentes materias primas, este puede ser utilizado como base para elaborar concentrados alimenticios para animales. El desecho líquido podría ser reciclado parcialmente hacia los tanques fermentadores.

Cuadro 5. Parámetros cinéticos de la fermentación alcohólica

Congénicos		Concentración (ppm)
Metanol	± 0,2	3,8
Acetaldehído	± 0,5	25
N-propanol	± 1	30
Acetato de etilo	± 1	5
2-butanol	± 1	15
Alcohol Iso-butílico	± 1	28
Alcohol Iso-amílico	± 1	5

Fuente: (FANAL)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araya, R. (1998). *Determinación de la concentración de nutrientes necesaria para mejorar el rendimiento del proceso fermentativo de la Fábrica Nacional de Licores*. Tesis de Licenciatura para la obtención del título de Licenciado en Ingeniería Química, Escuela de Ingeniería Química, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Box, G., Hunter, W. & Hunter, J. (1978). *Statistics for Experiments*. New York : John Wiley & Sons.
- Costa Rica, Fábrica Nacional de Licores (FANAL). (2003). *Instrucciones de trabajo para análisis de licores IT-008 del LCC*. Alajuela: Laboratorio de Control de Calidad de la Fábrica Nacional de Licores.
- Costa Rica, NOVO NORDISK. (2002). *Hoja Técnica: Amiloglucosidasa AMG 300L, Termamyl® 120L*. San José: Trisan S.A.
- Costa Rica, TICO LAB S. A. (2002). *Determinación de Glucosa: Método de Trinder. Tibás*: TICO LAB S.A.
- Crueger, W. & Crueger, A. (1989). *Biología: Manual de microbiología industrial*. España: Acribia S.A.

- Cunniff, P. (1995). *Official methods of analysis of AOAC international* (16th ed.). Arlington, Virginia: AOAC International.
- López, C. (1998). *Estudio comparativo de la producción de etanol vía fermentativa utilizando cuatro sustratos preparados a partir de banano maduro*. Tesis de Licenciatura para la obtención del título de Licenciado en Ingeniería Química, Escuela de Ingeniería Química, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Meléndez, I. (2002). *Estudio de la hidrólisis enzimática y del proceso fermentativo para la producción de alcohol a partir de yuca, ñame y malanga*. Tesis de Licenciatura para la obtención del título de Licenciado en Ingeniería Química, Escuela de Ingeniería Química, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). (2002). Información Agropecuaria. Extraído el 09 de agosto, 2001 del sitio web: <http://www.mag.go.cr>.
- Southgate, D. A. (1976). *Determination of food carbohydrates*. London, United Kingdom: Applied Science Publications Ltd.
- Tatterson, G. B. (1993). *Process mixing: chemical and biochemical applications*. Chicago, Estados Unidos: American Institute of Chemical Engineers Symposium Series.
- Tomkinson, R. A. 1986. *Studies on the indigestible and fermentable components of dry bean grains*. M.Sc. thesis, Michigan State University, Michigan, United States.
- Treadway, R. H. (1984). Manufacture of potato starch. In Whistler & Paschal (Eds.), *Starch: Chemistry and Technology* (pp 87-101). New York: Academic Press Inc.
- United States, Advisory Committee on Technology Innovation. (1983). *Alcohol fuels: options for developing countries*. Washington D.C: National Academy Press.
- Vong Tsoi, A. (1996). *Estudio de la producción de etanol mediante la fermentación de tres sustratos diferentes obtenidos a partir del banano*. Tesis de Licenciatura para la obtención del título de Licenciado en Ingeniería Química, Escuela de Ingeniería Química, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

SOBRE LOS AUTORES

Jorge González Fernández

Magíster en Ingeniería Química
Gerente de Producción de Tropical Paradise Fruits Co.
Teléfono: 474-8511
Facsímil: 474-8434
Correo electrónico:
jgonzalez@tropicalparadisefruits.com

Manuel E. Molina Córdoba

Docente e investigador de la Escuela de Ingeniería Química
Universidad de Costa Rica
Teléfono: 207-4620
Facsímil: 225-5622
Correo electrónico:
emolina@terraba.fing.ucr.ac.cr