

**ELABORACIÓN DE MANUAL DE INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO
DEL TRABAJO CON EL BANCO DE ENSAYOS CE 640 PRODUCCIÓN
BIOTECNOLÓGICA DE ETANOL ADQUIRIDO POR EL PROGRAMA DE
INGENIERÍA MECATRÓNICA DE LA UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE
PEREIRA.**

Requisito para optar al título de Químico Industrial

Laura Victoria Arango Marín

Diego Fernando Gómez Quintero

**Director del proyecto:
Ingeniero Rodrigo Londoño García**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA
FACULTAD DE TECNOLOGÍA
QUÍMICA INDUSTRIAL
PEREIRA**

**ELABORACIÓN DE MANUAL DE INSTRUCCIONES PARA EL DESARROLLO
DEL TRABAJO CON EL BANCO DE ENSAYOS CE 640 PRODUCCIÓN
BIOTECNOLÓGICA DE ETANOL ADQUIRIDO POR EL PROGRAMA DE
INGENIERÍA MECATRÓNICA DE LA UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE
PEREIRA.**

Laura Victoria Arango Marín

Diego Fernando Gómez Quintero

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA
FACULTAD DE TECNOLOGÍA
QUÍMICA INDUSTRIAL
PEREIRA**

AGRADECIMIENTOS

Al ingeniero Rodrigo Londoño por ser un guía, y un apoyo en el desarrollo de este trabajo, mi profundo respeto y aprecio.

A mi madre que incondicionalmente siempre estuvo ahí para guiarme por un camino de bien, y ayudarme a convertirme en la mujer que hoy en día soy.

A mi esposo que cada día ha estado ahí para bríndame su ayuda y su amor incondicional.

A mis compañeros y docentes, que hicieron parte de mi formación y principalmente a mi compañero Diego, por tantas noches de traspaso y estudio para lograr cumplir nuestras metas.

Laura Victoria Arango Marín

Este trabajo va dedicado a mis padres, quienes siempre llevare en mis recuerdos y me acompañaran toda la vida, a mi familia de quienes siempre tuve un apoyo incondicional en especial la de mi hermano, mis compañeros y docentes, por sus conocimientos y por ultimo mi compañera, con quien realice este trabajo.

Diego Fernando Gómez Quintero

TABLA DE CONTENIDO

INDICE DE FIGURAS	7
RESUMEN	8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
1. JUSTIFICACIÓN	10
2. OBJETIVOS	12
2.1. Objetivo general	12
2.2. Objetivos específicos	12
3. MARCO DE REFERENCIA	13
3.1. Fermentación alcohólica	13
3.2. Levadura	14
3.3. Bioquímica de la fermentación alcohólica	16
3.4. Explicación del proceso con la planta de ensayo CE 640 producción biotecnológica de etanol	17
3.4.1. Maceración.....	18
3.4.2. Fermentación	18
3.4.3. Destilación	19
3.5. Parámetros a tener en cuenta para el proceso	19
3.6. El etanol como fuente de energía	21
4. METODOLOGÍA	22
4.1. Preparación de la muestra	22
4.1.1. Manejo de la materia prima	22
4.1.2. Verificación del porcentaje de almidón en la papa pastusa	22
4.1.2.1. Determinación de la concentración de almidón en la muestra	22
4.1.3. Toma de muestras	23
4.1.4. Transporte y almacenamiento de la materia prima	23
4.2. Maceración	23
4.2.1. Maceración de la papa.....	23

4.3.	Fermentación	24
4.3.1.	Almacenamiento de las levaduras	24
4.3.2.	Comportamiento de las levaduras.....	24
4.4.	Destilación	24
4.4.1.	Variación de la temperatura de destilación.....	24
4.4.2.	Análisis del etanol obtenido.....	25
4.5.	Balances de materia	25
4.6.	Análisis de resultados	25
5.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	26
5.1.	Determinación de la concentración de almidón en la <i>papa pastusa</i>. 26	
5.1.1.	Extracción del almidón de la papa pastusa	26
5.1.2.	Cuantificación del almidón.....	26
5.2.	Obtención del bioetanol por medio del uso de la <i>papa pastusa</i>	27
5.2.1.	Proceso de maceración	27
5.2.2.	Proceso de fermentación	29
5.2.3.	Proceso de Destilación.....	31
5.3.	Resultados refractometría	36
5.4.	Balances de materia del proceso de biofermentación	39
5.5.	Manual de funcionamiento para el CE 640 producción biotecnológica de etanol.	43
6.	CONCLUSIONES	50
7.	RECOMENDACIONES	51
8.	BIBLIOGRAFÍA	52
	ANEXOS	55
	Anexo 1: Fichas de seguridad de reactivos utilizados.....	55
	Anexo 2: Alcohol etílico.....	57

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Volumen de tiosulfato gastado en la titulación.

Tabla 2. Relación de las cantidades utilizadas en las diferentes prácticas realizadas.

Tabla 3. Relación del proceso de fermentación para las diferentes prácticas.

Tabla 4. Volúmenes obtenidos durante el proceso de destilación en las diferentes prácticas.

Tabla 5. Concentraciones del vapor y del líquido a diferentes temperaturas.

Tabla 6. Resultados obtenidos para el índice de refracción en las diferentes prácticas realizadas.

Tabla 7. Concentraciones de etanol para las prácticas realizadas, obtenidas mediante la técnica instrumental refractometría.

Tabla 8. Ficha de seguridad para el ácido acético glacial.

Tabla 9. Ficha de seguridad para el hidróxido de sodio.

Tabla 10. Concentración del etanol relacionada con su densidad.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de diferencia entre la glucólisis y la fermentación alcohólica.

Figura 2. Reacciones de la fermentación alcohólica.

Figura 3. Esquema del depósito de maceración.

Figura 4. Esquema del depósito de Fermentación.

Figura 5. Esquema de la unidad de destilación.

Figura 6. Temperatura en función de la concentración de etanol.

Figura 7. Gráfica para el equilibrio de una mezcla etanol-agua.

Figura 8. Curva de calibración para el etanol.

Figura 9. Diagrama del proceso.

Figura 10. Diagrama entalpías-concentración para alcohol etílico en solución acuosa.

RESUMEN

En este trabajo se presenta la realización de un manual de instrucciones para el manejo del banco de ensayos **CE 640 Producción biotecnológica de etanol**, para el programa de ingeniería mecatrónica mediante el uso de la papa (*Solanum tuberosum*) para la producción de etanol como fuente de energía alternativa. Para llevar a cabo este trabajo se realizó una determinación del almidón del tipo de papa utilizada con el fin de realizar una comparación entre lo que se debe obtener teóricamente y lo que se debe obtener experimentalmente para encontrar el rendimiento del equipo. La técnica analítica utilizada para la determinación de almidón en este trabajo es la yodimetría. Para el trabajo con el equipo fueron utilizadas tres diferentes masas de papa con el fin de determinar la cantidad de materia prima óptima para la obtención de un alto rendimiento en el proceso, además se empleó el uso de dos diferentes tipos de levadura con el fin de realizar una comparación en el rendimiento del equipo y buscar la disminución de costos en el proceso.

Se realizaron de igual manera los respectivos balances de materia del proceso, para conocer las masas en cada una de las estaciones.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la búsqueda de mejorar la calidad de la educación en ingeniería mecatrónica, se ha examinado la forma en que el estudiante tenga contacto con todos aquellos procesos y herramientas que actualmente son utilizados en la industria. En este aspecto se ha venido presentado una serie de problemas, debido a que la herramienta de trabajo normalmente está ligada a disciplinas ajenas a las manejadas en el programa de mecatrónica, lo cual genera que el proceso de aprendizaje se dificulte al no haber una comprensión del comportamiento total del banco de ensayos **CE 640 Producción biotecnológica de etanol**.

Teniendo en cuenta la problemática observada en el programa de ingeniería mecatrónica la cual es la necesidad de comprender y de generar prácticas para sus estudiantes de manera que la teoría se vea plasmada en la práctica, se recurrió a la adquisición del banco de ensayos **CE 640 Producción biotecnológica de etanol**, presentándose la dificultad en el manejo de este en cuanto a los fundamentos en química necesarios.

1. JUSTIFICACIÓN

Para la realización del proyecto, se procedió a efectuar un análisis al programa de ingeniería mecatrónica con el fin de conocer las bases que se manejan en cuanto al tema, encontrándose que la única materia relacionada es termodinámica [1]; por lo que el ingeniero en mecatrónica no posee el conocimiento suficiente para el manejo del banco de ensayos **CE 640 Producción biotecnológica de etanol**, es por ello que se considera que estudiantes de Química Industrial están en capacidad de generar guías prácticas que contribuyan al progreso de actividades concernientes con el avance educativo de los futuros y actuales estudiantes del programa, los cuales se verán beneficiados con la implementación física de lo visto en la teoría.

Como se menciona anteriormente, el químico industrial posee las habilidades necesarias para la comprensión y la solución del problema que presenta el programa de ingeniería mecatrónica, debido a que este profesional en su plan de estudio tiene la posibilidad de ver materias tales como:

- Balances de materia y energía.
- Fluidos y sólidos.
- Transferencia de calor.
- Transferencia de masa.

Las anteriormente citadas son asignaturas que facilitan el estudio de los diferentes fenómenos ocurridos durante el proceso de biofermentación objeto de este proyecto, por lo cual es posible aprovechar la oportunidad que tiene el programa de ingeniería mecatrónica para comprender más allá de la parte operativa del equipo, pues se introducen varios fundamentos teóricos que fácilmente se pueden llevar a la práctica.

Por tal motivo el químico industrial está en capacidad de llevar a cabo el proyecto ya que se deben tener en cuenta los procesos fisicoquímicos involucrados en la fermentación alcohólica, especialmente al emplear la levadura, ya que como el proceso es exotérmico y además anaeróbico (se lleva a cabo en ausencia de oxígeno) la única fuente de energía para las levaduras es la de la glucólisis.

Para ello se pretende estudiar y comprender el funcionamiento del biofermentador, para la elaboración de guías que ayude a los estudiantes y profesores que

realizarán prácticas con el biofermentador a conocer los procesos que se están llevando a cabo. Además también se analizará el comportamiento del biofermentador con el uso de diferentes levaduras para el proceso de fermentación en la búsqueda de reducir costos y tiempo, con el fin de que a futuro se le pueda dar un buen uso, aprovechando así al máximo sus capacidades, de manera que éste pueda ser funcional tanto para los estudiantes del programa como para los practicantes de las disciplinas que están relacionadas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Elaborar un manual de instrucciones para el programa de ingeniería mecatrónica para el manejo del banco de ensayos **CE 640 Producción biotecnológica de etanol**, en la producción de etanol a partir de la papa (*Solanum tuberosum*).

2.2. Objetivos específicos

- Determinar la cantidad mínima necesaria de materia prima para obtener un alto rendimiento del proceso.
- Determinar el porcentaje de almidón que posee la papa pastusa.
- Analizar el rendimiento del banco de ensayos CE 640 Producción biotecnológica de etanol a partir del uso de dos diferente levaduras.
- Determinar el efecto de la variación de la temperatura de destilación sobre la concentración de etanol.
- Realización de los respectivos balances de materia del proceso.
- Recopilación de datos experimentales y ensayos para la construcción de un documento guía.

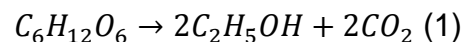
3. MARCO DE REFERENCIA

Se define como proyecto a la búsqueda de una solución inteligente de un problema con el fin de resolver una necesidad humana. En este proyecto se buscará la solución a la necesidad presentada por el programa de ingeniería Mecatrónica. Para ello se deben de tener en claro los siguientes conceptos, los cuales se encargarán de delimitar el campo que se está trabajando en este documento.

Como ya se ha mencionado en el planteamiento del problema en el documento, el programa de ingeniería mecatrónica adquirió una planta de producción biotecnológica de etanol. Por lo cual se procederá a realizar el análisis de diferentes parámetros, con el fin de encontrar una forma óptima de trabajo en el proceso, reducción de costos y la generación de un manual para el estudiante. Partiendo desde la referencia de la producción biotecnológica de etanol por medio del uso de diversos tipos de tubérculos, en donde en estudios realizados se ha encontrado que uno de los tubérculos que aporta un buen resultado, debido a la alta cantidad de almidón que contiene, es la yuca [2] entre otras investigaciones que se han realizado en el proceso, todo esto debido a la tendencia mundial de buscar combustibles alternativos, donde se encuentre una disminución en los costos del combustible, y simultáneamente encontrar fuentes de energía que disminuyan la contaminación ambiental.

3.1. Fermentación alcohólica

Se define como fermentación alcohólica a la bioreacción que permite degradar azúcares en alcohol y dióxido de carbono. La reacción se encuentra dada por la siguiente ecuación química. [3]



Las principales responsables de esta transformación son las levaduras, para el caso de este trabajo se utilizaron dos tipos de levadura, Korbrand Ultra, la cual es una levadura recomendada por el fabricante y levadura comercial. Cabe resaltar que para la realización de este tipo de fermentación también se pueden utilizar diferentes tipos de hongos y levaduras como la *Zymomonas mobilis*, con el inconveniente que esta última a nivel industrial no es muy explotada. [3]

A pesar de parecer, a nivel estequiométrico, una transformación simple, la secuencia de transformaciones para degradar la glucosa hasta dos moléculas de alcohol y dos moléculas de bióxido de carbono es un proceso muy complejo, pues al mismo tiempo la levadura utiliza la glucosa y nutrientes adicionales para reproducirse. Para evaluar esta transformación, se usa el rendimiento biomasa/producto y el rendimiento producto/ substrato. [3]

Rendimiento biomasa/substrato ($Y_{x/s}$): es la cantidad de levadura producida por cantidad de substrato consumido. [3]

Rendimiento substrato/producto ($Y_{p/s}$): es la cantidad de producto sintetizado por cantidad de substrato consumido. [3]

El rendimiento teórico estequiométrico para la transformación de glucosa en etanol es de 0.511 g de etanol y 0.489 g de CO_2 por 1 g de glucosa. Este valor fue cuantificado por Gay Lussac. En la realidad es difícil lograr este rendimiento, porque como se señaló anteriormente, la levadura utiliza la glucosa para la producción de otros metabolitos. [3]

El éxito de una buena fermentación depende de la eficacia del tratamiento preliminar: concentración del azúcar, pH y temperatura óptimos; la adición de sustancias nutritivas al mosto, contaminación por otros microorganismos, empleo de un organismo resistente a altas concentraciones de alcohol, mantenimiento de condiciones anaerobias y la inmediata destilación del producto fermentado. [4]

3.2. Levadura

Las levaduras pueden ser definidas como hongos unicelulares que se reproducen por gemación o fisión. Las levaduras están implicadas en fenómenos de competición por nutrientes, de antagonismo o de simbiosis en los suelos, las aguas, los animales y los vegetales. Su presencia depende en primer lugar de la disponibilidad de carbono orgánico, temperatura, pH y de la presencia de agua. [5]

Para que la proliferación de estos hongos se dé, deben de cumplirse ciertas necesidades. Las necesidades nutricionales de las levaduras, buscan medios de cultivo que aporten los elementos necesarios para la síntesis de los tejidos celulares y para cubrir las necesidades energéticas de las levaduras. [6]

Entre estos elementos necesarios para la proliferación celular se encuentran principalmente el carbono, el nitrógeno, el fósforo.

Para la realización de este trabajo se empleará el uso de la levadura Kornbrand ultra, la cual es una levadura alemana recomendada por el fabricante del equipo y la levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*), las cuales se presentan a continuación.

- **Levadura Kornbrand Premium:** Su materia prima es principalmente la papa y/o cereales, tiene un gran poder de fermentación y alta tolerancia a los azúcares y alcoholes; además de un bajo requerimiento de nitrógeno. [7]
- **Levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*):** La levadura de cerveza se compone de microorganismos muy activos, con una gran capacidad de reproducción. Durante este proceso, se generan prácticamente todas las vitaminas y proteínas vegetales de gran valor biológico, enriquecidas con oligoelementos y minerales procedentes de su sustrato alimentario. [8]

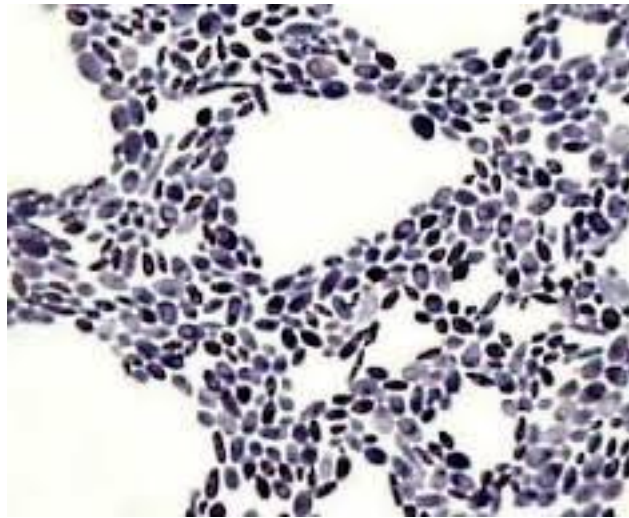


Figura 1. *Saccharomyces cerevisiae* observada por medio de un microscopio. [9]

3.3. Bioquímica de la fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica mediante la que una molécula de glucosa se convierte en dos moléculas de etanol y dos de dióxido de carbono, es el mismo proceso catabólico aerobio que la glucólisis, excepto en las etapas finales en las que se producen diferentes productos. En la glucólisis el último intermediario metabólico, el piruvato, se reduce a lactato y, en la fermentación alcohólica se convierte en etanol y CO_2 . [10]

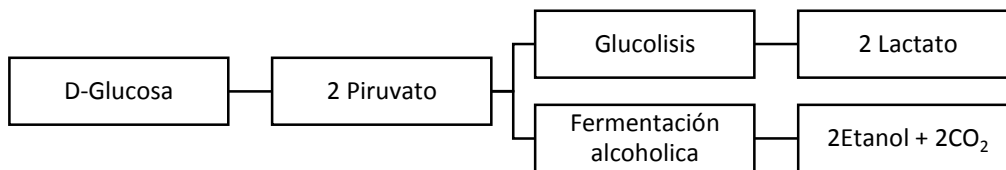


Figura 1. Diagrama de diferencia entre la glucólisis y la fermentación alcohólica.

Para que se lleve a cabo el proceso de fermentación alcohólica, la hexosa es atacada por las enzimas de la glucólisis que la convierten en piruvato; este es descarboxilado por la enzima piruvato descarboxilasa, para producir acetaldehído y CO_2 . Finalmente, la deshidrogenasa alcohólica convierte al acetaldehído en etanol, en una reacción que utiliza una molécula de NADH (equivalente reductor). Por lo tanto, en este tipo de fermentación el aceptor final de electrones es el acetaldehído. Hay varios microorganismos que efectúan esta vía metabólica. Por medio de estas reacciones se obtienen todos los tipos de bebidas alcohólicas. [11]

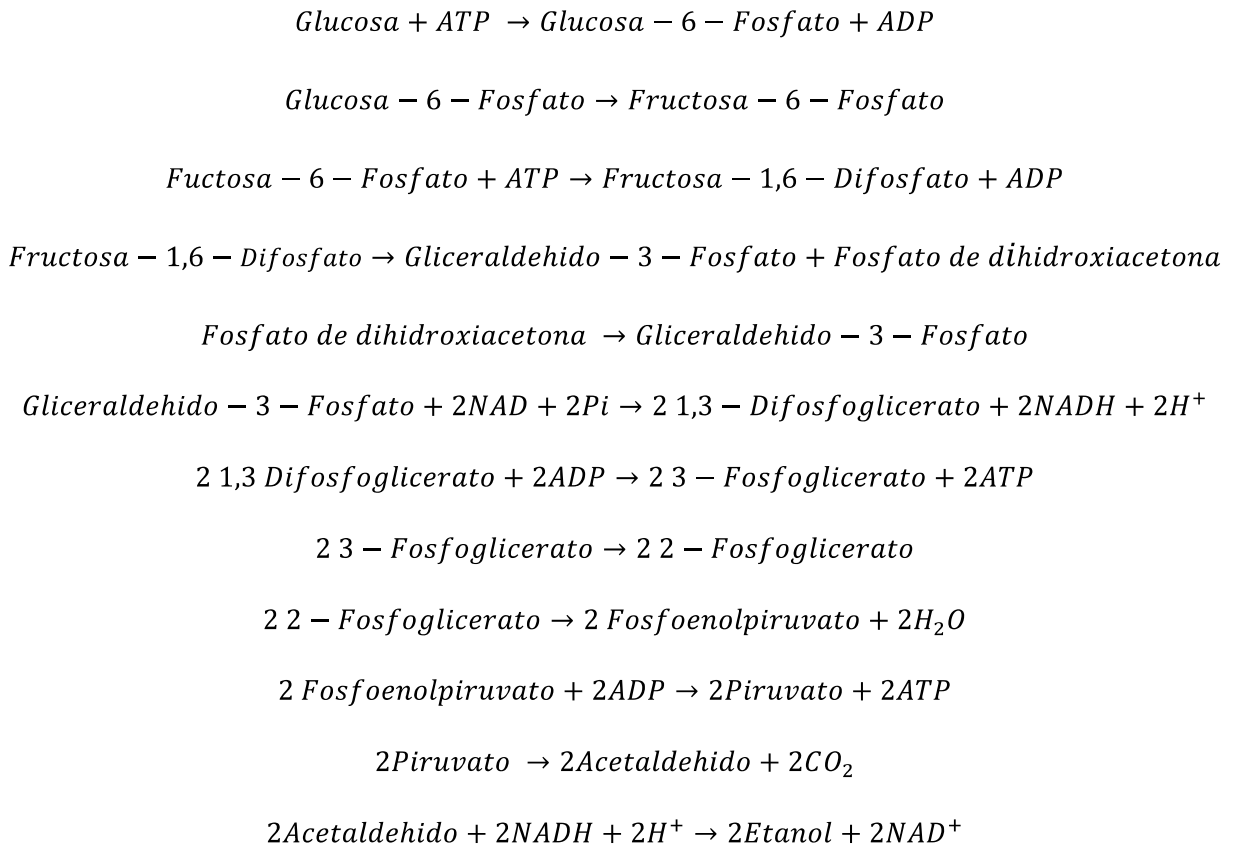


Figura 2. Reacciones de la fermentación alcohólica. [11]

3.4. Explicación del proceso con la planta de ensayo CE 640 producción biotecnológica de etanol

El trabajo propuesto además de presentar una solución a una problemática presentada en los estudiantes de mecatrónica, se centra también en el estudio detallado del funcionamiento del equipo de trabajo: Planta de ensayo CE 640 producción biotecnológica de etanol, para construir una guía sobre la cual los estudiantes de mecatrónica puedan trabajar de manera segura y educativa sobre la planta.

El proceso que presenta la planta de ensayos es un proceso muy sencillo y fácil de entender, el cual se puede dividir en tres etapas. , la primera en donde se adiciona la materia prima previamente tratada a mano para desechar la cascara, ya que esta no presenta los compuestos orgánicos necesarios en el proceso, la segunda un

proceso de fermentación en donde las enzimas realizan una reacción biológica y química convirtiendo la glucosa en etanol y la tercera donde es destilado el etanol producido por las enzimas, para poder ser obtenido en altas concentraciones o ser purificado.

3.4.1. Maceración

Es la primera etapa la materia prima es macerada y solubilizada. La materia prima es macerada con el fin de poder oxidar o degradar las moléculas de almidón que están contenidas en la materia prima y ser convertidas en moléculas de glucosa las cuales serán utilizadas posteriormente como alimento para los microorganismos, llamados enzimas, en el proceso de fermentación. En el proceso de maceración son adicionadas las enzimas alfa-amilasa y gluco-amilasa, los cuales son de mucha importancia ya que la primera es la encargada de cortar las cadenas de almidón y la segunda se encarga de la sacarificación. [18]

3.4.2. Fermentación

La segunda etapa del proceso es la fermentación del macerado, en esta etapa se debe tener mucho cuidado con dos variables físicas, las cuales son la temperatura y el pH del macerado; además de mantener estas dos variables dentro de un rango determinado, se debe tener el macerado completamente sellado, puesto que las enzimas usadas en esta clase de fermentación son anaeróbicas, lo que quiere decir que no necesitan oxígeno para realizar su función biológica. Las enzimas, las cuales son unos microorganismos unicelulares, utilizadas para este proceso de fermentación provienen de la levadura, la cual es previamente activada y posteriormente adicionada al tanque de fermentación junto con el macerado, el tanque de fermentación es sellado completamente y se deja un tiempo de fermentación de 72 horas, programando todo el sistema para que la temperatura, el pH y la agitación del tanque no varíen. Durante las 72 horas las enzimas comienzan a realizar una serie de reacciones químicas, ya que es un proceso metabólico, tomando como sustrato o alimento para el metabolismo la glucosa que contiene el macerado, dando como producto de esta serie de reacciones, etanol y dióxido de carbono. [18]

3.4.3. Destilación

La tercera etapa, en donde termina todo el proceso, es la destilación del etanol obtenido gracias a la fermentación. La purificación del etanol es muy importante ya que junto al etanol dentro del fermentado, se encuentran otros compuestos que no son de interés para el posterior análisis, por lo tanto es necesario realizar la destilación y así poder obtener el etanol en la concentración más alta posible. El destilado se recoge dentro de un rango de temperatura, sabiendo que la temperatura de ebullición del etanol se encuentra alrededor de 78 °C a 1 atm, el proceso de destilado termina cuando la destilación alcanza los 84 °C, puesto que a esta temperatura ya se comienza a destilar agua, afectando notablemente la concentración de etanol, el cual ya no sirve para el análisis. [18]

3.5. Parámetros a tener en cuenta para el proceso

Los parámetros que se deben de tener en cuenta para el desarrollo de la fermentación son los siguientes:

- **Temperatura:** La temperatura es un parámetro de gran importancia para el proceso, esta se debe estar monitoreando y modificando durante el proceso de maceración, para el uso de las diferentes enzimas. Durante el proceso de fermentación, debe haber un cauto manejo y control del parámetro mencionado, ya que al no encontrarse este proceso en un rango de temperatura determinado, el proceso de fermentación no será llevado a cabo correctamente debido a que a una temperatura menor de la indicada la levadura se inactiva, y a una temperatura mayor, la levadura morirá. Finalmente en la última etapa del proceso juega un papel de vital importancia, ya que sin el debido control del parámetro, la concentración de etanol podría ser baja, y no estaría cumpliendo el propósito del equipo. [9]
- **pH:** El pH es uno de los parámetros que debe mantenerse controlado, ya que las enzimas deben de adicionarse a pH determinados para que su funcionamiento sea óptimo. Además también tiene gran influencia en la obtención del producto final. Ya que las levaduras trabajan a un pH determinado que les facilita su proliferación. [9]

- **Presión:** La presión durante el proceso de fermentación debe ser controlada, ya que cuando esta aumenta al ir produciéndose CO₂ hay una disminución en la proliferación celular, por lo cual el CO₂ producido debe ser retirado del recipiente de fermentación. [9]
- **Azúcares:** La materia prima para las levaduras lo constituyen los azúcares presentes en el sustrato; pero otro tanto es la humedad del medio en que se desenvuelven. Los microorganismos tienen unas necesidades en agua mínimas para realizar a cabalidad sus funciones. Esas necesidades se miden en términos de actividad de agua; que para las levaduras está estimado en 0,60 -0,62. Por consiguiente, si se colocan en un medio donde el contenido de humedad está por debajo del indicado, la célula cederá parte de su líquido al medio; si por el contrario, el contenido del líquido en el sustrato es superior al establecido, entonces si podrá cumplir su actividad funcional. [12]
- **Aireación y agitación:** la aireación y la agitación de los cultivos son de vital importancia ya que influyen de manera significativa en la producción de la enzima de interés. [13]
- **Almacenamiento de la levadura:** La levadura se debe almacenar en un lugar oscuro y a una baja temperatura para evitar que esta pueda alterarse.
- **Enzimas:** Las enzimas utilizadas para el proceso son la alfa-amilasa y la glucoamilasa. La alfa-amilasa, cumple la función de realizar cortes en la cadena del almidón, y convertirlos solamente en glucosas. Por su parte la glucoamilasa es la encargada de la sacarificación de la glucosa, para que esta sirva como alimentos para las levaduras que se agregaran en el proceso de fermentación. [14]

La industria de procesado de almidón consume enormes cantidades de carbohidrasas: α -amilasa y glucoamilasa principalmente, pero también pululanasa y xilanasas. La hidrólisis enzimática del almidón es esencial para dos tipos de procesos industriales. Uno de ellos es la obtención de azúcares sencillos, oligo y monosacáridos, empleados para elaborar distintos tipos de alimentos: bebidas, dulces, etc. Por otra parte, el almidón se utiliza como materia prima para la obtención de etanol, cuya importancia como combustible líquido, sustitutivo de la gasolina, crece de forma notable. [14]

3.6. El etanol como fuente de energía

En general, las fuentes de energía, se clasifican como renovables y no renovables. Entre las primeras se encuentra la energía eólica, hidráulica, geotérmica, maremotriz, solar y las energías de la biomasa (bioetanol, combustión directa de biomasa leñosa, combustión con gasificación, la pirolisis y la producción de gas por biodigestión anaeróbica). Dentro de las energías no renovables se encuentra el petróleo, el gas natural (metano) y la energía nuclear. Una de las fuentes de energía que poco se menciona en los proyectos nacionales y que ha demostrado su factibilidad en otras regiones del mundo, es la producción de etanol. Desde el punto de vista industrial, trabajar en la producción de dicho producto es fundamental, pues el etanol no sólo es una fuente de energía sino una materia prima importante en la industria (química, farmacéutica, agroalimentaria, etc.) [3]

Entre los principales usos del etanol está la preparación de carburantes para vehículos automotores. El etanol permite un aumento del índice de octano, y por lo tanto, la reducción del consumo y reducción de la contaminación (10 a 15 % menos de monóxido de carbono e hidrocarburos). [3]

Una de las opciones para producir etanol es por fermentación a partir de materias primas ricas en carbohidratos (azúcar, almidón, celulosa, etcétera). Por tal razón, es común designar al etanol obtenido por esta vía "bioetanol". Entre estas materias primas se encuentran las frutas y vegetales como la caña de azúcar y la remolacha, los cereales (trigo, maíz, sorgo), los tubérculos (papas, yuca) y en general, materias provenientes de ligno–celulosas o de residuos orgánicos. [3]

4. METODOLOGÍA

4.1. Preparación de la muestra

4.1.1. Manejo de la materia prima

Se tomarán diferentes masas de la materia prima para cubrir un amplio rango, de manera que se pueda determinar la cantidad mínima necesaria de materia prima para obtener un alto rendimiento del proceso.

4.1.2. Verificación del porcentaje de almidón en la papa pastusa

Se busca cuantificar la cantidad de almidón que posee la papa pastusa. Para realizar una comparación con el porcentaje teórico y relacionarlo con la concentración de etanol obtenida.

Se realizara una extracción del almidón con éter etílico y etanol absoluto. Posteriormente se seca el almidón obtenido en una estufa a 60 °C. Finalmente se pesara.

4.1.2.1. Determinación de la concentración de almidón en la muestra

Para la determinación de almidón en la papa se realizará una yodometría. Para ello se debe pesar 20 mg de almidón, agregar 5 mL de agua y mezclar. Calentar la solución en un baño de agua durante 15 minutos hasta que esta obtenga una consistencia gelatinosa. Posteriormente dejar enfriar a temperatura ambiente hasta que la temperatura de la solución esté entre 22 °C y 25 °C.

Adicionar 5 mL de ácido clorhídrico diluido y dejar en un baño de agua durante dos horas y media. Una vez transcurra este tiempo, dejar enfriar y transferir a un balón de 25 mL, neutralizar con NaOH 1 M. Se toma una alícuota de 5 mL a la cual le adiciona 5 mL de agua, 1 mL de KI al 2.5% y 3 mL de ácido sulfúrico con una

concentración de 0,75 M. Agitar rápidamente. Finalmente titular con una solución de tiosulfato al 0,0055 M. [16]

4.1.3. Toma de muestras

La papa (*Solanum tuberosum*) se le fue removida la piel, posteriormente es triturada de manera que adquiera la consistencia de puré para mejorar la superficie de contacto en el proceso. Para la realización del proceso de maceración se utilizaron diferentes masas, estas oscilan en un rango de valores de 5 Kg a 10 Kg.

Se tomará la papa (*Solanum tuberosum*) y se le removerá la piel, una vez llevado a cabo esto se triturará de manera que esta quede con una consistencia de puré; se tomarán muestras que oscilen en un rango de 5 Kg y 10 Kg.

4.1.4. Transporte y almacenamiento de la materia prima

Se recomienda almacenar la materia prima en un recipiente de vidrio, sí no va a ser utilizada inmediatamente. Se debe tener en cuenta para el almacenamiento que la papa tiene un tiempo de vida útil entre 110 días y 120 días. [15]

4.2. Maceración

4.2.1. Maceración de la papa

Se llevará la papa al macerador y se agregaran las enzimas correspondientes para el desarrollo del proceso. [16]

Una vez terminado el proceso de maceración el cual dura alrededor de 3 a 4 horas, se transferirá la mezcla macerada hacía el tanque de fermentación.

4.3. Fermentación

4.3.1. Almacenamiento de las levaduras

Las levaduras se deben conservar a una temperatura menor a los 12 °C de manera que estas interrumpen su actividad y no mueran. [15]

4.3.2. Comportamiento de las levaduras

Se procederá a realizar ensayos a diferentes masas con el uso de dos distintas levaduras:

- **Levadura Kornbrand Premium:** Su materia prima es principalmente la papa y/o cereales, tiene un gran poder de fermentación y alta tolerancia a los azúcares y alcoholes; además de un bajo requerimiento de nitrógeno. [7]
- **Levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*):** La levadura de cerveza se compone de microorganismos muy activos, con una gran capacidad de reproducción. Durante este proceso, se generan prácticamente todas las vitaminas y proteínas vegetales de gran valor biológico, enriquecidas con oligoelementos y minerales procedentes de su substrato alimentario. [8]

Se pretende analizar el rendimiento con ambas levaduras, para determinar si con la levadura comercial se puede obtener un rendimiento similar al obtenido con la levadura Kornbrand Premium, con el fin de reducir costos.

4.4. Destilación

4.4.1. Variación de la temperatura de destilación

La mezcla macerada es almacenada en el destilador, en donde se llevará a cabo el proceso a diferentes temperaturas con el fin de determinar el efecto de la variación de temperatura de destilación sobre la concentración de etanol.

4.4.2. Análisis del etanol obtenido

Se tomarán muestras del etanol obtenido a las diferentes temperaturas, para determinar su densidad y concentración por medio de refractometría.

4.5. Balances de materia

Se realizarán los respectivos balances de materia del proceso.

4.6. Análisis de resultados

Recopilación de datos:

Una vez finalizado el proceso experimental, se procederá a realizar el análisis de todos los datos recopilados, para la elaboración del documento final.

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1. Determinación de la concentración de almidón en la *papa pastusa*

5.1.1. Extracción del almidón de la papa pastusa

La papa pastusa tiene un contenido de almidón de 17%. Para la extracción del almidón, se pesaron 5 g de la muestra (papa pastusa), se colocaron en un mortero de porcelana para realizar la maceración y se agregaron 25 mL de éter etílico. Una vez la maceración se termina se procede a decantar las partículas de mayor tamaño para posteriormente filtrar, en un papel de filtro de poro fino que retenga las partículas de almidón.

El filtro fue dejado al aire para la evaporación completa del éter. Finalmente se lava el material sobre el filtro con 200 mL de etanol y se deja secando en estufa. Una vez se encuentra seco el material se procede a pesarlo. Obteniéndose una masa de almidón de 0.0731 g.

5.1.2. Cuantificación del almidón

La cuantificación de almidón se realizó de la manera que se describe en el numeral 4.1.2.1. Las pruebas fueron realizadas por triplicado para tener una repetitividad de los resultados. Para los diferentes ensayos se tuvieron los siguientes resultados.

Tabla 1. Volumen de tiosulfato gastado en la titulación.

Muestra	Volumen de tiosulfato (mL)
1	6,5
2	6,6
3	6,4
Promedio	6,5

Conociendo este volumen se procede a utilizar la ecuación 2 la cual es mostrada a continuación para calcular el porcentaje de almidón.

$$\%Almidón = 50(mL \text{ tiosulfato}) * \frac{0,90}{mg \text{ de muestra}} * \frac{M}{0,005} * G * 100 \text{ (2) [16]}$$

Dónde:

50 corresponde al factor de dilución.

0,90 corresponde al factor de glucosa en el almidón. Este factor se obtiene al relacionar la masa molecular de la glucosa (180) y la masa molecular de la glucosa en el almidón (162). [17]

M corresponde a la molaridad del tiosulfato utilizado.

G corresponde a los mg de glucosa equivalentes por cada mL de tiosulfato (0,01) mg de glucosa por cada mL de tiosulfato).

Obteniendo un porcentaje de almidón para la papa pastusa de 16,0875%.

5.2. Obtención del bioetanol por medio del uso de la *papa pastusa*

5.2.1. Proceso de maceración

En el proceso de maceración se utilizaron tres diferentes cantidades de papa (5, 7.5 y 10 Kg), las cantidades de agua agregadas al sistemas, fueron las suficientes para que la mezcla alcanzara a tocar las aspas del macerador y esta se pudiera homogenizar. En la figura 3 se muestra el esquema del depósito de maceración.

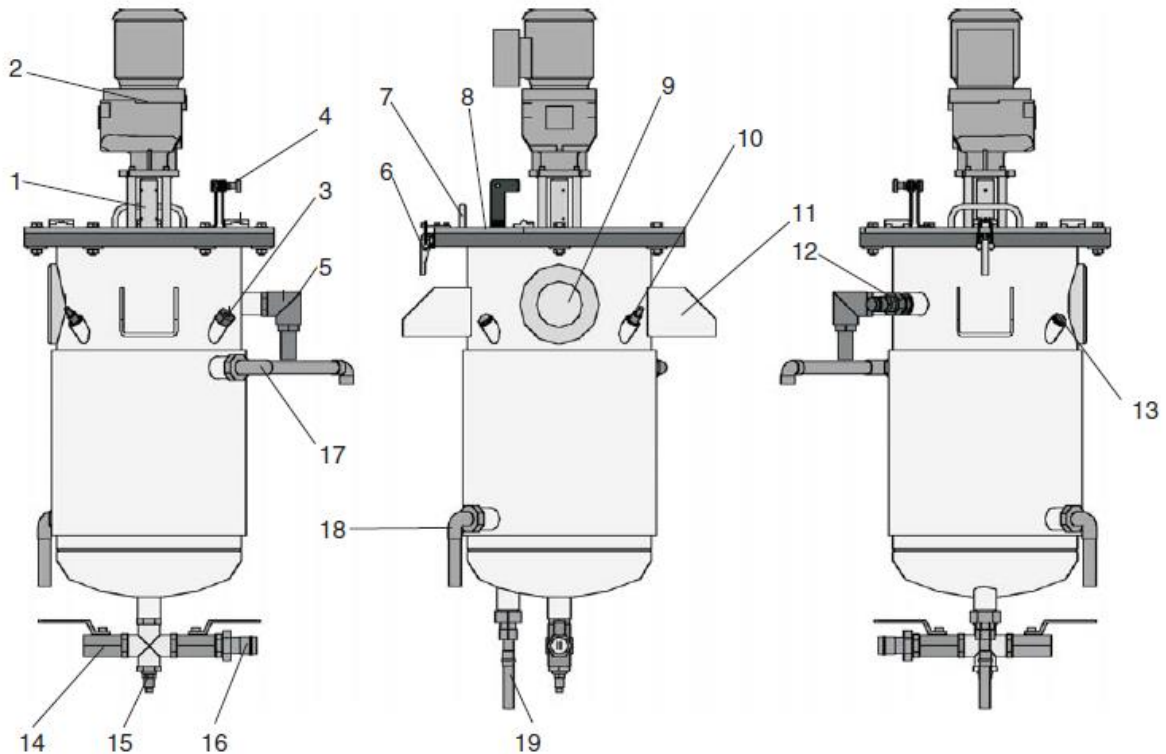


Figura 3. Esquema del depósito de maceración. [18]

Dónde:

- | | |
|--------------------------------------|--|
| 1. Acoplamiento de árbol. | 12. Conexión de alimentación de agua. |
| 2. Motorreductor. | 13. Tapón. |
| 3. Alimentación de ácido. | 14. Grifo de vaciado. |
| 4. Pasador de retención con soporte. | 15. Sensor de temperatura. |
| 5. Rebosadero. | 16. Conexión con la bomba de alimentación. |
| 6. Cierre de tapa. | 17. Salida de agua refrigerante. |
| 7. Asa para la tapa. | 18. Entrada de agua refrigerante. |
| 8. Tapa abatible. | 19. Conexión de vapor. |
| 9. Mirilla. | |
| 10. Sonda de medición de pH. | |
| 11. Garra de apoyo. | |

En la tabla 2 se encuentran relacionadas las cantidades que fueron utilizadas de materia prima, agua y enzimas.

Tabla 2. Relación de las cantidades utilizadas en las diferentes prácticas realizadas.

Práctica	Cantidad materia prima (kg)	Volumen de agua (L)	Volumen alfa-amilasa (mL)	Volumen gluco-amilasa (mL)
1	5	20	6	6
2	5	20	6	6
3	5	20	6	6
4	10	20	12	12
5	10	20	12	12
6	10	20	12	12
7	7,5	20	12	12
8	7,5	20	12	12
9	7,5	15	12	12
10	5	15	6	6
11	5	15	6	6
12	5	15	6	6
13	10	15	12	12
14	10	10	12	12
15	10	10	12	12

La agitación en el proceso fue constante.

5.2.2. Proceso de fermentación

Para el proceso de fermentación se utilizaron dos diferentes levaduras: Korbrand ultra la cual es una levadura recomendada por fabricante de la plata piloto, y levadura comercial Levapan. En la figura 4 se muestra el esquema del depósito de Fermentación.

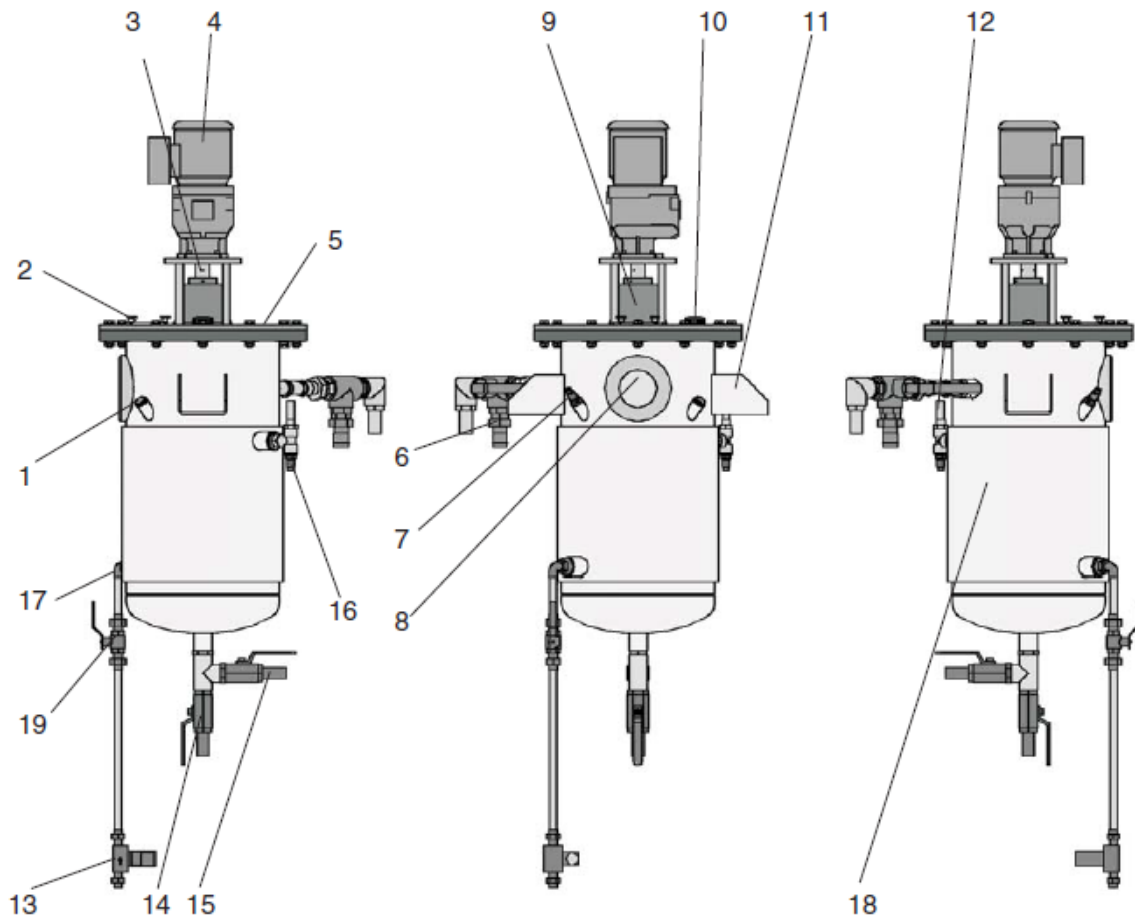


Figura 4. Esquema del depósito de Fermentación. [18]

Donde:

- | | |
|--|---|
| 1. Tapón. | 12. Salida de agua refrigerante. |
| 2. Boca de limpieza. | 13. Válvula de regulación del agua refrigerante. |
| 3. Acoplamiento. | 14. Grifo de vaciado. |
| 4. Motorreductor. | 15. Conexión con la bomba de alimentación. |
| 5. Tapa. | 16. Sensor de temperatura, salida de agua refrigerante. |
| 6. Entrada de mezcla macerada. | 17. Entrada de agua refrigerante. |
| 7. Sensor de temperatura, mezcla macerada. | 18. Depósito de doble camisa. |
| 8. Mirilla. | 19. Grifo de cierre, agua refrigerante. |
| 9. Cierre de fermentación. | |
| 10. Boca de llenado. | |
| 11. Garra de apoyo. | |

De la práctica 1 a la práctica 6 se realizaron pruebas con la levadura Korbrand ultra, y de las práctica 7 a las 15 se realizaron con la levadura comercial. La temperatura, y la agitación se encuentran explicadas en la tabla 3.

Tabla 3. Relación del proceso de fermentación para las diferentes prácticas.

Levadura	Práctica	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Agitación
Korbrand Ultra	1	30	84	Agitación a 120 rpm durante 5 min. Se detiene 10 minutos
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
Levadura comercial	7	39	84	Agitación a 120 rpm durante 5 min. Se detiene 10 minutos
	8			
	9			
	10			
	11			
	12			
	13			
	14			
	15			

5.2.3. Proceso de Destilación

El proceso de destilación se llevó a cabo en un rango de temperatura de 77 °C a 87 °C. Teniendo en cuenta que la temperatura de ebullición del etanol es de 78,37 °C y que además se quiere evitar que la temperatura roce con el punto de ebullición del agua para así obtener una concentración de etanol mayor. En la figura 5 se muestra el esquema de la unidad de destilación.

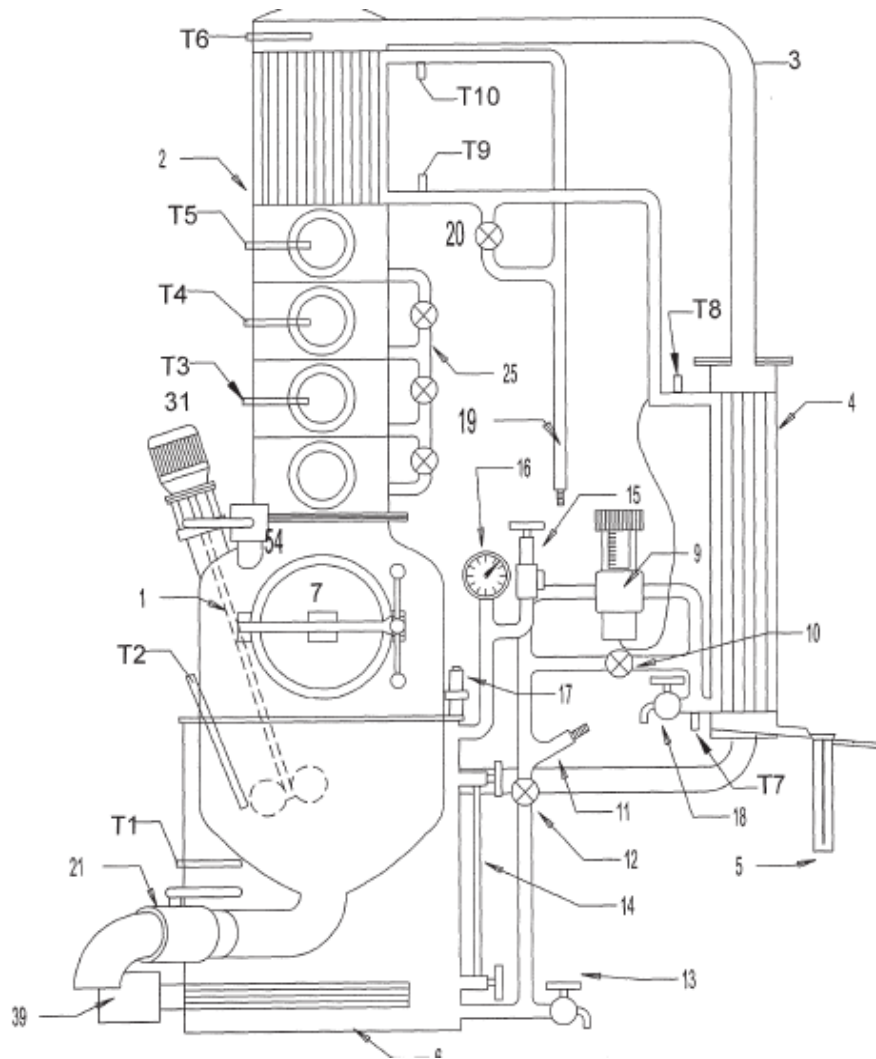


Figura 5. Esquema de la unidad de destilación. [18]

La unidad de destilación es una instalación de destilación modificada con baño de agua (6). Contiene la burbuja de destilación (1), la columna de destilación de latos de burbujas con el deflegmador (2), el condensador (4), así como toda la grifería necesaria para el funcionamiento y está completamente entubada. Las designaciones T1 - T10 muestran la posición de los diferentes sensores de temperatura dentro de la instalación. Para una descripción más detallada de los diferentes componentes y conexiones, remitimos a las instrucciones de servicio adjuntas del fabricante.

En la tabla 4 se encuentran los volúmenes de muestra obtenidos para cada práctica.

Tabla 4. Volúmenes obtenidos durante el proceso de destilación en las diferentes prácticas.

Práctica	Volumen obtenido (mL)
1	100
2	150
3	300
4	111
5	122
6	86
7	210
8	122
9	82
10	175
11	162
12	294
13	490
14	301
15	465

Para realizar un análisis del proceso de destilación, se debe tener en cuenta que la mezcla etanol agua no es considerada una mezcla ideal. Por lo cual para la realización de los diagramas se utilizaron los datos que se encuentran tabulados en el manual del ingeniero químico.

Los datos se encuentran en la tabla 5.

Tabla 5. Concentraciones del vapor y del líquido a diferentes temperaturas.

Temperatura(°C)	XA	YA
95,5	0,019	0,17
89,00	0,0721	0,3891
86,7	0,0966	0,4375
85,3	0,1238	0,4704
84,1	0,1661	0,5089
82,7	0,2337	0,5445
82,3	0,2608	0,558
81,5	0,3273	0,5826
80,7	0,3965	0,6122
79,8	0,5079	0,6564
79,7	0,5198	0,6599
79,3	0,5732	0,6841
78,74	0,6763	0,7385
78,41	0,7472	0,7815
78,15	0,8943	0,8943

En base a la tabla 5 se construyó la figura 6.

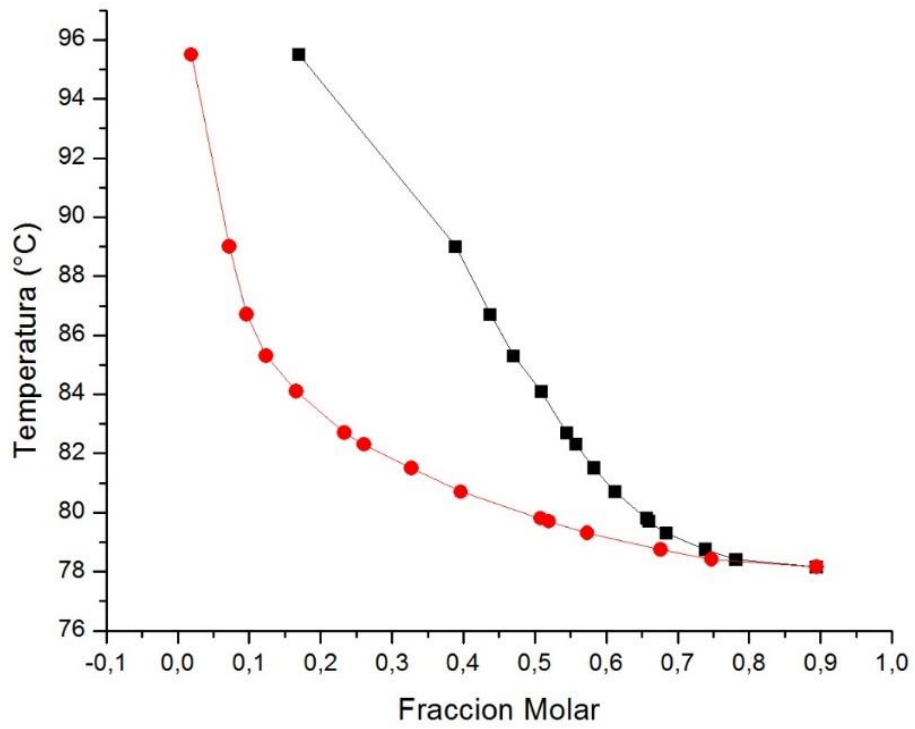


Figura 6. Temperatura en función de la concentración de etanol.

Con los presentados para las concentraciones del vapor y del líquido se procede a realizar la curva de equilibrio.

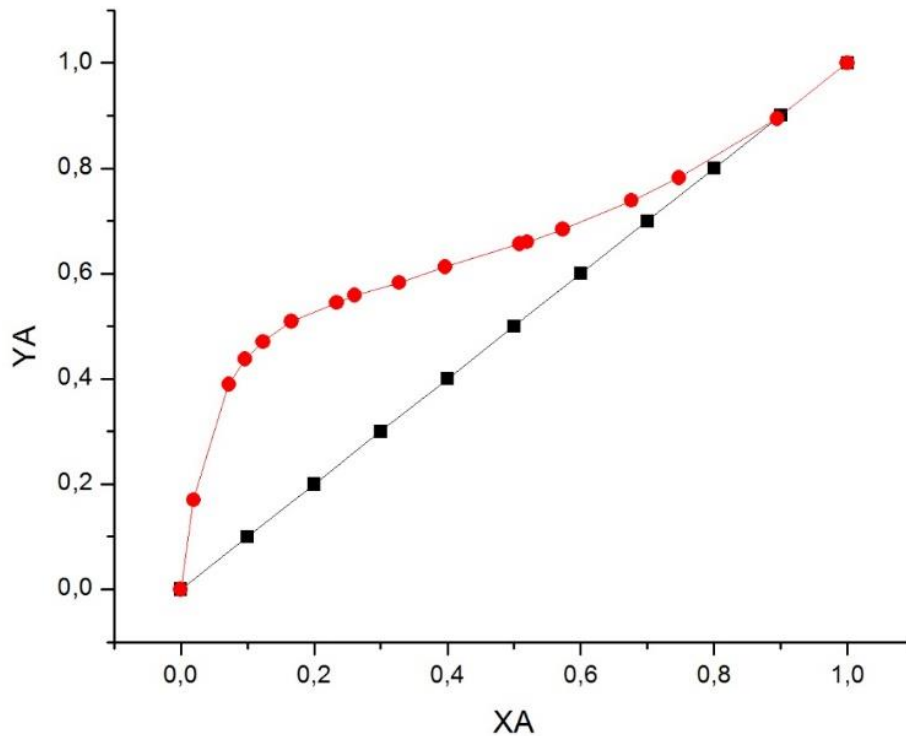


Figura 7. Gráfica para el equilibrio de una mezcla etanol-agua.

5.3. Resultados refractometría

Se buscó realizar un control de calidad para el bioetanol obtenido del proceso, para ello se realizaron 15 diferentes prácticas a partir de diferentes cantidades de papa. Por lo cual al etanol obtenido en cada una de dichas prácticas se les midió el índice de refracción para cuantificarlos. Por esto se debió realizar la respectiva corrección de temperatura, por lo cual se hizo uso de la siguiente fórmula. [20]

$$n_D^{20} = n_D^{27} + 0.0004 (\Delta T) \quad (13)$$

Los resultados se encuentran en la tabla 6.

Tabla 6. Resultados obtenidos para el índice de refracción en las diferentes prácticas realizadas.

Práctica	Índice de refracción a 27 °C	Índice de refracción a 20 °C
1	1,359	1,3618
2	1,356	1,3588
3	1,356	1,3588
4	1,36	1,3628
5	1,356	1,3588
6	1,356	1,3588
7	1,356	1,3588
8	1,359	1,3618
9	1,359	1,3618
10	1,359	1,3618
11	1,359	1,3618
12	1,356	1,3588
13	1,359	1,3618
14	1,359	1,3618
15	1,359	1,3618

Se puede apreciar en la tabla 6, como las lecturas obtenidas durante la medición se encuentran a una determinada temperatura y cómo éstas deben ser corregidas para poder obtener un valor más confiable, ya que en este método la temperatura es un factor importante que debe tenerse en cuenta.

Para poder conocer la concentración del etanol obtenido en las diferentes prácticas se procede a realizar la respectiva curva de calibración para el etanol, donde se gráfica el índice de refracción contra la concentración de las sustancias. De manera que se pueda realizar una regresión lineal que permita conocer los valores de la pendiente y el punto de intercepto con el eje Y. Y así despejar de la siguiente ecuación el valor de x y conocer el valor de la concentración de la muestra problema.

$$y = mx + b \quad (14)$$

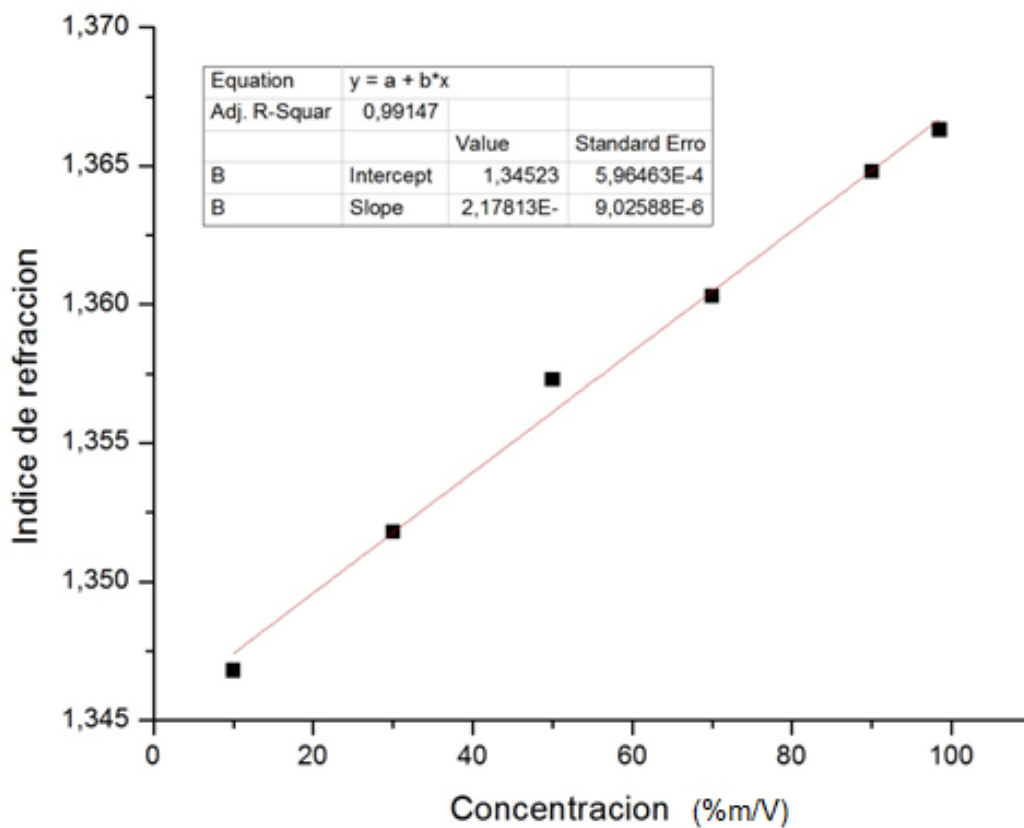


Figura 8. Curva de calibración para el etanol.

Como se puede apreciar en la **figura 9**, la curva de calibración presenta un coeficiente de correlación muy cercano a uno, lo que indica un ajuste a la curva para los análisis necesarios y una mejor precisión para calcular las respectivas concentraciones.

Conociendo los valores del intercepto y la pendiente de la figura 9 se llega a ecuación 9 la cual permite encontrar la concentración del etanol de las diferentes prácticas realizadas. Como se muestra en la tabla 7.

$$y = 0.0002x + 1.34523 \quad (15)$$

Tabla 7. Concentraciones de etanol para las prácticas realizadas, obtenidas mediante la técnica instrumental refractometría.

Práctica	Concentración etanol (%m/V)
1	82,85
2	67,85
3	67,85
4	87,85
5	67,85
6	67,85
7	67,85
8	82,85
9	82,85
10	82,85
11	82,85
12	67,85
13	82,85
14	82,85
15	82,85

Los resultados hallados mediante este método, los cuales están condensados en la tabla 6, se encuentran todos dentro de la curva de calibración, lo que indica que todos los cálculos fueron realizados bajo una excelente curva de calibración. Se puede observar en la tabla 8 como estos valores calculados se encuentran en un rango entre el 67 % y el 87 %, dejando apreciar como la concentración del etanol obtenido es en general alta y verificando que la concentración de etanol no se ve afectada por la cantidad de materia prima utilizada. La confianza en este método de refractometría puede ser algo inseguro, ya que la muestra es altamente volátil y esto puede afectar a la hora de medir en el refractómetro, proporcionándonos datos erróneos acerca de la concentración de etanol.

5.4. Balances de materia del proceso de biofermentación

Para la realización de los respectivos balances de materia se tiene el siguiente diagrama.

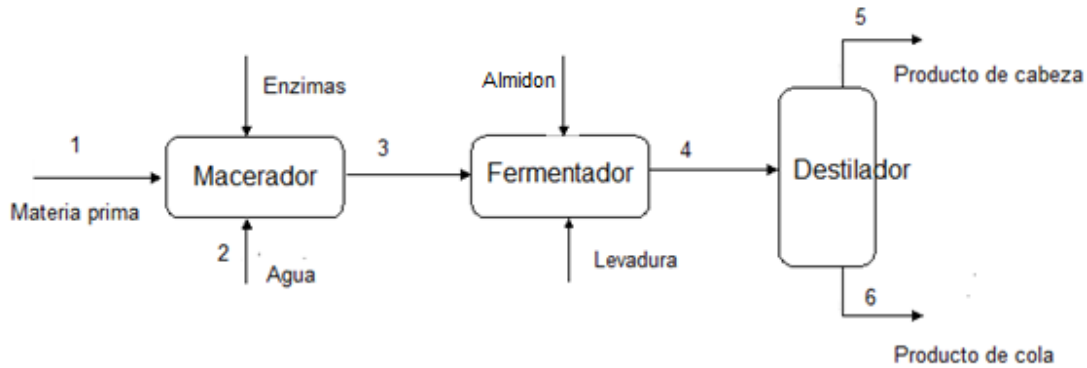


Figura 9. Diagrama del proceso.

La cantidad de agua que entra al sistema es de 10 L. Se tomará una temperatura promedio para el laboratorio de 25 °C, se tiene que la densidad del agua es:

$$\delta_{\text{agua}} = 1 \frac{\text{g}}{\text{mL}}$$

La cantidad de masa de papa que entra al sistema es de 10 kg. Para este balance no se tiene en cuenta la masa de las enzimas agregadas al proceso, ya que estas el único trabajo que hacen en el sistema es transformar el almidón presente de la mezcla, en glucosa. Por lo que se tiene que:

$$m_1 + m_2 = m_3 \quad (3)$$

$$m_2 = 10 \text{ L} * 1 \frac{\text{g}}{\text{mL}} * 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} = 10000 \text{ g} = 10 \text{ kg}$$

Para calcular la masa de almidón que tiene la cantidad de papa utilizada se realiza la siguiente relación, teniendo en cuenta que para la papa utilizada en este trabajo se encontró un 16%^m de almidón como se muestra en el numeral 5.1.2.

$$m_{\text{almidón}} = 10 \text{ Kg}_{\text{papa}} * \frac{16 \text{ Kg}_{\text{almidón}}}{100 \text{ Kg}_{\text{papa}}} = 1,6 \text{ Kg}_{\text{almidón}}$$

Conociendo m_1 y m_2 se puede hallar el valor de la masa de la salida del macerador.

$$m_3 = 10 \text{ kg} + 10 \text{ kg} = 20 \text{ kg}$$

Se tiene que la concentración del producto de cabeza de etanol es de 82.85%^{m/V} valor obtenido para la práctica 13, por medio de la técnica de refractometría y que se encuentra reportado en la tabla 7. Se tomarán los resultados de esta práctica ya que fueron los mejores resultados obtenidos. En la tabla 4 se puede observar que para la fermentación de estos azúcares obtenidos a partir de 10 Kg de papa se obtiene un volumen de etanol de 490 mL. Conociendo esos valores se procede a realizar un balance para la salida del macerador.

$$m_4 = m_3 + m_{levadura} \quad (4)$$

La masa de levadura utilizada para la fermentación fue de 60 g, esto debido a que la mezcla que entra al macerador es rica en azúcares y la levadura hace uso de uso de esos azúcares para su proliferación [6]:

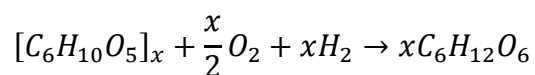
$$m_{levadura} = 60 \text{ g} \quad (5)$$

Este valor se reemplaza en la ecuación 4 mostrada anteriormente.

$$m_4 = 20 \text{ Kg} + 0.06 \text{ kg}$$

$$m_4 = 20.06 \text{ kg}$$

Para conocer la cantidad de glucosa que sale del macerador una vez las enzimas han actuado, se realizó el siguiente cálculo. En base a que el almidón es un polisacárido, donde sólo se encuentran unidas moléculas de glucosa, como no se conoce el número de glucosas que se encuentran unidas en el almidón se dice que hay una x cantidad de glucosa en el almidón, para la transformación del almidón en glucosa se tiene la siguiente ecuación [21]:



$$m_{glucosa} = 1,6 \frac{kg_{almidón}}{kg_{almidón}} * \frac{1 \text{ kmol}_{almidón}}{162 x \text{ kg}_{almidón}} * \frac{x \text{ kmol}_{glucosa}}{1 \text{ kmol}_{almidón}} * \frac{180,16 \text{ kg}_{almidón}}{1 \text{ kmol}_{glucosa}}$$

$$m_{glucosa} = 1,779 \text{ kg}$$

Se debe realizar un balance en el destilador, para ello se tiene que:

$$m_4 = m_5 + m_6 \quad (6)$$

Para conocer la masa del producto de cabeza del destilador (m_5) se debe hacer uso del anexo 2. Se busca la densidad de la solución al 82.85% en etanol a temperatura ambiente, la encontrada en la tabla es de 0.83202 g/mL. Como el porcentaje experimental obtenido se encuentra en porcentaje masa volumen, se debe realizar una conversión a porcentaje masa, para poder utilizar la tabla mencionada.

$$\delta_{\text{solución etanol}} = \frac{82.85 \text{ g EtOH}}{100 \text{ g sln}} * 0.83202 \frac{\text{g sln}}{\text{mL sln}} = \frac{68.93 \text{ g EtOH}}{100 \text{ mL sln}}$$

Se debe hacer una conversión de unidades debido a que la tabla muestra las densidades en g/mL, y las unidades que se están utilizando para el balance son kg/L.

$$\delta_{\text{solución etanol}} = 0.6893 \frac{\text{g}}{\text{mL}} * 1000 \frac{\text{mL}}{\text{L}} * \frac{1 \text{ kg}}{1000 \text{ g}} = 0.6893 \frac{\text{kg}}{\text{L}}$$

Sabiendo que se obtuvo un volumen de 490 mL de una solución de etanol, se procede a encontrar el valor de la corriente 5.

$$m_5 = V_{\text{solución de etanol}} * \delta_{\text{solución de etanol}} \quad (7)$$

$$m_5 = 0.490 \text{ L} * 0.6893 \frac{\text{kg}}{\text{L}}$$

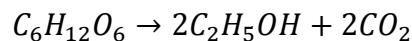
$$m_5 = 0.3378 \text{ kg}$$

Remplazando este valor en la ecuación 6 se puede conocer la masa del producto de cola del destilador.

$$m_6 = 20.06 \text{ kg} - 0.3378 \text{ kg}$$

$$m_6 = 19.7222 \text{ kg}$$

Para determinar la cantidad de etanol teórica que se produce durante la fermentación, se debe realizar un cálculo con base a la ecuación química:



$$m_{sln\ etanol} = 1,779\ kg_{glucosa} * \frac{1\ kmol_{glucosa}}{180,16\ kg_{glucosa}} * \frac{2\ kmol_{ETOH}}{1\ kmol_{glucosa}} * \frac{46\ kg_{ETOH}}{1\ kmol_{ETOH}}$$

$$m_{sln\ etanol} = 0,9039\ kg$$

Rendimiento

Para realizar los respectivos cálculos para el rendimiento se utiliza la siguiente formula.

$$\%Rendimiento = \frac{Masa\ etanol\ experimental}{Masa\ etanol\ teórico} * 100\ (13)$$

$$\%Rendimiento = \frac{337.8\ g}{903.9\ g} * 100$$

$$\%Rendimiento = 37.37\ \%$$

5.5. Manual de funcionamiento para el CE 640 producción biotecnológica de etanol.

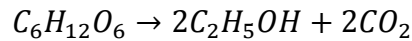
UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA

Programa de ingeniería Mecatrónica

OBTENCIÓN DE BIOETANOL UTILIZANDO EL BANCO DE ENSAYOS CE 640 PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE ETANOL

Introducción

Se define como fermentación alcohólica a la bio-reacción que permite degradar azúcares en alcohol y dióxido de carbono. La reacción se encuentra dada por la siguiente ecuación química.



Las principales responsables de esta transformación son las levaduras, la levadura que se utilizará será la levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*). Cabe resaltar que para la realización de este tipo de fermentación también se pueden utilizar diferentes tipos de hongos y levaduras como la *Zymomonas mobilis*, con el inconveniente que esta última a nivel industrial no es muy explotada.

A pesar de parecer, a nivel estequiométrico, una transformación simple, la secuencia de transformaciones para degradar la glucosa hasta dos moléculas de alcohol y dos moléculas de bióxido de carbono es un proceso muy complejo, pues al mismo tiempo la levadura utiliza la glucosa y nutrientes adicionales para reproducirse. Para evaluar esta transformación, se usa el rendimiento biomasa/producto y el rendimiento producto/substrato. [3]

Rendimiento biomasa/substrato (Y_x/s): es la cantidad de levadura producida por cantidad de substrato consumido.

Rendimiento substrato/producto (Y_p/s): es la cantidad de producto sintetizado por cantidad de substrato consumido.

El rendimiento teórico estequiométrico para la transformación de glucosa en etanol es de 0.511 g de etanol y 0.489 g de CO_2 por 1 g de glucosa. Este valor fue cuantificado por Gay Lussac. En la realidad es difícil lograr este rendimiento, porque como se señaló anteriormente, la levadura utiliza la glucosa para la producción de otros metabolitos. [3]

El éxito de una buena fermentación depende de la eficacia del tratamiento preliminar: concentración del azúcar, pH y temperatura óptimos; la adición de sustancias nutritivas al mosto, contaminación por otros microorganismos, empleo de un organismo resistente a altas concentraciones de alcohol, mantenimiento de condiciones anaerobias y la inmediata destilación del producto fermentado.

Equipos y reactivos

- Banco de ensayos CE 640 producción biotecnológica de etanol.
- Probeta.
- Vaso de precipitados.
- Pipeta volumétrica.

- Ácido acético glacial.
- Hidróxido de sodio 1M.
- Levadura comercial.
- Papa (10 Kg).
- Azúcar (20 g)

Procedimiento

Esquema general del equipo

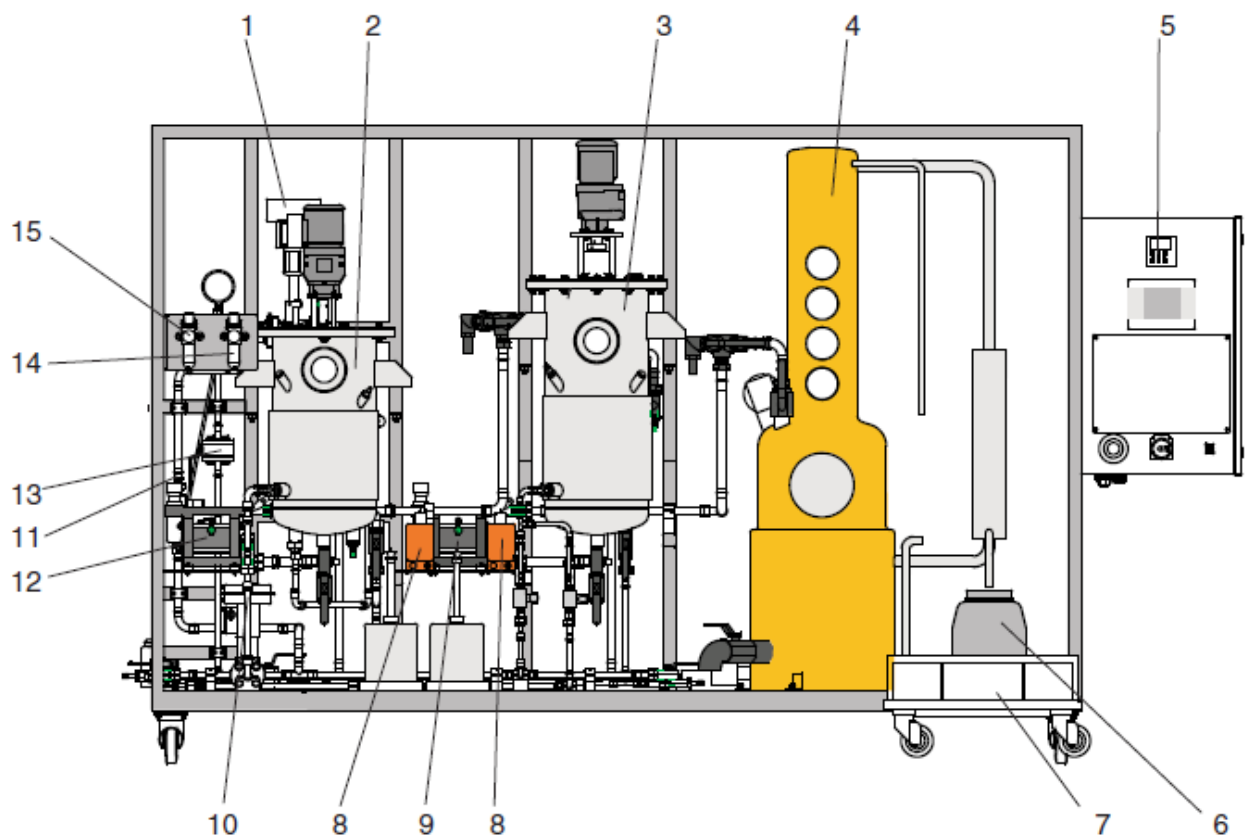


Figura 27. Esquema general del proceso. [16]

Donde:

1. Válvula de regulación de la presión de vapor (V1).
2. Depósito de maceración para la licuefacción/sacarificación (B1).
3. Depósito de fermentación (B2).
4. Unidad de destilación (D1).
5. Armario de distribución.
6. Depósito de etanol (B4).
7. Depósito de vinazas (B5).

8. Bomba de dosificación de membrana (P1 y P4).
9. Bomba de mezcla macerada (P3).
10. Válvula de regulación de agua fría (V2).
11. Caudalímetro (F1).
12. Bomba de mezcla macerada (P2).
13. Válvula de cierre de vapor (V23).
14. Estación de mantenimiento de aire comprimido, válvula de regulación de agua fría.
15. Estación de mantenimiento de aire comprimido, válvula de regulación de la presión vapor.

Preparación de la muestra

1. Se les debe retirar la piel completamente a las papas, para posteriormente triturarla con el fin mejorar la superficie de contacto y agregar al depósito de maceración.
2. Adicionar agua hasta que la mezcla toque las aspas del agitador. Anotar el volumen adicionado para tener en cuenta en los balances.

Maceración

1. Subir la temperatura del macerador a 50 °C y acondicionar el pH de la mezcla a 6,0. El pH se acondicionará por medio del panel de control del equipo simplemente indicando los valores de pH a los cuales se desea que se encuentre la mezcla. Agregar 15 mL de antiespumante con el fin de evitar la formación de espumas que hagan que el tanque de maceración sobre pase la cantidad máxima que puede contener y hallan pérdidas de materia. Dejar agitando durante media hora.
2. Nuevamente realizar un incremento de la temperatura del macerador a 90 °C y acondicionar el pH de la mezcla a 5,5. Este pH se debe ajustar con el fin de que haya un óptimo funcionamiento de la enzima que se adicionara. Agregar 12 mL de la enzima alfa-amilasa, la cual es la encargada de realizar los cortes en la cadena de almidón. Dejar actuar la enzima durante una hora y media.

3. Una vez finalice este tiempo, se debe realizar una disminución de la temperatura, llevar está a 57 °C y ajustar el pH a 5,3 para lograr el buen trabajo de la enzima que se adicionara. Agregar 12 mL de la enzima glucoamilasa. Esta enzima es la encargada de realizar la sacarificación de los azúcares obtenidos con la primera enzima, para que estos sirvan de alimento para las levaduras en el proceso de fermentación. Se debe dejar en agitación durante hora y media.
4. Una vez finaliza el proceso, se debe acondicionar la mezcla para transportarla al depósito de fermentación. Por medio del panel de control de la misma manera que en los pasos anteriores. Bajar la temperatura a 39 °C, con el fin de crear un ambiente ideal para la proliferación de las levaduras. Esta temperatura depende del tipo de levadura que se vaya a utilizar, por lo cual este trabajo se plantea para el uso de levadura comercial.

Fermentación

1. Se debe realizar previamente la preparación de la levadura. Para ello se debe calentar agua a 40 °C adicionar la 10 g de levadura y 4 g de azúcar para la activación de la levadura. Agitar hasta que se disuelva completamente y posteriormente dejar en reposo. La levadura debe crecer.
2. Cuando la mezcla que se encuentra en el macerador se llega a temperatura se procede a transportarla al depósito de fermentación. Una vez se encuentra en este se agrega la levadura previamente activa, y se sella el deposito. Se debe ajustar en el panel de control una agitación rápida, la cual se llevara a cabo durante todo el proceso de fermentación de la siguiente manera: Se agitará durante cinco minutos y se detendrá durante veinte minutos.
3. El proceso de fermentación se lleva a cabo durante 72 horas. Se debe estar revisando frecuentemente la producción de dióxido de carbono, producto del proceso de fermentación. Este se puede observar en la parte superior del equipo por la formación de burbujas.

Destilación

1. Una vez transcurren las 72 horas del proceso de fermentación la mezcla es transportada al depósito de destilación. Desde el panel de control se realiza el ajuste de la temperatura a la cual se dese destilar. La temperatura de ebullición del etanol es de 79 °C. Por lo cual se recomienda trabajar temperaturas cercanas a esta, para evitar el paso de cualquier otro tipo de sustancia que se encuentre en la mezcla. Una temperatura de operación recomendada puede oscilar entre los 78 °C a los 84 °C.
2. Verificar la concentración del etanol obtenido por medio del uso de la técnica refractometría. Esta técnica consiste en la medición del índice de refracción de sustancias líquidas o sólidas; se utiliza en determinaciones cualitativas para la identificación de compuestos, o bien cuantitativas para conocer la concentración. El instrumento utilizado en esta técnica es el refractómetro, que puede ser de diferente tipo según el uso y el método de medición, existen en el mercado una gran variedad de marcas y modelos. [22]

Debe tener en cuenta la temperatura a la cual está tomando la medición ya que debe realizar la corrección al índice de refracción utilizando la ecuación. [20]

$$n_D^{20} = n_D^T + 0,0004(\Delta T)$$

Donde:

n_D^{20} Corresponde al índice de refracción a 20 °C.

n_D^T Corresponde al índice de refracción tomado en el laboratorio.

ΔT Corresponde a la diferencia de temperatura, entre la tomada en el laboratorio y 20 °C.

Una vez conozca el valor del índice de refracción lo debe remplazar en la variable Y en la siguiente ecuación, para conocer el valor de la concentración de etanol:

$$x = \frac{y - 1.34523}{0.0002}$$

Análisis de resultados

1. Con el volumen de etanol obtenido procederá a calcular el porcentaje de rendimiento del equipo. Haciendo uso de la siguiente ecuación.

$$\%Rendimiento = \frac{Rendimiento\ experimental}{Rendimiento\ teorico} * 100$$

Donde el rendimiento experimental es la masa de etanol obtenida durante el proceso. La cual se encuentra utilizando la siguiente relación.

$$m_{etanol} = V_{etanol} * Densidad_{etanol}$$

La densidad del etanol la deberá hallar con la concentración encontrada por medio del uso de la técnica de refractometría, para realizar esta relación debe ir a la tabla 31. Alcohol etílico del libro Elementos de estequiometría de Fabio Marín Villada en la página 187.

Una vez haya calculado el valor de la masa de etanol que obtuvo al final del proceso, lo dividirá entre la masa teórica de etanol que es de 903,9 g y lo multiplicara por 100, de esta manera se obtiene el porcentaje de rendimiento del equipo.

6. CONCLUSIONES

- Se demostró experimentalmente como al variar la masa de entrada de papa procesada, variaba la cantidad de etanol obtenida. Obteniendo resultados más óptimos al procesar una cantidad de 10 Kg de papa pastusa.
- Se realizó un análisis por método yodimétrico, obteniendo una concentración de la papa pastusa del 16 % masa a masa de almidón.
- La máquina de ensayos CE 640 Producción biotecnológica de etanol, obtuvo un rendimiento del 37.37 % al trabajar con la levadura comercial Levapan y con una masa de papa de 10 Kg, lo que indica que la máquina podría obtener resultados más óptimos si se realizarán algunas correcciones a la misma.
- La concentración obtenida de etanol en el destilador fue más alta, en un rango de temperatura de 78 a 80 °C, en donde el rango se encontraba más cerca al punto de ebullición del etanol y alejado del punto de ebullición del agua, obteniendo soluciones con alta concentraciones de etanol.
- Se elaboró un manual, a partir de los datos obtenidos experimentalmente, en donde el estudiante y el docente se guíen y aprendan como es el funcionamiento, el manejo y las cantidades óptimas para el desarrollo de una biosíntesis en la máquina ensayos CE 640 Producción biotecnológica de etanol.

7. RECOMENDACIONES

Con el fin de mejorar el rendimiento de la máquina de ensayos **CE 640 Producción biotecnológica de etanol**, se darán las siguientes recomendaciones y se espera que sean tomadas en cuenta para un mejor proceso y un mejor rendimiento.

- Aislar de manera total la tubería del vapor de agua que transporta el vapor desde la caldera hasta el macerador, permitiendo un transporte seguro, sin pérdidas de calor y no esté a la vista de todos, lo que puede dañar la estética del lugar donde se encuentra la máquina. Se recomienda un buen aislante de calor, resistente a altas temperaturas y de buena calidad.
- Colocar un tanque de agua para el reflujo del agua que pasa por la chaqueta del macerador y por la chaqueta del fermentador, evitando así pérdidas en gastos de agua y obteniendo un mejor rendimiento a la hora de equilibrar la temperatura.
- Instalar reguladores de temperatura más eficaces, que no se apaguen por una variación en la corriente y que trabaje el tiempo que se le disponga. Esto mejoraría el rendimiento en el fermentador, ya que una temperatura estable en el fermentador es clave para una buena producción de etanol.
- Proponer un análisis físico-químico al residuo de cola que produce en el destilador después del proceso de destilación, así se podrán conocer sus componentes y probablemente darle un uso más útil y menos contaminante.

8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Programa Ingeniería Mecatrónica Universidad Tecnológica de Pereira.
- [2] CASTAÑO, H, MEJÍA C. Producción de etanol a partir de almidón de yuca utilizando la estrategia de proceso sacarificación-fermentación simultaneas (SSF).Julio 8 de 2008.
- [3] VÁZQUES, H.J; DACOSTA, O. Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas Ingeniería. Investigación y Tecnología, vol. VIII, núm. 4, octubre-diciembre, 2007, pp. 249-259 Universidad Nacional Autónoma de México Distrito Federal, México.
- [4] Prescott Cate, Samuel, Cecil Gordon, Dunn. Microbiología Industrial. Aguilar Madrid. 1992, pp. 110-158.
- [5] Leveau Y.J., Bouix M. Microbiología Industrial, los microorganismos de interés industrial. Editorial ACRIBIA, S.A. 2000, pp.3-88.
- [6] Leveau Y.J., Bouix M. Microbiología Industrial, los microorganismos de interés industrial. Editorial ACRIBIA, S.A. 2000, pp. 529-559.
- [7] SCHLISSMANN KELLEREI-CHEMIE, Getränkeanalysen, Catálogo de producto, levadura Kornbrand Premium.
- [8] BUENO, Mariano José. La levadura de cerveza. Biosalud-Instituto de medicina biológica y antienvjecimiento.
- [9] GARZÓN, S; HERNANDEZ, C. Estudio comparativo para la producción de etanol entre *Saccharomyces cerevisiae* silvestre, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 Y *Candida utilis* ATCC 9950. Universidad Tecnológica. Pereira. 2009. pp. 50.
- [10] AMSTRONG, F; BENNET, T. Bioquímica. Editorial Reverté S.A. 1982, pp. 248.
- [11] MARTINEZ, J.J. Fermentación alcohólica. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Tomado de: <http://libroelectronico.uaa.mx/capitulo-12-otras-vias/fermentacion.html>

[12] Condiciones para lograr una fermentación óptima. Bebidas fermentadas. Universidad nacional abierta y a distancia. Tomado de: http://datateca.unad.edu.co/contenidos/306598/contLinea/leccion_4_condiciones_para_lograr_una_fermentacin_ptima.html

[13] SANCHEZ, O; DUSTET, J; COCA, J; ILINÁ, A; MARTINEZ J. Efecto de la velocidad de agitación y aireación sobre la producción de penicilina acilasa de mucor griseocyanus en fermentación sumergida. Grupo de biotecnología aplicada. Centro de ingeniería de procesos. Junio de 2009. La Habana, Cuba.

[14] POLAINA, J. Estructura, función e ingeniería molecular de enzimas implicadas en la digestión de carbohidratos. Consejo Superior de Investigaciones Científicas Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Mensaje Bioquímico, Volumen XXVIII. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Cd Universitaria, México, DF, MÉXICO. 2004.

[15] THEODORACOPOULOS, M; ARIAS, S; AVILA, H. Manual de producción de papa. MCA-Honduras. Septiembre de 2008.

[16] HORWITZ, W; LATIMER, G. Official Methods of Analysis. Capítulo 3, pagina 29: Plantas. Editorial AOAC. Estados unidos. 2005.

[17] HERRERA, C; BOLAÑOS, N; LUTZ, G. Química de alimentos: Manual de laboratorio. Editorial de la universidad de Costa Rica. Pp. 16. 2008.

[18] BIESCHKE, Thomas. Manual de instrucciones CE 460 Producción biotecnológica de etanol. Barsbüttel, Alemania, mayo de 2013. G.U.N.T. Gerätebau GmbH.

[19] MARÍN, F. Elementos de estequiometría. Universidad Tecnológica de Pereira. Escuela de tecnología química, pp. 187. Tabla 31. Alcohol etílico.

[20] CASTRO, F. Manual de prácticas de laboratorio, pagina 23, Refractometría. Análisis instrumental I. Universidad Tecnológica. Pereira. 2014.

[21] TEIJÓN, J.; GARCIA, J; JIMENEZ, Y; GUERRERO, I. La química en problemas, capitulo 6: Termoquímica. Pp. 131. Editorial Tébar. Madrid. España. 2006.

[22] MetAs y Metrólogos Asociados. La guía Metas: Metrología de refracción. Diciembre de 2008.

[23] Ficha de seguridad para el ácido acético. Esta ficha contiene la opinión colectiva del Comité Internacional de Expertos del IPCS y es independiente de requisitos legales. Su posible uso no es responsabilidad de la CE, el IPCS, sus representantes o el INSHT, autor de la versión española.

[24] Ficha de seguridad para el hidróxido de sodio. Esta ficha contiene la opinión colectiva del Comité Internacional de Expertos del IPCS y es independiente de requisitos legales. Su posible uso no es responsabilidad de la CE, el IPCS, sus representantes o el INSHT, autor de la versión española.

ANEXOS

Anexo 1: Fichas de seguridad de reactivos utilizados

Tabla 8. Ficha de seguridad para el ácido acético glacial. [23]

Tipo de peligro/Exposición	Peligros agudos/Síntomas	Prevención	Primeros Auxilios/Lucha contra incendios
INCENDIO	Inflamable	Evitar las llamas, NO producir chispas y NO fumar.	Polvo, espuma resistente al alcohol, agua pulverizada o dióxido de carbono.
EXPLOSIÓN	Por encima de 39°C pueden formarse mezclas explosivas vapor/aire. Riesgo de incendio y explosión en contacto con oxidantes fuertes.	Por encima de 39°C, sistema cerrado, ventilación y equipo eléctrico a prueba de explosión.	En caso de incendio: mantener fríos los bidones y demás instalaciones rociando con agua.
EXPOSICIÓN		¡EVITAR TODO CONTACTO!	¡CONSULTAR AL MÉDICO EN TODOS LOS CASOS!
Inhalación	Dolor de garganta. Tos. Sensación de quemazón. Dolor de cabeza. Vértigo. Jadeo. Dificultad respiratoria.	Ventilación, extracción localizada o protección respiratoria.	Aire limpio, reposo. Posición de semi-incorporado. Proporcionar asistencia médica.
Piel	Dolor. Enrojecimiento. Quemaduras cutáneas. Ampollas.	Guantes de protección. Traje de protección.	Quitar las ropas contaminadas. Aclarar la piel con agua abundante o ducharse durante 15 minutos como mínimo. Proporcionar asistencia médica.
Ojos	Enrojecimiento. Dolor. Quemaduras graves. Pérdida de visión.	Pantalla facial o protección ocular combinada con protección respiratoria.	Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad). Proporcionar asistencia médica inmediatamente.
Ingestión	Dolor de garganta. Sensación de quemazón. Dolor abdominal. Vómitos. Shock o colapso.	No comer, ni beber, ni fumar durante el trabajo.	Enjuagar la boca. NO provocar el vómito. Dar a beber un vaso pequeño de agua, pocos minutos después de la ingestión. Proporcionar asistencia médica inmediatamente.

Tabla 9. Ficha de seguridad para el hidróxido de sodio. [24]

Tipo de peligro/Exposición	Peligros agudos/Síntomas	Prevención	Primeros Auxilios/Lucha contra incendios
INCENDIO	No combustible. El contacto con la humedad o con el agua, puede generar calor suficiente para provocar la ignición de materiales combustibles.	NO poner en contacto con el agua.	En caso de incendio en el entorno: usar un medio de extinción adecuado.
EXPLOSIÓN	Riesgo de incendio y explosión en contacto con: (ver Peligros Químicos).	NO poner en contacto con materiales incompatibles. (Ver Peligros Químicos).	
EXPOSICIÓN		¡EVITAR TODO CONTACTO!	¡CONSULTAR AL MÉDICO EN TODOS LOS CASOS!
Inhalación	Tos. Dolor de garganta. Sensación de quemazón. Jadeo.	Extracción localizada o protección respiratoria.	Aire limpio, reposo. Proporcionar asistencia médica.
Piel	Enrojecimiento. Dolor. Graves quemaduras cutáneas. Ampollas.	Guantes de protección. Traje de protección.	Quitar las ropas contaminadas. Aclarar la piel con agua abundante o ducharse durante 15 minutos como mínimo. Proporcionar asistencia médica.
Ojos	Enrojecimiento. Dolor. Visión borrosa. Quemaduras graves.	Pantalla facial o protección ocular combinada con protección respiratoria.	Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad), después proporcionar asistencia médica.
Ingestión	Dolor abdominal. Quemaduras en la boca y la garganta. Sensación de quemazón en la garganta y el pecho. Náuseas. Vómitos. Shock o colapso.	No comer, ni beber, ni fumar durante el trabajo.	Enjuagar la boca. NO provocar el vómito. Dar a beber un vaso pequeño de agua, pocos minutos después de la ingestión. Proporcionar asistencia médica inmediatamente.

Anexo 2. Alcohol etílico.

Tabla 10. Concentración del etanol relacionada con su densidad.

Concentración (%m)	Densidad (g/mL) a 25 °C	Concentración (%m)	Densidad (g/mL) a 25 °C	Concentración (%m)	Densidad (g/mL) a 25 °C
0	0,99708	34	0,94337	68	0,86817
1	0,99520	35	0,94146	69	0,86579
2	0,99336	36	0,93940	70	0,86340
3	0,99157	37	0,93756	71	0,86100
4	0,98984	38	0,93556	72	0,85859
5	0,98817	39	0,93363	73	0,85618
6	0,98556	40	0,93148	74	0,85376
7	0,98500	41	0,92940	75	0,85134
8	0,98346	42	0,92729	76	0,84891
9	0,98173	43	0,82516	77	0,84647
10	0,98043	44	0,92301	78	0,84403
11	0,97897	45	0,92085	79	0,84158
12	0,97753	46	0,91868	80	0,83911
13	0,97611	47	0,91649	81	0,83664
14	0,97472	48	0,91429	82	0,83415
15	0,97334	49	0,91208	83	0,83164
16	0,97199	50	0,90985	84	0,82913
17	0,97062	51	0,90760	85	0,82660
18	0,96923	52	0,90534	86	0,82405
19	0,96782	53	0,90307	87	0,82148
20	0,96639	54	0,90079	88	0,81888
21	0,96495	55	0,89850	89	0,81626
22	0,96348	56	0,89621	90	0,81362
23	0,96199	57	0,89392	91	0,81094
24	0,96048	58	0,89162	92	0,80823
25	0,95895	59	0,88931	93	0,80549
26	0,95738	60	0,88699	94	0,80272
27	0,95576	61	0,88446	95	0,79991
28	0,95410	62	0,88233	96	0,79706
29	0,95241	63	0,87998	97	0,79415
30	0,95067	64	0,87763	98	0,79117
31	0,94890	65	0,87527	99	0,78814
32	0,94709	66	0,87291	100	0,78506
33	0,94525	67	0,87054		

