

Producción de etanol a partir de mango y residuos agroindustriales de café con microorganismos aislados de la tuba

MERCENARIO-VELÁZQUEZ, Norma[†], SÁNCHEZ-CRISTINO, Lucas[`], HUERTA-BERISTAIN, Gerardo^{*`}, NÁVEZ-GONZÁLEZ, Daysi[`]

[`]Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero Av. Lazaro Cardenas s/n. Cd. Universitaria. Chilpancingo, Guerrero. Mexico. p.39070 tel. Cel.: 747 4980859

Recibido Mayo 16, 2014; Aceptado Noviembre 18, 2014

Resumen

La disminución de las reservas de combustibles naturales y por ende el aumento de su costo, sus efectos negativos como las elevadas emisiones de CO₂ y la seguridad de suministro han implementado la necesidad de evaluar tecnologías y sustratos que pudieran utilizarse en la producción de biocombustibles para satisfacer la demanda mundial de energía (Shuvashish, et al., 2012; Gómez, et al., 2008). Los combustibles como: metano, hidrógeno y etanol han sido promovidos en EE.UU y otros países como alternativas que sustituyan los derivados del petróleo. De estos tres, el etanol, comparado con los combustibles convencionales tiene el potencial de producir menos emisiones de CO₂, además de su fácil producción aprovechando la biomasa generada por residuos orgánicos, por lo que es considerado el combustible líquido apto para reducir el uso de derivados del petróleo (Shuvashish, et al., 2012). Debido a la gran cantidad de residuos orgánicos que se generan en el estado de Guerrero y enlazado con la problemática de la escases de combustibles, se ha visto la necesidad de crear alternativas para la producción de energías alternas sustentables que sean capaces de cubrir las necesidades energéticas de la población, además de reducir la contaminación ambiental, por ello la importancia del uso de nuevas estrategias para el aprovechamiento de la biomasa de los residuos agroindustriales generados. Con base a esto se propone el uso del mango y los residuos agroindustriales de café, ya que generalmente debido a su elevada producción son considerados desechos que no tienen costo alguno y de esta forma se estaría disminuyendo la contaminación y obteniendo biocombustible. Por otro lado también es importante mencionar que las cepas utilizadas para la fermentación son cepas nativas del estado que vuelve aún más interesante el trabajo además es importante recalcar que en el estado de Guerrero no hay ningún trabajo enfocado al uso de estos residuos ni a la producción de bioetanol, teniendo su relevancia también en este aspecto.

Producción, Etanol, Mango, Café, Tuba.

Abstract

The dwindling reserves of natural fuels and thus increasing its cost, its negative effects such as high CO₂ emissions and security of supply have implemented the need to evaluate technologies and substrates that could be used in the production of biofuels to meet global energy demand (Shuvashish, et al. 2012; Gomez et al., 2008). Fuels such as methane, hydrogen and ethanol have been promoted in the US and other countries as alternatives to replace petroleum. Of these three, ethanol, compared with conventional fuels have the potential to produce less CO₂ emissions, in addition to its easy production taking advantage of the biomass generated by organic waste, which is considered the liquid fuel suitable for reducing the use of derivatives oil (Shuvashish, et al., 2012). Due to the large amount of organic waste generated in the state of Guerrero and linked to the problem of shortage of fuel, has seen the need to create alternatives for the production of sustainable alternative energy sources that are able to meet the energy needs of the population, while reducing environmental pollution, hence the importance of using new strategies for the use of biomass for agro-industrial waste generated. Based on this the use of mango and coffee agro-industrial waste is proposed, since generally due to its elevated production are considered wastes that have no charge and thus will be reducing pollution and obtaining biofuel. On the other hand it is also important mention that strains used for fermentation strains are native state becomes even more interesting work is also important to note that in the state of Guerrero there is no work focused on the use of these residues or production bioethanol, considering its relevance here too.

Production, Ethanol, Mango, Coffee, Tuba.

Citación MERCENARIO-VELÁZQUEZ, Norma, SÁNCHEZ-CRISTINO, Lucas, HUERTA-BERISTAIN, Gerardo, NÁVEZ-GONZÁLEZ, Daysi. Producción de etanol a partir de mango y residuos agroindustriales de café con microorganismos aislados de la tuba. Foro de Estudios sobre Guerrero. Mayo 2014 – Abril 2015, 1-2:332-336

* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: hbgerardo@gmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

La disminución de las reservas de combustibles naturales y por ende el aumento de su costo, sus efectos negativos como las elevadas emisiones de CO₂ y la seguridad de suministro han implementado la necesidad de evaluar tecnologías y sustratos que pudieran utilizarse en la producción de biocombustibles para satisfacer la demanda mundial de energía (Shuvashish, *et al.*, 2012; Gómez, *et al.*, 2008). Los combustibles como: metano, hidrógeno y etanol han sido promovidos en EE.UU y otros países como alternativas que sustituyan los derivados del petróleo. De estos tres, el etanol, comparado con los combustibles convencionales tiene el potencial de producir menos emisiones de CO₂, además de su fácil producción aprovechando la biomasa generada por residuos orgánicos, por lo que es considerado el combustible líquido apto para reducir el uso de derivados del petróleo (Shuvashish, *et al.*, 2012). Debido a la gran cantidad de residuos orgánicos que se generan en el estado de Guerrero y enlazado con la problemática de la escases de combustibles, se ha visto la necesidad de crear alternativas para la producción de energías alternas sustentables que sean capaces de cubrir las necesidades energéticas de la población, además de reducir la contaminación ambiental, por ello la importancia del uso de nuevas estrategias para el aprovechamiento de la biomasa de los residuos agroindustriales generados.

Con base a esto se propone el uso del mango y los residuos agroindustriales de café, ya que generalmente debido a su elevada producción son considerados desechos que no tienen costo alguno y de esta forma se estaría disminuyendo la contaminación y obteniendo biocombustible.

Por otro lado también es importante mencionar que las cepas utilizadas para la fermentación son cepas nativas del estado que vuelve aún más interesante el trabajo además es importante recalcar que en el estado de Guerrero no hay ningún trabajo enfocado al uso de estos residuos ni a la producción de bioetanol, teniendo su relevancia también en este aspecto.

Objetivos

General

Evaluar la producción de etanol utilizando azúcares presentes en el mango y en los residuos agroindustriales de la cáscara de café.

Específicos

Determinar y cuantificar la concentración de azúcares fermentables en el mango y en los residuos de café.

Producir bioetanol a partir de la fermentación de los azúcares obtenidos en el mango y en los residuos agroindustriales de café, con microorganismos aislados de la tuba.

Evaluar los parámetros cinéticos de fermentación: velocidad específica de crecimiento (μ), rendimiento biomasa sustrato ($Y_{x/s}$), rendimiento producto biomasa ($Y_{p/x}$), velocidad específica de consumo de azúcares (q_s) y de formación de producto (q_p) en los microorganismos fermentadores.

Metodología

A) Recolección de muestras

Se emplearon dos cepas etanológicas H2MLB (levadura) y LM1104 (bacteria) aisladas de la tuba y conservadas en viales, para ser utilizadas fueron resembradas en agar nutritivo suplementado con 10 g/L de glucosa.

Café y mango

Se colectaron 5 kg de cereza de café en una huerta de la comunidad de Paraje Montero, municipio de Malinaltepec y cinco kilogramos de mango de la variedad Ataulfo de la localidad de Técpan de Galeana Guerrero. Las muestras se transportaron a temperatura ambiente en una hielera, una vez en el laboratorio se congelaron a 20°C hasta su uso.

Pretratamiento

Pelado del café

Una vez obtenida la cereza de café se procedió a separar manualmente la cáscara de los granos. Posterior a esto, la cáscara se congeló mientras que los granos de café se sometieron a un lavado con 2000 mL de agua destilada para la obtención del mucilago.

Lavado y pelado del mango

Una vez seleccionada la muestra se procedió a lavar la parte externa del mango con agua destilada; posteriormente a este proceso se les removió la cáscara para finalmente separar la pulpa de la semilla

Extracción de la pulpa de mango

Para obtener el concentrado de la pulpa de mango se utilizaron 700 gramos de pulpa adicionándole 200 mL de agua destilada y con la ayuda de una licuadora marca *proctor sílex* se licuó hasta obtener una pulpa viscosa, se congeló a -20 °C hasta su uso.

Tratamiento de hidrolisis de la cascara de café y mango

Para llevar a cabo la hidrolisis ácida de la cáscaras se utilizó 150 g de cáscara triturada, se adicionó 6.2 ml de H₂SO₄, 9.0 g de Na₂SO₃ y 450 ml de agua destilada, se dejó reaccionar durante 20 min. a 120 °C. se recuperó el hidrolizado y se guardó en un frasco de vidrio.

Determinación de azúcares reductores por el método 3-5, ácido dinitrosalicílico (DNS)

Fundamento: El ácido 3,5 dinitrosalicílico de color amarillo, en presencia de calor reduce el ácido 3-amino-nitrosalicílico por los azúcares reductores presentes, desarrollándose un color café el cual es estable hasta 24 horas. A lectura se realiza en un espectrofotómetro a 570 nm

Fermentación alcohólica

Preparación del inóculo para cultivos

De las cepas H2MLB y LM1104 crecidas a 24 horas en caldo LB se midió la densidad óptica (DO₆₀₀) inicial \approx 0.1 (0.037 g_{DCW}/l), las células se transfirieron al medio utilizado como sustrato para la fermentación.

Antes de iniciar las fermentaciones con los hidrolizados se les ajustó el pH con Ca(OH)₂ a un pH de 7 para la cepa bacteriana y 6 para la levadura.

Durante el proceso de la fermentación se tomaron alícuotas en diferentes tiempos para la medición de la concentración celular, (se realizó dilución 1:10 para cada muestra), las muestras tomadas fueron centrifugadas a 1500 rpm durante 5 minutos, el paquete celular se desechó, mientras que los sobrenadantes se congelaron para posteriormente medir azúcares y etanol.

Resultados

Muestras	Azúcares reductores(g/L)		Etanol g/L	
	DNS	HPLC	H2MLB	LM1104
Pulpa de mango	60	22.2	9.7	8.8
Mucílago	51.3	51.2	5.8	5.5
Cáscara de mango	56	34.7	0	0
Cáscara de café	45.3	21.5	0	0

Tabla 1 Concentración de azúcares en el mango y en las fracciones del café así como la concentración de etanol producida por cada una de la cepa en dichas fracciones.

Parámetros	H2MLB				LM1104			
	PM	CM	M	CC	PM	CM	M	CC
Yp/s total	0.35461165	0	0.13209199	0	0.45844403	0	0.13105208	0
Qs	0.632907443		0.4865845	0	0.5394814		0.5693809	0.1562
Qp	0.44189056		0.01684	0	0.27994		0.1441	0

Yp/s (rendimiento Producto/ sustrato total), qs (velocidad específica de consumo de azúcares y qp (la velocidad específica de formación de productos).
PM: pulpa de mango, CM: cáscara de mango, M: mucílago, CC: cáscara de café

Tabla 2 Parámetros Yp/s, qs y qp de las cepas H2MLB y LM1104 en los diferentes medios de fermentación

Discusión

Para el uso de los residuos agroindustriales se les determinó la concentración de azúcares reductores en cada una de sus fracciones: pulpa de mango (60g/L), cáscara de mango (56 g/L), cáscara de café (45.3 g/L) y mucílago (51g/L). sin embargo también se determinaron azúcares reductores por HPLC (cromatografía líquida de alta resolución) , obteniendo resultados similares para el mucílago, en el caso de la pulpa, cáscaras de café y mango difieren, esto debido a que en la cromatografía solo se estandarizaron las muestras de glucosa y fructosa, y en el método de DNS se determinó azúcares reductores totales.

Mora y Oropeza en el 2013, midieron azúcares reductores en la cáscara de café con el tratamiento de hidrólisis ácido encontrando 41.3 g/L, comparando estos resultados existe una mínima diferencia en ambos estudios.

Los azúcares presentes en las fracciones de café y mango fueron utilizadas como fuente de carbono para las cepas etanológicas (H2MLB y LM1104) aisladas anteriormente de la tuba.

Durante la fermentación de la pulpa de mango, en la cinética de crecimiento de los microorganismos, la fase exponencial se visualiza de las 0 a 24 horas, mientras que la fase estacionaria no se puede observar con exactitud posiblemente por el rango de horas en las que se midió la biomasa, observando que de las 48 a 96 horas la biomasa se mantuvo constante, por la adición de NaOH de acuerdo a las condiciones de pH de cada cepa.

Con respecto la determinación de etanol en la pulpa de mango y mucílago, se observó que inicia de entre las 24-48 horas, observando la máxima producción a las 96 horas con 9.7 g/L y 8.8 g/L con las cepas H2MLB y LM1104, mientras que para el mucílago la concentración fue de 5.5 y 8.8.

Lo anterior si lo comparamos con el rendimiento (Yp/x) se observa mayor en la levadura.

Mora y Oropeza utilizaron las mismas cepas en la cáscara de café para la obtención de etanol encontrando para la cepa H2MLB 21.15 g/L y LM1104 con 6.7372 g/L

En cuanto a la fermentación con las cascara de mango y café, se puede observar escaso crecimiento de ambos microorganismos y por consiguiente no hubo producción posiblemente por la presencia de compuestos inhibitorios como es el hidroximetilfurfural (HMF) y furfural producto de la hidrólisis, además de compuestos fenólicos presentes en los desechos, principalmente en cáscaras (Tian *et al.*, 2009).

Conclusión

De los frutos analizados se obtuvo mayor concentración de azúcares fermentables en la pulpa de mango 60 g/L mayor a la encontrada en las cascara tanto de mango como de café tratados con ácido. La determinación de etanol con el sustrato de mayor concentración de azúcares fue de 9,4 g/L para la cepa H2MLB y 8.8 g/L para LM1104, respectivamente. En el mucilago se obtuvo menor concentración de etanol de 5.5 g/L para la levadura y 5.8 g/L para la cepa bacteriana.

Los parámetros cinéticos de fermentación se evaluaron durante la fase exponencial (24-48 horas), donde la velocidad específica de crecimiento fue mayor en la bacteria, en lo que respecta al rendimiento producto/sustrato (Y_p/s) fue mayor para la cepa H2MLB tanto en la fermentación con la pulpa de mango como en el mucilago. Estos resultados sugieren que la cepa aislada de la tuba con mayor rendimiento de producción de etanol es *Saccharomyces sp.*

Referencias

Alcantara T., (2010) Bebidas fermentadas. <http://grupos.emagister.com/mensaje/Thelma>

Alcantara. Tepache es una de las bebidas/1617-3460346.

AMECAFE,2012.

Avallone,S Guyot. JM. Olguin , E. Guiraud, JP.(2000) Microbiological and biochemistry study of coffe fermentation.

Bai F., Anderson A., Moo Y. (2008) Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. Elsevier; 26: 89-115.

Barroso- Casillas M.,(2010) Pretratamiento de biomasa celulósica para loa obtención de etanol en el marco de un biorrefineria. Universidad de Ingeniería y técnica ambiental. Madrid.

Bioenergéticos, (2012) Gobierno federal, SENER, SEMARNAT, SE, SAGARPA, SHCP.Botanical,2008; www.botanical-online.com