

## Producción de etanol a partir de melaza de caña de azúcar y diferentes cepas de levadura

### Ethanol production from sugar cane molasses and different strains of yeast

Claudia Natali Hernández Contreras <sup>1\*</sup>; Roxana Jannet Purihuaman Guerrero <sup>1</sup>;  
José Enrique Hernández Ore <sup>1</sup>; Pedro Wilfredo Gamboa Alarcón <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Calle Juan XXIII 391, Lambayeque, Perú.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional Autónoma de Chota, Colpa Matara, Chota, Cajamarca, Perú.

\* Autor correspondiente: [clau05.chc@gmail.com](mailto:clau05.chc@gmail.com) (C. Hernández)

DOI: [10.17268/rev.cyt.2022.03.06](https://doi.org/10.17268/rev.cyt.2022.03.06)

#### RESUMEN

La aplicación de diferentes condiciones de melaza de caña de azúcar (cepa de levadura, concentración de antibiótico y pH de melaza) tuvo como objetivo obtener el mayor rendimiento productivo de etanol. En la producción de etanol se empleó un diseño factorial 3x3x3 con 3 repeticiones por tratamiento, con niveles de concentración de antibiótico; 10 ppm, 15 ppm y 20 ppm; pH: 4,6; 4,8 y 5,0 y cepas de levadura: Fleishmann, Red Star y Fermipan Brown. El proceso aplicado tuvo como operaciones el acondicionamiento de la melaza, fermentación y destilación. Los resultados demostraron que el máximo rendimiento de etanol ( $314,13 \pm 8,77$  L/TM de melaza) fue obtenido con la cepa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* Fermipan Brown a un pH de 4,8 y concentración de antibiótico de 15 ppm. En conclusión, tratamiento propuesto ha demostrado tener una mayor productividad en relación con los otros métodos propuestos.

**Palabras clave:** Fermentación; rendimiento; melaza; alcohol etílico; levadura.

#### ABSTRACT

The application of different sugar cane molasses conditions (yeast strain, antibiotic concentration and molasses pH) was aimed at obtaining the highest ethanol yield. In ethanol production, a 3x3x3 factorial design was used with 3 replicates per treatment, with antibiotic concentration levels: 10 ppm, 15 ppm and 20 ppm; pH: 4.6, 4.8 and 5.0 and yeast strains: Fleish-mann, Red Star and Fermipan Brown. The process applied involved molasses conditioning, fermentation and distillation. The results showed that the maximum ethanol yield ( $314.13 \pm 8.77$  L/MT of molasses) was obtained with the yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* Fermipan Brown at pH 4.8 and antibiotic concentration of 15 ppm. In conclusion, the proposed treatment was shown to have a higher productivity in relation to the other proposed methods.

**Keywords:** Fermentation; performance; molasses; ethyl alcohol; yeast.

#### 1. INTRODUCCIÓN

La producción de etanol tiene como principal insumo azúcares presentes en biomásas, siendo la melaza de caña de azúcar un subproducto agroindustrial de uso frecuente en destilerías de alcohol para la producción de bebidas etílicas, alcohol industrial y combustible (Jiménez et al., 2004). La producción de etanol se encuentra ganando eficacia y teniendo ligeros acondicionamientos gracias a la ciencia, tecnología, agricultura e industria que intervienen en la elaboración de producto con valor agregado y demanda en crecimiento (Puertas, 2018).

La melaza, es uno de los desechos y principal subproducto del sector azucarero, contiene cerca de 50-55% de azúcar fermentable (Kopsahelis et al., 2012), principalmente sacarosa (32%), fructosa (16%) y glucosa (14%), por lo cual es considerado como un sustrato rico en carbohidratos que se utiliza en la producción de etanol, además tiene como características: alta disponibilidad, bajo costo y ser ecológica por su naturaleza (Arshad et al., 2017; Jayus et al., 2016; Kopsahelis et al., 2012).

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es la cepa comúnmente utilizada por las industrias alcoholeras para la elaboración de etanol (Park y Baratti, 1991). Las levaduras son hongos unicelulares, pueden desarrollarse en



un extenso intervalo de medios y al ser estos organismos heterotróficos necesitan nutrientes minerales y una cantidad significativa de carbono orgánico para su desarrollo (Argote V et al., 2015; Hernández Contreras & Purihuaman Guerrero, 2014). Las levaduras que se venden en el mercado se pueden dividir en algunos grupos, ya sea por tipos (panadería, cervecera, vino, bioetanol, etc), por aplicaciones (panadería, bebidas alcohólicas, bebidas no alcohólicas, etc) y por formas (instantánea, seco, natural, etc.). Cada una de ellas daría un resultado diferente una vez que se aplicará en la producción de etanol porque cada una tiene diferente composición (Jayus et al., 2016).

La producción de etanol a partir de melaza con diferentes cepas de levadura y condiciones de fermentación podría dar lugar a diferentes resultados en el contenido de etanol. Por lo tanto, en el presente trabajo, se investigó la producción de etanol con tres cepas de levadura comercial y diferentes condiciones de melaza.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología se presenta en cuatro subsecciones: materia prima, metodología experimental, determinación del rendimiento de etanol y diseño experimental.

### 2.1. Materia prima

La melaza utilizada en los diferentes tratamientos fue adquirida de empresa Agroindustrial Tumán - Lambayeque, la cual, según los tratamientos establecidos se sometieron al proceso de fermentación.

### 2.2. Metodología experimental

Para tener una adecuada fermentación, se diluyó 350 g de melaza con agua destilada hasta obtener una concentración de 24 °Brix. Luego se agregó ácido sulfúrico al 98%; en cantidades de 1, 1,5 y 2 ml ácido sulfúrico / L de mosto para obtener valores pH de 5; 4,8 y 4,6 respectivamente. Posterior a ello, se adicionó el antibiótico Bactol Q en cantidades de 10 ppm, 15 ppm y 20 ppm por muestra según corresponda.

A continuación, se procedió con la activación del cultivo de la cepa, se mezclaron 5 g de levadura seca activa/L de mosto con 150 ml de mosto, a una temperatura de 35 °C y se dejó en incubación por 3 horas, a temperatura constante. Se utilizaron 3 tipos de levaduras: Fleishmann, Red Star y Fermipan Brown.

Posterior a ello se inició la fermentación con 24 °Brix a una temperatura de 35°C hasta obtener 7-9 °Brix. Finalmente, el mosto fermentado fue destilado a escala de laboratorio. Se midió el grado alcohólico del destilado recogido utilizando un alcoholímetro de 15°C.

### 2.3. Determinación del rendimiento de etanol

Para establecer la producción de etanol, se procedió a medir el grado alcohólico del destilado de cada tratamiento y se aplicó la fórmula descrita por Hernández y Purihuaman (2014).

$$\frac{L_{\text{etanol}}}{TM_{\text{melaza}}} = \frac{\text{Grado alcohólico} \times L_{\text{Muestra fermentada}} \times 0,01}{kg_{\text{melaza utilizada}} * 10^{-3} TM} \dots\dots\dots(1)$$

### 2.4. Diseño Experimental

Se evaluó el efecto de la cepa de levadura, la concentración de antibióticos y pH de melaza en la producción de etanol. El estudio utilizó un diseño factorial completo 3x3x3. En la tabla 1 se muestran los factores implicados y los niveles correspondientes para cada factor. En total se utilizaron 27 muestras de 3 repeticiones cada una.

**Tabla 1.** Diseño Factorial 3x3x3 y niveles correspondientes a cada factor

Factores	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
Cepa de levadura	Fleishmann	Red Star	Fermipan Brown
Bactol Q	10 ppm	15 ppm	20 ppm
pH	4,6	4,8	5

El efecto de las interacciones de estos factores se evaluó mediante un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de homocedasticidad con un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ . Los análisis se realizaron mediante el software Minitab 17.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Perfil de producción de etanol

En la tabla 2, se observa el rendimiento promedio de etanol por efecto de la interacción de la cepa de levadura, pH y concentración de antibiótico.

**Tabla 2.** Rendimientos en litros de alcohol etílico/ T.M de melaza

Levadura		Concentración de Bactol Q		
		10 ppm	15 ppm	20 ppm
Fleishmann	pH 4,6	296,9 ± 7,65	301,97 ± 3,52	248,27 ± 8,77
	pH 4,8	299,93 ± 3,52	299,93 ± 3,52	258,4 ± 8,77
	pH 5	241,17 ± 3,52	241,17 ± 3,52	278,67 ± 8,77
Fermipan Brown	pH 4,6	278,67 ± 8,78	301,97 ± 3,52	278,67 ± 8,77
	pH 4,8	291,83 ± 5,25	314,13 ± 8,77	298,93 ± 8,77
	pH 5	248,27 ± 8,77	283,73 ± 1,75	283,73 ± 1,75
Red Star	pH 4,6	283,73 ± 8,77	298,93 ± 8,77	301,97 ± 3,52
	pH 4,8	304 ± 8,77	309,07 ± 8,77	298,93 ± 8,77
	pH 5	298,93 ± 8,77	263,47 ± 8,77	268,53 ± 8,77

Los resultados obtenidos muestran que los mayores rendimientos de alcohol ( $314,13 \pm 8,77$  L-alcohol/TMmelaza) se obtuvieron con la cepa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* Fermipan Brown utilizando melaza a una concentración 24°Brix, pH de 4,8, concentración de Bactol Q de 15 ppm y temperatura de fermentación de 35°C. Los resultados obtenidos, se encuentran por encima de los rendimientos promedio de 230 L/TM reportados por el Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego, n.d.). Esta diferencia puede ser debido a las condiciones de temperatura y concentración de azúcar utilizadas en los tratamientos. Según Concepción et al. (2005) y Venkatachalam et al. (2014), la producción de etanol a partir de melaza puede llevarse a cabo en un intervalo de temperaturas de 25 a 35°C. Esta variable juega un papel muy importante en la propagación de las levaduras, debido a que influye en el proceso de degradación de azúcares y alcanza su valor máximo a 35°C. Asimismo, según Holcberg y Margalith (1981), Jones et al. (1981), Maiorella et al. (1981) y Thatipamala et al. (1992) la concentración del sustrato es un factor importante en la fermentación. La inhibición del sustrato se vuelve significativa en algún lugar entre el  $5 \pm 25$  % (p/v) de azúcar con una inhibición completa del crecimiento al 40 % (p/v) de glucosa, por tal motivo los tratamientos de la investigación se estandarizaron a 24°Bx inicial en todas las muestras.

En la tabla 3 se muestra el cálculo de análisis estadístico aplicado al diseño factorial con tres factores (Bactol Q, pH y levadura) con un intervalo de confianza del 95%. Los resultados obtenidos indican que el modelo aplicado, así como las variables pH y Levadura tienen una influencia estadística en la producción de etanol. Sin embargo, la variable Bactol Q no tiene una influencia estadística por presentar valores superiores a 0,05. El modelo propuesto tiene un ajuste a los datos experimentales de 74,89% y explica el 62,80% de las variaciones del rendimiento de etanol.

**Tabla 3.** ANOVA del diseño experimental propuesto

FV	GL	SC	CM	Fo	Valor-p
Modelo	26	34 959,0	1 344,6	6,19	0,000
Lineal	6	13 715,3	2 285,9	10,53	0,000
Bactol Q	2	829,7	414,9	1,91	0,158
pH	2	9 497,5	4 748,8	21,88	0,000
Levadura	2	3 388,1	1 694,0	7,80	0,001
Interacciones 2 vías	12	11 464,5	955,4	4,40	0,000
Bactol Q * pH	4	4 159,7	1 039,9	4,79	0,002
Bactol Q * Levadura	4	5 898, 8	1 474,7	6,79	0,000
pH * Levadura	4	1 406,0	351,5	1,62	0,183
Interacciones 3 vías	8	9 779,1	1 222,4	5,63	0,000

FV	GL	SC	CM	Fo	Valor-p
Bactol Q * pH * Levadura	8	9 779,1	1 222,4	5,63	0,000
Error	54	11 722,5	217,1		
Total	80	46 681,5			

Criterio estadístico: 95% de confianza.

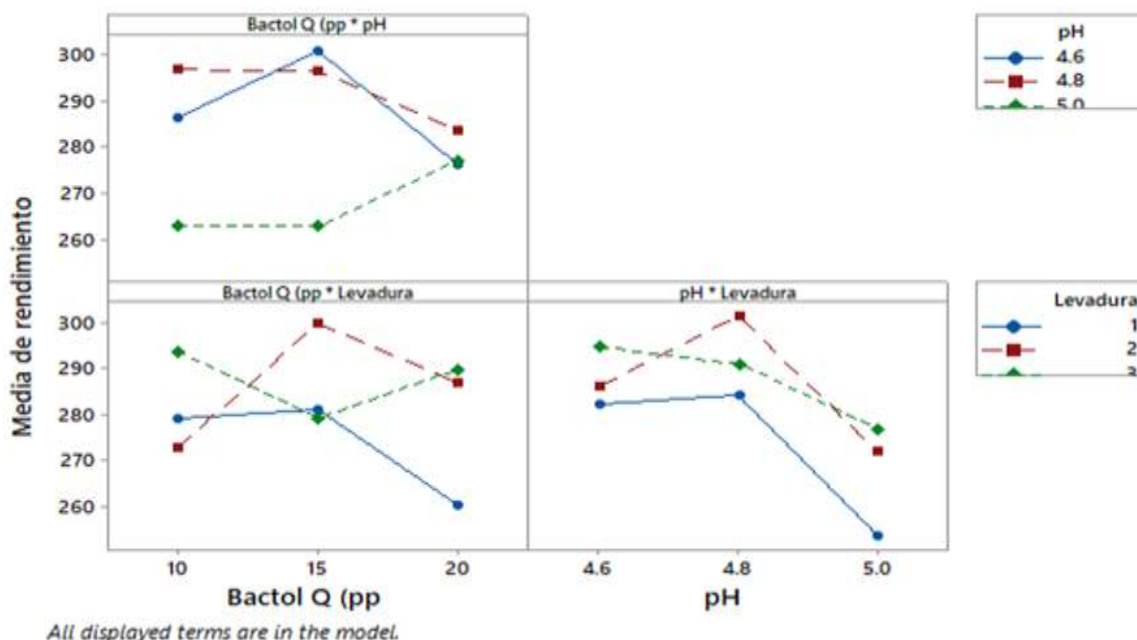


Figura 1. Interacción de factores para el rendimiento

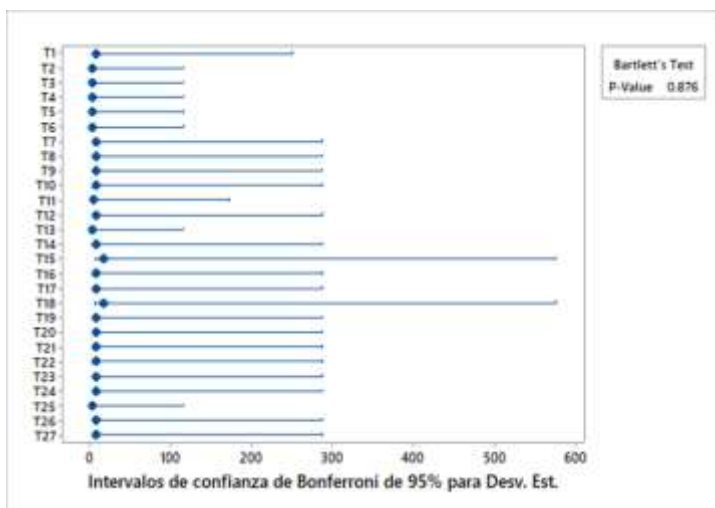


Figura 2. Análisis de Homocedasticidad

En la Figura 1, se muestra la interacción de los factores Bactol Q, pH y Levadura en relación a la producción de etanol. La interacción Bactol Q y pH indica que el rendimiento de etanol tiene un menor valor cuando se utiliza melaza con pH 5,0. Asimismo, el mejor rendimiento se obtiene utilizando melaza a pH de 4,6 y una concentración de Bactol Q (antibiótico) a 15 ppm. De forma similar, en cuanto a la interacción levadura y antibiótico, el rendimiento tiene comportamiento oscilante para cada interacción. Sin embargo, cuando la concentración de Bactol Q es 15 ppm y se utiliza la cepa Fermipan Brown, se obtiene el mayor rendimiento.

Por último, en la interacción pH y levadura, el uso de la cepa Fleishmann tiene los rendimientos más bajos de etanol y al igual que en el anterior interacción, la levadura Fermipan Brown tiene un mayor rendimiento cuando se fermenta la melaza con un pH de 4,8. Los diferentes rendimientos obtenidos mediante las interacciones de los factores analizados tienen concordancia con lo reportado por Argote et al. (2015) quienes indican que la eficiencia de la reacción química se encuentra en relación a las condiciones adecuadas a las que se someta la levadura, algunos de estos factores pueden ser: concentración de azúcar, pH, tipo de levadura y temperatura de fermentación.

En la figura 2 se observa la prueba de Bartlett que implica que la varianza de los errores es constante a lo largo del tiempo, por lo que las varianzas son iguales entre grupos o muestras. El resultado obtenido de  $p$ -valor < 0,876 permite determinar que existe homogeneidad de varianza en los tratamientos, lo cual nos permite tener como resultado una predicción del modelo más fiable (García y Ortíz, 2017).

#### 4. CONCLUSIONES

La aplicación del diseño experimental factorial 3x3x3 permitió establecer la cepa de levadura (Fermipan Brown) y condiciones óptimas de pH (4,8) y concentración de antibiótico (Bactol Q) (15 ppm) para la melaza de caña de azúcar a 24°Brix. El análisis de varianza aplicado concluye que el modelo aplicado tiene influencias significativas en la producción de etanol; sin embargo, de los factores e interacciones analizadas los niveles de antibiótico Bactol Q aplicados en los tratamientos y la interacción levadura\*pH no tienen influencia significativa en la producción de etanol.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Argote V, F. E.; Cuervo M, R. A.; Osorio C, E.; Delgado-Ospina, J.; Villada, H. S. 2015. Evaluación de la producción de etanol a partir de melaza con cepas nativas *Saccharomyces Cerevisiae*. *Biocología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(2), 40–48. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(13\)40-48](https://doi.org/10.18684/BSAA(13)40-48).
- Arshad, M.; Hussain, T.; Abbas, M. 2017. Enhanced ethanol production at commercial scale from molasses using high gravity technology by mutant *S. cerevisiae*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48, 403–409. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.02.003>.
- Concepción, L. M.; del Risco, R. C. A.; Lorenzo, D. M.; Fajardo, M.; Pérez, J. C. 2005. Evaluación de una cepa de levadura para fermentar diferentes concentraciones de miel *Apis mellifera*. *Estación experimental apícola Cuba*.
- García, M.; Ortíz, A. 2017. Una nueva prueba para el problema de igualdad de varianzas. Trabajo de Grado. Universidad Santo Tomás. Bogotá. Colombia.
- Hernández, C. N.; Purihuaman, R. J. 2014. Evaluación de 3 cepas de levadura: Fleishmann, Red Star y Fermipan Brown, modificando el pH y Bactol Q (Bacteriostático)N para obtener la óptima producción de alcohol etílico a partir de la melaza. Tesis para optar el título profesional. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque. Perú.
- Holcberg, I. B.; Margalith, P. 1981. Alcoholic fermentation by immobilized yeast at high sugar concentrations. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 13(3), 133–140. <https://doi.org/10.1007/BF00703041>.
- Jayus, Nurhayati, Mayzuroh, A.; Arindhani, S.; Caroenchai, C. 2016. Studies on Bioethanol Production of Commercial Baker's and Alcohol Yeast under Aerated Culture Using Sugarcane Molasses as the Media. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 9, 493–499. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.168>.
- Jiménez, A. M.; Borja, R.; Martín, A. 2004. A comparative kinetic evaluation of the anaerobic digestion of untreated molasses and molasses previously fermented with *Penicillium decumbens* in batch reactors. *Biochemical Engineering Journal*, 18(2), 121–132. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(03\)00198-0](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(03)00198-0).
- Jones, R. P.; Pamment, N.; Greenfield, P. F. 1981. Alcohol fermentation by yeast: the effect of environmental and other variables. *Process Biochem.*; (United Kingdom), 16(3), 42–49.
- Kopsahelis, N.; Bosnea, L.; Bekatorou, A.; Tzia, C.; Kanellaki, M. 2012. Alcohol production from sterilized and non-sterilized molasses by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on brewer's spent grains in two types of continuous bioreactor systems. *Biomass and Bioenergy*, 45, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.05.015>.
- Maiorella, B.; Wilke, C. R.; Blanch, H. W. 1981. Alcohol production and recovery. *Materials Science*, 20, 43–92. [https://doi.org/10.1007/3-540-11018-6\\_3](https://doi.org/10.1007/3-540-11018-6_3).

- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. n.d. Etanol. Retrieved January 19, 2022, from <https://www.midagri.gob.pe/portal/29-sector-agrario/azucar/249-etanol?start=12>.
- Park, S. C.; & Baratti, J. 1991. Batch Fermentation Kinetics of Sugar Beet Molasses by *Zymomonas mobilis*. *Biotechnology and Bioengineering*, 38, 304–313. <https://doi.org/10.1002/bit.260380312>.
- Puertas, M. 2018. Efecto de la cinética de hidrólisis ácida de almidón de maíz (*zea mays* l.) en el rendimiento para la obtención de etanol. Para optar el título profesional de Ingeniería Agroindustrial e Industrias Alimentarias. Universidad Nacional de Piura. Piura. Perú.
- Thatipamala, R.; Rohani, S.; Hill, G. A. 1992. Effects of high product and substrate inhibitions on the kinetics and biomass and product yields during ethanol batch fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 40(2), 289–297. <https://doi.org/10.1002/BIT.260400213>.
- Venkatachalam, S.; Periyasamy, S.; Ramasamy, S.; Srinivasan, V. 2014. Production of Bio-ethanol from Sugar Molasses Using *Saccharomyces Cerevisiae*. *Modern Applied Science*, 3(8), 32–37. <https://doi.org/10.5539/mas.v3n8p32>.