

REVALORACIÓN DE RESIDUOS DE FRUTA Y VERDURA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES

Kazuhiro Santos Tanamachi¹, Nataly Camila Alvarado Ahedo¹, José Ramón Gárate Ruiz¹, María del Pilar Restrepo Elorza¹, Guillermo Manuel González Guerra¹, Fernando Israel Gómez Castro², Salvador Hernández Castro².

¹ Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Cerro de la Venada s/n, Guanajuato, Guanajuato, 36040, México. gm.gonzalezguerra@ugto.mx

² Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Col. Noria Alta, Guanajuato, Guanajuato, 36050, México.

Resumen

Derivado de la creciente preocupación y atención a la mitigación de la crisis climática, y el uso desmedido de combustibles fósiles, el desarrollo y producción de biocombustibles ha tomado importancia dentro de los diferentes sectores. De los biocombustibles existentes, el bioetanol presenta propiedades atractivas que lo hacen destacar por encima de los demás. Algunas de estas son su alta inflamabilidad, y su baja producción de residuos. Una solución a la problemática de producción y disposición de residuos orgánicos es utilizarlos como materia prima para la producción de bioetanol. El trabajo en cuestión presenta un análisis sobre los residuos más comunes con potencial para ser usados en la producción de bioetanol. Asimismo, se plantea una metodología de síntesis con hidrólisis ácida y fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* utilizando residuos de zanahoria (*Daucus carota*) como biomasa. Los resultados muestran un efecto favorable en el uso de fuentes de nitrógeno y agitación durante el proceso de fermentación

Palabras clave: bioetanol, azúcar, residuos, zanahoria, fermentación.

Introducción

En la actualidad, existe una creciente problemática ambiental que se asocia en parte con la demanda energética y la producción de gases de efecto invernadero. De acuerdo con el Panel Intergubernamental del Cambio Climático¹ (IPCC, por sus siglas en inglés, 2013), la temperatura global de la tierra ha aumentado de manera alarmante durante los últimos 200 años, en gran parte debido a un volumen desproporcionado de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), por lo que es vital para la humanidad frenar el cambio climático en los próximos 50 años¹.

Además de esto, existe otra creciente problemática que es la generación de residuos orgánicos. La cantidad de residuos orgánicos que se estima son generados en el estado de Guanajuato por el sector alimenticio es de aproximadamente 9,513.90 toneladas diarias.

Los municipios que generan la mayor cantidad de residuos orgánicos, de acuerdo con reportes previos, son Irapuato (31.49%), Pénjamo (12.24%) y Celaya (10.86%). Este total de toneladas diarias proviene de diferentes actividades productivas, la agricultura, ganadería y forestal generan un 72.54% de residuos orgánicos, la industria alimentaria (procesadoras de alimentos) 17.91%, los servicios de alojamiento temporal y preparación de alimentos y bebidas (hoteles y restaurantes) 0.22%, el comercio al por menor (tiendas de autoservicio) 0.7% y el comercio al por mayor (centrales de abastos y mercados públicos) 8.63%^{3,4}.

Dentro de la composición de los residuos orgánicos que se generan en el estado de Guanajuato, se encuentran principalmente excretas de animales, residuos de plantas, residuos de comida y alimentos, madera, cartón, papel, aceite y lodos de plantas de tratamiento de aguas. Los residuos que son de interés para la producción de biocombustibles serían los correspondientes al sector alimenticio, de los cuales se estiman un total de 3, 472,573 toneladas anuales⁵.

Con respecto a la problemática de los GEI, existen alternativas que tienen el objetivo de reducir la emisión de estos gases y además producir energía para así contrarrestar la creciente demanda energética. Dentro de estas alternativas se encuentran los biocombustibles, los cuales, son combustibles producidos a partir de materias primas de origen vegetal o animal, del procesamiento de productos agroindustriales o de residuos

orgánicos ⁴. Entre ellos se encuentra el bioetanol, biodiésel, biohidrógeno, entre otros. Los dos biocombustibles más usados en el mundo son el etanol y el biodiesel y se utilizan principalmente en los motores de vehículos como automóviles y camiones. El etanol generalmente se produce utilizando como materia prima la caña de azúcar, los cereales y el betabel. El biodiesel, que puede usarse en lugar del diésel convencional, se produce a partir de aceites vegetales o animales. Las especies más usadas para obtener biodiesel son la palma aceitera y la soja. El etanol representa cerca del 90% de la producción total de biocombustibles y el biodiesel el resto ⁵

Los componentes contenidos en los residuos de frutas y verduras los hacen candidatos para ser materia prima en la producción de biocombustibles. Las azúcares pueden ser fermentadas para la obtención de alcoholes. Por otra parte, la fracción de celulosa y hemicelulosa puede tratarse para obtener azúcares adicionales. Asimismo, la fracción lipídica puede emplearse en la producción de biodiésel; se han reportado numerosos trabajos en donde se obtiene el bioetanol, sin embargo, la mayoría de los estudios se enfocan en un tipo de residuo particular ⁶

El auge de este tipo de combustibles en América Latina y el Caribe puede entenderse por las ventajas comparativas que se tienen en la región, la gran extensión de tierras cultivables y su riqueza en otros recursos naturales, factores que pueden convertir la región en una importante proveedora internacional de biocombustibles ⁴

Uno de los argumentos que se ofrecen para promover los biocombustibles es que su impacto ambiental sería menor que el de los combustibles fósiles. En un estudio realizado por Jorn Scharlemann y William Laurence, del Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, se midió la influencia de los biocombustibles en las emisiones de CO₂. Los autores del estudio concluyen que 80% de los biocombustibles reducen las emisiones de CO₂ en un 30%. El etanol reduciría las emisiones en 13% y el biodiesel en 79%, comparados con el diésel de petróleo. Además, según este estudio, se producen menos partículas suspendidas y hollín, que son nocivos para el sistema respiratorio ⁵

Existen diversos autores y estudios que plantean y proponen a los biocombustibles como una alternativa viable y beneficiosa en términos de la generación de gases de efecto invernadero y el cambio climático. Entre ellos, Mohanty y Swain (2019) exploran la importancia del escenario de producción global de materias primas ricas en almidón a partir de trigo y maíz y los procesos biotecnológicos desarrollados hasta el momento. Pugazhendhi y Mathimanu (2019) analizan tanto la producción primaria en la biomasa de algas que se utiliza para la producción de biocombustibles como también examinan la producción de coproductos valiosos. Baral et al. (2019) revisaron el estado actual de las materias primas lignocelulósicas y ofrecieron un análisis de por qué la comercialización de materias primas para biocombustibles aún no ha ocurrido de manera significativa. Esta revisión explora los avances realizados dentro de la comunidad de investigación y explora formas de promover la adopción de estas tecnologías y técnicas de materia prima a escala industrial. Pandley et al. (2019) reportó el estado actual de las materias primas alternativas. Además, cubre la clasificación amplia de las materias primas de biocombustibles existentes, proporciona una evaluación de su sostenibilidad y luego cubre los procesos de producción y comercialización de varios biocombustibles ⁹.

A pesar de que los biocombustibles sean un candidato importante como alternativa de los combustibles fósiles y derivados del petróleo, este tipo de combustibles posee ciertos retos que están relacionados tanto a la producción como la comercialización. Los balances energéticos del biodiesel y del bioetanol dependen en gran medida de la materia prima que se elija, la eficiencia tecnológica, el proceso utilizado y el lugar donde se producen los cultivos ⁵. Estos factores ocasionan que la síntesis tenga problemas de reproducibilidad debido a que existen muchas variantes.

Otro reto importante para este tipo de combustibles involucra el uso de la materia prima. Según predicciones de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), si se utilizara etanol para producir el 10% de los combustibles empleados en el transporte en Estados Unidos, se requeriría que el 30% de la superficie agrícola de ese país se dedicara al cultivo de materias primas; un porcentaje que en el caso de la Unión Europea ascendería al 72% de la superficie cultivable; a nivel mundial esta cifra sería del 9%. Es probable que los países desarrollados promuevan cultivos para biocombustibles fuera de sus territorios para después comprarlos, y no enfrentar así las consecuencias ambientales ni sociales de su producción. Es por esta razón que la alternativa parece ser entonces no producir biocombustibles a partir de alimentos, sino con desechos de industrias como la forestal, la agrícola y la papelera ⁵.

En México se han creado leyes y programas de gobierno para fomentar el desarrollo de los biocombustibles; sin embargo, no ha habido logros importantes, quizás debido a que se han requerido subsidios presupuestales, y, en el país existen muchas necesidades que cubrir y los recursos disponibles son escasos⁸. Además de esto, en México existen lineamientos por los que se establecen las especificaciones de calidad y características para etanol anhidro (bioetanol), biodiésel y bioturbosina puros. Los cuales establecen características que deben ser cumplidas por estos combustibles lo cual es muy importante, pero al mismo tiempo se vuelve un reto.

El objetivo de estos lineamientos es establecer las especificaciones de calidad y las características de los biocombustibles del tipo etanol anhidro (bioetanol), biodiésel y bioturbosina puros, los cuales deberán estar mezclados con petrolíferos previo al expendio al público en proporciones consistentes con las especificaciones establecidas en la NOM-016-CRE-2016, así como su manejo en cualquiera de sus etapas o procesos de producción, almacenamiento, distribución, comercialización y transporte⁹.

Entre estos lineamientos se encuentra que los biocombustibles del tipo etanol anhidro objeto de los presentes lineamientos, cuyo uso final sea el sector automotriz deben ser mezclados con petrolíferos previo expendio al público, cumpliendo con la especificación estipulada en la NOM-016-CRE-2016. En consecuencia, el grado de pureza del etanol anhidro para su uso final automotriz, previa mezcla con petrolíferos puede fluctuar en un rango de 92.1% al 100% y a nivel expendio, debe cumplir con la especificación de los combustibles para expendio determinada en la NOM antes señalada⁹.

Volviendo a los retos respecto a este tipo de combustibles, en particular a su obtención a partir de residuos orgánicos, es importante mencionar y considerar que las síntesis existentes poseen variaciones unas con otras debido a las diferencias en el contenido que hay entre frutas y verduras. Debido a que el contenido de azúcares y hemicelulosa es distinto, por lo tanto, el tratamiento y el proceso de obtención del biocombustible variará y los resultados obtenidos también. Por esto, se puede decir que no existe una síntesis general que sea aplicable a cualquier tipo de biomasa, lo cual vuelve su producción más complicada.

Como se mencionó anteriormente, los biocombustibles presentan distintos retos asociados a la síntesis, reproducibilidad y a la normativa mexicana. Sin embargo, éstos representan un área de oportunidad en el sector energético y agroalimentario teniendo el objetivo de ser una alternativa frente a los combustibles fósiles y la generación de gases de efecto invernadero. Además de esto, un área de oportunidad muy grande se encuentra en la generación de estos biocombustibles a partir de residuos agroalimentarios. Es por esto, que en este trabajo se analiza la posibilidad de producir bioetanol a partir de residuos agroalimentarios recolectados en la ciudad de Guanajuato. Además de esto, realizando un estudio de las diferentes variables en el proceso de síntesis con el objetivo de plantear una metodología que sea aplicable a más tipos de residuos y sea reproducible.

Metodología

Estudio de la disponibilidad de residuos en el municipio de Guanajuato

Partiendo del trabajo previo reportado en el grupo de trabajo de investigación⁶, se ha encontrado la necesidad de realizar una revaloración de los residuos de fruta y verdura existentes en los diferentes mercados y centrales de abasto; para comenzar, se realizó el estudio en el Mercado Hidalgo del Municipio de Guanajuato.

Lo anterior, para continuar con la elaboración de los protocolos y metodologías necesarios para el estudio de esta materia prima en la obtención de biocombustibles.

Se obtuvieron cuatro costales de residuos de frutas y verduras generadas en uno de los establecimientos del Mercado Hidalgo de la ciudad de Guanajuato, se valoraron sus características físicas, así como el potencial en el proceso de obtención de biocombustibles.

Posterior a la recolección, se realizó un pesado y clasificación de la materia prima. Se desecharon todos aquellos residuos que no presentaron potencial como materia prima para la producción de bioetanol. Los residuos que sí presentaban potencial fueron conservados para iniciar un pretratamiento.

Derivado del análisis de los diferentes residuos obtenidos durante las 4 semanas, se observó que había una cantidad considerable de zanahoria (*Daucus carota*). Razón por la cual se eligió la zanahoria como especie

de partida para el estudio. La zanahoria es una hortaliza rica en azúcares, mismos que al fermentarse forman alcohol, conocido como bioetanol. Aproximadamente el 30% de la producción de zanahoria no puede ser comercializada; por tanto, recuperar esta materia, y utilizarla para la producción de bioetanol representa una opción sustentable y responsable ¹⁰.

Pretratamiento de residuos de zanahoria para la obtención de biocombustibles

Para comenzar el pre tratamiento de la materia prima, se realiza un proceso de secado con la intención de eliminar la mayor parte de agua, evitando reacciones secundarias en las posteriores etapas de la obtención del bioetanol; para este efecto, la zanahoria utilizada para el estudio fue cortada en trozos y secada al aire por 72 horas. Un total de 600 gramos de zanahoria seca sirvieron como material de partida para el estudio. La materia prima deshidratada se dividió en 4 muestras de 150 gramos, cada una fue molida utilizando una licuadora modelo American Champ modelo 1014 en un tiempo de 4 minutos.

Síntesis de bioetanol a partir de residuos de zanahoria

Posterior al pretratamiento de la materia prima, se realizó la síntesis del bioetanol a partir de las muestras de zanahoria deshidratada. La producción de bioetanol puede sintetizarse en cuatro pasos, esencialmente: hidrólisis, neutralización, fermentación, y destilación (Figura 1). Para los fines de este estudio, la fermentación representaba el paso de mayor interés. Es por esto por lo que sólo en ese paso, las condiciones fueron variadas. Todas las muestras fueron hidrolizadas bajo las mismas condiciones.

Hidrólisis

En esta etapa, se analizaron un total de 12 muestras de 50 gramos. Cada muestra fue sometida a un proceso de hidrólisis ácida con H_2SO_4 1M. Se utilizó una relación de 5:1 p/v; entre la solución de ácido y la zanahoria. Las muestras fueron sumergidas en la solución de ácido y calentadas en baño maría a 60°C durante 60 min.

Neutralización

Posterior al proceso de hidrólisis, la materia orgánica se lavó con agua desionizada, y fue neutralizada utilizando solución de NaOH 3M cuando fuese necesario. Fueron requeridos de 6 a 11 lavados. El pH final obtenido se encontraba entre 4.5 y 6.

Detoxificación

Algunas muestras fueron tratadas con un proceso de detoxificación antes de ser fermentadas para la eliminación de posibles inhibidores formados durante el pretratamiento de la materia orgánica. Se optó por el método de saturación con álcali ya que este método es eficiente en la detoxificación de HFM y Furfural, inhibidores cuya formación es favorecida en las condiciones a las cuales se realizó la hidrólisis ácida¹¹. Después del proceso de neutralización se agregó un exceso de NaOH 3M con el fin de llevar las muestras a pH 11, teniendo estricto cuidado en no sobrepasar este valor ya que en condiciones mayores a pH de 12 se favorece la degradación de azúcares¹¹. Posteriormente, las muestras se dejaron reposar durante 24h en refrigeración. Pasado este tiempo, se utilizó H_2SO_4 1M para llevar nuevamente el pH a 5.

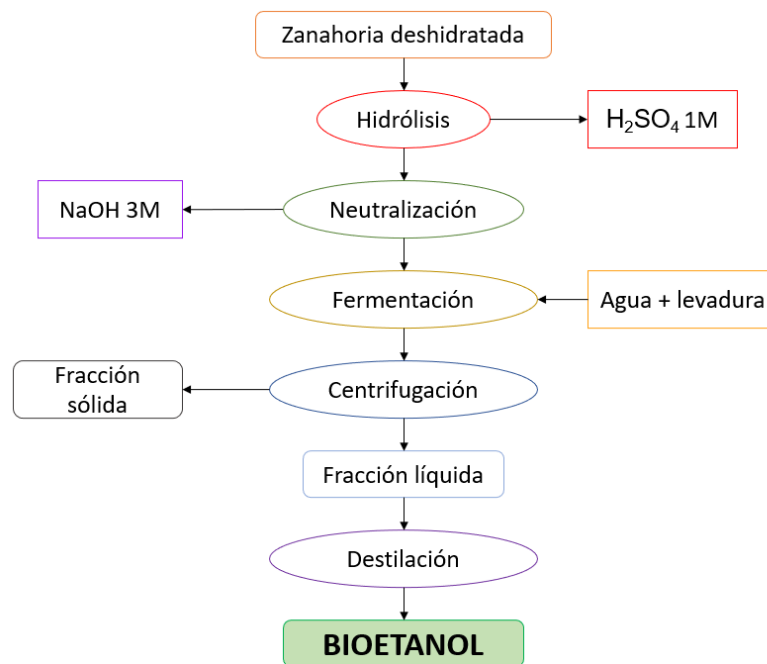


Figura 1. Diagrama de proceso de síntesis.

Fermentación

Para el proceso de fermentación (Figura 2) se utilizó una solución de *Saccharomyces cerevisiae* al 10% p/v incubada a 40° durante 30 min. Posteriormente, el inóculo fue añadido a la materia orgánica; por cada 50g de biomasa se utilizaron 0.75g de levadura. El proceso de fermentado se llevó a cabo a 30°C durante 72 horas, manteniendo un pH de 5. Además, se probó el efecto de fuentes de nitrógeno, agitación, pulverización previa y el aumento de la concentración de levadura. Se utilizó atmósfera de nitrógeno y 200mg de NH₄H₂PO₄ en disolución como fuentes de nitrógeno. La Tabla 2 lista las condiciones de las muestras más significativas para este estudio.

Destilación

Luego de ser fermentadas, las muestras fueron sometidas a centrifugación en una centrifugadora *Changsha Weierkang Xiangying* 800D a 2500rpm durante 25 minutos. La fracción líquida fue destilada ejerciendo presión negativa en un evaporador rotativo *Heidolph* a 80 rpm y 60 °C.

Caracterizaciones

pH

El pH del producto destilado fue medido utilizando tiras de papel tornasol. Se encontró en la bibliografía que el pH promedio reportado para bioetanol es de 5.71 ¹².

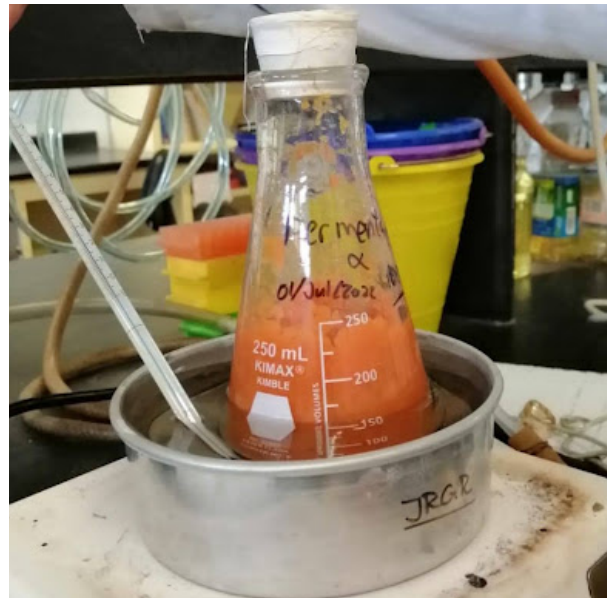


Figura 2. Muestra en fermentación.

Cuantificación de azúcares totales

El análisis de azúcares totales presentes en las muestras se realizó mediante el método fenol-ácido sulfúrico reportado por Dubois ¹³. Se utilizaron muestras antes y después de la fermentación con el fin de cuantificar la cantidad de azúcares utilizadas por la levadura. El estudio se realizó tomando 2 ml de la porción líquida de cada muestra, seguido de la adición de 0.12 ml de solución de fenol al 5% (p/v) y 7.2 ml de H₂SO₄ concentrado (98%) a cada una. La mezcla final es agitada hasta homogeneización y finalmente enfriada a temperatura ambiente durante 30 min.



Figura 3. Muestras tratadas con el método fenol-sulfúrico.

Se realizó una curva de calibración utilizando 10 soluciones patrón de glucosa. Las soluciones se prepararon variando las concentraciones de 10 µg/ml a 100 µg/ml. Posteriormente, fueron tratadas de la misma manera con la solución de fenol y H₂SO₄ concentrado ¹⁴.



Figura 4. Soluciones patrón de glucosa

Las muestras fueron analizadas en un espectrómetro UV-VIS Cintra1010 con el software Cintral Quantify applications; la longitud de onda reportada de máxima absorción era de 490 nm.

RMN

Para la determinación de la presencia de bioetanol, se llevó una muestra a estudio de Resonancia Magnético Nuclear de ^1H y ^{13}C . El equipo utilizado fue un Ultrashield 500 plus de Bruker. Se realizaron experimentos sobre una muestra del destilado obtenido, y sobre una muestra del residuo del destilado.

Resultados

Estudio de la disponibilidad de residuos

En la Tabla 1, se presentan los pesajes semanales de las especies potenciales para la producción de bioetanol.

Tabla 1. Peso de los residuos obtenidos de manera semanal

Residuo	Semana 1 (kg)	Semana 2 (kg)	Semana 3 (kg)	Semana 4 (kg)
Zanahoria	0,150	0,238	0,113	0,099
Naranja	2,90	1,2	-	0,526
Mango	1,86	1,1	0,986	1,53
Piña	-	1,3	-	0,820
Limón	0,5	0,208	0,630	-
Plátano	0,060	0,792	0,464	0,150
Remolacha	-	-	-	0,564

Se presentan únicamente los residuos con potencial uso como materia prima para producción de bioetanol. Todos aquellos residuos sin potencial uso para producir bioetanol fueron desechados y no se presentan aquí.

Síntesis de bioetanol a partir de residuos de zanahoria

En la Tabla 2 se presenta el diseño de experimentos realizado en el proyecto de investigación, en donde se seleccionaron 6 muestras a estudiar. Para conocer el efecto de la fermentación, 3 de estas muestras corresponden a pruebas que solo se sometieron a hidrolisis (E4, E5 y E6), mientras que cada una de las 3 muestras restantes (E1, E2 y E3) sufrió el proceso de fermentación bajo condiciones distintas. Asimismo, el volumen del destilado obtenido de cada muestra se reporta en la Tabla 2; dicho volumen corresponde a una mezcla de especies químicas entre los que se puede encontrar etanol, agua y otros compuestos orgánicos como aldehídos, cetonas o ácidos carboxílicos formados durante la fermentación ¹⁵.

Tabla 2. Diseño de experimentos

Muestra	Hidrolisis	Pulverización	Agitación	Activación	Detoxificación	Fuentes de nitrógeno	Volumen destilado (ml)
E1	250ml de H ₂ SO ₄ 1M a 60° durante 1 h	No	Si	Sol. Levadura al 10%. 60min a 40°C	Tratamiento álcali	NH ₄ H ₂ PO ₄ y atmosfera de nitrógeno	80.5
E2	250ml de H ₂ SO ₄ 1M a 60° durante 1 h	No	No	Sol. Levadura al 10%. 60min a 40°C	No	Atmosfera de nitrógeno	28.8
E3	250ml de H ₂ SO ₄ 1M a 60° durante 1 h	No	No	Sol. Levadura al 20%. 60min a 40°C	No	NH ₄ H ₂ PO ₄ y atmosfera de nitrógeno	37.9
E4	250ml de H ₂ SO ₄ 1M a 60° durante 1 h	-	-	-	-	-	-
E5	250ml de H ₂ SO ₄ 1M a 60° durante 1 h	-	-	-	-	-	-
E6	250ml de H ₂ SO ₄ 1M a 60° durante 1 h	-	-	-	-	-	-

pH

En la Tabla 3, se presentan los valores de pH obtenidos de los destilados de las muestras.

Tabla 3. pH de las muestras obtenidas de bioetanol

Muestra	pH
E1	5
E2	5
E3	5

Los valores de pH que se reportan de las muestras coinciden con el valor de pH reportado ¹². Esto es un indicativo que la metodología propuesta puede ser una alternativa viable para la obtención de bioetanol.

Espectroscopia RMN

Como se observa en la Figura 5, el espectro de RMN de ¹H de la muestra del destilado, arroja señales características del etanol, con un cuadruplete en 3.15 ppm correspondiente al grupo -CH₃ y un triplete en 0,67 ppm correspondiente al grupo -CH₂.

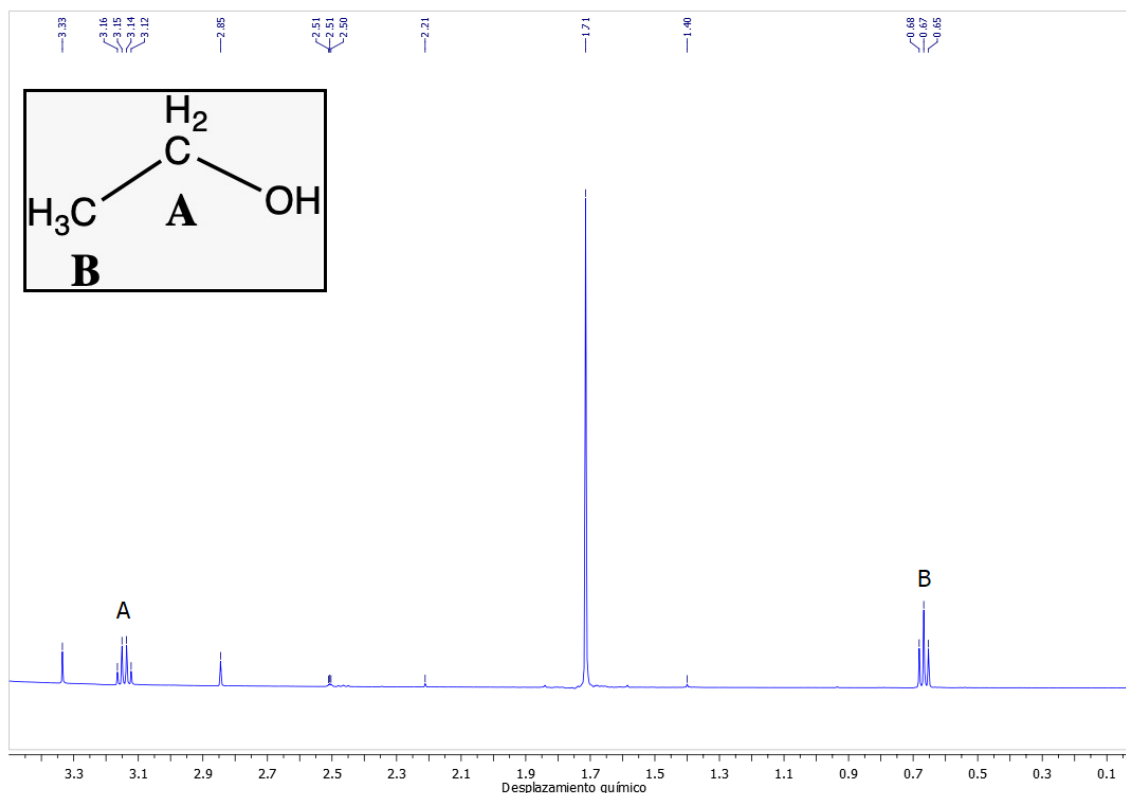


Figura 5. Espectro RMN ¹H de muestra destilada.

En la Figura 6, se muestra el espectro de RMN de ¹³C, en donde se puede observar una señal característica para el etanol a 57 ppm correspondientes al grupo -CH₂, y 17 ppm correspondientes al grupo -CH₃ aproximadamente ¹⁶.

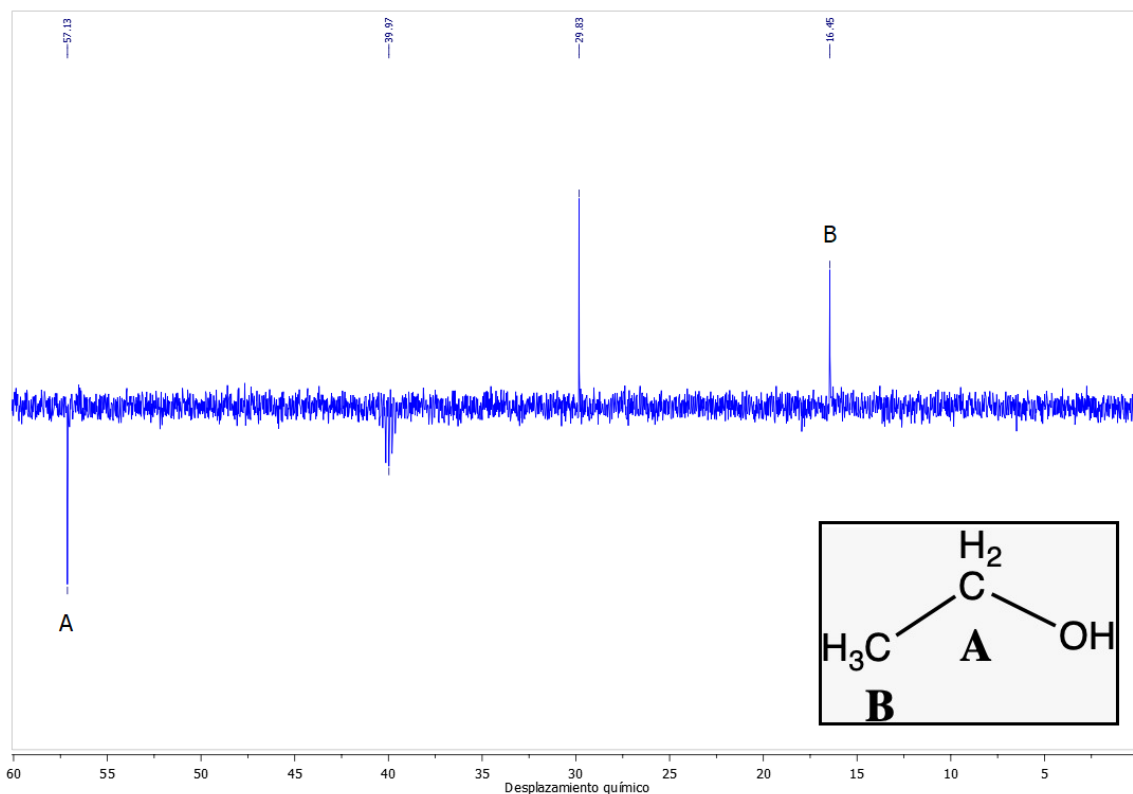


Figura 6. Espectro RMN ^{13}C de muestra destilada.

Todo el planteamiento metodológico trabajado conlleva a la obtención de bioetanol, la presencia de etanol sugiere que el proceso experimental llevado a cabo es el adecuado para la obtención de los productos deseados.

Espectroscopia UV-VIS

A través del estudio de espectroscopia UV-VIS, es posible conocer la cantidad de glucosa presente en la materia orgánica, durante cada paso del proceso. Esto resulta importante, ya que funge como indicador del desempeño de la levadura en la metodología planteada. Conocer el desempeño de la levadura permite evaluar si las condiciones manejadas durante la metodología son las óptimas para la producción de bioetanol. La curva de calibración que se realizó con soluciones patrón de glucosa arrojó una longitud de onda de máxima absorción de 488.213 nm. Presentó un factor de correlación lineal (R^2) de 0.9856. Los resultados obtenidos para la curva de calibración se muestran en la Tabla 4 y en la Figura 7.

Para algunas muestras, las altas concentraciones de glucosa presente ocasionan que no se pueda obtener el espectro UV-Vis.

Para conocer la cantidad de glucosa inicial, se analizaron las muestras no fermentadas, las cuales recibieron el mismo pretratamiento que las muestras fermentadas. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 4. Absorbancias de soluciones patrón de glucosa

Concentración [µg/ml]	Absorbancia
10	0.199
20	0.287
30	0.431
40	0.660
50	0.793
60	0.946
70	1.128
80	1.495
90	1.613
100	1.701
10	0.199

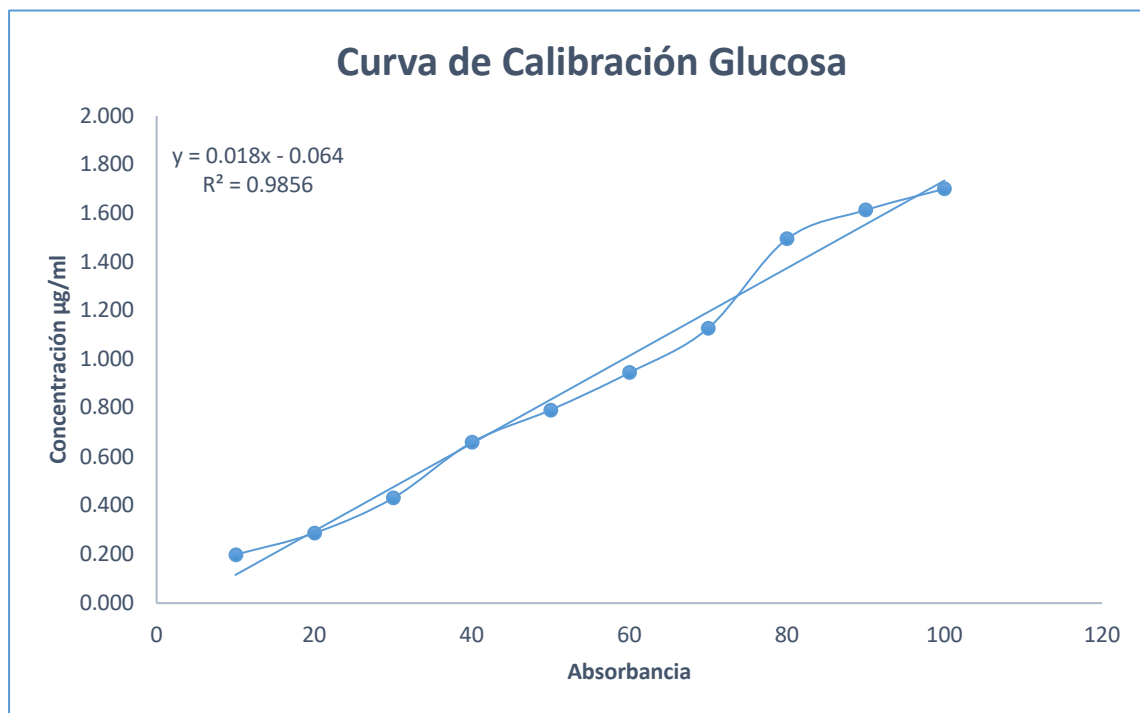


Figura 7. Curva de calibración con soluciones patrón de glucosa

Tabla 5. Absorbancias y concentración neta de glucosa en muestras sin fermentar

Muestra	Absorbancia	Dilución	Concentración [µg/ml]	Volumen de muestra [ml]	Contenido de glucosa [mg]
E4	1.3824	1:6	482.13	154	74.25
E5	1.4663	1:12	1020.20	154	157.11
E6	0.9728	1:6	345.60	154	53.22

Las muestras destiladas y su correspondiente sobrante de destilación presentan los contenidos de glucosa mostrados en la Tabla 6.

Tabla 6. Absorbancias y concentración neta de glucosa en fracción destilada de muestras fermentadas

Muestra	Absorbancia	Dilución	Concentración [µg/ml]	Volumen de muestra [ml]	Contenido de glucosa [mg]
E1 _{destilado}	0.171	Sin dilución	13.06	84.5	1.10
E2 _{destilado}	0.4059	Sin dilución	26.11	32.8	0.86
E3 _{destilado}	0.6095	Sin dilución	37.42	41.9	1.57

El residuo de E3 presentó una absorbancia mayor a 3, indicando una concentración muy alta de azúcares (Tabla 7). Debido a que las absorbancias mayores a 3 arrojan resultados imprecisos, no se reportan los resultados de esta muestra.

Tabla 7. Absorbancias y concentración glucosa en residuo de destilado de muestras fermentadas

Muestra	Absorbancia	Dilución	Concentración [µg/ml]	Volumen de muestra [ml]	Contenido de glucosa [mg]
E1 _{residuo}	1.10	1:10	1386.50		
E2 _{residuo}	0.86	1:10	327.50		

Derivado de los contenidos de glucosa en destilados y residuos sobrantes, se calcula el contenido total de glucosa de las muestras fermentadas (Tabla 8).

Tabla 8. Contenido total de glucosa en muestras fermentadas

Muestra	Contenido de glucosa en destilado [mg]	Contenido de glucosa en residuo sobrante [mg]	Contenido total de glucosa [mg]
E1	1.10	12.48	13.58
E2	0.86	53.71	54.57

Considerando la cantidad de azúcares totales iniciales y la cantidad de azúcares restantes después de la fermentación, es posible calcular el rendimiento del proceso al estimar que toda la glucosa perdida es transformada en etanol. Utilizando el promedio de la cantidad de azúcar en las muestras no fermentadas y tomando en cuenta que 1 mol de glucosa produce 2 moles de etanol¹⁷, el rendimiento teórico se obtiene como 0.048g de etanol. Para E1, la cantidad de azúcares totales sin utilizar es de 13.58 mg, dando como

resultado un rendimiento del 85.4%. Por otro lado, se obtiene que la muestra E2 tiene 54.57mg de azúcar sin utilizar después de la fermentación, obteniendo 41.6% de rendimiento. Debido a los problemas presentes en E3 para este análisis, no es posible obtener un cálculo cuantitativo del rendimiento para esta muestra, sin embargo, las altas absorbencias obtenidas indican una alta concentración de azúcar y por lo tanto un bajo rendimiento. Estos resultados muestran el efecto favorable de la detoxificación, las fuentes de nitrógeno y la agitación durante el proceso de fermentación.

Conclusiones

El bioetanol representa una alternativa ecológica al uso de combustibles fósiles, y resulta atractivo ya que puede ser sintetizado a partir de numerosos tipos de residuos de fruta y verdura, mismos que abundan en el municipio. Los resultados obtenidos muestran que el proceso de fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* en la síntesis de bioetanol se ve afectada positivamente por el uso de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, atmosfera de nitrógeno, agitación y detoxificación con tratamiento alcali. Asimismo, presenta a los residuos de zanahoria como un potencial tipo de materia orgánica capaz de ser usada para sintetizar etanol. La búsqueda de una metodología de síntesis ampliada continúa. Es importante plantear un protocolo que permita agrupar distintos tipos de residuo en un solo tratamiento, y que presente resultados satisfactorios. Para lograr esto, es necesario realizar análisis más profundos sobre la composición biomolecular de los residuos que fungen como materia prima de este proceso.

Agradecimientos

Los autores de este trabajo agradecen el apoyo otorgado por el Comité Pro-Mejoramiento del Agro Guanajuatense A.C. y el Parque de Innovación AGROBIOTEG S.C. Asimismo, se agradece el apoyo económico otorgado por el Instituto de Innovación, Ciencia y Emprendimiento para la Competitividad para el Estado de Guanajuato (IDEA GTO), a través del proyecto GT-PUL-02. Asimismo, se hace un extenso agradecimiento al Dr. Oracio Serrano Torres, por el apoyo en la caracterización de los materiales obtenidos.

Referencias

- Pérez Pérez, C. S., & Nieto Barajas, L. E. (2019). Análisis jerárquico de las emisiones de gases efecto invernadero en México. Realidad, Datos y Espacio. Revista Internacional de Estadística y Geografía, 10(3). <https://biblat.unam.mx/es/revista/realidad-datos-y-espacio-revista-internacional-de-estadistica-y-geografia/articulo/analisis-jerarquico-de-las-emisiones-de-gases-efecto-invernadero-en-mexico>
- Gobierno de México. (2018, May 18). Inventario Nacional de Emisiones de Gases y Compuestos de Efecto Invernadero. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. <https://www.gob.mx/inecc/acciones-y-programas/inventario-nacional-de-emisiones-de-gases-y-compuestos-de-efecto-invernadero>
- SMAOT (2020). Programa Estatal Para La Prevención y Gestión Integral de los Residuos de Manejo Especial de Guanajuato. Extraído desde: <https://smaot.guanajuato.gob.mx/sitio/manejo-integralderesiduos/197/Programa-Estatal-para-laPrevencion-y-Gesti%C3%B3n-Integral-de-losResiduos-de-Manejo-Especial-de-Guanajuato>
- Friedmann, A., & Penner, R. (Agosto, 2009). BIOCOMBUSTIBLES ALTERNATIVA DE NEGOCIOS VERDES. USAID. <https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/biocombustibles.pdf>
- Espinoza de Aquino, W., Goddard Juárez, M., Gutiérrez Arellano, C., & Bonfil Sande, Consuelo. (2009, February). Los biocombustibles. Comoves, 123.
- Gomez Castro, F. I., González-Guerra, G. M., Restrepo-Elorza, M. del P., Montiel-Carrillo, A. P., Álvarez-Rivera, K. Y., Linares-Luna, R. G., & Hernández, S. (2022). Residuos de frutas y vegetales como materias primas para la producción de biocombustibles: potencial en el estado de Guanajuato. Digital Ciencia@UAQRO, 15(1), 8–19. Recuperado a partir de <https://revistas.uaq.mx/index.php/ciencia/article/view/697>

- Sheehan, N. P., Ng, A., Murray, K., Martinez, E., Quell, K., Ouellette, C., Flagg, T., & Boyle, J. (2020). Bioenergy from biofuel residues and waste. *Water Environment Research*, 92(10), 1433–1439. <https://doi.org/10.1002/wer.1381>
- CEDRSSA, La producción y el comercio de los biocombustibles en México y el mundo (2020). CEDRSSA. Recuperado de http://www.cedrssa.gob.mx/post_la_n-produccin-n_y_el_n-comercio-n_de_los_n-biocombustibles-n_en_mn_xico_y_el_mundo.htm#:~:text=mayo%20del%202020-La%20producci%C3%B3n%20y%20el%20comercio%20de%20los%20biocombustibles%20en%20M%C3%A9xico,da%20en%20el%20sector%20autotransporte.
- DOF: 22/10/2018, LINEAMIENTOS por los que se establecen las especificaciones de calidad y características para etanol anhidro (bioetanol), biodiésel y bioturbotina puros. 22 de octubre del 2018. No. 16. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5541659&fecha=22/10/2018
- Clementz, A., Torresi, P. A., Molli, J. S., Cardell, D., Mammarella, E., & Yori, J. C. (2019). Novel method for valorization of by-products from Carrot discards. *LWT*, 100, 374–380. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.085>
- Sjulander, N., & Kikas, T. (n.d.). "Energies Origin, Impact and Control of Lignocellulosic Inhibitors in Bioethanol Production-A Review". <https://doi.org/10.3390/en13184751>
- Van der Veen, A. M., Ent, H., Baldan, (2013). "The BIOREMA project—part 3: International interlaboratory comparison for bio-ethanol test methods". *Accreditation and Quality Assurance*, 18(1), 41–50. <https://doi.org/10.1007/s00769-012-0945-8>
- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F. (1956) "Colorimetric method for determination of sugars and related substances". *Anal Chem* 28:350-356
- Jiménez D., Abreu A., Víctor E., Tellez A., & Gracida J. (2012). "Obtención de azúcares fermentables mediante hidrólisis ácida de Beta vulgaris L." *Revista internacional de contaminación ambiental*, 28(2), 151-158. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992012000200006&lng=es&tng=es.
- D. Gregg, J. N. Saddler, Bioconversion of Lignocellulosic residue to etanol, *Process Flowsheet Development. Biomass and bioenergy*, Vol. 9, No. 1-5 (1995) 287-302]
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. (2005). "Spectrometric identification of Organic Compounds". John Wiley & sons.
- Hernández C., Díaz A. (2017). "Obtención de bioetanol a partir de hidrolizados de fruta" [Trabajo fin de master]. Universidad de Oviedo.