

Obtención de jarabes glucosados por hidrólisis ácida de yuca (*Manihot esculenta*)**Obtaining glucosados syrups by acid hydrolysis of cassava (*Manihot esculenta*)**

PURATA-PÉREZ, Nora*†, ANTONIO-CRUZ, Rocío, SOSA-DOMÍNGUEZ, Noé, DEL ANGEL-MAYA, Flor

Instituto Tecnológico de Villahermosa / Tecnológico Nacional de México

ID 1^{er} Autor: Nora, Purata-Pérez / ORC ID: 0000-0002-6823-6912, CVU CONACYT ID: 328771

ID 1^{er} Coautor: Rocío, Antonio-Cruz / ORC ID: 0000-0003-3638-5152, arXiv Author ID: ROCIO-ANTONIO, CVU CONACYT ID: 25705

ID 2^{do} Coautor: Noé, Sosa-Domínguez / ORC ID: 0000-0001-5442-8422, arXiv Author ID: t-3476-2018, CVU CONACYT ID: 239841

ID 3^{er} Coautor: Flor, Del Angel-Maya / ORC ID: 0000-0001-8209-9574, CVU CONACYT ID: 948200

Recibido 23 Junio, 2018; Aceptado 30 Septiembre, 2018

Resumen

El bioetanol es utilizado para la sustitución de combustibles derivados del petróleo, que es un recurso no renovable con problemas de abastecimiento, efectos contaminantes y contribución al cambio climático. La producción de bioetanol se centra hoy en la fermentación de glucosa procedente de biomasa azucarada o amilácea, los principales productores de bioetanol son Estados Unidos y Brasil que lo obtienen a partir de maíz y caña de azúcar. En éste trabajo se reportan resultados de la hidrólisis ácida de harina de yuca (*Manihot esculenta*) para obtener azúcares glucosados fermentables para su posterior obtención de etanol. Para la hidrólisis ácida se utilizó un diseño experimental 3X2X3 con tres variables: tiempo, volumen de la reacción y concentración de ácido sulfúrico, los azúcares reductores obtenidos se caracterizaron mediante la técnica DNS de Miller. El análisis de los resultados reporta las condiciones óptimas para la hidrólisis de yuca en el rango de las variables estudiadas

Hidrólisis, Jarabes glucosados, DNS, Yuca**Abstract**

Bioethanol is used for the substitution of petroleum fuels, which is a non-renewable resource with problems of supply, polluting effects and contribution to climate change. Bioethanol production is currently focused on the fermentation of glucose from sugary or starchy biomass. The main producers of bioethanol are the United States and Brazil, which obtain it from corn and sugarcane. In this work we report results of the acid hydrolysis of cassava flour (*Manihot esculenta*) to obtain fermentable glucosated sugars for its subsequent ethanol production. For acid hydrolysis, an experimental 3X2X3 design was used with three variables: time, volume of the reaction and concentration of sulfuric acid, the reducing sugars obtained were characterized by Miller's DNS technique. The analysis of the results reports the optimal conditions for the hydrolysis of cassava in the range of the variables studied

Hydrolysis, Glucose syrups, DNS, Cassava

Citación: PURATA-PÉREZ, Nora, ANTONIO-CRUZ, Rocío, SOSA-DOMÍNGUEZ, Noé, DEL ANGEL-MAYA, Flor. Obtención de jarabes glucosados por hidrólisis ácida de yuca (*Manihot esculenta*). Revista de Simulación y Laboratorio 2018, 5-16: 14-19.

*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: npurata@itvillahermosa.edu.mx)

†Investigador contribuyendo como primer Autor

Introducción

En la actualidad la generación de alternativas energéticas distintas a las ya convencionales obtenidas principalmente de la explotación del petróleo, ha conllevado al uso de materias primas naturales dando lugar a los llamados biocombustibles dentro de los cuáles destaca el bioetanol.

Para satisfacer plenamente la demanda de etanol como alcohol carburante a nivel mundial, se han desarrollado diferentes metodologías durante las dos últimas décadas y se han empleado diferentes sustratos no convencionales como materia prima para su producción, entre ellos los más competitivos son la caña de azúcar y el maíz, debido a que a partir de estos sustratos se logran alcanzar excelentes rendimientos; pero para abarcar y satisfacer la demanda actual de este combustible se requiere ampliar la cobertura de los cultivos y/o sustratos destinados para tal fin, sin poner en riesgo la alimentación humana.

La búsqueda de alternativas en la producción de etanol a partir de materias primas no tradicionales, es necesaria debido al aumento de la producción del mismo en el mundo, el cual ha estado a la par con el desarrollo de nuevas tecnologías que permiten obtener alcohol a partir de residuos de: madera, desechos sólidos y todos los materiales que contengan celulosa y hemicelulosa, lo que permite revalorizar los residuos de varias industrias convirtiéndolos en materia prima para la obtención de etanol.

La biomasa lignocelulósica rica en polímeros de celulosa y hemicelulosa entre 75-80%, los cuales pese a su dificultosa degradación, es posible mediante procesos químicos, físicos y/o biológicos desdoblarlos a azúcares monosacáridos para su posterior conversión a etanol.

Las apuestas en investigación están dirigidas al estudio e incursión de pretratamientos viables para la potencialización de los productos lignocelulósicos, aumentándoles el contenido de azúcares para su posterior obtención de bioetanol por fermentación. La hidrólisis ácida es un paso importante en la conversión de los residuos a bioetanol.

Los biocombustibles o bioenergéticos son los obtenidos a partir de la biomasa y pueden ser o no transformados o procesados. Se distinguen tres tipos de biocombustibles sólidos, líquidos y gaseosos (Ruiz, 2017).

Estados Unidos produce el 58% del bioetanol (15329 millones de galones) a partir de maíz; Brasil el 27% a partir de caña de azúcar; de la Unión Europea, el principal productor es Francia quien lo produce a partir de la remolacha de azúcar y del trigo. China el 3% a partir de granos básicos. Canadá lo produce a partir del trigo y paja. En México se produjo menos del 0.3 % del total mundial en 2016 (RFA, 2016).

Todo producto que contenga hidratos de carbono como azúcares, almidón o celulosa sirve de materia prima (Barroso, 2010). El proceso de producción industrial de bioetanol combustible a partir de materias primas para las tecnologías de primera generación, en este caso de caña de azúcar y remolacha, es simple, ya que estos insumos contienen sacarosa disuelta, la cual es una molécula fácilmente asimilable por bacterias y levaduras, sin requerir hidrólisis previa. El proceso tiene 4 etapas principales: extracción de jugos, fermentación, destilación y secado.

Cuando se utilizan almidones como materias primas (provenientes de maíz, trigo, sorgo, etc.) el proceso consta de cinco etapas principales: molienda, hidrólisis, fermentación, destilación y secado (García & Masera, 2016).

Una de las etapas más importantes para la conversión de biomasa lignocelulósica en productos para los biocombustibles es el tratamiento de la biomasa. Los métodos se pueden dividir en 3 diferentes categorías: físicos, químicos y biológicos (Cuervo y col., 2009). Aunque a veces estos tratamientos requieren de una combinación entre ellos (Menon & Rao, 2012).

El nombre científico de la yuca es *Manihot esculenta*, la raíz de la yuca es cilíndrica y oblonga, y alcanza el metro de largo y los 10 cm de diámetro. La cáscara es dura y leñosa, y no comestible. La pulpa es firme e incluso dura antes de la cocción, surcada por fibras longitudinales más rígidas; muy ricas en hidratos de carbono y azúcares, se oxida rápidamente una vez desprovista de la corteza. Según la variedad, puede ser blanca o amarillenta (Cock, 1989).

La planta de yuca tiene un tamaño y forma variables de acuerdo al tipo de ramificación. En la mayoría de las plantas propagadas vegetativamente, el tronco se divide a cierta altura en dos o tres ramas, las que a su vez se dividen en otras tantas, dando a la copa forma redondeada (Rojas, 2012).

La yuca recibe diferentes nombres comunes: yuca en el norte y sur de América, América Central y las Antillas, mandioca en Argentina, Brasil y Paraguay, cassava en países anglo parlantes, guacamote en México, aipi y macacheira en Brasil y mhogo en swahili en los países de África oriental. (Jiménez 2016).

La gráfica 1 muestra la producción de yuca en México la cual se ha mantenido en promedio en 19000 ton de 2007 a 2018.

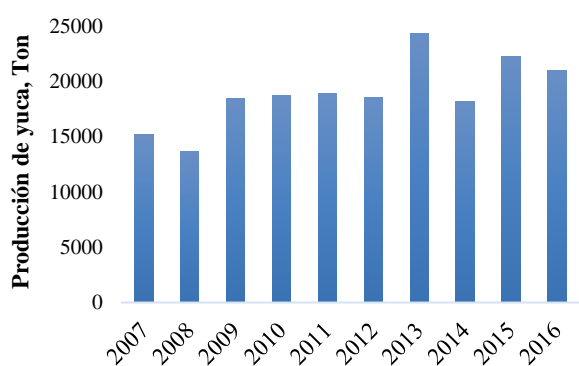


Gráfico 1 Producción de yuca en México (2007-2016)

Desarrollo experimental

1. Preparación del sustrato

Las piezas de yuca se eligieron buscando que fueran productos recién extraídos del cultivo, las piezas se lavaron y cortaron en trozos de 1 ± 0.1 cm. Los trozos de yuca se secaron por exposición directa al sol por dos días sobre un pedazo de papel aluminio, se molieron en una picadora convencional (pica-lica moulinex).

Se tamizaron para evitar grumos grandes (los de mayor tamaño se volvieron a moler). Finalmente fueron secados en estufa a 50°C hasta alcanzar un peso contante del sustrato.

2. Hidrólisis ácida

Se realizaron algunos experimentos previos para establecer las tres variables que más efecto tiene en la hidrólisis ácida, se estimó que la temperatura óptima para los experimentos sería de $120 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (con un diseño experimental $2 \times 3 \times 3$ con las variables volumen de reacción, concentración de ácido sulfúrico y tiempo como se muestra en la tabla 1.

Variables	Niveles		
	1	2	3
Temperatura	$121 \pm 1^{\circ}\text{C}$		
Volumen de reacción, mL	15	20	
Concentración de H_2SO_4 , %	2	3	4
Tiempo, h	2	3	4
Variable de respuesta, mg/mL	Concentración de azúcares reductores		

Tabla 1 Diseño experimental de hidrólisis ácida

Los **azúcares reductores** son aquellos azúcares que poseen su grupo carbonilo (grupo funcional) intacto, y que a través del mismo pueden reaccionar como (dadores de electrones) con otras moléculas que actuarán como oxidante (aceptando electrones). Esta propiedad permite determinar la concentración de una disolución de azúcar midiendo la cantidad de agente oxidante que es reducido, como ocurre en la determinación del contenido de glucosa en muestras de sangre u orina para detectar la diabetes mellitus, en este documento se referirán solamente como azúcares.

Para experimentos de hidrólisis de yuca se pesó un gramo de muestra y se depositó en el matraz, se añadió el volumen de H_2SO_4 a la concentración requerida y se mezclaron; se colocó en un baño a reflujo a 121°C el tiempo requerido (según diseño experimental). Al término de la reacción se dejó enfriar, se filtró y se neutralizó a un pH de 7.0 con hidróxido de sodio saturado. Se registra el volumen total de cada muestra. Cada experimento se realizó por duplicado (Aradillas, 2012).

3. Cuantificación de azúcares reductores en los jarabes glucosados

El contenido de azúcares reductores presentes en los jarabes hidrolizados se determinó utilizando el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) con dextrosa como estándar.

La cuantificación consistió en agregar 1.0 mL del reactivo de DNS a un volumen de 1 mL de la muestra del jarabe glucosado, se calentó a ebullición por 20 min, se aforo a 10 mL y se determinó la absorbancia en el espectrofotómetro a 540 nm (Miller, 1959).

Con los datos obtenidos se calculó la cantidad de azúcares reductores totales de acuerdo a la ecuación que se obtuvo de la elaboración de la curva estándar de dextrosa, donde la variable dependiente (y) es la cantidad de azúcares reductores totales y la variable independiente es la absorbancia de tal muestra (x), (Aradillas, 2012), (Bello y col., 2006).

Resultados

El diseño experimental permitió establecer los dieciocho experimentos de hidrólisis ácida que se realizaron junto con una repetición por cada experimento.

La tabla 2 muestra los valores de la concentración de azúcares reductores en g/L de todos los experimentos realizados. La concentración de azúcares reductores en g/L se calculó mediante la ecuación 1, obtenida de la curva de calibración, donde x es el valor de la absorbancia de cada experimento.

$$y = 2781.3x + 141.7 \quad (1)$$

Concentración de azúcares reductores en g/L			H ₂ SO ₄		
			2%	3%	4%
15 mL	2 h		63.5	59.4	45.7
			63.6	60.4	49.8
	3 h		72.1	54.9	50.2
			64.3	49.4	41.3
	4 h		64.7	70.7	44.2
			56.1	64.8	40.6
20 mL	2 h		46.9	42.1	39.3
			42.4	39.4	51.1
	3 h		52.2	47.0	37.8
			48.7	40.1	40.1
	4 h		50.4	45.1	36.9
			59.4	43.2	34.5

Tabla 2 Concentrado de resultados de hidrólisis ácida de yuca

Como ya se mencionó en el diseño experimental se realizaron experimentos con dos volúmenes diferentes 15 y 20 mL, de los resultados reportados en la tabla 3.

Los efectos totales de las variables evaluadas se presentan en el gráfico 1, los valores de los niveles utilizados para cada variable se mostraron en la tabla 1.

En el gráfico 1 se observa que para el efecto concentración de H₂SO₄, al aumentar la concentración de éste, la concentración de azúcares reductores disminuye, algo similar ocurre al aumentar el volumen del ácido utilizado, también se ve claramente que el tiempo no parece tener tanto efecto en el rendimiento de la reacción, aunque si aumenta al aumentar el tiempo de reacción, no es tan significativo.

Las interacciones de los efectos Concentración- tiempo se muestran en el gráfico 2, la concentración de azúcares disminuye al aumentar el tiempo de reacción mostrando un comportamiento muy similares a las 3 concentraciones evaluadas, obteniéndose los valores más altos al menor tiempo (2 h) con valores promedios de 50.3 g/L sin afectar variar el tiempo de reacción como ya se había mencionado.

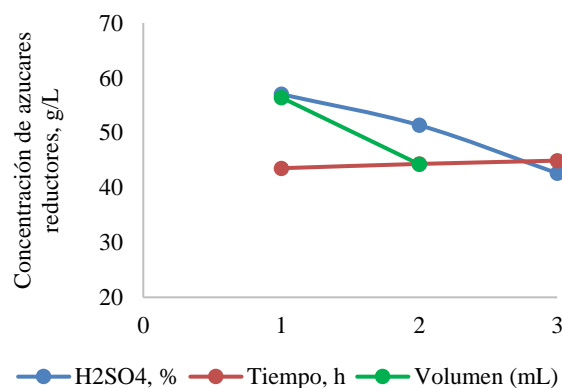


Gráfico 1 Interacciones de los efectos totales a los tres niveles evaluados

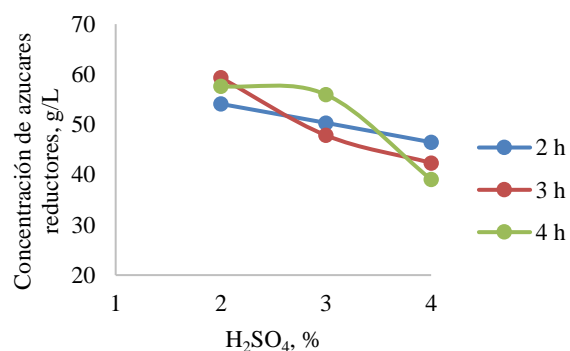


Gráfico 2 Interacciones de los efectos Concentración de H₂SO₄-Tiempo para la hidrólisis ácida de yuca

Las interacciones de los efectos Concentración- Volumen se muestran en el gráfico 3, la concentración de azúcares disminuye al aumentar la concentración de ácido sulfúrico para los dos volúmenes evaluados, obteniéndose el mayor rendimiento a azúcares reductores de 64.05 g/L con 20 mL de H₂SO₄ 2%, con un aumento significativo para cada concentración evaluada al aumentar el volumen de ácido de 15 a 20 mL.

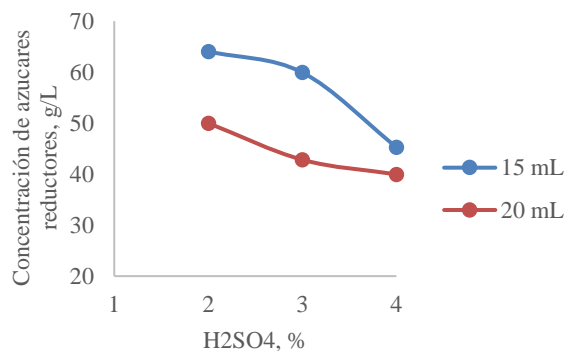


Gráfico 3 Interacciones de los efectos Concentración de H₂SO₄-Volumen para la hidrólisis ácida de yuca

En cuanto a las interacciones Tiempo-Volumen (gráfico 4), no se observan grandes variaciones a los tres tiempos evaluados a ninguno de los dos volúmenes, pero sí existe mayor rendimiento aparente a volúmenes de ácido de 15 mL, con valores promedio de 56.42 y 44.25 g/L a 15 y 20 mL de H₂SO₄ respectivamente, sin embargo éstos es solo una apreciación, debido a que las reacciones realizadas a 20 mL tienen volúmenes finales de jarabes glucosados mayores que los realizados a 15 mL,

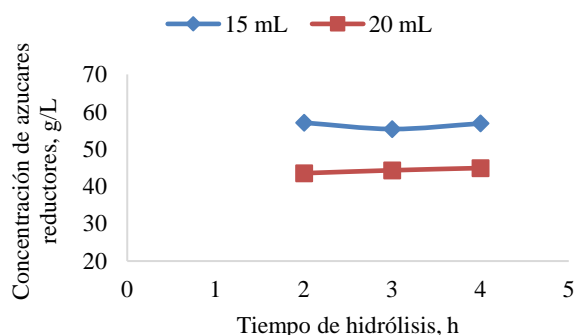


Gráfico 4 Interacciones de los efectos Tiempo de hidrólisis-Volumen de H₂SO₄ utilizado

Por tal motivo se calculó el rendimiento de la reacción en mg/g de sustrato de yuca utilizado para cada experimento, multiplicando la concentración de azúcares reductores de los jarabes (g/L) por el volumen total obtenido de cada experimento, modificando así la tabla 3 en la tabla 4.

Concentración de azúcares reductores en mg/g sustrato de yuca				
		H ₂ SO ₄		
		2%	3%	4%
15 mL	2 h	914.7	844.4	906.4
		859.0	835.9	864.7
	3 h	938.6	934.2	990.1
		924.2	839.2	972.4
	4 h	777.7	773.5	707.0
		877.1	867.2	669.9
20 mL	2 h	956.5	1017.3	905.7
		985.2	798.9	876.8
	3 h	804.7	822.5	928.6
		751.6	746.4	986.7
	4 h	845.4	953.1	886.3
		845.4	962.4	759.8

Tabla 3 Concentrado de resultados de hidrólisis ácida de yuca

Se realizó nuevamente el gráfico de los efectos totales principales (gráfico 5), donde se encuentran cambios si la comparamos con el gráfico 1 donde tanto el factor volumen como la concentración de H₂SO₄ disminuían, ahora en el gráfico 5 permanecen casi constantes, la variable que si modifica su variación es el tiempo, en el gráfico 1 éste permanecía casi constante a los largo de los 3 valores evaluados, mientras que en el gráfico 5 disminuye para el segundo factor.

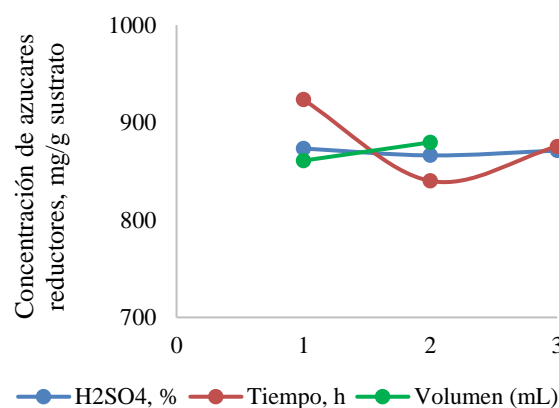


Gráfico 5 Interacciones de los efectos totales evaluados (para concentraciones de azúcares reductores en mg/g sustrato)

De acuerdo al análisis de los resultados se encontraron las condiciones óptimas para la hidrólisis de yuca, las cuales se concentran en la tabla 4.

Variables	
Temperatura	121 ± 1 °C
Volumen de reacción, mL	15
Concentración de H ₂ SO ₄ , %	2
Tiempo, h	2
Variable de respuesta, mg/mL	Concentración de azúcares reductores

Tabla 4 Condiciones óptimas para la hidrólisis ácida de yuca

Conclusiones

El uso de un sustrato con concentraciones altas de almidón es de mayor relevancia para la experimentación de reacciones de hidrólisis con las que se puede obtener altas concentraciones de azúcares reductores de los jarabes resultantes.

La determinación de las condiciones óptimas de hidrólisis contribuye a la adquisición de la mayor cantidad posible de azúcares obtenidos del sustrato.

El resultado de este proyecto de investigación de hidrólisis ácida de yuca (*Manihot Esculenta*) permitirá alcanzar con mayor eficacia la conversión de yuca a bioetanol mediante la fermentación alcohólica de los jarabes glucosados obtenidos.

Referencias

Aradillas, T. O. (2012). Producción de azúcares reductores como resultado de la hidrólisis termoquímica de piña (*Ananus Comosus*, Tesis de Licenciatura, Instituto Tecnológico de Villahermosa. México.

Barroso, C. M. (2010). Pretratamiento de la biomasa celulósica para la obtención de etanol en el marco de una biorrefinería. Tesis, Universisias Politécnica de Madrid.

Bello G., D., Callera B., E., & Díaz M., Y. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. ICIDCA, <http://www.redalyc.org/pdf/2231/223120664006.pdf>.

Cock, J. H. (1989). La yuca, nuevo potencial para el cultivo tradicional. Ebook. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/54119>

Cuervo, L., Folch, J., & Quiroz, R. (2009). Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol. Bio Tecnología, Vol.13 No. 3.

García, B., & Masera, C. (2016). Estado del Arte de la Bioenergía en México. Red Temática de Bioenergía (RTB) del Conacyt, 81-96.

Jimenez I., D., Abreu C., A., López Y L., V., Tellez J., A., & Graciada R., J. N. (2012). Obtención de azúcares fermentables mediante hidrólisi ácida de *Betta vulgaris* L. Contam. Ambie., 28(2) 151-158.

Jiménez R. E. (2016). Obtención y caracterización, física y química del almidón de yuca, variedad guayapo. Tesis de grado. Universidad Nacional "Pedro Ruíz Gallo". Perú.

Menon, V., & Rao, M. (2012). Trends in bioconversión of lignocelulose; biofuels, platform chemicals & biorefinery concep. Prog. Energy Combust Sci, (38) 522-550.

Miller, G. (1959). Use of Dinitrosalicilic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. Analytical Chemistry, 31(3): 426-428.

RFA. (2016). Word fuel ethanol production. Obtenido de Renewable Fuels Association: <http://www.ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/#1454099081080-c193f577-ec5e>

Rojas, R.A. (2012). Estudio de las características fisicoquímicas de la yuca (*manihot esculenta crantz*) y sus efectos en la calidad de hojuelas fritas para su procesamiento en la empresa pronal S.A. Tesis de grado. Universidad Tecnológica de Pereira.

Ruiz, R. C. (2017). Tendencias del uso de bioenergéticos en el estado de tabasco, México. Ciudad de México, México: Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional.