

Destaca por su alta productividad de hidratos de carbono y un elevado potencial de mejora genética

Obtención sostenible de bioetanol a partir de patata

En el presente artículo se estudia el proceso de obtención de bioetanol a partir del cultivo de la patata. Se trata de un cultivo energético con un gran potencial para satisfacer la demanda creciente de bioetanol sostenible y que podría convertirse en un cultivo interesante para un sector necesitado de alternativas.

J. Matias, J. González, L. Royano, R.A. Barrena y J. Cabanillas.

Centro de Investigación Agraria Finca La Orden-Valdeasequera. Junta de Extremadura. Guadajira (Badajoz).

La fermentación alcohólica es conocida desde tiempos inmemoriales. Las primeras informaciones escritas e iconográficas encontradas, referentes al vino, datan del año 2500 a.C. Hoy en día, la fermentación alcohólica tiene otro papel importante en la sociedad: la obtención de bioetanol.

Existe una larga historia acerca de la transformación de la patata en bioetanol^[1]. La producción de alcohol a partir de patata ha sido estudiada desde finales del siglo XIX. A finales de dicho siglo, el químico Anselmo Payen recomendó a la industria alcoholera francesa usar la patata como materia prima para la obtención de alcohol. La fermentación de los jugos extraídos de los tubérculos de patata y su posterior destilación ha continuado empleándose en la fabricación de cervezas, vinos y bebidas espirituosas y fue usado como combustible durante las dos

guerras mundiales^[2]. En EE.UU., en el S.XX, en la década de los años 30 y de los años 80, existieron varios proyectos ambiciosos para impulsar la obtención de bioetanol a partir de patata, pero ambos fracasaron principalmente por problemas comerciales^[1].

En la actualidad, los órganos de gobierno de la Unión Europea y de los EE.MM. fomentan el desarrollo de los biocarburantes, con el objetivo de reducir las emisiones de gases de efecto invernadero y por la necesidad de encontrar fuentes de energía alternativas al petróleo que aumenten la seguridad del abastecimiento. Así, la Unión Europea crea, mediante la Directiva 2003/30, un marco comunitario dirigido a fomentar la utilización de biocarburantes. Establece una proporción mínima del 5,75% para diciembre de 2010, compromiso que España incrementó hasta el 5,83%. Los objetivos energéticos del Plan de Energías Renovables (PER) de España 2005-2010 establecen 2.200.000 tep (toneladas equivalentes de petróleo) de biocarburantes a nivel nacional para 2010, de las que 750.000 tep corresponden a bioetanol. La Directiva 2009/28, que modifica la Directiva 2003/30, incrementa hasta el 10% la cuota de energía procedente de fuentes renovables que se debe alcanzar en el sector del transporte antes de 2020 y se establecen una serie de criterios de sostenibilidad que deben cumplir los biocarburantes al amparo de esta normativa, entre los que se encuentra la contribución a la reducción de gases de efecto invernadero. De todo ello se deduce que la demanda de bioetanol seguirá aumentando en los próximos años, pero éste deberá ser producido siguiendo criterios de sostenibilidad.

El etanol puede ser producido a partir de un amplio abanico de materias primas, incluyendo la madera, residuos orgánicos y cultivos. El etanol procedente de biomasa es también conocido como bioetanol. El bioetanol





Foto 1. Parcela experimental en el Centro de Investigación Agraria Finca La Orden-Valdesequera.



Foto 2. Explotación de patata en el norte de Italia.



Foto 3. Detalle de una planta de patata (tallos y tubérculos).

es un líquido incoloro, soluble en agua y volátil que puede ser utilizado como combustible y como aditivo en combustibles^[3]. El etanol se usa también para la síntesis del ETBE (5-etil-ter-butil-eter), que puede ser utilizado como carburante, o como aditivo para incrementar el número de octanos^[4]. Las principales mate-

rias primas que se emplean en la actualidad a nivel mundial para la fabricación de bioetanol son la caña de azúcar, el maíz y, en menor medida, el trigo. Sin embargo, el ambicioso reto marcado por Bruselas necesita de un profuso desarrollo de los cultivos energéticos, caracterizados por proporcionar unos rendimientos elevados con unos requerimientos reducidos. También, es necesario mejorar los procesos de transformación, mediante la optimización de métodos tradicionales y el desarrollo de nuevas tecnologías.

Por otra parte, la situación del sector agrario español en los últimos tiempos es, cuanto menos, preocupante. Gran parte de los cultivos tradicionales se encuentran al límite de la rentabilidad. Los datos de 2009 reflejan una tendencia regresiva del sector que debería ser observada con mucha atención y grave preocupación^[5]. Es evidente que se necesita urgentemente un cambio, en el que la investigación e innovación tienen un papel fundamental en la búsqueda de nuevos nichos de mercado, para conseguir orientar la producción a la demanda del mercado, en línea con los objetivos de la Reforma Intermedia de la PAC de 2003.

El cultivo de la patata

Originaria de Norteamérica, la patata (*Helianthus tuberosus* L.) es una planta de la familia de las compuestas, anual y herbácea, con un elevado potencial para la producción de bioetanol, conocido desde hace tiempo^[1] (foto 1). Se trata de un poliploide con 102 cromosomas^[1, 6], por lo que es probable que proceda de una hibridación entre dos especies distintas. La referencia más antigua de este cultivo por un europeo corresponde a Champlain hacia el año 1605, quien probablemente introdujo la planta en Europa a través de Francia años más tarde^[1]. Según la zona recibe diversos nombres comunes: patata, *Jerusalem artichoke*, *Topinambour* o *Topinabo*, *Girasole*, *Aguaturma* y numerosos más^[1]. En la actualidad su cultivo se reduce prácticamente a fincas experimentales. Su utilidad inicial más importante, para la alimentación animal, ha sido sustituida por otras plantas forrajeras^[6]. No obstante, existen algunas explotaciones muy localizadas que lo cultivan con destino a la alimentación humana (foto 2). La patata tiene unas propiedades saludables muy interesantes, derivadas principalmente de su riqueza en inulina y fructooligosacáridos.

La patata destaca por ser una planta con una productividad de hidratos de carbono muy elevada, superior a los cereales y semejante a la remolacha azucarera pero más rústica, menos exigente y con alto potencial de mejora genética^[6], que se ve dificultada por el alto porcentaje de esterilidad de la semilla de esta especie^[1]. El contenido y composición de azúcares en la patata ha sido investigado por diversos autores, que han estudiado la influencia de diferentes variables: variedad^[7-13], fecha de recolección^[7, 10, 12], abonado y requerimientos hídricos^[11, 13]. La patata puede producir hasta 80 ó 90 toneladas de tubérculo por hectárea (foto 3), con una riqueza en azúcar del 17% del peso fresco. La inulina es el principal polisacárido de reserva presente en los tubérculos de patata. Está formada por dos tipos de cadenas lineales de oligosacáridos (FOS). En las cadenas GFn ($n = n^{\circ}$ moléculas de fructosa) existe una molécula de sacarosa terminal, mientras que las cadenas Fm ($m = n^{\circ}$ moléculas de fructosa) están formadas exclusivamente por moléculas de fructosa^[14]. La oligofructosa es un subgrupo de la inulina, consistente en

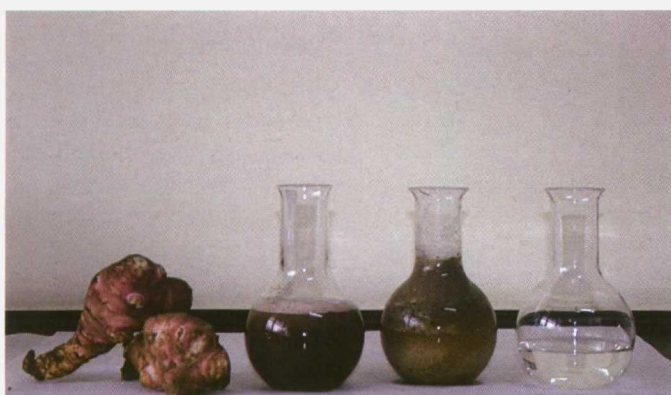


Foto 4. Fases de obtención de bioetanol a partir de patata.



Foto 5. Máquina para limpieza de tubérculos.

polímeros con un $DP \leq 10^{15}$. La inulina de la patata tiene un grado de polimerización (DP) medio de 8 a 10^{16} . La enzima Fructan 1-exohidrolasa (1-FEH; EC 3.2.1.80), presente en el tubérculo de la patata, es la responsable de la despolimerización natural de la inulina y oligosacáridos^[1,15].

La patata destaca por ser una planta poco exigente en nitrógeno, a diferencia de otros cultivos como el maíz. Apenas requiere unos 100 kg de N por hectárea. Por ello, es especialmente adecuada a zonas vulnerables a la contaminación de nitratos. Las necesidades de fertilización son del orden de 70 a 100, 80 a 100 y 150 a 250 kg por hectárea de N-P-K respectivamente^[1], por lo que pueden quedar cubiertas con 800 kg por hectárea del complejo 9-18-27.

La patata es considerada una especie con una relativa alta tolerancia al estrés hídrico, aunque para conseguir unos rendimientos elevados en nuestras condiciones es necesario un aporte generoso de agua. Requiere una dosis ligeramente algo inferior a la del

maíz. Se recomiendan en torno a los 600-700 mm por ciclo.

La patata es un cultivo muy resistente a plagas y enfermedades^[1,6]. Aunque se debe tener en cuenta que es un cultivo poco extendido. Apenas hay descritas plagas importantes y, en caso de aparecer, el daño suele ser tan pequeño que no se recomienda aplicar ningún tratamiento químico. En cuanto a enfermedades, el mal de esclerocio (*Sclerotinia sclerotiorum*) es la más frecuente, si bien, puede también verse afectadas por oídio y pudriciones del cuello, entre otras. Las plantas atacadas por *Sclerotinia* se suelen ver aisladas, o formando rodales, sin que se presenten en general proporciones epidémicas. Como método de control se recomiendan las rotaciones de 3-5 años y eliminación de malas hierbas próximas que puedan servir de huésped^[1]. Un inconveniente de la patata es la mala conservación de los tubérculos, que son muy sensibles a las pudriciones, aunque en el suelo pueden aguantar varios meses tras su maduración.

Proceso de obtención de bioetanol a partir de tubérculos de patata

La patata puede ser utilizada con fines energéticos mediante fermentación alcohólica de sus azúcares, con producciones potenciales en nuestra zona de 4.000-6.000 litros de bioetanol por hectárea^[6] y de más de 8 t de materia seca de biomasa residual, aprovechable también para fines energéticos.

Las fases del proceso de obtención de bioetanol a partir de tubérculos de patata son (foto 4): limpieza del tubérculo (foto 5), extracción del jugo y azúcares, fermentación alcohólica, destilación y deshidratación.

El proceso de fermentación de los azúcares de la patata presenta algunas dificultades debido a la particularidad de su composición, que ha sido estudiada por numerosos autores^[2, 6, 17-27]. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* ha sido utilizada en muchos de estos trabajos. No tiene capacidad para fermentar la inulina y oligosacáridos.



Foto 6. Siembra mecanizada de ensayos de patata.



Foto 7. Prueba de mecanización de cosechado de patata.



Foto 8. Detalle cosecha mecanizada de patata.

dos, por lo que se necesita hidrolizar. Sin embargo, su uso se justifica por su alto ritmo de actividad fermentativa y por su tolerancia a concentraciones elevadas de etanol: ade-

más, su disponibilidad comercial y manejo no suponen ningún problema. La hidrólisis puede ser ácida o enzimática, mediante el uso de inulinasas comerciales, pero desde el punto de vista medioambiental es preferible la hidrólisis enzimática. Otros microorganismos empleados con éxito han sido *Zynomonas mobilis* y *Kluyveromyces marxianus*, este último con la ventaja de producir sus propias inulinasas. La fermentación del jugo de la patata se ha ensayado mediante los principales métodos industriales de obtención de etanol: por lotes (batch), por lotes alimentados (fed-batch), semicontinuos y continuos^[1].

Estudios realizados en la finca La Orden-Valdesequera

En el Centro de Investigación Agraria Finca La Orden-Valdesequera, de la Junta de Extremadura, se vienen realizando estudios sobre la patata desde hace ya algunos años con el objetivo de optimizar, con criterios de sostenibilidad, el proceso de obten-

ción de bioetanol a partir de este cultivo.

En concreto, en la actualidad se están realizando los siguientes estudios:

1. Evaluación del rendimiento agronómico, contenido y composición de azúcares y calidad de la biomasa de diez clones disponibles en la colección de patata de La Orden (K8, D9, Huerto de Moya, Nahodka, Violeta de Rennes, Columbia, China, Boniche, C-13 y C-17).
2. Estudio de la influencia del abonado, fecha de recolección, localidad y año en el rendimiento de tubérculos y biomasa, contenido y composición de azúcares en tubérculos y calidad de la biomasa.
3. Mecanización del cultivo.
4. Optimización del proceso de extracción del jugo y azúcares.
5. Optimización de la fermentación mediante hidrólisis enzimática.
6. Optimización del proceso de fermentación en planta piloto.
7. Pruebas de bioetanol en vehículos. Control de emisiones en motor Flexifuel.

Seguimos investigando para la obtención y adaptación de Nuevas Variedades



Otras variedades recomendadas

Badiel Trigo

Ciclo Alternativo
Gran Fuerza
Excelente producción

Bramante Trigo

Ciclo Largo
Media Fuerza, extensible
Gran calidad

Jimena Cebada

Ciclo Alternativo
Gran producción
Buen Grano

Calatrava Avena

Ciclo Largo. Grano negro.
Gran rendimiento
en grano y forraje

Castilla Veza

Ciclo Alternativo
Muy productiva
135% sobre testigos

Trigos

Marius
Manda
Premio
Pelayo

Avena

Previsión
Cobeña

Yeros

Moro 131
Taranto

Cebadas

Vanessa
Maraca
Kika
Braemar
Publican

Centeno

Petkus

Guisante

Arthur
Cherokee

Veza

Senda
Libia
Vaguada

Garbanzo

Amelia
Eulalia

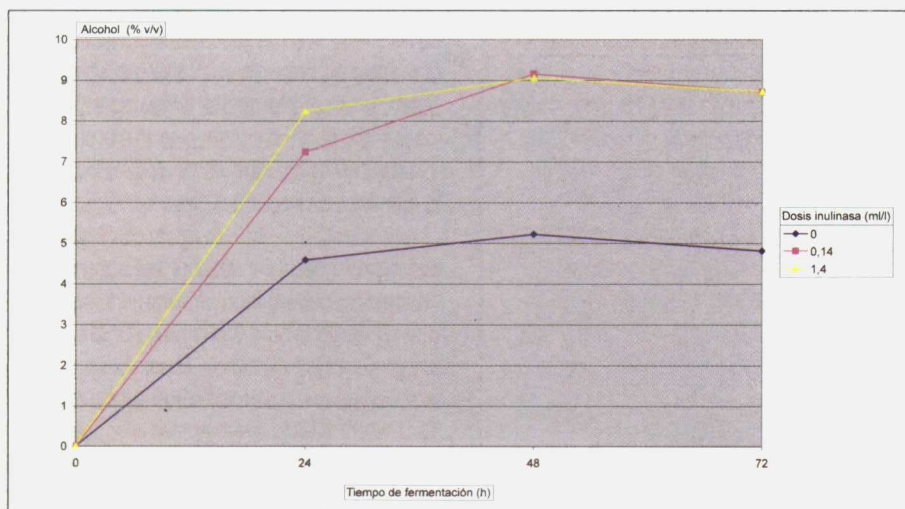
para cosechar beneficios

902 12 24 12

www.grupoagrosa.com

FIGURA 1

Comparación de dosis de inulinasa.



Resultados

De todos los estudios expuestos anteriormente destacamos los principales resultados obtenidos hasta la fecha.

Evaluación del rendimiento agronómico

Los clones Nahodka, Boniche, D9, C-17, en condiciones óptimas, tienen un rendimiento próximo a las 70-80 t de tubérculos por hectárea. Su fecha de recolección más adecuada se sitúa alrededor del mes de diciembre. El clon Huerto de Moya destaca por su precocidad, ya que en nuestras condiciones puede ser recolectado en el mes de septiembre, con rendimientos alrededor de 50 t de tubérculos por hectárea. Con ello se evitan los riesgos de cosechas invernales, especialmente problemáticas en terrenos pesados, y se amplía el margen de trabajo potencial de la industria transformadora.

Estudio de la influencia de las técnicas de cultivo

Para conocer la influencia del abonado, fecha de recolección, localidad y año en el rendimiento de tubérculos y biomasa, contenido y composición de azúcares en tubérculos y calidad de la biomasa, se han realizado dos ensayos en dos localidades diferentes, Finca La Orden (Badajoz) y Talayuela (Cáceres), con diseño estadístico de parcelas divididas durante dos años consecutivos (2008 y 2009). La parcela principal ha sido la dosis de abo-

nado (0-600-1.200 kg/ha de 9-18-27 en fondo) y la subparcela ha sido la variedad. Los tubérculos procedentes de los ensayos se conservan a -25°C. En la actualidad nos encontramos en la fase de análisis de las muestras. Por otra parte, se ha desarrollado un método para la determinación en tubérculos de patata del contenido y composición (glucosa, fructosa, sacarosa, kestosa e inulina) de azúcares, grado de polimerización medio de la inulina y distribución de las distintas cadenas que la conforman, mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) asociada a un espectrómetro de masas (LC-masas).

Para el análisis de azúcares en patata se han empleado diversos métodos. Hoy en día, la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) es una herramienta muy útil para este análisis^[14, 28]. Es muy frecuente el empleo del HPLC asociado a un detector amperométrico (HPAE-PAD) para el análisis de carbohidratos y también asociado a un detector de índice de refracción (RI). Sin embargo, se requiere un espectrómetro de masas para conseguir un análisis más preciso, en el que se minimicen las interferencias de otros componentes, que sea más rápido y sencillo y en el que se reduzca el riesgo de alteración de la muestra, principalmente la inulina. El espectrómetro de masas mejora la cromatografía de alta eficacia debido a su alta sensibilidad y selectividad^[14]. Consideramos que este nuevo método puede ser una herramienta muy útil para la optimización del proceso de obtención de bioetanol a partir de patata.

De los primeros análisis realizados se puede anticipar que la dosis de abonado influye en el contenido de los azúcares y en el rendimiento total por hectárea.

Mecanización del cultivo

Hasta la fecha se ha probado con éxito una plantadora de patatas de dos surcos (**foto 6**). En cuanto a la recolección, se ha ensayado una cosechadora de patatas de un surco, que permite arrancar y ensacar el tubérculo con un coste reducido de mano de obra (**fotos 7 y 8**).

Optimización del proceso de fermentación

Como material de partida se empleó jugo de patata extraído mediante licuado, con una concentración de azúcares totales próxima a los 200 g l⁻¹. Las principales variables estudiadas ha sido las siguientes: tiempo de fermentación, temperatura de fermentación, dosis de inulinasa comercial y dosis de inóculo. Los resultados óptimos obtenidos en las primeras fase de estudio han sido las siguientes: 48 horas de fermentación con una dosis de 0,14 ml l⁻¹ de inulinasa comercial (**figura 1**), a una temperatura de 30°C (**figura 2**), obtenida de *Aspergillus niger* y con 17 Ug⁻¹ de actividad enzimática específica, y un inóculo con una densidad de población de 60 x 10⁹ células por litro de jugo de *Sacharomyces cerevisiae*.

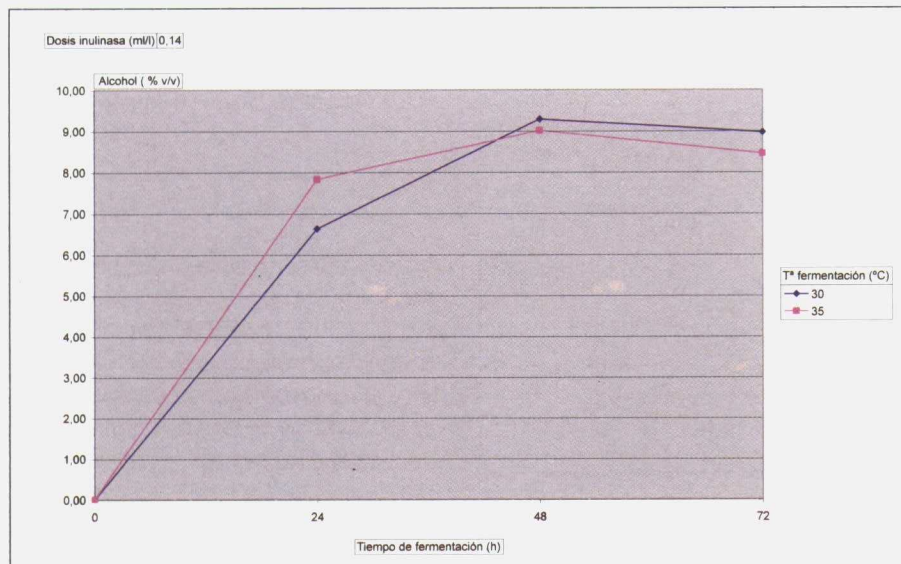
Conclusiones

La aprobación de la Directiva 2009/28/CE puede suponer el respaldo definitivo para impulsar cultivos energéticos como la patata, necesarios para conseguir el reto propuesto por la UE de incrementar el uso de biocarburantes sostenibles.

La patata es un cultivo con un alto potencial para producción de bioetanol, conocido desde hace años, y que ha sido aprovechado en algunos momentos de la historia. Su elevado rendimiento, junto con sus bajos requerimientos, especialmente de abonado nitrogenado y de tratamientos fitosanitarios, sumado a las reducidas necesidades energéticas requeridas en el proceso de transformación, justifican la sostenibilidad del bioetanol obtenido a partir de este cultivo. No obstante, han existido algunas dificultades que han im-

FIGURA 2

Comparación de temperaturas de fermentación.



pedido probablemente su difusión, como su recolección pero que, actualmente, no deberían suponer un limitante a su desarrollo. Es por ello que, en el Centro de Investigación Agraria Finca La Orden-Valdesequera se trabaja para solventar aquellas dificultades que

conlleven estos cultivos alternativos. En la actualidad, nos encontramos en una fase bastante avanzada de los estudios señalados anteriormente con respecto a la papa por lo que pensamos que es el momento para promover este cultivo y su aplicación energética.

El proceso de obtención de bioetanol a partir de los tubérculos de la papa es un proceso bastante sencillo, pese a sus peculiaridades. El coste energético de la transformación es bastante menor que en el caso de los cereales, en los que se requieren temperaturas elevadas del orden de los 85°C durante unas dos horas para hidrolizar el almidón. Por otra parte, las necesidades de enzimas comerciales son reducidas, por lo que su coste no debe suponer una limitación del proceso.

El criterio seguido en nuestras investigaciones ha estado condicionado en todo momento a la sostenibilidad del proceso y la búsqueda de procesos de transformación simples que no requieran grandes infraestructuras y permitan su aplicación en explotaciones o cooperativas del sector agrícola, para facilitar al agricultor la posibilidad de conseguir un mayor valor añadido a su producto y evitar la estrangulación del mercado vía precios. Además, al tratarse de un producto con una mala conservación y con un alto contenido en agua, su transporte a grandes distancias es inviable, si bien existe la posibilidad de realizar concentrados que faciliten su conservación y transporte. 1

Bibliografía ▼

- [1] Kays, S.J. and Nottingham, S.F. Biology and Chemistry of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). CRC Press Taylor and Francis Group. Boca Raton, London, New York. 2008.
- [2] Guiraud, J.P., Caillaud, J.M. and Galzy P. Optimization of alcohol production from Jerusalem Artichoke. *European J.Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1982;14:81-85
- [3] Schlosser, J.F. Alcohol combustible: La experiencia de Brasil. IV Premio Eladio Aranda. Ed. Agrícola Española. Madrid 1995.
- [4] Trinidad, M. Los bioalcoholes como mejorantes de las gasolinas. IV Premio Eladio. Aranda. Ed. Agrícola Española. Madrid 1995.
- [5] Lamo de Espinosa, J. La tendencia regresiva del campo español. *Vida Rural.* 2010;302. Carta del Director.
- [6] Ayerbe Mateo-Sagasta, L. y Conde García J.R. El cultivo de la papa y utilidad de sus tubérculos. *Revista Agricultura* 1993;727:140-149
- [7] Baldini, M. et al. Evaluation of new clones of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) for inulin and sugar yield from stalks and tubers. *Ind. Crops Prod.* 2003;19:25-40.
- [8] Ben Chekroun, M et al. Comparison of fructose production by 37 cultivars of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *N. Z. J. Crop Hort* 1996; 24:115-120.
- [9] Curt, M. D. et al. Clone precocity and the use of *Helianthus tuberosus* L. stems for bioethanol. *Ind. Crops Prod* 2006; 24:314-320.
- [10] Kockis, L., Liebhard, P. and Praznik W. Effect of seasonal changes on content of profiles soluble carbohydrates in tubers of different varieties of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *J. Agric. Food Chem* 2007; 55:9401-9408.
- [11] Losavio, N., Lamascese, N. y Vonella, A.V. Water requirements and nitrogen fertilization in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) grown under mediterranean conditions. *Acta Hort.* 1997;449: 205-209.
- [12] Schorr-Galindo, S. y Guiraud, J.P. Sugar potential of different Jerusalem artichoke cultivars according to harvest. *Bioresource-Technology* 1997; 60(1):15-20.
- [13] Schittenhelm S. Agronomic Performance of Root of Chicory, Jerusalem artichoke and Sugarbeet in Stress and Nonstress Environments. *Crop Sci.* 1999; 39:1815-1823.
- [14] Bruggink C. et al. Analysis of Carbohydrates by anion exchange chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2005; 1085:104-109.
- [15] Ninnes KR. Inulin and Oligofructose: What Are They? *J. Nutrit* 1999;129(7):1402S-1406S
- [16] Vijn I. y Smeekens S. Fructan: More than a Reserve Carbohydrate. *Plant Physiol* 1999;120:351-359.
- [17] Bekers M. et al. Fermentation Jerusalem artichoke of by *Zymomonas* and *Saccharomyces*. *Nutrition Food Sci.* 2008; 38 (2):128-135.
- [18] Margaritis A., Bajpai P. and Cannel E. Optimization studies for the bioconversion of Jerusalem Artichoke tubers to ethanol and microbial biomass. *Biotechnol. letters* 1981;3 (10):595-599.
- [19] Margaritis A., Bajpai P. Effect of sugar concentration in Jerusalem Artichoke Extract on *Kluyveromyces marxianus* Growth and Ethanol Production. *Appl. Environ. Microbiol.* 1983;45 (2):723-725
- [20] Negro, M. J. et al. Inulin Containing Biomass for Bioethanol Production: Fructose Extraction Methods and Fermentation Assays. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2006;132:922-932
- [21] Onsoy T. et al. Ethanol production from Jerusalem Artichoke by *Zymomonas mobilis* in batch fermentation. *KMITL Sci. Tech. J.* 2007;7(S1):55-60.
- [22] Szambelan K. and Chrapkowska KJ. The influence of selected microorganisms on ethanol yield from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2003;12/53 (2):49-52
- [23] Szambelan K, Nowak J and Chrapkowska KJ. Comparison of bacterial and yeast ethanol fermentation yield from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers pulp and juices. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 2004; 3(1):45-53
- [24] Szambelan K. and Nowak J. Acid and enzymatic hydrolysis of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers for further ethanol production. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* 2006; 9 (4). art. 38
- [25] Szambelan K, Nowak J. and Jelei H. The composition of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) spirits obtained from fermentation with bacteria and yeasts. *Eng. Life Sci.* 2005;5 (1):68-71
- [26] Thuesombat P et al. The batch ethanol fermentation of Jerusalem Artichoke of using *Saccharomyces cerevisiae*. *KMITL Sci. Tech. J.* 2007; 7(S2):93-96
- [27] Xiang-Yang Ge and Wei-Guo Zhang. A Shortcut to the Production of High Ethanol Concentration from Jerusalem Artichoke Tubers. *Food Technol Biotechnol* 2005; 43(3):241-246.
- [28] Chen Z, Jin X, Wang Q, Lin Y, Gan L. Confirmation and determination of sugars in soft drink products by IEC with ESI-MS. *Chromatographia* 2009;69, 761-764.