

PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE JARABES GLUCOSADOS DERIVADOS DE CÁSCARAS DE NARANJA Y PIÑA

Lesly P. Tejada, Candelaria Tejada, Ángel Villabona, Mario R. Alvear, Carlos R. Castillo, Daniela L. Henao, Wilfredo Marimón, Natali Madariaga, Arnulfo Tarón

Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, (Colombia)

Resumen

El objetivo de este trabajo fue obtener bioetanol a partir de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) y piña (*Ananás sativus*). Se determinó el contenido de azúcares reductores de los materiales lignocelulósicos. Mediante un pretratamiento físico se redujo el tamaño de las muestras y, la remoción de lignina se realizó con hidróxido de sodio y sulfato de calcio. La hidrólisis ácida se llevó a cabo con ácido sulfúrico al 5% a 125°C y 15 psi para obtener un jarabe azucarado. Este jarabe fue fermentado con *Saccharomyces cerevisiae* en un reactor con agitación durante 7 horas. El etanol obtenido fue separado por microdestilación. Se determinó el contenido de etanol por cromatografía de gases y se encontró, finalmente, que con las cáscaras de naranja se obtuvo mayor contenido de etanol, 8.4 mg/g, que con las cáscaras de piña, 1.0 mg/g.

Palabras clave: Etanol, biomasa lignocelulósica, cáscaras de naranja, cáscaras de piña, hidrólisis ácida

Abstract

The aim of this study was to obtain bioethanol from shells of orange (*Citrus sinensis*) and pineapple (*Ananas sativus*). Reducing sugars was determined in lignocellulosic materials. Through a physical pretreatment samples size was reduced and removal of lignin was done with sodium hydroxide and calcium sulfate. The acid hydrolysis was carried out with sulfuric acid to 5% at 125 ° C and 15 psi to produce sugary syrup. This syrup was fermented with *Saccharomyces cerevisiae* in a reactor with agitation for 7 hours. The ethanol was obtained separately by microdistillation. Ethanol content was determined by gas chromatography and it was found that orange shells produced higher ethanol content, 8.4 mg /g than pineapple shells, 1.0 mg /g.

Keywords: Bioethanol, lignocellulosic biomass, orange shells, pineapple shells, acid hydrolysis

Introducción

Las técnicas actuales de producción de etanol a partir de cereales y caña de azúcar presentan el problema de la seguridad alimentaria. De igual forma, la producción de etanol carburante por medio de estas materias primas no ha llenado las expectativas con respecto a la disminución de gases invernaderos y de aumento en la producción de energía con respecto a la gastada. Por otro lado, según Uyazán & Gil (2003), en el mundo se producen aproximadamente 1600 millones de toneladas por año de residuos sólidos, los cuales generan graves problemas, no sólo por el deterioro progresivo del medio ambiente, sino también desde el punto de vista económico puesto que los costos de recolección, transporte y disposición final son cada vez mayores.

En el caso de Colombia, las cifras del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial indican que en un día el país produce 27300 toneladas de basura de las cuales el 65% son residuos orgánicos. Por estas razones, se está impulsando el estudio de la producción de bioetanol de tercera generación, el cual es producido a partir de biomasa lignocelulósica residual, compuesta de acuerdo con Olsson & Hahn-Hiigerdl (1996) por dos polímeros de carbohidratos, la celulosa (35-50%) y la hemicelulosa (15-25%), y un polímero fenólico, la lignina (20-25%).

El bioetanol de tercera generación se puede obtener a partir de jarabes glucosados producidos en la hidrólisis de residuos lignocelulósicos. Una de las principales fuentes de la cual se puede obtener jarabe glucosado son las cáscaras de frutas que en su gran mayoría son consideradas biomásas desvalorizadas. En las industrias de la Costa Caribe colombiana, frutas como la naranja y la piña, tienen gran influencia en el mercado, pero sus cáscaras son desechadas, desaprovechando el valor que éstas tienen y además que el uso de este subproducto agrícola

se limita a la alimentación de ganado bovino. Según Rincón, *et al.* (2005), las cáscaras de naranja representan aproximadamente del 45 al 60% del peso de la fruta. El bioetanol obtenido por fermentación de estas materias primas que contienen hidratos de carbono, se adapta particularmente bien para sustituir a la gasolina en los motores de encendido por chispa. La producción de etanol combustible a partir de material lignocelulósico se ha convertido en una alternativa interesante en la utilización de este tipo de residuos que podrían abrir nuevos mercados para su revalorización. En la producción de bioetanol partir de material lignocelulósico tienen lugar varios procesos físicos, químicos y biológicos como son: reducción de tamaño, remoción de lignina, hidrólisis ácida, fermentación y destilación, según lo reportan Teubner, *et al.* (1999).

El tema del etanol lignocelulósico ha sido investigado ampliamente a nivel internacional. En Japón, Sugimoto, *et al.* (2008) han desarrollado un proceso para el pretratamiento de la biomasa lignocelulósica con ozono para el rompimiento de las moléculas de lignocelulosa, con buenos resultados. En España en el Centro de investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, CIEMAT, Oliva (2003) se optimizó la explosión por vapor de biomasa de madera chopo sobre "*Kluyveromyces marxianus*" en un proceso de sacarificación y fermentación simultáneas, con distintos tratamientos de destoxificación: neutralización, evaporación, procesos de oxidación avanzada y aplicación de zeolitas. En Suecia, Lindstedt (2003) reporta el montaje de una planta piloto para obtener etanol a partir de residuos de la madera. Se desarrolló una hidrólisis ácida con ácido sulfúrico y dióxido de azufre en dos etapas seguida de una etapa para hidrólisis enzimática. En Estados Unidos, Zhang, *et al.* (2007) usaron ácido fosfórico concentrado como solvente no volátil para la celulosa, un solvente orgánico altamente volátil (acetona)

y agua. Durante el fraccionamiento se logró separar ácido acético, lignina, hemicelulosa y celulosa amorfa, la cual fue hidrolizada a glucosa y fermentada hasta etanol. En México, García, *et al.* (2005) en la Universidad de Querétaro, investigaron la hidrólisis de derivados de la industria papelera, residuos agrícolas, y municipales con fines de obtener etanol. Como resultados han logrado el diseño y montaje de un reactor para la hidrólisis de estos residuos. En Venezuela, Aguilar & Canizales (2005) de la Universidad Veracruzana lograron la obtención de azúcares fermentables a partir de residuos lignocelulósicos de la industria cervecera mediante hidrólisis ácida y desarrollaron un modelo cinético. En la Universidad de Zulia (Venezuela), Ferrer, *et al.* (2002) han estudiado la cinética de la hidrólisis ácida del bagacillo de caña para obtener azúcares reductores. El mejor resultado se consiguió con ácido sulfúrico al 6% y 4 horas de reacción. Adicionalmente, han realizado la hidrólisis ácida de la pulpa de café con ácido sulfúrico.

A nivel nacional se destaca que en Bogotá, Urbaneja, *et al.* (1997), en la Universidad Nacional de Colombia, se realizó a escala piloto la hidrólisis ácida del bagazo de la caña de azúcar con ácido sulfúrico, se analizaron variables como porcentaje de sólidos en el bagazo, temperatura y tiempo de reacción y se obtuvieron los mejores resultados a 50°C y bajos porcentajes de sólidos. En Medellín, en la Universidad EAFIT, Mejía *et al.* (2007) reportan la hidrólisis ácida y enzimática a residuos del mango común, se obtuvieron mejores resultados con la hidrólisis ácida usando ácido sulfúrico en proporción de 0.5%. En la Universidad Nacional de Colombia, Monsalve, *et al.* (2006) obtuvieron etanol a partir de cáscaras de banano y almidón de yuca mediante hidrólisis ácida con ácido sulfúrico y fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* y *Zymomonas mobilis*. Se obtuvieron concentraciones cercanas al 8% de etanol.

Metodología

Materias primas usadas

La naranja (*Citrus sinensis*) es una especie subtropical y en Colombia se destina exclusivamente al mercado en fresco. En la ciudad de Cartagena de Indias (Colombia), las cáscaras de naranja son desechadas en grandes cantidades en hoteles, restaurantes y ventas estacionarias de jugos. A su vez, en el departamento de Bolívar (Colombia), existen dos despulpadoras de frutas y una industria de vino de naranja, que dentro de los residuos que generan, se incluyen las cáscaras de naranja. Por su parte la piña (*Ananás sativus*) es el fruto tropical mejor posicionado ya que su comercialización se orienta a los principales países desarrollados. La composición en porcentaje de una piña típica de la variedad *Cayena lisa* es: Pulpa (33%), corazón (6%), cáscara (41%) y corona (20%). Al igual que las cáscaras de naranja, las cáscaras de piña son desechadas en hoteles, restaurantes y despulpadoras de frutas.

Caracterización del material

Las materias primas fueron caracterizadas para determinar el porcentaje de humedad y de azúcares reductores presentes; para ello se realizó el método básico reportado por Acosta (2007) para la humedad y método volumétrico de Fehling para la determinación de hidratos de carbono.

Eliminación de Lignina

La cáscaras de piña y naranja se redujeron a un tamaño de partícula aproximado de 2.0 mm, teniendo presente la separación de los restos de pulpa. Se pesaron muestras de 50 gr y se realizó la eliminación de lignina, sumergiendo las muestras en una solución de NaOH 0.1N durante 15 minutos. Posteriormente se adicionó sulfato de calcio y se dejó en repo-

so por 3 horas de acuerdo a lo reportado por Hoyos & Pérez (2005). Por último, se separó el material particulado de la solución por decantación.

Hidrólisis

La hidrólisis ácida se llevó a cabo, adicionando 50 ml de ácido sulfúrico al 5% por cada 100 gramos de cáscara de fruta, a una temperatura de 125°C y 15 psi, regulada por medio de un autoclave, durante 15 minutos, como lo reportan Sun & Cheng (2002). Luego los jarabes obtenidos se separaron de los componentes que precipitaron, por centrifugación. Se determinó el contenido de azúcares en los jarabes obtenidos.

Fermentación

Después de la hidrólisis, se ajustó el pH a 4,5 – 5,0 con NaOH 5 N, y como nutrientes se utilizó 0,25 % de fosfato (NH₄)₃PO₄, nitrógeno y se inoculó con 0,1 % P/V de levadura activa seca comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) disuelta en un poco del jarabe como lo reportan Cuadrado & Vélez (2006). La fermentación se realizó en erlenmeyers de 250 ml, con un volumen efectivo de trabajo de aproximadamente 50 ml en anaerobiosis a 30°C y 200 rpm, en agitadores orbitales Nouva II, por 5 horas, según Ruíz & Arias (1997), controlando el pH y la temperatura de la fermentación alcohólica. Se tomaron muestras cada 90 minutos durante 7 horas y posteriormente a las 24 horas.

Destilación simple

El proceso se llevó a cabo calentando hasta 100°C en un baño maría la solución contenida en un picnómetro conectado a un condensador.

El proceso completo se describe en la gráfica 1.

Gráfica 1. Diagrama del procedimiento metodológico



Resultados y discusión

La caracterización de las cáscaras de piña y naranja se reporta en la tabla 1. De acuerdo con las determinaciones realizadas, las cáscaras de naranja presentaron menor contenido de humedad y mayor contenido de azúcares reductores, por lo tanto se explica que durante la hidrólisis ácida se obtuviera un jarabe glucosado con mayor contenido de azúcares, 80 g/l comparado con las cáscaras de piña que alcanzaron una concentración de 45 g/l.

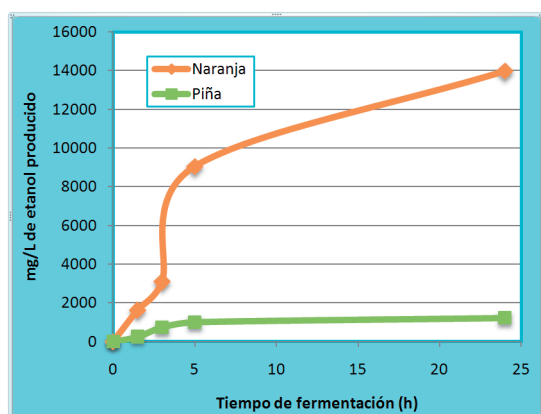
Tabla 1. Caracterización de las cáscaras de frutas

Cáscaras	%Humedad	% Azúcares
Naranja	69.35	2.788
Piña	84.07	0.883

En el estudio de la hidrólisis ácida con cáscaras de banana, Monsalve, *et al.* (2006), bajo las mismas condiciones de estudio se reportaron jarabes con contenido de azúcares de 20 g/l, en comparación, las cáscaras de piña y naranja ofrecen mejor resultado.

Durante la fermentación de los jarabes glucosados se realizó la determinación de los porcentajes de etanol por cromatografía de gases a diferentes intervalos de tiempo, como se muestra en la gráfica 2. Se observa una mayor producción de etanol para las cáscaras de naranja con respecto a las cáscaras de piña en un tiempo de 24 horas. La fermentación de las cáscaras de piña se completó en 5 horas aproximadamente.

Gráfica 2. Seguimiento de la fermentación



La determinación final de etanol y metanol obtenido se muestra en la Tabla 2. El contenido de etanol fue considerablemente mayor que con las cáscaras de piña. Adicionalmente, con las cáscaras de naranja, no se obtuvo metanol, lo cual es ventajoso porque disminuye los costos de separación.

Tabla 2. Mediciones de etanol y metanol

Cáscaras	Etanol (mg/L)	Metanol (mg/L)
Naranja	13981	0
Piña	1225	38

Al realizar el balance de masa, se estableció que la producción de etanol a partir de cáscaras de frutas es de poco rendimiento debido a que se requieren grandes pesos de estos residuos. A partir de las cáscaras de naranja se obtuvo 8,4 mg de etanol por cada gramo de cáscaras y a partir de las de piña, 1,0 mg de etanol por cada gramo de cáscaras.

Conclusiones

Se pudo observar que las cáscaras de naranja son las de mejor comportamiento; poseen un mayor porcentaje de azúcares reductores y por consiguiente sus jarabes glucosados produjeron mayor contenido de etanol.

El rendimiento en la obtención de etanol a partir de cáscaras de piña y naranja es bajo, sin embargo, teniendo en cuenta que las cáscaras son un residuo no aprovechado y de alta producción en los sectores hotelero e industrial, a gran escala puede constituirse en una alternativa de interés.

Referencias

- Acosta, A. (2007). Manual de procedimientos del laboratorio de Bromatología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Cartagena. Cartagena, Colombia.
- Aguilar, N. & Canizales, M. (2005). Residuo Lignocelulósico Cervecerero, una nueva materia prima. Universidad Veracruzana. Revista Cerveza y Malta. 168, pp. 37-41. Consultado el 15 de Agosto de 2008 en <http://dialnet.unirioja.es>
- Cuadrado, B. & Vélez, M. (2006). Práctica N° 1. Obtención de vino de frutas. Guía de Prácticas de Microbiología Industrial. Universidad de Cartagena. Cartagena, Colombia.
- Ferrer, J. R., Páez, G., Arenas de Moreno, L., Chandler, C., Mármol, Z. & Sandoval, L. (2002). Cinética de la hidrólisis ácida del bagacillo de caña de azúcar. Universidad de Zulia. Revista Facultad de Agronomía, 19, (1), pp. 23-33.
- García, L., Pless, R. & Gonzalez, E. (2005). Diseño de un proceso para la hidrólisis de residuos lignocelulósicos. Universidad Tecnológica San Juan del Río, Querétaro. Consultado el 18 de Noviembre de 2008 en <http://www.cicataqro.ipn.mx>
- Hoyos, L. & Pérez, Y. (2005). Pretratamiento del Material Lignocelulósico de la planta de banano y su fruto para la producción de jarabe. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Colombia.
- Lindstedt, J. (2003). Alcohol production from lignocellulosic feedstock. BioAlcohol Foundation Sweden, Fachtagung. Consultado el 11 de Enero de 2009 en <http://www.fv-sonnenenergie.de.pdf>
- Mejía, L. F., Martínez, H. A., Betancourt, J. E., & Castañón, C. E., (2007). Aprovechamiento del residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica L.*) en la obtención de azúcares fermentables. Ingeniería y Ciencia, 3, (6), pp. 41-62.

- Monsalve, J., Medina, V. & Ruíz, A. (2006). Producción de etanol a partir de la cáscara de banano y de almidón de yuca. *Dyna Revista Facultad de Minas*, 73, (150), pp. 21-27.
- Oliva, J. (2003). Efecto de los productos de degradación originados en la explosión por vapor de biomasa de chopo sobre "*Kluyveromyces marxianus*". Centro de investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, CIEMAT. Madrid, España.
- Olsson, L. & Hahn-Hägerdl, B. (1996). Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. *Enzyme and Microbial Technology*. 18, pp. 312-331.
- Rincón, A., Vásquez, M. & Padilla, F. (2005). Composición química y compuestos bioactivos de las harinas de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*) cultivadas en Venezuela. Unidad de Análisis de alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela.
- Ruiz, A. & Arias, E. (1997). Fermentación Alcohólica de Mucílago de Café con Levaduras. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Colombia.
- Sugimoto, T., Magara, K. & Hosoya, S. (2008). Ozone Pretreatment for Ethanol Production Using Lignocellulosic Materials. *Forestry and Forest Products Research Institute*. 20 January. Consultado el 15 de Diciembre de 2008 en <http://www.biomass-asia-workshop.jp>
- Sun, Y. & Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production. A review. *Bioresource Technol.* Vol. 83, pp. 1-11.
- Teubner, C., Gysin, H., Levin, H., Hansen, H., Schönfeldt, S., Ehlert, W. & Lechtaler, W. (1999). El gran libro de los frutos exóticos. Grupo Ángel Rey (Import, Export & Marketing). Editorial Everest, pp. 21-27.
- Urbaneja, G., Ferrer, J., Páez, G., Arenas de Moreno, L., Colina, G. & Sandoval, Luis. (1997). Hidrólisis ácida y caracterización de carbohidratos de la pulpa de café. *Universidad Nacional. Revista Facultad de Agronomía*. Vol. 14, pp. 265-275.
- Uyazán, A. & Gil, I. (2003). Simulación de la Deshidratación de Etanol Azeotrópico por Destilación Extractiva. Tesis Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Zhang, YHP., Ding, SY., Mielenz, J.R., Cui, JB., Elander, R.T., Laser, M., Himmel, M.E., McMillan, J.R. & Lynd, L.R. (2007). Fractionating Recalcitrant Lignocellulose at Modest Reaction Conditions. *Biotechnology and Bioengineering*. 97, Vol. 2, pp. 214-223.

Sobre los autores

Lesly P. Tejada Benítez

Ingeniera Química, Magister en Ingeniería Ambiental, Candidata a Magister en Ingeniería Mecánica, Docente del Programa de Ingeniería Química de la Universidad de Cartagena
lptbenitez@gmail.com

Candelaria Tejada Tovar

Ingeniera Química, Especialista en Química Analítica, Magister en Educación, Docente del Programa de Ingeniería Química de la Universidad de Cartagena

Ángel Villabona Ortiz

Ingeniero Químico, Especialista en Ingeniería Sanitaria, Docente del Programa de Ingeniería Civil de la Universidad de Cartagena

Arnulfo Tarón Dunoyer

Químico Farmaceuta, Magister en Biotecnología, Docente del Programa de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Cartagena

Mario R. Alvear, Carlos R. Castillo, Daniela L. Henao, Wilfredo Marimón, Natali Madariaga

Estudiantes de Ingeniería Química de la Universidad de Cartagena

Los puntos de vista expresados en este artículo no reflejan necesariamente la opinión de la Asociación Colombiana de Facultades de Ingeniería.