

**Estudio Teórico del Proceso de Hidrólisis Enzimática en Jarabes Glucosados  
Obtenidos de Residuos de Cáscara de Naranja (Género *Citrus*) para la  
Producción de Bioetanol**

Laura Natalia Torres Herrera

Universidad Nacional Abierta y a Distancia  
Escuela de Ciencias Básicas, Tecnologías e Ingenierías  
Programa Química  
Tunja, Boyacá  
2021

**Estudio Teórico del Proceso de Hidrólisis Enzimática en Jarabes Glucosados  
Obtenidos de Residuos de Cáscara de Naranja (Género *Citrus*) para la  
Producción de Bioetanol**

Laura Natalia Torres Herrera

Trabajo de grado como requisito parcial para optar al título Profesional en Química

Director(a):

Lic. Frey Ricardo Jaramillo Hernández

Universidad Nacional Abierta y a Distancia

Escuela de Ciencias Básicas, Tecnologías e Ingenierías

Programa Química

Tunja, Boyacá

2021

### **Dedicatoria**

Este trabajo esta dedicado a mi hijo Aaron Sebastián para recordarle y recordarme lo importante que es la perseverancia.

A mi esposo por recordarme que aún en los momentos más difíciles es posible seguir adelante.

### **Agradecimientos**

Al tutor Frey Jaramillo por su tiempo, dedicación, guía y orientación en el desarrollo de esta monografía.

A mis padres por su ayuda en cada uno de los pasos necesarios para sacar adelante este proyecto de vida.

## Resumen

Siendo una alternativa muy investigada el uso y aprovechamiento de residuos orgánicos ricos en celulosa, aparece lo que es la biomasa lignocelulósica, una biomasa rica en celulosa, hemicelulosa y lignina que está siendo muy investigada para la producción de biocombustibles de segunda generación, una variedad que no compite con los cultivos destinados al consumo y que puede ser altamente aprovechable para la generación de bioetanol y otros compuestos de interés para diferentes industrias.

Partiendo de lo anterior nace la necesidad de realizar una investigación que se base en la búsqueda de información de carácter científico, que permita visualizar más ampliamente los estudios acerca de los diferentes procesos de hidrolisis que se llevan a cabo actualmente para la obtención de alternativas energéticas, alternativas que pueden ser consideradas viables y que poco a poco pueden ir reemplazando el uso de los combustibles fósiles.

Esta investigación teórica recopiló información científica de buscadores especializados como Elsevier, Science Direct, entre otros, una exploración que se apoyó en la construcción de ecuaciones de búsqueda con algunas palabras que permitieran obtener la mayor cantidad de bibliografía y más reciente acerca del tema de estudio, estas ecuaciones de búsqueda fueron construidas con la mayor cantidad de palabras clave que arrojaron un considerable número de bibliografía que serviría de insumo para la construcción de este documento.

**Palabras clave:** Enzimática, Hidrólisis, Cascara de naranja, Residuos sólidos, Bioetanol, Citrus.

### **Abstract**

Being a highly researched alternative the use and exploitation of organic waste rich in cellulose, what is lignocellulosic biomass appears, a biomass rich in cellulose, hemicellulose and lignin that is being highly investigated for the production of second generation biofuels, a variety that it does not compete with crops destined for consumption and it can be highly usable for the generation of bioethanol and other compounds of interest for different industries.

Based on the above, the need to carry out an investigation that is based on the search for scientific information is born, which allows the studies about the different hydrolysis processes that are currently carried out to obtain energy alternatives to be viewed more widely, alternatives that can be considered viable and that little by little can replace the use of fossil fuels.

This theoretical research compiled scientific information from specialized search engines such as Elsevier, Science Direct, among others, an exploration that was supported by the construction of search equations with some words that allowed to obtain the largest and most recent bibliography on the subject of study, These search equations were constructed with the greatest number of keywords that yielded a considerable number of bibliography that would serve as input for the construction of this document.

**Keywords:** enzymatic, hydrolysis, orange peel, solid waste, bioethanol, citrus

**Tabla de contenido**

Resumen .....	5
Abstract .....	6
Lista de tablas .....	10
Lista de figuras .....	11
Introducción.....	12
Definición del problema.....	14
Justificación.....	16
Objetivos .....	19
Objetivo General.....	19
Objetivos específicos.....	19
Características taxonómicas de la naranja.....	20
El árbol de naranjo.....	20
El género Citrus .....	21
Producción y manejo postcosecha del sector citrícola .....	21
Aprovechamiento de los subproductos cítricos.....	25
Materiales lignocelulósicos.....	28
Propiedades del material lignocelulósico.....	28

Hemicelulosa .....	30
Lignina .....	31
Procesos de aprovechamiento a partir de materiales lignocelulósicos: biomasa .....	33
Pretratamiento .....	33
Deslignificación .....	34
Técnicas de hidrólisis .....	36
Definición de hidrólisis .....	36
Tipos de hidrólisis .....	36
Hidrólisis Ácida .....	37
Hidrólisis Alcalina .....	38
Hidrólisis Enzimática .....	39
Jarabes glucosados.....	42
Cuantificación de azúcares reductores .....	42
La biomasa como alternativa energética .....	44
Clasificación de los biocombustibles.....	45
Obtención de bioetanol de II generación .....	46
Revisión teórica de los procesos de hidrolisis aplicados a la biomasa lignocelulósica.....	49

Ecuaciones de búsqueda.....	51
Recopilación, selección y almacenamiento de la información .....	51
Estado del arte en la investigación de los procesos de hidrolisis .....	52
Impactos ambientales en la producción de bioetanol de II generación .....	54
Conclusiones .....	57
Recomendaciones.....	59
Referencias bibliográficas .....	60

**Lista de tablas**

Tabla 1. Composición de los Subproductos de la Naranja

### **Lista de figuras**

Figura 1. Árbol de naranjo

Figura 2. Diagrama de proceso de la producción de jugo de cítricos

Figura 3. Disposición espacial de la hemicelulosa, celulosa y lignina en las paredes de la biomasa lignocelulósica

Figura 4. Estructura primaria de la celulosa

Figura 5. Estructura química de la hemicelulosa

Figura 6. Ejemplo de una posible estructura de la lignina

Figura 7. Mecanismo de reacción de la hidrólisis ácida

Figura 8. Mecanismo de acción de la hidrólisis alcalina

Figura 9. Mecanismo de acción de la hidrólisis enzimática

## Introducción

El uso de combustibles fósiles actualmente tiene un gran impacto económico y social ya que el carbón, el petróleo y el gas natural han sido un gran puente entre la industrialización y la modernización de los procesos, sin embargo, los combustibles fósiles se están agotando y se requiere hallar alternativas energéticas que vayan sustituyendo su uso. Una alternativa que está tomando fuerza es la de los biocombustibles de segunda generación ya que estos se obtienen a partir de residuos ricos en celulosa y no entran a competir por el uso del suelo y el cultivo de productos que puedan poner en riesgo la seguridad alimentaria, por otro lado, son una alternativa a la minimización de los residuos orgánicos, aportan sostenibilidad y abaratan los costos de los procesos en los que se incluyen.

Los jarabes glucosados obtenidos a partir de cáscaras de naranja (*Citrus*) por procesos biotecnológicos y procesos como la hidrólisis (ya sea la hidrólisis ácida, hidrólisis básica e hidrólisis enzimática), aparecen como una alternativa a la minimización de la carga contaminante generada por este residuo, abriendo paso a procesos de aprovechamiento de biomasa rica en celulosa, hemicelulosa y lignina. Las diferentes etapas que involucran estos procesos de hidrólisis al que es sometida la biomasa permite la separación de otros compuestos (lignina, hemicelulosa) que pueden ser aprovechables como materia prima en diversas industrias y procesos.

La revisión bibliográfica se centró en los estudios realizados no solo a nivel nacional también en estudios de investigación de diversos países que están buscando alternativas amigables con el ambiente que minimicen los impactos negativos que traen consigo los diversos procesos industriales, mucha de la bibliografía obtenida se basó

en ecuaciones de búsqueda con palabras clave que permitieran obtener fuentes primarias y secundarias confiables y aceptadas a nivel internacional.

### **Definición del problema**

El uso de combustibles fósiles ha sido en gran medida un elemento concluyente al momento de impulsar el avance de la sociedad, sin embargo, la escasez que se está presentando de este tipo combustibles, aunado a la preocupación por su agotamiento, el cuidado ambiental y el vínculo de países subdesarrollados con escasos recursos energéticos de tipo convencional impulsan el adelanto de la implementación de energías renovables (Romero Salvador, 2010).

La biomasa como base material de la industria química, es una alternativa potencial al uso de los combustibles fósiles, una de las ventajas de su uso es que los procesos no requieren grandes modificaciones en su sistema energético para obtener productos derivados, a diferencia de los procesos donde se involucran combustibles fósiles (Romero Salvador, 2010).

La biomasa puede usarse en lugar de carbón mineral en diversos tipos de instalaciones térmicas, atenuando el impacto ambiental de este combustible fósil, algo similar pasa con el etanol y el biodiesel estos pueden sustituir gasolinas y gasóleos derivados del petróleo en distintos tipos de motores. Actualmente, la biomasa proporciona una fuente de energía adicional a la de los combustibles fósiles y a otras fuentes disponibles, para obtener calor, electricidad y carburantes empleados en el sector transporte (Romero Salvador, 2010).

Las frutas cítricas son una fuente de nutrición con una amplia cantidad de macronutrientes, como azúcares, fibra, potasio, ácido fólico, calcio, tiamina, entre muchos otros metabolitos que también aportan a su riqueza nutricional (Lv et al., 2015). La industria del procesamiento de cítricos se ha concentrado durante años en la

producción de jugos y aceites esenciales; se estima que el 33% de la cosecha de cítricos en el mundo se utiliza para la producción de jugo, un alto porcentaje de la producción de naranja (aprox. el 70%) se usa en la obtención de productos derivados y el 50-60% de la fruta procesada se convierten en desechos (Taghizadeh-Alisaraei et al., 2017).

Las cáscaras de naranja hacen parte de esos desechos orgánicos ricos en lignocelulosa que se generan como resultado de procesos industriales y que es depreciado llegando a la basura sin sacar su máximo provecho, obviando el alto contenido de sustancias que nos permitirían desarrollar nuevos productos a partir de procesos químicos amigables con el medio ambiente, entre ellos la producción de combustibles de segunda generación como el bioetanol.

La extracción de jarabes glucosados a partir de residuos lignocelulósicos u otros residuos ricos en azúcares han sido estudiados con gran acogida ya que están dando forma a una nueva alternativa energética a los combustibles fósiles dando lugar a los llamados biocombustibles, algunos de estos estudios han sido realizados por la Universidad de Antioquia, la Universidad Nacional de Colombia y la Universidad del Tolima, entre otras. Este tipo de estudios también han sido adelantados por instituciones de educación superior de diferentes países entre los que se nombran Brasil, Chile, México, Tanzania, Japón, Himalaya, Colorado (EE. UU.), Suecia, entre otros.

### **Justificación**

La producción anual de cítricos en todo el mundo ahora supera los 110 millones de toneladas, y las naranjas se han convertido en la fruta más cultivada en el mundo (Liew et al., 2018). Se prevé que la producción mundial de naranja para 2020/21 aumentará a 49,4 millones de toneladas métricas (toneladas) con relación al año anterior que fue de 3,6 millones, ya que el clima favorable conduce a cosechas más grandes en Brasil y México, compensando las disminuciones en Turquía y Estados Unidos. En consecuencia, también se pronostica un alza en el consumo, la fruta para procesamiento y las exportaciones frescas (USDA, 2015).

Sin embargo, una gran masa de subproductos es producido por las cáscaras de naranja las cuales representan alrededor del 44% del cuerpo de la fruta. Estas cáscaras de naranja generalmente se descartan como desechos, lo que genera un grave problema de eliminación que puede ser perjudicial para el medio ambiente, la enorme cantidad de "desechos" que generan las cáscaras de naranja se producen en la cadena de suministro de alimentos, ofreciendo un enorme potencial para ser explotadas como un producto de valor agregado, incluso para la recuperación de antioxidantes naturales, pectina, enzimas o para la producción de etanol, ácidos orgánicos, aceites esenciales y prebióticos proteína unicelular (Liew et al., 2018)

La contaminación generada en el medio ambiente por desechos sólidos (sea de naturaleza orgánica e inorgánica) producto de procesos industriales es tema de gran importancia en la actualidad, algunas soluciones que se han planteado para el manejo de los residuos orgánicos es un tratamiento que permita sacar su mayor provecho incorporándolos a procesos productivos o simplemente creando nuevos productos.

Esta tendencia toma más fuerza ya que muchos de los residuos orgánicos se han incorporado de manera satisfactoria generando productos similares a los provenientes de materias primas comerciales (Vargas, Alvarado, Vega & Porras, 2014).

Numerosas investigaciones han basado sus estudios en la generación de nuevos productos, en Colombia diversas instituciones enfocan sus investigaciones en la obtención de biocombustibles a partir de residuos lignocelulósicos buscando alternativas a la creciente necesidad de hallar sustitutos energéticos de los combustibles fósiles. Algunos de estos estudios que se han adelantado en Colombia son, la producción de bioetanol a partir de la fermentación de jarabes glucosados derivados de cáscaras de naranja y piña (L. P. Tejeda et al., 2015), producción de azúcares fermentables por hidrólisis enzimática de cascarilla de arroz por explosión de vapor (Amparo, 2011), Use Of Agro-Industrial Waste In Improving The Quality Of The Environment (Vargas Corredor & Pérez Pérez, 2018), Production Of Bioethanol From Rice Husk Pretreated With Alkalis And Hydrolyzed With Acid Cellulase At Pilot Scale (Cacua et al., 2018), Cuantificación de azúcares reductores en las cáscaras de naranja y banano (Cortes Ortiz et al., 2015).

Es importante destacar estudios que se adelantan a nivel internacional como: Pretreatment of Lignocellulosic Materials for Efficient Bioethanol Production (Galbe, M., & Zacchi, G. 2007), Recent advances in pretreatment of lignocellulosic wastes and production of value added products (Mtui, G. Y. 2009), Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment (Mood, S. H., Golfeshan, A. H., Tabatabaei, M. et. al., 2013).

Procesos utilizados para la extracción de jarabes glucosados involucran pretratamientos químicos (ácido o básico) o biológicos (enzimas) para romper los enlaces de lignina presentes en la biomasa y obtener cadenas de azúcares reductores, que posteriormente serán fermentados para obtener bioetanol. Del proceso de hidrólisis acida se obtiene una fracción líquida, rica en azúcares fermentables y una fracción sólida compuesta principalmente de celulosa y lignina. Sin embargo, el tratamiento ácido, es eficiente en la disolución de la hemicelulosa, pero no resulta efectivo para eliminar la lignina, encareciendo los costos de producción por el tratamiento que requieren los residuos subproducto del proceso. (Morales De La Rosa, 2015).

Lo mismo ocurre con la hidrólisis alcalina, pero a diferencia del tratamiento ácido, no necesita altas temperaturas, pero si tiempos de reacción más prolongados, y el mayor inconveniente es que no degrada tanto los azúcares, los procesos biológicos por su parte, facilitan los procesos de conversión a productos finales para los biocombustibles y son menos contaminantes (Morales De La Rosa, 2015).

Los impactos de los diferentes procesos de hidrólisis en la obtención de azúcares reductores obtenidos a partir de residuos orgánicos ricos en lignocelulosa, así como el aprovechamiento de la cascara de naranja (*Citrus sinensis*) como materia prima rica en celulosa y de gran valor agregado es un tema de estudio que hace necesaria una revisión bibliográfica que aporte material científico que pueda ser consultado y tenido en cuenta para la aplicación de estos métodos en procesos de transformación biotecnológica de residuos lignocelulósicos aprovechables.

## **Objetivos**

### **Objetivo General**

Desarrollar un estudio teórico del proceso de hidrólisis enzimática en jarabes glucosados obtenidos de residuos de cáscara de naranja (Género Citrus) para la producción de bioetanol.

### **Objetivos específicos**

- Construir una línea base de información a partir de literatura especializada disponible en el repositorio de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia, como Science Direct, Elsevier, Scopus, Scielo, Institute of Physics - IOP.
- Identificar las principales técnicas de hidrólisis para la obtención de jarabes glucosados con mayor eficiencia reportada en la literatura a partir de residuos lignocelulósicos de cáscara de naranja (Género Citrus).
- Identificar la incidencia medioambiental de cada uno de los procesos de hidrólisis (hidrólisis ácida, hidrólisis básica e hidrólisis enzimática) en la producción de bioetanol a partir de residuos lignocelulósicos.

## Características taxonómicas de la naranja

### El árbol de naranjo

El naranjo (figura 1) tiene una tasa de crecimiento moderada, con copa redondeada y ramas regulares de forma ovalada, alcanza la altura de madurez entre los 1,5 metros y propaga la madurez del árbol entre los tres y los cinco metros de altura. Un solo tronco, derecho y cilíndrico, verdoso primero y gris después, con ramas que aparecen poco más o menos a un metro del suelo. Tolerante al calor o la sequía, requiere suelos con valores de pH entre ácido y neutro, con necesidad de agua moderada, susceptible a enfermedades y plagas, no requiere de poda constante y se propaga mediante semillas, cortes o injertos.

### Figura 1.

Árbol de Naranjo



Fuente: (<http://landscapeplant.aub.edu.lb>, 2021).

De este árbol crecen fragantes flores blancas y llamativas frutas de color naranja o rojo anaranjado que tienen un sabor dulce, siendo la naranja dulce el fruto del naranjo, un cítrico de hoja perenne que es originario de China y Vietnam.

### **El género *Citrus***

La naranja pertenece al género *Citrus* de la familia de las Rutáceas, una familia muy amplia que contiene unas 1700 especies de plantas que crecen en países de clima cálido y templado, siendo el continente africano donde más especies se pueden encontrar. Los cítricos se caracterizan fundamentalmente por sus frutos grandes que contienen cantidades abundantes de ácido cítrico, componente con fórmula  $C_3H_4OH(COOH)_3$ , el cual les proporciona el característico sabor ácido (Rueda Yañez et al., 2013).

De la naranja, no solamente se aprovechan los jugos alimenticios, también de la cáscara de naranja se pueden obtener aceites que se utilizan como aromatizantes en diferentes industrias. Su aceite esencial es uno de los ingredientes básicos en las industrias de perfumería, alimentos, agronómica y farmacéutica. (Rueda Yañez et al., 2013). Los residuos de cáscaras de cítricos son una valiosa materia prima lignocelulósica para la producción de bioetanol debido a su riqueza en azúcares fermentables y bajo contenido de lignina (L. P. Tejeda et al., 2015).

### **Producción y manejo postcosecha del sector citrícola**

En la producción primaria y en los procesos de transformación se pueden introducir riesgos de tipo químico, biológico o físico que pueden deteriorar el producto afectando su vida productiva o la utilidad para la cual se tenía destinado en el momento

de su cosecha. La reducción de estos riesgos supone una clara identificación de aquellos que están asociados a la producción primaria, su fuente y su impacto, muchos de estos pueden minimizarse utilizando esquemas de buenas prácticas a nivel operativo que aseguren la inocuidad y el manejo del producto desde su cosecha hasta su transformación en procesos productivos. Es así como actualmente la implementación de buenas prácticas agrícolas - BPA ha pasado a abarcar todo el proceso productivo para dejar de enfocarse en el producto final y así seguir una trazabilidad desde la siembra pasando por la cosecha, el transporte y el proceso de transformación final, como también la sostenibilidad del proceso y el bienestar de los trabajadores involucrados en cada eslabón de la cadena productiva.

En Colombia, el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR), a partir del año 2002, generó el plan nacional de implementación de BPA en coordinación con un grupo intergremial. Instituciones como el Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA), el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), la Asociación Hortofrutícola de Colombia (ASOHOFRUCOL), la Cámara de Comercio de Bogotá (CCB), la Gobernación de Cundinamarca y la Asociación Nacional de Comercio Exterior (ANALDEX), entre otras instituciones, iniciaron con programas de apoyo a la producción de frutas exportables en Boyacá, Antioquia y Cundinamarca (Orduz-Rodríguez & Mateus Cagua, 2012).

De igual manera, el Instituto Colombiano de Normas Técnicas (ICONTEC) dispuso de la Norma Técnica Colombiana NTC 5400 y de algunas normas de aplicación a cítricos específicos como la NTC 4085 y 4086, sobre BPA para frutas, hierbas aromáticas culinarias y hortalizas frescas, mencionando los requisitos

generales y procedimientos que sirven de orientación a los pequeños, medianos y grandes productores de estos cultivos (Orduz-Rodríguez & Mateus Cagua, 2012).

La trazabilidad en todo el ciclo de vida productivo del fruto representa una oportunidad para la revisión de los procesos y un avance incalculable en la gestión y mejoramiento de estos, y cobra especial interés en el sector agroalimentario por la necesidad de generar productos inocuos, mantener la confianza del consumidor y cumplir la legislación. Actualmente en el sector cítrico pocas empresas hacen rastreabilidad completa de sus productos; algunas incluso lo realizan con metodologías básicas que no permiten evidenciar algunas partes del proceso y son auditadas por las entidades de vigilancia y control sin ningún tipo de patrón o modelo (Orduz-Rodríguez & Mateus Cagua, 2012).

Al no contar con los controles necesarios durante el período de postcosecha se producen importantes pérdidas, tanto en cantidad como en calidad, dependiendo de la especie, método de cosecha, almacenamiento, transporte, entre otros. En Colombia se estiman pérdidas entre el 12% y el 25% del total de la producción, donde la manipulación y las condiciones de almacenamiento juegan un papel indispensable. Razón que lleva a que también sea muy difícil cuantificar las pérdidas postcosecha, sobre todo por la dificultad en la identificación de la etapa de la cadena de manipulación en la que se induce el daño y posteriormente la pérdida.

El cambio que sufre el producto durante el manejo postcosecha, en muchas ocasiones, provoca una alteración que se manifiesta de una forma visible no fácilmente relacionada con su verdadero origen, siendo algunos de los principales problemas que afectan la postcosecha de cítricos en casi todas las regiones de Colombia los

siguientes: cosecha inadecuada, deficiente selección, clasificación y almacenamiento; baja calidad externa del fruto (apariencia) llevando a que mucha parte de la cosecha se estime como desecho y pérdida (Orduz-Rodríguez & Mateus Cagua, 2012).

En los frutos cítricos la madurez de consumo se inicia en el último tercio del crecimiento y termina con las primeras etapas de la senescencia, involucrando una serie de cambios en las características externas e internas del fruto (Orduz-Rodríguez & Mateus Cagua, 2012). En estos frutos la madurez de consumo solamente puede ser completada si los frutos permanecen unidos a la planta y en ocasiones una cosecha apresurada genera que usualmente se aumenten las cifras de material que puede ser tomado como desecho.

## Aprovechamiento de los subproductos cítricos

Después de la extracción del jugo, los sólidos residuales se consideran subproductos, que constituyen alrededor del 50% del peso total de la fruta. Los subproductos de los cítricos contienen la cáscara, la pulpa, el trapo y las semillas y se aíslan mediante la separación sólido-líquido durante el proceso (figura 2) de producción del jugo (Chen et al., 2019).

Aunque los subproductos de los cítricos a veces se denominan residuos de los cítricos, todavía contienen grandes cantidades de compuestos valiosos, como fibra, proteína, pectina, polifenoles y aceites esenciales. La utilización de estos subproductos podría potencialmente crear más productos de valor agregado para la industria de procesamiento de cítricos (Chen et al., 2019).

### Figura 2.

Proceso productivo del jugo de naranja.



Fuente: <https://www.expansion.com/promociones/native/2018/06/27/>

En la tabla 1 se muestra la composición de los residuos típicos de naranja después de la extracción del jugo. Aunque la composición de los subproductos de los cítricos depende en gran medida de los procesos de extracción del jugo, la variedad de cítricos, el clima y la ubicación, las composiciones próximas están cercanas entre sí (Chen et al., 2019).

**Tabla 1.**

*Composición De Los Subproductos De La Naranja*

<b>Componentes</b>	<b>Composición base seca (%)</b>
Sólidos totales	$20 \pm 0,8$
<b>Azúcares</b>	
Glucosa	$8,10 \pm 0,46$
Fructosa	$12,00 \pm 0,21$
Sucrosa	$2,80 \pm 0,15$
Pectina	$25,00 \pm 1,20$
Proteína	$6,07 \pm 0,10$
<b>Fibra</b>	
Celulosa	$22,00 \pm 1,95$
Hemicelulosa	$11,09 \pm 0,21$
Lignina	$2,19 \pm 0,04$
Limoneno	$3,78 \pm 0,30$
Ceniza	$3,73 \pm 0,20$
<b>Total</b>	<b><math>96,76 \pm 2,39</math></b>

Al conocer las composiciones de los subproductos de los cítricos, se pueden desarrollar tecnologías para convertir estos materiales "de desecho" en productos de valor agregado. Algunas de las técnicas, como convertir los subproductos de los cítricos en alimento para el ganado y extraer aceites esenciales, ya se han aplicado en algunas de las prácticas de gestión de residuos de cítricos, pero es un área aún en investigación (Chen et al., 2019).

## **Materiales lignocelulósicos**

### **Propiedades del material lignocelulósico**

La biomasa es uno de los recursos renovables más susceptible de ser transformado en la industria química, muchos de los metabolitos primarios como los hidratos de carbono (azúcar simple, celulosa, hemicelulosa, almidón, etc.) y lignina se convierten en dióxido de carbono y agua a través del proceso de la fotosíntesis (Da Silva Lacerda, 2015).

Esta biomasa lignocelulósica es una materia prima abundante y renovable, ya que su procedencia es principalmente de residuos agroindustriales como residuos del procesamiento de la caña, la palma, residuos de maíz, trigo, arroz, frutas (mandarina, naranja, limón) y piel de naranja entre otras. Este material lignocelulósico está compuesto principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina, en una estructura cristalina vegetal altamente estable que debe romperse mediante pretratamientos para hacer disponible la fracción de sacáridos (celulosa y hemicelulosa) en forma de azúcares fermentables (Resende et al., 2017).

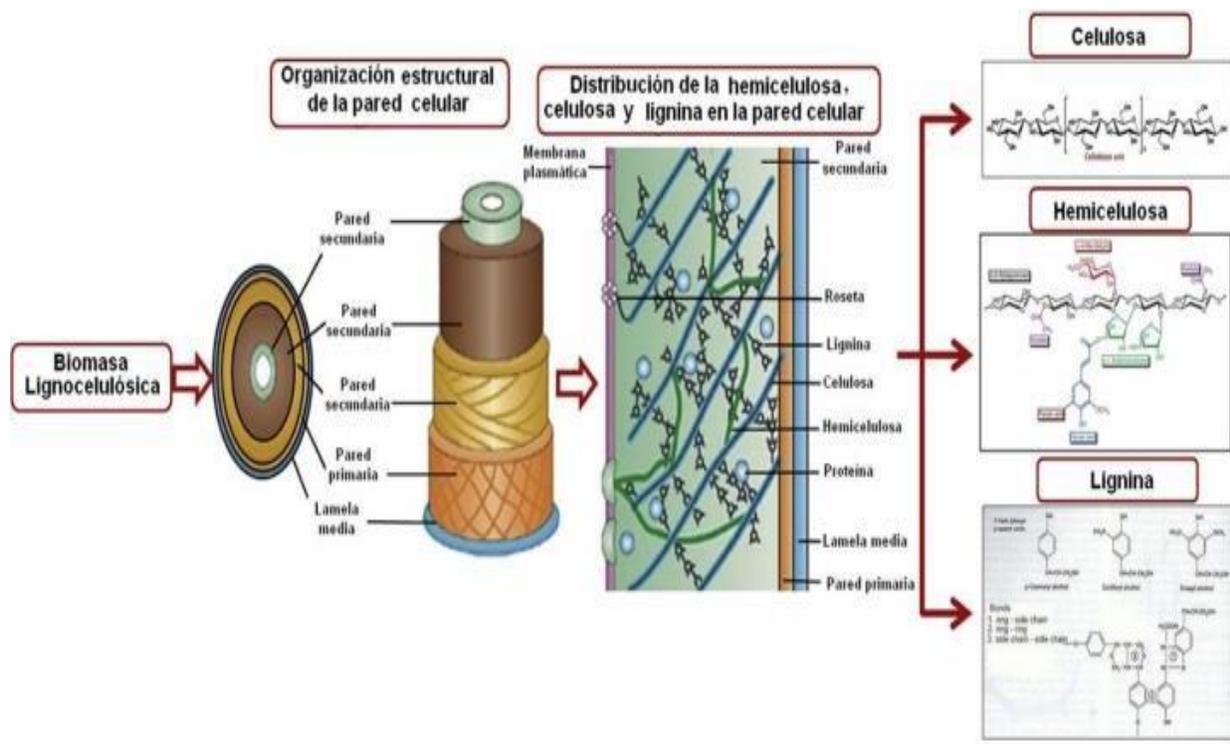
Estos materiales tienen una red compleja y resistente compuesta principalmente por lignina (10% a 30%), hemicelulosa (15% a 35%) y celulosa (30% a 50%), variando la concentración de cada uno de estos elementos según el tipo de materia prima en cuestión, edad y etapa vegetativa (Resende et al., 2017).

Las reacciones de fotosíntesis durante la formación de la biomasa favorecen la formación de algunos componentes clave como la celulosa y la hemicelulosa, que consisten en varios hidratos de carbono polimerizados. Estas fibras (figura 3) se mantienen unidas por una matriz formada por lignina y hemicelulosa formando una

barrera natural a la degradación microbiana y protección mecánica (Da Silva Lacerda, 2015).

### Figura 3.

Ilustración de la estructura lignocelulósica y sus componentes



**Fuente:** <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/1524/1/uy24-16277.pdf>

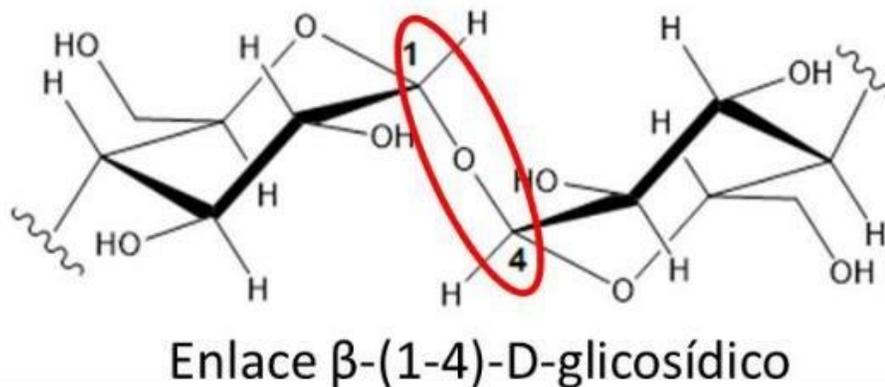
### Celulosa

De los componentes principales de los materiales lignocelulósicos, la celulosa es uno de los más abundantes en la naturaleza (Álvarez et al., 2012), la celulosa (figura 4) es un polisacárido lineal de elevado peso molecular con fórmula  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , o alto de polimerización (GP), además de ser el componente principal en las paredes celulares de los vegetales. El grado de polimerización de la celulosa se define como el número a

repetir de unidades de anhidro glucosa ( $\beta$ -D-glucopiranososa) unidas entre sí mediante un enlace glicosídico entre el carbono 1 y 4 en la cadena polimérica. (Morales De La Rosa, 2015)

#### Figura 4.

Estructura primaria de la celulosa



**Fuente:** (Morales De La Rosa, 2015)

#### Hemicelulosa

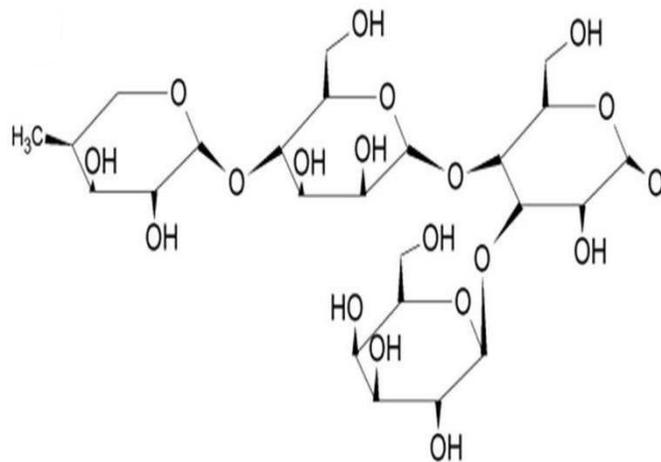
El término hemicelulosa se utiliza para definir los polisacáridos que normalmente se asocian con la celulosa en las paredes celulares, estas se producen en estrecha asociación con la celulosa y la lignina y contribuyen a la rigidez de las paredes celulares de las plantas, siendo en un porcentaje del 20-30% de la masa total de las plantas anuales y perennes. Tienen una composición heterogénea formada por diferentes unidades estructurales de azúcares neutros que pueden ser carbohidratos de cinco y seis carbonos (Da Silva Lacerda, 2015).

Entre las características de la hemicelulosa se encuentran: su alto carácter hidrofílico, contienen cadenas considerablemente ramificadas, naturaleza altamente

amorfa y un grado de polimerización (DP) entre 100 y 200. La hemicelulosa (Figura 5) es la molécula que sirve de conexión entre la lignina y las fibras de celulosa y da rigidez a la red de celulosa, hemicelulosa y lignina (Da Silva Lacerda, 2015).

### Figura 5.

Estructura química de la hemicelulosa.



**Fuente:** [https://www.researchgate.net/figure/Figura-2-Estructura-molecular-de-a-celulosa-y-b-hemicelulosa-21-22\\_fig6\\_291953365](https://www.researchgate.net/figure/Figura-2-Estructura-molecular-de-a-celulosa-y-b-hemicelulosa-21-22_fig6_291953365)

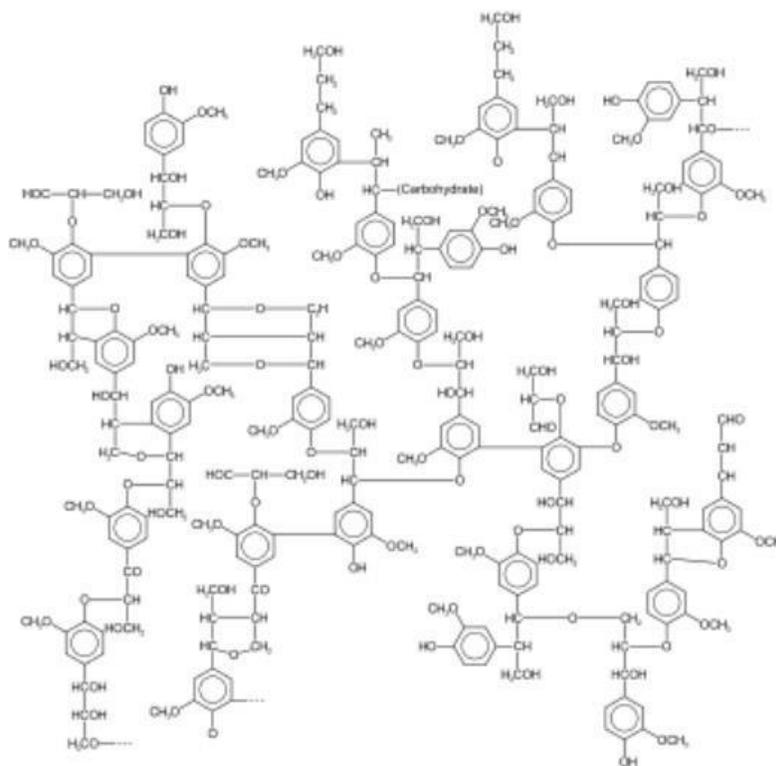
### Lignina

La lignina (figura 6) es un polímero no carbohidrato que se entremezcla con la celulosa y la hemicelulosa y, proporciona la rigidez a los materiales lignocelulósicos. Puede retirarse mediante distintos pretratamientos con la finalidad de romper la matriz lignocelulósica y así facilitar que la celulosa y la hemicelulosa puedan ser hidrolizadas (Hernandez, 2017) formada al azar por unidades aromáticas unidas entre sí en diferentes posiciones, esta es una de las razones por la cual la estructura de la lignina

no ha sido definida de manera exacta, sin embargo, en todas las estructuras propuestas predomina la existencia de los núcleos aromáticos (Álvarez et al., 2012).

### Figura 6.

Ejemplo de una posible estructura de la Lignina.



**Fuente:** (Da Silva Lacerda, 2015)

La lignina es la segunda fuente renovable más abundante en la naturaleza caracterizada por una gran variedad de enlaces C-C y C-O que le otorgan propiedades biológicas, químicas y físicas y sus interacciones moleculares con compuestos como la celulosa y la hemicelulosa (Álvarez et al., 2012).

## **Procesos de aprovechamiento a partir de materiales lignocelulósicos: biomasa**

### **Pretratamiento**

El aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica para generar productos de valor agregado a partir de la hemicelulosa y la celulosa, requiere que se eliminen las barreras que dificultan el acceso a las moléculas de catalizadores químicos o biológicos que favorecen a su transformación, siendo necesario disminuir la alteración de las estructuras cristalinas de la molécula de interés, el fraccionamiento del material y la utilización de cada componente por separado es la actual filosofía de las biorrefinerías. Sin embargo, el problema que persiste es que cada componente estructural (celulosa, hemicelulosa y lignina) no puede ser aislado simultáneamente lo que sobreviene con la solubilización y en algunas ocasiones con la posterior degradación de alguno de ellos (Piñeros-Castro, 2014).

Visto de esta manera, el pretratamiento es posiblemente la etapa esencial del proceso debido a que se busca destruir la lignina (pared que recubre y protege la celulosa y hemicelulosa pero que no es hidrolizable) presente en la biomasa lignocelulósica, con la finalidad de permitir a las enzimas acceder a la conversión de la celulosa y hemicelulosa en azúcares fermentables, modificando algunas características que permiten aumentar y eliminar o disminuir la presencia de sustancias que obstruyen o dificultan la hidrólisis (Meléndez Hernández et al., 2015).

El mencionado pretratamiento de la materia prima se puede llevar a cabo por diversos métodos físicos, como molienda y tamizado; químicos, como el tratamiento con ácidos y bases; fisicoquímicos, como la explosión de vapor; y biológicos. Cualquier proceso de pretratamiento pretende: romper los puentes de hidrógeno en la estructura

cristalina de la celulosa, romper los enlaces en la matriz de hemicelulosa y lignina, y aumentar la porosidad y el área superficial de los sustratos de la hidrólisis enzimática (Manrique, 2018).

### **Deslignificación**

La biomasa lignocelulósica contiene gran variedad de compuestos orgánicos como (grasas, ceras, alcaloides, proteínas, fenoles simples y complejos, entre otros) y compuestos inorgánicos, como las cenizas, que corresponden al 2% del peso seco. La presencia de lignina en estos tejidos genera una barrera que impide la exposición adecuada de la celulosa para los procesos de hidrólisis enzimática. El costo de producción de etanol a partir de biomasa lignocelulosa puede ser alto cuando se aplica pretratamiento para reducir la recalcitrancia del sustrato, conferido por la lignina, es así como la separación de la celulosa de la lignina es uno de los muchos obstáculos técnicos que deben superarse para que los biocombustibles puedan ser producidos económicamente a partir de celulosa que contienen los residuos (Pantoja Matta et al., 2015).

Por esta razón la deslignificación de biomasa lignocelulósica constituye un paso fundamental hacia la obtención de monosacáridos a partir de macromoléculas como la celulosa y hemicelulosa, el pretratamiento representa la etapa de mayor costo en la conversión de biomasa a etanol, por lo cual en la actualidad las investigaciones se enfocan a desarrollar pretratamientos de deslignificación, tecnologías limpias y metodologías de innovación que mejoren los procesos de sacarificación y fermentación (Pantoja Matta et al., 2015).

Estos tratamientos pueden ser físicos, químicos, enzimáticos o con microorganismos. Asimismo, la factibilidad de cada tratamiento depende del consumo de energía, selectividad, costos de procesos y velocidad de degradación. Por esto se puede asegurar, que la naturaleza del sustrato y el método de pretratamiento usado influye sobre la eficiencia de degradación del material lignocelulósico cuando se utilizan enzimas (Salcedo M. et al., 2011).

## **Técnicas de hidrólisis**

### **Definición de hidrólisis**

Hidrólisis deriva de las palabras griegas Hydro, que significa “agua”, y lysis, que significa “separar o romper” (Chang, R. 2008). Al ser un proceso químico de tipo catabólico tiene la función de romper enlaces de moléculas de gran tamaño para hacerlas fácilmente degradables, en medio acuoso (Kesehatan, 2019), la etapa de hidrólisis complementa el pretratamiento de la biomasa obtenida, convirtiendo los carbohidratos complejos en azúcares simples a fin de aumentar la actividad microbológica en la fase de fermentación (Rodríguez Valiente, 2016), el uso de catalizadores para transformar los polisacáridos existentes (hemicelulosa y lignina) en sus monómeros elementales presentes en la biomasa permite que se de la degradación de la celulosa en azúcares de fácil fermentación (De, 2017).

### **Tipos de hidrólisis**

Al momento de transformar diferentes sustratos presentes en materiales con alto contenido lignocelulósico (como las cáscaras de los cítricos) la hidrólisis juega un papel esencial, esto se debe en gran parte a su utilidad y rendimiento en la producción de azúcares reductores, siendo una alternativa viable en la aplicación de diferentes procedimientos de la industria química (Kesehatan, 2019). Visto de esta manera se pueden dar tres tipos de hidrólisis diferentes: hidrólisis ácida, hidrólisis enzimática e hidrólisis alcalina (Kesehatan, 2019).

## Hidrólisis Ácida

La hidrólisis ácida se define como un proceso mediante el cual un ácido prótico cataliza la escisión presente en un enlace químico, por medio de una reacción de sustitución nucleófila esto, basados en la teoría de Brønsted-Lowry (Kesehatan, 2019).

Este tipo de hidrólisis utiliza catalizadores de naturaleza ácida (De, 2017).

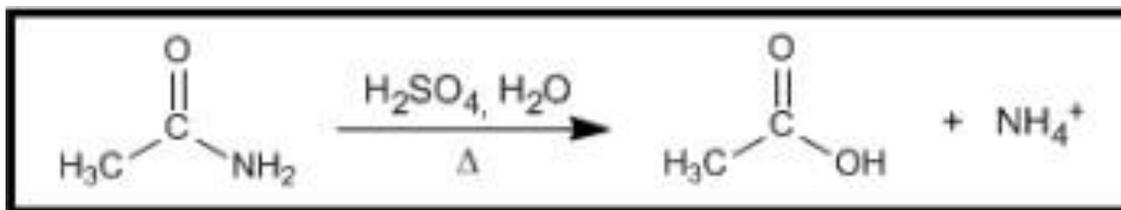
Empleando este tipo de catalizadores para mejorar la cinética de reacción y degradar las cadenas de polisacáridos (con contenido de hemicelulosa y lignina) en monómeros elementales. Así mismo, la hidrólisis ácida aplicada a la biomasa lignocelulósica puede optimizar la obtención de azúcares fermentables para la producción de bioetanol; haciendo uso de ácidos como  $H_3PO_4$ ,  $H_2SO_4$  y  $HCl$ . Sin embargo, variables como concentración y temperatura pueden variar en función de la naturaleza del proceso (Kesehatan, 2019).

Los ácidos más utilizados a nivel industrial son el ácido sulfúrico y el clorhídrico, hay dos métodos para realizar una hidrólisis ácida: aquel en el cual se utilizan ácidos concentrados entre el 10 y el 30%, a bajas temperaturas (170-190 °C), y aquel que emplea ácidos diluidos cuyas concentraciones oscilan entre el 1 y el 5% y requieren temperaturas de trabajo mucho más elevadas (160-240 °C) (De, 2017).

Durante el pretratamiento ácido la reacción principal es la hidrólisis de la hemicelulosa, esta puede ser sometida a reacciones hidrolíticas produciendo monómeros, como furfural, hidroximetilfurfural (HMF) y otros productos. En esta etapa la lignina es rápidamente condensada y precipitada en ambientes ácidos (Sánchez Riaño et al., 2010). En la figura 7 se muestra el mecanismo de acción de un proceso de hidrólisis ácida.

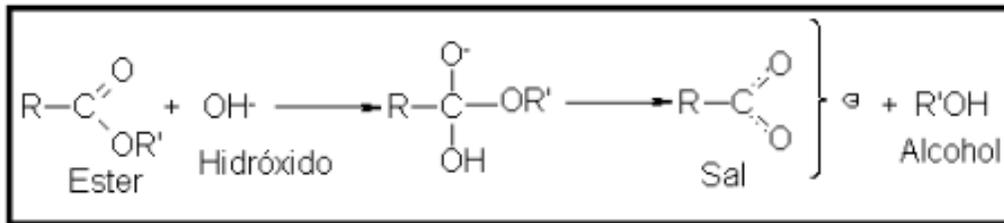
**Figura 7.**

Mecanismo de reacción de la hidrólisis ácida

**Fuente:** (Kesehatan, 2019)**Hidrólisis Alcalina**

La hidrólisis alcalina utiliza agua a temperatura elevada (entre 150°C y 180°C) con el fin de descomponer todo material biológico presente como proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos y lípidos; todo en presencia de Hidróxido de Potasio, el cual actúa como un agente activo (Kesehatan, 2019). La hidrólisis alcalina genera degradación y descomposición de polisacáridos y rotura de radicales finales (Rodríguez Valiente, 2016).

La hidrólisis alcalina es muy común, ya que relaciona los ésteres naturales como los presentes en grasas, ceras y aceites ya sean de origen animal o vegetal, esto indica que sí se trabaja en condiciones alcalinas adecuadas obtener un ácido es posible ya que cuando un ácido o una base en medio acuoso se calienta, un éster carboxílico hidroliza al ácido correspondiente (Kesehatan, 2019).

**Figura 8.****Mecanismo de acción de la hidrólisis alcalina**

**Fuente:** (Kesehatan, 2019)

La reacción en este proceso es de carácter reversible (Kesehatan, 2019). Antes de una hidrólisis enzimática el tratamiento alcalino suele ser de utilidad como pretratamiento del material lignocelulósico. Esto debido a la acción del NaOH en la solubilización parcial de la lignina, mediante reacciones de solvatación y saponificación, produciendo un hinchamiento de la biomasa, conllevando a un aumento del área superficial interna y un descenso del grado de cristalización de la celulosa, aumentando su accesibilidad frente a la acción de enzimas y bacterias (Rodríguez Valiente, 2016).

**Hidrólisis Enzimática**

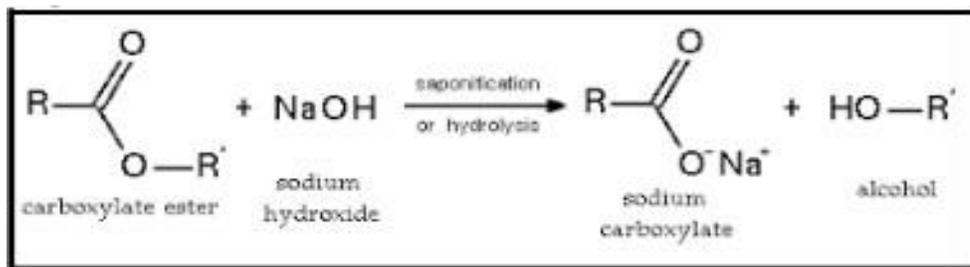
El pretratamiento facilita considerablemente el desarrollo de la hidrólisis enzimática, siendo este un proceso catalizado por enzimas celulasas, cuyo fin único es la degradación de la celulosa, la mayoría de estos procesos es interesante por la cantidad de azúcares provenientes de la celulosa, sin embargo, actualmente se busca aprovechar de manera integral la biomasa proveniente de materiales lignocelulósicos.

La hidrólisis enzimática se da en un sistema heterogéneo, es una reacción múltiple que tiene como objetivo la producción de azúcares fermentables mediante el

uso de enzimas que tienen como objetivo degradar la celulosa y la hemicelulosa presentes en la biomasa (Kesehatan, 2019).

### Figura 9.

Mecanismo de acción de la hidrólisis enzimática



**Fuente:** (Kesehatan, 2019)

Las enzimas del complejo celulasa usadas para el mecanismo de hidrólisis enzimática son agrupadas en tres componentes diferentes, los cuales se nombran a continuación:

- Endo  $\beta$ -glucanasa ó 1,4- $\beta$ -glucan glucanohidrolasas, que rompen los enlaces  $\beta$ -glucosídicos en forma aleatoria en el interior de las moléculas de celulosa.
- Exo  $\beta$ -glucanasas ó 1,4- $\beta$ -glucan celobiohidrolasas, que atacan gradualmente las moléculas de celulosa de los terminales no reductores liberando subunidades de celobiosa.
- $\beta$ -glucosidasas o celobiosas, que hidroliza celobiosas y celodextrinas de bajo peso molecular (celotriosas y celotetrosas) en glucosa (De, 2017).

La endo -  $\beta$  - 1,4 - glucanasa, la exo -  $\beta$  - 1,4 - glucanasa y la  $\beta$ -1,4- glucosidasa son las principales enzimas que conforman el grupo de las celulasas, estas actúan sobre la celulosa en los enlaces  $\beta$  (1,4) glucosídicos para degradar la cadena celulósica, liberando de esta manera glucosa y celobiosa en los extremos de la cadena;

así mismo, mediante la acción sobre la celobiosa es posible evitar que esta inhiba la acción de la endo- $\beta$ -1,4-glucanasa y la exo- $\beta$ -1,4-glucanasa. Así mismo, el NaOH juega un papel fundamental en este proceso (Kesehatan, 2019).

### **Jarabes glucosados**

Debido a la compleja estructura que presenta la biomasa lignocelulósica, acceder a los azúcares que contienen no es sencillo, por lo que la biomasa debe someterse a tratamientos previos con el fin de facilitar el acceso a las moléculas de azúcares que pueden ser fermentables para la generación de subproductos amigables con el medio ambiente y que pueden llegar a ser una solución a la generación de residuos de carácter orgánico.

Los jarabes glucosados son aquellos obtenidos luego de someter la materia lignocelulósica a diversos procesos entre los cuales tiene lugar una conversión de la celulosa en glucosa para su posterior fermentación, esta conversión se facilita mediante los diversos procesos de hidrólisis.

### **Cuantificación de azúcares reductores**

Los jarabes glucosados obtenidos de los procesos previos a los cuales fue sometida la biomasa lignocelulósica son ricos en azúcares fácilmente fermentables, estos azúcares reciben el nombre de azúcares reductores. Los azúcares reductores son aquellos azúcares que poseen un grupo carbonilo (grupo funcional) y un grupo hemiacetal (una interacción entre C-2 y C-5,) que le confiere la característica de poder reaccionar con otros compuestos. En solución acuosa, dicho grupo aldehído libre tiene la capacidad de reducción de agentes oxidantes (Gerena Barón, 2013).

Azúcares reductores como la glucosa, fructosa, lactosa y maltosa presentan un carbono libre en su estructura y pueden reducir, en determinadas condiciones, a las sales cúpricas dando resultados colorimétricos (Gerena Barón, 2013). Para la

determinación de azúcares reductores el método de colorimetría más utilizado y el ideal para la cuantificación de estos es el método Miller o el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico más conocido como el método DNS, este se basa principalmente en la reducción del ácido 3,5-dinitrosalicílico bajo determinadas condiciones (Cortes Ortiz et al., 2015).

Los azúcares reductores que se encuentran en la muestra a analizar asistida por calor generan la reducción del ácido 3,5-dinitrosalicílico dando lugar a un cambio de color de la disolución pasando de un amarillo anaranjado a un color marrón oscuro. Este cambio de coloración puede usarse para determinar la cantidad de azúcares reductores mediante la medida de la absorbancia la cual es medida a 550 nm con un espectrofotómetro UV-VIS. La concentración de los azúcares reductores totales presentes en la muestra se determinan empleando la Ley de Lambert-Beer a partir de una curva de calibración realizada con soluciones intermedias de glucosa como patrón primario, relacionando la absorbancia obtenida en función de la concentración de azúcares (Morales De La Rosa, 2015).

Esta técnica es muy utilizada para la cuantificación de los azúcares reductores producidos durante una fermentación o para cuantificar los productos de una reacción enzimática (Gerena Barón, 2013).

### **La biomasa como alternativa energética**

Hoy en día el estudio de los tipos, los medios de obtención y las ventajas del uso de energías renovables son un asunto de trascendencia que ha ido fomentando el interés y la necesidad de encontrar la forma de optimizar y aumentar las alternativas energéticas en pro de obtener su máximo rendimiento. Aunque las energías renovables han ido creciendo levemente, la importancia del papel que juegan los combustibles fósiles en el ámbito energético seguirá latente, lo que sugiere que el petróleo (combustible fósil de mayor uso actualmente) continuará siendo, el principal sustento energético (Romero Salvador, 2010).

Muchas son las variables que impulsan el desarrollo de energías renovables, la carestía de los combustibles fósiles, la preocupación por su agotamiento y la dependencia energética de países con escasos recursos energéticos son algunas de las tantas razones por las que el desarrollo de nuevas energías es una necesidad y ahora una prioridad (Romero Salvador, 2010).

Un grupo heterogéneo de materias orgánicas que difieren en sus características tanto de origen como de naturaleza y composición es conocido comúnmente como Biomasa, de la cual según numerosos estudios es posible obtener energía. En consecuencia, también se conoce como biomasa la materia orgánica producto de las aguas residuales, (lodos de depuradora) y a la fracción orgánica biodegradable que se genera a partir de los residuos sólidos urbanos. La energía generada a partir de biomasa de materia orgánica ya sea de origen por procesos biológicos, espontáneos o provocados, basa su carácter de renovable gracias al contenido energético que procede como producto del proceso fotosintético al que se está sometido el material

vegetal de origen, la biomasa, por combustión directa o de sus productos genera una liberación de energía a través de transformaciones ya sean físicas o químicas, dando como productos finales dióxido de carbono y agua, sustancias que ayudan a minimizar el aporte de gases efecto de invernadero a la atmosfera (Romero Salvador, 2010).

### **Clasificación de los biocombustibles**

Este tipo de combustibles pueden ser clasificados según el estado físico en el que hayan sido producidos que pueden ser sólidos (no muy habitual), líquidos o gaseosos, siendo estos últimos los más comunes ejemplo de ello son el bioetanol y el biogás respectivamente, siendo los de mayor uso en la actualidad les da la calificación de ser los biocombustibles predominantes hoy en día (De, 2017).

Por otro lado, también se clasifican de acuerdo con la generación teniendo en cuenta el tipo de materia prima mediante la cual son obtenidos. Desde este punto de vista podemos distinguir cuatro generaciones:

- Los de primera generación: aquellos producto de cosechas agrícolas, las mismas cosechas que pueden ser destinadas a la alimentación, lo que genera una polémica que se centra en la escases de alimentos y la hambruna mundial, ya que muchos cultivos de almidón, azúcar, grasas animales y aceites vegetales son su principal insumo junto a los cultivos de maíz, caña de azúcar y soja.
- La segunda generación: conocidos también como biocombustibles avanzados, su diferencia con relación a la primera generación radica en que los materiales utilizados para su producción no son de destino alimentario. Un ejemplo de ello es que sus insumos son en su mayoría residuos alimenticios, tales como residuos

de papel o cáscaras de naranja, piña y otros cítricos ricos en celulosa y hemicelulosa. Muchos de los materiales utilizados como insumo para esta generación tienen altas concentraciones de celulosa y lignina, razón por la cual se debe someter la biomasa a algunos procesos previos a fin de favorecer la eliminación de lignina.

- La tercera generación, por su parte es algo más reciente. Su aplicación se remonta desde hace poco tiempo a aquellos biocombustibles obtenidos a partir de algas o microalgas. En su inicio estaban clasificados dentro de la segunda generación, sin embargo, debido a su rendimiento el cual era mucho más elevado ya que las algas pueden llegar a superar los 10.000 m<sup>3</sup> de bioetanol por km<sup>2</sup> de materia prima, en comparación a los biocombustibles de segunda generación se les otorgó una categoría propia.
- Los considerados de cuarta generación, son aquellos biocombustibles donde la clave es la captación y almacenamiento de carbono, tanto en la tecnología de proceso como en la producción de materia prima. Su objetivo radica no solo en aumentar la eficiencia del proceso, sino también en reducir la emisión de gases contaminantes y con ello favorecer a la reducción del efecto invernadero (De, 2017)

### **Obtención de bioetanol de II generación**

Los materiales celulósicos son renovables, de bajo costo y están disponibles en grandes cantidades. Incluye residuos de cultivos, pastos, aserrín, astillas de madera, residuos agrícolas, etc. Muchos científicos e investigadores han estado trabajando en la producción de etanol a partir de lignocelulósicos en las últimas dos décadas. Por tanto, la producción de bioetanol podría ser la vía para la utilización eficaz de algunos

residuos y desechos agrícolas como la paja de arroz, paja de trigo, paja de maíz, pelo de semillas de algodón, algas, papel, hojas de piña, tallo de plátano, desechos de cítricos, entre otros. (Gupta & Verma, 2015)

Las cáscaras de frutas, consideradas un residuo orgánico desvalorizado, son una fuente abundante de biomasa lignocelulósica que es desechada sin sacar el más grande provecho de su naturaleza, sin embargo, debido al alto contenido de lignina que poseen en su estructura se requiere de procesos que faciliten el acceso a las moléculas de glucosa y hemicelulosa para eventualmente favorecer los procesos de fermentación. Partiendo del hecho de que esta biomasa es rica en lignina se hace necesario implementar pretratamientos iniciales para favorecer la separación de la celulosa de las moléculas de lignina, llevando posteriormente a un proceso de hidrólisis enzimática que implica el paso de la celulosa a glucosa.

Después de esto, se requiere el proceso de fermentación para la conversión de glucosa en etanol por parte de microorganismos que faciliten esta conversión, algunos más utilizados son: *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Zymomonas mobilis*, *Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae*, *Pichia stipitis*, *Candida brassicae*, *Mucor indicus*, etc. Estos procesos son necesarios para la producción sostenible de bioetanol a partir de material lignocelulósico convirtiéndose en una alternativa interesante que podría abrir nuevos mercados para su revalorización (L. Tejeda et al., 2011).

Esto catalogaría el uso de este tipo de residuos en la producción de bioetanol como una tecnología respetuosa con el medio ambiente y socialmente aceptable que tiene como factor adicional que durante su proceso la emisión de gases de efecto

invernadero (GEI) se reduce (Gupta & Verma, 2015) sin generar conflicto con los cultivos que son destinados a la alimentación humana, por el contrario crea una alternativa para el uso y la reducción de la contaminación de este tipo de residuos.

## **Revisión teórica de los procesos de hidrolisis aplicados a la biomasa lignocelulósica**

Cuando se habla de realizar una búsqueda bibliográfica se llega a un terreno inexplorado para algunos y sumamente desconocido para muchos, la necesidad de hallar información relevante que aborde un tema de interés en particular no es relativamente difícil pero en ocasiones es algo complicado sino se tiene conocimiento de las herramientas de búsqueda adecuadas, no obstante, se deben tener claros algunos aspectos que pueden llevar a una búsqueda adecuada de información a la hora de construir una buena base de datos.

Aunque no hay un sistema de búsqueda ideal, si se puede crear uno que se ajuste a nuestras necesidades de información que aborde las diferentes bases de datos especializadas y nos permita acceder a material reciente, selectivo, relevante y pertinente, la búsqueda de información se basa en realizar una exploración bibliográfica que sea crítica y objetiva, que sea clara, de fácil consulta, que satisfaga las necesidades de información planteadas y responda nuestras inquietudes acerca del tema abordado.

Entre algunos de los aspectos que se deben tener en cuenta a la hora de realizar una búsqueda de información científica, adecuada y de altos estándares, están:

- Definir la situación o problema de estudio
- Establecer las ideas principales de la investigación
- Definir los conceptos que serán base para identificar palabras clave y

realizar la búsqueda de información

- Definir las bases de datos apropiadas y coherentes con nuestra preguntade investigación
- Establecer un rango de tiempo que permita tener una bibliografía nutridaen el tema
- Elaborar una estrategia de búsqueda basado en las palabras clave definidas
- Ejecutar la búsqueda de información
- Almacenar la información obtenida y clasificar de acuerdo con el tema, año y relevancia
- Realizar un análisis crítico de la información

Partiendo de lo anterior y luego de definir nuestro problema de estudio, se siguieron los pasos mencionados para realizar una búsqueda de información que permitiera resolver las necesidades bibliográficas planteadas, por ende la construcción de este trabajo se apoyó en bases de datos especializadas, revistas indexadas y con alto nivel de confiabilidad académica, el uso de un gestor de referencias académicas como Mendeley también permitió organizar la información por relevancia, obtener acceso a datos actualizados y un alto nivel de confiabilidad en la información consultada.

La búsqueda bibliográfica se basó en la construcción de ecuaciones de búsqueda que permitiera a partir de las palabras clave identificadas en la definición del problema planteado, la obtención de bibliografía relacionada con los procesos de investigación, en nuestro caso los procesos de hidrolisis aplicados a residuos orgánicos

o a biomasa de origen residual rica en celulosa, hemicelulosa y lignina, comúnmente conocida como “biomasa lignocelulósica”.

### **Ecuaciones de búsqueda**

La búsqueda de información se llevó a cabo en buscadores como Science Direct, Elsevier, Scopus entre otros, sin embargo, la búsqueda inicial arrojó mucha información carente de relevancia en el tema de estudio o desactualizada, siguiendo los pasos mencionados anteriormente y aplicando la técnica de ecuaciones de búsqueda se logró obtener una bibliografía de alrededor de 244 artículos de los cuales se indexaron al buscador 121, los cuales luego de una revisión y análisis exhaustivo eran los más enfocados en el tema investigado, eran artículos relevantes que mostraban la complementación de los procesos con la inserción de otras técnicas y una línea de tiempo aceptable (últimos 5 — 10 años) para la recopilación de la información.

### **Recopilación, selección y almacenamiento de la información**

Una vez se probó la eficiencia de la ecuación de búsqueda planteada, se recopiló la información teniendo en cuenta los siguientes ítems:

- Que fuera reciente, últimos 5 – 10 años
- Que tratara el tema de interés, en este caso los diferentes procesos de hidrólisis (ácida, básica y enzimática o biológica)
- Que fueran estudios tanto nacionales como internacionales
- Que fueran artículos en idioma inglés

- Que la aplicación de los procesos fuera en una matriz de residuos denaturaleza orgánica y de preferencia en biomasa de carácter lignocelulosico.

Cumplidas estas condiciones se seleccionó y almacenó la información distinguiendo artículos de revisión de artículos de aplicación y año de publicación, posterior a esto se realizó la migración de la biblioteca al gestor de referencias y se inició con la construcción del documento basado en la bibliografía que se reunió a partir de las ecuaciones de búsqueda aplicadas.

### **Estado del arte en la investigación de los procesos de hidrolisis**

Los procesos de hidrolisis son un tema ampliamente estudiado, sin embargo, su aplicación a la obtención de compuestos derivados de biomasa rica en celulosa derivada de residuos es estudiada hace poco, aún más reciente son los estudios que se han realizado para evaluar la efectividad del proceso de hidrolisis enzimática ya que son mucho más estudiadas las hidrolisis acidas y básicas, pero estas últimas presentan grandes desventajas al momento de analizar la sostenibilidad, los costos de proceso y los productos residuales del mismo.

En Colombia estos estudios se están dando desde el ámbito de la búsqueda de alternativas al uso de los combustibles fósiles y la minimización de los efectos que generan los residuos orgánicos que son desechados sin sacar su máximo provecho. Por otra parte, en países como Estados unidos, Dinamarca, Suiza, entre otros, las universidades están creando alianzas para la generación de nuevo conocimiento que estudia no solo la aplicación de los procesos de hidrolisis sino la complementación de estos con otras técnicas que sean mucho más amigables con el ambiente y que

ayuden por supuesto a minimizar el daño que generan los residuos de procesos industriales y los subproductos residuales de estos. Esto evidenciado a partir del análisis de la bibliografía consultada y que se tomó como insumo para este trabajo.

### **Impactos ambientales en la producción de bioetanol de II generación**

La Bioenergía es una tecnología relativamente nueva que se utiliza para convertir biomasa en energía con niveles de producción de carbono neutros. Esta tecnología abarca tres dominios principales del desarrollo sostenible, el económico, el ambiental y el social. El bioetanol es uno de los principales productos obtenidos de la aplicación de la bioenergía, entre sus principales características predominan la reducción de las emisiones de GEI minimizando así la contaminación del aire, el cambio climático global y el aumento de dióxido de carbono, en particular el etanol, reduce tanto la creciente demanda energética mundial como las emisiones de GEI de los combustibles fósiles ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{SF}_6$  y clorofluorocarbonos (CFC)), sumado a esto el bioetanol reduce la dependencia de los combustibles fósiles como combustible principal de transporte al ser una fuente renovable disponible en el mundo. (Gupta & Verma, 2015)

Los principales biocombustibles abarcan el bioetanol, biodiesel, biogás, bio-metanol, bio-gas de síntesis ( $\text{CO}_2\text{H}_2$ ), bio-aceite, bio-carbón, bio-hidrógeno, y procesos como el Fischer-Tropsch favorece la producción de hidrocarburos líquidos de petróleo y aceite vegetal, de los cuales el bioetanol y el biodiésel son combustibles líquidos para el transporte, que se utilizan como fuente de aditivos alternativos a la gasolina, el biodiésel es también una alternativa al diésel para reducir las emisiones de GEI cuando se mezcla como aditivo. (Gupta & Verma, 2015)

En el proceso conversión de biomasa lignocelulósica en bioetanol uno de los pretratamientos más utilizados es la hidrólisis de tipo ácido, aunque su ventaja principal es el bajo tiempo de reacción, su principal inconveniente es la formación de

subproductos como el HMF (Hidroximetilfurfural) o el furfural, que resulta de la excesiva degradación de los azúcares e inhibe los procesos de fermentación y la actividad enzimática. Este tipo de hidrolisis es poco agradable a los procesos ya que puede provocar corrosión en los equipos empleados, aumentando el costo de equipamiento y adicionando etapas al proceso para evitar que los productos finales pueden llegar a causar toxicidad (Rodríguez Valiente, 2016).

Los últimos años, se han generado estudios centrados en el proceso de obtención de azúcares a partir de la hidrólisis enzimática esto debido en gran parte a los buenos resultados obtenidos. Sin embargo, uno de los inconvenientes que presenta este tipo de hidrolisis es que requiere de tiempos de operación mucho más amplios que se necesita en la hidrólisis ácida a fin de hidrolizar todos los azúcares de la materia prima. (De, 2017) De otra parte sus ventajas en comparación con la hidrólisis ácida, radica en que no provoca corrosión en los materiales, implica costos de equipamiento mucho más bajos y al no necesitar el empleo de agentes químicos, no se generan compuestos inhibidores de la fermentación, los consumos de enzimas son bajos y los hidrolizados presentan toxicidad muy baja, alcanzando un rendimiento cercano al 100% (Rodríguez Valiente, 2016)

Partiendo de lo anterior es notable que el uso de la hidrolisis enzimática es mucho más amigable y sustentable a la hora de incorporarla a nuevos procesos de obtención de bioetanol en comparación con los procesos de hidrolisis acida o básica, el proceso es moldeable y perceptivo de cambios que permitan aminorar tiempos, corregir fallas e implementar acciones de mejora en pro de la conversión fermentable de los azúcares. Es un tema de estudio que puede ser complementado con diversas técnicas

físicas que permitan mejorar el proceso, optimizar tiempos y ser ampliamente diversificado.

### Conclusiones

- El proceso de búsqueda de información debe ser un proceso analítico y objetivo que permita obtener información relevante, práctica y coherente con el tema de estudio.
- El análisis del tema de investigación es un paso fundamental para plantear ecuaciones de búsqueda que satisfagan las necesidades de información y al mismo tiempo abarquen todos los posibles resultados bibliográficos.
- Las ecuaciones de búsqueda son un apoyo en la búsqueda de información especializada que cumpla con los criterios y necesidades planteados a la hora de recopilar, clasificar y seleccionar la bibliografía relevante al tema que sirva de insumo para la caracterización técnica o documental de un tema en particular.
- Los residuos de origen agrícola ya sean resultado de procesos agroindustriales, biotecnológicos u otros son un problema en escala creciente que está afectando el medioambiente, residuos que pueden ser reprocesados y que en este momento están siendo en su gran mayoría desaprovechados.
- Los residuos de cascara de naranja han tenido gran interés en el ámbito investigativo por sus componentes y la utilidad que representan en la industria alimenticia y farmacéutica, sin embargo, están tomando gran relevancia al ser considerados en el campo de los biocombustibles como un insumo de producción de bioetanol de segunda generación que permitiría una mayor producción de este favoreciendo la minimización de emisiones de GEI sin competir con los suministros de alimentos dirigidos a la población mundial.

- Los residuos lignocelulósicos son una fuente de biomasa rica en glucosa, hemicelulosa y lignina, (este último en mayor proporción), y requieren de tratamientos iniciales (pretratamientos) que involucran la deslignificación del material para poder tener un mayor acceso a las moléculas de glucosa y así favorecer los procesos de fermentación, estos procesos deben ser apropiados al tipo de biomasa para evitar generar subproductos que puedan inhibir el proceso de fermentación o que se generen sustancias que pueden ser nocivas y lleguen a afectar aún más el medio ambiente.
- Los tratamientos de hidrólisis acida generan un mayor coste en los procesos de producción y pueden generar daños en los equipos utilizados, por otra parte, los procesos enzimáticos, aunque requieren de un paso adicional para el retiro de la lignina son una alternativa más limpia y menos costosa para la producción de bioetanol de segunda generación.

### **Recomendaciones**

- El estudio y el uso de residuos de cítricos o de naturaleza agrícola es un campo de investigación relativamente nuevo que debe promoverse, siendo una alternativa para la generación de nuevos productos y su inclusión a procesos ya existentes haciendo que estos sean más eficientes, más sostenibles y menos contaminantes.
- Los residuos lignocelulósicos llamados así por su gran contenido de lignina pueden ser doblemente aprovechados si se estudian procesos de deslignificación que permitan su separación y purificación como proceso alternativo a la producción de bioetanol aportando un producto de gran interés en biorrefinerías, biomedicina, farmacéutica, entre otras.

### Referencias bibliográficas

- Álvarez, A., Salgado, R., García, E., Domínguez, M., Granandos, J., Aguirre, A., R., C., Morales, A., Herrera, P., Licea, A., & Mendoza, A. (2012). Aprovechamiento Integral De Los Materiales Lignocelulósicos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*.
- Amparo, G. (2011). Producción de azúcares fermentables por hidrólisis enzimática de cascarilla de arroz pretratada mediante explosión con vapor. *Revista Ion*, 24(2), 23-28.
- Cacua, A., Gelvez, J. J., Rodríguez, D. C., & Parra, J. W. (2018). Production of bioethanol from rice husk pretreated with alkalis and hydrolyzed with acid cellulase at pilot scale. *Journal of Physics: Conference Series*. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1126/1/012034>
- Chen, Y., Barzee, T. J., Zhang, R., & Pan, Z. (2019). Citrus. En *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814138-0.00009-5>
- Cortes Ortiz, W. G., Ibla Gordillo, J. F., Calderon Velasquez, L. M., & Herrera Bueno, A. F. (2015). Cuantificación de azúcares reductores en las cáscaras de naranja y banano. *Revista de Tecnología*, 12(2). <https://doi.org/10.18270/rt.v12i2.772>
- Da Silva Lacerda, V. (2015). Aprovechamiento de residuos lignocelulósicos para la producción de biocombustibles y bioproductos. En *Universidad da Valladolid*.
- De, I. N. (2017). *LitranRodriguez*. 2016-2017.
- Gerena Barón, F. M. (2013). Obtención de jarabes azucarados a partir de la hidrólisis química de residuos de cáscaras de naranja (*citrus sinensis* l var valencia) y papa (*solanum tuberosum*) variedad diacol capiro (r-12) para ser empleados como

edulcorantes en la industria de alimento. *reponame:Repositorio Institucional de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia.*

Gupta, A., & Verma, J. P. (2015). Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41, 550-567.  
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.08.032>

Hernandez, C. (2017). “*Obtención De Bioetanol a Partir De Hidrolizados De Residuos De Fruta*”.

Kesehatan, K. (2019). No TitleEΛENH. *Ayayη*, 8(5), 55.

Liew, S. S., Ho, W. Y., Yeap, S. K., & Bin Sharifudin, S. A. (2018). Phytochemical composition and in vitro antioxidant activities of Citrus sinensis peel extracts. *PeerJ*. <https://doi.org/10.7717/peerj.5331>

Lv, X., Zhao, S., Ning, Z., Zeng, H., Shu, Y., Tao, O., Xiao, C., Lu, C., & Liu, Y. (2015). Citrus fruits as a treasure trove of active natural metabolites that potentially provide benefits for human health. *Chemistry Central Journal*, 9(1), 1-14.  
<https://doi.org/10.1186/s13065-015-0145-9>

Manrique, A. G. (2018). *Visión general del aprovechamiento de residuos cítricos como materia prima de biorrefinerías*. 10, 153-168.

Meléndez Hernández, P. A., Hernández Beltrán, J. U., Hernández Escoto, H., & Morales Rodriguez, R. (2015). Análisis del Pretratamiento de Residuos Lignocelulósicos para la Producción de Biocombustibles y Bioproductos de Alto Valor Agregado. *Jóvenes En La Ciencia*.

Morales De La Rosa, S. (2015). *HIDRÓLISIS ÁCIDA DE CELULOSA Y BIOMASA LIGNOCELULÓSICA ASISTIDA CON LÍQUIDOS IÓNICOS MEMORIA Para*

*aspirar al grado de. 15.*

Orduz-Rodríguez, J. O., & Mateus Cagua, D. M. (2012). Generalidades de los cítricos y recomendaciones agronómicas para su cultivo en Colombia. *Cítricos: cultivo, poscosecha e industrialización*.

Pantoja Matta, A. J., Cuatin Inguilán, M. F., & Muñoz Muñoz, D. (2015). Efecto del pretratamiento químico y enzimático en la deslignificación de biomasa agroindustrial típica del cauca. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(1), 45. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(13\)45-53](https://doi.org/10.18684/bsaa(13)45-53)

Resende, R. R., Rodrigues, C., Woiciechowski, A. L., Letti, L. A. J., Karp, S. G., Goelzer, F. D., Sobral, K. C. A., Coral, J. D., Campioni, T. S., Maceno, M. A. C., & Soccol, C. R. (2017). Materiais lignocelulósicos como matéria-prima para a obtenção de biomoléculas de valor comercial. En *Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria - Vol. 4*. <https://doi.org/10.5151/9788521211150-08>

Rodríguez Valiente, I. (2016). *Pretratamiento De Hidrólisis Hidrotérmica Para La Degradación De Los Carbohidratos Complejos De Residuos De Frutas Para La Obtención De Bioetanol*. 78.

[http://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/39252/3/TFM\\_ItziaRodriguezValiente.pdf](http://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/39252/3/TFM_ItziaRodriguezValiente.pdf)

Romero Salvador, A. (2010). Aprovechamiento De La Biomasa Como Fuente De Energía Alternativa a Los Combustibles Fósiles. *Cienc.Exact.Fís.Nat. (Esp)*, 104(2), 331-345. <http://www.rac.es/ficheros/doc/00979.pdf>

Rueda Yañez, X., Lugo Mancilla, L., & Parada Parada, D. (2013). Estudio del aceite esencial de la cascara de la naranja (*Citrus sinensis*, variedad Valenciana)

cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia). *Bistua*.

Salcedo M., J. G., Galán, J. E. L., & Pardo, L. M. F. (2011). Evaluación de enzimas para la hidrólisis de residuos (hojas y cogollos) de la cosecha caña de azúcar. *DYNA (Colombia)*.

Sánchez Riaño, A., Gutiérrez Morales, A., Muñoz Hernández, J., & Rivera Barrero, C. (2010). Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Tumbaga*, 1(5), 61-91.

Taghizadeh-Alisaraei, A., Hosseini, S. H., Ghobadian, B., & Motevali, A. (2017). Biofuel production from citrus wastes: A feasibility study in Iran. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 69(September 2015), 1100-1112.  
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.09.102>

Talhok SN, Fabian M., Dagher R. 2015. Base de datos de plantas paisajísticas. Departamento de Diseño del Paisaje y Gestión de Ecosistemas, Universidad Americana de Beirut. ( <http://landscapeplant.aub.edu.lb> , 20 de febrero de 2022)

Tejeda, L. P., Tejada, C., Villabona, Á., Alvear, M. R., Castillo, C. R., Henao, D. L., Marimón, W., Madariaga, N., & Tarón, A. (2015). *Producción De Bioetanol a Partir De La Fermentación Alcohólica De Jarabes Glucosados Derivados De Cáscaras De Naranja Y Piña*. 120-125. [www.acofi.edu.co](http://www.acofi.edu.co)

Tejeda, L., Quintana, J., Pérez, J., & Young, H. (2011). Ethanol From Waste of Pruning By Acid Hydrolysis and Enzymatic Hydrolysis. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 14(1), 111-116.  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-)

42262011000100014&lng=en&nrm=iso&tlng=es

USDA. (2015). Citrus: World Markets and Trade. *United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service, July*, 1-11.

Vargas Corredor, Y. A., & Pérez Pérez, L. I. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. <https://doi.org/10.18359/rfcb.3108>