



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA  
AMAZONÍA PERUANA  
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**



**CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LAS CASCARAS DE  
NARANJA (*Citrus sinensis* L.) Y POMELO (*Citrus grandis*),  
PARA OBTENER BIOETANOL - IQUITOS**

**TESIS**

**PARA OBTAR EL TÍTULO DE**

**INGENIERO QUÍMICO**

**PRESENTADO POR LOS BACHILLERES**

**BACH JULIO JOAQUÍN VIRREIRA FLORES**

**BACH OSCAR ALAN CRISTIAN GÓNGORA PEREIRA**

**ASESOR**

**ING. ROSA ISABEL SOUZA NÁJAR**

**IQUITOS – PERU**

**2014**

## **JURADO CALIFICADOR**

.....  
**Ing. Laura Rosa García Panduro.**  
**CIP 23792**  
**Presidente**

.....  
**Ing. Rosalinda Pastor Rojas, Dra.**  
**CIP 20805**  
**Miembro**

.....  
**Ing. Víctor García Pérez**  
**CIP 33277**  
**Miembro**

.....  
**Ing. Rosa Isabel Souza Nájjar**  
**CIP 61519**  
**Asesor**

## **DEDICATORIA**

A DIOS POR DARMER TODO LO BUENO Y LO MALO, POR MOSTRARME DÍA A DÍA QUE CON HUMILDAD, PACIENCIA Y SABIDURÍA TODO ES POSIBLE.

A TI MAMITA ZARI QUE CON CADA BENDICIÓN QUE ME DABAS MOTIVABAS A SEGUIR FIRME EN LA BÚSQUEDA Y OBTENCIÓN DE MIS OBJETIVOS, GRACIAS POR SER ETERNAMENTE MI ÁNGEL.

A TI MADRE POR INSPIRARME, MOLDEARME CON ESA MEZCLA EXACTA DE RECTITUD Y AMOR, POR ESTAR AHÍ SIEMPRE PARA CUIDARME Y BRINDARME ESA PALABRA DE ALIENTO JUSTA, ESTE LOGRO ES TUYO Y MÍO MAMÁ.

PARA MI FAMILIA (TÍOS, PRIMOS, SOBRINOS) QUE HICIERON TODO EN LA VIDA PARA QUE YO PUDIERA LOGRAR MIS SUEÑOS, POR MOTIVARME Y DARMER LA MANO CUANDO SENTÍA QUE EL CAMINO SE TERMINABA, A USTEDES POR SIEMPRE MI CORAZÓN Y MI AGRADECIMIENTO

A TI GRIMALDO, SÉ QUE NO TE GUSTABA FIGURAR, PUES ERES LA PERSONA MÁS SENCILLA QUE HE CONOCIDO, PERO GRACIAS A ESAS SABIAS PALABRAS Y ENSEÑANZAS ME HAN LLEVADO A SER EL PROFESIONAL QUE SOY. DIOS TE GUARDE SIEMPRE AMIGO MÍO.

**JULIO JOAQUÍN VIRREIRA FLORES**

## **DEDICATORIA**

ESTA TESIS SE LA DEDICO A MI DIOS QUIÉN SUPO GUIARME POR EL BUEN CAMINO, DARME FUERZAS PARA SEGUIR ADELANTE Y NO DESMAYAR, ENSEÑÁNDOME A ENCARAR LAS ADVERSIDADES SIN PERDER NUNCA LA DIGNIDAD NI DESFALLECER EN EL INTENTO.

A MI FAMILIA QUIENES POR ELLOS SOY LO QUE SOY, EN ESPECIAL A MIS PADRES OSCAR Y MARLA, POR SU APOYO, CONSEJOS, COMPRENSIÓN, AMOR, AYUDA EN LOS MOMENTOS DIFÍCILES, Y POR AYUDARME CON LOS RECURSOS NECESARIOS PARA ESTUDIAR. ME HAN DADO TODO LO QUE SOY COMO PERSONA, MIS VALORES, MIS PRINCIPIOS, MI CARÁCTER, MI EMPEÑO, MI PERSEVERANCIA, MI CORAJE PARA CONSEGUIR MIS OBJETIVOS.

A MI ESPOSA JULISA Y MI HIJO BASTIÁN QUIENES AHORA SERÁN LA MOTIVACIÓN PARA CONTINUAR ADELANTE.

**OSCAR ALAN CRISTIAN GÓNGORA PEREIRA**

## **AGRADECIMIENTO**

Primero que todo agradecemos a Dios por guiar nuestros caminos y permitirnos seguir nuestros estudios logrando culminar la carrera universitaria.

A la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, por brindarnos la oportunidad de superarnos y capacitarnos en la especialidad de Ingeniero Químico, contribuyendo de esta manera a la sociedad formando profesionales de calidad

Al Departamento de Química de la Facultad de Ingeniería Química, por facilitarnos la infraestructura y equipos del Laboratorios de Química Analítica, para desarrollar una de las etapas del presente trabajo.

Al Ing. Rosa Souza Najar asesora de la tesis, por su apoyo incondicional para la realización de nuestra tesis para optar el título de Ingeniero químico

A nuestros queridos padres, por su paciencia, confianza, apoyo incondicional y sabios consejos que han permitido que logremos culminar el presente trabajo de tesis.

Al Ing. Daniel Carrasco Montañez por su valiosa colaboración durante la ejecución de la presente tesis.

A los docentes de la Facultad de Ingeniería Química, por ser nuestros guías durante el proceso de nuestra formación académica.

A nuestros compañeros, por permitirnos compartir junto a ellos, experiencias, vivencias y expectativas durante el tiempo que duro nuestros estudios.

A todas aquellas personas que han sido parte de nuestra vida, por que han sido parte de nuestros crecimientos, espiritual, personal e intelectual.

## ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN.....	6
I. 1. INTRODUCCIÓN.....	7
II. 2. ANTECEDENTES.....	10
III 3. MARCO TEORICO Y CONCEPTUAL.....	15
3.1 Residuos orgánicos vegetales.....	15
3.2 Biomasa lignocelulósica.....	15
3.3 Residuos vegetales de cascara de naranja y pomelo.....	18
3.4 Naranja.....	20
3.5 Pomelo.....	21
3.6 Fraccionamiento de la biomasa lignocelulósica.....	24
3.6.1 Pretratamiento de la biomasa lignocelulósica.....	24
3.6.2 Hidrólisis ácida.....	25
3.6.3 Subproductos de la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica.....	27
3.6.4 Destoxificación del hidrolizado.....	28
3.6.5 Azúcares reductores.....	28
3.7 Bioetanol.....	29
3.8 Fermentación alcohólica.....	30
3.9 Destilación.....	31
IV 4. METODOLOGÍA.....	32
4.1 Tipo de Investigación.....	32
4.2 Diseño de la investigación.....	32
4.3 Población y muestra.....	33
4.4 Materiales.....	33
4.5 Método.....	34
4.5.1. Identificación del lugar de muestreo.....	34
4.5.2 Recolección y acondicionamiento de la muestra.....	35
4.5.3 Determinación de las características físicas y químicas.....	36
4.5.4 Evaluación de hidrólisis ácida en cascara de naranja y pomelo...	40
4.5.5 Obtención de Bioetanol de cascara de naranja y pomelo.....	43

4.6	Técnicas y recolección de datos.....	50
4.7	Procesamiento de la información.....	51
V	5. RESULTADOS.....	52
5.1	Características físicas y químicas de cascara de naranja y pomelo..	52
5.2	Hidrólisis ácida de la cascara de naranja.....	53
5.3	Hidrólisis ácida de la cascara del pomelo.....	57
5.4	Obtención de bioetanol a partir de las cascara de naranja y pomelo.....	61
5.4.1	Jarabes azucarados obtenidos de las cascara de naranja y pomelo	61
5.4.2	Destoxificación de los jarabes azucarados obtenidos de la cascara de naranja y pomelo .....	62
5.4.3	Concentración de jarabes azucarados destoxificados de las cascara de naranja y pomelo.....	62
5.4.4	Comportamiento de los grados Brix y pH, durante la fermentación alcohólica de los jarabes azucarados de las cascara de naranja y pomelo.....	63
5.4.5	Rendimientos en bioetanol obtenido a partir de las cascara de naranja y pomelo.....	65
6.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	66
7.	CONCLUSIONES.....	71
8.	RECOMENDACIONES.....	72
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	73
	ANEXOS.....	78
	Anexo 1:Resultados Análisis físico y químico de las cascara de naranja y pomelo.....	79
	Anexo 2:Resultado de la evaluación de la hidrolisis de la cascara de naranja.....	80
	Anexo 3: Resultado de la evaluación de la hidrolisis de la cascara de naranja.....	81
	Anexo 4:Resultado de la fermentación alcohólica de las cascara de naranja y pomelo.....	82
	Anexo 5:Resultados obtenidos en la determinación del grado alcohólico de los jarabes fermentados.....	83
	Anexo 6:Tabla para cálculo del grado alcohólico a partir del peso específico.....	84

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
01 Modelo de moléculas primaria de celulosa.....	16
02 Estructura química de la hemicelulosa.....	17
03 Estructura general de la lignina.....	18
04 Descripción partes del fruto de naranja.....	21
05 Clases y variedades de pomelo.....	23
06 Efecto del pretratamiento de material lignocelulósico.....	25
07 Productos de la hidrolisis de la celulosa y hemicelulosa.....	26
08 Productos de degradación de la biomasa.....	27
09 Estructura química de azúcares reductores.....	28
10 Esquema de la transformación del piruvato a etanol.....	30
11 Recolección de muestras de vendedores ambulantes de naranja y pomelo.	35
12 Toma de muestra utilizando el método del cuarteo.....	36
13 Determinación de la humedad.....	37
14 Determinación de ceniza.....	37
15 Determinación de grasa.....	38
16 Digestión ácido- básico de muestra desengrasada.....	39
17 Determinación de proteína.....	40
18 Evaluación de la Hidrólisis de la cascar de naranja y pomelo.....	42
19 Determinación de azucars reductores.....	43
20 Diagrama de flujo para la obtención de etanol a partir de la cascara de naranja y pomelo.....	44
21 Hidrólisis de la cascara de naranja y pomelo a T° 50 °C.....	45
22 Filtrado del jarabe hidrolizado.....	45
23 Destoxificación del jarabe hidrolizado.....	46
24 Concentrado del jarabe azucarado.....	46
25 Activación de la levadura.....	47
26 Fermentación alcohólica del jarabe azucarado.....	48



## ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág
27	Destilación del jarabe fermentado.....	49
28	Determinación del peso del pignometro.....	50
29	Comparación de las características físicas y químicas de las cascaras de naranja y pomelo.....	52
30	Gramos de azúcares reductores obtenidos por gramo de cascara de naranja seca.....	53
31	Grafica de efectos estandarizados de las variables en estudio (TR, CC y T°), en la hidrolisis acida de la cascara de naranja (para un alfa =0,05).....	55
32	Grafica de contorno de AR vs CC,TR a T°=50°C, en la hidrolisis acida de la cascara de naranja.....	56
33	Grafica de superficie de AR vs CC,TR a T°=50°C, en la hidrolisis acida de la cascara de naranja.....	56
34	Gramos de azúcares reductores obtenidos por gramo de cascara de pomelo seca.....	57
35	Grafica de efectos estandarizados de las variables en estudio (TR, CC y T°), en la hidrolisis acida de la cascara de pomelo (para un alfa =0,05).....	59
36	Grafica de contorno de AR vs CC,TR a T°=50°C, en la hidrolisis acida de la cascara de pomelo.....	60
37	Grafica de contorno de AR vs CC,TR a T°=50°C, en la hidrolisis acida de la cascara de pomelo.....	60
38	Comparación entre los; volúmenes, azúcares reductores (AR) y Grados Brix de los jarabes azucarados obtenidos.....	61
39	Grafica del °Brix y pH versus tiempo de fermentación, del jarabe azucarado de la cascara de naranja.....	63
40	. Grafica del °Brix y pH versus tiempo de fermentación del jarabe azucarado de la cascara de pomelo.....	64

## ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
01	Matriz de diseño de la investigación (sistema factorial 2 <sup>3</sup> ).....	33
02	Dirección de vendedores ambulantes que expenden jugos de naranja y pomelo en la ciudad de Iquitos.....	35
03	Parámetros evaluados en la hidrólisis acida.....	41
04	Valores medios de las características físicas y químicas de las cascaras de naranja y pomelo.....	52
05	Rendimiento en azúcares reductores obtenidos mediante la hidrólisis acida de la cascara de naranja.....	53
06	Análisis de varianza (ANOVA) del rendimiento en azúcares reductores obtenidos en los ensayos de hidrólisis acida de la cascara de naranja.....	54
07	Análisis del rendimiento en azúcares reductores obtenidos en los ensayos de hidrólisis acida de la cascara de naranja, mediante Intervalo de confianza individuales.....	54
08	Análisis de varianza de los efectos y coeficientes estimados de las variables en estudio; TR, CC y T°, en la hidrólisis acida de la cascara de naranja.....	55
09	Rendimiento en azúcares reductores obtenidos mediante la hidrólisis acida de la cascara de pomelo.....	57
10	Análisis de varianza (ANOVA) del rendimiento en azúcares reductores obtenidos en los ensayos de hidrólisis acida de la cascara de pomelo.....	58
11	Análisis del rendimiento en azúcares reductores obtenidos en los ensayos de hidrólisis acida de la cascara de pomelo, mediante Intervalo de confianza individuales.....	58
12	Análisis de varianza de los efectos y coeficientes estimados de las variables en estudio; TR, CC y T°, en la hidrólisis acida de la cascara de pomelo.....	59
13	Promedio del volumen, azúcares reductores (AR), °Brix y pH, de los jarabes azucarados obtenidos en la hidrólisis.....	61
14	Promedio del volumen, pH y °Brix, de los jarabes azucarado al final de destoxificación.....	62
15	Promedio de los volúmenes y °Brix de los jarabes azucarados al inicio y final de la concentración.....	62
16	Valore medios de los grados °Brix y pH, durante la fermentación del jarabe azucarado de la cascara de naranja.....	63
17	Valore medios de los los grados °Brix y pH, durante la fermentación del jarabe azucarado de la cascara de pomelo.....	64
18	Grado alcohólico, de los jarabes azucarados fermentados.....	65
19	Rendimiento en etanol obtenido a partir 20 g. de cascara de naranja y pomelo.....	65

## RESUMEN

El presente trabajo, estudia la obtención de bioetanol a partir de la cascara de naranja y pomelo. Las muestras en estudio fueron colectadas, en los puestos ambulatorios de venta de jugos de naranja y pomelo, ubicados en las diferentes calles de la ciudad de Iquitos, para luego ser secadas y molidas. El análisis fisicoquímico de la cascara de naranja presento un en su composición química 10,89% de fibra y 15,49% de carbohidratos, a diferencia de la cascara de pomelo 4,6% en fibra y 23,96% de carbohidratos. Se evaluó el proceso de hidrólisis ácida para convertir las cascaras en azúcares reductores, variando la concentración del ácido sulfúrico 2% y 5%, tiempo de reacción 60 minutos y 90 minutos, temperatura de la reacción 50°C y 100°C, con una relación sólido líquido 1/30. La conversión en azúcares reductores es mayor al 70% en la hidrólisis ácida de la cascara de naranja, cuando se fija la T° a 50°C, a concentraciones de ácido sulfúrico cercanos al 5%, y tiempos de reacción cercanos a 90 minutos. El rendimiento en azúcares reductores para la cascara de pomelo es superior al 85%, fijando la temperatura a 50°C, concentración de ácido sulfúrico cercano al 2% y tiempos de reacción entre 60 y 90 minutos. A partir de 20 g. de cascara seca de naranja y pomelo en 600 ml de solución ácida, se logro obtener 250 ml de jarabe azucarado de 10 y 12 grados brix respectivamente. La fermentación alcohólica se realizo durante siete días, utilizando *Sacharomyces cerevisiae* (levadura liofilizada), El rendimiento en bioetanol obtenido fue de 0,27% y 0,40% en volumen con una conversión de 0,034 ml de bioetanol/gramo de cascara de naranja y 0,05 ml. de bioetanol/gramo de cascara de pomelo.

Palabras Claves: Cascaras, naranja, pomelo, hidrólisis, fermentación, bioetanol.

## CAPITULO I

### 1. INTRODUCCIÓN

El mercado mundial de bioetanol, ha experimentado un crecimiento del 22% desde 2004 al 2012, produciendo a un ritmo del 2% anual, alcanzando a producir 87 600 millones litros. La producción de bioetanol o etanol obtenido del maíz en EEUU (primer país productor del mundo), junto con la producción obtenida a base de caña de azúcar en Brasil (segundo país productor del mundo), constituyen el 88% de la producción mundial. Los mejores rendimientos de la caña de azúcar en relación con los cereales principalmente de maíz, hace que el bioetanol obtenido a partir de la caña de azúcar sea más competitivo por sus bajos costes en comparación con el bioetanol obtenido a partir de los cereales. En ambos países, la utilización del bioetanol es para mezclas con gasolina, y el uso en el transporte, siendo por tanto los principales consumidores de bioetanol en el mundo (Maluenda 2012).

Sin embargo este crecimiento se viene estancando en los últimos años, debido a que los precios elevados de las materias primas están incidiendo negativamente en el ánimo de los productores de bioetanol y su pesimismo hacía el futuro del sector. Los precios del bioetanol en EEUU a principios de 2011, fueron los más elevados de los últimos años alcanzando los 0,68 \$/litro, posteriormente y a consecuencia de la bajada de los precios de la gasolina y del maíz, los precios también descendieron llegando alcanzar 0,62 \$/litro. Los precios del etanol hidratado en Brasil, alcanzaron valores record a mediados de 2011 con 0,73 \$/litro, mientras que los precios del etanol anhidro ascendieron a 0,83 \$/litro. Ambos precios son muy superiores a los alcanzados en 2010, que oscilaban entre 0,40 y 0,46 \$/litro respectivamente.

La reducción de la cosecha de caña de azúcar en Brasil el 2010 y a los altos precios registrados del maíz en EEUU en 2011, son una de las causas principales, además de la existente preocupación debido a que la caña de azúcar, encuentran mayor rentabilidad al destinar su producción al consumo de azúcar en lugar de la industria del bioetanol y los

agricultores de maíz encuentran mayores rendimientos económicos, con la venta para la fabricación de pienso compuesto, que para su uso como bioetanol. (Maluenda 2012).

La producción de bioetanol a partir de caña de azúcar y maíz es una tecnología establecida, pero es una fuente básica de alimentación mundial. La búsqueda de una alternativa renovable debe lograrse, mediante el uso de materiales lignocelulósicos, por ser abundantes y relativamente baratos, Aunque los procesos aun son costosos en la actualidad, los avances en la tecnología deben conllevar a una disminución sustancial del costo de conversión de estos materiales a bioetanol.

La posibilidad de producir bioetanol de biomasa de bajo costo debe ser la clave para que sea competitivo al compararlo con la gasolina. El bagazo de la caña de azúcar, subproducto de la industria azucarera, es el material más estudiado y en segundo lugar se encuentran los residuos de la industria del procesamiento del maíz. (Viñals *et al* 2012).

En el mundo se producen aproximadamente 1600 millones de toneladas por año de residuos sólidos urbanos, estos 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.

La producción de bioetanol representa una alternativa para el aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica presente en los residuos solidos urbanos, siendo las cáscaras de frutas y desperdicios de verduras, consideradas biomasas desvalorizadas, una de las principales fuentes de la cual se puede obtener jarabes glucosados para su posterior conversión en bioetanol.

La naranja y el pomelo son cítricos que se consumen habitualmente en la ciudad de Iquitos, Según el INEI 2012, Loreto presento una producción de 2367 TM de naranja, incrementándose en un 19,4 % durante el año 2011, estos cultivos se encuentran concentrados en la zona central del Río Huallaga, en donde se cultivan aproximadamente 3000 hectáreas de naranja de la variedad valencia, comercializándose

el 85% en las ciudades de la costa del país (Chiclayo, Trujillo, Piura), y el 15 % restante en los mercados de la ciudad de Iquitos.

Los mayores demandantes, de naranja y pomelo en la ciudad de Iquitos son los vendedores ambulantes de jugos, quienes lo extraen para venderlos al paso, estos se encuentran ubicados en las diferentes calles y mercados de la ciudad, el jugo de naranja es separado de la pulpa en forma artesanal, previa eliminación de la cascara, estos residuos (pulpa y cascara) no son aprovechados y van a parar en el botadero municipal, incrementando los costos en la disposición final de los residuos sólidos de la ciudad de Iquitos.

Los subproductos en la industria de jugos cítricos, representan el 50% del peso de la fruta entera (Cedrón & Cardona 2011), estos subproductos pueden emplearse como nutrientes en alimentación animal, pero sus precios no son lo suficientemente altos para proporcionar rentabilidad al proceso de comercialización, de manera que el desarrollo de productos alternativos de mayor valor agregados beneficiaría a los procesadores de frutos cítricos.

En el presente trabajo tiene como objetivo estudiar las características fisicoquímicas de las cascaras de naranja (*Citrus sinensis L.*) y pomelo (*Citrus grandis*) para obtener bioetanol. Se determinaron sus características físicas y químicas, posteriormente se realizaron pruebas de hidrólisis ácida para convertirlos en jarabes azucarados, en donde se evaluaron; la influencia de la concentración del ácido sulfúrico, temperatura y tiempo de reacción en el proceso, finalmente los jarabe azucarados obtenidos fueron convertidos en bioetanol, mediante fermentación alcohólica utilizando *Saccharomyces cerevisiae*.

La importancia del estudio se fundamenta, porque busca convertir las cascaras de naranja y pomelo, generadas como residuos en la ciudad de Iquitos, en un producto de mayor valor agregado, de manera que los resultados obtenidos sirvan de base para otros estudios que viabilicen el aprovechamiento de estos.

## CAPITULO II

### 2. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Los residuos agrícolas e industriales son materias de estudios, por los problemas ambientales y costos adicionales que representan a la industria. A nivel mundial se vienen realizando diversos estudios con el objetivo de obtener bioetanol a partir de materiales lignocelulosicos. Uno de los mayores retos es convertir la hemicelulosa y celulosa en azúcares fermentables, de tal forma que puedan ser transformadas en etanol mediante fermentación alcohólica. A continuación se muestra algunos estudios reportados sobre el tema a nivel mundial:

Aguilar y Canizales 2004, estudiaron la hidrólisis del residuo lignocelulosico de la cascarilla de cebada con ácido sulfúrico diluido, transformándolo en azúcares fermentables en un reactor tipo batch. Ellos encontraron que el punto máximo de conversión de azúcares fermentables alcanzados fue de 70,83%, cuando trabajaron a una temperatura de 110 °C, tiempo de reacción de 210 minutos y una concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1%. Estimando además que no hubo alta producción de compuestos derivados de la degradación de los azúcares fermentables, pues estos incrementaban su concentración hasta llegar al valor máximo.

Dominguez *et al* 2011, estudiaron a nivel de laboratorio, la obtención de azúcares reductores por medio de hidrolisis ácida del bagazo de caña sin pretratamiento, utilizando ácido H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, en condiciones de ebullición a reflujo y presión atmosférica, evaluaron la influencia de tres variables: Tiempo de reacción (10, 20, 30, 40, 60 y 90 min.), temperatura sobre el proceso (30 , 45, 60 y 75 °C) y concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2, 4, 6, y 8%). La mayor conversión en azúcares reductores totales (0,98252 g/L), fue obtenida en condiciones de temperatura de 45 y 75 °C y un tiempo de reacción de 60 y 90 minutos respectivamente, ambos a una concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> del 2%. Observándose que el porcentaje de conversión crecía y decrecía irregularmente atribuyéndoles a la probable descomposición de los azúcares en ácidos orgánicos, furfural o compuestos fenólicos.

Ferrer *et al* 2002, evaluaron la conversión de azúcares reductores (AR), a partir de la hidrólisis ácida del bagacillo de caña. El bagacillo tratado (BT) y no-tratado (BNT) con inmersión en agua a temperatura ambiente (TA), hidrolizaron, mediante ebullición a reflujo, con diferentes concentraciones de ácido sulfúrico diluido (2%, 4%, 6% y 8 % v/v) a diferentes tiempos de reacción (TR) (4, 8 y 12 h.), con una relación líquido/ sólido de 30/1. El experimento involucró un diseño totalmente al azar con un arreglo factorial 2 x 3 x 4 con tres repeticiones. Sus resultados muestran que todos los factores en estudio y sus interacciones, excepto la interacción (TA x TR), afectaron significativamente ( $P < 0,01$ ) la concentración (g/L) de AR obtenidos. La concentración de AR varió de 2,58 a 20,45 g/L, con un promedio general de 10,53 g/L. La mayor producción de AR ( $16,76 \pm 1,71$  g/L) obtenida fue en la hidrólisis de BNT con ácido sulfúrico al 6% y 4 horas de reacción

Marcano *et al* 2009, realizaron ensayos para investigar la hidrólisis de la celulosa Kraft de Eucaliptus con  $H_2SO_4$  al 6%, temperatura de reacción de  $100^\circ C$ , variando el tiempo de hidrólisis (4, 6 y 8 horas) y el tamaño de partículas (muestra molida y muestra desfibrada), utilizando un sistema de reflujo para la reacción. Realizaron tres repeticiones para cada tiempo, estableciendo una relación pulpa/ácido de 1/30. Al finalizar la hidrólisis, tomaron una alícuota del sobrenadante de cada replica y elevaron su pH utilizando hidróxido de sodio (NaOH) al 20 %, completando la neutralización con carbonato de sodio ( $Na_2CO_3$ ) 0,0709 N. Obteniendo rendimientos máximos de azúcares reductores de 21,87% en pulpa celulósica molida y 17,61% para la desfibrada. Evidenciando: a) un rendimiento ascendente con el aumento en tiempo de hidrólisis para la pulpa desfibrada y b) una disminución del rendimiento a 8 horas de hidrólisis con respecto a 6 horas de hidrólisis para pulpa molida. El evento observado en (b) lo atribuyen a la dificultad de ruptura de los enlaces glucosídicos  $\beta$  1-4, limitada por la temperatura y la dificultad de penetración del reactivo a través de la estructura cristalina de la celulosa, produciendo la oxidación de los azúcares formados provocando su carbonización por deshidratación. Además asumen que esta reacción no tuvo lugar



en el caso (a), debido a que la hidrólisis ocurrió de manera más lenta y tal vez no alcanzó su máximo efecto limitante.

Alvear *et al* 2009, realizaron un estudio sobre la hidrólisis ácida de la cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) provenientes de una industria de vinos, usando ácido sulfúrico diluido a concentraciones de 3, 5 y 7%. La cáscaras de naranja fue previamente deslignificada, con NaOH 0,1 N y sulfato de calcio. La hidrólisis lo realizaron en un autoclave, a temperatura de 125 °C y 15 psi durante 15 minutos. No encontrando diferencias en cuanto a los grados Brix (Bx) de los jarabes azucarados obtenidos, para las concentraciones de 3 y 5% (6.6 y 6.9 °Bx respectivamente), existiendo diferencia cuando usaron concentración de ácido al 7% (8 °Bx) mostrando mayor contenido de sólidos en el jarabe y un rendimiento de 25 mg de azúcares por cada gramo de cáscaras de naranja.

Ahuja 2011, evaluó el grado de degradación de azúcares: glucosa, xilosa y arabinosa en un proceso de hidrólisis análogo a la sacarificación de la biomasa, realizó la hidrólisis a diferentes condiciones de reacción teniendo en cuenta los parámetros usados en la hidrólisis del bagazo de agave tequila: concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 y 2%; temperaturas de 125 °C, 150°C, 175°C y 200 °C y tiempos de reacción de 0, 15, 30 y 45 minutos. Observando que las condiciones de mínima degradación se produjo a una concentración de 1% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 125 °C de temperatura y 0 minutos de reacción. El producto de degradación identificado fue el furfural formado por degradación de la xilosa, este se presento a partir de los 125 °C obteniendo un pico máximo a los 175 °C y 30 minutos de reacción en ambas concentraciones del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> posteriormente disminuyo su concentración evidenciando su continua degradación a otros subproductos.

Cortes *et al* 2013, evaluaron la hidrólisis ácida de la cáscara de banano y naranja, para obtener azúcares de dichas biomásas. Previamente, cuantificaron la cantidad de azúcares reductores presentes en las muestras y deslignificaron, mediante inmersión en solución de NaOH 0,1 M durante una hora, luego llevaron a cabo el proceso de hidrólisis ácida con una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5,0 N durante 30 minutos, bajo 3 condiciones diferentes de temperatura, 30°C, 56 °C y 68 °C, con el fin de

comparar y encontrar el método más efectivo en la obtención de azúcares. El mejor rendimiento para la cascara de naranja fue de 59,8 g/L de glucosa cuando trabajaron a una temperatura de 68°C.

Genera 2013, desarrollo un estudio para obtener jarabes azucarados a partir de la hidrólisis química de los residuos de la cascara de naranja y papa, realizo un pre ensayo en el que realizo pruebas preliminares con diferentes concentraciones de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,5; 0,75; 1; 2,5; y 5%), determinando que la hidrólisis al 5% es la más eficiente. En cuanto a la producción de azúcares reductores por hidrólisis de la cascara de naranja, logro obtener un rendimiento de 21.66 gr de azúcares/100 g de cascara seca.

Tejada *et al* 2010. En un trabajo realizado lograron obtener bioetanol a partir de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) y piña (*Ananás sativus*). Determinaron el contenido de azúcares reductores de los materiales lignocelulósicos. Mediante un pretratamiento físico se disminuyeron el tamaño de las muestras y, la remoción de lignina lo realizó con hidróxido de sodio y sulfato de calcio. La hidrólisis ácida fue llevada 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 micro destilación. Determinando el contenido de etanol por cromatografía de gases encontrando 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.

Monsalve *et al* 2006, evaluaron la hidrólisis ácida del almidón presente en yuca y la celulosa presente en cáscara de banano. Posteriormente realizaron la fermentación a para obtener etanol, ajustaron los medios de fermentación para los microorganismos *Saccharomyces cerevisiae* y *Zymomonas mobilis* . Caracterizaron la cáscara de banano, la cual posee un contenido de almidón, celulosa y hemicelulosa que representan más del 80 % de la cáscara ameritando el estudio de ésta como fuente de carbono. La hidrólisis ácida de cascara de banano produce 20 g/l de azúcares reductores. Para la Yuca con 170 g/l de almidón a; pH 0.8 en 5 horas se logra conversión completa a azúcares reductores y no se nota

ningún efecto inhibitorio por parte de los cultivos realizados con cáscara de banano y yuca por la presencia de cianuro en la yuca y por la formación de compuestos tóxicos al hidrolizar la celulosa en banano. Para la fermentación realizada con *Sacharomyces cerevisiae* se logra una concentración de etanol de  $7.92 \pm 0.31\%$  y no se aprecia una producción considerable de etanol (menor de 0.1 g/l) para ninguno de los medios fermentados con *Zymomonas mobilis*.

## CAPITULO III

### 3. MARCO TEORICO Y CONCEPTUAL

#### 3.1. Residuos Orgánicos Vegetales.

Las sustancias y materia orgánica que sale desde el proceso de producción son llamado materiales indeseables, lo definimos como "desechos". Los residuos orgánicos son materias primas con capacidad de conversión a valor agregado, se pueden tratar y transformar en sustancias necesarias para la industria como para el medio ambiente.

Galanakis 2012, estima que el procesamiento de desechos orgánicos ha sido considerado como un asunto de tratamiento, prevención y minimización debido a los efectos ambientales inducidos por su disposición. Por la gran cantidad de residuos orgánicos que se generan a diario a nivel mundial se ha visto reflejados problemas en el medio ambiente y a nivel económico teniendo en cuenta los costos de recolección, transporte y disposición final que son cada vez mayores. (Cardona 2004).

Monsalve 2006, concluye que de los residuos vegetales son ricos en: almidón, hemicelulosa, celulosa y lignina, en porcentajes altos según la materia orgánica que se procese; estos sustratos una vez hidrolizados, se convierten en materia prima, para la obtención de azúcares fermentables, edulcorantes y bioetanol.

#### 3.2. Biomasa Lignocelulósica.

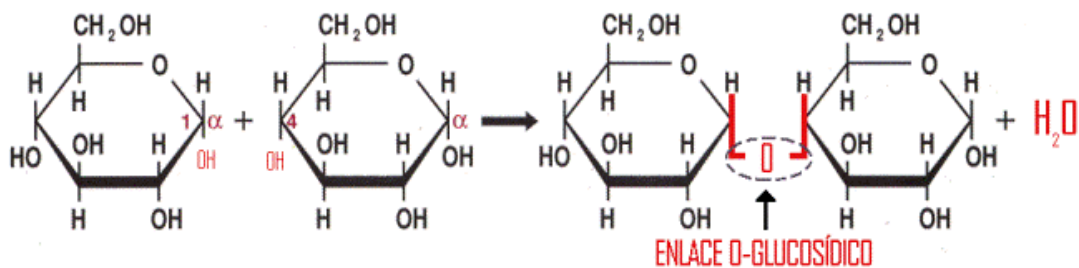
La lignocelulosa está presente como un bloque dentro de la estructura de la pared celular de las plantas y vegetales, esta biomasa es la fuente de carbono renovable más prometedora para solucionar los problemas actuales de energía y materias primas, (Álvarez *et al*, 2012). El aprovechamiento integral del material lignocelulósico persigue métodos de fraccionamiento de los compuestos

estructurales (celulosa, hemicelulosa y lignina), de dos clases: métodos de hidrólisis y métodos de lignificación (Barroso 2010).

### Celulosa.

La celulosa es un homopolímero lineal de elevado peso molecular y grado de polimerización, (Barroso 2010). La celulosa es parte de la pared celular, se forma por la unión de moléculas de  $\beta$ -glucosa mediante enlaces  $\beta$ -1,4-O-glucosídicos. La celulosa es una larga cadena polimérica de peso molecular variable, con fórmula empírica  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , con un valor mínimo de  $n=200$ .

Figura 01: Modelo de moléculas primaria de celulosa.



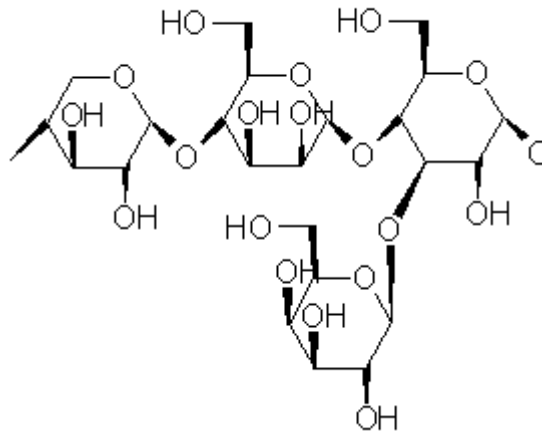
Fuentes: Wikipedia (2014). Enlace glucosídico.

La celulosa tiene una estructura lineal y fibrosa, en la que se establecen múltiples puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de distintas cadenas yuxtapuestas de glucosa, lo que hace que sea insoluble en agua.

### Hemicelulosa

Las hemicelulosas son heteropolisacáridos (polisacárido compuesto por más de un tipo de azúcar) unido por enlaces  $\beta$ -1-4 (fundamentalmente xilosa, arabinosa, galactosa, manosa, glucosa y ácido glucurónico), que forman una cadena lineal ramificada.

Fig. 02: Estructura química de la hemicelulosa



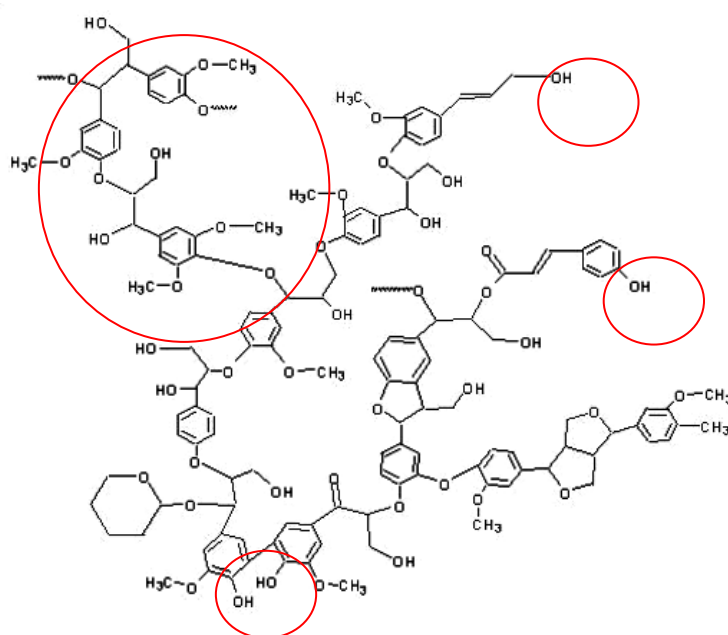
Fuente: Fuentes: Wikipedia (2014).Hemicelulosa

Entre estos monosacáridos destacan más: la glucosa, xilosa, galactosa y fructosa (Carballo & Arteaga 2005). La hemicelulosa se caracteriza por ser una molécula con ramificaciones, tal como el ácido urónico, capaz de unirse a las otras moléculas mediante enlaces que constituyen la pared rígida que protege a la célula de la presión ejercida sobre ésta por el resto de las células que la rodea. La hemicelulosa se clasifica en pentosanos y hexosanos. Los pentosanos están constituidos fundamentalmente por aldopentosas (monosacáridos de 5 átomos de carbono) y los hexosanos están formados por aldohexosas (monosacáridos de 6 átomos de carbono).

### **Lignina**

La lignina es un compuesto básicamente hidrófobo, característica frecuente en los compuestos aromáticos. Por ello, no puede ser disuelto en un medio acuoso, a no ser que se introduzcan en su estructura grupos sustituyentes polares mediante reacciones químicas, los cuales sean capaces de estabilizar la disolución de lignina en agua. Éste procedimiento se lleva a cabo en ocasiones, haciendo reaccionar la lignina con compuestos derivados del azufre, que introducen sustituyentes sulfonados en la estructura de la lignina, haciéndola entonces soluble (Chiaramonti, *et al* 2012).

Fig. 03: Estructura general de la lignina



Fuente: Wikipedia (2014). Lignina y sus derivados.

La lignina cumple con tres funciones específicas:

- Proteger a la celulosa del ataque microbiano.
- Conferir resistencia e impermeabilidad al material.
- Mantener unidas las fibras celulósicas.

Chiaromonti, *et al* 2012, argumentaron que es necesario eliminar la lignina para la preservación de polisacáridos como hemicelulosa y celulosa porque de allí provienen los azúcares reductores, ya que son los mejores indicadores de la degradación y conversión del tejido vegetal a azúcares fermentables.

### 3.3. Residuos vegetales de cáscaras de naranja y pomelo

La composición química de la cáscara de naranja, es diferente a la cáscara de pomelo, principalmente en términos de carbohidratos y fibras, por el alto volumen de mesocarpo que presenta el pomelo. Las cáscaras de los cítricos representan aproximadamente del 45 al 60% del peso de la fruta. (Tejada, *et al* 2010).

En Iquitos se consume principalmente naranja variedad: valenciana y pomelos variedad amarilla, se cultiva principalmente en el Departamento de San Martín. La naranja y pomelo son utilizadas principalmente para la producción de jugos, cuyo proceso conlleva una generación considerable de desechos como cáscaras, pulpa y semillas.

Cerón & Cardona 2011, aseguran que los residuos cítricos se han vuelto una carga sustancial para el medio ambiente y que podrían ser empleados para obtener otros productos como aceites esenciales y pectinas, buscando incrementar su valor agregado, con el proceso de agro industrialización y al mismo tiempo de disminuir el impacto ambiental que estos producen. La cáscara se usa mucho como saborizante, también el aceite esencial extraído de la capa externa de la piel, se utiliza comercialmente como saborizante de alimentos, refrescos y para otros fines. De la capa interna blanca de la cáscara se extrae pectina para el uso en conservas de frutas. Otros usos de los desechos cítricos:

- Pulpa: La pulpa de los cítricos; 3/4 del total como subproducto de la extracción de jugo de naranja dulce, es altamente valorada como pienso granulado con un contenido de proteínas de 6,58 a 7,03%. Es una fuente de levaduras comestibles, alcoholes no ingeribles, ácido ascórbico, y hesperidina.
- Piel: Además de sus usos alimentarios, el aceite de la cáscara de naranja es un aroma muy apreciado en perfumes y jabones. Debido a su contenido de limoneno, 90-95%, tiene un efecto letal sobre las moscas, pulgas y hormigas bravas. Su potencial como insecticida está bajo investigación. Se está utilizando en productos de limpieza de los motores y en jabones secos para las manos en los talleres de reparación de maquinaria pesada.
- Semillas: El aceite derivado de la semilla de la naranja y de otros cítricos se emplea como aceite de cocina, en jabones y en plásticos. El residuo de las semillas, de alta proteína es adecuado para la alimentación humana, un ingrediente en la alimentación del ganado, y en las mezclas fertilizantes.



### 3.4. Naranja

El naranjo es un árbol de tamaño mediano, de tres a cinco metros de altura, con copa redondeada y ramas regulares. Un solo tronco, derecho y cilíndrico, verdoso primero y gris después. Las ramas aparecen a un metro, poco más o menos, del suelo. Las hojas son perennes, medianas y alargadas, con base redondeada y terminadas en punta. Las flores aparecen en las axilas de las hojas, solitarias o en racimos. (Saunt 1992). La mayoría de las variedades han surgido como mutaciones estables. Estas mutaciones son muy frecuentes en cítricos y se estabilizan rápidamente. Pueden considerarse 3 tipos de variedades:

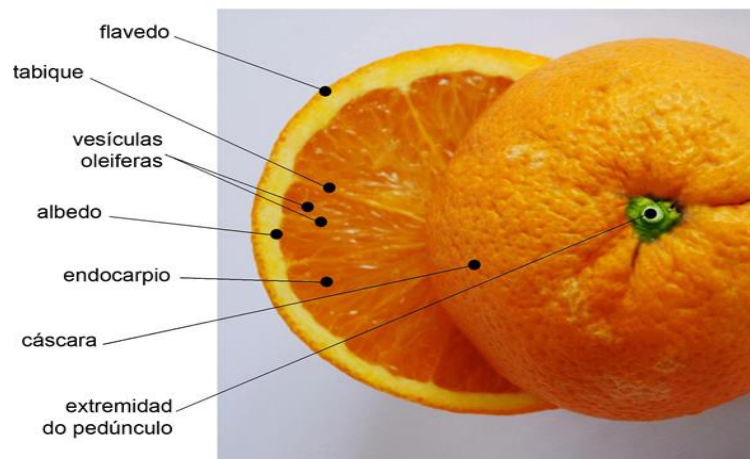
- Navel: buena presencia, frutos partenocárpicos de gran tamaño, muy precoces. Destacan las variedades: Navelate, Navelina, Newhall, Washington Navel, Lane Late y Thompson. Se caracterizan por tener, en general, buen vigor.
- Blancas: dentro de esta variedad destaca la Salustiana y Valencia Late (presenta frutos de buena calidad con una o muy pocas semillas y de buena conservación). Se caracterizan por ser árboles de gran vigor, frondosos, tamaño medio a grande y hábito de crecimiento abierto, aunque tienen tendencia a producir chupones verticales, muy vigorosos, en el interior de la copa.
- Sanguinas: variedades muy productivas, en las que la fructificación predomina sobre el desarrollo vegetativo. Son variedades con brotaciones cortas y los impedimentos en la circulación de la savia dan lugar al endurecimiento de ramas. Destaca la variedad Sanguinelli. (infoagro 2012)

Taxonomía y morfología:

- Familia: Rutaceae. -Género: Citrus.
- Especie: Citrus sinensis (L.) Osb.
- Porte: Reducido (6-10 m). Ramas poco vigorosas. Tronco corto.

- Hojas: Limbo grande, alas pequeñas y espinas no muy acusadas.
- Flores: Ligeramente aromáticas, solas o agrupadas con o sin hojas. Los brotes con hojas (campaneros) son los que mayor cuajado y mejores frutos dan.
- Fruto: Hesperidio. Consta de: exocarpo (flavedo; presenta vesículas que contienen aceites esenciales), mesocarpo (albedo; pomposo y de color blanco) y endocarpo (pulpa; presenta tricomas con jugo). (Infoagro 2012)

Fig. 04 Descripción partes del fruto de naranja.



Fuente: Infoagro 2012

### 3.5. Pomelo

El pomelo es un árbol perennifolio, de 5 a 6 m de altura, sus hojas son simples, alternas, ovadas, finamente dentadas, de entre 7 y 15 cm de largo, de superficie coriácea y color verde oscuro por el haz. Produce flores hermafroditas, fragantes, tetrámeras, blancas o purpúreas, formando racimos pequeños terminales o solitarias. El fruto es un hesperidio globoso o apenas piriforme, de hasta 15 cm de diámetro. Está recubierto de una cáscara gruesa, carnosa, de color amarillo o rosáceo, con glándulas oleosas pequeñas y muy aromáticas, rugosa. Tiene 11 a 14 carpelos, firmes, muy jugosos, dulces o ácidos según la variedad, separados por paredes membranosas de característico sabor amargo, que contienen pulpa de color que va del amarillo pálido al rojo muy intenso.

Existen muchas variedades de pomelo cuyos nombres dependen del lugar de procedencia, tamaño y color. Se agrupan en dos grandes familias: blancas o comunes, con pulpa de color amarillo. Y pigmentadas, con la pulpa de color rosa o rojo, gracias a su alto contenido en licopeno.

- Variedades amarillas: Son aquellas que presentan la carne de color amarillo. Dentro de estas variedades tenemos:

- Duncan, Con frutos redondos a ovalados de hasta 12,5 cm de diámetro. Posee la piel de color amarillo, de un grosor mediano y muy aromático. La pulpa es muy jugosa y presenta muchas semillas (50 -70). Alcanzan su madurez entre los meses de Diciembre a Mayo.
- Marsh, Presenta frutos mas redondeados con muy pocas semillas ( 0-6). Posee la piel mucho más lisa y muy aromática. La pulpa es de color amarillento y con muchísimo jugo. Alcanzan su madurez entre los meses de Diciembre a Marzo.
- Oroblanco, Variedad producida en California, sus frutos son más pequeños, tienen la corteza de color amarillo pálido y bastante más gruesa. Su jugo no es tan ácido como el resto de los pomelos.

- Variedades rosadas: Son aquellas que tienen la carne con tonos de color rosa o rojizos, proporcionadas por el contenido de licopeno, el que le confiere además propiedades antioxidantes, entre las variedades más cultivadas destacan:

- Burgundy, presenta la corteza lisa, escaso número de semillas (1-2), pulpa firme, muy jugosa, con sabor dulce y nada amargo. Su calidad interna es considerada inferior en comparación con otras variedades pigmentadas.
- Ruby (Ruby red, Redblush, Henninger): Sin semillas, presenta mejor calidad interna y mejor pigmentación interna y externa. La intensidad de la

pigmentación aumenta con la temperatura ambiente. Excepto por el color, es prácticamente idéntica a la variedad Marsh en cuanto a características del fruto, aunque presenta menos semillas.

- Star Ruby , la pulpa es de coloración más intensa y la coloración externa es superior a la de otras variedades. Presenta escasas semillas (1-2, en algunos frutos). La corteza es muy delgada, el contenido de zumo es muy alto y el sabor más dulce y menos amargo que el de Marsh y otras variedades pigmentadas. Es el pomelo estándar o modelo con el que se suelen comparar otras variedades.
- Thompson o Pink Marsh, las características del árbol y del fruto son muy similares a las de la variedad Marsh, ya que sólo difiere en dos aspectos: es de madurez algo más precoz y la pulpa es ligeramente rosa en la zona próxima a las membranas de los gajos, aunque este color tiende a mitigarse con el paso del tiempo.(botánica-online 2012).

Fig. 05: Clases y variedades de pomelo



Fuente: Botánica-online 2012.

### **3.6. Fraccionamiento de la biomasa lignocelulosa.**

El conjunto de procesos físicos y/o químicos que conducen a la separación selectiva de los polímeros que conforman la biomasa, son procesos de fraccionamiento. Los polisacáridos, celulosa y hemicelulosa son hidrolizables en medios ácidos con obtención de disoluciones azucaradas. La hemicelulosa es el polímero más fácilmente atacable, mientras que la lignina se ve poco afectada por los ácidos y permanece como residuo sólido. Tratamientos alcalinos o tratamientos con agua caliente en condiciones moderadas disuelven solamente hemicelulosa. Los polisacáridos son difíciles de oxidar, mientras que la lignina se degrada fácilmente por métodos oxidativos.

#### **3.6.1. Pretratamiento de la biomasa lignocelulosa**

El propósito del pretratamiento es remover la lignina y la hemicelulosa, reducir la cristalinidad de la celulosa y aumentar la porosidad del material. En una materia prima no tratada, las fibras de celulosa, con una alta cristalinidad, se encuentra dentro de una no muy bien organizada matriz de hemicelulosa y envuelta en una pared de lignina que le da la rigidez al material lignocelulósico.

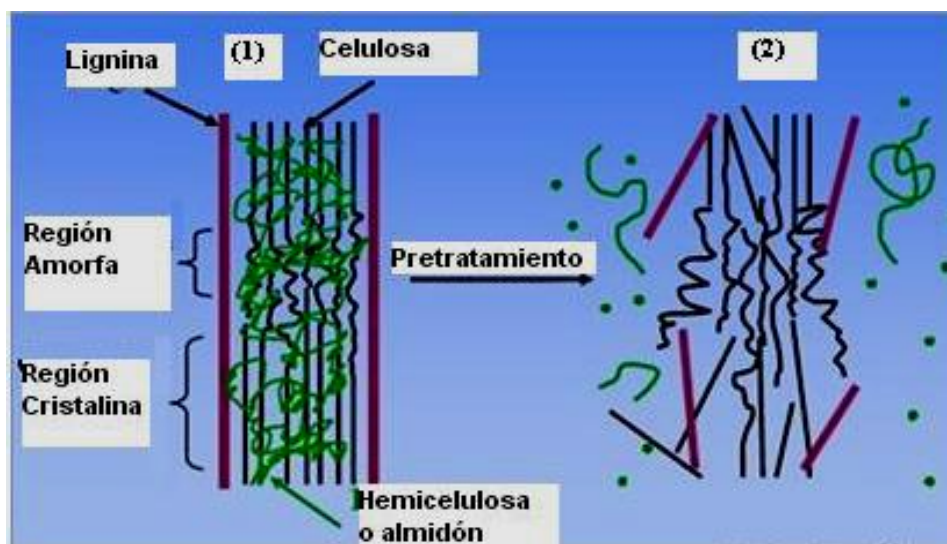
La Figura 06, es una representación esquemática ideal del pretratamiento en biomasa. La lignina, hemicelulosa y celulosa están representadas por los colores rosado, verde y negro, respectivamente. En el pretratamiento ideal de biomasa se pueden distinguir tres etapas representados en esta figura: (a) Desplazar / remover el revestimiento de lignina, (b) Dejar al descubierto/ remover la hemicelulosa y (c) Reducir/ eliminar la cristalinidad de la fracción de celulosa

Un pretratamiento debe tener las siguientes características (Ahuja 2011):

- a) Mejorar la digestibilidad de la celulosa y la hemicelulosa en la posterior hidrólisis acida o enzimática.
- b) Evitar la degradación o pérdida de carbohidratos

- c) Evitar la formación de subproductos inhibidores para los procesos posteriores, hidrólisis enzimática y fermentación de azúcares.
- d) Ser costo-efectivo

Fig. 06: Efecto del pretratamiento de material lignoceluloso.



Fuente: Sun & Cheng 2001.

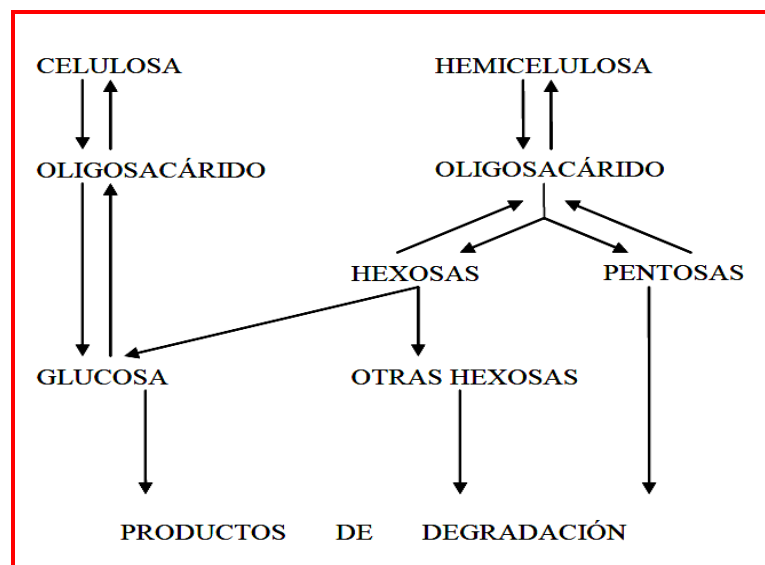
Mejía, *et al* 2007 y Hoyos & Pérez 2005, aconsejan realizar el proceso de degradación de lignina para poder obtener la celulosa. Tejada, *et al* 2011, por medio de ensayos descubrieron que sumergiendo en una solución de NaOH 0.1N más adición de 0.816 g de sulfato de calcio por tres horas, se eliminaba gran porcentaje de lignina (30%) presente en la materia orgánica y parte de la hemicelulosa obteniendo así la celulosa libre, este proceso es necesario dentro de la hidrólisis cuando se desea obtener azúcares reductores ya que la lignina por su estructura química recubre la celulosa y la hemicelulosa y sin degradarla no le permite la separación.

### 3.6.2. Hidrólisis ácida.

La hidrólisis es un proceso químico que rompe un enlace en presencia de agua y produce uno o varios compuestos. Las moléculas de almidón y de celulosa,

como todos los polisacáridos, se despolimerizan por acción de los ácidos en caliente. Cuando los gránulos son expuestos a la acción de ácidos minerales muy diluidos y luego calentando esta mezcla, se obtiene la hidrólisis de los enlaces glucosídicos, retomando la moléculas a su forma original, es decir, a sus monómeros principales de D-glucosa. La hidrólisis ácida permite obtener jarabes de D-glucosa. Se ha propuesto secuencias de reacciones para la hidrólisis por disoluciones acidas de la forma que se muestra en la figura 07.

Fig. 07 Productos de la hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa



Fuente: Ahuja 2011

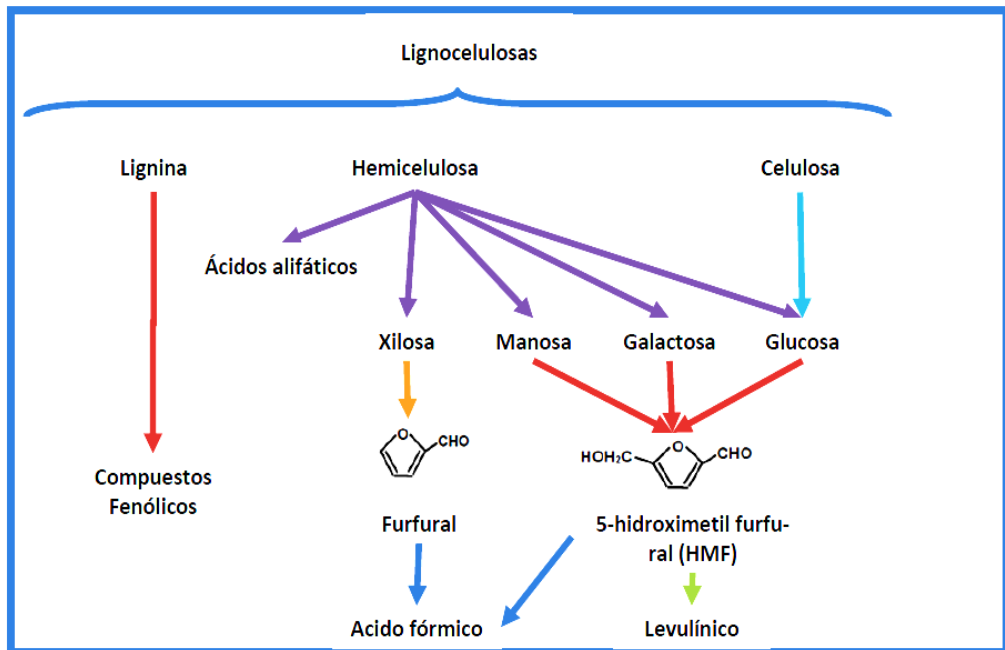
La hidrólisis de celulosa y hemicelulosa siguen procesos análogos, aunque la celulosa necesita condiciones más severas. La hidrólisis con ácidos diluidos solubiliza la hemicelulosa dejando intacto las fracciones de celulosa y lignina.

En condiciones favorables para la hidrólisis de un material lignocelulósico se obtienen jarabes de hemicelulosa que contienen pentosas (xilosas y arabinosa) y hexosas (principalmente glucosa y manosa) además de presentar una concentración de 3-10g/L de ácido acético, pequeñas concentraciones de furanos (furfural e hidroximetil-furfural) y fenólicos derivados de la hidrólisis parcial de la lignina (Ahuja 2011).

### 3.6.3. Subproducto de la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica.

La celulosa, hemicelulosa y lignina pueden romper sus enlaces para formar glucosa, xilosa, manosa, galactosa y compuestos fenolicos respectivamente (Fig. 08).

Figura 08. Productos de degradación de la biomasa



Fuente: Jiménez 2011.

De los monómeros producidos, alguno de ellos se pueden descomponer durante el proceso y formar compuestos como 5- hidroximetil furfural (HMF) desde las hexosas y furfural desde las pentosas. HMF y furfural pueden también descomponerse en ácido levulínico y ácido fórmico. Mas aún, el ácido acético es liberado de los grupos acetilos de la hemicelulosa.

Algunos de estos subproductos son tóxicos para los microorganismos, incluida la levadura. Estos inhibidores disminuyen el rendimiento sobre los procesos fermentativos, al inhibir el crecimiento microbiano. y la producción de etanol. (Ahuja 2011)



### 3.6.4. Destoxificación de hidrolizados

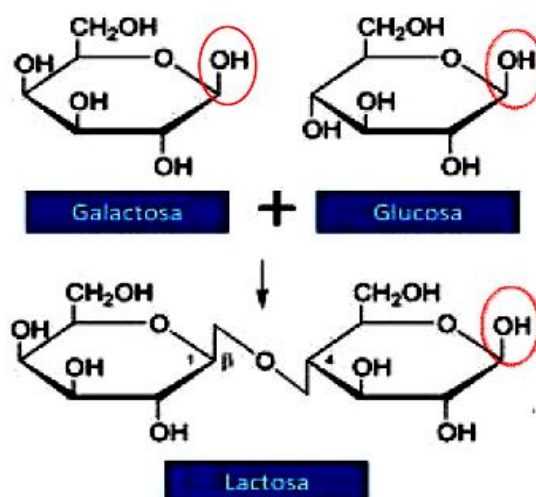
Denominado así porque su aplicación busca eliminar todas aquellas sustancias que pudieron formarse durante el sometimiento de la materia prima al pre-tratamiento y la hidrolisis y que resultan tóxicas e inhibitorias en la fermentación.

La técnica de mayor difusión es la de Overliming, que consiste en tratar los hidrolizados con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , llevándolo a un pH entre 9–10,5, luego este es ajustado a pH= 5,5–6,5, con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ó  $\text{HCl}$ . Este tratamiento permite eliminar subproductos formados como: el ácido acético, furfural y compuestos fenólicos, favoreciendo el crecimiento y desarrollo de microorganismos como la *S. cerevisiae* recombinante y *E. coli* recombinante en el proceso de fermentación alcohólica.(Sanchez *et al* 2010).

### 3.6.5. Azúcares reductores.

Los azúcares reductores son aquellos azúcares que poseen su grupo carbonilo (grupo funcional), intacto, un grupo hemiacetal (una interacción entre C-2 y C-5,) que le confiere la característica de poder reaccionar con otros compuestos.

Fig. 09: Estructura química de azúcares reductores.



Fuente: Wikipedia(2014). Enlace glucósido.

En solución acuosa, dicho grupo aldehído libre tiene la capacidad de reducción de agentes oxidantes. Las formas cíclicas hemiacetales de los azúcares tiene la potencialidad de generar trazas de la forma abierta (grupos aldehídos libres). Ver Fig. 09.

Azúcares reductores son aquellos que como la glucosa, fructosa, lactosa y maltosa presentan un carbono libre en su estructura y pueden reducir, en determinadas condiciones, a las sales cúpricas.

### **3.7. Bioetanol**

Es el alcohol etílico de origen vegetal, se obtiene por fermentación de mostos azucarados que dan lugar a vinos de grado alcohólico variable (normalmente entre el 10 y 15 % en volumen).

Este alcohol se puede concentrar más tarde por destilación hasta la obtención del denominado alcohol hidratado (5% en volumen de agua o más) o llegar hasta el alcohol absoluto tras un proceso específico de deshidratación (Mosquera *et al* 2006).

Para su obtención pueden emplearse una gran cantidad de materias primas como cereales, remolacha y caña de azúcar. Otra alternativa es el uso de materiales lignocelulósicos y residuos de procesos agrícolas, forestales o industriales, con alto contenido de biomasa.

El contenido de azúcares en estos materiales, se encuentra combinados en forma de sacarosa, almidón, hemicelulosa; los cuales pueden ser convertidos a sus unidades monoméricas mediante la conversión de estos sustratos a azúcares fermentables en un proceso conocido como sacarificación.

El proceso para la producción de bioetanol a partir de material lignocelulósico presenta diversas tecnologías. Sin embargo, es posible estudiarlo analizando el

proceso desde tres etapas principales (pretratamiento, hidrólisis de compuestos complejos, fermentación y destilación), las cuales pueden ser estudiadas de manera independiente. (Martinez, *et al* 2009).

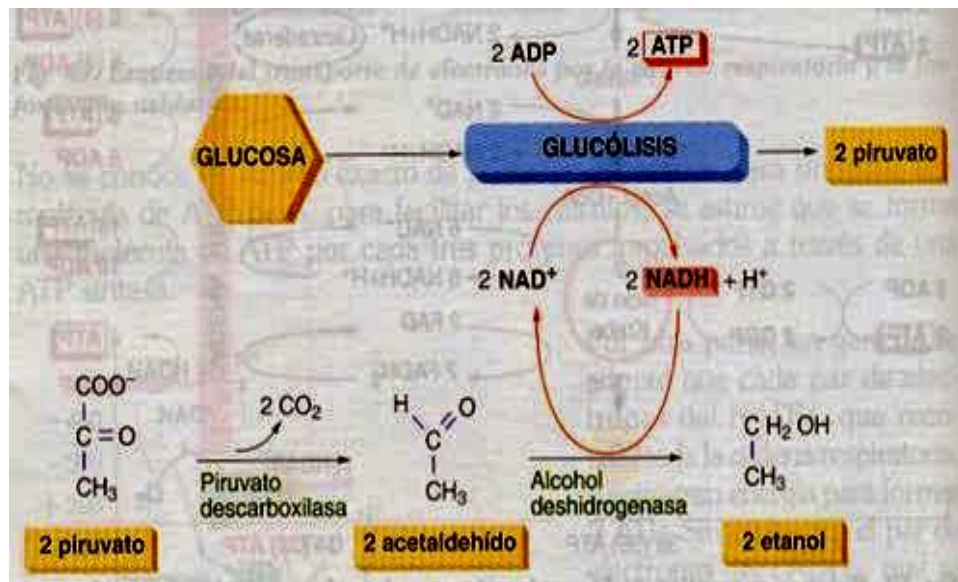
### 3.8. Fermentación Alcohólica.

Es un cambio químico en las sustancias de naturaleza orgánica llevado a cabo por la acción de enzimas. Lo que ocurre en una fermentación es que las sustancias orgánicas complejas se transforman en otras simples. (Mosquera 2008.)

Como es el caso de la glucosa, que producto de la glucólisis, se obtiene el piruvato que es transformado a acetaldehído y dióxido de carbono por la piruvato descarboxilasa. Finalmente el acetaldehído es reducido por la enzima alcohol deshidrogenasa para producir etanol como se muestra en la figura 10.

El tipo de fermentación más importante es la fermentación alcohólica, en la que los azúcares simples como por ejemplo la glucosa se convierten en alcohol etílico y dióxido de carbono.

Fig 10: Esquema de la transformación del piruvato a etanol



Fuente: <http://garciacristinabio2.blogspot.com/2014/04/metabolismo-celular-respiracion-y.html>.

La fermentación alcohólica es llevada a cabo mayoritariamente por levaduras, ya que una de las características más conocida de las levaduras es su capacidad para fermentar los azúcares para la producción de etanol. Las levaduras se han utilizado a lo largo de la historia para fermentar azúcares del arroz, del trigo, cebada y del maíz para producir bebidas alcohólicas y también en la industria panadera.

La mayoría de las levaduras que se cultivan son del género *Saccharomyces*. Concretamente la especie *S. cerevisiae* es una de las más utilizadas ya que participa en muchas de las fermentaciones que se mencionaron (Mosquera 2008)

El rendimiento teórico estequiométrico para la transformación de glucosa en etanol es de 0.511 g de etanol y 0.489 g de CO<sub>2</sub> por 1 g de glucosa. Este valor fue cuantificado por Gay Lussac. En la realidad es difícil lograr este rendimiento, porque como se señaló anteriormente, la levadura utiliza la glucosa para la producción de otros metabolitos. El rendimiento experimental varía entre 90% y 95% del teórico, es decir, de 0.469 a 0.485 g/g., y por cada dos grados brix se obtendría un 1% de alcohol étílico (Chang. 2006)

### **3.9. Destilación**

Proceso que consiste en calentar un líquido hasta que sus componentes más volátiles pasan a la fase de vapor y, a continuación, enfriar el vapor para recuperar dichos componentes en forma líquida por medio de la condensación. El objetivo principal de la destilación es separar una mezcla de varios componentes aprovechando sus distintas volatilidades, o bien separar los materiales volátiles de los no volátiles. En la evaporación y en el secado, normalmente el objetivo es obtener el componente menos volátil; el componente más volátil, casi siempre agua, se desecha. Sin embargo, la finalidad principal de la destilación es obtener el componente más volátil en forma pura (Mosquera 2008).

## CAPITULO IV

### 4. METODOLOGÍA

El presente trabajo se realizo en el laboratorio de química analítica de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP), ubicado en la Calle Pevas Quinta cuadra, del Distrito de Iquitos, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto.

#### 4.1. Tipo de investigación

Es de tipo descriptivo, porque se identificaron y cuantificaron las principales características físicas y químicas de las cascaras de naranja y pomelo, que se genera como residuo en la ciudad de Iquitos.

Es del tipo experimental porque se manipularon variables, que influyen en el proceso de hidrolisis ácida de la cascara de naranja y pomelo, para obtener jarabes azucarados, que posteriormente fueron convertidos en bioetanol mediante fermentación alcohólica.

#### 4.2. Diseño de la investigación

El experimento involucra un diseño totalmente al azar con un arreglo factorial  $2^3$ , es decir un diseño con tres factores que tienen dos niveles cada uno, se realizaron 8 ensayos con tres repeticiones cada uno.

Los dos niveles de los factores se representan con los signos (-) y (+), el signo (-) representa al factor en su nivel bajo y el signo (+), en su nivel alto. De acuerdo a la matriz de diseño mostrada en la Tabla 01.

Tabla 01: Matriz de diseño de la investigación (sistema factorial 2<sup>3</sup>)

Experimento	A	B	C
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+

### 4.3. Población y muestra

**Población:** Estuvo conformada por los residuos de cascara de naranja y pomelo generados en los diferentes puestos ambulatorios en donde se expenden jugos de estos cítricos, ubicados en la ciudad de Iquitos.

**Muestra:** La muestra estuvo constituida por 500 gr. del material en estudio

### 4.4. Materiales

#### 4.4.1. Material Biológico

El material biológico en estudio, fue la parte externa de los frutos de naranja y pomelo, denominado albedo y flavedo comúnmente conocido como cascara.

#### 4.4.2. Reactivos químicos: Grado analítico

- Acido sulfúrico
- Sulfato sodio
- Sulfato de cobre

- Hidróxido de sodio
- Alcohol etílico
- Indicador rojo de metilo
- EDTA
- Murexida
- NET
- Azul de metileno
- Fehlig A y B

#### **4.4.3. Equipos de laboratorio**

- Balanza analítica digital
- Digestor
- Potenciómetro
- Equipo Kjendahl
- Estufa
- Mufla
- Equipo de reflujo
- Plancha de calefacción con agitación
- Equipo de destilación simple.
- Refractómetro.
- Picnómetro.
- Agitador eléctrico con paleta.

#### **4.5. Método: Procedimiento experimental**

##### **4.5.1. Identificación del lugar de Muestreo:**

Se realizó un recorrido por las diferentes calles de la ciudad de Iquitos, lográndose identificar, los principales lugares, en donde se expenden jugos de naranja y pomelo. Se seleccionaron 12 puestos de expendio, teniendo en cuenta que eran los de mayor tiempo en el mercado, mayor producción y generaban mayor cantidad de desechos de cascara de naranja y pomelo.

Tabla 02: Ubicación de vendedores ambulantes que expenden jugos de naranja y pomelo en la ciudad de Iquitos.

Nº	Ubicación
01	Av Grau / Libertad
02	Mercado Central Sargento Lores Cuadra 5
03	Mercado Norteña Putumayo/Manco Capac
04	Mercado Norteña Putumayo
05	Calle Callao/ Calle Yavari
06	Mercado Modelo Calle Nanay/Calle Arequipa
07	Mercado Modelo Calle Nanay/Calle Arequipa
08	Mercado Modelo Calle Celendín/Calle Condamine
09	Calle Abtao/ Calle Arica
10	Calle Abtao/ Calle Aguiire
11	Mercado Belén Calle Ramirez Hurtado/Calle Pallcasu
12	Calle Morona/Calle Arica

#### 4.5.2. Recolección y acondicionamiento de las muestras:

Se colectaron 500 g. de muestra, en cada uno de los puestos identificados. La recolección se realizó durante cuatro semanas (una vez a la semana) y en forma aleatoria de los diferentes puntos de muestreo.

Fig. 11. Recolección de muestras de vendedores ambulantes de naranja y pomelo.





Las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Química Analítica, en donde fueron limpiadas, para eliminar partículas de tierras y otros materiales extraños. Se mezclaron de manera homogénea. Utilizando el método del cuarteo, se procedió a tomar una muestra (500g) representativa a todas. Finalmente estas fueron secadas a 60°C por espacio de 3 horas para su posterior análisis y tratamiento.

Fig. 12. Toma de muestra utilizando el método del cuarteo.



#### 4.5.3. Determinación de las características físicas y químicas:

La determinación de las características físicas y químicas de las muestras, se realizaron por triplicado, siguiendo los procedimientos estandarizados por Métodos Oficiales de análisis de Alimentos (A.O.A.C, 1990).

##### a. Determinación de humedad: (Método estufa) a 80°C ±2°C

Se peso 10 g de muestra húmeda en una capsula de porcelana y se llevo a la estufa para ser secado a temperatura de (100-105°C), hasta observar que el peso de la muestra se mantuviera constante. Finalmente se determino el contenido de humedad mediante la siguiente ecuación.

Cálculo:

$$\%C = \frac{W_{ceniza}}{W_i} \times 100$$

Wi = Peso inicial muestra

Wceniza = Peso Ceniza

Fig. 13. Determinación de la humedad.



**b. Determinación de Ceniza: (Método: Mufla) a 600 °C.**

Se peso 5 g de muestra seca en un crisol de porcelana, se colocó el crisol en una mufla y se dejó calcinar por un tiempo de 2 horas. Después de la calcinación se dejó enfriar en un desecador hasta observar que el peso se mantenía constante.

Cálculo:

$$\%C = \frac{W_{ceniza}}{W_i} \times 100$$

Wi = Peso inicial muestra

Wceniza = Peso Ceniza

Fig. 14. Determinación de ceniza



c. Determinación de grasa: (Método Soxhlet).

Colocamos 4 gramos de muestra seca en un cartucho tarado de papel filtro, luego se colocó en el extractor Soxhlet. Previamente se pesó el balón y cargamos con el disolvente apropiado (hexano) con una cantidad suficiente para que se realice el sifoneo. La extracción se realizó durante 4 horas, hasta observar que el disolvente que salía por el sifón sea incoloro.

Cálculos:

$$\% \text{ Grasa} = \frac{W_{\text{grasa}}}{W_{\text{muestra seca}}} \times 100$$

Fig. 15. Determinación de grasa



d. Determinación de Fibra: (Método: Digestión ácido- básico).

Pesamos 2 gramos de materia seca desengrasada y se colocó en un matraz de Erlenmeyer de 750 ml. Luego agregamos 200 ml de ácido sulfúrico al 10 % (25ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% llevamos a 200ml), agitamos la mezcla y calentamos el contenido del matraz hasta ebullición, dejamos hervir durante 30 minutos y luego filtramos. Colocamos el residuo obtenido en la filtración en un matraz de 750 ml y agregamos 200 ml de NaOH al 10% (25ml NaOH 10% llevamos a 200ml ), calentamos por 30 minutos y filtramos,

previamente pesamos el papel filtro, lavamos el residuo con etanol y secamos en la estufa hasta obtener peso constante.

Cálculos:

$$\% \text{ fibra} = \frac{W_{\text{fibra}}}{W_{\text{muestra seca}}} \times 100$$

Fig. 16 : Digestión ácido- básico de muestra desengrasada.



e. Determinación de Proteínas (Método: Kjeldahl).

Pesamos 0,1 gramo de muestra seca desengrasada. En un balón apropiado colocamos la muestra con 1,5 g de sulfato de sodio y 0,1 gramo de sulfato de cobre y 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Luego colocamos en el digestor hasta observar un color verde agua marina o ligeramente azulado (operamos bajo la campana de gases). Dejamos enfriar el balón y añadimos 30 ml de agua destilada.

Aparte en un matraz de 125 ml colocamos 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,25N y gotas del indicador rojo de metilo. Colocamos en el destilador la muestra y NaOH 1:1 hasta que se torne a un color negro, dejamos destilar hasta el doble del volumen del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Luego titulamos con NaOH 0,25N hasta que vire a color amarillo.

Cálculos:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ meq-reaccionan}) \times 0.014}{W_{\text{muestra seca}}} \times 100$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ N} \times 6.25$$

Fig. 17. Determinación de proteína



**f.** Determinación de carbohidratos (Método - cálculos)

Se determinó por diferencia entre 100 y la suma de las proporciones centesimales de los componentes: agua, cenizas, grasa, fibra y proteína.

**g.** Valor calórico (Cálculos).

El valor calórico se cálculo de la siguiente forma:

$$4 (\% \text{ Proteína}) + 9 (\% \text{Grasa}) + 3,75 (\text{Carbohidratos})$$

**4.5.4.** Evaluación de la hidrólisis acida de la cascara de naranja y pomelo.

Para evaluar la hidrólisis ácida de la cascara de naranja y pomelo, se implemento un sistema de reacción a reflujo a presión atmosférica, con controlador de temperatura y. agitación. Se realizaron, 8 ensayos de hidrolisis ácida a cada una

de las muestras (cascaras de naranja y cascara de pomelo), variando: las concentraciones del ácido sulfúrico (2%, y 5%), tiempos de reacción (60 min. y 90 min.), temperaturas del proceso (50°C y 100°C) y relación líquido/sólido de 30/1. Como se muestra en la tabla 03. Se realizaron 3 repeticiones por cada ensayo.

Tabla 03: Variables evaluadas en la hidrólisis acida

Ensayo	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (CC) (%)	Temperatura (T°) (°C)	Tiempo (TR) (min.)	N° (Replicas)
1	2	50	60	3
2	5	50	60	3
3	2	100	60	3
4	5	100	60	3
5	2	50	90	3
6	5	50	90	3
7	2	100	90	3
8	5	100	90	3

**a. Procedimiento del ensayo de hidrólisis.**

Se peso 5 gramos de muestra seca y se coloco en un balón esférico, luego se añadió 150 ml de la solución acida, se acoplo un refrigerante para reflujar la mezcla. Luego se procedió a calentar en baño maría, hasta llegar a la temperatura pre establecida, a partir de este momento se comenzó agitar la

mezcla controlando el tiempo de reacción. Finalizado el tiempo de hidrólisis, se procedió a filtrar la mezcla para separar las partículas en suspensión y luego proceder a determinar su concentración en azúcares reductores.

Fig. 18. Evaluación de la hidrólisis de la cascar de naranja y pomelo



**b. Determinación de azúcares reductores (Método: Químico).**

- Fundamentación:

Cuando se usan métodos químicos el más aconsejable es el que utiliza el reactivo de Fehling-Soxhlet, que precipita el óxido cuproso ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) en presencia de una sustancia reductora. El método puede ser volumétrico o gravimétrico.

Materiales:

- Balón aforado de 250 ml
- Balón aforado de 100 ml
- Vaso de precipitados de 250ml
- Plancha de calentamiento
- Pipetas graduadas de 5ml

- Papel filtro
- Preparación del reactivo de Fehling – Soxhlet:
  - Solución de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (34,639 g en 500 ml de agua)
  - Solución de NaOH/Tartrato de sodio y de potasio (sal de Rochela) (173 g de la sal de rochela y 50 g de NaOH en un volumen de 500ml)
- Procedimiento. (Método volumétrico).

En un matraz de 250 ml, mezclamos 5 ml de Fehling A con 5 ml de Fehling B y diluimos con 40 ml de agua. Calentamos la solución y dejamos hervir por tres minutos. En seguida añadimos gota a gota la solución azucarada contenida en una bureta hasta que casi desaparezca el color azul de las burbujas. En éste momento añadimos tres gotas del indicador azul de metileno y seguimos titulando en ebullición hasta que la solución del matraz se torne de color rojizo.

Cálculos: Azúcares reductores expresado como glucosa.

$$X = \frac{10f}{a}$$

Donde: a = mililitros de solución azucarada

f = factor: glucosa = 0.4945

x = gr. de azúcar / 100 ml de solución

Fig. 19. Determinación de azúcares reductores

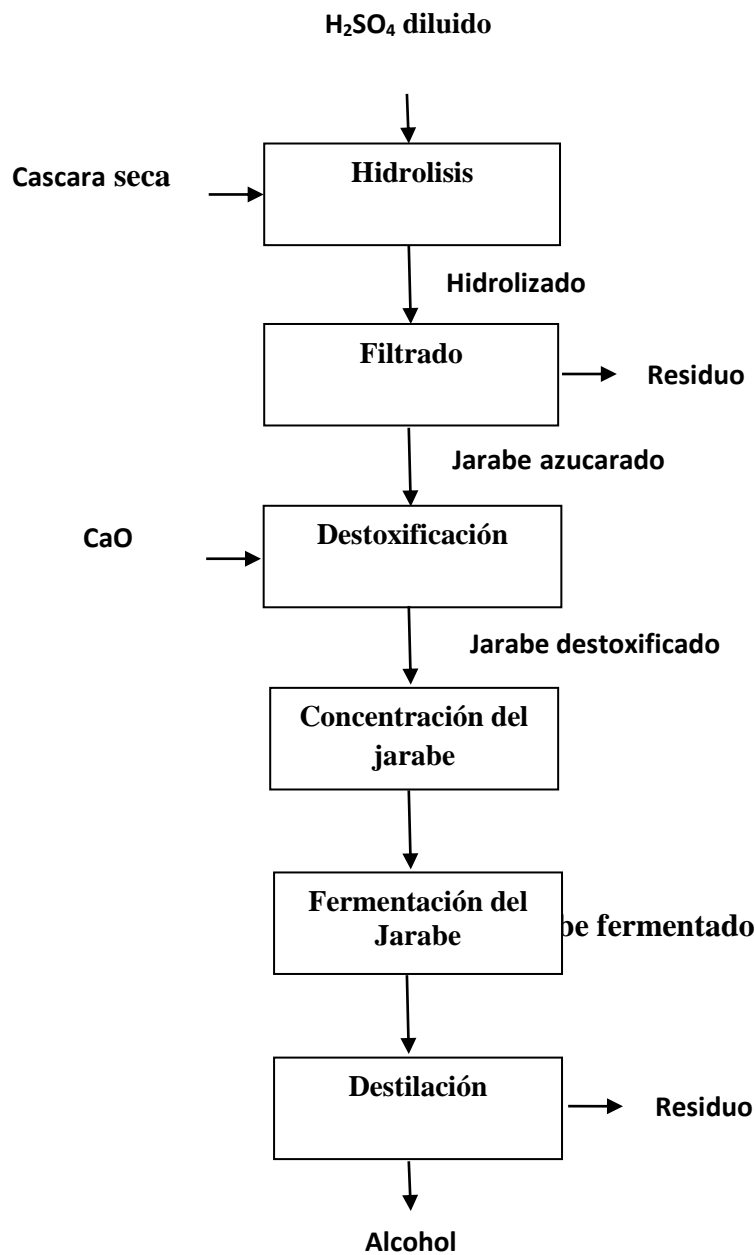




#### 4.5.5. Obtención de bioetanol a partir de la cascara de naranja y pomelo.

En el siguiente diagrama se muestra los pasos realizados para convertir las cascara de naranja y pomelo en bioetanol, estos se desarrollaron por triplicado con la finalidad de disminuir posibles errores en el proceso.

Fig. 20. Diagrama de flujo para la obtención de etanol a partir de la cascara de naranja y pomelo.



### A. Hidrólisis:

La hidrólisis se realizó en un recipiente de vidrio pírrex (cuba), en donde mezclamos 20 g. de muestra seca y 600 ml de una solución de ácido sulfúrico al 5% para la cascara de naranja y 2% para la cascara de pomelo, colocamos el recipiente en una plancha eléctrica con controlador de temperatura y se procedió a calentar a una temperatura de 50 °C, durante 90 minutos para la cascara de naranja y 60 minutos para la cascara del pomelo, se agitó constantemente mediante una paleta impulsada con un motor eléctrico como se muestra en la figura de abajo.

Fig. 21. Hidrólisis de la cascara de naranja y pomelo a T° 50 °C.



### B. Filtrado:

El jarabe obtenido fue filtrado, usando primero una malla, para eliminar partículas grandes y luego en un embudo de vidrio, para separar las partículas pequeñas usando como medio filtrante papel filtro Wattman 40, logrando obtener un jarabe libre de material particulado.

Fig. 22. Filtrado del jarabe hidrolizado



### C. Destoxificación:

Al jarabe filtrado se le añadió CaO hasta obtener un pH=10, luego se titulo con una solución e  $H_2SO_4$  2N, con ayuda de una bureta y potenciómetro digital. Para regular el pH hasta un valor de 4.

Fig. 23. Destoxificación del jarabe hidrolizado.



### D. Concentración del jarabe azucarado:

Con la finalidad de incrementar los grados Brix, la solución filtrada se calentó en una plancha eléctrica para evaporar y concentrar los azúcares en la solución hasta obtener un volumen de de 250 ml.

Fig. 24. Concentrado del jarabe azucarado.



### E. Fermentación alcohólica del Jarabe azucarado.

Para la fermentación alcohólica se usó *Saccharomyces cerevisiae* (Levadura Liofilizada) previamente activada, esta se añadió junto con el jarabe azucarado y se dejó en reposo durante 7 días a temperatura ambiente. Según lo reportado por (Ruiz y Arias 1997).

#### a. Activación de la Levadura.

En un vaso de precipitado se colocó 20 ml de agua hervida tibia y 3 g. de azúcar, luego adicionamos y diluimos 0.4 g., de levadura liofilizada (marca Flema). Cubrimos la mezcla y la dejamos reposar de 15 a 20 minutos a temperatura ambiente.

Fig. 25. Activación de la Levadura



### **b. Solución de Nutritiva.**

En un vaso de precipitado añadimos 20 ml de agua destilada y luego agregamos: 2,5 mg de fosfato de amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ , 5 mg. de sulfato de amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 2,5 mg. de sulfato de zinc  $\text{ZnSO}_4$ , 0,5 mg. de sulfato de manganeso  $\text{MnSO}_4$  y 0,5 mg. de sulfato de manganesio  $\text{MgSO}_4$ . Diluimos y guardamos para su posterior uso.

### **c. La fermentación Alcohólica.**

La fermentación se realizó en un matraz de Kitasato de 500 ml, se añadió 250 ml del jarabe azucarado, 20 ml de la levadura activada y 5 ml de la solución nutritiva, agitamos y cerramos herméticamente, colocando sobre la tapa un termómetro y en la espita del matraz una trampa de fermentación (manguera conectada desde la espita del matraz a un vaso con agua que contiene una cucharadita de bisulfito de sodio). La fermentación se realizó por duplicado durante siete días, se evaluaron los parámetros de grados Brix y pH durante el proceso fermentativo.

Fig. 26 Fermentación alcohólica del Jarabe azucarado.



## F. Destilación.

La destilación se realizó para separar el alcohol formado en el jarabe fermentado y determinar su grado alcohólico. Consistió en calentar a ebullición de la mezcla, y su posterior condensación de los vapores formados. Obteniendo en la condensación un líquido más rico en etanol por ser el componente más volátil, en relación al que permaneció en el matraz.

- Destilación del jarabe fermentado:

Se transfirió 100 ml del jarabe fermentado, eliminándose previamente el CO<sub>2</sub> libre, trasegándolas repetidamente entre dos vasos de precipitados al matraz de destilación y se diluyó a 150 ml con agua destilada. Se añadió unos trozos de porcelana porosa, para evitar que la ebullición se realice a borbotones. Montamos el equipo de destilación como se muestra en la figura 27.

El calentamiento se realizó de tal modo que la destilación fue lenta, pero sin interrupciones. El destilado se recogió en un matraz aforado de 100 ml, hasta las proximidades del cuello, se enrasó con agua destilada y se agitó.

Fig. 27. Destilación del jarabe fermentado



- Determinación del grado alcohólico:

Se peso un picnómetro vacío y seco. Llenamos el picnómetro con agua destilada y pesamos. Luego llenamos el picnómetro con la disolución alcohólica destilada y se peso. .El peso específico del destilado se calculó de la siguiente manera:

$$\text{P. e. del destilado} = \frac{\text{Peso del destilado en el picnómetro}}{\text{Peso del agua en el picnómetro}}$$

Con el valor del peso específico (P. e.) del destilado se determino los gramos de alcohol en 100cm<sup>3</sup> de mosto fermentado, empleando la tabla de grado alcohólico deducido de su peso específico.

Fig. 28. Determinación del peso del picnómetro.



- El rendimiento en Bioetanol:  
Se determino en forma porcentual, dividiendo los mililitros de bioetanol obtenidos entre la cantidad de cascara utilizada y multiplicada por cien.

$$\text{Rendimiento Bioetanol} = \frac{\text{Mililitros de bioetanol}}{\text{Gramos de Cascara}} \times 100$$

#### **4.6. Técnicas y recolección de datos**

Los datos fueron recolectados mediante entrevistas a los diferentes vendedores de naranja y pomelo, mientras que los resultados obtenidos en el laboratorio se recopilados en cuadros y/o tablas, para su posterior análisis e interpretación.

#### **4.7. Procesamiento de la información**

Los resultados obtenidos están representados mediante estadística descriptiva, usando tablas y gráficos. Se realizó el análisis de varianza ANOVA para observar si existe alguna diferencia significativa entre los resultados obtenidos en la hidrólisis y observar la interacción entre los factores en estudio y evidenciar cuál de ellos tiene mayor influencia en el proceso de hidrólisis, para esto se utilizó el paquete estadístico Minitab 16.



## CAPITULO V

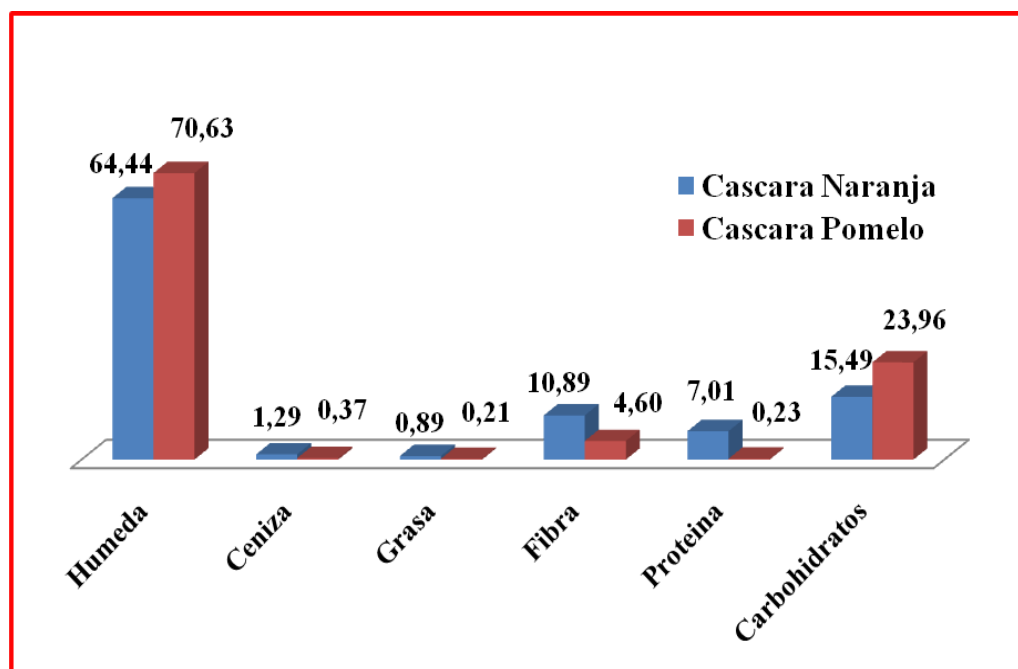
### 5. RESULTADOS:

#### 5.1. Características físicas y químicas de las cascaras de naranja y pomelo.

Tabla 04: Valores medios de las características físicas y químicas de las cascaras de naranja y pomelo.

Determinaciones	Cascara de Naranja		Cascara de Pomelo	
	Promedio	DS	Promedio	DS
<b>Humedad</b>	<b>64.44</b>	<b>±3.89</b>	<b>70.63</b>	<b>±3.58</b>
<b>Ceniza</b>	<b>1.29</b>	<b>±0.18</b>	<b>0.37</b>	<b>±0.08</b>
<b>Grasa</b>	<b>0.89</b>	<b>±0.25</b>	<b>0.21</b>	<b>±0.05</b>
<b>Fibra</b>	<b>10.89</b>	<b>±0.50</b>	<b>4.60</b>	<b>±0.57</b>
<b>Proteína</b>	<b>7.01</b>	<b>±1.27</b>	<b>0.23</b>	<b>±0.14</b>
<b>Carbohidratos</b>	<b>15.49</b>	<b>±5.17</b>	<b>23.96</b>	<b>±3.65</b>
<b>Valor calórico</b>	<b>94.15</b>	<b>±14.37</b>	<b>92.66</b>	<b>±13.38</b>

Fig. 29. Comparación de las características físicas y químicas de las cascaras de naranja y pomelo



## 5.2. Hidrólisis acida de la cascara de naranja.

Tabla 05: Rendimiento en azúcares reductores obtenidos mediante la hidrólisis acida de la cascara de naranja.

Ensayo	TR	CC	T°	g. AR/g. cascara seca
1	60	2	50	0,3533 ± 0,06
2	90	2	50	0,4267 ± 0,02
3	60	5	50	0,4633 ± 0,07
4	90	5	50	0,7967 ± 0,03
5	60	2	100	0,3267 ± 0,02
6	90	2	100	0,3633 ± 0,01
7	60	5	100	0,4400 ± 0,12
8	90	5	100	0,3867 ± 0,01

TR: Tiempo de reacción (min).

CC: Concentración del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (%).

T° : Temperatura de reacción.

AR: Azúcares reductores.

Fig. 30. Grafica de cubos del rendimientos en azúcares reductores obtenidos en la hidrólisis acida de la cascara de naranja.

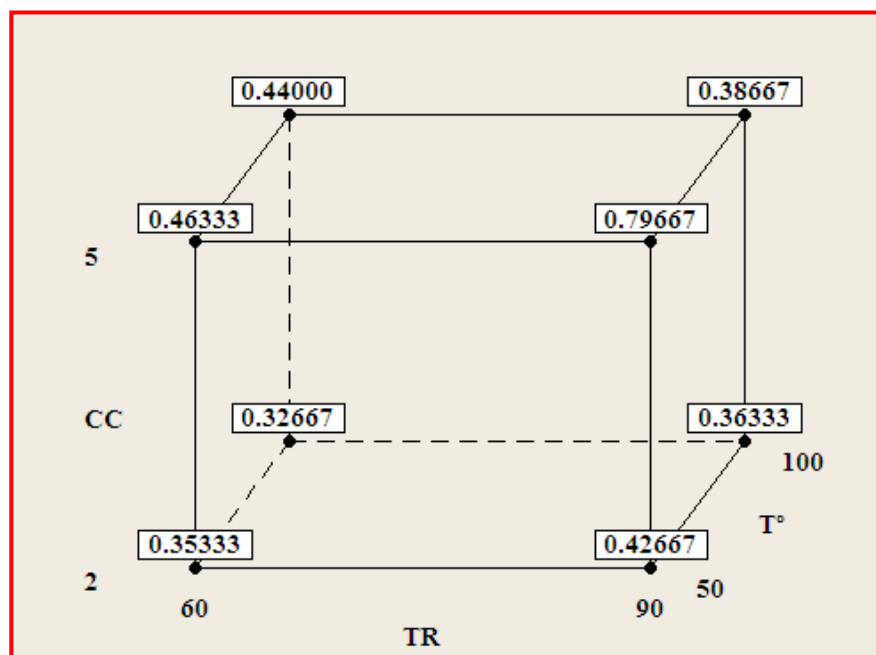
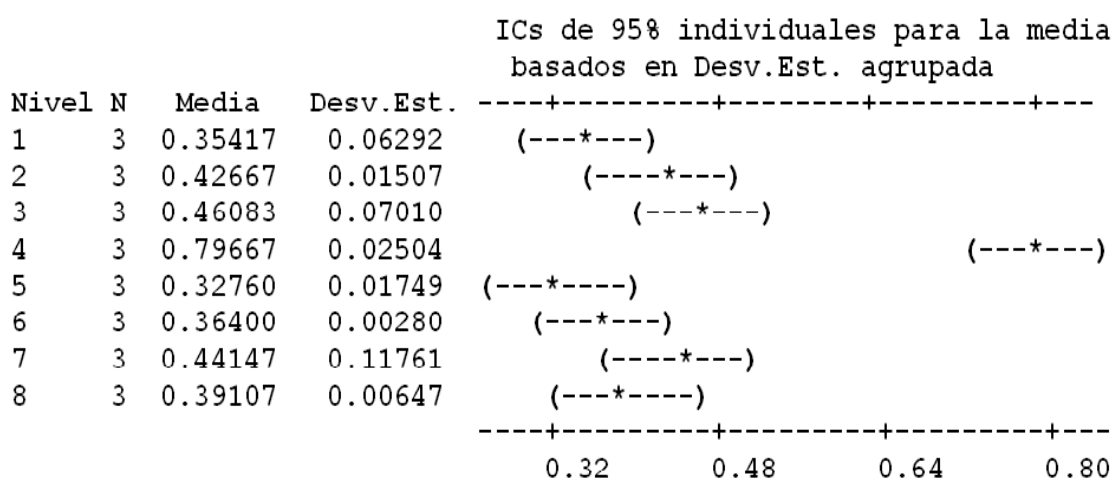


Tabla 06: Análisis de varianza (ANOVA) del rendimiento en azúcares reductores obtenidos en los ensayos de hidrólisis ácida de la cascara de naranja.

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Ensayo	7	0.46731	0.06676	22.33	0.000
Error	16	0.04783	0.00299		
Total	23	0.51514			

S = 0.05468 R-cuad. = 90.72% R-cuad.(ajustado) = 86.65%

Tabla 07: Análisis del rendimiento en azúcares reductores obtenidos en los ensayos de hidrólisis ácida de la cascara de naranja, mediante Intervalo de confianza individuales.



Desv.Est. agrupada = 0.05468

Tabla 08: Análisis de varianza de los efectos y coeficientes estimados de las variables en estudio; TR, CC y T°, en la hidrólisis acida de la cascara de naranja.

Termino	Efecto	Coef	SE Coef	T	P
Constante		0,44458	0,01137	39,09	0,000
TR	0,09750	0,04875	0,01137	4,29	0,001
CC	0,15417	0,07708	0,01137	6,78	0,000
T°	-0,13083	-0,06542	0,01137	-5,75	0,000
TR*CC	0,04250	0,02125	0,01137	1,87	0,080
TR*T°	-0,10583	-0,05292	0,01137	-4,65	0,000
CC*T°	-0,08583	-0,04292	0,01137	-3,77	0,002
TR*CC*T°	-0,08750	-0,04375	0,01137	-3,85	0,001

Para un alfa =0,05.

S= 0,0557150      PRESS = 0,11175

R-cuad. = 90,45%      R-cuad(pred.) = 78,52%      R-cuad. (ajustado) = 86,28%

Fi. 31. Grafica de efectos estandarizados de las variables en estudio (TR, CC y T°), en la hidrolisis acida de la cascara de naranja (para un alfa =0,05).

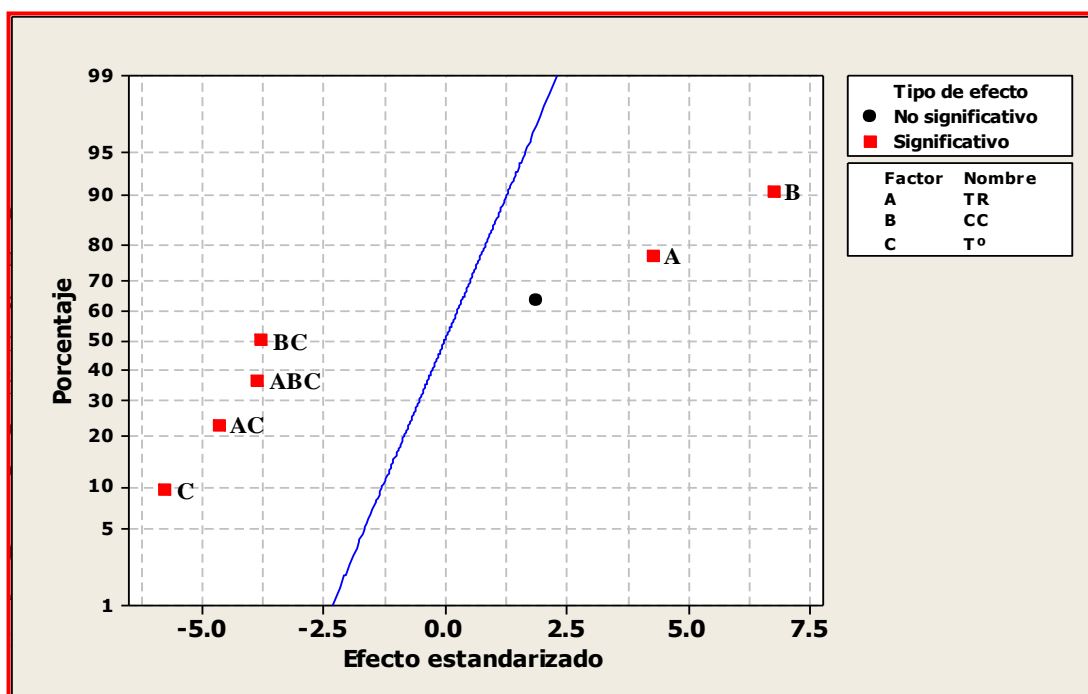


Fig. 32 Grafica de contorno de AR vs CC, TR a  $T^{\circ}=50^{\circ}\text{C}$ , en la hidrolisis acida de la cascara de naranja.

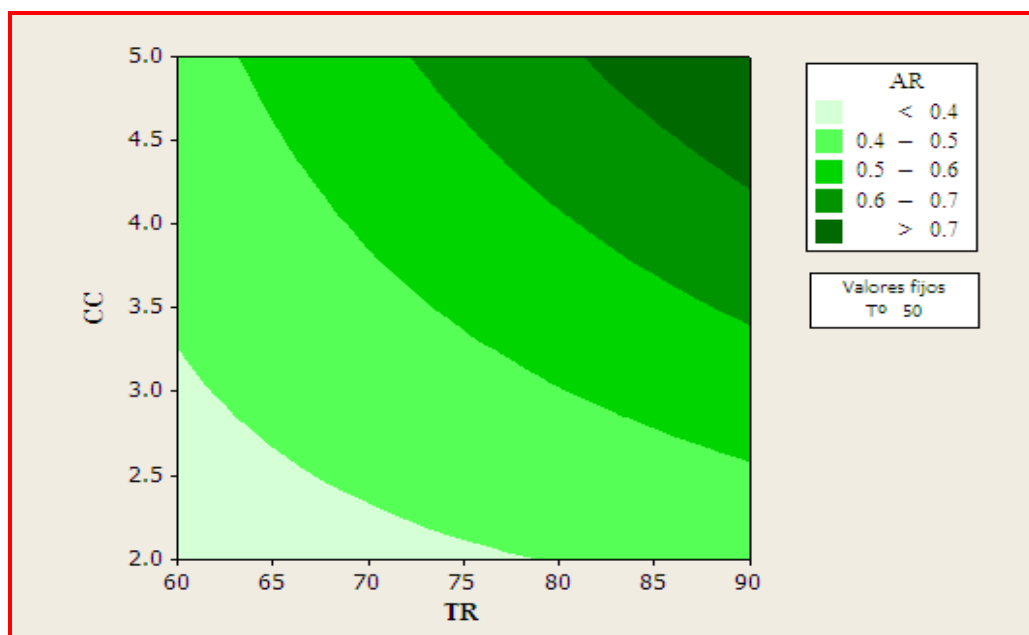
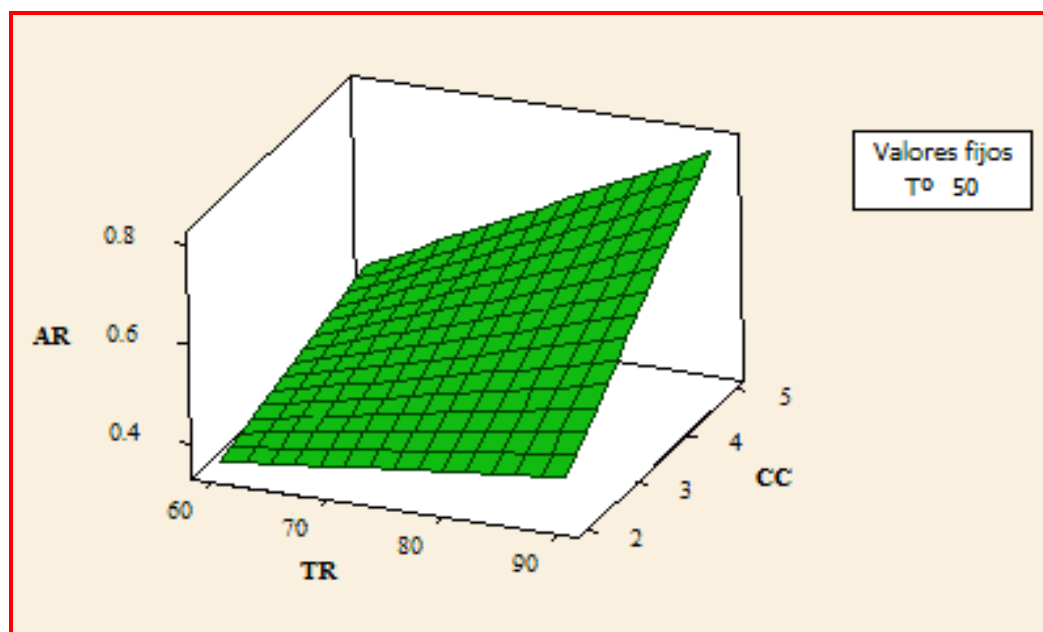


Fig. 33. Grafica de superficie de AR vs CC,TR a  $T^{\circ}=50^{\circ}\text{C}$ , en la hidrolisis acida de la cascara de naranja.



### 5.3. Hidrólisis acida de la cascara de pomelo.

Tabla 09: Rendimiento en azúcares reductores obtenidos mediante la hidrólisis acida de la cascara de pomelo.

Ensayo	TR	CC	T°	g. AR/g. cascara seca
1	60	2	50	0,8500 ± 0,06
2	90	2	50	0,8300 ± 0,03
3	60	5	50	0,7300 ± 0,07
4	90	5	50	0,6233 ± 0,04
5	60	2	100	0,6467 ± 0,09
6	90	2	100	0,9033 ± 0,10
7	60	5	100	0,9467 ± 0,04
8	90	5	100	0,6100 ± 0,06

TR: Tiempo de reacción (min).

CC: Concentración del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (%).

T° : Temperatura de reacción.

AR: Azúcares reductores.

Fig. 34. Grafica de cubos del rendimientos en azúcares reductores obtenidos en la hidrólisis acida de la cascara de pomelo.

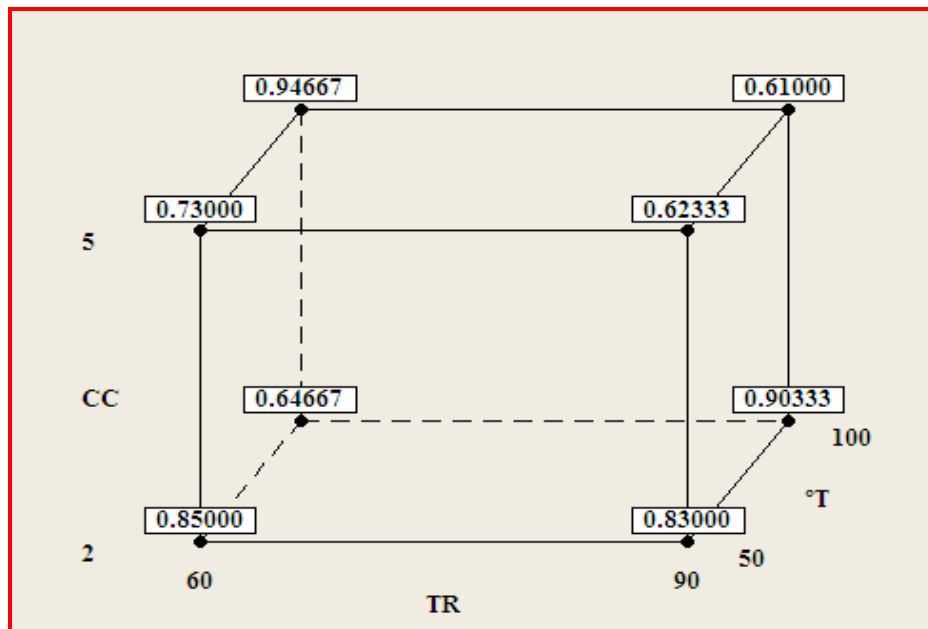
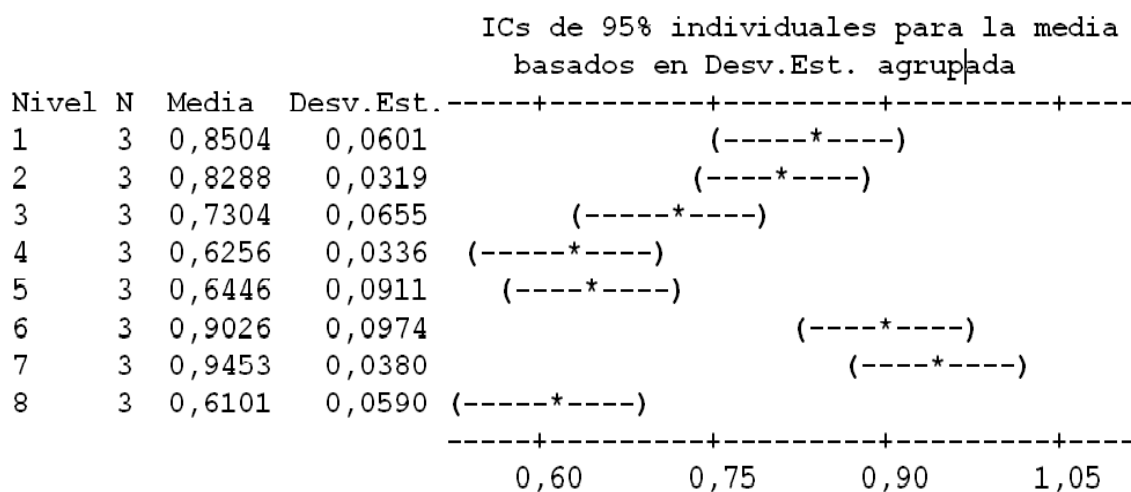


Tabla 10: Análisis de varianza (ANOVA) del rendimiento en azúcares reductores obtenidos en los ensayos de hidrólisis ácida de la cascara de pomelo.

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Ensayo	7	0,36567	0,05224	12,76	0,000
Error	16	0,06551	0,00409		
Total	23	0,43117			

S = 0,06399 R-cuad. = 84,81% R-cuad.(ajustado) = 78,16%

Tabla 11: Análisis del rendimiento en azúcares reductores obtenidos en los ensayos de hidrólisis ácida de la cascara de pomelo, mediante Intervalo de confianza individuales.



Desv.Est. agrupada = 0,0640

Tabla 12: Análisis de varianza de los efectos y coeficientes estimados de las variables en estudio; TR, CC y T°, en la hidrólisis acida de la cascara de pomelo.

Termino	Efecto	Coef	SE Coef	T	P
Constante		0,76750	0,01322	58,008	0,000
TR	-0,05167	-0,02583	0,01322	1,96	0,068
CC	-0,08000	-0,04000	0,01322	-3,03	0,008
T°	0,01833	0,00917	0,01322	0,69	0,498
TR*CC	-0,17000	-0,08500	0,01322	-6,43	0,000
TR*T°	0,01167	0,00583	0,01322	0,44	0,665
CC*T°	0,08333	0,04167	0,01322	3,15	0,006
TR*CC*T°	-0,12667	-0,06333	0,01322	-4,79	0,000

S= 0,0557150      PRESS = 0,11175  
R-cuad. = 90,45%    R-cuad(pred.) = 78,52%    R-cuad. (ajustado) = 86,28%

Fig. 35. Grafica de efectos estandarizados de las variables en estudio (TR, CC y T°), en la hidrolisis acida de la cascara de pomelo (para un alfa =0,05).

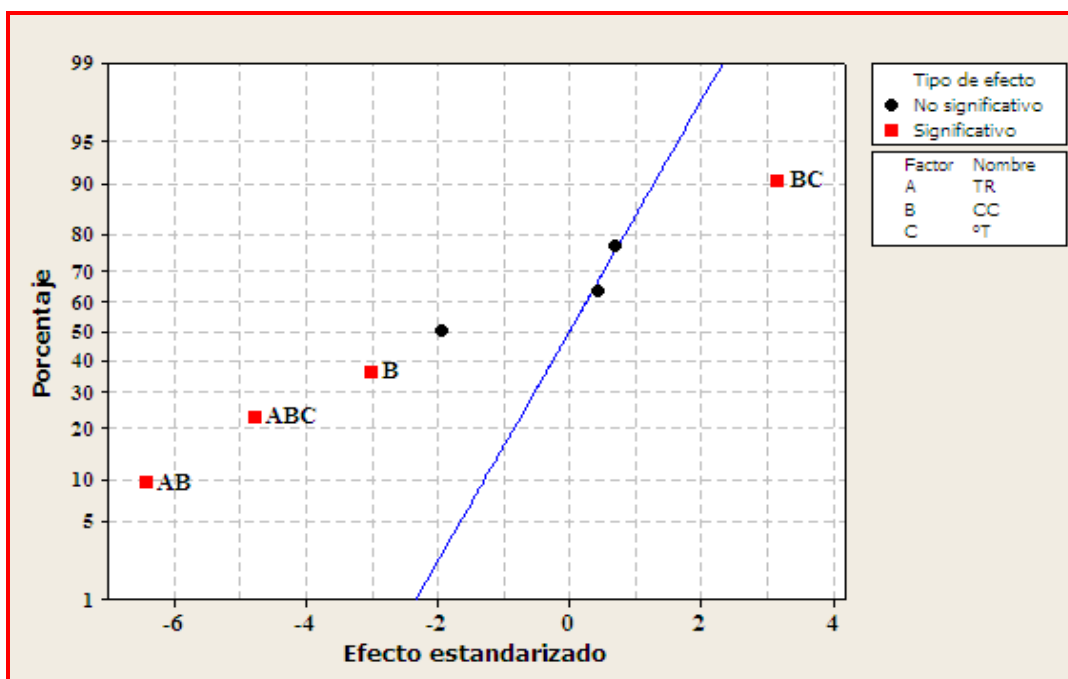




Fig. 36. Grafica de contorno de AR vs CC,TR a T°=50°C, en la hidrolisis acida de la cascara de pomelo.

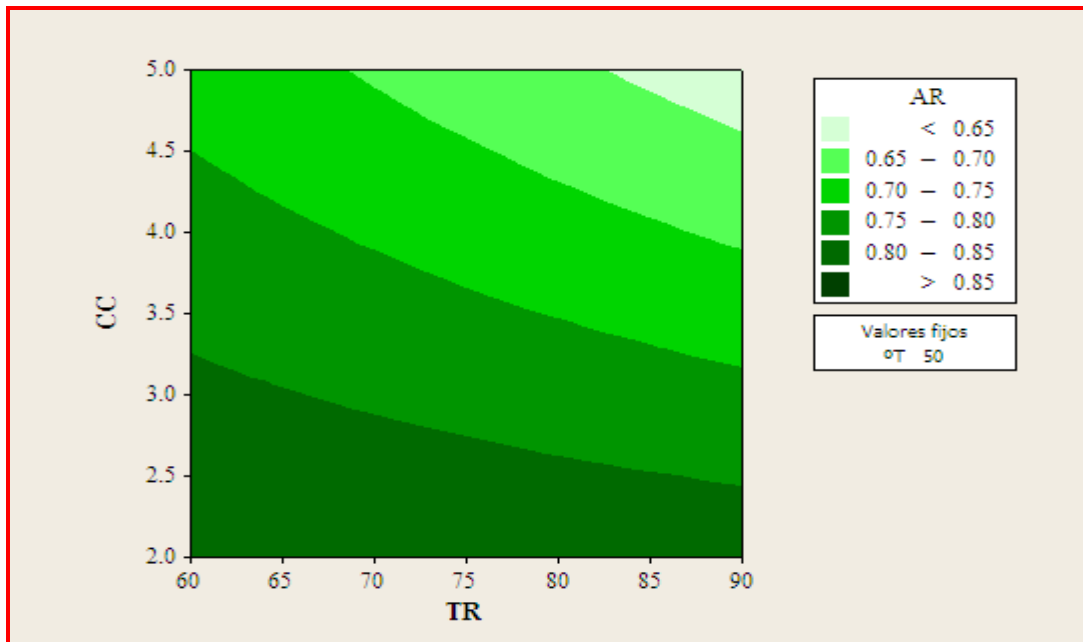
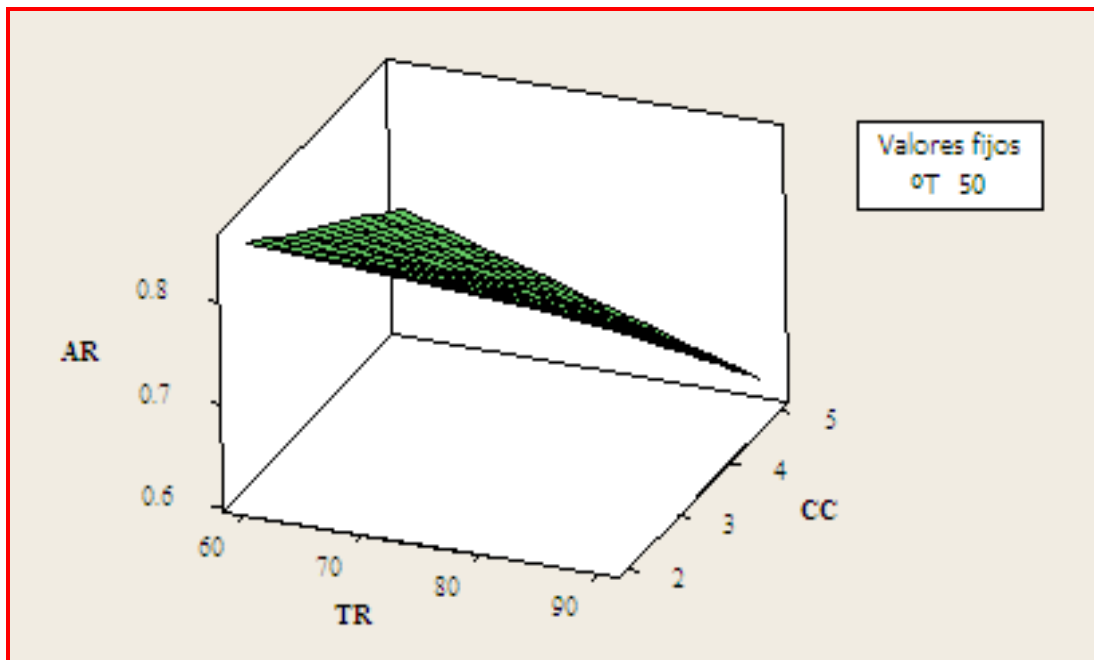


Fig. 37. Grafica de contorno de AR vs CC,TR a T°=50°C, en la hidrolisis acida de la cascara de pomelo.



## 5.4. Obtención de etanol a partir de la cascara de naranja y pomelo.

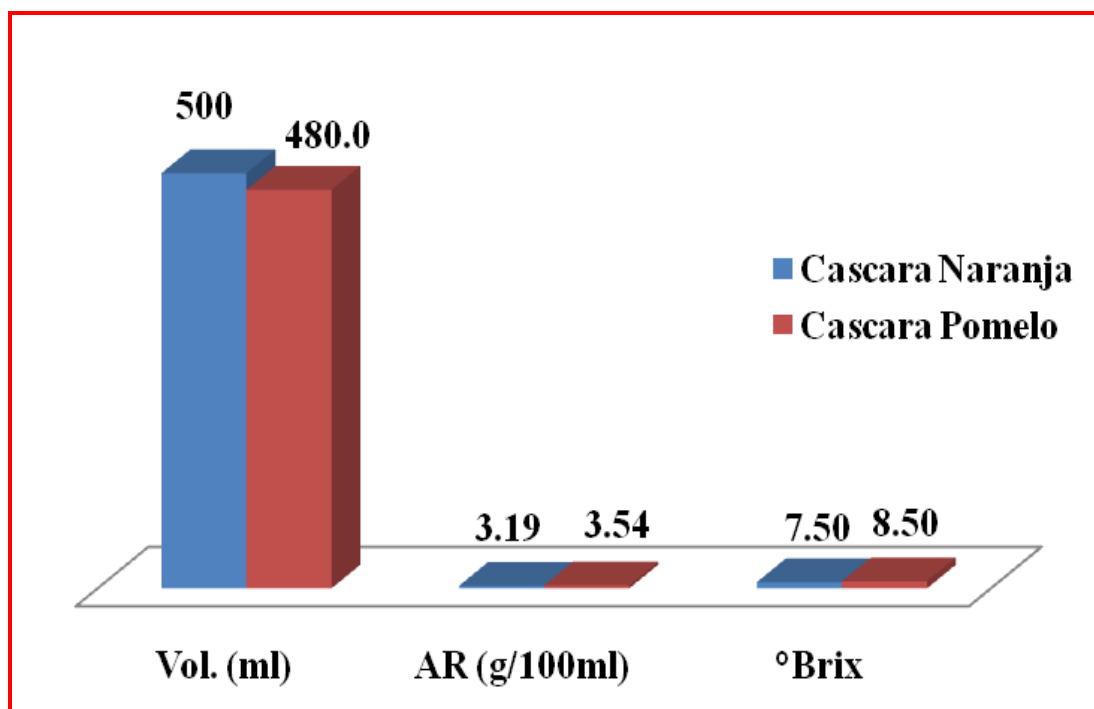
### 5.4.1. Jarabes azucarados obtenidos en la hidrólisis ácida de la cascara de naranja y pomelo.

Resultados obtenidos a partir de 20g de cascara seca y 600ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Tabla 13: Promedio del volumen, azúcares reductores (AR), °Brix y pH, de los jarabes azucarados obtenidos en la hidrólisis.

Cascara	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	T° (°C)	Tiempo (min)	Jarabe azucarado			
				Vol. (ml)	AR(g/100ml)	°Brix	pH
Naranja	5	50	90	500	3,19	7,5	0,25
Pomelo	2	50	60	480	3,54	8,5	0,99

Fig. 38. Comparación entre los; volúmenes, azúcares reductores (AR) y Grados Brix (°Brix) de los jarabes azucarados obtenidos.



#### 5.4.2. Destoxificación de los jarabes azucarados de las cascara de naranja y pomelo.

Tabla 14: Promedio del volumen, pH y °Brix , de los jarabes azucarado al final de destoxificación.

Cascara	Jarabe azucarado		CaO (g)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2N (ml)	Jarabe destoxificado		
	Vol. (ml)	pH			Vol. (ml)	pH	°Brix
Naranja	500	0,25	20	5.1	485	4	7,5
Pomelo	480	0,99	10	4.8	460	4	8,5

#### 5.4.3. Concentración de los jarbes azucarados destoxificados de las cascara de naranja y pomelo.

Tabla 15: Promedio de los volúmenes y °Brix de los jarabes azucarados al inicio y final de la concentración.

Cascara	Jarabe azucarado Inicial		Jarabe final	
	Vol. (ml)	°Brix	Vol. (ml)	°Brix
Naranja	485	7,5	250	10,0
Pomelo	460	8,5	250	12,0

**5.4.4. Comportamiento de los grados Brix y pH, durante la fermentación alcohólica de los jarabes azucarados obtenidos de la cascara de naranja y pomelo.**

Tabla 16: Valore medios de los grados °Brix y pH, durante la fermentación del jarabe azucarado de la cascara de naranja.

Componente	Tiempo de fermentación (días)								
	0	0,5	1	2	3	4	5	6	7
°Brix	10,0	9,0	7,5	5,0	3,95	3,7	3,9	3,8	3,7
pH	4,0	3,85	3,65	3,35	3,32	3,34	3,33	3,32	3,36

Fig. 39. Grafica del °Brix y pH versus tiempo de fermentación, del jarabe azucarado de la cascara de naranja.

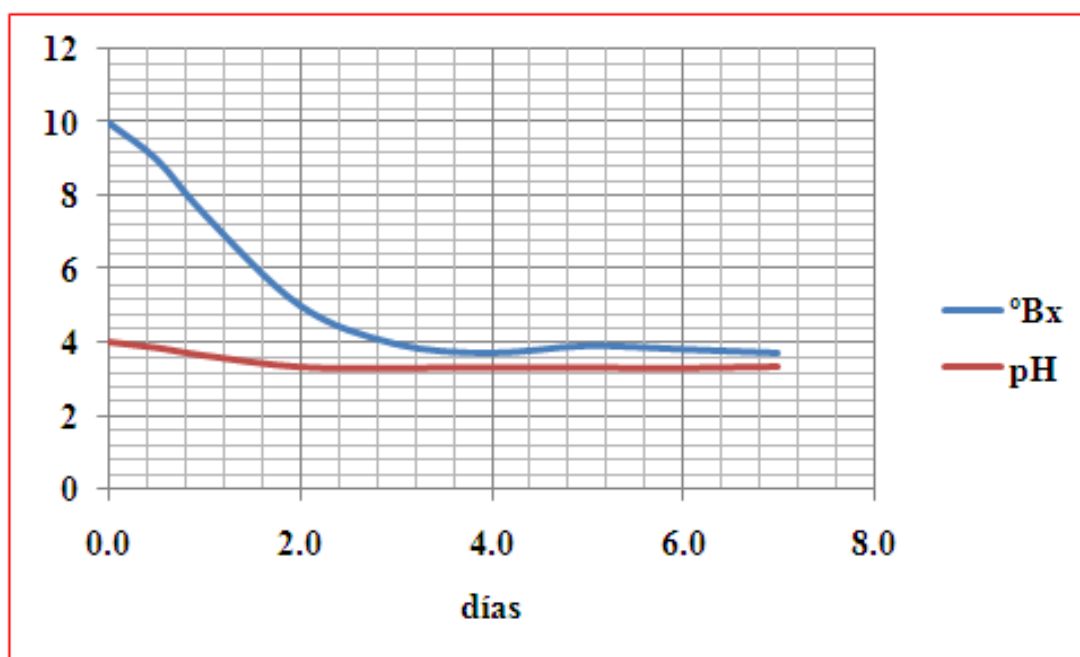
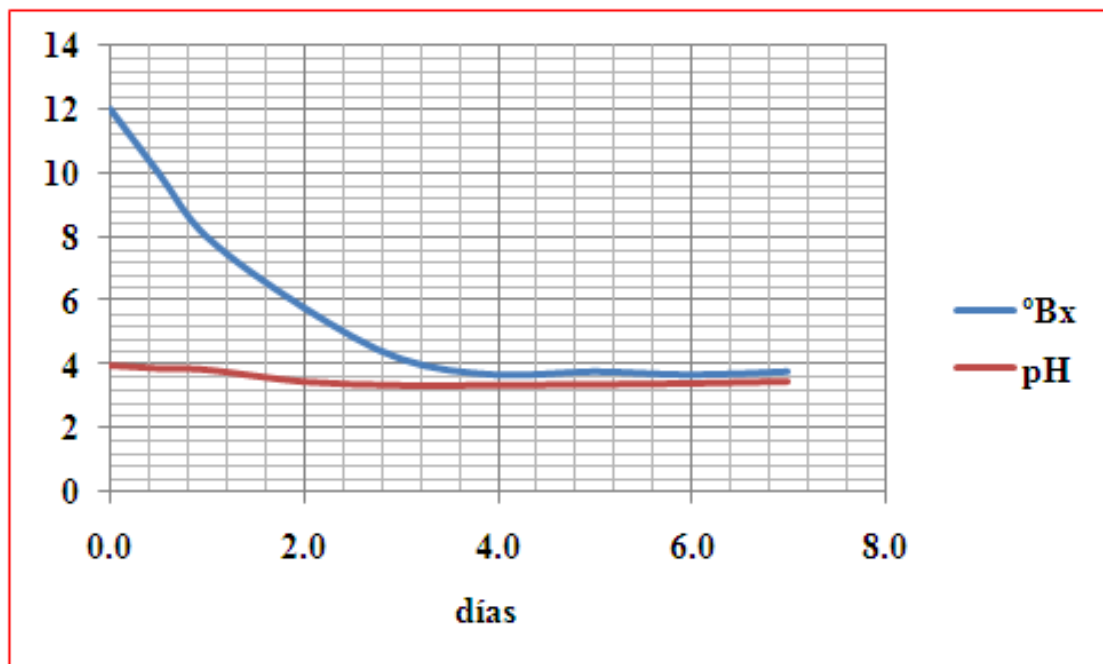


Tabla 17: Valore medios de los los grados °Brix y pH, durante la fermentación del jarabe azucarado de la cascara de pomelo.

Componente	Tiempo de fermentación (días)								
	0	0,5	1	2	3	4	5	6	7
°Brix	12	10	8,0	5,8	4,2	3,7	3,8	3,78	3,8
pH	4,00	3,90	3,85	3,45	3,32	3,33	3,35	3,39	3,46

Fig. 40. Grafica del °Brix y pH versus tiempo de fermentación del jarabe azucarado de la cascara de pomelo.



#### 5.4.5. Rendimientos en bioetanol obtenido a partir de las cascaras de naranja y pomelo.

Tabla 18: Grado alcohólico, de los jarabes azucarados fermentados.

Jarabe azucarado fermentado	Peso específico destilado	Grado alcohólico		
		% peso	% Volumen	g./100 cm <sup>3</sup>
Cascara de naranja	0,9996	0,21	0,27	0,21
Cascara de pomelo	0,9994	0,32	0,40	0,32

Tabla 19: Rendimiento en Bioetanol obtenido a partir 20 g. de cascara de naranja y pomelo.

Jarabe azucarado fermentado	Volumen (ml)	Grado alcohólico (ml /100ml)	Bioetanol (ml)	Rendimiento (ml/g cascara seca)
Cascara de naranja	250.00	0,27	0,68	0,034
Cascara de pomelo	250.00	0,40	1,00	0,050

## 6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El análisis físico y químico realizado a las cascaras, de naranja y pomelo mostraron diferencias marcadas en relación a algunas características, como es el caso del contenido de fibra, con valores de 10,89% para la naranja y 4,60% en el pomelo, mientras que el contenido de carbohidratos fue de 15,49% y 23,96% respectivamente, estos valores se podrían explicar, por el mayor contenido de albedo en la cascara de pomelo (material pomoso y de color blanco), en donde al parecer estarían concentrados una mayor proporción de carbohidratos, lo que no ocurre en la cascara de naranja al contener menor cantidad albedo.

El diseño experimental empleado (diseño factorial  $2^3$ ), mostro ser el apropiado para evaluar el proceso de hidrolisis ácida de la cascara de naranja y pomelo, se realizaron ocho ensayos, en donde se evaluaron las tres variables en estudio con dos niveles, concentración de ácido sulfúrico (CC) al 2% y 5%, tiempo de reacción (TR) a 60min y 90 min. y temperatura de reacción ( $T^\circ$ ) a 50°C y 100°C, parámetro que según estudios realizados por, Ferrer *et al* 2002, Alvear *et al* 2009 y Genera 2013, mostraron tener un efecto significativo en el proceso de hidrólisis de materiales lignocelulosicos para obtener jarabes azucarados.

El análisis de varianza (ANOVA) realizado, a los valores medios del rendimiento en azúcares reductores (AR), obtenidos en los ensayos de la hidrólisis acida de la cascara de naranja, mostro una diferencia significativa con un  $p < 0,05$  para un nivel de confianza  $\alpha = 0,05$  indicando que los valores obtenidos era diferente. Al ser analizados mediante sus intervalos de confianza, se pudo observar que el resultado obtenido en el ensayo cuatro presentaba un intervalo de confianza con valores superiores y no se intersectaba con los intervalos de los demás ensayos, para un nivel de confianza del 95%, siendo este el que obtuvo el mejor rendimiento en azúcares reductores (AR = 79,67%), ensayo en el que se trabajo a una concentración de ácido sulfúrico al 5%, tiempo de reacción de 90 min., y temperatura de 50°C.

Las tres variables en estudio, evidencian un efecto significativo en el proceso de hidrólisis acida de la cascara de naranja, El ANOVA muestra un  $p < 0,05$ , para las tres variables con un nivel de confianza  $\alpha = 0,05$ . Siendo la CC, el que produce el efecto positivo más grande con 0,15417, indicando que al incrementar la CC, también se incrementa la conversión en azúcares reductores (AR). La Temperatura, mostro el segundo efecto más grande pero de signo negativo -0,13083, indicando que el rendimiento en la conversión en AR a una temperatura más alta es menor en relación a una temperatura baja. El tercer efecto lo presento el Tiempo de reacción con 0,09750 de signo positivo indica que a mayor tiempo el rendimiento en la conversión también se ve favorecida.

Al analizar los efectos de la interacción entre las variables, se encontró que el modelo presenta tres efectos de dos variables, dos de ellas  $TR * T^{\circ}$  y  $CC * T^{\circ}$  que producen un efecto de interacción significativo  $p < 0,05$  con valores de -0,110583 y -0,08583, mientras que la interacción entre  $TR * CC$  no presento evidencia de un efecto significativo. Además el modelo muestra un efecto de tres factores  $TR * CC * T^{\circ}$  que presenta un efecto de interacción significativo  $p < 0,05$  con valor de -0,08750. Todos los efectos producidos por las interacciones de las variables fueron negativos, de acuerdo a estos resultados se encontró evidencia que el efecto de interacción entre estas variables influye negativamente en el rendimiento de conversión en azúcares reductores (AR) durante el proceso de hidrólisis acida de la cascara de naranja. Todo parece indicar que el incremento de  $T^{\circ}$  en la reacción, estaría afectando negativamente a los efectos positivos que tienen las variables CC y TR en el rendimiento en AR.

Al analizar los resultados de la hidrólisis de la cascara de naranja, mediante una grafica de contorno/superficie, para visualizar los valores de respuesta obtenidos y las condiciones operativas deseables, se encontró que al fijar la temperatura de la reacción a  $T^{\circ} = 50^{\circ}C$ , se puede observar que la máxima conversión en azúcares reductores se lograría eligiendo los parámetros operacionales de CC cercanos a 5% y TR cercanos a 90 min., configuración ubicada en la esquina superior derecha de la figuras 32 y 33 de las graficas de contorno y región de la superficie que ofrecen un rendimiento superior al 70% en AR.



El ANOVA realizado, a los valores medios del rendimiento en azúcares reductores (AR), obtenidos en los ensayos de la hidrólisis ácida de la cascara de pomelo, muestra una diferencia significativa con un  $p < 0,05$  para un nivel de confianza  $\alpha = 0,05$  indicando que existía una diferencia entre los valores obtenidos. Los ensayos 1, 2, 6 y 7, son los que presentaron los mejores valores de conversión en azúcares reductores; 85%, 83%, 90.33% y 94.67% cuando se trabajaron a concentraciones de ácido sulfúrico, tiempos de reacción, y temperaturas de: (2%, 60min y 50°C), (2%, 90 min. y 50°C), (2%, 90 min. y 100°C) y (5%, 90 min. Y 100°C) respectivamente. Al analizar los resultados obtenidos mediante sus intervalos de confianza, se puede observar que los intervalos de los valores medios del rendimiento en azúcares reductores, obtenidos en los ensayos 1, 2, 6 y 7 se superponen, esto nos indica que los resultados obtenidos en estos ensayos, no presentan diferencia estadística para un nivel de confianza del 95%.

De las tres variables en estudio, solo una evidencia un efecto significativo en el proceso de hidrólisis ácida de la cascara de pomelo, El ANOVA muestra un  $p < 0,05$ , para la CC con un nivel de confianza  $\alpha = 0,05$ . Produciendo un efecto de -0,08, indicando que al incrementar la concentración del ácido sulfúrico se produce una disminución en la conversión en azúcares reductores (AR). La Temperatura ( $T^\circ$ ) y Tiempo de reacción (TR), no mostraron tener un efecto significativo en el proceso de hidrólisis ácida.

Al analizar los efectos de la interacción entre las variables, se encontró que el modelo presenta tres efectos de dos variables, dos de ellas TR\*CC y CC\* $T^\circ$  producen un efecto de interacción significativo  $p < 0,05$  con valores de -0,17 y 0,083, mientras que la interacción entre TR\* $T^\circ$  no presenta evidencia de un efecto significativo. Además el modelo muestra un efecto de tres factores TR\*CC\* $T^\circ$  que presenta un efecto de interacción significativo  $p < 0,05$  con valor de -0,12667. Los efectos negativos evidencia que la interacción entre estas variables influye negativamente en el rendimiento de conversión en azúcares reductores (AR) durante el proceso de hidrólisis ácida de la cascara de pomelo. En la interacción entre CC\* $T^\circ$ , el efecto positivo mostrado parece indicar que el incremento de  $T^\circ$  en la reacción, estaría influenciando positivamente al efecto negativo que tienen las variables CC en el rendimiento en AR.

Al analizar los resultados de la hidrólisis de la cascara de pomelo, mediante una grafica de contorno/superficie, para visualizar los valores de respuesta obtenidos y las condiciones operativas deseables, se encontró que al fijar la temperatura de la reacción a  $T^{\circ}=50^{\circ}\text{C}$ , se puede observar que la máxima conversión en azúcares reductores (AR), se lograría eligiendo los parámetros operacionales de concentración de ácido sulfúrico (CC) cercanos al 2% y tiempo de reacción entre 60 y 90 min., configuración ubicada en la parte inferior de las figuras 36 y 37 de las graficas de contorno y superficie que ofrecen un área con rendimientos superior al 85% en AR.

De 20 gramos de cascara de naranja y pomelo, mediante hidrólisis acida, usando 600 ml de ácido sulfúrico al 5% y 2%, tiempo de reacción de 90 y 60 minutos respectivamente y manteniendo la temperatura en ambos casos a  $50^{\circ}\text{C}$ , se logro obtener; 500 ml de jarabe azucarado, con un pH de 0,25 y 7,5 grados brix, cuando se uso cascara de naranja, mientras que con la cascara de pomelo se consiguió 480 ml de jarabe azucarado, con un pH de 0,99 y 8,5 grados brix. El mayor valor de grados brix que muestra el jarabe azucarado de la cascara de pomelo en relación a la cascara de naranja, era de esperarse debido a que este mostro un mayor rendimiento en azúcares reductores cuando se evaluó el proceso de hidrólisis a estas mismas condiciones.

Cuando se realizo el tratamiento de los jarabes azucarados, obtenidos de la cascara de naranja y pomelo, con oxido de calcio (CaO) y ácido sulfúrico 2N, los volúmenes de estos disminuyeron a valores de 485ml y 460 ml, lográndose además corregir el valor del pH a 4,0. Los valores de los grados brix se incrementaron de 7,5 a 10,0 y de 8,5 a 12 respectivamente, cuando se concentraron mediante evaporación, hasta alcanzar un volumen final de 250 ml.

La fermentación alcohólica de los jarabes azucarados de la cascara de naranja y pomelo se realizo durante siete días, observándose una disminución de los grados Brix el jarabe azucarado de la cascara de naranja desde 10,0 °Brix hasta 3,95 °Brix en tres día de fermentación, manteniéndose luego constante. En el caso del jarabe azucarado de la cascara del pomelo los grados Brix disminuyeron desde 12,0 °Brix hasta 3,7 °Brix en cuatro días, manteniéndose constante hasta completar los siete días.

Según Chang 2006, en una fermentación alcohólica, por cada 2 grados Brix se debería obtener un 1% de alcohol etílico, para el caso del jarabe azucarado de la cascara de naranja que contenía 10 grados Brix, su producción de etanol sería técnicamente 5%, mientras que para el jarabe azucarado de la cascara de pomelo que presentaba 12 grados Brix, la producción de etanol debería ser del 6%. Sin embargo en la tabla 18 se muestra el rendimiento en etanol obtenido a partir de los jarabes azucarados de las cascara de naranja y pomelo, de 0,27% y 0,40% respectivamente, encontrándose por debajo de los valores teóricos respecto a lo citados. Obteniendo una conversión de 0,034 ml de etanol/gramo de cascara de naranja y 0,05 ml de etanol/gramo de cascara de pomelo.

## 7. CONCLUSIONES

- ✚ La cascara de naranja presento un en su composición química: Humedad 64,44%, ceniza 1,29%, grasa 0,89%, fibra 10,89%, proteína 7,01%, carbohidratos 15,49% y valor calórico 94,15 Kcal. Mientras que la cascara de pomelo presento las siguientes características: Humedad 70,63%, ceniza 0,37%, grasa 0,21%, fibra 4,6%, proteína 0,23%, carbohidratos 23,96% y valor calórico 92,66 Kcal.
- ✚ El mayor rendimiento en azúcares reductores en la hidrólisis acida de la cascara de naranja fue de 79,67%. cuando se trabajo a una concentración de acido sulfúrico del 5%, temperatura de reacción de 50°C y tiempo de reacción de 60 minutos, para una relación solido líquido 1/30.
- ✚ La variable temperatura ( $T^{\circ}$ ), interacciona negativamente con las variables concentración de acido sulfúrico (CC) y tiempo de reacción (TR), afectando el rendimiento de azúcares reductores en la hidrólisis acida de la cascara de naranja.
- ✚ Las condiciones operativas deseables en la hidrólisis acida de la cascara de naranja se logra fijando la  $T^{\circ}$  a 50°C y concentraciones de acido sulfúrico cercanos al 5%, y tiempo de reacción cercanos a 60 minutos, para una relación solido líquido 1/30.
- ✚ Los mejores rendimientos en azúcares reductores en la hidrólisis acida de la cascara de pomelo fueron de: 85%, 83%, 90,33% y 94,67% cuando se trabajaron a concentraciones de acido sulfúrico, tiempos de reacción, y temperaturas de: (2%, 60min y 50°C), (2%, 90 min. y 50°C), (2%, 90 min. y 100°C) y (5%, 90 min. y 100°C) respectivamente. No presentando diferencia estadística significativa cuando se analizaron mediante sus intervalos de confianza.
- ✚ El incremento de la concentración de acido sulfúrico disminuye el rendimiento de conversión en azúcares reductores (AR) durante la hidrólisis acida de la cascara de pomelo, rendimiento que mejora cuando se incrementa la temperatura ( $T^{\circ}$ ) en la reacción.
- ✚ Las condiciones operativas deseables en la hidrólisis acida de la cascara de pomelo se logra fijando la  $T^{\circ}$  a 50°C y concentraciones de acido sulfúrico cercanos al 2%, y tiempo de reacción entre 60 y 90 minutos, para una relación solido líquido 1/30.

- ✚ El rendimiento en etanol obtenido a partir de los jarabes azucarados de la cascara de naranja y pomelo fueron de 0,27% y 0,40% con una conversión de 0,034 ml de etanol/gramo de cascara seca y 0,05ml de etanol/gramo de casara seca, respectivamente.

## 7.1. RECOMENDACIONES

- ✚ Realizar la hidrolisis acida de las cascaras de naranja y pomelo, en un reactor con sistema de reflujo con regulador de temperatura automatizado, para poder tener un mejor control de esta variable.
- ✚ Filtrar los jarabes azucarados obtenidos en la hidrolisis acida, usando un sistema de filtración al vacío, para disminuir el tiempo de contacto del ácido con los azucarados fermentables obtenidos, debido a que este podría degradarlos y alterar los resultados finales.
- ✚ Activar previamente la levadura antes de la fermentación, usando como sustrato parte del jarabe azucarado obtenido, para que la levadura se adapte al medio y pueda producirse el proceso de fermentación más rápidamente.
- ✚ Los materiales usados en el proceso fermentativo tienen que estar completamente esterilizados, para evitar la contaminación de otros microorganismos del ambiente, porque afectarían en el rendimiento del proceso.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. AGUILAR N. y M. CANIZALES 2004. Cinética de la hidrólisis acida de la cascarilla de cebada. Rev. Mexicana de Ingeniería Química. **3 (3)** 257-263.
2. AHUJA J. 2011. Degradación de azúcares por hidrólisis ácida. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo-Morelia-Mexico Tesis para obtener el título de Ingeniero Químico. 69 pp.
3. ALVEAR M., C. CASTILLO, D. HENAO, W. MARIMÓN, C. TEJADA, L. TEJEDA, A.VILLABONA 2009. Estudio de la hidrólisis ácida de cáscaras de naranja (*citrus sinensis*) para la obtención de etanol. Memorias del IV Simposio de Química Aplicada – SIQUIA 2009. Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería, Cartagena de Indias, Colombia.
4. ÁLVAREZ A., R. SALGADO, E. GARCIA , M. DOMINGUEZ,, J. GRANADOS, A. AGUIRRE, A. MENDOZA 2012. Aprovechamiento integral de los materiales lignocelulósicos. Revista Iberoamericana de Polimeros, **13(4)** :140-150.
5. A.O.A.C 1994. Métodos Oficiales de Analisis de Alimentos”.EdicionesMundi – Presa-Madrid-España.
6. BARROSO M. 2010. Pretratamiento de biomasa celulósica para la obtención de etanol en el marco de una biorrefineria. Universidad Politécnica de Madrid; Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Forestal. Tesis para optar el título de Ingeniero Técnico Forestal. 1-112pp.
7. BOTANICA-ONLINE. Clases y variedades del pomelo. Accedido el 19/11/2012 <http://www.botanical-online.com/pomelosclases.htm>.

8. CARBALLO I. & Y. ARTEAGA 2005. Biomasa Lignocelulosico. Consultado el: 12 de Setiembre 2013. <http://www.monografias.com/trabajos46/hemicelulosas-maderas/hemicelulosas-maderas2.shtml>
9. CARDONA, C. A. 2004. Biodegradación de residuos orgánicos en plazas de mercado. Revista Colombiana de Biotecnología, **5(2)** :78-89.
10. CERÓN I., & C. CARDONA 2011. Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de cáscara de naranja. Rev. Ingeniería y Ciencia, **7(3)** :65-86.
11. CORTES W., J. IBLA, L.CALDERÓN, A. HERRERA 2013. Cuantificación de azúcares reductores en las cáscaras de naranja y banano. Revista de Tecnología Journal Technology.**12 (2)** : 72-76.
12. CHAN, Y. 2006. Industrialización de alimentos, frutas y vegetales. Guácimo, CR, en línea. <http://www.Universidad EARTH.com>
13. CHIARAMONTI, D., PRUSSI, M., FERRERO, S., ORIANI, L., OTTONELLO, P., TORRE, P., & CHERCHI, F. 2012. Revisión de los procesos de pretratamiento para la producción de etanol lignocelulósico, y el desarrollo de un método innovador. Biomass and Bioenergy. **5(4)**:1-11.
14. DOMÍNGUEZ M., A. ÁLVAREZ, T. CASTREJÓN, M. JESÚS, F. JAVIER, V. ALCALÁ, J. TAPIA 2011. Estudio de la cinética de la hidrólisis ácida del bagazo de caña de azúcar sin pretratamiento para la obtención de azúcares reductores. Revista Iberoamericana de Polímeros, **12(3)**:153-159.
15. FERRER J., G. PÁEZ, L. ARENAS, C. CHANDLER, Z. MÁRMOL, L. SANDOVAL 2002. Cinética de la hidrólisis ácida de bagacillo de caña de azúcar. Rev. Fac.. Agronómica - Instituto de Investigaciones LUZ- Caracas. **19(1)**:23-33

16. GALANAKIS C. (2012). Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*. **26(2)**: 68-87
17. GENERA F. 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 alimentos. Escuela de Ciencias Basicas Tecnología e Ingeniería Duitama.- Universidad Nacional Abierta y a Distancia “UNAD”. Tesis para obtener el título de Ingeniero de Alimentos.
18. HOYOS L. & Y. PÉREZ 2005. Pretratamiento del Material Lignocelulósico de la planta de banano y su fruto para la producción de jarabe. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.
19. INFOAGRO.COM. El cultivo de las naranjas. Accedido el 01/06/2012 <http://www.infoagro.com/citricos/naranja.htm>
20. INEI 2012. Perú: Principales indicadores departamentales 2007-2011. [www.unfpa.org.pe/INEI-Peru-Indicadores-departamentales](http://www.unfpa.org.pe/INEI-Peru-Indicadores-departamentales)
21. JIMÉNEZ D., A. ABREU, V. LÓPEZ, A. TELLEZ, J. GRACIDA 2011. Obtención de azúcares fermentables mediante hidrólisis ácida de *Beta vulgaris* L. *Rev. Int. Contaminación. Ambiental*. **28 (2)**: 151-158.
22. MALUENDA J. 2012. Bioetanol perspectivas para 2012. Accedido Enero 2014 [.www.agrodigital.com/Documentos/bioetanolmz12.pdf](http://www.agrodigital.com/Documentos/bioetanolmz12.pdf)
23. MARCANO E., A. PADILLA, D. CALDERÓN 2009. Obtención de azúcares a partir de celulosa kraft mediante hidrólisis con ácido sulfúrico diluido. *Rev. Agricultura Andina*. **17(2)**: 33- 42



24. MARTÍNEZ A., E. OCARANZA 2009. Alternativas para la producción de biocombustible en México. Rev. CONCYTEG. **4(54)** :1245-1324
25. MEJIA L., H. MARTINEZ, J. BETANCOURT, & C. CASTRILLON 2007. Aprovechamiento de Residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica* L.) en la obtención de azúcares fermentables. Rev. Ingeniería y Ciencia. **3(6)**: 41-62.
26. MONSALVE J., V. MEDINA, A. RUIZ 2006. Producción de etanol a partir de la cáscara de banano y de almidón de yuca. Rev. Dyna- Medellin. **73(150)**: 21-27.
27. MOSQUERA P., y L. MERINO 2006. Empresa y energías renovables. Editorial ISBN. – Madrid. Cap. 12. Pag. 197.
28. MOSQUERA M. 2008. Obtención de Etanol Anhidro a Partir de Materiales Feculentos de Producción Nacional: Maíz (*Zea mays*) y Yuca (*Manihot esculenta*). Facultad de Biotecnología de la Escuela Politécnica Sangolquí - Ecuador. Tesis para optar el título de Ingeniería Biotecnología. 10-15pp.
29. RUIZ. A. y ARIAS EVELIO. 1997. Fermentación alcohólica de mucilago de café con levadura. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Tesis para optar el título de Ingeniero Químico. 106 p.
30. SAUNT J. 1992. Variedades de cítricos del mundo, Editorial Sinclair, Valencia. Guía Ilustrada. Sinclair Internacional Edipublic. Valencia, España. 128 p.
31. SUN, Y., J. CHENG 2001. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: Rev. Bioresource Technology. **83(1)**: 1-11

32. TEJADA L., C. TEJADA, A. VILLABONA, M. ALVEAR, C. CASTILLO, D. HENAO, W. MARIMÓN, N. MADARIAGA, A. TARÓN 2010. Producción de bioetanol a partir de la fermentación alcohólica de jarabes glucosados derivados de cáscaras de naranja y piña. Rev. Educación en Ingeniería. **52 (10)**: 120-125.
33. TEJEDA L., J. QUINTANA, J. PÉREZ, H. YOUNG 2011. obtención de etanol a partir de residuos de poda, mediante hidrólisis ácida e hidrólisis enzimática. Rev. U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica. **14 (1)**: 111-116.
34. VIÑALS M, A. BELL, G. MICHELENA, M. RAMIL 2012. Obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica. Instituto Cubano de Investigaciones de Derivados de la Caña de Azúcar Ciudad de La Habana, Cuba (ICIDCA). **46(1)**:7-16.
35. Wikipedia (2014). Hemicelulosa.  
<http://es.wikipedia.org/wiki/Hemicelulosa>
36. Wikipedia (2014). Lignina y sus derivados.  
<http://es.wikipedia.org/wiki/Lignina%yderivados>.
37. Wikipedia 2014. Enlace glucosídico.  
[http://es.wikipedia.org/wiki/Enlace\\_glucos%C3%ADdico](http://es.wikipedia.org/wiki/Enlace_glucos%C3%ADdico)
38. <http://garcia cristinabio2.blogspot.com/2014/04/metabolismo-celular-respiracion-y.html>

## **ANEXO**

**Anexo 1: Resultado de los análisis físicos y químico de las cascara de naranja y pomelo.**

**Resultado del análisis físico químico de la cascara de naranja**

Determinaciones	Semana				Promedio	DS
	I	II	III	IV		
Humeda	70.00	64.13	62.35	61.27	64.44	3.89
Ceniza	1.37	1.17	1.11	1.49	1.29	0.18
Grasa	1.24	0.83	0.63	0.87	0.89	0.25
Fibra	11.21	10.76	11.34	10.24	10.89	0.50
Proteina	7.52	8.23	7.04	5.25	7.01	1.27
Carbohidratos	8.66	14.88	17.53	20.88	15.49	5.17
Valor calórico	73.72	96.19	99.57	107.13	94.15	14.37

**Resultado del análisis físico químico de la cascara de pomelo**

Determinaciones	Semana				Promedio	DS
	I	II	III	IV		
Humeda	75.10	70.44	66.34	70.65	70.63	3.58
Ceniza	0.39	0.35	0.28	0.47	0.37	0.08
Grasa	0.19	0.23	0.15	0.27	0.21	0.05
Fibra	4.90	4.58	5.10	3.80	4.60	0.57
Proteina	0.29	0.09	0.14	0.40	0.23	0.14
Carbohidratos	19.13	24.31	27.99	24.41	23.96	3.65
Valor calórico	74.61	93.59	106.87	95.57	92.66	13.38

**Anexo 2: Resultados de la evaluación de la hidrólisis de la cascara de naranja.**

Nº	TR	CC	Tº	ºBx	AR(g/100ml)	Vol. (ml)	AR(g/g MP seca)
1	60	2	50	4.00	1.65	125	0.41
2	60	2	50	3.75	1.15	125	0.29
3	60	2	50	3.80	1.45	125	0.36
4	90	2	50	3.50	1.77	125	0.44
5	90	2	50	4.00	1.65	125	0.41
6	90	2	50	3.70	1.70	125	0.43
7	60	5	50	8.00	1.60	125	0.40
8	60	5	50	8.00	2.15	125	0.54
9	60	5	50	7.80	1.78	125	0.45
10	90	5	50	7.50	3.09	125	0.77
11	90	5	50	7.50	3.29	125	0.82
12	90	5	50	7.60	3.18	125	0.80
13	60	2	100	4.50	1.24	140	0.35
14	60	2	100	4.50	1.15	140	0.32
15	60	2	100	4.60	1.12	140	0.31
16	90	2	100	4.50	1.31	140	0.37
17	90	2	100	4.50	1.30	140	0.36
18	90	2	100	4.70	1.29	140	0.36
19	60	5	100	8.40	2.06	140	0.58
20	60	5	100	8.00	1.37	140	0.38
21	60	5	100	8.20	1.30	140	0.36
22	90	5	100	5.50	1.37	140	0.38
23	90	5	100	5.20	1.41	140	0.39
24	90	5	100	5.30	1.41	140	0.39

**Anexo 3: Resultados de la evaluación de la hidrólisis de la cascara de pomelo.**

Nº	TR	CC	Tº	ºBx	AR(g/100ml)	Vol. (ml)	AR(g/g MP seca)
1	60	2	50	4.00	3.53	120	0.85
2	60	2	50	3.80	3.80	120	0.91
3	60	2	50	4.10	3.30	120	0.79
4	90	2	50	4.50	3.30	120	0.79
5	90	2	50	4.40	3.53	120	0.85
6	90	2	50	4.60	3.53	120	0.85
7	60	5	50	8.00	2.75	120	0.66
8	60	5	50	7.90	3.29	120	0.79
9	60	5	50	7.90	3.09	120	0.74
10	90	5	50	8.00	2.47	120	0.59
11	90	5	50	7.80	2.60	120	0.62
12	90	5	50	8.00	2.75	120	0.66
13	60	2	100	4.50	2.47	133	0.66
14	60	2	100	4.40	2.06	133	0.55
15	60	2	100	4.50	2.74	133	0.73
16	90	2	100	4.00	3.29	133	0.88
17	90	2	100	3.80	3.80	133	1.01
18	90	2	100	4.10	3.09	133	0.82
19	60	5	100	8.50	3.53	137	0.97
20	60	5	100	8.40	3.29	137	0.90
21	60	5	100	8.30	3.53	137	0.97
22	90	5	100	8.00	2.15	137	0.59
23	90	5	100	7.90	2.06	137	0.56
24	90	5	100	8.10	2.47	137	0.68

**Anexo 4: Resultados de la fermentación alcohólica de las cascaras de naranja y pomelo.**

**A. Fermentación de jarabes azucarados**

**Fermentación alcohólica de la cascara de naranja**

Tiempo (días)	pH					°Bx				
	M1	M2	M3	X	DS	M1	M2	M3	X	DS
0.0	4	4	4	4.0	0	10.0	10.5	9.5	10.00	0.50
0,5	3.91	3.79	3.84	3.85	0.06	9.4	9.1	8.5	9.00	0.46
1.0	3.69	3.59	3.67	3.65	0.05	6.8	8.1	7.6	7.50	0.66
2.0	3.37	3.38	3.3	3.35	0.04	4.5	5.6	4.9	5.00	0.56
3.0	3.35	3.34	3.28	3.32	0.04	4.1	3.6	4.1	3.93	0.29
4.0	3.36	3.33	3.32	3.34	0.02	3.8	3.6	3.7	3.70	0.10
5.0	3.35	3.32	3.31	3.33	0.02	3.9	3.8	4.0	3.90	0.10
6.0	3.34	3.32	3.31	3.32	0.02	3.8	3.7	3.9	3.80	0.10
7.0	3.37	3.35	3.36	3.36	0.01	3.7	3.8	3.7	3.73	0.06

**Fermentación alcohólica de la cascara de pomelo.**

Tiempo (días)	pH					°Bx				
	M1	M2	M3	X	DS	M1	M2	M3	X	DS
0.0	4.00	4.00	4.00	4.00	0	11.9	12.3	11.8	12.0	0.26
0,5	3,97	3.81	3.98	3.90	0.12	9.9	10.2	9.9	10.0	0.17
1.0	3.89	3.75	3.91	3.85	0.09	8.1	8.2	7.7	8.0	0.26
2.0	3.47	3.49	3.38	3.45	0.06	6.2	5.4	5.9	5.8	0.40
3.0	3.35	3.31	3.29	3.32	0.03	4.7	4.3	3.7	4.2	0.50
4.0	3.34	3.30	3.34	3.33	0.02	3.9	3.5	3.7	3.7	0.20
5.0	3.35	3.36	3.34	3.35	0.01	3.9	3.6	3.8	3.8	0.15
6.0	3.41	3.38	3.37	3.39	0.02	3.9	3.6	3.7	3.7	0.15
7.0	3.44	3.46	3.47	3.46	0.02	3.9	3.6	3.8	3.8	0.15

**Anexo 5: Resultados obtenidos en la determinación del grado alcohólico de los jarabes fermentados.**

Cascara	Peso del pignómetro más destilado				DS
	1	2	3	PROMEDIO	
Naranja	23.8569	23.8784	23.8662	23.8672	0.01
Pomelo	23.8685	23.8701	23.8601	23.8662	0.01

**Cálculo del peso específico del jarabe fermentado:**

$$\text{P. e. del destilado} = \frac{\text{Peso del destilado en el picnómetro}}{\text{Peso del agua en el picnómetro}}$$

	Peso pignómetro	Peso pignómetro	Peso pignómetro	Peso específico	Grado alcohólico		
	Vacío	más agua	más destilado		% peso	% volumen	g. /100cm <sup>3</sup>
Naranja	18.9163	23.8692	23.8672	0.9996	0.21	0.27	0.21
Pomelo	18.9163	23.8692	23.8662	0.9994	0.32	0.4	0.32



Anexo 6: Tabla para cálculo del grado alcohólico a partir del peso específico.

TABLA XXI  
Cálculo del grado alcohólico

Peso específico a 15°/15°	Alcohol por ciento en peso	Alcohol por ciento en volumen	Gramos de alcohol en 100 cm <sup>3</sup>	Peso específico a 15°/15°	Alcohol por ciento en peso	Alcohol por ciento en volumen	Gramos de alcohol en 100 cm <sup>3</sup>
0,9999	0,05	0,07	0,05	0,9949	2,79	3,49	2,77
8	0,11	0,13	0,11	8	2,84	3,56	2,82
7	0,16	0,20	0,16	7	2,90	3,64	2,88
6	0,21	0,27	0,21	6	2,96	3,71	2,94
5	0,26	0,33	0,26	5	3,02	3,78	3,00
4	0,32	0,40	0,32	4	3,08	3,85	3,06
3	0,37	0,47	0,37	3	3,14	3,93	3,12
2	0,42	0,53	0,42	2	3,19	4,00	3,17
1	0,48	0,60	0,47	1	3,25	4,07	3,23
0	0,53	0,67	0,53	0	3,31	4,14	3,29
0,9989	0,58	0,73	0,58	0,9939	3,37	4,22	3,35
8	0,64	0,80	0,64	8	3,43	4,29	3,40
7	0,69	0,87	0,69	7	3,49	4,36	3,46
6	0,74	0,93	0,74	6	3,55	4,43	3,52
5	0,80	1,00	0,80	5	3,60	4,51	3,58
4	0,85	1,07	0,85	4	3,66	4,58	3,64
3	0,90	1,14	0,90	3	3,72	4,65	3,69
2	0,96	1,20	0,96	2	3,78	4,73	3,75
1	1,01	1,27	1,01	1	3,84	4,80	3,81
0	1,06	1,34	1,06	0	3,90	4,88	3,87
0,9979	1,12	1,41	1,12	0,9929	3,96	4,95	3,93
8	1,17	1,48	1,17	8	4,02	5,03	3,99
7	1,23	1,54	1,22	7	4,08	5,10	4,05
6	1,28	1,61	1,28	6	4,14	5,18	4,11
5	1,34	1,68	1,33	5	4,20	5,25	4,17
4	1,39	1,75	1,39	4	4,26	5,33	4,23
3	1,45	1,82	1,44	3	4,32	5,40	4,29
2	1,50	1,88	1,50	2	4,39	5,48	4,35
1	1,56	1,95	1,55	1	4,45	5,55	4,41
0	1,61	2,02	1,60	0	4,51	5,63	4,47
0,9969	1,67	2,09	1,66	0,9919	4,57	5,70	4,53
8	1,72	2,16	1,71	8	4,63	5,78	4,59
7	1,78	2,23	1,77	7	4,69	5,86	4,65
6	1,83	2,30	1,82	6	4,75	5,93	4,71
5	1,89	2,37	1,88	5	4,81	6,01	4,77
4	1,94	2,44	1,93	4	4,88	6,09	4,83
3	2,00	2,51	1,99	3	4,94	6,16	4,89
2	2,05	2,58	2,04	2	5,00	6,24	4,95
1	2,11	2,65	2,10	1	5,06	6,32	5,01
0	2,17	2,72	2,16	0	5,13	6,40	5,08
0,9959	2,22	2,79	2,21	0,9909	5,19	6,47	5,14
8	2,28	2,86	2,27	8	5,25	6,55	5,20
7	2,34	2,93	2,32	7	5,32	6,63	5,26
6	2,39	3,00	2,38	6	5,38	6,71	5,32
5	2,45	3,07	2,43	5	5,44	6,79	5,38
4	2,50	3,14	2,49	4	5,51	6,86	5,45
3	2,56	3,21	2,55	3	5,57	6,94	5,51
2	2,62	3,28	2,60	2	5,63	7,02	5,57
1	2,68	3,35	2,66	1	5,70	7,10	5,64
0	2,73	3,42	2,72	0	5,76	7,18	5,70