PRODUCCION DE FURFURAL Y ETANOL A PARTIR DE ZOCA DE CAFÉ: EVALUACIÓN EXPERIMENTAL.

HEIDY DANIELA PINILLA ACOSTA

UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO
CIENCIAS NATURALES E INGENIERÍA, INGENIERÍA
QUÍMICA
BOGOTÁ, D.C.
2019

PRODUCCION DE FURFURAL Y ETANOL A PARTIR DE ZOCA DE CAFÉ: EVALUACIÓN EXPERIMENTAL.

HEIDY DANIELA PINILLA ACOSTA

DIRECTOR: FRANZ EDWIN LÓPEZ

UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO
CIENCIAS NATURALES E INGENIERÍA, INGENIERÍA
QUÍMICA
BOGOTÁ, D.C.
2019

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN6
2. METODOLOGIA8
2.1 PREPARACIÓN MATERIA PRIMA
2.2 CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL
2.2.1 DETERMINACIÓN DE EXTRACTIVOS ORGÁNICOS SOLUBLES EN AGUA
2.2.2 DETERMINACIÓN DE EXTRACTIVOS ORGÁNICOS SOLUBLES EN ETANOL
2.2.3 DETERMINACIÓN DE LIGNINA INSOLUBLE EN ÁCIDO9
2.2.4 DETERMINACIÓN DE HOLOCELULOSA DE SÓLIDOS LIBRES DE EXTRACTIVOS10
2.2.5 DETERMINACIÓN DE CELULOSA Y HEMICELULOSA10
2.2.6 DETERMINACIÓN DE CENIZAS11
2.3 HIDRÓLISIS ÁCIDA11
2.4 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA11
2.5 FERMENTACIÓN12
2.6 PRODUCCIÓN DE FURFURAL12
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN12
3.1 CARACTERIZACIÓN ZOCA DE CAFÉ12
3.2 HIDRÓLISIS ÁCIDA13
3.3 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA15

3.4 FERMENTACIÓN	17
3.5 REACCIÓN DE DESHIDRATACIÓN	18
4. RECOMENDACIONES	20
5. CONCLUSIONES	21
6. BIBLIOGRAFIA	22

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es estudiar la producción de etanol y furfural (compuestos plataforma) a partir de la zoca de café a nivel experimental. Al realizar la caracterización de esta biomasa se obtiene que está constituida por un 34,8% de celulosa, 26,2% de hemicelulosa, 22,9% de lignina, 7,15% de extractivos 7,07% de humedad y 1,04% de cenizas. El alto contenido de polisacáridos conlleva a la evaluación de su transformación hacia compuestos plataforma. El procedimiento evaluado consiste en tres etapas: En una primera etapa se realizó una comparación variando a concentración de ácido sulfúrico durante la hidrólisis ácida (2 y 10%) en la cual se encontró que la mejor condición para realizar este proceso se da cuando la concentración está al 2%.

Se realiza un tratamiento de ácido diluido al 2% en el cual se obtienen diferentes tipos de azúcares en su mayoría xilosas provenientes de la hemicelulosa, de allí se derivan dos procesos para la obtención de bioetanol y furfural.

Para la producción de bioetanol es necesario realizar una hidrólisis enzimática en la cual la celulosa se reduce a glucosa mediante la ruptura de sus enlaces glicosídicos aumentando la presencia de azúcares fermentables en un 64%. En la fermentación se utiliza saccharomyces cerevisiae la cual presentó un consumo de sustrato del 95% obteniendo etanol con un rendimiento de 24,6% (etanol obtenido/sustrato consumido).

La producción de furfural presenta un rendimiento experimental de 11% mientras que el HMF del 5,6%, partiendo de la masa de xilosa obtenida, de la cual se alcanza un rendimiento del 39% con respecto a la cantidad de hemicelulosa en la muestra. Estos rendimientos fueron obtenidos a partir de un proceso de deshidratación con ácido sulfúrico como catalizador y cloruro de sodio como promotor de la reacción.

Palabras clave: furfural, etanol, pretratamiento, material lignocelulósico, zoca de café, celulosa hemicelulosa.

ABSTRACT

The objective of this work is to study the production of ethanol and furfural (platform compounds) from the coffee souk at experimental level. When carrying out the characterization of this biomass, it is obtained that it is constituted by 34.8% of cellulose, 26.2% of hemicellulose, 22.9% of lignin, 7.15% of extractives, 7.07% of humidity and 1.04% of ashes. The high content of polysacchar leads to

the evaluation of its transformation to platform compounds. The procedure evaluated consists of 3 stages: in the first stage a comparison was made with sulphuric

acid during acid hydrolysis (2 and 10%) n which it was found that the best condition to carry out this process is when the concentration is 2%.

A 2% diluted acid treatment is carried out in which different types of sugars are obtained, mostly xylose derived from the hemicellulose, from which two processes for the derivation of bioethanol and furfural are derived.

for the production of bioethanol it is necessary to perform an enzymatic hydrolysis in which cellulose is reduced to glucose trough concentration of sugars by 64%. During fermentation, 95% of the substrate is consumed, which the ethanol has a record of 24.6%.

The production of Furfural presents an experimental yield of 11% while the HMF of 5.6%, based on the mass obtained of xylose from which a yield of 39% was obtained regarding to the amount of hemicellulose in the sample. These yields were obtained from a dehydration process with sulfuric acid as an agent of change and sodium chloride as a requester of the reaction.

Key words: furfural, ethanol, pretreatment, lignocellulosic material, coffee souk, cellulose, hemicellulose.

1. INTRODUCCIÓN

El incremento de consumo de energía principalmente en el sector de transporte a causado la disminución de petróleo y con ello la preocupación sobre diferentes factores a tener en cuenta como sus costos y el impacto medioambiental que ha generado la sobre explotación del mismo, esto ha sido el motor para tomar medidas, desarrollando combustibles renovables y sostenibles (Federación Nacional de biocombustibles, 2012).

En las últimas décadas se ha estudiado el uso de biomasa lignocelulósica como materia prima, siendo una posible solución en la producción de combustibles con una gran acogida en la industria, ya que el material lignocelulósico revela una gran fuente de carbohidratos altamente fermentables principalmente compuestos de hemicelulosa, lignina y celulosa (Piñeros, 2014). La biomasa es altamente disponible, presenta bajo costo de producción y genera una solución frente a la contaminación ambiental.

Esto ha llevado al desarrollo de la producción de biocombustibles en el mundo, entre el 2001 y el 2010, el crecimiento en la producción de etanol fue de 380% con 85 billones de litros. Registrando la mayor producción en Estados Unidos

el cual utiliza en mayor medida como materia prima residuos de las cosechas de maíz y Brasil utilizando residuos de caña de azúcar (Federación Nacional de biocombustibles, 2012). Colombia se encuentra en el puesto 10 con 0,4 % de la producción mundial utilizando como materia prima residuos de caña de azúcar y de palma de aceite (proColombia, 2016). Esto es muy positivo para la calidad de vida de los humánanos y el cuidado del medio ambiente, pero no nos damos cuenta que las fuentes de celulosa y hemicelulosa son tan vastas que abarcan desechos regionales, desechos agrícolas, de industrias papeleras, todo tipo de madera entre otras. Estas todavía no se emplean para la producción de etanol.

Colombia tiene la gran ventaja de contar con todos los pisos térmicos lo que genera una gran variedad de climas y paisajes permitiendo el cultivo de varios tipos de cultivos que generan diferentes tipos de desechos, los cuales pueden ser usados para lo anterior. (Daniel et al., 2009). Uno de ellos es el café del cual destinan 779.000 hectáreas para su siembra con una producción de 13,6 millones de sacos (peso por saco 60 kg) en el año 2018 según la federación nacional de cafeteros. También genera diferentes residuos uno de ellos es la zoca de café el cual se genera por las podas realizadas en el cultivo para mantener los altos niveles de producción generando al año 649,92 Ton /ha (Rendón-Sáenz, 2016). Los usos actuales que le dan a esta madera son: producción de cenizas a partir de la incineración, acopio en terrenos de relleno y producción de energía por combustión (Rendón-Sáenz, 2016).

En este trabajo se busca utilizar la zoca de café como materia prima para la producción de etanol y furfural. En una primera etapa se lleva a cabo la caracterización del material para saber que tanto contenido de celulosa y hemicelulosa posee, para posteriormente implementar las mejores técnicas obtención de azúcares reductores que por medio de fermentación y reacciones de deshidratación podemos obtener las plataformas anteriormente mencionadas las cuales serán cuantificadas por medio de cromatografía liquida de alta resolución y espectrofotometría V-vis, para así mismo poder evaluar el rendimiento de los productos obtenidos.

La finalidad de este tipo de trabajos es de conocer, innovar y ayudar a que Colombia se desarrolle como productor de grandes cantidades de biocombustibles aprovechado la diversidad en sus recursos naturales que sin duda son muy grandes y mostrar que es importante fomentar este tipo de investigaciones creando conciencia de la mejora que se lograra y la mejor calidad de vida que se tendrá, demostrando que el uso de residuos agroindustriales puede llegar a ser competitivo y hacer menos daño al medio ambiente que los combustibles tradicionales

2. METODOLOGIA

2.1 Preparación de la materia prima

Se le realiza una molienda al material con molino (RETSCH SK100/C Gusseisen) y se realiza un tamizado con un tamiz de malla 60 y uno de malla 40, después de esto se seca la biomasa durante 24 horas a 105 ° C o hasta que el material tenga una humedad menor al 10%. Esta humedad es medida en una balanza termogravimétrica (Metter Toledo HB43-S Hologen). agregando 0,5 gr de muestra.

2.2 Caracterización del material

La caracterización de la zoca de café se realizó por cuadruplicado con el fin de evidenciar la replicación de los resultados.

2.2.1 Determinación de extractivos orgánicos solubles en agua

Para la determinación de extractivos solubles en agua se realiza el procedimiento bajo la norma NREL/TP- 510-42619. Se toma aproximadamente 6 g de zoca previamente molida y seca, con una humedad inferior al 10%, ubicando el material a extraer dentro de un capuchón hecho con papel filtro, verificando que la biomasa no se salga del mismo. Posteriormente se colocó en un extractor tipo soxhlet, se le ajustó una plancha de tal forma que se garantice el mayor intercambio de calor posible para así generar una ebullición vigorosa de 160 ml de agua. Seguidamente se seca el material sólido libre de extractivos, luego el material se lleva a un desecador durante 1 hora para posteriormente calcular el porcentaje de masa libre de extractivos solubles en agua. El agua que contiene los minerales y extractivos se llevan a rota evaporar, para generar la evaporación del solvente y determinar la cantidad de extractivos por diferencia de peso en el balón (A. Sluiter, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter & Templeton, 2005).

2.2.2 Determinación de extractivos orgánicos solubles en etanol

Se realiza una determinación de extractivos orgánicos tomando etanol como solvente, esto se hizo bajo la norma NREL/TP- 510-42619. Para este procedimiento se toma el material libre de extractivos solubles en agua y se realiza un proceso de extracción por método soxhlet con 160 mL de etanol al 96% (v/v), se programa la plancha a una temperatura superior a la de ebullición del etanol con el objetivo de realizar una ebullición energética. Después de este tratamiento, se lleva el sólido libre de extractivos a un horno para ser secado,

posterior a esto se pone el material en un desecador. El etanol utilizado en la extracción se traslada a un rotaevaporador, para generar la recuperación del solvente y separarlo de los extractivos, lo que es determinado por la diferencia de peso inicial y final del balón. (A. Sluiter, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter & Templeton, 2005).

Para el cálculo de los porcentajes de extractivos se debe tomar la muestra como masa libre de humedad.

$$\begin{tabular}{ll} \begin{tabular}{ll} \beg$$

2.2.3 Determinación de lignina insoluble en ácido

Este procedimiento se realizó bajo la norma NREL/TP-510-42618. Se pesan 0,3 g de material libre de extractivos en un Erlenmeyer, donde la masa debe contener una humedad menor al 10%, luego se agregan 3 mL de ácido sulfúrico al 72% (p/p), para luego llevar a calentamiento a 30°C durante 1 hora en agitación constante, posterior a esto se añaden 54 mL de agua destilada con el fin de que la concentración disminuya a un 4% (p/p), se tapa el Erlenmeyer para ser llevado al autoclave durante 1 hora a 15 Psi y 121°C, luego de ello se realiza una filtración al vacío de la muestra y se lava con abundante agua. El sólido filtrado se seca, teniendo especial cuidado y supervisión constante para evitar calcinación, luego se pesa y determinar el porcentaje de lignina presente en la muestra analizada (A. Sluiter, B. Hames, R Ruiz & J. Sluiter, D. Templeton, 2008).

$$\% lignina = \frac{Muestra\ lignina\ con\ recipiente - Peso\ de\ recipiente}{masa\ inicial} x\ \% m\ libre\ extracti.$$

2.2.4 Determinación de holocelulosa de sólidos libres de extractivos.

Se usó un método de cloración el cual se rige bajo la norma ASTM Standard D1104 [211]. Se toman 2,5 g de muestra libre de extractivos en un Erlenmeyer, se mezclan con 80 ml de agua destilada, 0.5 ml de ácido acético glacial y se agrega un 1 g de clorito de sodio, para ser llevado a un baño termostatado a 70 °C durante 6 horas y cada hora se agrega 1 g de clorito de sodio y 0,5 mL de ácido acético glacial. Luego de cumplidas las 6 horas, se deja la muestra en el baño termostatado durante 24 horas a una temperatura de 70 °C para posteriormente ser filtrada al vacío, realizando lavados con acetona. Los sólidos obtenidos se secan y después de estabilizar la temperatura en un desecador se determina el porcentaje de holocelulosa en la muestra (Saka, 2012).

2.2.5 Determinación de celulosa y hemicelulosa

El método de determinación de celulosa es un procedimiento continuo al procedimiento anterior el cual se realiza bajo el procedimiento modificado de (*Crapton and Maynard*). Se toma 1 gr de la muestra obtenida en el procedimiento de obtención cuantitativa de holocelulosa y se realiza un montaje con un condensador para permitir el reflujo de vapor en el equipo, en el cual se adicionaron 15 ml de ácido acético al 80 % y 1 ml de ácido nítrico, junto con el material a analizar. El montaje se colocó en una plancha a 30 °C por 20 minutos, seguido de esto se transfiere la muestra a un tubo falcom de 50 mL con 20 mL de etanol al 96% v/v, para ser centrifugado a 60 rpm por 10 minutos. Posteriormente se lava el tubo con alcohol al 96 % v/v para así transferir la muestra a un crisol y luego realizar un filtrado al vacío lavando con benceno, éter etílico y etanol caliente (50° C),

$$\frac{\text{%Holocelulosa}}{\text{masa inicial}} = \frac{M \text{ holocelu con recipiente} - Peso \text{ de recipi.}}{\text{masa inicial}} x \text{%mlibre extractivos}$$

después se seca para precisar la cantidad de celulosa contenida en la biomasa analizada, seguidamente se calcina la muestra a 575 °C durante 3 horas y por esta ruta determinar la cantidad de ceniza que se genera, además de establecer la porción de hemicelulosa presente en la muestra (J. S. Han and J. S. Rowell, 2008).

$$\% celulosa = \frac{\textit{M celulosa con recipiente} - \textit{Peso de recipiente}}{\textit{masa inicial}} x\% \ \textit{holocelulosa}$$

2.2.6 Determinación de cenizas

El procedimiento utilizado a diferentes tipos de madera y fue tomado de NRTL/TP-510-42622. Se pesa una capsula se deposita 1 gr de muestra en una mufla se calienta columna rampla de calentamiento de 10 °C/ min desde 20°C hasta 105°C se conserva la temperatura durante 12 minutos, después de esto se realiza una segunda rampa de 10 °C / min desde 105 °C hasta 250 °C conservando esta temperatura durante 30 minutos, retirar la muestra de la mufla y se pone en un desecador por 1 hora para determinar la diferencia de pesos (Sluiter et al., 2008).

$$\%cenizas = \frac{M\ cenisas\ con\ recipiente - Peso\ de\ recipiente}{masa\ inicial} x100$$
 (7)

2.3 Hidrólisis ácida

Se toma una muestra de materia prima con humedad inferior al 10 %, se realiza una hidrólisis con ácido sulfúrico diluido a una concentración de 2% v/v y 10% v/v, se lleva al autoclave a 121 °C y 15 psi por 3 horas para la concentración de ácido de 2% y 1 hora para la concentración de ácido sulfúrico de 10 %, (cuando aumenta la concentración del ácido disminuye el tiempo de reacción), posteriormente se filtra al vacío. El sólido se seca, mientras que al líquido filtrado se le determina la cantidad de azúcares en especial la xilosa por medio de cromatografía liquida de alta resolución (HPLC) (Marsden, Gray, Nippard, & Quinlan, 2007).

2.4 Hidrólisis enzimática

Se utiliza el 8 gr del solido resultante de una hidrólisis ácida con ácido sulfuro al 2% y 10% se lava con agua caliente con el fin de minimizar los inhibidores en la muestra que puedan afectar la actividad enzimática, después de esto se seca durante 6 horas por 60°C y se pone en un desecador durante una hora. Posteriormente se mezcla el sólido con agua destilada a relación solido-líquido 1:10, se regula el pH con ayuda de un buffer citrato 0,1M (pH 5) y se agrega la enzima Cellic® Ctec2 una relación solido-enzima de 10:1,5 y se pone a 50 °C en constante agitación durante 72 horas. Se le realiza DNS

para identificar la presencia de azúcares en la muestras, posterior a esto el sólido se lava y se seca (Moncada, Cardona, Higuita, Vélez, & López-Suarez, 2016).

2.5 Fermentación

Después de la hidrólisis enzimática es necesario llevar el licor obtenido de la filtración al vacío al auto clave, esto se realiza para esterilizar las muestras. Las fermentaciones se realizaron en un Erlenmeyer de 250 mL a una temperatura de 37°C con un volumen de fermentación de 40 mL. Se agregan 2,4 mg de urea y 0,01mg de cloruro férrico y sulfato de magnesio por cada gramo de azúcar en la muestra. Para iniciar la fermentación se realiza una inoculación al mosto de fermentación con 5% v/v de levadura *S. cerevysiae* en condiciones semi-anaerobias. se realizó el preinoculo con extracto de levadura.(Marulanda, 2015).

2.6 Producción de furfural

En un Erlenmeyer de 250mL agregar 10 mL de la fase acuosa la cual consta de 10% p/p de xilosa y 10% p/p de H2SO4, como catalizador se agrega 2,4 g de NaCl y 100 mL de tolueno, a presión atmosférica y temperatura de ebullición de la mezcla a tratar, este proceso se realizará por 5 horas. Para cuantificar el furfural obtenido se realiza una solución stock furfural- agua destilada 1:1000 de la cual se hacen varias diluciones las cuales serán leídas mediante un barrido desde (190 a 330) nm en un espectrofotómetro V-vis Termo Scientific (Evolution 300), para posteriormente realizar una curva patrón y cuantificar el furfural obtenido (Rong et al., 2012).

Nota: los anteriores procesos se realizaron por triplicado.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización zoca de café

La **Tabla 1** nos muestra la composición obtenida experimentalmente de la zoca de café. El material fibroso posee altos niveles de celulosa y hemicelulosa en comparación de los otros datos obtenidos, esto quiere decir que es viable para la obtención de productos derivados de hexosas y pentosas.

Tabla 1 composición zoca de café

COMPONENENTES	CONTENIDO (% PESO)
CELULOSA	34,8±0,7
HEMICELULOSA	26,9±0,9
CENIZAS	1,04±0,015

EXTRACTIVOS	7,15±0,014
HUMEDAD	7,07±0,013
LIGNINA	22,9±0,1

En la **Tabla 2** se muestran algunos resultados de composición química de la biomasa estudiada y se evidencia pequeños cambios en las concentraciones según el autor. Esto quiere decir que el contenido de la zoca depende de las condiciones de cultivo como la temperatura, la presión, los componentes del suelo la temporada en la cual se realiza la poda, exposición del material después de la poda, desgaste del material y demás (Cristian Triana, 2010).

Tabla 2 caracterización lignina diferentes autores

CELUL OSA	HEMICE LULOSA	CENIZ AS	EXTRACTI VOS	LIGNINA	REFERENCIA
40,39	34,01	1,27	14,18	10,13	(Marulanda, 2015)
40-50	16-20	N.A	10-20	20-30	(Cristian Triana, 2010)
37,35	27,79	2,27	8,38	19,81	(Quintero, Moncada, & Cardona, 2013)
32,32	13,80	0,92	1,69	46,6	(Agudelo Aguirre, 2009)
45-55	24-40	N.A	N,A	18-25	(Cenicafé, 2009)

3.2 HIDRÓLISIS ÁCIDA

Tabla 3 Concentración de xilosa después de la hidrólisis ácida

% H2SO4	CONCENTRACIÓN G/L
2%	17,02±0,037
10%	9,028±0,078

Sabiendo que la concentración de hemicelulosa en la zoca de café es del 26,9% y la muestra tomada para realizar la prueba fue de 10 g. para la condición 1 ácido diluido al 10 % se obtuvo 0.9 ± 0.078 g de xilosa con un rendimiento 0.39 g xilosa/g hemicelulosa y para la condición 2 ácido diluido al 2 % se encontró una producción de 1.7 ± 0.037 g de xilosa y un rendimiento de 0.63 g xilosa/g hemicelulosa.

Para cuantificar estos azúcares la muestra se le realiza una dilución de ¼ para ser leída por cromatografía liquida de alta resolución HPLC (Aminex HPX-87H) con una concentración en la fase móvil de ácido sulfúrico 0,005 M, este se corre en modo isocratico es decir, que la concentración del solvente durante todo el proceso es constante sin importar si el solvente está en mezcla o puro (Bussi, 2007). Se maneja un

flujo de 0,5mL/min, con una temperatura de columna de 65° C y del detector de 35°C utilizando como detector de índice de refracción (RID).

La **Figura 2 y Figura 3** muestra la lectura de HPLC de los azúcares en la muestra en los cuales se puede ver que hubo más producción de xilosa que de glucosa en esta etapa y la producción más alta de glucosa se genero en el proceso con ácido sulfúrico diluido al 2% como se muestra en la **Figura 2**.

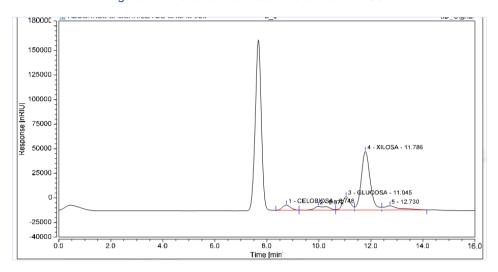
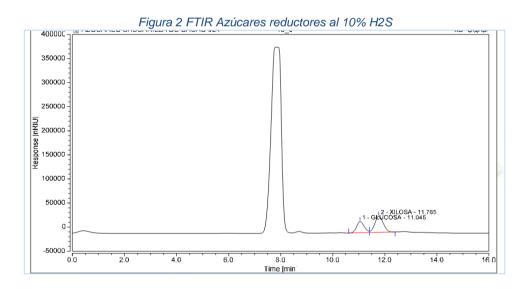


Figura 1 HPLC azúcares reductores al 2% de H2SO4



La cuantificación se realiza mediante una curva de calibración de xilosa la cual se realiza con una solución stock de agua tipo 1 y xilosa a 4 mg/mL hasta una concentración de xilosa de 0,4 mg/mL leídos en el cromatógrafo (HPLC Aminex HPX-87H).

3.3 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Para obtener glucosas a partir de celulosa se realizó una hidrólisis enzimática en la cual no se generan inhibidores, en este caso se usa la enzima Cellic Cetc2 de la empresa Novozymes, la cual está formada por celulasas y xilanasas que actúan conjuntamente para la degradación de la celulosa (Mesa & Martínez, 2014).

En la **Tabla 5** se muestra el comportamiento de producción de glucosa variando la concentración del pretratamiento con ácido diluido al 2% y al 10%. Estos datos fueron tomados durante 72 horas.

Tabla 4 Concentración glucosa durante la hidrólisis enzimática

TIEMPO	10%	2%	
(H)	H2SO4	H2SO4	
	(G/L)	(G/L)	
12	4,30±0,077	3,27±0,047	
24	8,57±0,050	8,89±0,038	
48	8,74±0,065	9,22±0,027	
72	8,76±0,045	9,26±0,003	

En la **Figura 4** se puede observar cómo fue el comportamiento de la producción de azúcares durante 72 horas tomando un dato al iniciar la hidrólisis y uno cada 24 horas. Se evidencia la producción más alta en el primer día con un rendimiento de 49% (ácido diluido al 10%) y 63% (ácido diluido al 2%) y después de esto la producción de glucosa se vuelve constante. Esto se debe a la disminución de concentración de enlaces peptídicos y el equilibrio que se genera entre sustrato inicial y los péptidos formados, lo cual produce la reducción de la actividad enzimática y presenta un menor rendimiento en comparación al día 1 con 2,16% (ácido diluido al 10 %) y 3,99% (ácido diluido al 2%).

Hidrolisis enzimatica 10 Concentración (g/L) 8 6 4 2 0 10 0 2.0 30 40 50 60 70 80 Tiempo (h) → hidrolisis ácida 2% — hidrolisis ácida 10%

Figura 4 Producción de azúcares durante la hidrólisis enzimática

En la **Tabla 6** se muestras los rendimientos y la variación con respecto al cambio de concentración en el pretratamiento de hidrólisis con H2SO4 diluido. La cantidad más alta de hexosas del fragmento líquido de la condición 1 (ácido diluido al 10%) es de 0,52 \pm 0,045 g de glucosa por cada 6 g de muestra seca con un rendimiento de 51% y en la condición 2 (ácido diluido al 2%), es de 0,74 \pm 0,003 g por cada 8 g en la muestra seca con un rendimiento de 64%.

Tabla 5 Datos obtenidos de la hidrólisis enzimática

CONDICIÓN (CONCENTRACIÓN H2SO4)	RENDIMIENTO GLUCOSA GLUCOSA INICI	(G FINAL/G AL)
2%	0,64±0,015	
10%	0,51±0,081	

En la **Tabla 7** se muestra los rendimientos obtenidos de la hidrólisis enzimática a partir de la zoca de café de diferentes autores las cuales presentan algunas variaciones en su valor esto se debe a las diferentes condiciones que fue sometida la hidrólisis como: el tipo de enzima escogida, el tiempo en el cual se realiza el proceso el porcentaje de celulosa que haya presentado la muestras en su caracterización y las condiciones de pretratamiento a las cuales fueron sometidas.

Tabla 6 Rendimientos obtenidos de hidrólisis enzimática de diferentes autores

RENDIMIENTO	(G	GLUCOSA	REFERENCIAS
FINAL/G GLUCOS	A INICI	AL)	
0,85			(Cristian Triana, 2010)
0,70			(Marulanda, 2015)
0,65			(Marulanda, 2015)

Los anteriores datos fueron cuantificados por medio del método ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS), para el cual se construye una curva de calibración que representa la absorbancia de las diferentes diluciones de glucosa (80 ppm a 800 ppm). A las muestras se realizó una dilución 1:100 con el fin de que el valor de absorbancia reportado se encuentre dentro del rango de la curva de calibración y así poder determinar la concentración de glucosa a lo largo del proceso de hidrólisis enzimática. Todas las muestras fueron leídas por medio de un espectrofotómetro V-vis Termo Scientific (Evolution 300).

3.4 FERMENTACIÓN

Para la fermentación se concentra el líquido obtenido en la hidrólisis enzimática disminuyendo su volumen a la mitad para poder obtener una concentración mayor de glucosa, en el caso 1 (ácido diluido al 10 %) 17 g/L y en el caso 2 (acido diluido al 2%) 18 g/L. En la **Tabla 8** se muestra la concentración y el rendimiento de etanol que se obtuvo en el proceso de fermentación de los hidrolizados de zoca de café.

Tabla 7 Resultados producción de etanol

CONDICIÓN (CONCENTRACIÓN H2SO4)	CONCENTRACIÓN ETANOL (G/L)	RENDIMIENTO ETANOL (G ETANOL PRODUCIDOS/G SUSTRATO CONSUMIDO)
2%	3,91±0,5	0,246±0,15
10%	$3,86 \pm 0.06$	0,237±0,07

En la **Tabla 9** se muestra el rendimiento obtenido de etanol producido/sustrato consumido de algunos autores a partir de la zoca de café. En comparación con los datos obtenidos en este trabajo **Tabla 8** los resultados los diferentes autores varían un poco, esto puede deberse a: el tipo de microorganismo fermentativo utilizado en el procedimiento, la concentración inicial del sustrato, el tiempo de fermentación y el cuidado con el cual se realiza este procedimiento.

Tabla 8 Rendimiento de etanol a partir de zoca de café de diferentes autores

RENDIMIENTO DE ETANOL P/	REFERENCIA	
SUSTRATO C		
0,25	(Marulanda, 2015)	
0,23	(Cristian Triana, 2010)	
0,34	(Cristian Triana, 2010)	

En la **Figura 5** muestra el comportamiento que se obtuvo del sustrato el cual fue medido durante 40 horas 3 veces al día por la técnica colorimétrica del ácido 3,5 dinitro salicílico (DNS) en un espectrofotómetro V-vis Termo Scientific (Evolution 300).

Para saber la concentración de etanol durante la etapa de fermentación se utilizó la técnica de cromatografía de líquidos de alta eficiencia HPLC (AMINEX HPX-87 H), fase móvil ácido sulfúrico 0,005 M con un flujo de 0,5 mL/min y una temperatura de columna de 65°C y 35°C del detector (RID). Se realiza una curva patrón de etanol de (2% v/v a 8% v/v) para su cuantificación la cual tiene un comportamiento creciente durante el proceso.

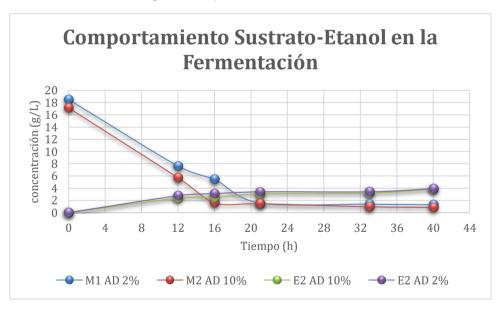


Figura 3 Comportamiento sustrato etanol

3.5 REACCIÓN DE DESHIDRATACIÓN

En la **Tabla 11** se evidencia el rendimiento de HMF y furfural a partir de la cantidad de xilosa generada en el pretratamiento ácido sulfúrico al 2%, ya que con este método se obtuvo mayor concentración de xilosa como se muestra en la **Tabla 4.**

Tabla 9 Datos obtenidos de la deshidratación de xilosa

CONCENTRACIÓN	RENDIMIENTO	CONCENTRACIÓN	RENDIMIENTO	
FURFURAL(G/L)	(G FURFURAL/G	HMF (G/L)	(G HMF /G	
	XILOSA)		XILOSA)	
$2,44 \pm 0.08$	0,11±0,61	0,71±0,15	0,056±0,03	

En la **Tabla 12** se muestra el rendimiento de la producción de furfural a partir de zoca de café de diferentes autores, que frente a este trabajo presentan pequeños cambios en su resultado, estos rendimientos pueden variar dependiendo las condiciones a las que se realice el proceso, del método que se utilice para la obtención del producto de interés, la cantidad de obtenida de xilosa y el método utilizado para la cuantificación de furanos.

Tabla 10 Datos producción de furfural de diferentes autores

FURFURAL /G XILOSA)	/G XILOSA)	REFERENCIAS
0,063	-	(Marulanda, 2015)

Para cuantificar de fulgúranos obtenidos se hace por un método espectrofotométrico desde una longitud de onda (190 a 330) nm a una solución furfural- agua con diferentes concentraciones.

En la **Figura 6** se observa un comportamiento ondulatorio el cual presenta dos picos muy claros uno en 228 nm el cual nos muestra la presencia de furfural en la mezcla y otro 279 nm nos muestra la presencia de HMF en la mezcla (Martinez, Rodriguez, York, Preston & Lonnie, 2000).

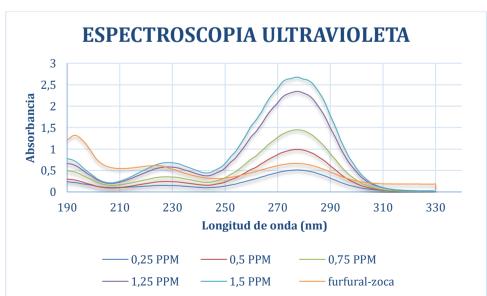


Figura 4 Espectro V-vis furfural a diferentes concentraciones

En la **Figura 9** se muestra la curva patrón de furfural y HMF obtenida de los picos 279 y 228 de la **Figura 8** con las concentraciones con las cuales se realizó el barrido en el espectrofotómetro V-vis Termo Scientific (Evolution 300) y también se evidencian las concentraciones obtenidas del proceso de deshidratación de xilosa a las cuales se les realizo una dilución 1:2000 para que ingresara a la curva patrón.

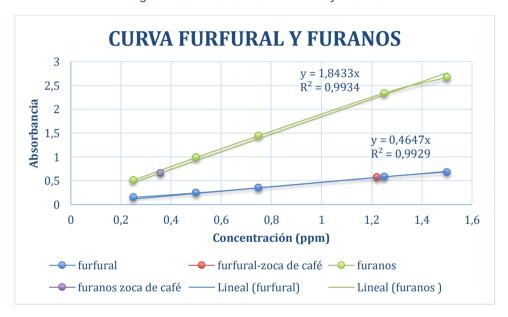


Figura 7 Curva de calibración furfural y furanos

4. RECOMENDACIONES

Es importante estudiar un pretratamiento el cual permita una buena adecuación de la biomasa escogida, ya que esto depende mucho de la naturaleza de la materia prima a utilizar y afecta en gran medida el rendimiento de los productos. Para la zoca de café en este trabajo se sugiere utilizar una hidrólisis ácida con ácido sulfúrico al 2% ya que con esta presenta mayor rendimiento en la obtención de azúcares reductores.

La fermentación se recomienda hacerla con cepas hibridas las cuales nos ayudara a que el proceso sea mas efectivo ya que estas cepas no solo consumen glucosa como en el caso de la utilizada en este trabajo.

En la fermentación se recomienda hacer un pre inoculo el cual deberá agitarse durante 24 horas esto con el fin que las levaduras ya estén en su fase de crecimiento cuando se inocule al mosto utilizado, lo cual nos ayudará a disminuir tiempos de producción de etanol.

Para la hidrólisis enzimática es importante que este combinada con celulasas u otras enzimas dirigidas a la ruptura de celulosa ya que en este proceso se realiza la mayor producción de glucosa para ser implementada como sustrato en la fermentación.

Para realizar la obtención de furanos en la muestra se recomienda utilizar procesos con altas presiones y temperaturas ya que estas condiciones favorecen la reacción de deshidratación brindando mayores rendimientos en la obtención de furfural.

5. CONCLUSIONES

Con el desarrollo de este trabajo se evidencia que la zoca de café como materia prima es una plataforma muy versátil para la obtención de productos con alto valor agregado por el gran contenido de celulosa del 34,8% y hemicelulosa del 26.9%.

La hidrólisis enzimática en este trabajo es una etapa muy importante para la producción de etanol a partir de material lignocelulósico, ya que se aprovecha los sustratos obtenidos en el pretratamiento con ácido diluido al 2% aumentando la eficiencia y la concentración de azúcares reductores presentes en la muestra en un 64%, así mismo aumenta la productividad de etanol. Por eso es muy importante escoger una enzima eficiente y que nos brinde estabilidad en el proceso.

Se evidencia que la biomasa implementada con un pretratamiento de ácido diluido al 2% y las metodologías de producción usadas en este trabajo, presenta un mayor rendimiento en la producción de etanol con un 24% que de furfural el cual cuenta con un 11%, lo que nos dice que será más rentable usar la zoca de café para la producción de etanol.

El hecho que se emplee esta biomasa lignocelulósica como materia prima para la obtención de bioetanol, muestra una alta conveniencia para la producción de biocombustibles los cuales nos ayudaran a mitigar la contaminación generada por los combustibles fósiles y la generada por los desechos agroindustriales.

6. BIBLIOGRAFIA

- Agudelo Aguirre, R. A., Agudelo Aguirre, R. A., & Agudelo Aguirre, R. A. (2009). Evaluación experimental del proceso SFES de etanol a partir de material lignocelulósico. Retrieved from http://bdigital.unal.edu.co/72387/
- Alfredo Martinez, Maria E. Rodriguez, Sean W. York, James F. Preston, & Lonnie O. Ingram. (2000). *Use of UV Absorbance To Monitor Furans in Dilute Acid Hydrolysates of Biomass*.
- Bussi, J. (2007). CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA EFICACIA (HPLC). Retrieved from https://www.fing.edu.uy/iq/analisis/cursos/ainst/hplc.pdf
- Callejas, F. R. (2010). *Tablas de Espectroscopía Infrarroja*. Retrieved from http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/IR-tablas_35276.pdf
- Chandler, C., Villalobos, N., González, E., Arenas, E., Mármol, Z., Ríos, J., ... Básicas, C. (2012). Hidrólisis ácida diluida en dos etapas de bagazo de caña de azúcar para la producción de azúcares fermentables. *MULTICIENCIAS*, *12*, 245–253. Retrieved from http://www.redalyc.org/pdf/904/90426810002.pdf
- Cristian Triana. (2010). PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE RESIDUOS PROVENIENTES DEL CULTIVO DE CAFÉ. Retrieved from http://bdigital.unal.edu.co/1974/1/cristianfernandotrianacaranton.2010.pdf
- Cruz, C. (2010). Celulosa. Retrieved from http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Seminario-Celulosa 27101.pdf
- Daniel, J., Zea, J., León, G., Hurtado, G., Cecilia González, O., Édgar Montealegre, J., ... Jaramillo, I. (2009). *La atmósfera, el tiempo y el clima*. Retrieved from
- Federación Nacional de biocombustibles. (2012). BIOCOMBUSTIBLES EN EL MUNDO. Retrieved from https://www.fedebiocombustibles.com/files/Boletin 60(1).pdf

http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/000001/cap3-i.pdf

- HOYOS, J., URBANO, F., CASTILLO, H., MOSQUERA, S., & NAVIA, P. (2010). DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE FERMENTACIÓN PARA LA FORMULACIÓN Y OBTENCIÓN DE VINO DE NARANJA. Retrieved from http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n1/v8n1a04.pdf
- J. S. Han and J. S. Rowell. (2008). "Chapter 5. Chemical Composition of Fibers,." *Agro-Based Resources*, 283, 83–134.
- Luis, J., & Martínez, S. (n.d.). Posgrado en INGENIERÍA DEL AGUA Y DEL TERRENO. CURSO: INSTRUMENTACIÓN Y MÉTODOS DE ANÁLISIS QUÍMICO TEMA: ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA 1-Fundamentos. Espectroscopia infrarroja. Retrieved from https://www.upct.es/~minaeees/espectroscopia infrarroja.pdf
- Marsden, W. L., Gray, P. P., Nippard, G. J., & Quinlan, M. R. (2007). Evaluation of the DNS method for analysing lignocellulosic hydrolysates. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 32(7–12), 1016–1022. https://doi.org/10.1002/jctb.5030320744
- Marulanda, V. A. (2015). *Jet biofuel production from agroindustrial wastes through furfural platform*. Retrieved from http://bdigital.unal.edu.co/48776/1/1059812746.2015.pdf
- Mesa, L., & Martínez, Y. (2014). *Alternativas de obtención de etanol a partir de paja de caña.*". Retrieved from http://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/144/Edenny tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, *31*(3), 426–428. https://doi.org/10.1021/ac60147a030 Moncada, J., Cardona, C. A., Higuita, J. C., Vélez, J. J., & López-Suarez, F. E. (2016).

- Wood residue (Pinus patula bark) as an alternative feedstock for producing ethanol and furfural in Colombia: experimental, techno-economic and environmental assessments. *Chemical Engineering Science*, *140*, 309–318. https://doi.org/10.1016/J.CES.2015.10.027
- Montero, G., Toscano, L., Ramos Ricardo, T., & Triny Beleno, M. (2014). Determinación de los principales componentes de la biomasa ligonocelulósica; celulosa, hemicelulosa y lignina de la paja de trigo para su posterior pretratamiento biológico. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/282365664
- novozymes. (2010). FUEL ETHANOL APPLICATION SHEET Cellic® CTec2 and HTec2-Enzymes for hydrolysis of lignocellulosic materials. Retrieved from http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/engineering/chair/chem010/manual/Ctec2.pdf
- Núñez, C. (2008). PULPA Y PAPEL I. Retrieved from http://www.cenunez.com.ar/archivos/69-PulpayPapellSextaParte.pdf
- Paz, F. (2008). DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA MADERA OBTENIDA DEL PRIMER CLAREO EN ÁRBOLES DE MELINA (Gmelina arborea Roxb.), DE UNA PLANTACIÓN PROVENIENTE DEL DEPARTAMENTO DE IZABAL. Retrieved from http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1090_Q.pdf
- Piñeros, Y. (2014). Aprovechamiento de biomasa lignocelulósica, algunas experiencias de investigación en Colombia. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/279448880
- proColombia. (2016). inversión en el sector de biocombustibles Colombia. Retrieved June 29, 2019, from https://www.inviertaencolombia.com.co/sectores/agroindustria/biocombustibles.ht ml
- Quintero, J. A., Moncada, J., & Cardona, C. A. (2013). Techno-economic analysis of bioethanol production from lignocellulosic residues in Colombia: A process simulation approach. *Bioresource Technology*, 139, 300–307. https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2013.04.048
- Rendón-Sáenz, J. R. (2016). Sistemas de renovación de cafetales para recuperar y estabilizar la producción. *Avances Técnicos Cenicafé*, *463*.
- Rodríguez, N. (2009). PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE LOS SUBPRODUCTOS DEL CAFÉ. Retrieved from http://www.olade.org/wp-content/uploads/2015/11/S4-B2009-Nelson_Rodriguez-Colombia.pdf
- Rong, C., Ding, X., Zhu, Y., Li, Y., Wang, L., Qu, Y., ... Wang, Z. (2012). Production of furfural from xylose at atmospheric pressure by dilute sulfuric acid and inorganic salts. *Carbohydrate Research*, 350, 77–80. https://doi.org/10.1016/J.CARRES.2011.11.023
- Saka, H. R. and S. (2012). Holocellulose Determination in Biomass. *Green Energy Technol*, 108, 135–140.
- Salgado, R., Garcia, E., Dominguez, M., & Morales, A. (2012). APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE LOS MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS. Retrieved from http://www.ehu.eus/reviberpol/pdf/SEPT12/alvarez.pdf
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., & Templeton, D. (2008). Determination of Ash in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP); Issue Date: 7/17/2005. Retrieved from www.nrel.gov