

## Hidrólisis ácida de *citrus sinensis* para la obtención de azúcares fermentables

MEJÍA-TREJO, Ana\*†, BRAVO-LUGO, Jaqueline, VENEGAS-SÁNCHEZ, Josué y JIMÉNEZ-ISLAS, Donaji.

Instituto Tecnológico Superior de Huichapan. División de Ingeniería en Energías Renovables. Huichapan México

Recibido Abril 15, 2016; Aceptado Junio 20, 2016

### Resumen

La generación de biocombustibles a través de residuos agroindustriales es de interés derivado de la necesidad de la sustitución de los combustibles tradicionales y por la búsqueda de fuentes de energía más baratas. En este trabajo se realizó la evaluación de la hidrólisis de *Citrus sinensis* (cáscara de naranja) a diferentes concentraciones de  $H_2SO_4$ . Se estableció como variable de salida la generación de azúcares totales. Se utilizaron 5 gr de cáscara de naranja seca en 100 mL de ácido con distintas concentraciones: 0.1 N, 0.3 N y 0.5 N, se mantuvo a 30 °C y 150 rpm. Se determinó el contenido de azúcares totales en muestras tomadas cada 12, 24, 48 y 72 h de reacción. Los azúcares liberados fueron cuantificados, se encontró como máximo rendimiento de azúcares fermentables de 8 g/L. Posterior al tratamiento, se establecieron nuevas condiciones de hidrólisis con  $H_2SO_4$  0.3N, 30 °C y 150 rpm; se tomaron muestras cada 2 horas para la determinación de azúcares totales, de lo cual se generaron en los ensayos 5g/L de azúcares. Las concentraciones de aceite y la presencia de pectina son factores que reducen la velocidad de hidrólisis, sin embargo se puede fermentar directamente el azúcar obtenido de la hidrólisis sin procesos previos de pretratamiento. Se generó el 16 % de hidrólisis. Con la concentración de azúcar obtenida a partir de la hidrólisis ácida, se realizó una simulación de fermentación utilizando *S. Cerevisiae* ATCC9763 y *S. Cerevisiae* ITD00196, en función de la biomasa, sustrato y el producto calculados mediante las ecuaciones logística, Luedeking – Piret y Pirt para determinar la productividad.

### Cascara-naranja, pretratamiento, desechos-agroindustriales

**Citación:** MEJÍA-TREJO, Ana, BRAVO-LUGO, Jaqueline, VENEGAS-SÁNCHEZ, Josué y JIMÉNEZ-ISLAS, Donaji. Hidrólisis ácida de *citrus sinensis* para la obtención de azúcares fermentables. Revista de Tecnología e Innovación 2016, 3-7: 46-50

### Abstract

The generation of bio-fuels through agroindustrial waste is interesting derived of the need of the substitution of traditional fuels and by the search of sources of energy more cheap. This work focus on the evaluation of the hydrolysis of *Citrus sinensis* (orange peel) at different concentrations of  $H_2SO_4$ . The generation of total sugars was established as output variable. It was used 5 gr of orange peel in 100 mL of acid with different concentrations: 0.1 N, 0.3 N and 0.5 N, maintained at 30°C and 150 rpm. It was determined the content of total sugars in samples, which were taken each 12, 24, 48 and 72 h of reaction. The sugars released were quantified by the phenol-sulfuric acid modified method. The results shows that the maximum yield of fermentable sugars was 8g/L. from the previous results, it conditions of hydrolysis with  $H_2SO_4$  0.3N, 30 °C and 150 rpm; samples were taken every 2 hours for the determination of total sugars, which were generated in test of 5g/L of sugar. The concentrations of oil and the presence of pectin are factors that reduce the speed of hydrolysis, however directly ferment the sugar obtained from the hydrolysis without previous pretreatment processes. It generated the 16% of hydrolysis.

With the concentration of sugar obtained was carry out a simulation of fermentation using *S. Cerevisiae* ATCC9763 and *S. Cerevisiae* ITD00196, in function of biomass, substrate and product by logistic, Luedeking – Piret and Pirt equations for determined the productivity.

### Orange, pre treatment, agro-industrial waste

\*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: djimenez@iteshu.edu.mx)

†Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

Actualmente el incremento de la demanda de energía a nivel mundial y el creciente desarrollo tecnológico ha generado el surgimiento de nuevas fuentes de energía. Los biocombustibles, son una de las alternativas de producción de energía debido a que se obtienen a partir de residuos de origen agroindustrial.

Los diferentes residuos agroindustriales disponibles, son una fuente importante de celulosa y por tanto se pueden considerar como materias primas para la obtención de alcohol combustible luego de ser convertidos en azúcares por medio de procesos de hidrólisis química o enzimática (Fonseca *et al.*, 2006).

Las cáscaras de frutas, consideradas biomasa desvalorizada son una fuente abundante de biomasa lignocelulósica. Los residuos de cáscara de naranja, tiene una estructura compleja que consta de polímeros de carbohidratos como la celulosa (35-50%) y la hemicelulosa (15-25%), además de un polímero fenólico; la lignina (20-25%)(Alvear *et al.*, 2009).

A partir de la celulosa y la hemicelulosa, se pueden obtener unidades monoméricas de glucosa, lo que le confiere un gran potencial a la biomasa ligno-celulósica como materia prima para la producción de glucosa que puede ser aprovechada en diversos usos industriales (Cortes *et al.*, 2013).

Se han estudiado los procesos de hidrólisis para acceder a los azúcares fermentables. Las condiciones de hidrólisis que favorecen la disponibilidad de azúcares fermentables mediante el cambio de propiedades de la lignocelulosa son la temperatura, la agitación, la concentración del sustrato y el pH.

Cada uno de estos factores debe ser evaluado debido a que determinan el porcentaje de azúcar disponible en el proceso fermentativo y beneficiarán el rendimiento neto de etanol (Jiménez *et al.*, 2011).

Por lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la hidrólisis ácida de la cáscara de naranja para generar azúcares fermentables.

## Materiales y métodos

Se utilizó cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) previamente deshidratada la cual fue llevado a tratamiento de reducción de tamaño de 1 mm.

La hidrólisis ácida se llevó a cabo en matraces Erlenmeyer de 250 mL, los cuales contenían 5 g de *Citrus sinensis* y 100 mL de  $H_2SO_4$  en concentración de 0.1, 0.3, 0.5 N. Los matraces se mantuvieron a una temperatura de 30 °C y 150 rpm en un agitador orbital (IKA KS 4000 i control). Después de 24 h se cuantificaron los azúcares totales. Todos los experimentos se llevaron por triplicado.

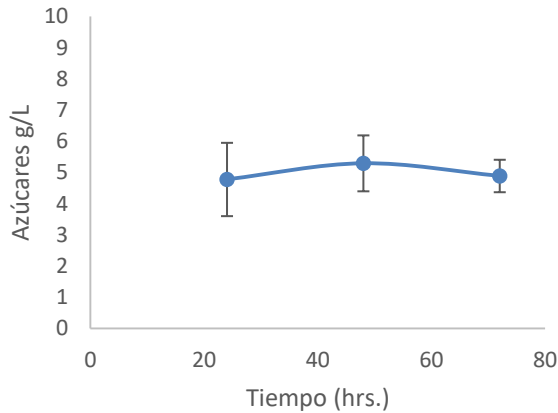
Los azúcares liberados durante el proceso de hidrólisis fueron cuantificados como carbohidratos totales mediante la técnica modificada de fenol-sulfúrico, la cual consiste en adicionar en un tubo de ensayo: 1 mL de muestra (libre de sólidos suspendidos), seguido de 600  $\mu$ L de solución de fenol al 5 % (p/v) y 3.6 mL de  $H_2SO_4$  concentrado (>98 %), homogeneizar y enfriar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Transcurrido el tiempo se leyeron las muestras a 490 nm empleando celdas de cuarzo en un espectrómetro UV (Jenway, 7305 spectrophotometer). Se preparó la curva estándar con sacarosa, ( $R^2= 0.9903$ ) para la cuantificación de azúcares en función de la absorbancia obtenida en las lecturas realizadas por el espectrómetro.

**Modelado**

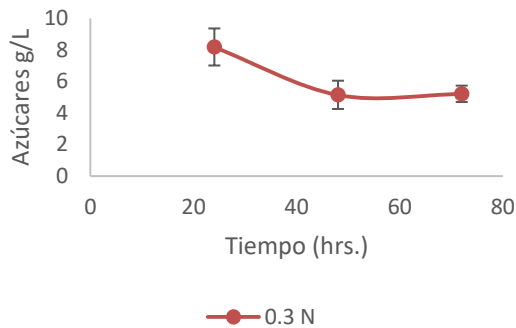
Se utilizaron las ecuaciones logística, Pirt y Luedeking-Piret para determinar las fermentaciones utilizando dos cepas en la producción de etanol (Jiménez *et al*, 2014). Los datos cinéticos reportados por Jiménez *et al* (2014) fueron: i) *S. cerevisiae* ITD00196,  $\mu_{max}= 0.5160$  1/horas,  $X_{max} = 2.70$  g/L,  $Y_{x/s}= 0.075$ ,  $m= 0.40$ . ii) *S. cerevisiae* ATCC9763,  $\mu_{max}= 0.3794$  1/horas,  $X_{max} = 5.31$  g/L,  $Y_{x/s}= 0.074$ ,  $m= 0.095$ .

**Resultados y discusión**

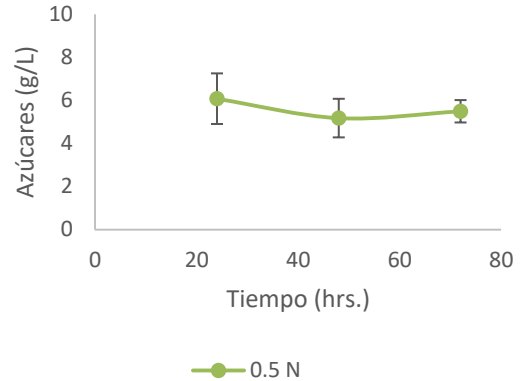
Los resultados de la hidrólisis de cáscara de naranja se observan en los gráficos 1, 2 y 3.



**Gráfico 1** Obtención de azúcares con 0.1 N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>



**Gráfico 2** Obtención de azúcares con 0.3 N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>



**Gráfico 3** Obtención de azúcares a 0.5 N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Se puede observar en las figuras 1, 2 y 3 que la mayor producción de azúcares, es después de 24 h de hidrólisis para las concentraciones estudiadas. El tiempo de reacción del ácido al interior de la matriz del sustrato ocasiona el rompimiento de la estructura y la liberación de azúcares por acción de una baja selectividad del catalizador.

Se han propuesto modelos para describir la hidrólisis, un modelo citado es el que consideran las siguientes etapas durante el pretratamiento: i) la difusión del agua dentro de las partículas de la madera, ii) la reacción de hidrólisis sobre la hemicelulosa, iii) la difusión de los azúcares solubles (productos de la reacción) hacia fuera de las partículas de madera en medio acuoso. Los mecanismos citados pueden estar relacionados en los tratamientos de la hidrólisis de cáscara de naranja (Hosseini *et al.*, 2009)

De la Figura 2, correspondiente a la concentración .3 N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> fue la que mostró la mayor concentración de azúcares (8.17 g/L) seguido de una concentración 0.5 N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con 6.07 g/L de azúcares totales. Así mismo al aumentar el tiempo de hidrólisis la concentración de azúcares disminuye, lo cual a sido reportado por Alvear *et al.* (2009).

Las condiciones de hidrólisis evaluadas buscan obtener azúcares bajo las condiciones de hidrólisis de menor concentración. Se puede establecer que la concentración de 0.3 N es suficiente para generar azúcares, sin embargo se requiere un pretratamiento previo para mejorar las condiciones hidrolíticas en la matriz del sustrato y verificar mediante micrografía el ataque del ácido hacia la matriz porosa.

En el gráfico 4 se muestran los resultados de la medición cada 2 horas de los azúcares totales.

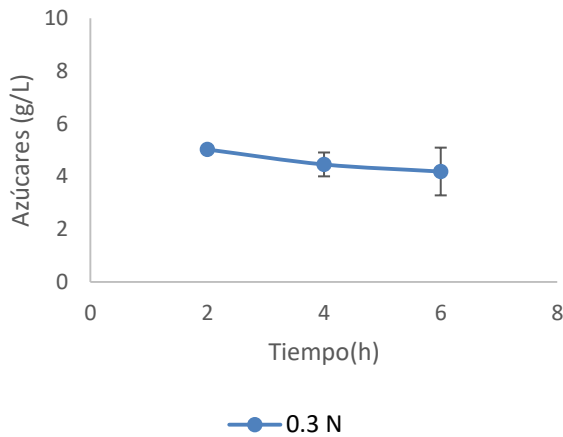


Gráfico 4 Obtención de azúcares 0.3 N con tiempo de muestreo cada 2 horas.

La obtención de azúcares entre 2 y 6 horas no fue vidente, sin embargo se debe considerar que al incrementar el tiempo de reacción se favorece la hidrólisis del ácido hacia la matriz del sustrato.

La generación de azúcares fermentables da opción de obtener etanol a través de la fermentación alcohólica. Se utilizaron 8 g/L para simular la fermentación alcohólica utilizando dos tipos de cepas y condiciones de fermentación reportadas por Jiménez et al, 2014.

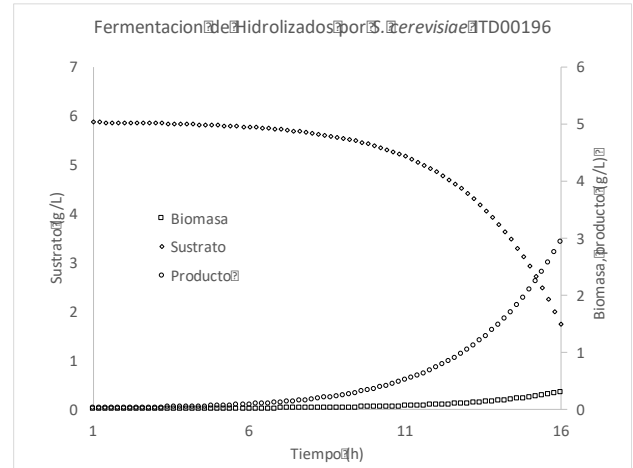


Gráfico 5 Simulación de la fermentación de hidrolizados ITD00196.

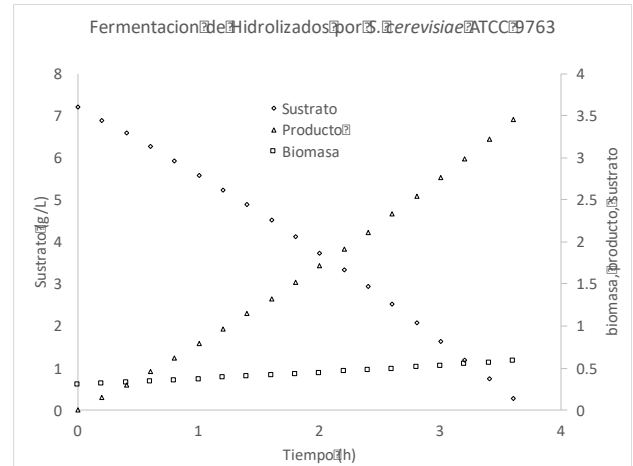


Gráfico 6 Simulación de la fermentación de hidrolizados ATCC 9763.

Las simulaciones se realizaron con dos cepas, se consideró una cepa de origen del mezcal y se comparó con la del ITD00196. Las capacidades fermentativas se ven evidenciadas en su origen y sus condiciones de producción. La cepa del ITD 00196 tiene condiciones de crecimiento ácido, lo que le da ventajas en la fermentación.

Los modelos nos permiten predecir las condiciones de tiempo de reacción y consumo de sustratos, se pueden explorar otras condiciones a través del modelo.

## Conclusiones

Se determinó que con el incremento en los tiempos de reacción la cantidad de azúcares liberados presenta una degradación, además de que a concentraciones por debajo de 0.3 N de ácido sulfúrico se tiene hidrólisis, lo que beneficia el proceso de fermentación.

Los modelos ayudaron a obtener perfiles cinéticos sin necesidad de realizar más experimentos en laboratorio.

## Agradecimiento

Se agradece a CONACYT por otorgar becas a los alumnos a través del proyecto de Programa de fomento de las vocaciones científicas y tecnológicas en niños y jóvenes mexicanos, proyecto C-291045.33/2016.

Al proyecto CONACYT Ciencia básica proyecto 223444.

## Referencias

Fonseca Santillana, E. B., Oviedo, A. M., Vargas, I. J. (2006). Hidrólisis ácida de susstratos residuales agroindustriales colombianos. *Umbral científico*. 8, 5-11.

Alvear, M. R., Castillo, C. R., Henao, D. L., Marimon, W., Tejada, C. N., Tejada, L. P., Villabona, A. (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*. 1, 1-8.

Cortes, W. G., Ibla, J. F., Calderon, L. M., Herrera, A. F. (2013). Cuantificación de azúcares reductoras en las cáscara de naranja y banano. *Journal Technology*. 12, 72-76.

Jiménez Islas D., Abreu Corona A., López y López V. E., Téllez jurado A., Gracida Rodríguez J. N. (2011). Obtención de azúcares fermentables mediante hidrólisis ácida de *Beta vulgaris* L. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 28, 151-158.

Hosseini S. A., Shah N. (2009). Multiscale modeling of biomass pretreatment for biofuels production. *Chem. Eng. Res. Des.* 87, 1251-1260.

Soto O., Favela E., Saucedo G. (2002). Modeling of growth, lactate consumption, and volatile fatty acid production by *Megasphaera elsdenii* cultivated in minimal and complex media. *Biotechnol.* 18, 193-200.

Jiménez I., Páez Lerma, Oscar Soto N., Gracida J. (2014). Modelling of ethanol production from red beet juice by *Saccharomyces cerevisiae* under thermal and acid stress conditions. *Food Technol Biotechnol.* 52, 93-100.