



Pretratamiento ácido de residuos de apio (*Apium Graveolens*)

Acid pretreatment of celery residues (*Apium Graveolens*)

Wilder E. Eufrazio Arias¹, Elías A. Sanabria Pérez²

E-mail: weufrazio@uncp.edu.pe / esanabria@uncp.edu.pe

Cómo citar

Eufrazio Arias, W. E. & Sanabria Pérez, E. A. (2020). *Pretratamiento ácido de residuos de apio (Apium Graveolens)*. *Prospectiva Universitaria, Revista de la UNCP*. 17(1), 119-137. <https://doi.org/10.26490/uncp.prospectivauniversitaria.2020.17.1396>

Resumen

En la investigación se determinó la influencia del tiempo, temperatura y dosis de H₂SO₄ en las características de la celulosa y concentración de glucosa en el pretratamiento ácido de los residuos de apio, de tal manera que, al ser pretratados tenga las mejores condiciones para la hidrólisis y posterior fermentación, obteniéndose como producto final etanol. La parte experimental consistió en coleccionar y preparar los residuos de apio, preparar el reactivo DNS y elaborar la curva de calibración de la glucosa, la cual sirve para determinar la concentración de azúcares reductores, realizar el pretratamiento ácido a 25 g de residuos en cada experimento y determinar la morfología de la celulosa con el microscopio de barrido electrónico (SEM) Mira 3 Tescan. Las variables que se evaluaron son la concentración del H₂SO₄ (0.1 %, 2.5 % y 4.0 %), temperatura (60, 70 y 80 °C) y tiempo (2, 3 y 4 horas), siguiéndose los parámetros las experimentaciones del diseño experimental. De las pruebas iniciales, los niveles bajos de las variables son las mejores condiciones del pretratamiento ácido por la morfología que presentan que concuerdan con lo indicado en la literatura, con ello la producción de glucosa en la hidrólisis será mayor y etanol en la fermentación.

Palabras clave: residuos de apio, pretratamiento ácido, celulosa, desechos orgánicos, biocombustible, biomasa

Abstract

The research determined the influence of time, temperature and dose of H₂SO₄ on the characteristics of cellulose and glucose concentration in the acid pretreatment of celery waste, so that, when pretreated, it has the best conditions for hydrolysis and subsequent fermentation, obtaining it as a final product ethanol. The experimental part consisted of collecting and preparing celery residues, preparing the DNS reagent and drawing up the glucose calibration curve, which is used to determine the concentration of reducing sugars, performing acid pretreatment to 25 g of residues in each experiment and determining the morphology of cellulose with the scanning electron microscope (SEM) Mira 3 Tescan. The variables that were evaluated were the H₂SO₄ concentration (0.1 %, 2.5 % and 4.0 %), temperature (60, 70 and 80 °C) and time (2, 3 and 4 hours), the parameters being followed by the experimental design experiments. From the initial tests, the low levels of the variables are the best conditions of acid pretreatment due to the morphology they present that are consistent with what is indicated in the literature, with which the production of glucose during hydrolysis will be higher and ethanol in fermentation.

Keywords: celery residues, acid pretreatment, cellulose, organic waste, biofuel, biomass

¹Docente de la Facultad de Ingeniería Química - UNCP

Introducción

Los desechos de alimentos que se descargan de restaurantes, plantas de producción de alimentos y cocinas domésticas constituyen una proporción considerable de los desechos sólidos municipales (RSU) en todo el mundo. Los desechos provenientes del Comedor Universitario de la UNCP son principalmente de origen orgánico, debido a la mínima presencia de materiales como papeles, plásticos y vidrios; el porcentaje de residuos de vegetales, como frutas, papa y otros son 69 %, 13 % y 18 %, respectivamente; de los vegetales, el apio es uno de los mayores, representando el 12.29 %.

Estos desechos o residuos son sólidos orgánicos que consisten principalmente de hidratos de carbono, ya sea en forma soluble o polimérico (almidón, celulosa, hemicelulosa) y otros compuestos orgánicos (proteínas, lípidos, ácidos, etc.); todo ello, representa una alternativa y fuente valiosa susceptibles a la fermentación de azúcares y, luego, en productos valiosos, como los biocombustibles gaseosos y líquidos (Li et al., 2007; Ruggeri y Tommasi, 2012)

La producción de etanol de segunda generación requiere el pretratamiento, hidrólisis enzimática y fermentación para maximizar la conversión y aprovechamiento de polímeros con alto contenido de carbohidratos como almidón (más del 40 %), proteínas (4 - 5 %), celulosa (2 - 3 %) y azúcares totales (más del 50 %) presentes en los desechos en azúcares simples o monosacáridos, y; finalmente, en etanol. La limitante de su implementación a escala real es el aspecto económico por los costos elevados asociados al procesamiento de la biomasa lignocelulosa en el pretratamiento e hidrólisis enzimática y requerimiento energético.

Entre los diferentes biocombustibles, el bioetanol se ha utilizado ampliamente como combustible alternativo para reducir emisiones de CO₂, también se puede utilizar en el sector del automóvil como potenciador del octano en la gasolina sin plomo en lugar del metil-tercio-butilo éter (MTBE), compuesto oxigenado para la combustión limpia de gasolina y transportador de energía renovable para sustituir parcialmente el petróleo y aumentar la seguridad del suministro.

El pretratamiento de los desechos de alimentos con ácido sulfúrico diluido presenta diversas ventajas, como incrementar las velocidades de reacción, bajo costo y consumo de ácido, y no requerir sistemas de recuperación de ácido en grandes escalas de producción. Adicionalmente, al emplear este pretratamiento con alta concentración de sólidos es posible remover la xilosa constitutiva de la hemicelulosa presente en una mayor cantidad de biomasa lignocelulósica por lote incrementando la digestibilidad de la misma, facilitando así, la degradación de celulosa a glucosa por parte de las enzimas presentes durante la hidrólisis enzimática.

Marco teórico

Teoría básica

Residuos Sólidos Municipales a Bioenergía

El tamaño de la población humana es una de las preocupaciones ambientales más problemáticas. Se estima la población mundial en 7 182 millones y se espera que alcance entre 8 300 y 10 900 millones para el año 2050. Entre los siete continentes, Asia es el más poblado, con sus 4 300 millones de habitantes, representando el 60 % de la población mundial. Por el contrario, la urbanización de la población aumenta continuamente, de 3 400 millones en 2009 a 3 900 millones en 2014 (54 % de la población mundial) y casi se duplicará en el 2050; es decir, 6 400 millones (66 % de la población mundial); causando las crecientes presiones sobre el medio ambiente, los suministros mundiales de alimentos y los recursos energéticos (UNDESA, 2014).

Evidentemente, a partir de los problemas mencionados de la población urbana, el mundo ha experimentado un crecimiento urbano sin precedentes en las últimas décadas. En el año 2008, por primera vez, la población mundial se dividió equitativamente entre las zonas urbanas y rurales. Cerca de 400 ciudades con estadísticas de población superaron los 10 millones en 19 ciudades. El porcentaje de urbanización en las naciones desarrolladas fue de aproximadamente el 74 %; mientras que, el 44 % en los países menos desarrollados. Sin embargo, se observó una rápida urbanización en muchos países menos desarrollados (UNDESA, 2010). En la actualidad, la mayoría de las regiones urbanizadas del mundo incluyen América del Norte con un 82 % de habitantes urbanos, el Caribe y América Latina con un 80 % y Europa con un 73 %. En el caso de África y Asia, los habitantes urbanos representan el 40 % y el 48 %, respectivamente. Asia, a pesar de su menor nivel de urbanización, representa el 53 % de la población urbana global total, seguida de Europa (14 %) y América Latina (13 %). India alberga el 17.5 % de la población mundial y representa el 30% de la población urbana mundial junto con China. A un ritmo reciente, se estima que el crecimiento demográfico y la urbanización sumarán 2500 millones de personas a la población urbana global total para el año 2050 (UNDESA, 2014).

Como consecuencia del aumento poblacional, el crecimiento económico y la mejora de los estándares de vida desde las últimas tres décadas, la cantidad y complejidad total de RSU aumenta continuamente. En la última década, a nivel mundial, hubo 2.9 millones de residentes urbanos que generaron alrededor de 0.64 kg de RSU por persona por día (0,68 millones de toneladas por año). Los niveles actuales de generación mundial de RSU son de aproximadamente 1.3

billones de toneladas por año (1.2 kg por persona por día), y se espera que aumenten a aproximadamente 2.2 billones de toneladas por año (1.42 kg/cápita/día) para 2025. Esto representa un aumento significativo en tasas de generación de desechos per cápita, de 1.2 a 1.42 kg por persona por día en los próximos 15 años (Shaoli y Biswajit, 2016). Las ciudades de los países más ricos, como las de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (34 países de la región de Asia y el Pacífico, Europa, América del Norte, incluidos Canadá, México, Estados Unidos y América del Sur), descartan aproximadamente la mitad de residuos urbanos del mundo (un promedio de 2.2 kg per cápita por día). Por el contrario, las regiones de Asia oriental, África y Asia meridional tienen las tasas de generación per cápita más bajas en promedios de 0.95, 0.65 y 0.45 kg por día, respectivamente (Daniel et al., 2013). Sin embargo, la contribución de los Estados Unidos para la generación mundial de RSU es de 251 millones de toneladas (2012). La Unión Europea genera alrededor de 251,6 kton o 500 kg per cápita por año (EUROSTAT, 2011) y la generación anual de residuos en Asia Oriental y la región del Pacífico es de aproximadamente 270 millones de toneladas por año. Es probable que el África subsahariana aumente la tasa diaria de producción de desechos en hasta 1.0 kg per cápita, ya que se estima que para el año 2020, más del 50 % de la población vivirá en las ciudades.

En el caso de India, la generación de RSU es de aproximadamente 68.8 millones de toneladas, de las cuales 366 ciudades, que son el 70 % de la población urbana, generan 47.2 millones de toneladas; esto es un aumento del 50 % en la tasa de producción de RSU en una década. Por lo tanto, proyectando la generación de RSU para el 2041, estas ciudades indias generarán 161 millones de toneladas de RSU; es decir, un aumento de cinco veces en cuatro décadas. A este ritmo, el MSW urbano total generado en 2041 sería de 230 millones de TPD (630000 TPD) (Annepu, 2012; Shaikh et al., 2018). En consecuencia, cada año se producen millones de toneladas de residuos sólidos que deben eliminarse (Chowdhary et al., 2018; Bharagava & Mishra, 2018).

Según el estado físico, los desechos se pueden clasificar principalmente en desechos sólidos, líquidos y gaseosos. Los desechos sólidos se clasifican en desechos municipales, desechos peligrosos, desechos médicos y desechos radiactivos. El RSU se define como cualquier residuo generado por actividades domésticas, comerciales o institucionales y, por lo general, no es peligroso (Mani & Bharagava, 2016; Kumari et al., 2016; Goutam et al., 2018). La composición porcentual de los componentes de MSW se basa particularmente en el crecimiento económico y

el estado de ingresos de un país en particular. También está influenciado por otros factores, como el nivel de desarrollo económico, las normas culturales, la ubicación geográfica, las fuentes de energía y el clima. En países de bajos y medianos ingresos, el estilo de vida de las personas caracteriza decisivamente la composición porcentual en la que los desechos orgánicos fluyen y sobrecargan del 40 % al 85 % del total de RSU generados. Esto es lo opuesto en los países de altos ingresos, donde el estilo de vida favorece la cocina casera y se basa principalmente en la comida preparada y empacada. Por lo tanto, la fracción principal de sus RSU son los materiales inorgánicos como papel, plástico, vidrio y metal (UNDESA, 2014). Diferencias recientes en la composición porcentual de RSM entre países de altos ingresos (desarrollados y algunos en desarrollo), países de ingresos medios (la mayoría en desarrollo) y países de bajos ingresos (países menos desarrollados), donde los desechos orgánicos comprenden la mayoría de los RSM aparte del papel, metal, otros desechos, plástico y vidrio (Boudh & Singh, 2017; Singh & Seneviratne, 2017a, b). Los desechos orgánicos representan una fracción mayor en el caso de la región de Asia oriental y el Pacífico en comparación con los países de la OCDE, que tienen el 27 % de desechos como mínimo. Sin embargo, en el caso de los países de la OCDE, la cantidad de papel, vidrio y metales es la más alta en los RSU (32 %, 7 % y 6 %, respectivamente) pero la más baja en el caso de la región del sur de Asia (4 %, 1 % y 1 %, respectivamente) (Daniel et al., 2013). En India, se descubrió que la fracción orgánica representaba entre el 40 % y el 60 % de los RSU (Beevi et al., 2015) y el porcentaje de desechos reciclables era del 15 % al 25 % de los RSU. Sin embargo, el porcentaje real de materiales reciclables descartados, se desconoce porque la recolección informal de desechos, generalmente, no se considera.

Biorrefinería puede indicar el uso de desechos para obtener bioenergía, biocombustibles, materiales y bioproductos (por ejemplo, ácidos fenólicos, aminoácidos, aceites y alcaloides). Aunque la bioenergía no se valoriza demasiado que los bioproductos, la gran cantidad producida favorece la implementación de tecnologías para generar energía a partir de residuos.

Desechos de alimentos

El desecho de alimentos, según lo definido por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y ampliamente aceptado, se refiere a la pérdida de alimentos que tiene lugar hacia el final de la cadena alimentaria asociada con los comportamientos de los consumidores y minoristas (Parfitt et al., 2010). El desperdicio de alimentos representa una amenaza importante para la economía mundial, por no existir un plan claro para separarlo del desperdicio convencional. Además, la recolección

inadecuada de desperdicio de alimentos empeora las cosas, debido a que estos enfoques a menudo conducen a la emisión incontrolada de GEI por digestión anaeróbica. El desperdicio de alimentos tiene un impacto catastrófico para la sociedad. La cantidad de desperdicio de alimentos está aumentando rápidamente debido al alto crecimiento de la población mundial, particularmente en los países asiáticos. La cantidad anual de residuos urbanos de alimentos generados en los países asiáticos aumentará de 278 a 416 millones de toneladas entre los años 2005 y 2025. El estudio más reciente realizado por Economist Intelligence Unit empleó un índice de sostenibilidad alimentaria (FSI) para clasificar a 34 países seleccionados entre los de ingresos bajos a altos (Sostenibilidad alimentaria y nutricional). El FSI se basa en componentes de pérdida y desperdicio de alimentos (FLW) que evalúan la sostenibilidad de los alimentos y la calidad de las políticas de los países hacia FLW.

Según los informes de FSI 2017, Australia es el mayor productor de desperdicio de alimentos per cápita (361 kg) seguido de los Estados Unidos (287 kg) y Suecia (200 kg). Grecia y China son los productores más bajos de desechos per cápita (44 kg) e India y Rusia ocupan el tercer y cuarto lugar con 51 y 56 kg, respectivamente.

Según el informe FSI 2018, el máximo desperdicio de alimentos se genera en América del Norte, seguido de la región de Asia Oriental y el Pacífico, mientras que es el mínimo en Oriente Medio y África del Norte (MENA). En otro informe del Consejo de Defensa de Recursos Naturales, Inc., el 40 % de los alimentos no se comen en los Estados Unidos, mientras que en Asia, India y China pierden 1300 millones de toneladas de alimentos por desperdicio cada año (Business Economics).

Composición del material lignocelulósico

Se generan grandes cantidades de materiales lignocelulósicos como subproductos de desecho de las prácticas agrícolas y forestales, la producción de pulpa y papel, las operaciones madereras y muchos procesos agrícolas (Pérez et al., 2002). Grandes cantidades de residuos de biomasa lignocelulósica pueden potencialmente convertirse en una gran variedad de productos de valor agregado, incluidos químicos, biocombustibles, compuestos poliméricos, productos de pulpa y papel, alimentos para animales, textiles y productos agrícolas (Iqbal, Kyazze & Keshavarz, 2012).

El material lignocelulósico consiste principalmente en tres tipos diferentes de polímeros, a saber, celulosa, hemicelulosa y lignina, que están asociados entre sí (Fengel & Wegener, 1984).

La lignocelulosa es una clase de biomasa que comprende tres componentes principales: celulosa, hemicelulosa y lignina.

Una biomasa lignocelulósica típica consta de 50 % de celulosa, 25 % de hemicelulosa, 20 % de lignina y 5 % de otros componentes menores (Guo et al., 2012).

Celulosa

Existe celulosa de subunidades D-glucosa, unidas por enlaces glucosídicos β -1,4 (Fengel & Wegener, 1984). La celulosa en una planta consiste en partes con una estructura cristalina (organizada) y partes con una estructura amorfa, no bien organizada. Las cepas de celulosa se agrupan y forman las llamadas fibrillas de celulosa o haces de celulosa. Estas fibrillas de celulosa son en su mayoría independientes y se unen débilmente a través de enlaces de hidrógeno (Laureano-Perez et al., 2005).

La celulosa es un polímero insoluble en agua compuesto de glucosa unida por enlaces β -1,4-glicosídicos. La celulosa forma estructuras cristalinas robustas debido a los enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares. La naturaleza de los enlaces β -1,4-glicosídicos entre las moléculas de glucosa permite que el polímero se organice en largas cadenas rectas. Esta disposición, junto con la distribución uniforme de los hidróxidos a ambos lados de los monómeros, permite que se formen enlaces de hidrógeno entre las moléculas de celulosa, lo que a su vez da como resultado un compuesto formado por varias cadenas paralelas unidas entre sí (Faulon, Carlson & Hatcher, 1994). La celulosa es insoluble en agua, pero absorbe entre el 8 % y el 14 % del agua en condiciones atmosféricas normales (Harmsen et al., 2010; Guo et al., 2012). Si bien su estructura proporciona estabilidad tanto mecánica como química, la celulosa está además protegida de la degradación por su proximidad a una vaina de polímeros de matriz que incluyen lignina y hemicelulosas.

Hemicelulosa

La hemicelulosa es una estructura compleja de carbohidratos que consta de diferentes polímeros como pentosas (xilosa y arabinosa), hexosas (manosa, glucosa y galactosa) y ácidos de azúcar. El componente dominante de la hemicelulosa de la madera dura y las plantas agrícolas, como los pastos y la paja, es el xilano, mientras que este es el glucomanano para la madera blanda (Fengel & Wegener, 1984; Saha, 2003).

La hemicelulosa tiene un peso molecular más bajo que la celulosa, y ramas con cadenas laterales cortas que consisten en diferentes azúcares, que son polímeros fácilmente hidrolizables (Fengel y Wegener, 1984). La hemicelulosa sirve como una conexión entre la lignina y las fibras de celulosa y le da a toda la red de celulosa-hemicelulosa-perder-lignina más rigidez (Laureano-Perez et al., 2005). La solubilidad

de los diferentes compuestos de hemicelulosa es en orden descendente: manosa, xilosa, glucosa, arabinosa y galactosa. La solubilidad aumenta con el aumento de la temperatura. No se pudo predecir la solubilidad de los polímeros de mayor peso molecular debido a los puntos de fusión desconocidos (Gray et al., 2003). La solubilización de los compuestos de hemicelulosa en el agua comienza alrededor de 180 °C en condiciones neutras según Bobleter (1994); sin embargo, Garrote et al. (1999) mencionan que ya a partir de 150 °C, partes de la hemicelulosa se solubilizan. La solubilización de los componentes de la lignocelulosa no solo depende de la temperatura, sino también de otros aspectos, como el contenido de humedad y el pH (Fengel & Wegener, 1984).

El xilano de hemicelulosa se puede extraer bastante bien en un ambiente ácido o alcalino, mientras que el glucomanano apenas se puede extraer en un ambiente ácido y necesita un ambiente alcalino más fuerte que el xilano para ser extraído (Balaban & Ucar, 1999; Fengel & Wegener, 1984; Lawther et al., 1996b). Xylan parece ser la parte que se puede extraer más fácilmente. De la celulosa, la hemicelulosa y la lignina, las hemicelulosas son las más sensibles química y térmicamente (Levan et al., 1990; Winandy, 1995). Durante el pretratamiento térmico-químico, en primer lugar, reaccionan los grupos laterales de hemicelulosa, seguidos del esqueleto de hemicelulosa (Sweet & Winandy, 1999).

La hemicelulosa es un heteropolisacárido bidimensional compuesto por pentosas y hexosas con conexiones laterales ramificadas cortas (Guo et al., 2012; Liu, 2010). La hemicelulosa contiene diferentes monómeros de azúcar, como xilosa, manosa, galactosa, glucosa, ramnosa y arabinosa. La xilosa es el monómero de azúcar predominante que se encuentra en la hemicelulosa. El xilano se ha descrito como el tipo más común de polímeros pertenecientes a la familia de polisacáridos de la hemicelulosa (Harmsen et al., 2010). La hemicelulosa también contiene grupos acetilo unidos a la cadena del polímero. La composición y estructura de la hemicelulosa varían según la fuente y el método utilizado para la extracción. En relación con la celulosa, las hemicelulosas tienen pesos moleculares más bajos y un grado de polimerización más bajo, por lo que se descomponen más fácilmente y son solubles en soluciones alcalinas.

Lignina

La lignina es, después de la celulosa y la hemicelulosa, uno de los polímeros más abundantes en la naturaleza y está presente en la pared celular. Es un heteropolímero amorfo que consta de tres unidades diferentes de fenilpropano (p-coumaryl, coniferyl y sinapyl alcohol) que se mantienen unidos por diferentes tipos de enlaces. El objetivo principal de la

lignina es proporcionar a la planta soporte estructural, impermeabilidad y resistencia contra el ataque microbiano y el estrés oxidativo. El heteropolímero amorfo también es no soluble en agua y ópticamente inactivo; todo esto hace que la degradación de la lignina sea muy dura (Fengel y Wegener, 1984). La lignina, al igual que la hemicelulosa, normalmente comienza a disolverse en agua alrededor de 180 °C en condiciones neutras (Bobleter, 1994). Sin embargo, la solubilidad de la lignina en ambientes ácidos, neutros o alcalinos depende del precursor (p-cumarilo, coniferilo, alcohol sinapílico o combinaciones de ellos) de la lignina (Grabber, 2005).

La lignina es un polímero tridimensional amorfo que tiene unidades de fenilpropano como bloques de construcción principales. Las unidades de fenilpropano forman una estructura aromática compleja y reticulada (Harmsen et al., 2010; Guo et al., 2012). Las unidades fenilpropanoides son principalmente alcoholes fenilpropileno metoxilados conectados por varios tipos de enlaces que incluyen enlaces carbonoxicarbonos o éter (β -0-4 y α -0-4) y carbonocarbonos (CC), siendo los enlaces interunitarios β -0-4 el más abundante en lignina (Guo et al., 2012; Liu, 2010). Los alcoholes que se encuentran con mayor frecuencia en la lignina son el alcohol p-cumarílico, el alcohol de coniferilo y el alcohol sinapílico (Harmsen et al., 2010). La lignina es insoluble en agua y tiene un peso molecular elevado. Tiene un contenido energético más alto que la celulosa o las hemicelulosas y contiene grupos altamente reactivos (Varanasi, 2013). La estructura de anillo aromático de la lignina proporciona fuentes funcionales distintivas cuando se despolimeriza (Liu, 2010). La lignina está unida químicamente a la celulosa y la hemicelulosa en su estado original, donde funciona como un material de refuerzo al ayudar a resistir las fuerzas de compresión (Bjerrre & Schmidt, 1997).

Valorización de desechos de alimentos

Como consecuencia del procesamiento de materias primas, la producción de residuos (específicos del producto o no del producto) es un resultado inevitable, así como los productos finales deseados. Cuando se discute la industria alimentaria, la variedad de desechos tales como desechos de frutas y verduras, desechos de procesamiento de carne y pescado, desechos acuosos como suero, aguas residuales de la industria, etc. pueden evaluarse como una ventaja o desventaja de acuerdo con los objetivos. La gestión de residuos es un problema inevitable para la mayoría de las industrias en términos del mundo actual que tiene que proteger el medio ambiente y la sostenibilidad de la producción simultáneamente. Los responsables políticos no pueden ignorar la considerable contribución de la industria alimentaria al cambio climático, que es un problema muy grave para toda la humanidad.

Las emisiones de GEI de la cadena de suministro de alimentos se producen durante todas las etapas de la producción y el consumo de alimentos. Además, para los países desarrollados, la cadena de suministro de alimentos contribuye entre el 15 % y el 28 % a las emisiones nacionales generales, mientras que el 31 % del impacto total de GEI para la UE-25 aumenta a partir de los alimentos según un análisis para Europa (Garnett, 2011). Para la industria alimentaria, todos los participantes deben tener en cuenta esta responsabilidad inevitable durante la cadena de suministro de alimentos. En los últimos años, esta preocupación se convirtió en una importante fuerza impulsora para reducir el volumen de desperdicio de alimentos, así como evaluarlo como materia prima renovable para la producción de energía y productos químicos. Excepto los subproductos derivados de animales, el desperdicio de alimentos implica una cantidad considerable de material lignocelulósico que hace posible su uso para los biocombustibles. Además, varias técnicas de procesamiento, especialmente la extracción, encuentran una gran escala de utilización para la producción de compuestos bioactivos, nutraceuticos y fitoquímicos como fuente renovable, no solo para la industria alimentaria, sino también para la industria farmacéutica y cosmética. Pero, las implementaciones necesarias deben ponerse en práctica después de una evaluación exhaustiva debido al carácter específico de los desechos de alimentos. Como resultado de una gran cantidad de material orgánico, el manejo de los desechos alimentarios debe enfocarse en ciertas dificultades, como el alto contenido de agua, la estabilidad biológica frágil, la oxidación, la actividad enzimática y similares (Russ & Meyer-Pittroff, 2004).

A lo largo de la literatura sobre gestión de residuos, actual o las prácticas tradicionales de valorización de residuos se conocen como vertederos, piensos, suministro de fertilizantes, compostaje, incineración y digestión anaeróbica (Lin et al., 2013). Si bien los vertederos y la incineración son las opciones menos deseables para los legisladores y las legislaciones actuales sobre gestión de residuos, la digestión anaeróbica es uno de los métodos de tratamiento de residuos que pueden utilizarse para la producción de calor, energía y también biofertilizantes de plantas y animales, desechos alimentarios derivados; además, el compostaje es una técnica ampliamente utilizada para el tratamiento de desechos municipales de restaurantes, comedores, cocinas, etc.

Aunque las estrategias básicas de valorización son generalmente aceptadas en todo el mundo y encuentran una amplia gama de aplicaciones en general, su capacidad de recuperación y su efectividad para crear valor a partir de los desechos siguen siendo bastante limitadas. El desperdicio de alimentos que se gene-

ra en grandes cantidades todos los días, la creciente necesidad de productos químicos, materiales y combustibles para ofrecer un futuro sostenible, y las preocupaciones ambientales que se fortalecen día a día en nuestra sociedad son los principales factores indicativos a tener en cuenta.

Prácticas para estrategias más avanzadas en los últimos años. Menos emisiones de gases de los vertederos, menos competencia por los combustibles, menos conflictos éticos en el caso del uso de cultivos no alimentarios, más suministro de alimentos, más conservación de los recursos naturales, más rutas de ahorro de costos para el excedente y más inversiones específicas para nuevas tecnologías son algunos de los beneficios que pueden surgir de una estrategia efectiva de gestión de residuos. Para ese propósito, las estrategias de conversión química, bioquímica y termoquímica, las tecnologías de extracción, fermentación y enzimas son las principales rutas seguidas por los investigadores y productores de alimentos. Además, el concepto de biorrefinería, como un enfoque de subdesarrollo en la gestión de residuos, ofrece oportunidades notables para valorizar la biomasa al convertirla en una amplia gama de productos químicos y combustibles.

La siguiente sección describe las estrategias de valorización básicas y avanzadas para un enfoque de gestión de residuos sostenible y eficiente para la industria alimentaria.

Biomasa

La biomasa es el detrito o restos de material biológico vivo y recientemente muerto que puede usarse como combustible o para la producción industrial. La biomasa también se refiere a (i) cultivos energéticos que se cultivan específicamente para ser utilizados como combustible, como árboles de crecimiento rápido o hierba de cambio; (ii) residuos agrícolas y subproductos, como paja, fibra de caña de azúcar y cascotes de arroz, y; (iii) residuos de la silvicultura, la construcción y otras industrias de procesamiento de madera. La biomasa es una fuente de energía renovable a diferencia de otros recursos como el petróleo crudo, el gas natural, la arena de alquitrán, el carbón y el esquisto bituminoso que pueden agotarse con el tiempo y pueden tener hasta 50 años de uso a las tasas actuales de agotamiento de estos recursos (Speight & Islam, 2016). Los productos agrícolas específicamente cultivados para la producción de biocombustibles incluyen cultivos como el maíz, la soja, la colza, el trigo, la remolacha azucarera, la caña de azúcar, el aceite de palma y el aceite de jatropha, así como la madera.

El biocombustible se deriva de la biomasa y tiene el potencial de producir combustibles que son hidrocarburos por naturaleza o son más benignos para el medio ambiente que los combustibles a base de petróleo cru-

do; además, el etanol, un alcohol combustible basado en cultivos, agrega oxígeno a la gasolina, ayudando así a mejorar el rendimiento del vehículo y reducir la contaminación del aire. El biodiesel, una alternativa o aditivo al petróleo crudo diésel, es un recurso renovable no tóxico creado a partir de la soya u otros cultivos oleaginosos (Metzger, 2006; Speight, 2011c).

A diferencia de otras formas de energía renovable, los biocombustibles no reducen la cantidad de gases de efecto invernadero en la atmósfera. La combustión de biocombustibles produce dióxido de carbono y otros gases de efecto invernadero. A menudo se considera que el carbono en los biocombustibles se extrajo recientemente del dióxido de carbono atmosférico durante las reacciones de fotosíntesis que ocurren dentro de las plantas a medida que crecen. El potencial para que los biocombustibles se consideren neutros en carbono depende del carbono que se emite y se reutiliza por un mayor crecimiento de la planta. Claramente, sin embargo, la tala de árboles en bosques que han crecido durante cientos o miles de años para su uso como biocombustible sin el reemplazo de esta biomasa no tendría un efecto neutral en carbono. La producción de biocombustibles para reemplazar el petróleo y el gas natural como fuentes de derivados de hidrocarburos y combustibles de hidrocarburos está en desarrollo activo, centrándose en el uso de materia orgánica barata (generalmente celulosa, residuos agrícolas y de aguas residuales) en la producción eficiente de líquidos y gases biocombustibles que producen alta energía neta. Una ventaja del biocombustible sobre la mayoría de los otros tipos de combustible es que es biodegradable y, por lo tanto, relativamente inofensivo para el medio ambiente si se derrama.

El suministro de petróleo crudo, la materia prima básica para las refinerías y para la industria petroquímica, es limitado y su posición dominante se volverá insostenible a medida que los problemas de oferta/demanda erosionen su ventaja económica sobre otras materias primas alternativas. Esta situación se mitigará en cierta medida mediante la explotación de recursos fósiles más desafiantes técnicamente y la introducción de nuevas tecnologías para la producción de combustibles y productos químicos a partir del gas natural y el carbón.

Sin embargo, el uso de recursos fósiles a las tasas actuales tendrá consecuencias graves e irreversibles para el clima global. En consecuencia, existe un renovado interés en la utilización de materia vegetal, como materia prima para la industria química. Las plantas acumulan carbono de la atmósfera a través de la fotosíntesis y la utilización generalizada de estos materiales como insumos básicos para la generación de energía, combustibles y productos químicos es una ruta viable para reducir las emisiones de gases de efecto invernadero.

Por lo tanto, las industrias de petróleo crudo y petroquímica se ven sometidas a una presión creciente no solo para competir eficazmente con los competidores mundiales utilizando materias primas de hidrocarburos más ventajosas, sino también, para garantizar que sus procesos y productos cumplan con una legislación medioambiental cada vez más estricta. La producción de productos químicos a partir de piensos renovables, basados en plantas que utilizan tecnologías de conversión de última generación, presenta una oportunidad para mantener una ventaja competitiva y contribuir al logro de los objetivos ambientales nacionales (Metzger, 2006). Las rutas de bioprocesamiento tienen una serie de ventajas convincentes sobre la producción petroquímica convencional; sin embargo, solo en la última década el rápido progreso en biotecnología ha facilitado la comercialización de una serie de procesos químicos basados en plantas. Es ampliamente reconocido que la producción significativa de productos químicos a base de plantas solo será económicamente viable en complejos de producción altamente integrados y eficientes que producen una amplia gama de productos químicos. Este concepto de biorrefinería es análogo a las refinerías de petróleo convencionales y los complejos petroquímicos que han evolucionado durante muchos años para maximizar las sinergias de procesos, la integración energética y la utilización de materias primas para reducir los costos de producción.

La reducción de la dependencia nacional de cualquier país del petróleo crudo importado es de importancia crítica para la seguridad a largo plazo y el crecimiento económico continuo. Complementar el consumo de petróleo crudo con recursos de biomasa renovables es un primer paso hacia este objetivo. La realineación de la industria química de una de refinación petroquímica a un concepto de biorrefinería es, con el tiempo, factible y se ha convertido en un objetivo nacional de muchos países importadores de petróleo. Sin embargo, son necesarios objetivos claramente definidos para aumentar el uso de piensos derivados de biomasa en la producción química industrial y es importante mantener el objetivo en perspectiva. En este contexto, el uso creciente de biocombustibles debe considerarse como una de una gama de posibles medidas para lograr la autosuficiencia energética, en lugar de una panacea (Crocker y Crofcheck, 2006).

No obstante, para muchos cultivos de alimentos básicos, un recurso económico potencialmente grande se está desperdiciando efectivamente; por ejemplo, la paja asociada con el cultivo de trigo a menudo vuelve a arar en el suelo, aunque solo se necesita una pequeña proporción para mantener el nivel de materia orgánica. Por lo tanto, un enorme recurso renovable no está siendo explotado de manera útil, ya que la

paja de trigo contiene una gama de productos químicos potencialmente útiles. Estos incluyen: (i) celulosa y compuestos relacionados que se pueden usar para la producción de papel y/o bioetanol; (ii) compuestos de sílice que se pueden usar como materiales de filtro como los necesarios para la purificación del agua, y; (iii) lípidos en cadena que pueden usarse en cosméticos o para otros productos químicos especiales.

La biomasa es un material derivado de las plantas (Wright et al., 2006) y hay muchos tipos de recursos de biomasa actualmente utilizados y potencialmente disponibles. Biomasa es un término utilizado para describir cualquier material de origen biológico reciente, incluidos materiales vegetales como árboles, pastos, cultivos agrícolas e incluso estiércol animal. Otros componentes de la biomasa, que generalmente están presentes en cantidades menores, incluyen triglicéridos, esteroides, alcaloides, resinas, terpenos, terpenoides y ceras. Esto incluye todo, desde fuentes primarias de cultivos y residuos cosechados/recolectados directamente de la tierra hasta fuentes secundarias, como residuos de aserraderos, hasta fuentes terciarias de residuos posteriores al consumo que a menudo terminan en vertederos. Una cuarta fuente, aunque no suele clasificarse como tal, incluye los gases que resultan de la digestión anaeróbica de animales o materiales orgánicos en los vertederos (Wright et al., 2006).

La biomasa lignocelulósica comprende principalmente celulosa, hemicelulosa y lignina. Las altas cantidades de azúcares presentes en las fracciones de celulosa y hemicelulosa se pueden hidrolizar y convertir en biocombustibles mediante un proceso de fermentación. Por el contrario, la estructura recalcitrante de la lignina es difícil de romper, y un paso de pretratamiento es esencial para mejorar su digestibilidad y aumentar la liberación de azúcares fermentables.

Procesos de conversión de biomasa.

El desarrollo de métodos para el uso de materiales de biomasa para producir energía se está expandiendo rápidamente. La mayoría de los países desarrollados tienen dificultades para ponerse al día debido a las siguientes razones:

- La tecnología está más allá de su mano de obra y también de sus capacidades tecnológicas y de fabricación.
- Los materiales y piezas locales no están disponibles para la producción de estas unidades de conversión.

Hay muchos factores que afectan la selección del proceso de conversión.

Es la forma en que se necesita la energía lo que determina la ruta del proceso, seguido de los tipos de biomasa disponibles y también las cantidades de biomasa.

Se pueden producir tres productos principales a partir de biomasa. Estos son combustibles de generación/calor y transporte y como sustrato para productos químicos. La conversión de biomasa en energía se realiza mediante el uso de las siguientes tecnologías. Cada tipo es adecuado para tipos específicos de biomasa y da como resultado productos energéticos específicos:

1. Conversión térmica: el calor se utiliza con o sin oxígeno para convertir la biomasa en energía. Estas tecnologías incluyen combustión directa, pirólisis y torrefacción.
2. Conversión termoquímica: el calor y los procesos químicos se utilizan en la producción de energía a partir de biomasa. La gasificación es un proceso importante.
3. Conversión bioquímica: las enzimas, las bacterias u otros microbios se utilizan para convertir la biomasa en combustibles líquidos. Incluye digestión anaerobia y fermentación.

Los factores que afectan la elección del proceso de conversión son:

- Tipo de biomasa.
- Cantidad de biomasa.
- Forma deseada de la energía, es decir, requisitos de uso final.
- Normas ambientales.
- Condiciones económicas.
- Factores específicos del proyecto.

La biomasa de cualquier tipo puede usarse como sustrato para la conversión termoquímica. Estos incluyen residuos forestales y agrícolas, subproductos no fermentables de biorefinerías, subproductos generados por la industria alimentaria y cualquier instalación de bioprocuremento, y ciertos tipos de desechos orgánicos municipales. Se pueden producir diferentes tipos de combustibles y productos químicos a partir de gases del producto que se pueden usar para reemplazar los productos químicos a base de petróleo. Estos productos son más adecuados para las operaciones de refinación de petróleo. Los principales inconvenientes son el mayor costo asociado con la limpieza del gas producto del alquitran y los contaminantes no deseados, como los compuestos alcalinos; ineficiencia debido a la necesidad de temperaturas elevadas; y el uso no probado de productos como combustibles de transporte (mdpi.com).

Las tecnologías de conversión termoquímica son diferentes de la incineración y combustión en muchos aspectos (Brown, 2007). El volumen de gases de salida de un reactor de pirólisis es mucho menor/tonelada de sustrato procesado en comparación con un proceso de incineración equivalente. Mientras que estos gases pueden finalmente quemarse, los procesos

alternativos proporcionan un paso intermedio donde puede llevarse a cabo la limpieza de gases. La incineración de quemaduras en masa está limitada por el uso de un dispositivo de control de la contaminación del aire en el escape totalmente quemado (Pande & Bhaskarwar, 2012).

Los gases de salida de los reactores de pirólisis generalmente se encuentran en un entorno reductor y pueden tratarse con diferentes métodos en comparación con un escape completamente quemado. Los medios reactivos para la gasificación y la pirólisis también pueden ser hidrógeno o vapor en comparación con el aire o el oxígeno para la incineración y la combustión (Pande & Bhaskarwar, 2012).

Los procesos de pirólisis y gasificación generan gases de síntesis intermedios. Contienen especies de menor peso molecular, como el gas natural, que son más limpias para la combustión en comparación con los residuos sólidos municipales sin procesar. No se utiliza muy poco aire/oxígeno en los procesos de pirólisis y gasificación (Pande y Bhaskarwar, 2012).

Procesamiento bioquímico

La conversión bioquímica de biomasa implica el uso de bacterias, microbios y enzimas para descomponer la biomasa en combustibles gaseosos o líquidos, como el biogás o el bioetanol (Cesaro & Belgiorno, 2015; Capareda, 2011). Los procesos de conversión bioquímica más populares son la digestión anaerobia (que también se conoce como biometanización) y la fermentación. En la digestión anaeróbica, el material orgánico se descompone a través de las vías metabólicas de los microbios naturales en una atmósfera deficiente en oxígeno. Los desechos de biomasa también se pueden usar para producir combustibles líquidos, como el etanol celulósico, que se puede usar para reemplazar los combustibles a base de petróleo.

Estos métodos comprenden el tratamiento enzimático de la materia orgánica a través de la acción microbiana, que resulta en la producción de gas metano o alcohol. Las conversiones bioquímicas son preferidas para los desechos que tienen un alto porcentaje de materia orgánica biodegradable junto con un alto contenido de humedad/agua, lo que respalda la actividad microbiana. La principal opción tecnológica en esta categoría es la digestión anaerobia (que ocurre en reactores o digestores controlados y también en un ambiente menos controlado en los vertederos), también conocida como biometanización (Fig. 14.3) y fermentación anaerobia (conversión de azúcares a partir de celulosa) al etanol (Thiruvengadathan, 2017). Los problemas están asociados con la conversión térmica de ciertos materiales en combustibles o energía, especialmente en relación con la perspectiva climática, aunque los niveles de recuperación de

energía potencialmente alta están asociados a estas tecnologías de conversión avanzadas (Kumar & Singh, 2017; Kumar et al., 2017, 2018a, b; Boudh & Singh, 2019). Aparte de esto, un problema está relacionado con la conversión térmica de RSU que tiene una alta fracción de corriente húmeda (como en India) y, por tanto, ineficiente para la recuperación de energía. Tales problemas pueden superarse mediante la utilización del método de digestión anaeróbica. Teniendo en cuenta la digestión anaeróbica, es una tecnología de conversión mucho más madura. Solo en Europa, miles de digestores comerciales están operando actualmente, con Alemania y Dinamarca a la vanguardia en tecnología (Thiruvengadathan, 2017).

El método de digestión anaeróbica emplea bacterias especializadas para la conversión de desechos orgánicos en diversos productos, a saber, biogás, una mezcla de dióxido de carbono con metano y un semi-sólido estable (digestato).

Fermentación

La fermentación se utiliza a escala comercial para producir etanol a partir de diferentes tipos de materias primas (Lin & Tanaka, 2006). Los cultivos de azúcar, los cultivos de almidón y la biomasa lignocelulósica se utilizan como materias primas. La biomasa se tritura y el almidón se convierte en azúcares, con la ayuda de enzimas; Los azúcares se convierten en etanol con levadura. El etanol se purifica mediante el proceso de destilación. Este paso es intensivo en energía, con aproximadamente 450 l de etanol producidos por tonelada de maíz seco. El residuo sólido del proceso de fermentación se puede usar como alimento para animales. En el caso de la caña de azúcar, el bagazo puede usarse como combustible para calderas o para gasificación posterior (Demirbas, 2009; McKendry, 2002). La conversión de la biomasa lignocelulósica es más difícil debido a la presencia de moléculas de polisacárido. Se necesita hidrólisis ácida o enzimática antes de que los azúcares resultantes se puedan convertir en etanol. Tales métodos de hidrólisis están actualmente en la etapa piloto. La producción bioquímica de etanol implica cuatro etapas: hidrólisis, fermentación, destilación y deshidratación (Bajpai, 2013; Scott et al., 2013). La biodegradación de la biomasa comienza durante la hidrólisis de compuestos complejos en compuestos simples, que están fácilmente disponibles para la etapa de fermentación. Esta vía natural, que depende tanto de las condiciones de operación como de la materia prima, es realizada por microbios que fermentan azúcares en etanol, ácido láctico u otros productos finales.

El bioetanol obtenido de un proceso de fermentación necesita un tratamiento adicional. La destilación fraccionada se realiza para separar el etanol del agua en función de sus diferentes volatilidades. Como el punto

de ebullición del agua (100 °C) es mayor que el del etanol (78.3 °C), la mezcla de etanol-agua se hierve para que el etanol se convierta en vapor antes que el agua. Luego, el agua puede separarse mediante un proceso de condensación y el destilado de etanol se recaptura a una concentración del 95 % (Limayem & Ricke, 2012).

Por consiguiente, el éxito del proceso requiere la combinación de las opciones más adecuadas en cada paso (Saxena et al., 2009). Como proceso biológico, la fermentación de bioetanol depende de muchos factores. Estos incluyen pH, oxígeno y temperatura, que afectan sustancialmente la tasa específica de crecimiento. La tasa de fermentación específica, la tasa de absorción de azúcar y la viabilidad de las poblaciones celulares están directamente relacionadas con la condición media deseada (Lin et al., 2012). De manera similar, tanto la configuración del proceso como la cepa de levadura afectan en gran medida los rendimientos de fermentación (De Souza et al., 2012; Dragone et al., 2004; Wang et al., 2014a; Alkasrawi et al., 2013) y también el sustrato. características.

Biocombustibles

El biocombustible se puede producir a partir de una variedad de materias primas, como aceites vegetales, remolacha azucarera, cereales, desechos orgánicos y el procesamiento de biomasa. De ellos, el más prometedor es la biomasa lignocelulósica (por ejemplo, madera, paja y pastos). La bioconversión de paja en bioetanol representa una alternativa atractiva en comparación con la producción convencional de etanol combustible a partir de cereales (Neelakandan & Usharani, 2009). La paja de trigo es un sustrato prometedor porque es la materia prima de biomasa más grande de Europa y la segunda más grande del mundo después de la paja de arroz. La paja de trigo tiene un gran potencial como materia prima en el futuro (Ortiz et al., 2008). Sin embargo, la lignocelulosa generalmente lleva la estructura de la biomasa vegetal y es un sustrato difícil de degradar. Por ello, los pretratamientos termoquímicos y enzimáticos son necesarios para la degradación de la lignocelulosa para que los monómeros estén disponibles para su procesamiento posterior. La etapa de hidrólisis es necesaria para la conversión de biomasa en azúcares monómeros para su posterior fermentación en bioetanol (Van Dyk & Pletschke, 2012). La hidrólisis puede ser ácida o enzimática.

Sin embargo, es muy difícil despolimerizar los materiales lignocelulósicos debido a la presencia de lignina compleja y hemicelulosa sobre la celulosa. Se emplean diferentes métodos de pretratamiento químico para aumentar la accesibilidad de la celulosa (Girio et al., 2010). De modo que, la producción de azúcares fermentables a partir de biomasa lignocelulósica tiende a ser compleja e intensiva en capital, con también preocupaciones medioambientales inherentes.

El bioetanol es el biocombustible más utilizado para el transporte en todo el mundo.

El etanol también llamado alcohol etílico es un alcohol de cadena lineal. Se utiliza en la gasolina durante varios años y miles de millones de millas se han utilizado con combustibles mezclados con etanol. Es un combustible de combustión más limpia con mayor octanaje. La Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos aprobó recientemente planes para mezclar etanol en niveles del 15 % en el suministro de combustible del país. El etanol ofrece muchos beneficios a los automóviles, al medio ambiente, la economía y la seguridad nacional. El etanol agrega oxígeno a la gasolina. Combustiona más completamente y reduce el nivel de emisiones tóxicas de escape. Reduce el peligro y la dependencia del país del petróleo importado. La industria del etanol genera empleos e inversiones en todo el país, especialmente en las zonas rurales. El etanol aumenta el suministro de combustible y ayuda a mantener bajos los precios del gas.

La fórmula molecular del etanol es C_2H_5OH y su fórmula empírica es C_2H_6O . También se escribe como CH_3-CH_2-OH , que muestra que el carbono de un grupo metilo (CH_3 -) está unido al carbono de un grupo metileno ($-CH_2$ -), que está unido al oxígeno de un grupo hidroxilo ($-OH$).

El etanol es un isómero constitucional del dimetiléter y a menudo se abrevia como EtOH.

El etanol es un líquido incoloro y es volátil e inflamable. Se conoce común o simplemente como alcohol. Es una droga psicoactiva y una de las drogas recreativas más antiguas. Se encuentra en bebidas alcohólicas y termómetros.

El bioetanol se puede producir a partir de la fermentación de diferentes tipos de biomasa (Bajpai, 2013; Walker, 2010; Hamelinck et al., 2003).

Se clasifican en términos generales como materiales de primera generación, incluidos almidón y azúcar (remolacha azucarera, sorgo dulce, caña de azúcar, maíz, trigo, cebada, centeno, sorgo, triticale, yuca, papa) y materiales de segunda generación (alimentación lignocelulósica). Estos incluyen residuos agrícolas (rastros de maíz, pajuelas de cultivo y bagazo), cultivos herbáceos (alfalfa, hierba de cambio), cultivos leñosos de rotación corta, residuos forestales, residuos de papel y otros desechos (municipales e industriales). La producción de bioetanol a partir de estos materiales podría ser una opción atractiva para la eliminación de estos residuos. Es importante destacar que la materia prima lignocelulósica no interfiere con la seguridad alimentaria (www.bioenergyconsult.com).

Actualmente, los materiales de primera generación se utilizan principalmente (Fujimoto et al.,

2011), pero los materiales lignocelulósicos están atrayendo interés. Estos son abundantemente disponibles y de bajo costo (Lynd, 2006; Haghghi Mood et al., 2013; Bajpai, 2013; Cesaro & Belgiorno, 2015; Sánchez & Cardona (2008). El uso de cultivos alimentarios para producir bioetanol de primera generación, ha sido muy criticado como una tecnología inviable porque causa problemas tanto de competencia con las fuentes de alimentos como de interrupción en la relación alimentos/población (Tan & Lee, 2014). Estas preocupaciones han impulsado el desarrollo de bioetanol de segunda generación, que es obtenido a partir de materiales lignocelulósicos. En los últimos años, el bioetanol de tercera generación a partir de microalgas y macroalgas también ha generado un interés sustancial (Doan et al., 2012). El tipo de sustrato afecta el proceso de producción de bioetanol. la melaza y el jugo de caña de azúcar, procesos como la molienda, el pretratamiento, la hidrólisis y la desintoxicación no son necesarios. Por el contrario, la mayoría del sustrato a base de almidón y la lignocelulosa necesitan algún tipo de pretratamiento para ser utilizado para la producción de azúcares (Vohra et al., 2014).

Los sustratos lignocelulósicos están compuestos de tres materiales (Carrier et al., 2011):

- Celulosa, un polímero a base de azúcar.
- Hemicelulosas, polisacáridos amorfos que contienen diferentes tipos de azúcares, más pequeños que los de la celulosa.
- La lignina consiste en unidades de fenilpropano y es un polímero aromático complejo.

Tabla 1

Principales recursos para la producción de bioetanol

Material
Materiales azucarados
Caña de azúcar Remolacha
Sorgo dulce Suero de queso
Frutas (excedentes)
Desechos industriales de confitería
Materiales con almidón
Granos (maíz, trigo, triticale)
Cultivos de raíz (papa, yuca, achicoria, alcachofa) Inulina (polifrufructano)
Materiales celulósicos
Madera
Residuos agrícolas (popotes, estufa)
Residuos sólidos urbanos
Desechos de papel, pulpa de papel

Procesos de pretratamiento

El pretratamiento es un paso importante en la conversión de biomasa lignocelulósica en azúcares fermentables y biocombustibles. Los procesos de pretratamiento son necesarios para abrir eficientemente la estructura sólida de celulosa cristalina, solubilizar las hemicelulosas y degradar la lignina sin generar subproductos que puedan ser perjudiciales para los procesos posteriores como la fermentación (Guo et al., 2012; Banerjee, 2009). El pretratamiento cambia la estructura cristalina de la lignocelulosa al eliminar la lignina y solubilizar la hemicelulosa en pentosas y hexosas (Harmsen et al., 2010; Guo et al., 2012; Banerjee, 2009).

Los diversos procesos de pretratamiento utilizados para superar la recalcitrancia de la biomasa se pueden clasificar en pretratamientos físicos (mecánicos), químicos, químicos y mecánicos combinados y biológicos. La elección del proceso de pretratamiento óptimo depende principalmente del objetivo del pretratamiento de la biomasa, la economía y el impacto ambiental (Harmsen et al., 2010).

El pretratamiento es la estrategia fundamental para reducir la naturaleza de recalcitrancia del material lignocelulósico para facilitar la acción enzimática sobre los polisacáridos de las plantas. El objetivo principal del pretratamiento es solubilizar y separar uno o más de los componentes estructurales, a saber, hemicelulosa, lignina y celulosa de la biomasa. Por eso, el proceso aumenta la porosidad del sustrato con la redistribución de lignina y permite la exposición máxima de las enzimas de sacarificación a las superficies de celulosa y hemicelulosa para lograr una hidrólisis mejorada con un consumo mínimo de energía (Zhu & Pan, 2010). En las últimas décadas, se han desarrollado varios enfoques como procesos de pretratamiento económicos y más útiles para la biomasa lignocelulósica. Los procesos de pretratamiento se clasifican ampliamente en cuatro grupos diferentes, a saber, (a) pretratamiento físico; (b) pretratamiento químico; (c) pretratamiento fisicoquímico y; (d) pretratamiento biológico.

En el pretratamiento físico, la conminución mecánica se considera la técnica más común donde, a través de la combinación de astillado, molienda y molienda, los materiales lignocelulósicos pueden triturarse de 10 a 30 mm a 0.2 a 2 mm (Kumar et al. 2009, Balat 2011) Los métodos de fresado, específicamente el fresado de bolas, el fresado de dos rodillos, el fresado de martillos, el fresado coloidal y el fresado de energía vibratoria, pueden desempeñar un papel importante en la reducción del tamaño de partícula y el grado de cristalinidad (Taherzadeh y Karimi 2008) y mejorar la digestibilidad (Kumar et al.2009) de biomasa lignocelulósica. El consumo de energía en la conminución

mecánica depende totalmente del tipo de material utilizado durante el proceso y del tamaño de partícula requerido después del pretratamiento. Balat (2011) informó claramente que el consumo de energía para reducir el tamaño de partícula de 1.6 mm para el material de madera dura fue de 130 kWh/tonelada, y fue de 14 kWh/tonelada para la misma reducción del tamaño de partícula de la estufa de maíz. Se informó que el consumo específico de energía redujo el tamaño de partícula del material de paja de trigo a 0.8 y 3.2 mm a través del molino de martillos, que fueron 51.6 y 11.4 kWh/tonelada (Talebna et al. 2010). La pirólisis es otro proceso de pretratamiento físico endotérmico, que es bien conocido por su menor consumo de energía (Sarkar et al. 2012). En este método, el material celulósico se descompone rápidamente en productos gaseosos como H₂, CO y carbón residual a través de la exposición a temperaturas superiores a 300 °C. El carbón residual se procesa adicionalmente mediante lixiviación para obtener suficientes fuentes de carbono, como glucosa, para soportar el crecimiento microbiano (Sarkar et al. 2012). Leustean (2009) señaló claramente que el pretratamiento de pirólisis fue efectivo para lograr una mejor conversión del material celulósico del material molido a glucosa. La irradiación por microondas y por haz de electrones también son enfoques de pretratamiento físico factibles que son fáciles de operar (Bjerre et al. 2000). El pretratamiento con microondas utiliza una alta eficiencia de calentamiento de un horno de microondas, mientras que la irradiación con haz de electrones está alineada con el campo magnético que cambia continuamente (Sarkar et al. 2012).

La irradiación básicamente ayuda en otros procesos de pretratamiento, ya que no puede separar la hemicelulosa o la lignina directamente de los materiales lignocelulósicos (Sun et al. 2016). Duarte et al. (2012) destacaron que el haz de electrones o los rayos γ combinados con la trituración mecánica pueden mejorar aún más el proceso de sacarificación enzimática de la biomasa lignocelulósica. Las radiaciones de alta energía de los rayos γ con un poder de penetración más profundo logran mejorar la digestibilidad de las enzimas (Jahnavi et al. 2017). El alto requerimiento de energía y la naturaleza costosa de tales tratamientos dificulta su aplicabilidad en entornos industriales (Tahezadeh y Karimi 2008).

El pretratamiento alcalino es considerado como el más complejo. Monly utiliza un método de pretratamiento químico para digerir la matriz de lignina y hacer que la celulosa y la hemicelulosa estén disponibles para la degradación enzimática. Se han implementado una variedad de reactivos alcalinos tales como hidróxido de sodio (NaOH), Ca(OH)₂, KOH, Na₂CO₃ y amoníaco acuoso para diferentes materia-

les lignocelulósicos y, entre ellos, NaOH, Ca(OH)₂ se usa generalmente en la mayoría de los casos (Sun et al. 2016). La pared celular de los materiales lignocelulósicos normalmente se rompe al solubilizar hemicelulosas, lignina y sílice, y la cristalinidad de la celulosa finalmente se reduce debido a la inflamación (Sarkar et al. 2012). Ayuda a que los sustratos se fraccionen en lignina soluble en álcali, hemicelulosas y residuos. Las ventajas del pretratamiento alcalino incluyen condiciones ambientales de operación y la utilización de temperaturas y presiones más bajas que otros procedimientos de tratamiento (Mosier et al. 2005, Balat 2011). Cai & Zhang (2005) señalaron la eficacia de las soluciones alcalinas de NaOH/urea para disolver, hinchar y fragmentar el material de celulosa a baja temperatura (aproximadamente -15 °C).

Sun et al. (2016) sugirieron que la baja temperatura en el tratamiento con NaOH conduce a una alta accesibilidad del material lignocelulósico en las etapas de sacarificación al aumentar la hinchazón de ese material. Kumar et al. Demostraron la efectividad del NaOH para aumentar la digestibilidad del material de madera dura del 14 % al 55 % y la reducción del contenido de lignina hasta el 55 %. (2009) Sun et al. (1995) evaluaron la concentración de NaOH más efectiva de 1.5 % para la separación de 60 % de lignina y 80 % de hemicelulosa del material de paja de trigo cuando el material se trató a 20 °C durante 144 h. El pretratamiento con NaOH fue lo suficientemente efectivo como para retener el contenido de lignina incluso a menos del 26 % para madera dura, paja de trigo, hierba de cambio y materiales de madera blanda (Zhao et al. 2008). Silverstein et al. (2007) informaron de manera similar, que menos del 65 % de reducción de lignina del material de tallo de algodón. Cuando el material se trató con NaOH al 2 % durante 90 minutos a 121 °C y 15 psi.

Ashgar et al. (2016), Chaudhary et al. (2012) y Kataria & Ghosh (2014) demostraron la utilización del pretratamiento con NaOH y su combinación con otros procesos de pretratamiento para reducir la lignina y aumentar la accesibilidad de la celulosa del material de hierba de kans. Kataria & Ghosh (2014) informaron la pérdida máxima de sólidos, incluida la lignina, del 47,5 %, mientras que Ashgar et al. (2016) informaron que la eliminación total de la lignina del 40 % y el 74 %. y Chaudhary et al. (2012), respectivamente, durante el pretratamiento con NaOH. El pretratamiento con amoníaco también se considera un tratamiento alcalino no corrosivo y no tóxico (Kim et al. 2016). En comparación con el pretratamiento con NaOH, el tratamiento con cal (Ca(OH)₂) es otro método eficiente que conduce a aumentar el índice de cristalinidad con la eliminación de lignina que implica un menor costo, menos requisitos de seguridad

y mejores beneficios ambientales (Alvira et al. 2010; Balat 2011). Kim & Holtzapple (2005) informaron que la eliminación de 43.6 % - 48.4 % de lignina original era posible del material lignocelulósico a base de rastrojo de maíz por pretratamiento no oxidativo con cal, mientras que la eliminación de lignina fue 57.8 % - 87.5 % del pretratamiento de cal oxidativa a los 25 °C - 55 °C durante 16 semanas. Entre todos los otros pretratamientos químicos, el tratamiento ácido previo se considera efectivo para lograr directamente un alto rendimiento de azúcares a partir de materiales lignocelulósicos. Incluso el pretratamiento ácido también se aplica para solubilizar hemicelulosas fraccionadas a partir de material lignocelulósico; por ello, se ha usado preferiblemente en el proceso de fraccionamiento de componentes de biomasa lignocelulósica (Sun et al. 2016). Los ácidos que se estudian en tales propósitos son ácido clorhídrico (HCl), ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido fosfórico (H₃PO₄) y ácido nítrico (HNO₃) (Menon & Rao 2012).

Las condiciones de operación que se siguen para los tratamientos con ácido son: (a) alta temperatura y baja concentración de ácido y; (b) baja temperatura y alta concentración de ácido. Para una gran variedad de biomasa, tales como hierba de cambio, rastrojo de maíz, abeto, álamo, hierba de kans, fibra de coco y paja de arroz/trigo, el H₂SO₄ se ha implementado comúnmente en condiciones diluidas (Zhu et al. 2008; Wyman et al. 2009, Digman et al. 2010). Sin embargo, el mayor inconveniente del tratamiento con ácido es la producción de varios inhibidores del crecimiento microbiano, como el ácido acético, el furfural y el 5-hidroximetalfurfural, que deben desintoxicarse antes de la fermentación. En general, se puede lograr una mayor recuperación de xilosa y una digestibilidad enzimática mejorada con una temperatura de pretratamiento más alta y un tiempo de residencia corto. La concentración diluida de H₂SO₄ de (0.2 - 2 %) y una temperatura más alta (121 - 372 °C) se implementaron en todos los estudios existentes en el mismo campo de investigación, por facilitar las funciones más importantes, como la hidrólisis de la hemicelulosa, la exposición de la celulosa a la digestión y solubilización de metales pesados (Balat, 2011). Hernández & Cols (2013) demostraron la recuperación máxima de celulosa hasta el 87 % y xilano hasta el 50,2 % de las vainas vacías de *Moringa oleifera* en el tratamiento con H₂SO₄ diluido. Saha et al. (2005) lograron un rendimiento del 74 % en el proceso de sacarificación del material de paja de trigo cuando se trató con un volumen de 0,75 % (v/v) de H₂SO₄ a 121 °C durante 1 h. La utilización del catalizador ácido sólido en el proceso de pretratamiento es otra técnica emergente que conduce a una mejor eficiencia de sacarificación. En un estudio de sacarificación de material celulósico de macroalgas (Tan & Lee, 2015), el rendimiento óp-

timo de glucosa mejoró al 99.8 % a través de la técnica de pretratamiento con ácido sucio [10 % (p/v) de carga de biomasa, 4 % (p/v) de carga de catalizador, 30 min, 120 °C] seguido de hidrólisis enzimática. En otra observación experimental, Qi et al. (2018) desarrollaron un catalizador ácido sólido (C-SO₃H) a base de carbono mediante la técnica de carbonización utilizando celulosa microcristalina y H₂SO₄. Dicho catalizador sólido mostró una alta actividad catalítica durante el pretratamiento del sustrato lignocelulósico a base de mazorca de maíz y el rendimiento inicial de recuperación de xilosa logró 78,1 %.

Pretratamiento químico

Se ha estudiado una amplia gama de métodos de pretratamiento químico. Este capítulo proporciona una visión general de los principales métodos, como el pretratamiento de organosol, ozonólisis, ácidos y álcalis en los que la biomasa se desestructura y fracciona mediante el uso de productos químicos.

Los pretratamientos químicos alteran la estructura de la biomasa mediante una reacción química. En tales procesos de pretratamiento, se utilizan productos químicos para eliminar o modificar los principales componentes químicos (hemicelulosa y lignina) que interfieren con la descomposición de la celulosa en monómeros de azúcar (Zhu & Pan, 2010).

Se informa ampliamente debido a su potencia para eliminar la lignina, los componentes ácidos fuertes o básicos y otros componentes tóxicos de la biomasa lignocelulósica. Se estudiaron diversas tecnologías de pretratamiento con base química, como el uso de ácido, álcali, peróxidos y ozono para convertir el sustrato lignocelulósico para producir etanol (Mosier et al., 2005). Los métodos de pretratamiento químico tienen ventajas y limitaciones basadas en su naturaleza química y sus efectos sobre la biomasa lignocelulósica. Torget et al. (1991) informaron que los residuos agrícolas como un productor eficaz de bioetanol cuando se trata con productos químicos orgánicos o inorgánicos, que eliminan eficazmente la hemicelulosa y la lignina de los sustratos celulósicos.

Pretratamiento ácido

Los ácidos concentrados pueden holocalizar la holocelulosa en azúcares con altos rendimientos; sin embargo, este proceso requiere el uso de materiales especiales para la construcción del reactor y generalmente genera altas concentraciones de compuestos inhibidores, además, conlleva la recuperación de ácido; por el contrario, el pretratamiento con ácido diluido podría usarse para mejorar la solubilidad de la hemicelulosa y aumentar la digestibilidad enzimática de la celulosa. La sacarificación directa de la biomasa celulósica por ácido diluido estaba en funcionamiento en Alemania desde la década de 1940. En los últi-

mos años, este proceso se ha utilizado principalmente como un medio de pretratamiento para la hidrólisis enzimática de la celulosa.

El ácido más utilizado es el ácido sulfúrico diluido (H_2SO_4). El pretratamiento ácido seguido del pretratamiento alcalino da como resultado una celulosa relativamente pura. Este pretratamiento químico consiste en la adición de ácidos (generalmente entre 0.2 % y 2.5 % p/p) a la biomasa, seguido de la mezcla a temperaturas entre 130 °C y 210 °C (Brodeur et al., 2011). Se han reportado altos rendimientos de hidrólisis enzimática (74 %) cuando la paja se sometió a 0.75 % v/v de H_2SO_4 a 121 °C durante 1 h (Saha et al. 2005). La biomasa del olivo se pretrató con un 1,4 % de H_2SO_4 a 201 °C, lo que resultó en un 76.5 % de rendimiento de hidrólisis (Cara et al., 2008). También, se han estudiado otros ácidos, como el ácido clorhídrico (HCl), el ácido fosfórico (H_3PO_4) o el ácido nítrico (HNO_3).

A pesar de las ventajas mencionadas, debe tenerse en cuenta que los pasos de lavado y/o desintoxicación generalmente se requieren para eliminar el ácido antes de continuar con el proceso de fermentación. Un inconveniente más es la producción de inhibidores de fermentación que reducen la efectividad de otros procesos. De hecho, un inconveniente más es la producción de inhibidores de la fermentación, incluso en menor medida con respecto a la hidrólisis concentrada, que reduce la efectividad de otros procesos.

Las condiciones óptimas para el pretratamiento con ácido dependen del propósito del pretratamiento. Se encontró que las condiciones óptimas para obtener el máximo rendimiento de azúcar dependen de si el objetivo es maximizar el rendimiento después del pretratamiento o después de la hidrólisis enzimática de los sólidos pretratados o si el objetivo es obtener el máximo rendimiento después de ambos pasos. Además, encontrar las condiciones óptimas es extremadamente importante para reducir la formación de productos inhibidores que reducirán la eficiencia del paso de fermentación (Brodeur et al., 2011). Para el tratamiento previo de materiales lignocelulósicos se aplican diferentes tipos de reactores, como percolación, flujo de tapón, lecho de contracción, lotes y reactores de contracorriente (Lee et al., 1999).

Determinación de azúcares reductores

Según el método Miller (1959), los azúcares reductores pueden reducir al ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) bajo determinadas condiciones. Cuando el ácido 3,5-dinitrosalicílico es reducido en presencia de calor, por los azúcares reductores que entran en contacto con él, se desarrolla un cambio de color parecido al café (con variaciones de amarillo hasta café). El cambio de coloración puede entonces determinarse por lecturas de densidad óptica, leídas por espec-

trofotometría a una determinada longitud de onda. La concentración de los azúcares reductores totales, liberados en la muestra, se determina haciendo una interpolación en la curva patrón del azúcar utilizado, graficando la absorbancia en función de la concentración. Para la aplicación del método DNS de Miller se necesita preparar el reactivo DNS, disolviendo 0.8 g de NaOH en agua destilada, luego se adicionan 15 g de tartrato de sodio y potasio tetra hidratado y 0.5 g de DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico). Esta mezcla se afora a 50 ml con agua destilada y se almacena en un frasco ámbar a 4 °C. La concentración de azúcares reductores se determina utilizando una curva de calibración absorbancia en función de concentración. Para obtener esta curva se prepararon soluciones de 200-1000 mg/l, utilizando glucosa como estándar.

A esas soluciones se les aplicó el método DNS y se leyó la absorbancia de cada una de ellas en un espectrofotómetro (Genesys 10vis) a una longitud de onda 540 nm. Una vez construida la curva patrón se aplicó el método DNS a cada una de las muestras, para lo cual se mezclaron 0,5 ml de cada una con 0,5 ml del reactivo DNS, se colocaron a ebullición por 5 min en baño de maría e inmediatamente se detuvo la reacción con baño de agua y hielo. Se reconstruyeron las muestras con 5 ml de agua destilada, se agitaron, se dejaron en reposo por 15 min, y se determinó su absorbancia a 540 nm. El mismo tratamiento se realizó para el blanco con agua destilada. Leyendo la absorbancia de cada una de las muestras en la curva patrón se determinó la concentración de azúcares reductores. Para el promedio, se utilizaron tres replicaciones y las desviaciones estándar fueron máximo de 10 %.

Microscopio de barrido electrónico (SEM)

SEM proporciona información tridimensional superficial y superficial de alta calidad y resolución de la muestra (Domingo & Saurina, 2012). Utiliza un haz enfocado de electrones de alta energía para producir diversas señales en la superficie de muestras sólidas. En este método, los electrones emitidos por un filamento de tungsteno se aceleran al ánodo en condiciones de vacío y se genera un haz de electrones en el vacío, que se ajusta mediante lentes de condensador electromagnético (Luykx et al., 2008), y las propiedades de la superficie las muestras se escanean mediante bobinas de deflexión electromagnética; es decir, los electrones secundarios se magnifican y finalmente se hacen caer sobre una pantalla fluorescente para obtener la imagen final (Domingo & Saurina, 2012).

Para estudiar las propiedades morfológicas, es necesario el secado de nanoportadores para garantizar la máxima estabilidad estructural, luego, las muestras secas se recubren con una capa de oro o platino en condiciones de vacío. Una ventaja importante de SEM es la alta profundidad de campo, que permite una imagen

clara de una estructura relativamente grande. Pero en comparación con un TEM, tiene una resolución más baja (3 - 4 nm) (McClements, 2005) y no muestra los detalles internos de las nanopartículas (Reimer, 1993).

El microscopio electrónico de barrido de alta resolución (SEM) es excelente para la caracterización del tamaño y forma de las nanopartículas, porque la preparación de la muestra y adquisición de imágenes necesarias son relativamente rápidas y sencillas. Aunque la imagen SEM es una representación bidimensional (2D) de los objetos tridimensionales (3D) desde un cierto ángulo de visión, la imagen SEM contiene una cierta cantidad de información 3D que con la medición basada en modelos se puede utilizar para reconstruir la forma con precisión sub-nm de una estructura simple (Vladár, et al., 2014).

La señal responsable de la creación de una imagen SEM viene dada por los electrones secundarios (SE) y/o electrones de retrodispersión (BSE) creados cuando la muestra es bombardeada por el haz de electrones primarios (PE). El voltaje de aceleración máximo típico de un SEM es 30 kV. Mientras que los SE debido a su baja energía por debajo de 50 eV tienen una pequeña profundidad de escape en el rango de unos pocos nm, los BSE poseen energías cinéticas significativamente más altas (hasta la energía de excitación) y provienen de aproximadamente la mitad de la profundidad del volumen de interacción en la muestra. Por consiguiente, los SE son capaces de producir micrografías SEM de alta resolución con un contraste morfológico de superficie superior, mientras que las micrografías BSE revelan un contraste compositivo superior pero con una resolución espacial más pobre. Además, los electrones SE pueden clasificarse en SE1, es decir, los generados en el punto de impacto de los electrones primarios con la muestra; SE2, o los generados por los electrones de alta energía dentro de la muestra y; SE3, los generados por los electrones de la EEB que golpean las superficies internas de la cámara de muestras del microscopio. Los detectores montados dentro de la columna de electrones, como los llamados en lente o a través de la lente, son capaces de recolectar electrones secundarios con muy buena eficiencia a una distancia de trabajo óptima (muestra de lente final) y proporcionan la mayor resolución espacial posible.

Materiales y métodos

Método experimental

Materia prima

La materia prima que se utilizó en las experimentaciones fue los residuos de apio de los desechos de alimentos del Comedor Universitario de la UNCP, los que se secaron, molieron y tamizaron en la empresa "Natural Products NAR-VID E.I.R.L."

Materiales

- 10 matraces de 500 ml
- 03 pipetas de 10 ml
- 03 micropipetas de 1 ml
- 03 propipetas
- 30 tubos de ensayo
- 10 embudos.
- 10 fioles de 100 ml
- 03 fioles de 1 l
- 02 Lunas de reloj
- 02 Probeta de 25 ml
- 05 Varillas de vidrio
- Parafilm
- Papel filtro N°40
- Porta muestras
- Cinta adhesiva de cobre

Reactivos

- Agua destilada
- Ácido sulfúrico
- Hidróxido de Calcio
- Tartrato de Na y K
- Ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS)
- Glucosa anhidra
- Fenol
- Sulfito de sodio
- Hielo

Equipos e instrumentos.

- 01 Balanza analítica de 4 dígitos (marca Sartorius y modelo: A2214)
- 01 Baño María (marca VWR, Modelo: 1228-2, TIPO: CAP/14 l)
- 03 Baño María controlado por microprocesador/de mesa BW-20G
- 01 cocinilla eléctrica
- Microscopio de barrido electrónico (SEM) Mira 3 TESCAN
- Metalizador de oro

Procedimiento experimental

Preparación del reactivo DNS

Se fundamenta en la reducción del DNS (color amarillo) por la glucosa u otro azúcar reductor al ácido 3-amino-5-nitrosalicílico (color rojo ladrillo), produce una coloración en función a la concentración de azúcares reductores que se evidencia por medio de la lectura de la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro UV.

La preparación del reactivo DNS consistió en: pesar 1 g de ácido 3,5-dinitrosalisílico, 40 g de tartrato de Na-K, 1.1 g de NaOH, 0.2 g de fenol y 0.05 de sulfito de sodio; agregar ácido 3,5-dinitrosalisílico y NaOH en 50 ml de agua destilada, añadir poco a poco fenol y sulfito de sodio; agregar lentamente y en constante agitación tartrato de Na-K, añadir nuevamente agua hasta 80 ml, agitar con mucho cuidado hasta que se diluya totalmente, trasvasar, aforar a 100 ml y agitar.

Determinación de la concentración de azúcares reductores con el método del DNS

El procedimiento consistió en: colocar 1 ml de la muestra previamente filtrada en un tubo de ensayo, añadir 1 ml de agua destilada, más 2 ml de reactivo DNS. Preparar en otro tubo de ensayo el blanco (2 ml de agua destilada y 2 ml de DNS). En baño María, hacer hervir los tubos durante 10 minutos, añadir 1 ml de sal de Rochelle al 40 %, enfriar en agua corriente de 2 a 5 minutos; añadir 6 ml de agua destilada, mezclar por inmersión. Leer la densidad óptica o absorbancia a 540 nm, previamente calibrado a cero la absorbancia del blanco. Finalmente, determinar las concentraciones de azúcares reductores (mg de glucosa/ml) en la curva estándar, según la absorbancia obtenida.

Elaboración de la curva de calibración de glucosa

Para la curva de calibración se procedió a: preparar una solución de glucosa de 100 g/l (pesar 1 g de glucosa anhidra, 0.02 g de azida de sodio, diluir y aforar en una fiola de 100 ml), tomar alícuotas de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20 ml de la solución anterior y aforar a 100 ml; de cada fiola tomar 1 ml de estándar y seguir el procedimiento para la determinación de azúcares reductores con el reactivo DNS. Con los resultados, construir una gráfica entre concentración de glucosa versus absorbancia.

Pretratamiento ácido de los residuos de apio

El pretratamiento consistió en: pesar 25 g de la mezcla de los residuos, disolver en 250 ml de ácido sulfúrico a concentraciones de 0.1 %, 2.5 % y 4 % v/v, calentar en baño maría a temperaturas de 60, 70 o 80 °C y durante 2, 3 o 4 horas (según diseño experimental), posteriormente filtrar para tomar 1 ml de la mezcla obtenida para determinar la concentración de azúcares reductores por el método DNS. De la mezcla sólida, tomar 10 g de muestra, secar durante 36 horas para el análisis en el SEM.

Determinación de morfología de celulosa de los residuos de apio utilizando el microscopio de barrido electrónico (SEM) Mira 3 Tescan

De los 10 g de muestra seca de residuos pretratados, se coloca una mínima cantidad en el porta muestras (stubs) del microscopio estas están adheridas a la cinta de cobre, posteriormente las muestras tendrán que pa-

sar por el metalizador de oro. Se coloca las muestras en el posicionador del microscopio, finalmente se observa la morfología de la celulosa de los residuos de apio.

Diseño experimental

Para el trabajo de investigación se propuso un diseño experimental, el cual permitió evaluar las variables y la interacción entre ellas. Se usó el diseño experimental de Box-Behnken.

Las variables de la investigación son:

Variables dependientes

- Características de la celulosa
- Concentración de glucosa

Variables independientes

- Tiempo
- Temperatura
- Concentración del H₂SO₄

Los niveles de las variables independientes se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 2

Niveles de las variables.

Nº	Tiempo (horas)	Temperatura (°C)	Concentración del H ₂ SO ₄ (v/v)
1	2	60	0.1 %
2	3	70	2.5 %
3	4	80	4.0 %

Tabla 3

Matriz de diseño experimental.

Nº	Tiempo (horas)	Temperatura (°C)	Concentración del H ₂ SO ₄ (v/v)	Características de la celulosa/Concentración de glucosa	
				I	II
1	3	60	4.0		
2	2	80	2.5		
3	4	70	0.1		
4	3	60	0.1		
5	3	80	2.5		
6	2	70	2.5		
7	4	70	4.0		
8	3	60	2.5		
9	2	60	2.5		
10	3	80	4.0		
11	4	80	2.5		
12	4	60	2.5		
13	2	70	0.1		
14	2	70	4.0		
15	2	60	0.1		

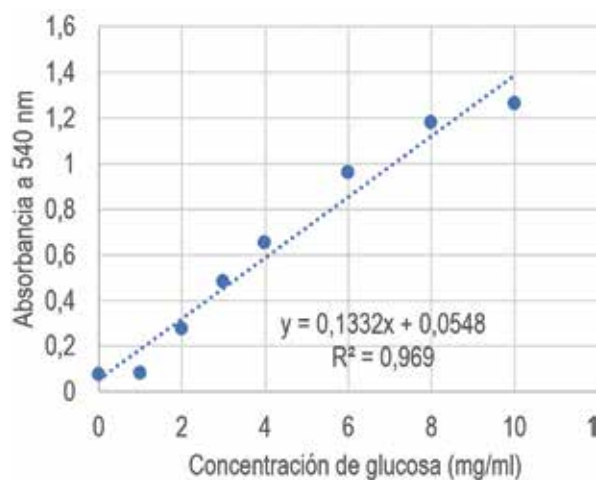
Resultados

Curva de calibración

La curva de calibración que es necesario para cuantificar los azúcares reductores por el método DNS se presenta a continuación:

Figura 1

Curva de calibración.



Morfología de los residuos de apio (*Apium Graveolens*) por microscopía electrónica de barrido (SEM).

A continuación, se presenta la morfología de los residuos de apio (*Apium Graveolens*) por microscopía electrónica de barrido (SEM) antes y después del pretratamiento.

Figura 2

Morfología de los residuos de apio (*Apium Graveolens*) por microscopía electrónica de barrido (SEM) antes del pretratamiento.

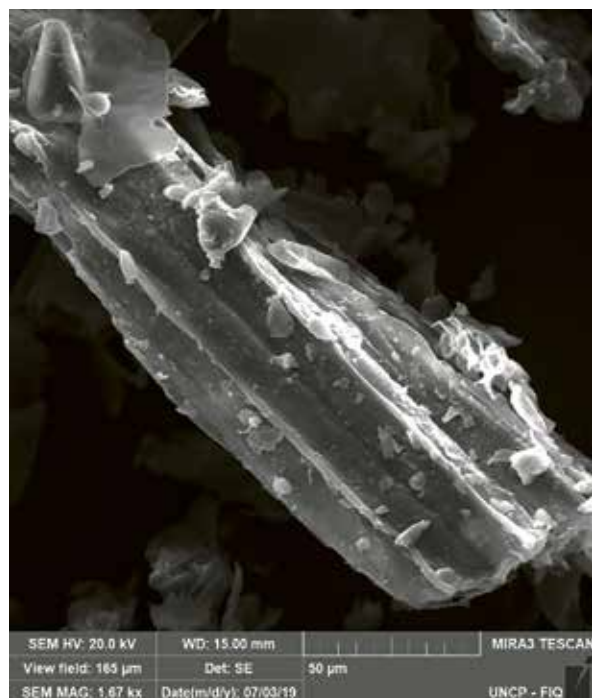
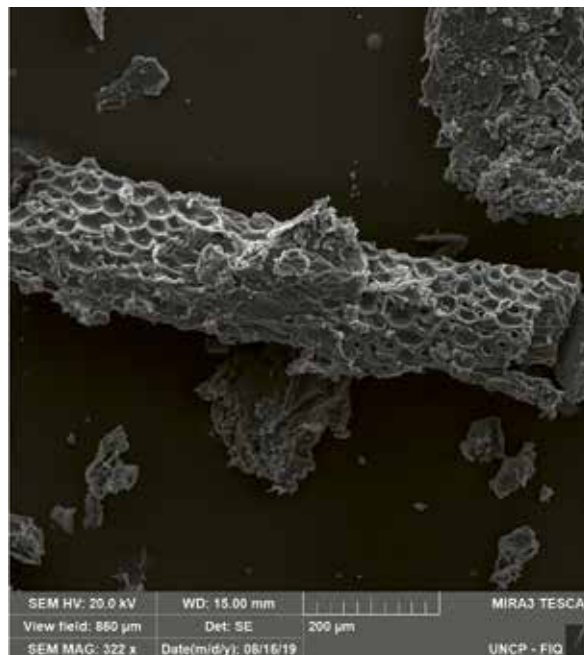


Figura 3

Morfología de los residuos de apio (*Apium Graveolens*) por microscopía electrónica de barrido (SEM) después del pretratamiento.



Solo se presenta resultados iniciales, queda pendiente la finalización de las pruebas consideradas en el diseño experimental.

Discusión

Danmaliki et al. (2016) investigaron la eficiencia de tres técnicas de pretratamiento agua, hidróxido de sodio y ácido sulfúrico de residuos de plátano, en el pretratamiento ácido lograron una concentración de 1.4 % con H_2SO_4 al 5 %, 6 horas a 120 °C. Además, demostraron que a mayor tiempo y temperatura hay más producción de azúcares, pero aumentan inhibidores como furfural y 5-hidroximetilfurfural

Gundupalli & Bhattacharyya (2017) aplicaron el pretratamiento ácido (H_2SO_4 0.5 - 2.5 % v/v) a los residuos de alimentos en la optimización de la producción de azúcares reductores, obtuvieron a una concentración de ácido de 0.5 - 2.5 % (v/v), 121°C y 60 minutos, entre 0.5378 y 0.67 de g azúcares/g. Estos residuos contenían principalmente carnes, panes, arroz y vegetales, lo que involucra romper estructuras de celulosa, lignina y hemicelulosa, como también de lípidos, proteínas, almidón, etc.

Hafid et al., (2017), estudiaron el efecto de los componentes de los residuos sólidos municipales en la producción de azúcares fermentables, en parte de su estudio utilizaron el pretratamiento ácido diluido (H_2SO_4) y obtuvieron los mejores resultados a la concentración de 0,5 % y 90 °C. Demostraron que la composición de los residuos afecta los resultados y características de la celulosa obtenidas por el pretratamiento.

Conclusiones

- El tiempo, temperatura y dosis de H₂SO₄ influye en las características de la celulosa en el pretratamiento ácido de los residuos de apio.
- El tiempo, temperatura y dosis de ácido en el pretratamiento ácido de los residuos de apio es 2 horas, 60 °C y 0.1 %, respectivamente, son las mejores condiciones del pretratamiento ácido por la morfología que presentan que concuerdan con lo indicado en la literatura.
- La morfología de los residuos de apio pretratadas presenta alteraciones como poros y fibras, lo cual favorecerá la producción de glucosa en la hidrólisis y etanol en la fermentación.

Referencias bibliográficas

- Cekmecelioglu, D. & Uncu, O. N. *Kinetic modeling of enzymatic hydrolysis of pretreated kitchen wastes for enhancing bioethanol production*. Waste Manag [Internet]. 2013;33(3):735–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2012.08.003>
- Vavouraki A. I.; Volioti V. & Kornaros M. E. *Optimization of thermo-chemical pretreatment and enzymatic hydrolysis of kitchen wastes*. Waste Manag [Internet]. 2014;34(1):167–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.09.027>
- Uncu, O. N. & Cekmecelioglu, D. *Cost-effective approach to ethanol production and optimization by response surface methodology*. Waste Manag [Internet]. 2011;31(4):636–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2010.12.007>
- Ntaikou, I.; Menis, N.; Alexandropoulou, M.; Antonopoulou, G. & Lyberatos, G. *Valorization of kitchen biowaste for ethanol production via simultaneous saccharification and fermentation using co-cultures of the yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis**. Bioresour Technol [Internet]. 2018;263:75–83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.109>
- Negi, H.; Agrawal, R.; Verma, A. & Goel, R. *Municipal solid waste to bioenergy: Current status, opportunities, and challenges in Indian context [Internet]. New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier B.V.; 2019. 191–203 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-64191-5.00014-6>
- Zabot, G. L.; Tres, M. V.; Ferreira, P. A. A.; Dal Molin, A. & Mazutti, M. A. *Power the future with bioenergy from organic wastes*. In: Recent Developments in Bioenergy Research [Internet]. BV; 2020. p. 85–114. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-819597-0.00004-0>
- Trivedi, J.; Bhonsle, A.K. & Atray, N. *Processing food waste for the production of platform chemicals [Internet]. Refining Biomass Residues for Sustainable Energy and Bioproducts*. Elsevier Inc.; 2020. 427–448 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-818996-2.00019-3>
- Demesa, A. G.; Laari, A. & Sillanpää, M. *Value-added chemicals and materials from lignocellulosic biomass [Internet]. Advanced Water Treatment*. Elsevier Inc.; 2020. 367–436 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-819225-2.00006-5>
- Hendriks, A. T. W. M. & Zeeman, G. *Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass*. Bioresour Technol. 2009;100(1):10–8.
- Otles, S. & Kartal, C. *Food waste valorization [Internet]. Sustainable Food Systems from Agriculture to Industry*. Elsevier Inc.; 2018. 371–399 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-811935-8.00011-1>
- Speight, J. G. *Hydrocarbons from biomass*. Handbook of Industrial Hydrocarbon Processes. 2020. 293–342 p.
- Verardi, A.; Lopresto, C. G.; Blasi, A.; Chakraborty, S. & Calabrò V. *Bioconversion of lignocellulosic biomass to bioethanol and biobutanol [Internet]. Lignocellulosic Biomass to Liquid Biofuels*. INC; 2020. 67–125 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-815936-1.00003-4>
- Bajpai, P. *Biomass conversion processes*. Biomass to Energy Conversion Technologies. 2020. p. 41–151
- Dey, P.; Pal, P.; Kevin, JDi. & Das, DiB. *Lignocellulosic bioethanol production: Prospects of emerging membrane technologies to improve the process - A critical review*. Rev Chem Eng. 2018;
- Chiaromonti, D.; Giovannini, A.; Janssen, R. & Mergner, R. *Lignocellulosic ethanol production plant by Biochemtex in Italy Lignocellulosic Ethanol Process and Demonstration A Handbook Part I [Internet]*. 2013. 140 p. Available from: www.wip-munich.de
- Ranjithkumar, M.; Ravikumar, R.; Sankar, M. K.; Kumar, M. N. & Thanabal, V. *An effective conversion of cotton waste biomass to ethanol: A critical review on pretreatment processes*. Waste and Biomass Valorization. 2017;8(1):57–68.

- Núñez, R. Á.; Pérez, B. R.; Hernández, R.; Nacional, U.; Francisco, E. & Perozos, N. A. L. *Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en Agave cocui Trelease*. Multiciencias. 2012;12(2):129–35.
- Sarabandi, K.; Gharehbeiglou, P. & Jafari, S. M. *Scanning electron microscopy (SEM) of nanoencapsulated food ingredients* [Internet]. Characterization of Nanoencapsulated Food Ingredients. Elsevier Inc.; 2020. 83–130 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-815667-4.00003-1>
- Vladár, A. E. & Hodoroaba, V. D. *Characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy* [Internet]. Characterization of Nanoparticles: Measurement Processes for Nanoparticles. Elsevier Inc.; 2019. 7–27 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-814182-3.00002-X>