

Obtención de azúcares fermentables vía hidrólisis subcrítica a partir de la cascarilla de café en una unidad de Laboratorio Batch

Obtaining fermentable sugars via subcritical hydrolysis from the coffee husk in a Batch Laboratory unit

Autora: Nataly Alejandra Manuela Valentina Castro Ferro¹

Dirección para correspondencia: natalmava@gmail.com

Recibido: 2019-01-28

Aceptado: 2019-04-17

Resumen

En Colombia, una de las economías más fuertes es el cultivo de café (Banco Mundial, 2012), que a su vez genera grandes cantidades de material orgánico (solo el 7% de la fruta corresponde al café consumible (Muñoz Ortega, L.G., 2015) que no se utiliza. De acuerdo con lo anterior, la cáscara de café presenta una oportunidad para su transformación para reducir los azúcares y un potencial contra la generación de bioetanol de segunda generación. Por este motivo, en esta investigación, el estudio se realizó mediante hidrólisis subcrítica a temperaturas entre 250-280 ° C, presiones entre 1500 y 2000 psi y tiempos de retención de 15 a 30 minutos en un reactor por lotes, lo que permitió un total de 8 muestras por medio. De la notación de Montgomery y 2 muestras intermedias, para conocer el porcentaje máximo de azúcares reductores que alcanzaría la cáscara de café dependiendo de las condiciones a las que estuvo expuesta cada muestra. Usando el método DNS (Gil, D., Bocourt, E., & Maqueira, Y., 2006), se encontró que el mayor porcentaje de azúcares (9.146%) fue el resultado de la prueba BC con una temperatura de 250 ° C, una presión de 2000 psi y un tiempo de reacción de 30 minutos, mientras que el porcentaje más bajo (4.5%) fue el resultado de la carrera 1 con una temperatura de 250 ° C, una presión de 1500 psi y un tiempo de retención de 15 minutos. El análisis de varianza desarrollado a través del programa MiniTab nos permitió

¹ Ingeniera Ambiental y Sanitaria. Integrante del Grupo de Investigación Consciencia, Ambiente + Educación de la Corporación Escuela Pedagógica Experimental. Bogotá. Colombia.

determinar que el tiempo y la combinación de temperatura y tiempo son los que tienen el mayor impacto en las carreras.

Palabras clave: bioetanol; café; azúcares reductores; hidrólisis subcrítica.

Abstract

In Colombia, one of the strongest economies is the cultivation of coffee (Banco Mundial, 2012), which in turn generates large amounts of organic material (only 7% of the fruit corresponds to consumable coffee (Muñoz Ortega, L.G., 2015) that is not used. According to the above, the coffee husk presents an opportunity for its transformation to reducing sugars and a potential against the generation of second generation bioethanol. For this reason in this investigation the study was carried out by subcritical hydrolysis at temperatures between 250-280 ° C, pressures between 1500 - 2000 psi and retention times 15 - 30 minutes in a batch reactor, which allowed a total of 8 samples by means of the Montgomery notation and 2 intermediate samples, to know the maximum percentage of reducing sugars that the coffee husk would reach depending on the conditions to which each sample was exposed. Using the DNS method (Gil, D., Bocourt, E., & Maqueira, Y., 2006), it was found that the highest percentage of sugars (9.146%) was the result of run BC with a temperature of 250 ° C, pressure of 2000 psi and reaction time of 30 minutes, while the lowest percentage (4.5%) was the result of run 1 with a temperature of 250 ° C, pressure of 1500 psi and retention time of 15 minutes. The analysis of variance developed through the MiniTab program allowed us to determine that the time and the temperature-time combination are the ones that have the greatest impact on the runs.

Keywords: bioetanol; coffee; reducing sugars; subcritical hydrolysis.

Introducción

La necesidad de la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero y la relación directa que tiene con el cambio climático han promovido la investigación de combustibles alternativos con el fin de reducir el uso de combustibles fósiles.

Como respuesta a esto aparecen los combustibles de segunda generación, que son aquellos que se producen a través de residuos lignocelulósicos y presentan la oportunidad de solución más promisorio debido a la gran cantidad de biomasa residual disponible. “Cultivos tales como el café, la caña de azúcar y el maíz generan cantidades considerables de residuos lignocelulósicos que no tienen ningún aprovechamiento” (Rodríguez, N., & Zambrano, D., 2010).

“En Colombia la producción de café es una de las más importantes para el país, debido a que ocupa un terreno de aproximadamente 3,3 millones de hectáreas y genera aproximadamente el 60% de las ganancias de exportaciones” (Banco Mundial, 2012). A pesar de que el proceso de recolección está tecnificado y se encuentran una gran cantidad de guías acerca del cultivo de café, no se tienen

propuestas que puedan ser implementadas por los caficultores para el aprovechamiento tecnificado de los residuos del café, impulsado hacia una producción limpia. Con respecto a la cadena productiva del café, la disposición de cascarilla en Colombia se realiza internamente en las fincas agrícolas debido a que el proceso de despulpado es realizado el mismo día de la recolección y el producto final es entregado a las grandes empresas después del secado. La cantidad de cascarilla de café que es generada tiene una aplicación máxima en la generación de compostaje y abono para las plantas. “De 1000 g de fruto maduro se producen 71g de café consumible y los 929 g restantes corresponden a diferentes productos para los cuales se están investigando tecnologías que permitan su valorización” (Rodríguez, N., & Zambrano, D., 2010). Una de las alternativas que se presentan es la utilización de hidrólisis para la generación de combustibles por métodos ácidos, básicos y enzimáticos, los cuales presentan ventajas y desventajas dependiendo de los materiales que se utilicen.

Metodología

Recolección de muestra y pre-experimental

La recolección de la cascarilla de café llevó a cabo en el cafetal de la hacienda La Arabia (Viotá- Cundinamarca), y se recolectó aquella cascarilla que contaba con un menor tiempo de descomposición (2 días), permitiendo tener un mayor aprovechamiento de los azúcares. Posteriormente a la recolección, su almacenamiento se dio en un congelador para permitir mantener las propiedades originales de la cascarilla, hasta el momento en el que se llevara a cabo la corrida.

Previo a las corridas no se realizó pretratamiento físico ni pretratamiento químico debido a que no se encontró en la bibliografía trabajos con cascarilla de café en hidrólisis subcrítica y se decidió evaluar en condiciones naturales.

Las condiciones propuestas para las corridas preliminares se presentan en la Tabla 1. Condiciones de experimentación. (Vanegas, A. L., & Rodríguez, J. D., 2016), puesto que son las condiciones con mejores resultados para la obtención de azúcares reductores (rendimiento del 20%) en un sistema de hidrólisis subcrítica, registradas en la literatura. Al iniciar las corridas preliminares y contrastar con los datos encontrados en la bibliografía con los resultados obtenidos se decidió utilizar los datos de la Tabla 1. Condiciones de experimentación. (Vanegas, A. L., & Rodríguez, J. D., 2016), para la fase experimental.

Tabla 1. Condiciones de experimentación. (Vanegas, A. L., & Rodríguez, J. D., 2016)

Temperatura (°C)	Presión (psi)	Tiempo de residencia (min)
250	1500	15
280	2000	30

Diseño experimental

Para el cálculo de las corridas que se realizaron se utilizó un diseño experimental 2^k . El diseño permite determinar que 2 es la cantidad de niveles que tiene cada factor que corresponde a alto y bajo y k las variables a tener en cuenta, a saber: (A) temperatura, (B) presión y (C) tiempo de reacción. En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, se presenta el diseño correspondiente al diseño factorial 2^3 , siendo este la guía para realizar las 8 corridas que son el resultado de todas las combinaciones posibles entre las variables.

En la Tabla 3. Modelo corridas experimentales, se presentan las combinaciones de las corridas con los valores correspondientes que serán evaluados. La relación utilizada de agua-cascarilla es de 33:1, que quiere decir que por cada 33 ml de agua destilada se ingresa 1 g de cascarilla de café.

Tabla 2. Modelo Montgomery

CORRIDA	T (°C)	P (psi)	T retención (min)
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1

Tabla 3. Modelo corridas experimentales

Corrida	Temperatura °C	Presión (psi)	Tiempo (min)
1	250	1500	15
A	280	1500	15
B	250	2000	15
AB	280	2000	15
C	250	1500	30
AC	280	1500	30
BC	250	2000	30
ABC	280	2000	30

Alimentación del reactor.

Para el cálculo de la cantidad de material y agua que se requerían para cada corrida, se utilizaron los valores presentador en la Tabla 4. Especificaciones del reactor.

Tabla 4. Especificaciones del reactor.

Diámetro interno (cm)	Largo (cm)	Área (cm^2)	Volumen (cm^3)
0,94	32,4	0,6940	22,49

Para la determinación de la cantidad de agua que se debía añadir al reactor en cada corrida, se utilizó el programa Steam Property, que basado en la temperatura y presión de cada corrida realizó el cálculo del volumen específico del agua $V \left(\frac{m^3}{kg} \right)$. El volumen específico dividido en el volumen del reactor presenta como resultado el volumen de agua de cada corrida, y por medio de la relación presentada (33:1) se calcula la cantidad de cascarilla de café. En la Tabla 5. Valores corridas, se presentan los valores obtenidos para cada corrida y el orden en el que serán realizadas, además se encuentran las corridas m1 y m2, que son clasificadas como corridas intermedias. En m1 se tomó valores medios de presión temperatura y tiempo y m2 fue un duplicado de m1, permitiendo determinar cuál puede ser el margen de error entre las corridas a las cuales no se les realizó duplicado. Este orden fue determinado aleatoriamente con el fin de disminuir el error de validez interna.

Una vez calculada la cantidad de biomasa y agua que deben ingresar al reactor se utiliza el Diagrama 1. Proceso de alimentación para indicar el procedimiento de alimentación del reactor.

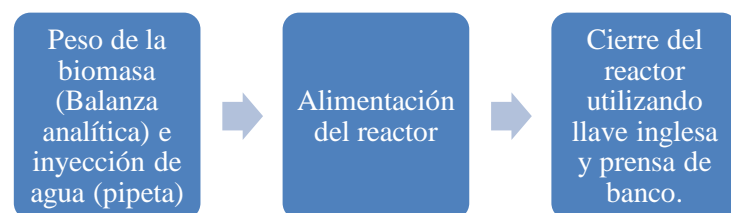


Diagrama 1. Proceso de alimentación

Mientras se realizaba el proceso de alimentación, se preparaba la termocupla con la temperatura que era requerida para cada una de las corridas, esta debía llegar a la temperatura mediante aumentos de $50^{\circ}C$ debido a que un aumento súbito de temperatura podría generar daños en el sistema. Posteriormente a la estabilización de la temperatura se introducida el reactor dentro del horno como se muestra en la Ilustración 1. Ingreso reactor al horno y finalmente era asegurado con broches externos.



Ilustración 1. Ingreso reactor al horno.

Tabla 5. Valores corridas.

Corridas	T °C	P (psi)	Tiempo (min)	V ml/g
B	250	2000	15	1,23
AC	280	1500	30	1,32
BC	250	2000	30	1,23
ABC	280	2000	30	1,31
C	250	1500	30	1,24
A	280	1500	15	1,32
AB	280	2000	15	1,31
1	250	1500	15	1,24
m1	265	1750	22,5	1,27
m2	265	1750	22,5	1,27

Corridas	V reactor (ml)	V (ml)	Cascarilla (g)
B	22,485	18,280	0,548
AC	22,485	17,034	0,511
BC	22,485	18,280	0,548
ABC	22,485	17,164	0,515
C	22,485	18,133	0,544
A	22,485	17,034	0,511
AB	22,485	17,164	0,515
1	22,485	18,133	0,544
m1	22,485	17,705	0,531
m2	22,485	17,705	0,531

Como se expuso anteriormente la temperatura se controlaba por medio de una termocupla, pero no existía ningún elemento que pudiera proporcionar la presión, debido a que ésta era proporcionada mediante el cálculo de la cantidad

de agua y biomasa que entraba en contacto a una temperatura determinada. Esto es debido a que en el momento en el que el agua comienza su proceso de calentamiento, se inicia un aumento de la energía cinética que existe en las moléculas, permitiendo que el agua se expanda y al mantener un volumen constante, se genere una presión, conocida como el principio de la bomba térmica.

Finalización de la corrida y toma de muestra

Concluida la corrida se abrió el horno y se retiró el reactor con pinzas, se dejó reposar en una superficie resistente al contacto con elementos que posean altas temperaturas, por un periodo de 5 a 10 min - este tiempo de espera permite que la mezcla que se encuentra dentro del reactor se estabilice. Finalizado el periodo de tiempo, el reactor se sometió a un baño con agua fría, para permitir que las reacciones que aún se encuentran en proceso sean detenidas. Cuando el reactor estabilizó su temperatura, se abrió utilizando una llave inglesa y se observó si ocurrió formación de gas. De igual manera, se verificó si se encontraba dentro del reactor biomasa que no había reaccionado. El líquido que se encontraba en el reactor fue almacenado en un tubo de ensayo, ya que este es el que contiene los azúcares reductores.

Resultados y discusión

En el Anexo 1, se presenta el registro fotográfico de los resultados que se obtuvieron al final de cada corrida, en el orden establecido. A continuación (Tabla 6. Características de las corridas), se presentan las características de cada una de las corridas.

Tabla 6. Características de las corridas

Corrida	Residuo líquido	Residuo sólido	Gas	Color (Café)
B	SI	SI	NO	Claro
AC	SI	NO	SI	Oscuro
BC	SI	SI	SI	Normal
ABC	SI	SI	NO	Oscuro
C	SI	SI	SI	Normal
A	SI	SI	SI	Claro
AB	SI	SI	SI	Claro
1	SI	SI	NO	Claro
m1	SI	SI	SI	Oscuro
m2	SI	SI	SO	Oscuro

El resultado de biomasa obtenido no se pesó debido a que contenía una alta humedad que distorsionaba el valor del peso exacto de la cantidad de cascarilla que reaccionó, sin embargo, se dejó secar y en el proceso se comenzó a endurecer impidiendo tener un punto de comparación con la cascarilla inicial que tenía una consistencia con una humedad perceptible. La presencia de gas se asocia con la presión a la que estaba sometida el sistema y al momento de abrir el reactor se liberó, debido a que en las condiciones en las que se encontraba el sistema no había cambio de fase a gas.

Curva de calibración

Para la utilización del método DNS, se hace necesario la construcción de una curva de calibración para relacionar la absorbancia obtenida con la concentración de azúcares reductores; para lo anterior se preparó un patrón de glucosa basado en la disolución de 0,1g de Glucosa en 100 ml de agua destilada obteniendo una concentración 1 mg/ml. (Vanegas, A. L., & Rodríguez, J.D., 2016)

Luego de obtener el patrón de glucosa, se calculó la curva de calibración en la que se evaluaban concentraciones que oscilaban entre 0,05 mg/ml hasta 0,5 mg/ml de glucosa. Cada una de las concentraciones reaccionaba con 1 ml de reactivo de DNS y se colocaban en el termorreactor NANOCOLOR a una temperatura de 100°C durante 15 minutos. Finalmente se procedió a medir la absorbancia de 540 nm con el espectrofotómetro NANOCOLOR 500 D; la asociación de los valores de absorbancia y las concentraciones dan lugar a la Tabla 7. Valores absorbancia, estos valores se grafican para encontrar la ecuación de la pendiente y de este modo poder encontrar las concentraciones de las muestras dependiendo de su absorbancia. Es importante recalcar que el ajuste a la curva debe ser mayor a 0,99.

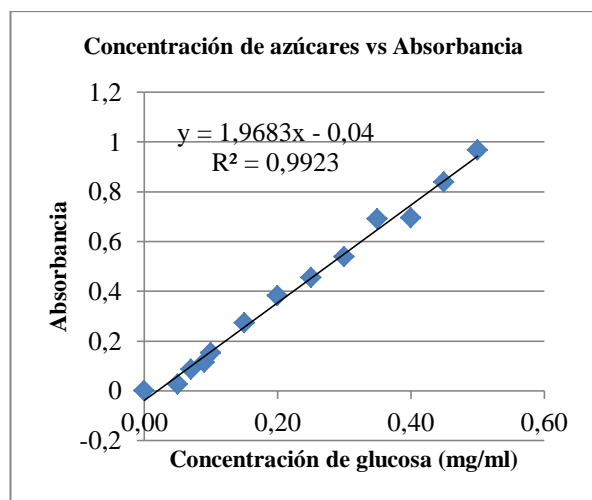
Tabla 7. Valores absorbancia

Número de muestra	Patrón de glucosa (μl)	Agua (μl)	Concentración de glucosa (mg/ml)	ABS (540 nm)
0	0	1000	0	0
1	50	950	0,05	0,026
2	70	930	0,07	0,085
3	90	910	0,09	0,113
4	100	900	0,1	0,151
5	150	850	0,15	0,272
6	200	800	0,2	0,381
7	250	750	0,25	0,455

8	300	700	0,3	0,537
9	350	650	0,35	0,689
10	400	600	0,4	0,694
11	450	550	0,45	0,838
12	500	500	0,5	0,967

Con los valores tabulados se realizó la curva de calibración que se muestra en la

Gráfica 1. Curva de calibración. Se puede observar que el ajuste de la curva es de 0,9923 y esto demuestra que el modelo se ajusta a un modelo de regresión simple, donde Y es la variable dependiente (Absorbancia) y X es la variable independiente (Concentración de glucosa).



Gráfica 1. Curva de calibración

Cálculo concentración de azúcares

Una vez obtenidas, a todas las muestras de azúcares reductores se les realizó una dilución de $\frac{1}{10}$, debido a que algunas presentaban colores oscuros que podrían impedir la lectura. A cada una de las diluciones se les agregó 1 mg de reactivo DNS y se le realizó vortex. Después se llevaron a una plancha de calentamiento en donde se encontraba un beaker con agua ya en estado de ebullición cuya temperatura era de 100°C. Se insertaron las muestras y se dio un tiempo de reacción de 15 minutos. Posteriormente las muestras se dejaron 5 minutos en una superficie fría, finalmente se llevaron a enfriamiento en un beaker con hielo por un periodo de 15 minutos.

Teniendo como base los valores de absorbancia promedio presentados en la

Tabla 8. Valores absorbancia, y la ecuación de la recta presentada en la

Gráfica 1. Curva de calibración, se calcula la cantidad de azúcares presentes en la muestra, despejando X (concentración de glucosa) y se reemplaza Y (Absorbancia) por los valores de absorbancia promedio de cada muestra.

Tabla 8. Valores absorbancia

Corrida	Abs 1 (540 nm)	Abs 2 (540 nm)	Abs Promedio(540nm)
B	0,285	0,283	0,284
AC	0,332	0,336	0,334
BC	0,500	0,5	0,500
ABC	0,364	0,363	0,364
C	0,463	0,459	0,461
A	0,385	0,386	0,386
AB	0,313	0,313	0,313
1	0,232	0,232	0,232
M1	0,329	0,330	0,330
M2	0,373	0,372	0,373

Los valores obtenidos para cada una de las corridas se presentan en la Tabla 9. Valores concentración, teniendo en cuenta la dilución mencionada anteriormente de $\frac{1}{10}$.

Tabla 9. Valores concentración

Corrida	Concentración azúcares (mg/ml)
B	1,646
AC	1,900
BC	2,743
ABC	2,050
C	2,545
A	2,162
AB	1,793
1	1,382
M1	1,877
M2	2,096

Teniendo en cuenta la concentración de azúcares, el volumen de agua que se agregó al reactor y la cantidad de biomasa, se calculó el porcentaje de azúcares reductores de cada una de las corridas., utilizando las siguientes ecuaciones:

$$P_a = C_a V_a$$

Dónde:

$$P_a = \text{Peso azúcar (mg)}$$

$$C_a = \text{Concentración de azúcar } \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right)$$

$$V_a = \text{Volumen de agua (ml)}$$

$$\%_a = \frac{P_a}{P_c}$$

Donde

$$\%_a = \text{Porcentaje de azúcares reductores}$$

$$P_c = \text{Concentración de azúcar } \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right)$$

El valor de porcentaje de azúcares reductores para cada una de las corridas se presenta en la Tabla 10. Porcentaje de azúcares reductores. Cabe mencionar que la corrida con mayor porcentaje de azúcares reductores fue la corrida BC con una temperatura de 250°C, presión de 2000 psi y tiempo de reacción de 30 minutos. De la misma forma se analiza que el menor porcentaje de azúcares se obtuvo en la muestra 1 a una temperatura de 250°C, 1500 psi y tiempo de retención 15 minutos. Por lo tanto, se puede deducir que la intensidad del color y el olor puede ser un indicador para la cantidad de azúcares reductores que tenga la muestra.

Tabla 10. Porcentaje de azúcares reductores.

Corridas	Concentración azúcares (mg/ml) CFD	Volumen de agua (ml)	Peso de azúcar (mg)	Peso de Cascarilla (mg)	Porcentaje de azúcares reductores
B	1,646	18,280	30,091	548,411	5,487
AC	1,900	17,034	32,367	511,020	6,334
BC	2,743	18,280	50,152	548,411	9,145
ABC	2,050	17,164	35,186	514,920	6,833
C	2,545	18,133	46,155	543,989	8,484
A	2,162	17,034	36,823	511,020	7,206
AB	1,793	17,164	30,782	514,920	5,978
1	1,382	18,133	25,058	543,989	4,606
m1	1,877	17,705	33,236	531,138	6,258
m2	2,096	17,705	37,104	531,138	6,986

De acuerdo con la sustentación teórica que han reportado otros autores, la cascarilla de café contiene un porcentaje de celulosa y hemicelulosa de 40% aproximadamente (Morales, O., 2015), a pesar de que hay una cantidad de glucosa que se puede formar a partir de la celulosa, se deduce que el máximo

porcentaje de azúcares reductores resultante en este estudio es en cierto modo favorable con respecto al contenido de hemicelulosa contenida en la materia prima.

La diferencia entre el porcentaje propuesto y el porcentaje encontrado es del 30,9%, permitiendo determinar que las condiciones evaluadas a pesar de dar buenos resultados, no corresponden a las ideales para el tratamiento. Cabe resaltar que después de las corridas se encontró en la mayoría residuos de biomasa que no reaccionaron durante la corrida y que por lo tanto pueden generar el margen de diferencia. En la Tabla 10. Porcentaje de azúcares reductores, se puede analizar que a mayores tiempos de reacción, se obtenían porcentajes de azúcares más altos, por lo tanto se podría proponer evaluar las corridas en un tiempo de reacción que se encuentra entre 45-60 minutos. En cuanto a los parámetros de temperatura y presión no se encontró un patrón que determinará cuál de los valores propuestos da como resultado un mayor porcentaje de azúcares, indicando que estos son los valores necesarios para realizar la hidrólisis en la cascarilla de café.

Análisis de varianza

Para el análisis de los resultados se utilizó el programa Minitab 15, ya que cuenta con herramientas básicas y avanzadas para el análisis estadístico. Al usar este programa es necesario organizar los datos de temperatura, presión, tiempo y porcentaje de azúcares recuperados, siguiente a esto se crea el diseño factorial con dos niveles (alto y bajo). Una vez obtenido el diseño factorial se genera la Tabla 11. Análisis de varianza.

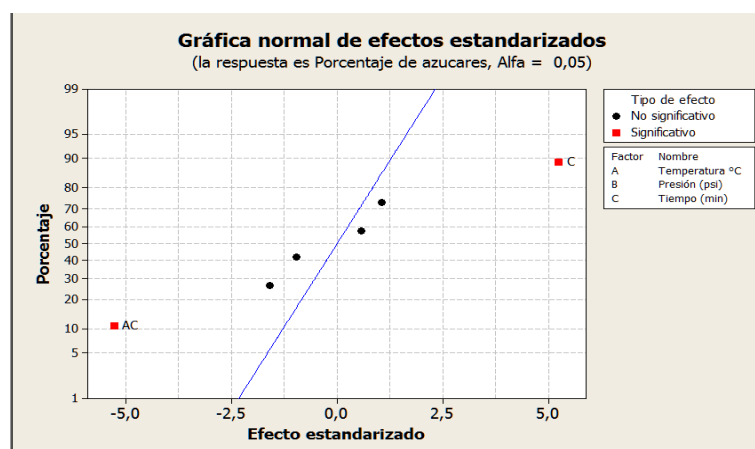
Tabla 11. Análisis de varianza

Término	Efecto	Coeficiente	Coeficiente de EE	T	P
Temperatura °C (A)	- 0,3429	-0,1715	0,1791	- 0,96	0,409
Presión (psi) (B)	0,2032	0,1016	0,1791	0,57	0,61
Tiempo (min) (C)	1,8798	0,9399	0,1791	5,25	0,013
A*B	- 0,5673	-0,2837	0,1791	- 1,58	0,211
A*C	- 1,8883	-0,9441	0,1791	- 5,27	0,013
B*C	0,3768	0,1884	0,1791	1,05	0,37
S= 0,506474	PRESS= 21,298				
R ^{cua} = 95,25%	R cuad. (pred) = 0,0%		R cuad (ajustado)= 85,76%		

La Tabla 11. Análisis de varianza, expone los valores de que son estadísticamente significativos para cada factor e interacciones analizadas y

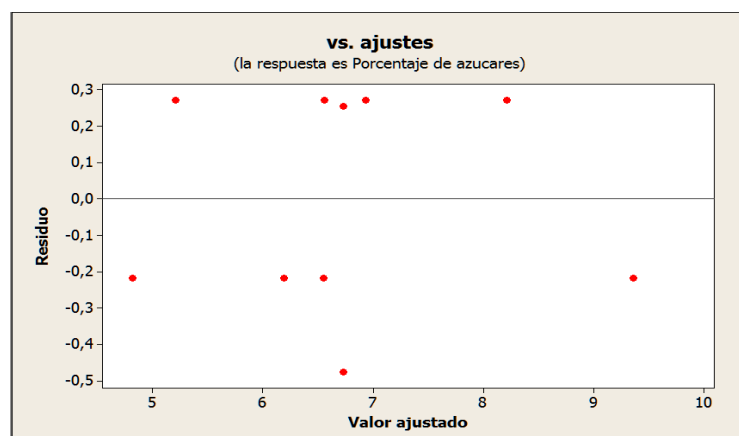
son representados por la letra P. Para el rango de significancia se utilizaron menores a 0,05 o cercanos a cero, ya que si se encuentra por encima de este quiere decir que el proyecto no rechaza la hipótesis nula. En los valores encontrados para P los términos que cumplen con el rango de significancia son tiempo (C) y la relación tiempo- temperatura (A-C) y que son significativas con respecto a la producción de azúcares reductores.

En la Gráfica 2. Gráfica normal de efectos estandarizados, se puede reafirmar la magnitud y significancia estadística de los efectos principales actuando individualmente y en sus interacciones, siendo C (tiempo) y AC (tiempo-temperatura) efectos significativos positivos. De forma contraria los factores A (Temperatura) y B (Presión) y sus interacciones AB (Temperatura-Presión), BC (Presión-Tiempo) tienen un efecto no significativo en el proceso de obtención de azúcares.



Gráfica 2. Gráfica normal de efectos estandarizados

De igual manera en la Gráfica 3. Valores ajustados vs Valores residuales, se muestra un patrón aleatorio de residuales a ambos costados del cero, sin ningún patrón reconocible, esto permite determinar que el modelo es correcto, así como satisfactorios los supuestos tomados para desarrollar esta investigación.

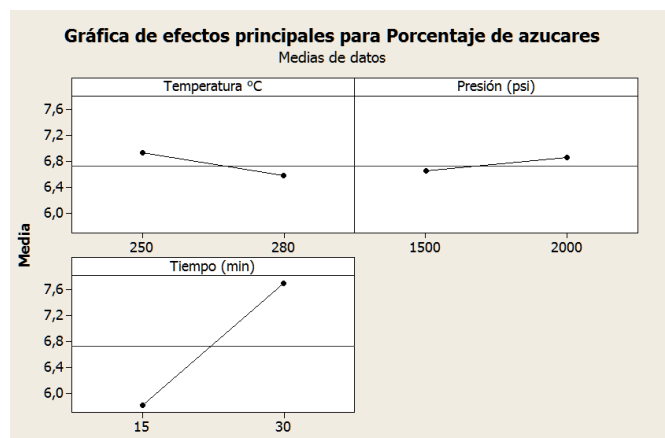


Gráfica 3. Valores ajustados vs Valores residuales

Según lo que se presenta en la Gráfica 4. Efectos principales, en la hidrólisis subcrítica de la cascarilla de café para la obtención de azúcares reductores se determina que:

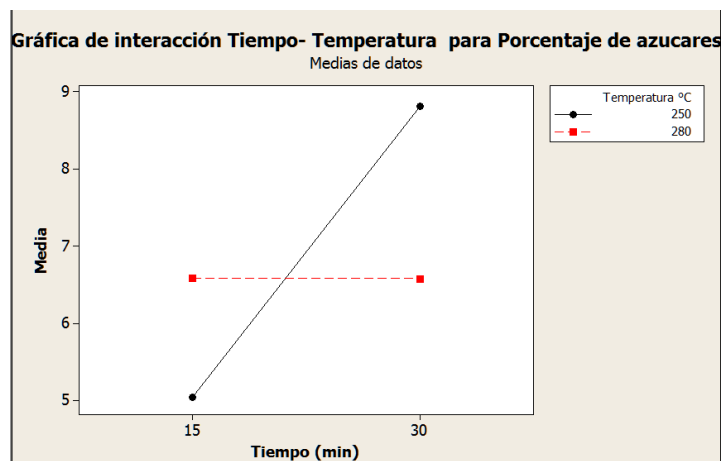
- Para un rango de temperatura entre 250- 280°C, a medida que aumenta la temperatura disminuye el porcentaje de azúcares reductores encontrados en la muestra.
- Para un rango de presión entre 1500-2000 psi, a medida que aumenta la presión se tiene un aumento en la producción de azúcares.
- Para un tiempo entre 15-30 minutos, a medida que aumenta el tiempo se tiene un aumento en la producción de azúcares.

Sin embargo, cabe aclarar que la temperatura y la presión como factores independientes no tienen un cambio significativo con respecto al eje y, esto permite afirmar que las corridas se pueden generar en el nivel alto o bajo y este no tendrá un efecto considerable en el porcentaje de azúcares producidos.

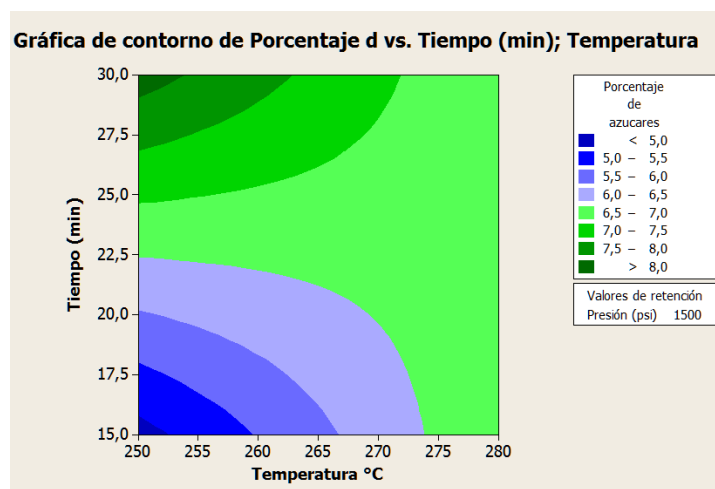


Gráfica 4. Efectos principales

Los efectos principales no tienen mayor relevancia cuando hay interacciones importantes involucradas (Montgomery, D.,2001). De modo que se analizó la interacción AB (Tiempo- Temperatura) mediante las siguientes gráficas. La Gráfica 5. Interacción tiempo- temperatura. indica que a medida que aumenta el tiempo en la hidrólisis subcrítica para la obtención de azúcares fermentables y se utiliza una temperatura de 250°C se obtienen mejores resultados en los porcentajes de azúcares recolectados. Esto se puede generar debido a que a una temperatura menor (250°C) se inicia la producción de los azúcares y se mantiene constante, mientras que en una temperatura mayor (280°C) inicia la producción y puede existir un cruce con la degradación haciendo que la obtención de azúcares disminuya. Esto se puede verificar en la Gráfica 6. Contorno tiempo- temperatura, en donde el menor porcentaje de azúcares se encuentra en colores azules y se sitúa hacia temperaturas y tiempos menores, mientras que el mayor porcentaje de azúcares se encuentra representado en color verde y se localiza hacia menores temperaturas pero tiempos mayores.



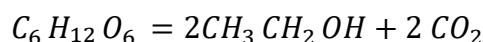
Gráfica 5. Interacción tiempo- temperatura.



Gráfica 6. Contorno tiempo- temperatura

Bioetanol

El proceso de la producción de bioetanol comienza con un pretratamiento al momento de ser a grande escala para permitir una hidrólisis más rápida, en está los puentes glucosidicos se rompen y cada molécula de glucosa gana una molécula de agua generando los azúcares reductores. Cuando los azúcares son obtenido se someten a un proceso de fermentación con el cual se obtiene etanol por medio de levaduras que se puede resumir estequiometricamente en la siguiente ecuación



El peso molecular de la glucosa es de 180 g y cada molécula de glucosa da origen a dos moléculas de etanol (peso molecular 46 g) y dos moléculas de CO_2 (peso molecular 44 g) con lo que la glucosa se transforma en etanol con una eficiencia teórica del $\frac{2 \cdot 46}{180} = 0.51$

Teniendo en cuenta que el peso mayor de azúcares fue de 50,152 mg, este será el utilizado para calcular la cantidad de etanol que se produce por medio de la fermentación.

Cálculo de etanol

$$50,152 \text{ mg } C_6 H_{12} O_6 * \frac{1 \text{ mol } C_6 H_{12} O_6}{180 \text{ mg } C_6 H_{12} O_6} * \frac{2 \text{ moles } CH_3 CH_2 OH}{1 \text{ mol } C_6 H_{12} O_6} * \frac{46 \text{ mg } CH_3 CH_2 OH}{1 \text{ mol } CH_3 CH_2 OH} = 25,6 \text{ mg}$$

A continuación la aproximación teórica de la cantidad de etanol producida por 1 kg de cascarilla de café:

$$1 * 10^6 \text{ mg de cascarilla de café} * \frac{50,152 \text{ mg } C_6 H_{12} O_6}{548,11 \text{ mg cascarilla de café}} * \frac{25,6 \text{ mg } CH_3 CH_2 OH}{50,152 \text{ mg } C_6 H_{12} O_6} * \frac{1 \text{ kg } CH_3 CH_2 OH}{1 * 10^6 \text{ mg } CH_3 CH_2 OH} = 0,046 \text{ kg } CH_3 CH_2 OH$$

Se toma la densidad del etanol como $0,79 \frac{g}{cm^3}$

$$0,046 \text{ kg } CH_3 CH_2 OH * 0,79 \frac{g}{cm^3} * \frac{1000 \text{ cm}^3}{1 \text{ lt}} * \frac{1 \text{ kg}}{1000g} = 0,036 \text{ lt } CH_3 CH_2 OH$$

Por lo tanto, se encontró que 1 kg de cascarilla de café puede generar 0,036 lt de etanol, teniendo el máximo rendimiento presentado en esta investigación que corresponde al 9%, cabe resaltar que este porcentaje podría ser incrementado al realizar el análisis en una planta de producción que permitiera tener tiempo de reacción más largos o que permitiera tener un pretratamiento. Se tiene una producción de cisco o cascarilla de café de $227 \frac{kg}{ha*año}$ (Rodríguez, N., & Zambrano, D., 2010) permitiendo obtener $8,24 \frac{lt \text{ de etanol}}{ha*año}$, comparado con la caña de azúcar que produce $1801,2 \frac{lt \text{ de etanol}}{ha*año}$ (Delgado, J. E., Salgado, J. J., & Perez, R., 2015), se encuentra una de $1799,16 \frac{lt \text{ de etanol}}{ha*año}$ de diferencia, sin embargo la cantidad de biomasa que se utiliza para la generación de la hidrólisis tiene una variación grande, debido a que en la caña de azúcar se utiliza todo el cultivo, mientras que para la cascarilla la cantidad obtenida por hectárea es menor, además mejorando las condiciones de la hidrólisis se puede llegar a acercar a esta producción.

Conclusiones

La metodología experimental utilizada con un diseño factor de dos niveles (Bajo y alto) con variables de temperatura, presión y tiempo de residencia, permitió evaluar el efecto combinado de las variables para la obtención de azúcares reductores a partir de la hidrólisis subcrítica en el proceso batch utilizado con un total de 8 corridas obtenidas y 2 corridas intermedias propuestas como duplicado.

El mejor resultado de producción de azúcares para la cascarilla del café se obtuvo en la corrida BC (número 3), la cual bajo condiciones de temperatura (250°C), presión (2000 psi) y tiempo de residencia (30 minutos), permitieron la mayor transformación de material lignocelulósico en jugo fermentable en un porcentaje de 9,145% y una concentración de 2,545 $\frac{\text{mg de azúcar}}{\text{ml de hidrolizado}}$.

Se determina que el color y el olor de cada muestra pueden ser representativos en la concentración de azúcares que tendrá cada muestra, ya que a medida que el olor es más fuerte y el color más oscuro se tiene una mayor concentración de azúcares, sin embargo, cabe resaltar que cuando se tienen colores muy oscuros puede estar ocurriendo una carbonización de la biomasa y por lo tanto se estarían perdiendo azúcares.

A pesar de no contar con registros de porcentaje de azúcares recuperados a partir de la cascarilla de café por hidrólisis subcrítica u otro tipo de hidrólisis se puede comparar el mejor porcentaje de azúcares reductores de 9,1% obtenido en esta investigación con el porcentaje de celulosa y hemicelulosa (determinantes de la cantidad de azúcares que se obtienen), que contiene la cascarilla de café que es del 40% (Morales, O., 2015). A pesar de tener una diferencia de 30,9% se determinó que se requiere un pretratamiento para la cascarilla que permita obtener un residuo menor al presentado en cada una de las corridas y tener un mayor porcentaje de azúcares.

El análisis estadístico permitió determinar que a mayor tiempo de reacción y una temperatura de 250°C se dan las condiciones óptimas para la obtención de azúcares reductores. Esto se puede dar debido a que a mayores temperaturas los azúcares comienzan una degradación durante el proceso de hidrólisis disminuyendo el porcentaje de azúcares recuperados. El parámetro de presión no se encontró significativo, lo que permite trabajar en rangos altos y bajos sin tener un impacto en la cantidad de azúcar recuperado.

Es de gran importancia implementar pretratamientos que permitan la disminución de tamaño de partícula de la cascarilla del café, para lograr obtener una mayor área de contacto entre el agua que está siendo hidrolizada y la cascarilla. Sin embargo, se deben evaluar los rangos de disminución óptimos para evitar pérdidas de biomasa al momento de la alimentación del reactor.

La cascarilla de café a pesar de tener residuos sólidos después de las corridas dio un porcentaje de azúcares aceptable, por tal motivo se deben buscar otras metodologías de hidrólisis que abarquen las ácidas, básicas o enzimáticas para que todo el material lignocelulósico que se encuentra en la cascarilla de café pueda ser convertido en jugo fermentable y tenga mayor porcentaje de azúcares reductores, para que de este modo se presente como una propuesta más fuerte frente a la utilización de caña de azúcar como principal biocombustible.

Debido a la poca información que se tiene acerca de hidrólisis aplicada en cascarilla de café, no se pudo generar una comparación en donde se evaluara si la concentración obtenida fue alta o baja, por lo tanto, se deben desarrollar otro

tipo de proyectos en diferentes condiciones y de este modo determinar cuál es el máximo porcentaje de azúcares que se pueden recuperar a partir de la cascarilla del café.

Se propone poder generar una deshidratación tanto a la cascarilla inicial como al residuo que se genera en la corrida y de este modo determinar cuanta cantidad de cascarilla no pudo reaccionar, para ser evaluada en conjunto con la cantidad de azúcares reductores.

La hidrólisis subcrítica por método semicontinuo puede presentar mejores condiciones para la obtención de azúcares fermentables debido a que permite disminuir el tiempo de retención al poder evaluar temperaturas y presiones mayores.

Utilizar tiempos de reacción mayores a 30 minutos para evaluar la cantidad de azúcares máximos que pueden ser recuperados a temperaturas de 250°C, de la misma forma determinar cuál es el tiempo máximo para que en el proceso de hidrólisis subcrítica comience la degradación de azúcares.

Referencias bibliográficas

Banco Mundial. (2012). Estudio del Sector cafetero en Colombia. *Federación Nacional de Cafeteros*. Retrieved from <https://www.federaciondecafeteros.org/static/files/art18.pdf>

Delgado, J. E., Salgado, J. J., & Perez, R. (2015). Perspectivas de los biocombustibles en Colombia. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 14(27), 13–28. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-33242015000200002&lang=pt

Fan, L. T., Gharpuray, M. ., & Lee, Y. H. (2003). *Cellulose hydrolysis. Biotechnology monographs. Springer-Verlag* (Vol. 3).

Gil, D., Bocourt, E., & Maqueira, Y. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico.

Gómez, C., Calderón, Y. A., & Álvarez, H. (2008). Construcción de modelos semifísicos de base fenomenológica. Caso proceso de fermentación. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 6(2), 28–39.

Gómez, O. (2012). Síntesis de carbonato de glicerol a partir de glicerol, CO₂ y sus derivados., 209.

Herrera, B., Leyva, S., Ortiz, V., Cardenas, J. F., & Garzon, E. (2009). Biocombustibles en Colombia. *Report*, 22.

Mendoza, E., Castro, E., Evangelista, E., Cruz, C., & Gonzalez, J. (2016). Drogas en carbohidratos: monosacáridos, oligosacáridos. análisis de miel de abeja.

Montgomery, D. (2001). *Design and analysis of experiment. Wiley*

Morales, O. (2015). “ *Etanol Lignocelulósico , a Partir De Cascarilla De Café , Por Medio De Hidrólisis Química-Enzimática Y Fermentación .*” Universidad Veracruzana.

Muñoz Ortega, L. G. (Federación N. de C. de C. (2015). Ensayos sobre Economía cafetera. *Ensayos Sobre Economía Cafetera*, (30), 1–128. Retrieved from <https://www.federaciondecafeteros.org/static/files/EEC30.pdf>

Okajima, I., & Sako, T. (2014). Energy conversion of biomass with supercritical and subcritical water using large-scale plants. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 117(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.06.010>

Prado, J. M., Forster-Carneiro, T., Rostagno, M. A., Follegatti-Romero, L. A., Maugeri Filho, F., & Meireles, M. A. A. (2014). Obtaining sugars from coconut husk, defatted grape seed, and pressed palm fiber by hydrolysis with subcritical water. *Journal of Supercritical Fluids*, 89, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.02.017>

Rodríguez, N., & Zambrano, D. (2010). Los subproductos del café: fuente de energía renovable. *Avances Técnicos Cenicafe*, (3), 8. <https://doi.org/ISSN-0120-0178>

Rodríguez, N., Sanz, J. R., Oliveros, C. E., & Ramírez, C. A. (2015). Beneficio del café en Colombia. Prácticas y estrategias para el ahorro, uso eficiente del agua y el control de la contaminación hídrica en el proceso de beneficio húmedo del café. *Beneficio Del Café En Colombia*. Retrieved from <http://www.cenicafe.org/es/publications/Beneficio-del-cafe-en-Colombia.pdf>

Rolz, C., & De Leon, L. (2010). Producción de etanol directamente de caña de azúcar en diferente estado de desarrollo. *Universidad Valle de Guatemala*, 69.

Romero Salvador, A. (2010). Aprovechamiento De La Biomasa Como Fuente De Energía Alternativa a Los Combustibles Fósiles. *Rev.R.Acad. Cienc.Exact.Fís.Nat(Esp)*, 104, 331–345.

Salomone, E. (1999). CAPÍTULO XIX MÉTODOS , ESTRUCTURAS Y MODELOS PARA LA SIMULACIÓN DE PROCESOS. *Libro*, 741–766.

Sánchez, S. (2003). Energías renovables. *WWT - Fundacion Natura*, 153.

Suárez, J. (2012). *Aprovechamiento de los residuos sólidos provenientes del beneficio de café, en el municipio de Betania Antioquia: Usos y aplicaciones*. Retrieved from http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/627/1/APROVECHAMIENTO_RESIDUOS_SOLIDOS_BENEFICIO_CAFE.pdf

Vanegas, A. L., & Rodríguez, J. D. (2016). *Obtención de azúcares fermentables por medio de hidrólisis subcrítica en una unidad de laboratorio semicontinua, a partir de la hoja de maíz (zea mays)*.

Anexo 1



(B) T= 250°C P=2000 psi Tiempo= 15 min



(AC) T= 280°C P= 1500 psi Tiempo= 30 min



(BC) T= 250°C P=2000 psi Tiempo= 30 min



(ABC) T= 280°C P=2000 psi Tiempo= 30 min



(C) T= 250°C P= 1500 psi Tiempo= 30 min



(A) T= 280°C P= 1500 psi Tiempo= 15 min



(AB) T= 280°C P= 2000 psi Tiempo= 15 min



(1) T= 250°C P= 1500 psi Tiempo= 15 min



(m1) T= 265°C P=1750 psi Tiempo= 22.5 min



(m2) T= 265°C P=1750 psi Tiempo= 22.5 min

