

Información Importante

La Universidad Santo Tomás, informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea de la Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan **finalidad académica**, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el Artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, la Universidad Santo Tomás informa que “los derechos morales sobre documento son propiedad de los autores, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables”

Bibliotecas Bucaramanga
Universidad Santo Tomás

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE VARIOS RESIDUOS
AGROINDUSTRIALES Y SUS MEZCLAS PARA LA PRODUCCIÓN DE
BIOCOMBUSTIBLES**

ANA BEATRIZ ÁLVAREZ HINCAPIÉ

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
FACULTAD DE QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2016**

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE VARIOS RESIDUOS
AGROINDUSTRIALES Y SUS MEZCLAS PARA LA PRODUCCIÓN DE
BIOCOMBUSTIBLES**

Estudiante:
ANA BEATRIZ ÁLVAREZ HINCAPIÉ

Directora del Proyecto
OLGA LUCÍA BAYONA AYALA
Química *M.Sc*

Co-directora
ANGÉLICA MARÍA CANDELA SOTO
Química *M.Sc, Ph.D*

UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
FACULTAD DE QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2016

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

BUCARAMANGA, 25 DE AGOSTO DE 2016

DEDICATORIA

“La vida no es lo que uno vivió, sino lo que recuerda, y cómo la recuerda para contarla”

Gabriel García Márquez

Para ellos, mi familia, lo que más amo, mis papas, José, Lucía y Gabriel, que en todo momento han estado presentes, infinitas gracias y amor incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mis papás y mis hermanos por la paciencia y el amor durante este proceso.

A mis directoras de tesis Olga y Angélica, gracias por haberme dado la confianza y tenerme en cuenta para trabajar junto a ustedes en este proyecto, sobre todo la paciencia que han tenido en este tiempo.

A mis amigos que de una u otra manera me han acompañado y apoyado en estos años.

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
2. JUSTIFICACIÓN	21
3. OBJETIVOS	22
3.1. Objetivo General	22
3.2. Objetivos Específicos	22
4. MARCO DE REFERENCIA	23
4.1. MARCO TEÓRICO	23
4.1.1. Biomasa Lignocelulósica	23
4.1.2. Composición de la Biomasa Lignocelulósica	23
4.1.3. Bagazo de Caña de Azúcar:	26
4.1.4. Cascarella de Café	30
4.1.5. Producción de Bioetanol	33
4.1.6. Técnicas Instrumentales	35
4.1.7. Laboratorio Nacional de Energía Renovable (<i>National Renewable Energy Laboratory</i> , NREL)	37
4.2. MARCO DE ANTECEDENTES	37
5. DISEÑO METODOLÓGICO	43
5.1. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA DE LOS DOS RESIDUOS ORGÁNICOS (BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR, CASCARILLA DE CAFÉ) Y DE LA MUESTRA PROBLEMA (MEZCLA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y LA CASCARILLA DE CAFÉ)	45
5.1.1. Determinación de la humedad	45
5.1.2. Determinación de las cenizas	45
5.1.3. Cuantificación de extractivos	46
5.1.4. Preparación de la muestra para determinación de azúcares reductores	46
5.1.5. Análisis de la lignina insoluble en ácido	47
5.1.6. Análisis de la lignina soluble en ácido	47

5.1.7.	Análisis de una muestra para carbohidratos estructurales	48
5.2.	CARACTERIZACIÓN DE LOS DOS RESIDUOS ORGÁNICOS (BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y CASCARILLA DE CAFÉ) Y DE LA MUESTRA PROBLEMA (MEZCLA DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y LA CASCARILLA DE CAFÉ)	49
5.2.1.	Caracterización mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) ...	49
5.2.2.	Caracterización mediante difracción de Rayos – X (DRX)	49
5.2.3.	Caracterización mediante Espectroscopía Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)	50
5.3.	DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL TEÓRICO DE LA MUESTRA (MEZCLA DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y CASCARILLA DE CAFÉ) PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN	50
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
6.1.	DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR, LA CASCARILLA DE CAFÉ Y SUS RESPECTIVAS MEZCLAS	53
6.1.1.	Determinación del porcentaje de humedad	53
6.1.2.	Determinación del porcentaje de cenizas	53
6.1.3.	Determinación del porcentaje de extractivos	54
6.1.4.	Determinación del porcentaje de lignina total	55
6.1.5.	Determinación de azúcares reductores totales	56
6.2.	DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL TEÓRICO DE LA MUESTRA (MEZCLA DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y CASCARILLA DE CAFÉ) PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN	60
6.3.	ANÁLISIS MORFOLÓGICO DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR, LA CASCARILLA DE CAFÉ Y SUS MEZCLAS MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)	61
6.4.	ANÁLISIS DEL ÍNDICE DE CRISTALINIDAD DE LA CELULOSA	63
6.5.	ANÁLISIS DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	65
7.	CONCLUSIONES	68
8.	DIVULGACIÓN DE RESULTADOS	70
	BIBLIOGRAFÍA	71
	ANEXOS	77

LISTA DE CUADROS

pág.

Cuadro 1. Consumo energético mundial de los combustibles fósiles y las energías renovables (en determinados sectores) durante 2014 – mayo 2016	17
Cuadro 2. Composición química del bagazo de caña de azúcar	27
Cuadro 3. Composición química de la cascarilla de café	32
Cuadro 4. Resultados de Huang y col. de la composición química del bagazo de caña de azúcar (antes y después de ser pretratada) y la pulpa de caña de azúcar	38
Cuadro 5. Resultados Choi y col. de la composición química de los residuos de las frutas	39
Cuadro 6. Caracterización fisicoquímica del salvado de trigo realizada por Cripwell y col	40
Cuadro 7. Resultados de Schmitt y col. de la caracterización química de los residuos lignocelulósicos	41
Cuadro 8. Resultados de la caracterización fisicoquímica de la biomasa realizada por Kallioinen y col.....	41
Cuadro 9. Resultados encontrados por Velmurugan y col. de la caracterización fisicoquímica del bagazo de caña de azúcar antes y después del pretratamiento	42
Cuadro 10. Protocolos NREL	44
Cuadro 11. Equipos utilizados en la investigación	44
Cuadro 12. Resultados porcentaje de humedad	53
Cuadro 13. Resultados porcentaje de cenizas	54
Cuadro 14. Resultados porcentaje de extractivos	55
Cuadro 15. Resultados lignina insoluble en ácido, lignina soluble en ácido y lignina total	56
Cuadro 16. Resultados porcentaje de azúcares reductores totales	59
Cuadro 17. Resultados caracterización de las biomasa y sus mezclas	60
Cuadro 18. Índices de cristalinidad (IC) para el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café	63
Cuadro 19. Bandas vibracionales de los compuestos lignocelulósicos.....	66

LISTA DE FIGURA

	pág.
Figura 1. Producción del petróleo en el mejor y peor de los casos	16
Figura 2: Estructura primaria de la celulosa	23
Figura 3: Estructura general de una hemicelulosa	24
Figura 4: Estructura de los monómeros de la lignina	25
Figura 5. Bagazo de caña de azúcar	26
Figura 6. Mapamundi de la producción de caña de azúcar	28
Figura 7. Mapa del sector azucarero y panelero colombiano	29
Figura 8. Mapa zona cafetera colombiana	31
Figura 9. Mapamundi producción de café	31
Figura 10. Partes del fruto del café	32
Figura 11. Ubicación de las plantas productoras de bioetanol en Colombia	34
Figura 12. Metodología planteada	43
Figura 13. Rendimiento teórico de la producción de etanol por hectárea	51
Figura 14. Cultivo de caña de azúcar y almacenamiento de bagazo de caña de azúcar, finca Bore Sur.	52
Figura 15. Cultivo de café y almacenamiento de la cascarilla de café, hacienda El Roble.	52
Figura 16. Curva de calibración para la determinación de glucosa en la muestra	57
Figura 17. Curva de calibración para la determinación de celobiosa en la muestra	57
Figura 18. Curva de calibración para la determinación de xilosa en la muestra ...	58
Figura 19. Curva de calibración para la determinación de arabinosa en la muestra	58
Figura 20. Micrografías de las biomasas: (a) Bagazo de caña de azúcar; (b) Cascarilla de café; (c) Mezcla 50:50	62
Figura 21. Difractograma del bagazo de caña de azúcar	64
Figura 22. Difractograma de la cascarilla de café	64
Figura 23. Espectro de FTIR del bagazo de caña de azúcar	67
Figura 24. Espectro de FTIR de la mezcla de las biomasas 50:50 (bagazo de caña de azúcar:cascarilla de café)	67

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Determinación de humedad	45
Ecuación 2. Determinación de cenizas	46
Ecuación 3. Determinación de extractivos	46
Ecuación 4. Determinación cantidad lignina insoluble en ácido (LIA).....	47
Ecuación 5. Determinación cantidad lignina soluble en ácido	48
Ecuación 6. Determinación lignina.....	48
Ecuación 7. Determinación del índice de cristalinidad.....	49
Ecuación 8. Ecuación de la recta (Determinación de la concentración de cada azúcar).....	59
Ecuación 9. Determinación porcentaje de ART	59

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo 1. Cromatogramas muestra bagazo de caña de azúcar	77
Anexo 2. Cromatogramas cascarilla de café.....	78
Anexo 3. Cromatogramas mezcla 50:50	80
Anexo 4. Cromatogramas mezcla 70:30	81
Anexo 5. Cromatogramas mezcla 90:10	83
Anexo 6. Cromatograma blanco.....	84

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

°C	Grados centígrados
ART	Azúcares reductores totales
CO ₂	Dióxido de carbono
cm	Centímetros
DRX	Difracción de rayos X
EI	Efecto invernadero
GEI	Gases de efecto invernadero
HPLC	<i>“High Performance Liquid Chromatography”</i> por sus siglas en inglés
IPCC	<i>“Intergovernmental Panel on Climate Change”</i> por sus siglas en inglés
IR	Infrarrojo
KBr	Bromuro de potasio
Kg	Kilogramos
kV	Kilovoltio
LIA	Lignina insoluble en ácido
LSA	Lignina soluble en ácido
mg	Miligramos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
nm	Nanómetros
NREL	<i>“National Renewable Energy Laboratory”</i> por sus siglas en inglés
SEM	<i>“Scanning Electron Microscope”</i> por sus siglas en inglés

GLOSARIO

BAYAS DE CAFÉ: Fruto de la planta del café. Las semillas dentro de estas son los granos con los cuales se hace el café.¹

BIOCOMBUSTIBLE: son un tipo de combustible alternativo (reemplazo) de los combustibles fósiles, con ventajas tales como sostenibilidad ambiental y buena adaptabilidad. Los biocombustibles se derivan de la biomasa. El bioetanol y biodiesel son los biocombustibles más usados alrededor del mundo.²

BIODEGRADABILIDAD: materiales que tienen la capacidad de descomponerse en los elementos químicos que lo conforman.³

ENLACES GLUCOSÍDICOS: son formados a partir de la unión de dos azúcares simples mediante una reacción de deshidratación, formando disacáridos o polisacáridos.⁴

HEXOSA: monosacárido con seis átomos de carbono en su estructura, su fórmula general es $C_6H_{12}O_6$.⁵

LLUVIA ÁCIDA: fenómeno producido por la combustión de combustibles fósiles, dióxidos de azufre y óxidos de nitrógeno. La lluvia ácida produce depósitos de componentes ácidos (húmedos y secos), lo cual causa una gran contaminación ambiental.⁶

PANELA: azúcar no refinado obtenido a partir del jugo de la caña de azúcar el cual es sometido a una cocción en altas temperaturas hasta la formación de una melaza, la cual se pasa a unos moldes para dejar secar hasta que ésta se encuentre sólida.⁷

PENTOSA: monosacárido con cinco átomos de carbono en su estructura, su fórmula general es $C_5H_{10}O_5$.⁵

POLÍMERO: macromoléculas compuestas por uno o más monómeros, los cuales se repiten a lo largo de toda una cadena.⁸

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE VARIOS RESIDUOS AGROINDUSTRIALES Y SUS MEZCLAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES

Por:
ANA BEATRIZ ÁLVAREZ HINCAPIÉ

RESUMEN

La biomasa lignocelulósica es usada en la actualidad para la producción de etanol de segunda generación, siendo una de las mejores fuentes de energía alternativa (renovable), la cual se espera sea una buena alternativa para disminuir la dependencia de los combustibles fósiles, los cuales provienen de fuentes no renovables, y son uno de los principales causantes de la contaminación ambiental que se vive hoy en día.^{9,10} Materiales lignocelulósicos como el bagazo de caña de azúcar (residuo orgánico generado durante el proceso de obtención del jugo de la caña de azúcar) y la cascarilla de café (residuo orgánico de la obtención del café) están siendo usadas para la producción de etanol de segunda generación, lo cual permite darle un uso ambientalmente sostenible a los residuos orgánicos generados en nuestro país.¹¹⁻¹³

En esta investigación se realizó la caracterización físicoquímica del bagazo de caña de azúcar, la cascarilla de café y las mezclas de estas (90:10, 70:30, 50:50, bagazo de caña:cascarilla de café), teniendo como resultado un porcentaje de celulosa para el bagazo de caña de azúcar: 22,68%; cascarilla de café: 20,20%; mezcla 50:50: 23,54%; mezcla 70:30: 25,55%; mezcla 90:10: 21,91%; a partir de los cuales se determinaron los litros (teóricos) producidos por tonelada de las biomásas, para el bagazo de caña de azúcar: 162,52 L; cascarilla de café: 144,75 L; mezcla 50:50: 168,68 L; mezcla 70:30: 186,09 L; mezcla 90:10: 157 L.

PALABRAS CLAVES: Biomasa lignocelulósica, bagazo de caña de azúcar, cascarilla de café, bioetanol.

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF VARIOUS WASTE PRODUCED BY AGROBUSSINESS AND ITS MIXES FOR BIOFUELS PRODUCTION

By:
ANA BEATRIZ ÁLVAREZ HINCAPIÉ

ABSTRACT

The lignocelluloses biomass is use in the production of second generation bioethanol. It is one of the best sources of alternative energy which is expected to be a good alternative to reduce dependence on fossil fuels which come from non-renewable sources and are a major cause of environmental pollution that exists today. Lignocelluloses materials such as sugarcane bagasse and coffee husks are being used for the production of second-generation ethanol, which can give an environmentally sustainable use to organic waste generated in our country.

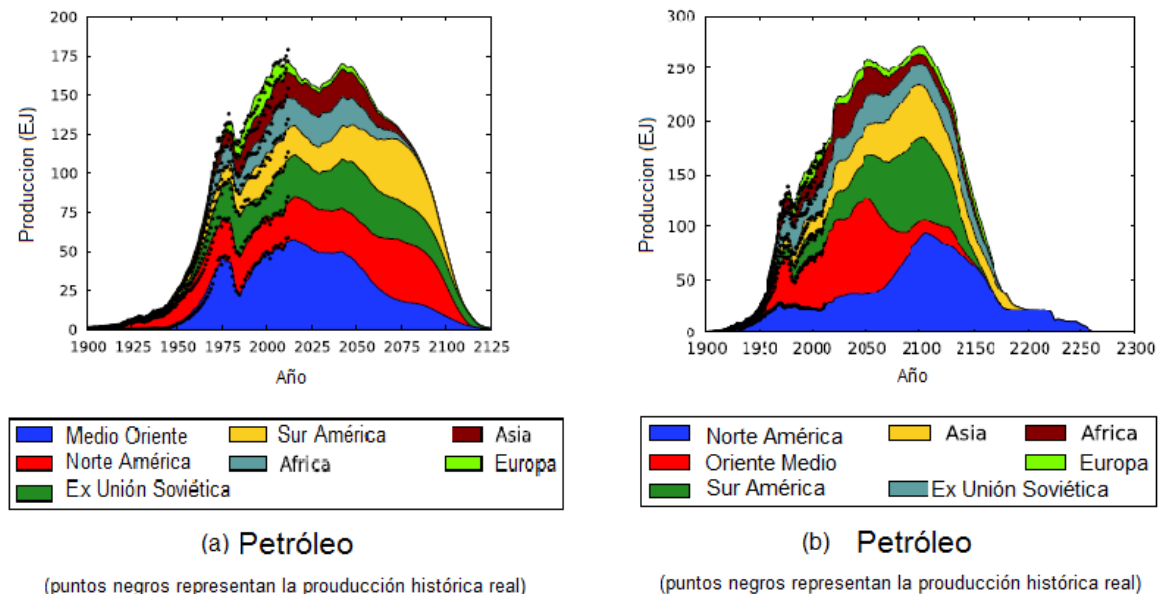
This research carried out a physicochemical characterization of sugarcane bagasse, coffee husk and its mixtures (90:10, 70:30, 50:50, sugarcane bagasse:coffe husk). The results were, cellulose for sugarcane bagasse: 22,68%; coffee husk: 20,20%; 50:50 mixture: 23,54%; 70:30 mixture: 25,55%; mixture 90:10: 21,91%; with those percentage it was determinate liters (theoretical) per tons of the lignocellulosic biomass, for sugarcane bagasse: 162,52 L; coffee husk: 144,75 L; 50:50 mixture: 168,68 L; mixture 70:30: 186,09 L; mixture 90:10: 157 L.

KEYWORDS: Lignocellulose biomass, sugarcane bagasse, coffee husk, bioethanol

INTRODUCCIÓN

Los combustibles fósiles representan más del 80% de la energía consumida a nivel mundial. Se estima que en el peor de los casos (Figura 1 – a), la producción del petróleo a nivel mundial empiece a disminuir alrededor del año 2050, y en el mejor de los casos (Figura 1 – b), disminuirá durante el año 2100; asimismo, teniendo en cuenta los datos proporcionados por la Imagen 1, se observa que Europa, Asia y África serán los primeros continentes en dejar de producir petróleo, y el Medio Oriente, Norte América y la ex Unión Soviética los últimos.¹⁴

Figura 1. Producción del petróleo en el mejor y peor de los casos



Fuente. Mohr y col.¹⁴

En el Cuadro 1, se encuentran los valores acerca del consumo energético mundial de los combustibles fósiles y las energía renovables entre los años 2014 a mayo de 2016, donde se puede observar que la gasolina de motor, el gas natural y el carbón en los diferentes sectores ha aumentado con el paso de los años, a diferencia de las energías renovables, las cuales han disminuido o se han mantenido con los mismos valores durante los últimos dos años.¹⁵

Cuadro 1. Consumo energético mundial de los combustibles fósiles y las energías renovables (en determinados sectores) durante 2014 – mayo 2016

Sector y fuente	2014 (%)	2015 (%)	2016, mayo (%)
Residencial			
• Petróleo y otros líquidos	1,05	0,93	0,93
• Gas natural	5,25	4,77	4,80
• Energías renovables	0,59	0,47	0,39
Comercial			
• Gasolina destilada	0,36	0,37	0,37
• Gasolina residuos	0,02	0,07	0,13
• Gas natural	3,58	3,32	3,41
• Carbón	0,05	0,06	0,06
• Energías renovables	0,14	0,14	0,14
Industrial			
• Gasolina motor	0,27	0,27	0,28
• Gasolina destilada	1,36	1,34	1,36
• Gas natural	7,84	7,75	8,04
• Carbón diferentes industrias	0,87	0,82	0,83
• Biocombustibles y coproductos	0,75	0,78	0,80
• Energías renovables	1,52	1,48	1,43
Transporte			
• Gasolina motor	16,78	17,01	17,27
• Gasolina para jet	2,82	2,84	2,89
• Petróleo y otros líquidos	26,61	27,14	27,45
• Gas natural	0,87	0,89	0,90

Fuente. U.S Energy Information Administration.¹⁵

En la actualidad el uso de energías alternativas diferentes a las ya conocidas provenientes de la explotación del petróleo, ha llevado al uso de materias primas naturales debido a la necesidad de proteger el medio ambiente. Esto ha dado paso al uso de biocombustibles, dentro de los cuales se destaca el bioetanol, el cual puede ser usado para la reducción de emisiones de dióxido de carbono, usando como materia prima residuos agroindustriales constituidos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina.^{13,14}

Residuos agroindustriales como el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café son una alternativa prometedora para la producción de bioetanol. En Colombia durante el 2016 (marzo) se han molido aproximadamente 5,7 millones

de toneladas de caña de azúcar, y se han producido alrededor de 5'382.000 sacos de 60 kg de café; los procesos de extracción de estos cultivos generan grandes cantidades de bagazo de caña de azúcar (por cada tonelada de caña de azúcar se producen entre 250 y 300 kg de bagazo de caña de azúcar) y cascarilla de café (representa el 4,2% del peso del fruto de café), los cuales contienen altos contenidos de azúcares fermentables, apropiados para la producción de bioetanol de segunda generación.^{1,13,16} Cabe resaltar que actualmente hay diversas investigaciones acerca de la producción de bioetanol de segunda generación a partir de diferentes biomásas lignocelulósicas como residuos de mango,¹⁷ tallos de yuca,¹⁸ cáscara de naranja y piña,¹⁹ desechos de frutas cítricas,²⁰ entre otros.

Este trabajo de tesis radica en la utilización de las mezclas de residuos agroindustriales como lo son el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café para la producción de bioetanol de segunda generación, teniendo como objetivo caracterizar dichas biomásas y sus mezclas, con el fin de realizar cálculos teóricos par así determinar cuántos litros de etanol se producirán por tonelada de residuos agroindustriales, mediante la obtención de datos como el porcentaje de celulosa, hemicelulosa, lignina y la caracterización física de estos mediante análisis como FTIR, MEB y DRX.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hoy en día la tierra está pasando por uno de los problemas ambientales más grandes que ha tenido a lo largo de la historia como lo es el calentamiento global. En mayo del 2013 la concentración de dióxido de carbono (CO_2) en la atmósfera terrestre excedió los 400 mg/L, aumentando de manera alarmante durante las últimas décadas, ya que antes de la era preindustrial (siglo XVIII) la concentración de CO_2 en la atmósfera terrestre era de 280 mg/L, aproximadamente. En el 2007 el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC), recomendaron mantener los gases de efecto invernadero (GEI) bajo los 450 mg/L para que la temperatura promedio de la tierra no subiera más de 2°C .^{21,22}

Los GEI retienen parte de la energía irradiada hacia la tierra, evitando que esta vuelva inmediatamente al espacio, produciendo el efecto invernadero (EI), lo cual calienta la superficie de la tierra. Dentro de los GEI se encuentran: vapor de agua, metano (CH_4), los óxidos de nitrógeno (NO_x), el ozono (O_3), los clorofluorocarbonados (CFC) y el dióxido de carbono (CO_2), este último aumentando de manera preocupante durante los últimos años, como se mencionó anteriormente.^{21,22}

Los combustibles fósiles son la base de las fuentes de energía usadas hoy en día principalmente en medios de transporte, generación de electricidad, entre otros. Este tipo de energías es obtenido de fuentes no renovables, y son considerados uno de los mayores contribuyentes al aumento de CO_2 en la atmósfera.^{14,23,24}

Teniendo en cuenta esto, la comunidad científica está estudiando nuevas alternativas de energías renovables, las cuales sean más amigables con el medio ambiente. Uno de los estudios realizados en los últimos años es acerca de la utilización de residuos orgánicos (constituyen alrededor del 70% del volumen total de residuos generados) para la producción de energía alternativa, debido a que su alto contenido de celulosa y hemicelulosa hace que sean adecuados para la producción de bioetanol.^{17,24,25}

Hoy en día existen diversas investigaciones acerca de la producción de bioetanol (segunda generación) a partir de residuos agroindustriales como el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café, los cuales se producen a nivel nacional.^{12,13} Durante el 2015 se han molido aproximadamente 6 millones de toneladas de caña de azúcar,¹⁶ y se han producido alrededor de 5000 sacos de 60 kg de café,¹ lo cual ha dejado gran cantidad de residuos agroindustriales, y estos no tienen un uso determinado, contribuyendo así a la propagación de enfermedades entre los cultivos (cultivo de café: la roya, las llagas de cafeto, la macha de hierro,²⁶ cultivo de caña de azúcar: muermo rojo, pudrición de las raíces, pudrición de los brotes, mancha de anillo²⁷) y la contaminación ambiental en las zonas azucareras y cafeteras del país. Sabiendo que en países como Brasil se están produciendo

actualmente etanol a nivel industrial a partir de bagazo de caña de azúcar, proyecto que ha sido exitoso,²⁸ se quiere responder en Colombia ¿Es posible que el rendimiento teórico de la producción de etanol de segunda generación sea mayor al mezclar dos residuos agroindustriales como lo son el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café?, esto se quiere realizar con el fin de determinar si es viable o no el uso de dichas mezclas de residuos para la producción de bioetanol de segunda generación, para así promover un desarrollo ambientalmente sostenible de dichas empresas, ya que siendo así se estaría aprovechando 100% de los residuos agroindustriales producidos en los cultivos azucareros y cafeteros.

2. JUSTIFICACIÓN

Los combustibles fósiles como el petróleo, carbón y gas natural juegan un papel importante en el negocio energético alrededor del mundo, ya que durante los últimos años el 84% de la demanda energética la cubren estos, y se espera que siga así hasta el 2030.^{21,22} El uso de los combustibles fósiles permitió un alto desarrollo productivo, que a su vez produjo un gran impacto negativo sobre el medio ambiente, ya que la combustión de estos genera emisiones de gases como el CO₂, monóxido de carbono (CO), entre otros hacia la atmósfera, los cuales contribuyen a potenciar el EI, la lluvia ácida y la contaminación del agua, suelo y aire.^{22,23}

Debido a que los combustibles fósiles son un tipo de energía no renovable, se estima que durante los próximos años las reservas de carbón, petróleo y gas natural lleguen a su fin, por lo cual desde hace un tiempo se está generando una transición mundial hacia el uso de energías renovables, dentro de las cuales se encuentran: eólica, hidroeléctrica, solar, biomasa, geotérmica y biocombustibles; esta última está teniendo un gran impacto, ya que es una alternativa como combustibles renovables, ayudando así a mitigar el cambio climático, ya que estos reducen el volumen total de CO₂ emitido hacia la atmósfera.^{23,29,30} Actualmente tanto la comunidad científica como empresas a gran escala están estudiando la mejora de la producción de bioetanol de segunda generación a partir biomasa lignocelulósica como lo son los residuos orgánicos producidos a partir de actividad agrícola, como el bagazo de caña de azúcar y/o la cascarilla de café.^{12,13}

En esta investigación se estudió el uso de residuos agroindustriales como lo son el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café para la producción de bioetanol de segunda generación, debido a que no existen estudios sobre el uso de la mezcla de dichos residuos para este tipo de proceso. Por otro lado, se sabe que el bagazo de caña de azúcar es usado para la producción de bioetanol, donde Brasil se destaca por ser el mayor productor,^{28,31} pero hay pocas investigaciones acerca del uso de la cascarilla del café para la producción de bioetanol.¹ De igual forma, se trabajó con la producción de bioetanol de segunda generación ya que la materia prima para este tipo de procesos son los residuos producidos por los cultivos destinados para consumo humano, lo que hace que no haya competencia ni sobre costos en el mercado, a diferencia del bioetanol de primera generación, donde la materia prima usada proviene de cultivos destinados a la alimentación del ser humano, como el maíz, papa, remolacha, yuca, sorgo, caña de azúcar, entre otros.³²

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Caracterizar fisicoquímicamente residuos agroindustriales (bagazo de caña de azúcar, cascarilla de café) y sus mezclas en diferentes proporciones, para la producción de biocombustibles de segunda generación mediante técnicas de laboratorio tales como cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), difracción de rayos X (DRX), infrarrojo (IR) y microscopía electrónica de barrido (SEM).

3.2. Objetivos Específicos

- Realizar la mezcla de bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café manejando diferentes proporciones: 90% – 10%, 70% – 30% y 50% – 50% bagazo de caña de azúcar:cascarilla de café para observar la influencia de estas mezclas en la composición de celulosa, hemicelulosa y lignina de la biomasa a analizar.
- Determinar el porcentaje de lignina soluble e insoluble en la biomasa a analizar mediante hidrólisis ácida fuerte y detección por UV-Vis.
- Cuantificar mediante HPLC los azúcares reductores totales: glucosa, celobiosa, arabinosa y xilosa, para determinar el porcentaje de celulosa y hemicelulosa presente en la biomasa a analizar.
- Determinar la morfología de la biomasa a analizar mediante la técnica SEM para reconocer el estructuramiento de la pared celular constituida principalmente de celulosa, hemicelulosa y lignina.

4. MARCO DE REFERENCIA

4.1. MARCO TEÓRICO

4.1.1. Biomasa Lignocelulósica

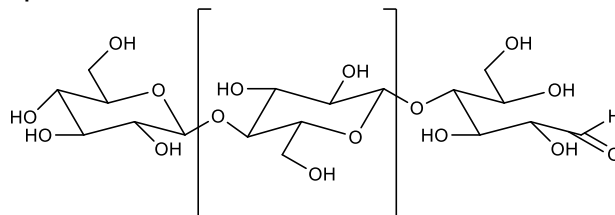
La lignocelulosa es el principal componente de la pared celular de las plantas, compuesta por diferentes polímeros como la celulosa, la hemicelulosa y la lignina, la composición y porcentaje de estos varían teniendo en cuenta la especie de la planta, edad y etapa de crecimiento.³³

El material lignocelulósico es atractivo debido a su bajo costo y alta disponibilidad, usado principalmente para la producción de bioetanol, ya que la biomasa lignocelulósica es rica en celulosa y hemicelulosa, polímeros que mediante procesos fisicoquímicos y/o biológicos, son convertidos en azúcares monosacáridos para la obtención de etanol.^{20,33} Los sustratos más usados son la caña de azúcar en Brasil (mayor productor de bioetanol a partir de caña de azúcar) y el maíz en Estados Unidos.³³

4.1.2. Composición de la Biomasa Lignocelulósica

- **Celulosa:** La celulosa es un polisacárido simple, sin ramificaciones ni sustituciones, considerado el polímero natural más abundante en la naturaleza, con la fórmula $(C_6H_{10}O_5)_n$, (n = grado de polimerización de la glucosa). Es un homopolímero conformado por subunidades de D-glucosa, unidas por enlaces glucosídicos β -(1,4) (Figura 2), formando una estructura lineal de largas cadenas enlazadas por puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals, lo cual permite la formación de una estructura cristalina resistente.^{20,34,35}

Figura 2: Estructura primaria de la celulosa



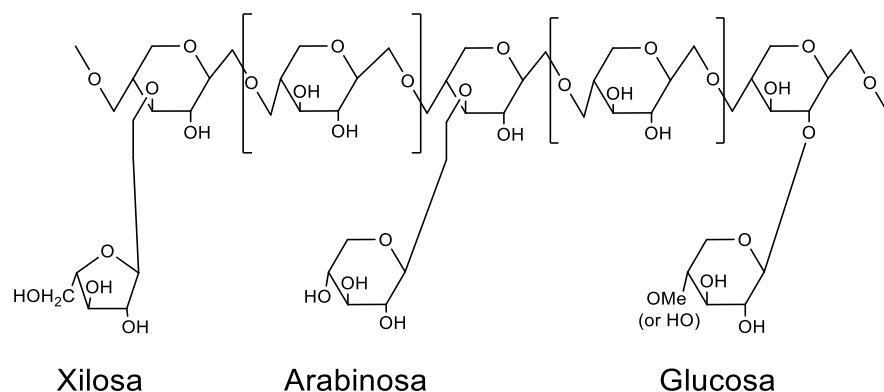
Fuente. Liu y col.³⁵

Los grupos hidroxilo de la celulosa pueden reaccionar de manera completa o parcial frente a ciertos agentes químicos, obteniendo diversos derivados con diferentes grados de sustitución, como los éteres y ésteres para usos en la industria alimenticia y farmacéutica, convirtiendo a la celulosa en el compuesto orgánico más abundante derivado de la biomasa. Se encuentra principalmente en la madera, residuos agrícolas (bagazo de caña y cascarilla de café) y grasas. Es el biopolímero más abundante en el reino vegetal.^{35,36}

En las plantas lignocelulósicas, la celulosa se encuentra rodeada por hemicelulosa y lignina, la cual teóricamente, es considerada como un adhesivo, sosteniendo así la celulosa y la hemicelulosa. La celulosa es considerada la parte principal de la estructura de la planta, mientras que la hemicelulosa conecta la lignina y la celulosa. A su vez, la celulosa es usada para la producción de papel y otros productos industriales.^{35,36}

- **Hemicelulosa:** La hemicelulosa es un polímero complejo y heterogéneo de bajo peso molecular, formado por pentosas (β -D-xilosa, α -L-arabinosa), hexosas (β -D-glucosa, β -D-manosa, α -D-galactosa), formando cadenas ramificadas junto con los ácidos urónicos (α -D-4-O-metilgalacturónico, ácido α -D-galacturónico y α -D-glucurónico), los cuales se encuentran unidos mediante enlaces β -(1,4) (Figura 3).^{3,37} Otros azúcares como α -L-ramnosa y α -L-fucosa pueden estar presentes en cantidades muy pequeñas; la estructura de la hemicelulosa variará dependiendo de la materia prima. La hemicelulosa conecta la lignina con las fibras de celulosa, proporcionando rigidez entre la red celulosa, hemicelulosa y lignina.³⁸

Figura 3: Estructura general de una hemicelulosa

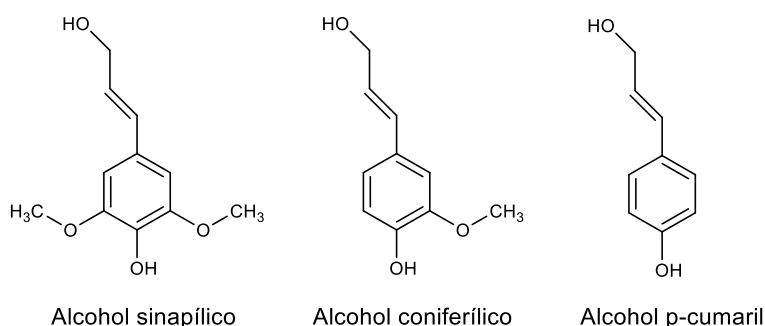


Fuente. Ren y col.³⁷

La hemicelulosa es el segundo biopolímero más abundante en el reino vegetal, se encuentra principalmente en biomásas lignocelulósicas como árboles, pastos, cereales, hierbas, paja de cereales, entre otros. La hemicelulosa tiene diversas propiedades como: biodegradabilidad, biocompatibilidad, bioactividad, entre otras, por lo cual se emplea en diferentes áreas como la industria alimenticia, en la medicina, para la producción de energía, en la industria química, en materiales poliméricos, biosurfactantes, y como aditivo en la producción del papel, entre otros. De igual forma, la hemicelulosa tiene aplicación en la industria farmacológica ya que sirve como antitusivo (fármaco para tratar la tos seca que irrita) e inmunoestimulante; asimismo, compuestos derivados de la hemicelulosa (xilooligosacáridos)³ se usan para tratar virus y procesos de cáncer en el cuerpo humano.^{37,39}

- **Lignina:** La lignina es una macromolécula amorfa compleja, tridimensional y ramificada, formada por unidades de alcoholes aromáticos (alcohol *p*-cumaril, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico), como se observa en la Figura 4, los cuales le proporcionan un soporte estructural, rigidez, impermeabilidad y protección a la celulosa y la hemicelulosa, formando un escudo protector alrededor de dichos polímeros, proporcionando protección ante la degradación de enzimas y ataques microbianos, debido a que la lignina juega un papel importante en cuanto al transporte del agua, reduciendo la permeabilidad de la pared celular.^{20,40,41}

Figura 4: Estructura de los monómeros de la lignina



Fuente. Lupoi y col.⁴⁰

La lignina tiene diversas aplicaciones como por ejemplo es usada en frenos y neumáticos, productos de paneles de madera, espumas de poliuretano, también es usada como sustituto del carbón y aglutinante en la alimentación de animales; la lignina tiene una alta capacidad para absorber iones de metales pesados, por lo cual ha sido usada como purificadora de aguas residuales.⁴⁰⁻⁴²

- **Compuestos extractivos:** Los extractivos son un grupo de sustancias que pueden ser obtenidas a partir de la madera o paja mediante solventes orgánicos. Dentro de los principales extractivos se encuentran ácidos de resina, triglicéridos, ésteres esterilo, ácidos grasos, esteroides, compuestos neutros como alcoholes grasos y una variedad de compuestos fenólicos. Son compuestos de bajo peso molecular, los cuales pueden ser aislados mediante solventes orgánicos o mezclas de estos. Por otro lado, se han usado diferentes técnicas tales como la extracción mediante fluidos supercríticos y soxhlet.⁴³⁻⁴⁵

La cantidad de compuestos extraíbles depende de la especie de planta (y los factores que la afecten) que se esté analizando, los compuestos extractivos van a variar. Son el componente minoritario dentro de la composición de la biomasa lignocelulósica, constituyendo de 4 – 10% del total en la materia seca, sin embargo tienen una influencia significativa sobre las propiedades de la planta, las cuales se ven afectadas dependiendo de la cantidad y la clase de compuestos extractivos que esta tenga. Dentro de las funciones que cumple dentro de la planta se encuentran la resistencia mecánica, el color y la calidad de la madera.^{43,45,46}

4.1.3. Bagazo de Caña de Azúcar:

El bagazo de caña de azúcar es un residuo fibroso de tallos de caña de azúcar (*Saccharum spp. hybrids*), el cual es acumulado en grandes cantidades durante la trituración y el proceso de extracción del jugo de la caña de azúcar, para la producción tanto de azúcar como de panela (Figura 5).^{12,47,48} Alrededor de 54 millones de toneladas de bagazo de caña son producidas anualmente en el mundo.⁴⁹

Figura 5. Bagazo de caña de azúcar



Fuente. Sector Azucarero Colombiano.¹⁶

El bagazo de caña de azúcar está compuesto por celulosa, hemicelulosa y lignina, siendo estos los componentes mayoritarios. En cantidades menores se pueden encontrar cenizas y extractivos, como se observa en el Cuadro 2.⁴⁸

Cuadro 2. Composición química del bagazo de caña de azúcar

Parámetros	Cantidad (%)
Celulosa	42,19
Hemicelulosa	20,60
Lignina	21,56
Extractivos	5,63
Cenizas	2,84

Fuente. Rocha y col.⁴⁸

Debido a su bajo costo de producción, el bagazo de caña de azúcar se ha venido usando para la producción de etanol, fabricación de pasta, carbón activado, sus cenizas mezcladas con cenizas de paja de caña pueden reemplazar parcialmente el cemento, de igual forma, sus cenizas mezcladas con goma arábiga y agua son usadas para la elaboración de productos cerámicos y refractarios.⁴⁷ Usualmente, las industrias azucareras y paneleras usan el bagazo para la producción de energía mediante la combustión, debido a su bajo costo de producción.^{7,16}

En Colombia, desde octubre del 2005, fecha en la cual se empezó la producción de etanol a partir de la caña de azúcar, hasta marzo del 2016 se han producido 3'408.635 litros de etanol, aproximadamente, siendo el 2015 el año con mayor producción, 456 millones de litros, los cuales han sido destinados a la mezcla con gasolina en una proporción E8 (8% etanol, 92% gasolina) y E10 (10% etanol, 90% gasolina) según la ley 693 de 2001, la cual estableció que a partir de septiembre del 2005 las ciudades con más de 500 mil habitantes como Bogotá, Cali, Medellín, Barranquilla y Bucaramanga, deberían utilizar los porcentajes de mezcla mencionados anteriormente.^{16,50}

La producción de azúcar a nivel mundial se da a partir del cultivo de caña de azúcar en zonas tropicales, representando más del 80% de la producción mundial, y remolacha azucarera en zonas templadas (Figura 6). Los 5 países con mayor producción de azúcar a nivel mundial son Brasil, India, Tailandia, Australia y China, los cuales aportan aproximadamente el 40% del total de azúcar producida en el mundo. Alrededor de 115 países producen azúcares, de los cuales 67 lo hacen a partir de caña de azúcar, 39 a partir de remolacha azucarera y 9 de estos producen azúcar a partir de las dos materias primas.⁵¹

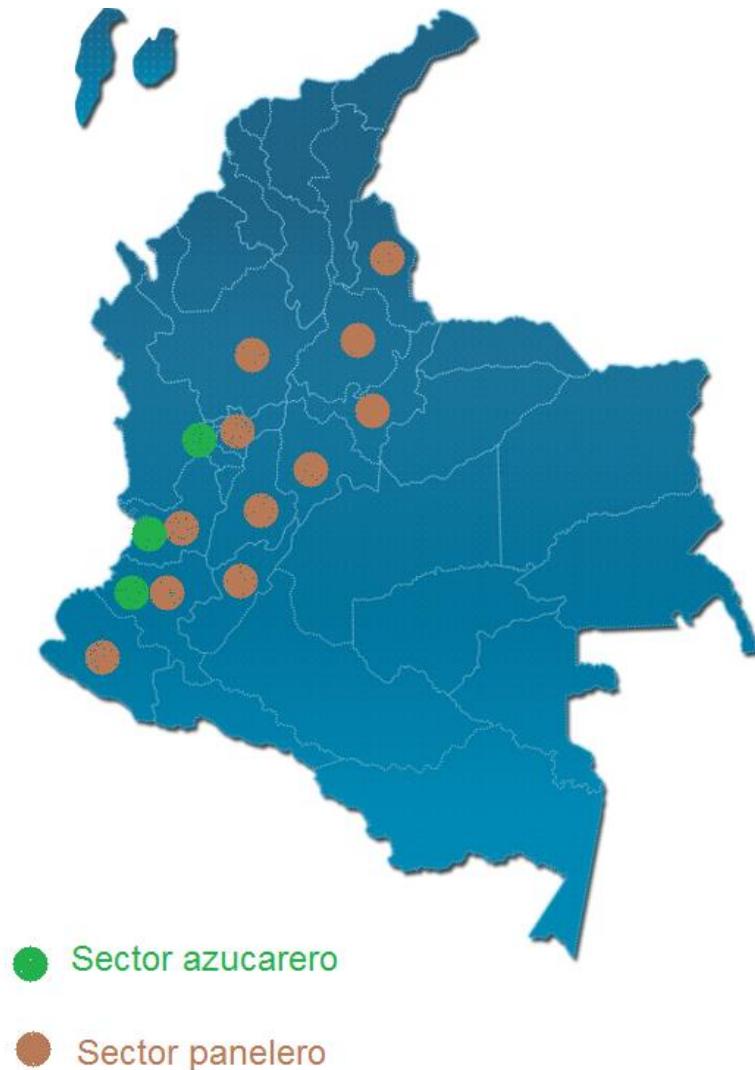
Figura 6. Mapamundi de la producción de caña de azúcar



Fuente. Chauhan y col.⁵¹

En Colombia, el sector azucarero se encuentra ubicado en el valle del río Cauca, el cual abarca desde el norte del departamento del Cauca, la franja central del Valle del Cauca, y el sur del departamento de Risaralda, donde hay 225.560 hectáreas sembradas de caña de azúcar (a la fecha), de las cuales el 25% hace parte de los ingenios, y el otro 75% pertenece a los cultivadores de caña de azúcar (Figura 7). A partir del año 2005 ingenios como Incauca, Manuelita, Providencia, Mayagüez y Risaralda empezaron a producir etanol a partir de los cultivos de caña de azúcar sembrados antes del año 2000, contando con una capacidad instalada de 1'250.000 litros por día. En el segundo semestre del 2015 el ingenio Riopaila – Castilla empezó a operar una destilería con capacidad instalada de 400.000 litros por día, siendo esta la más grande del país. Debido a esto, el sector azucarero colombiano aumentará su producción de bioetanol a 1'650.000 litros por día.¹⁶

Figura 7. Mapa del sector azucarero y panelero colombiano



Fuente. Fedepanela; Azocaña.^{7,16}

Por otra parte, en Colombia hay una gran producción de panela, siendo el segundo país con mayor producción de esta (13%) después de la India, y el mayor consumidor a nivel mundial per cápita. En Latinoamérica existen alrededor de 50.000 trapiches, los cuales se encuentran ubicados en zonas de montaña y son empleados por campesinos de la región. Los principales países paneleros latinoamericanos son Colombia, Brasil, Venezuela, Guatemala, México, Honduras, Perú, Haití, Costa Rica, Nicaragua y Panamá. Alrededor de 194.021 hectáreas de

tierras colombianas son destinadas al cultivo de caña panelera, ubicándose entre los 5 primeros cultivos del país. En el año 2010 se produjeron 1'274.733 toneladas de panela, con un rendimiento de 6,32 ton/Ha. Actualmente se encuentra el desarrollo el Proyecto biocombustible celulósico, el cual consiste en el desarrollo de una planta para la producción de biocombustibles de segunda generación, el cual se encuentra liderado por Colbiocel, en asociación con Fedepanela, el Ministerio de Agricultura y Desarrollo rural y la Federación Nacional de Biocombustibles, y empresas internacionales como Beta Renewables, Novozymes, Chemtex y la Organización TIPIEL de Technip; dicho proyecto se llevaría a cabo en el municipio de Chitaraque, Boyacá, en la región de la Hoya del Río Suárez.^{7,16}

4.1.4. Cascarilla de Café

El café es una de las bebidas más populares alrededor del mundo, creciendo de manera constante en importancia comercial durante los últimos 150 años. La palabra café proviene del árabe *Quahweh*. La mayoría de café consumido alrededor del mundo se obtiene a partir de dos especies de planta de café *Coffea arabica* (Arabica) y *Coffea canephora* (Robusta).⁵²⁻⁵⁴ En Colombia se cultiva café 100% arábico lavado, siendo el mayor productor de café suave a nivel mundial, y el tercero en cuanto a producción neta de café. Las condiciones ideales para el cultivo de este están entre los 1200 y 1800 m.s.n.m, donde la temperatura varía entre los 17 y 23°C, con precipitaciones cercanas a los 2000 mm anuales, por lo cual, dependiendo de la ubicación geográfica del cultivo café, este va a tener determinadas características que lo hacen único. Colombia es conocida como uno de los países cafeteros a nivel mundial, debido a que la zona cafetera cubre gran parte del territorio nacional. En el sur del país se produce café en los departamentos de Nariño, Cauca, Huila y el sur del Tolima; en el norte se conocen como zonas cafeteras las regiones de Santander, Norte de Santander, Casanare, la Sierra Nevada de Santa Marta y la Serranía del Perijá; en el centro del país se encuentra la mayor producción de café en los departamentos de Caldas, Risaralda, Quindío y el norte del Valle del Cauca, formando así el eje cafetero, como se puede observar en la Figura 8.¹

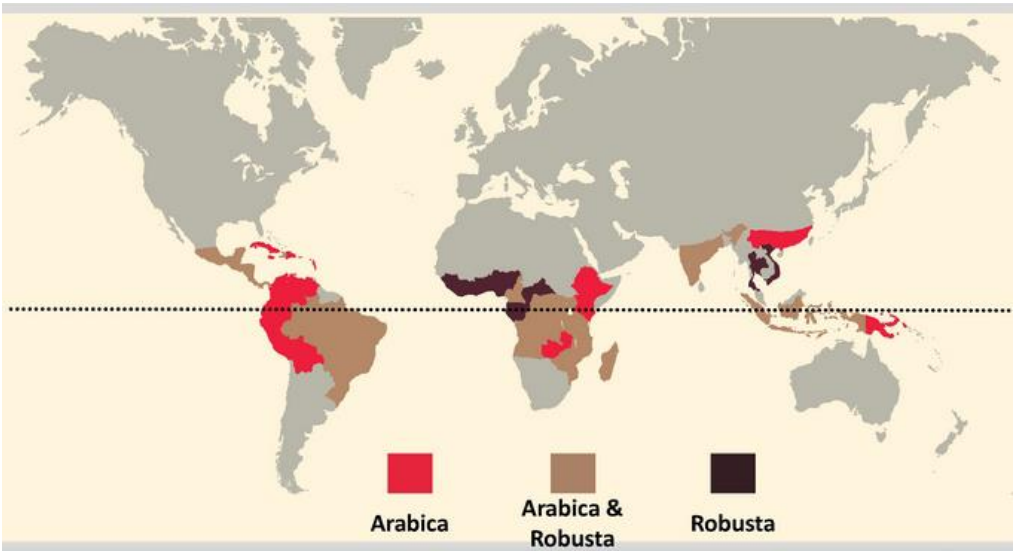
A nivel mundial, la especie de café arábica crece dentro de las zonas intertropicales, especialmente en Latinoamérica, Centroamérica y algunos países africanos. Representa alrededor del 60% de la producción mundial de café, la cual se concentra en Brasil, Camerún, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, Haití, Jamaica, Java, Kenia, México, Perú, Puerto Rico, República Dominicana, El Salvador, Tanzania y Venezuela. Por otra parte, el café robusta es producido en la India, Indonesia, Madagascar, Brasil, Las Filipinas, Costa de Marfil, Angola y Zaire (Figura 9).

Figura 8. Mapa zona cafetera colombiana



Fuente: Fedecafé.¹

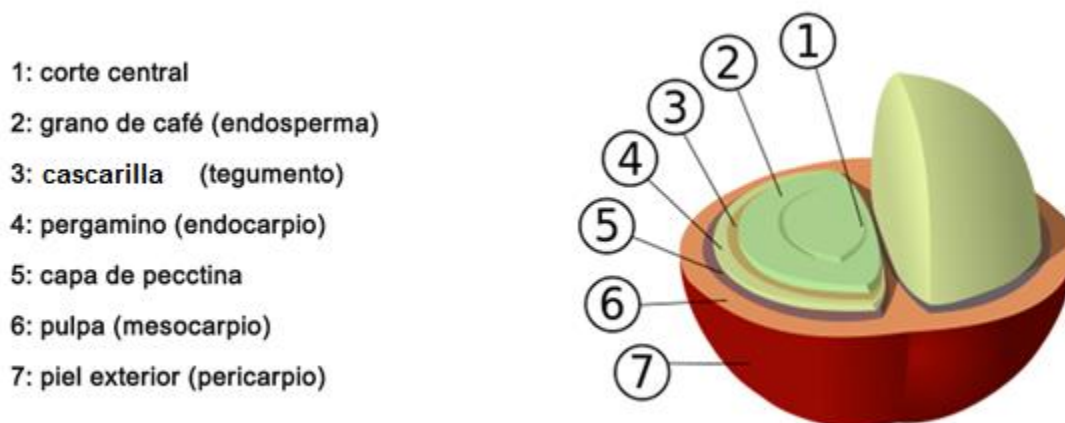
Figura 9. Mapamundi producción de café



Fuente. Fedecafé.¹

La cascarilla de café es obtenida durante el procesamiento de las bayas del fruto, la cual recubre los granos del café, representando aproximadamente el 12% de la baya de café (Figura 10). Se estima que por cada tonelada de frutos de café se producen alrededor de 0,18 toneladas de cascarilla de café. La cascarilla de café está compuesta por humedad, cenizas, proteína, lípidos y carbohidratos; asimismo, esta contiene celulosa, hemicelulosa, lignina y cenizas, entre otros como se puede ver en el Cuadro 3.^{52,54-56}

Figura 10. Partes del fruto del café



Fuente. Café de Colombia.²⁶

Cuadro 3. Composición química de la cascarilla de café

Parámetros	Cantidad (%)
Celulosa	24,5
Lignina	23,7
Hemicelulosa	27,7
Extractivos	15,6
Otros	5,4

Fuente. Murthy y col.⁵⁴

Durante el proceso de la obtención del grano de café, se producen residuos orgánicos como la cascarilla y la pulpa de café, entre otros, los cuales son considerados como una fuente de contaminación ambiental si no se disponen con

el pretratamiento apropiado. Debido a esto, se han encontrado diferentes usos que se le pueden dar a estos residuos orgánicos, como compostaje, bioetanol, biogás, fibra dietética, aditivos alimenticios a partir de la pulpa del café, alimento para animales de granja, entre otros.^{13,52,54}

Durante los últimos años, el cultivo de café en Colombia ha aumentado. Hoy en día hay aproximadamente 307.000 hectáreas destinadas al cultivo de café en el territorio nacional. Según la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, (Fedecafé), existen alrededor de 563.000 familias cafeteras, de las cuales el 96% poseen fincas menores a 5 hectáreas donde cultivan café, que a su vez venden el producto a cooperativas y comerciantes locales a lo largo del año. Durante el 2016, se reporta la producción de 5'382.000 sacos de 60 Kg de café en Colombia.¹

4.1.5. Producción de Bioetanol

Debido a los problemas medioambientales que hay hoy en día, se están buscando alternativas para la producción de energías limpias, como lo son los biocombustibles (biodiesel y bioetanol). Según la Agencia Internacional de Energía (AEI), la demanda de biocombustibles para el transporte aumentará en el 2030 un 55% más respecto al consumo registrado en el año 2004; asimismo, se espera que para el año 2021 la producción de bioetanol y biodiesel se duplique según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), especialmente en Estados Unidos, Brasil y la Unión Europea. Actualmente, Colombia representa alrededor del 0,8% de la producción mundial de biocombustibles líquidos.^{57,58}

Países como Brasil, Argentina y Colombia lideran actualmente la producción de biocombustibles en Latinoamérica según la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL), siendo la mayor competencia del petróleo debido a los avances tecnológicos de los últimos años en dichos países.⁵⁸

El bioetanol es uno de los biocombustibles más importantes producidos a partir de cultivos de biomasa, ya que es un combustible limpio y renovable; asimismo, el etanol es un compuesto que se puede mezclar fácilmente, y ha sido usado para oxigenar la gasolina para tener emisiones más limpias. Uno de los inconvenientes con la producción de bioetanol es el alto costo de esta comparado con el de los combustibles fósiles.^{58,59}

Actualmente, la producción de bioetanol se basa en materia prima (biomasa lignocelulósica) con alto contenido en azúcares y almidones como lo son residuos agroindustriales (paja de arroz, paja de trigo, paja de maíz, bagazo de caña de

azúcar), madera, algas, residuos sólidos industriales y municipales los cuales tienen un alto contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina en su composición.⁵⁷

La producción de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica involucra diferentes pasos de pretratamientos, hidrólisis, fermentación y recuperación del etanol. El pretratamiento es un paso fundamental, ya que mediante este se alteran ciertas características estructurales de la biomasa, lo cual incrementa la accesibilidad a la glucosa y xilosa para el proceso de la hidrólisis. Diferentes técnicas de pretratamiento han sido desarrolladas en los últimos años. El segundo paso es la hidrólisis, durante la cual se generan azúcares fermentables. El tercer paso es la fermentación, donde gracias a microorganismos o biocatálisis los azúcares fermentables son convertidos en etanol.^{58,60}

En Colombia, el bioetanol producido proviene de la caña de azúcar que se encuentra sembrada en el valle geográfico del río Cauca, ya que es el lugar más apto del país para tener este tipo de cultivo debido a sus condiciones agroclimáticas ideales. En esta región del país se encuentran las cinco destilerías de etanol (Figura 11), las cuales proporcionan una capacidad de producción de 1'050.000 litros de alcohol por día. Estas plantas empezaron a funcionar en el año 2006, usando como materia prima la caña de azúcar, manteniendo una producción de 1'540.000 L/día aproximadamente.⁶⁰

Figura 11. Ubicación de las plantas productoras de bioetanol en Colombia.



Fuente. UPME.⁶⁰

A nivel mundial, en países como Alemania, la producción de bioetanol incrementó en un 5,2% a comparación del 2014. Actualmente el 24% de todos los vehículos en Noruega son eléctricos, convirtiéndolo en el país con mayor porcentaje de carros eléctricos, por lo cual se espera que para el año 2025 la circulación de carros de gasolina sea prohibida. En México hay alrededor de 60 ingenios azucareros, los cuales producen más de 5 millones de toneladas por cosecha, por lo cual el Ingenio Azucarero San Rafael de Pucté, Quintana Roo, está desarrollando un proyecto en conjunto con el Grupo Azucarero Beta San Miguel, en el cual generarán su propia energía aprovechando el bagazo de caña de azúcar como materia prima. Por otro lado, en Brasil se inauguró una planta de producción de etanol de segunda generación, donde la materia prima a usar es el bagazo de caña de azúcar, la cual tendrá una capacidad de producción de 42 millones de litros por año. Desde el 2010 en Ecuador se empezó a comercializar a nivel nacional gasolina ecológica la cual lleva un componente del 95% de gasolina extra y 5% de etanol obtenido a partir de la caña de azúcar. En Argentina existe una normativa vigente la cual determina que la gasolina comercializada debe ser 90% gasolina y 10% etanol (a partir de caña de azúcar); empresas tales como Alconoa, Bioenergía La Corona, Bioenergía Santa Rosa, entre otras, producen etanol a partir de caña de azúcar.²⁸

4.1.6. Técnicas Instrumentales

- **Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC):** La cromatografía consta de varios métodos, los cuales en un principio permiten la separación de mezclas complejas. En todos los procedimientos cromatográficos la muestra se desplaza mediante una fase móvil (gas, líquido o fluido supercrítico), la cual pasa a través de la fase estacionaria, con la que no se puede mezclar. Ambas fases son elegidas teniendo en cuenta que los componentes de la muestra a analizar se distribuyan de manera diferente tanto en la fase móvil como en la fase estacionaria. Si el componente es retenido por la fase estacionaria, este se moverá de manera lenta con el flujo de la fase móvil, y si este se une de manera débil a la fase estacionaria, se moverá rápido. Teniendo en cuenta este tipo de movilidad, los componentes de la muestra se empezarán a separar mediante bandas las cuales pueden ser analizadas tanto cualitativa como cuantitativamente.⁶¹

HPLC es una técnica usada para la separación de mezclas complejas en componentes individuales, comparándolo con diversos métodos de análisis convencionales, este en particular es muy ventajoso ya que el análisis se hace en un periodo de tiempo mucho más corto, tiene una mayor resolución y sensibilidad, buena adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, gran alcance respecto a sustancias importantes para la industria. Durante los años, HPLC se ha combinado con otros métodos de detección mejorando su sensibilidad y especificidad.^{61,62}

La cromatografía líquida de alta eficacia está compuesta por una fase estacionaria, mediante la cual pasa el compuesto (a través de una columna) y una fase móvil (líquido de alta presión). Entre más pequeño sea el tamaño de la partícula de la muestra, la eficacia de la columna mejorará notablemente. Dependiendo de las interacciones químicas y físicas que se presenten entre la muestra y la fase estacionaria dentro de la columna, los componentes se retrasarán en diferentes maneras. El factor de retención (k) depende de la naturaleza de la muestra, la composición de la fase móvil y la fase estacionaria. El tiempo de retención (t_r) se refiere al tiempo en el que una muestra tarda en ser eluida de la columna. El tiempo muerto (t_0), es el tiempo que transcurre desde la inyección de la muestra hasta que la muestra pasa por el detector.⁶¹

- **Espectrometría de absorción en el infrarrojo (IR):** La región del infrarrojo está comprendida entre los 12.800 y 10 cm^{-1} en el espectro. Debido a que es bastante amplio, este se divide en infrarrojo cercano ($12.800 - 4.000\text{ cm}^{-1}$), medio ($4.000 - 200\text{ cm}^{-1}$) y lejano (200 a 10 cm^{-1}), respecto al espectro visible.⁶³ Para que una molécula absorba radiación en el espectro IR, esta debe resistir un cambio en el momento dipolar como consecuencia de su movimiento vibracional o rotacional, lo cual permitirá que el campo eléctrico alterno de la radiación interactúe con la molécula y provoque cambios en la amplitud de algunos de sus movimientos.^{63,64}

Respecto a las transiciones rotacionales, estas absorben en el espectro a los 100 cm^{-1} ya que la energía necesaria para lograr un cambio en los niveles rotacionales es muy poca. Los niveles de energía vibracional se encuentran en el espectro IR medio.⁶³ Las posiciones atómicas dentro de las moléculas no permanecen fijas, ya que estas oscilan continuamente debido a las variaciones vibracionales y rotacionales que ocurren en los enlaces. Hay dos clases básicas de vibraciones: de tensión (cambio conjunto en la distancia interatómica en el eje de enlace de los átomos) y de flexión (hay un cambio en el ángulo entre dos enlaces), que a su vez se divide en cuatro tipos: de tijereteo, de balanceo, de aleteo y de torsión.⁶³

- **Difracción de rayos X (DRX):** Los rayos son un tipo de radiación electromagnética producida por transiciones electrónicas de los electrones que se encuentran en los orbitales moleculares internos. Las longitudes de onda que comprenden los rayos X van desde los 10^{-5} Å hasta los 100 Å .⁶⁵

La DRX consiste en la dispersión de los rayos X a través del entorno ordenado de un cristal, lo cual genera ciertos tipos de interferencias las cuales pueden ser constructivas y destructivas, entre los rayos dispersados, debido a que la distancia entre los centros de dispersión es la misma que la longitud de onda de la

radiación. Para que se dé la DRX se deben cumplir los siguientes requisitos: el espacio entre las capas de átomos sea el mismo que la longitud de onda de la radiación, y los centros de dispersión estén distribuidos en el espacio de una forma regular.⁶⁵

- **Microscopía electrónica de barrido (SEM):** A partir de la SEM se obtiene información sobre las texturas y objetos en tres dimensiones, permitiendo así la observación y caracterización superficial de materiales tanto orgánicos como inorgánicos.⁶⁶

Para obtener una imagen mediante la técnica, la superficie de la muestra se barre a través de un rastreo programado mediante un haz de electrones focalizado que barre la superficie en línea recta, seguido a esto vuelve a su posición inicial, para la luego tomar otra dirección (desplazamiento hacia abajo). Dicho proceso se repite hasta que toda la muestra ha sido barrida, lo cual permitirá la obtención final de una imagen.⁶⁶

4.1.7. Laboratorio Nacional de Energía Renovable (National Renewable Energy Laboratory, NREL)

NREL es un laboratorio ubicado en los Estados Unidos, donde actualmente se desarrollan investigaciones sobre la eficiencia energética, teniendo un enfoque en el transporte sostenible, la producción de energía renovable y sistemas de integración, entre otros. Dentro de los temas de investigación que manejan se encuentra el estudio de la biomasa, a partir de la cual están desarrollando nuevas tecnologías para convertirla en combustibles, y bioproductos que reduzcan la dependencia que existe actualmente con el petróleo, por lo cual NREL ha creado diversos protocolos para la caracterización fisicoquímica de la biomasa.⁶⁷

4.2. MARCO DE ANTECEDENTES

A continuación, se nombrarán y describirán diversos estudios realizados acerca de la obtención de bioetanol de segunda generación a partir de diferentes materias lignocelulósicas, los cuales son la base de antecedentes del presente trabajo.

Huang y col.¹² en el 2015 estudiaron la eficiencia de la sacarificación y fermentación de la pulpa del bagazo de caña de azúcar, simultáneamente, para la producción de etanol mediante el uso de la celulasa de *Penicillium oxalicum* EU2106 y la termotolerante *Saccharomyces cerevisiae* ZM1-5. Para dicho estudio se usó pulpa de bagazo de caña sin tratar y pretratada, las cuales fueron

sometidas a la celulasa de *Penicillium oxalicum* EU2106, mostrando como resultado que la pulpa del bagazo de caña sin tratar tuvo una cantidad de azúcares reductores bastante favorable. La determinación de la composición de la materia lignocelulósica se llevó a cabo mediante la metodología propuesta por NREL (*National Renewable Energy Laboratory*). Los resultados de este análisis se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Resultados de Huang y col. de la composición química del bagazo de caña de azúcar (antes y después de ser pretratada) y la pulpa de caña de azúcar

Componentes	Bagazo de caña de azúcar sin tratar (% w/w)*	Pulpa de bagazo de caña de azúcar (% w/w)	Bagazo de caña de azúcar pretratado con NaOH/PAA** (%w/w)	Bagazo de caña de azúcar pretratado con HCl (% w/w)
Celulosa	46,27 ± 0,39	73,89 ± 0,28	83,08 ± 0,77	65,52 ± 0,52
Hemicelulosa	26,10 ± 0,52	24,51 ± 1,29	12,47 ± 0,67	1,11 ± 0,01
Lignina insoluble en ácido	20,93 ± 0,03	0	0	28,99 ± 0,27
Lignina soluble en ácido	0,72 ± 0,01	0,49 ± 0,001	0,43 ± 0,01	0,42 ± 0,01
Cenizas	1,30 ± 0,04	0	0	2,12 ± 0,23

*% w/w: porcentaje peso/peso

**PAA: solvente orgánico que puede ser usado para la deslignificación de materia lignocelulósica. Es capaz de romper los enlaces lignina – lignina y carbohidratos – lignina que se encuentran en la biomasa lignocelulósica.

Fuente. Huang y col.¹²

Por otro lado, la termotolerante *Saccharomyces cerevisiae* ZM1-5 se empleó en la fermentación para la obtención de etanol a partir de la pulpa del bagazo de caña, obteniendo una cantidad considerable de etanol (18,79 g/L en 0,42 g etanol/g celulosa). Dichos resultados indicaron que la pulpa del bagazo de caña es una buena alternativa para la producción de etanol de segunda generación.¹²

Choi y col.²⁰ en el 2015 desarrollaron un método para convertir los residuos de cáscara de cítricos (naranja, mandarina, limón o lima) en una sola fuente o combinarlos con otros residuos de frutas (pulpa de manzana, pera, entre otros) para la producción de bioetanol. A partir de los desechos de las cáscaras de cítricos se producen dos enzimas, las cuales fueron ensayadas con los residuos de frutas de 12 – 15% (w/v) de carga sólida. La tasa de conversión enzimática de los residuos de frutas en azúcares fermentables fue del 90% para todas las materias primas luego de las 48 horas. De igual forma, diseñaron una columna de

extracción de D.limoneno, la cual elimina los residuos de frutas, el cual al ser acoplado con un reactor celular inmovilizado, la fermentación de la levadura dio lugar a buenos resultados de concentraciones de etanol (14,4 a 29,5 g/L) y los rendimientos (90,2 a 93,1%). Para la obtención de los resultados nombrados anteriormente, Choi y col., determinaron la composición química de los residuos de las frutas (Cuadro 5).

Cuadro 5. Resultados Choi y col. de la composición química de los residuos de las frutas

Materia seca	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)
Cáscara de naranja	31,9	23,8
Cáscara de mandarina	35,46	22
Cáscara de uva	27,54	24,4
Cáscara de limón	25,1	17,5
Cáscara de lima	20,2	18

Fuente. Choi y col.²⁰

Cripwell y col.⁶⁸ en el 2015 usaron salvado de trigo generado a partir de la molienda de trigo. Las condiciones óptimas para la hidrólisis se determinaron usando un coctel de celulasa recombinado (RCC) el cual contiene celobiohidrolasas, edulglucanasa y β -glucosidasa. El 10% de la materia seca del sustrato dio un mejor resultado respecto a la obtención de glucosa, mientras que el 2% de la materia seca del sustrato dio un mejor resultado respecto a la eficiencia de la hidrólisis (sustrato: salvado de trigo sin moler). La producción de etanol a partir de las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* MEL2[TLG1 – SFA1] y M2n[TLG1 – SFA1] fueron comparadas en una sacarificación y fermentación simultáneas (SSF) del salvado de trigo sin usar RCC. La levadura combinada de *S. cerevisiae* con MEL2[TLG1 – SFA1] y Mn2[TLG1 – SFA1] produjeron cantidades similares de etanol ($5,3 \pm 0,14$ g/L y $5,0 \pm 0,09$ g/L respectivamente) a partir del salvado de trigo hidrolizado. Complementando la SSF con RCC, dio como resultado un adicional de etanol de 2,0 g/L. Este estudio demostró que el salvado de trigo sin tratar puede ser un sustrato prometedor para la producción de bioetanol. La adición de celulasas recombinadas mejoró el rendimiento de producción de etanol. De igual forma, como se observa en la Tabla 6, Cripwell y col. caracterizaron el salvado de trigo antes de ser pretratado.

Cuadro 6. Caracterización fisicoquímica del salvado de trigo realizada por Cripwell y col

Componente	Paja de trigo sin moler (%)	Paja de trigo molida (%)
Celulosa	10,68	10,91
Hemicelulosa	39,06	38,99
Lignina	4,98	5,08
Extractivos	28,95	28,89
Cenizas	0,05	0,04

Fuente. Cripwell y col.⁶⁸

Liscano¹⁸ en el 2014, evaluó la producción de bioetanol de tallos de yuca de la variedad Copiblanca, Urabá, Antioquia. Se evaluaron los efectos de los factores sobre la digestibilidad enzimática en los pretratamientos hidrotérmico y ácido diluido. De igual forma se evaluó la producción de etanol utilizando como estrategia de fermentación la hidrólisis y fermentación independiente, con una cepa modificada genéticamente de *E. coli* (MS04), donde se encontró que la mayor producción de etanol se dio a las 24 horas, con una concentración de 8,87 g/L y un porcentaje de rendimiento del 94%. Por último se evaluó el efecto de la carga enzimática y concentración en la sacarificación y fermentación simultánea, usando *Saccharomyces cerevisiae*, donde se encontró que la mayor producción de etanol se dio a las 24 horas con una concentración de 1,09 g/L y porcentaje de rendimiento del 18,5%. Así mismo, se caracterizaron los tallos de yuca obteniendo los siguientes resultados: celulosa: 39,82%, hemicelulosa: 7,34%, lignina: 30,36%, cenizas: 2,0%, extractivos: 22,25%.

Choi y col.¹³ en el 2012 evaluaron el uso de los residuos de café para la producción de bioetanol, analizando el contenido de carbohidratos de estos, para determinar azúcares fermentables como la glucosa, galactosa y manosa, las cuales pueden ser fermentadas por *Saccharomyces cerevisiae*. Se realizó un pretratamiento a los residuos de café (presión a 1,47 MPa durante 10 minutos para incrementar la hidrólisis enzimática). La tasa de conversión enzimática de los residuos de café en azúcares fue de 85,6%. La concentración de etanol fue de 15,3 g/L, y el rendimiento de etanol fue de 87,2%.

Schmitt y col.¹⁰ en el 2012 evaluaron los desafíos técnicos y ambientales de la conversión de tres flujos de residuos lignocelulósicos en etanol: residuos sólidos urbanos, residuos de bajo grado de mezclas de papel desechado, y desechos orgánicos de jardín. Los resultados experimentales mostraron altos rendimientos antes y después del pretratamiento, los residuos sólidos urbanos obtuvieron un porcentaje de rendimiento del 100% de etanol antes y después del pretratamiento (ácido sulfúrico diluido (4%) a 60°C durante 6 horas), los residuos de bajo grado

de mezclas de papel desechado obtuvieron un porcentaje de rendimiento de 99 y 100% de etanol, antes y después del pretratamiento (ácido sulfúrico diluido (4%) a 60°C durante 6 horas) respectivamente, y por último los desechos orgánicos de jardín obtuvieron un porcentaje de rendimiento del 100 % de etanol antes y después del pretratamiento (se remojaron en agua durante la noche, luego se realizó una explosión de vapor de SO₂ catalizado). De igual forma, para la obtención de los resultados anteriormente nombrados, Schmitt y col. realizaron la caracterización fisicoquímica de los residuos:

Cuadro 7. Resultados de Schmitt y col. de la caracterización química de los residuos lignocelulósicos

Componentes	Residuos sólidos urbanos (%)	Residuos de bajo grado de mezclas de papel (%)	Desechos orgánicos de jardín (%)
Celulosa	58,6	64,9	35,6
Hemicelulosa	11,9	13,5	20,1
Lignina	18,3	0,6	34,6
Cenizas	3,1	6,9	4,5

Fuente. Schmitt y col.¹⁰(10)

Kallioinen y col.⁶⁹ en el 2012 estudiaron la hidrólisis enzimática y fermentación de la hierba cinta (cosechada en primavera y otoño) y de la paja de cebada, las cuales fueron pretratadas al vapor e hidrolizadas de manera eficiente mediante enzimas comerciales con una dosis de 10-20 FPU/g d.m. Se encontró que la β -glucosidasa mejoró la liberación de glucosa y xilosa durante la hidrólisis. La adición de CBH II (*Trichoderma reesei* celulasa) mejoró el nivel de hidrólisis en un 10% en 48 horas de hidrólisis. Se obtuvo una concentración de etanol del 20 g/L y un porcentaje de rendimiento del 82% con la hierba cinta; con la paja de cebada se obtuvo una concentración de etanol de 17,1 g/L y un porcentaje de rendimiento del 74%. De igual forma, se realizó la caracterización fisicoquímica de la biomasa antes y después del pretratamiento (Cuadro 8).

Cuadro 8. Resultados de la caracterización fisicoquímica de la biomasa realizada por Kallioinen y col

Muestra	Hierba cinta sin tratar	Paja de cebada sin tratar
Celulosa	32,4%	43,7%
Hemicelulosa	7,48%	23,9%

Fuente. Kallioinen y col.⁶⁹

Binod y col.⁷⁰ en el 2012 evaluaron el tallo de algodón como materia prima para la producción de bioetanol. Usaron diferentes estrategias de pretratamiento: hidróxido de sodio en un reactor de alta presión equipado con un agitador de paso de pala de la turbina, seguido una hidrólisis enzimática usando celulasas. La optimización del proceso se llevó a cabo usando el diseño experimental Taguchi. Los mejores resultados fueron logrados con las siguientes condiciones de pretratamiento: 180°C durante 45 minutos con mezcla de sustrato a 100 rpm. La eficiencia de la hidrólisis de los residuos de la planta de algodón pretratado fue muy buena (96%). Binod y col. caracterizaron los tallos de algodón antes del pretratamiento: celulosa 30%, hemicelulosa 13%, lignina 31%.

Velmurugan y col.⁷¹ en el 2011 estudiaron la producción de monómeros de azúcar del bagazo de caña de azúcar mediante hidrólisis ácida sono-asistida. El bagazo de caña de azúcar fue sometido al pretratamiento alcalino sono-asistido, donde se observó que la recuperación de la celulosa y hemicelulosa (en contenido sólido) fue de 99 y 78,95%, respectivamente, y la eliminación de lignina durante el pretratamiento fue aproximadamente del 75,44%. El contenido sólido obtenido fue sometido a una hidrólisis ácida sono-asistida. Velmurugan y col, encontraron que el contenido hidrolizado tenía menos inhibidores, mejorando la producción de bioetanol, observando un rendimiento del 0,17 g/g de etanol del bagazo de caña pretratado. En el Cuadro 9 se encuentran los valores de la caracterización fisicoquímica realizada al bagazo de caña de azúcar antes y después del pretratamiento.

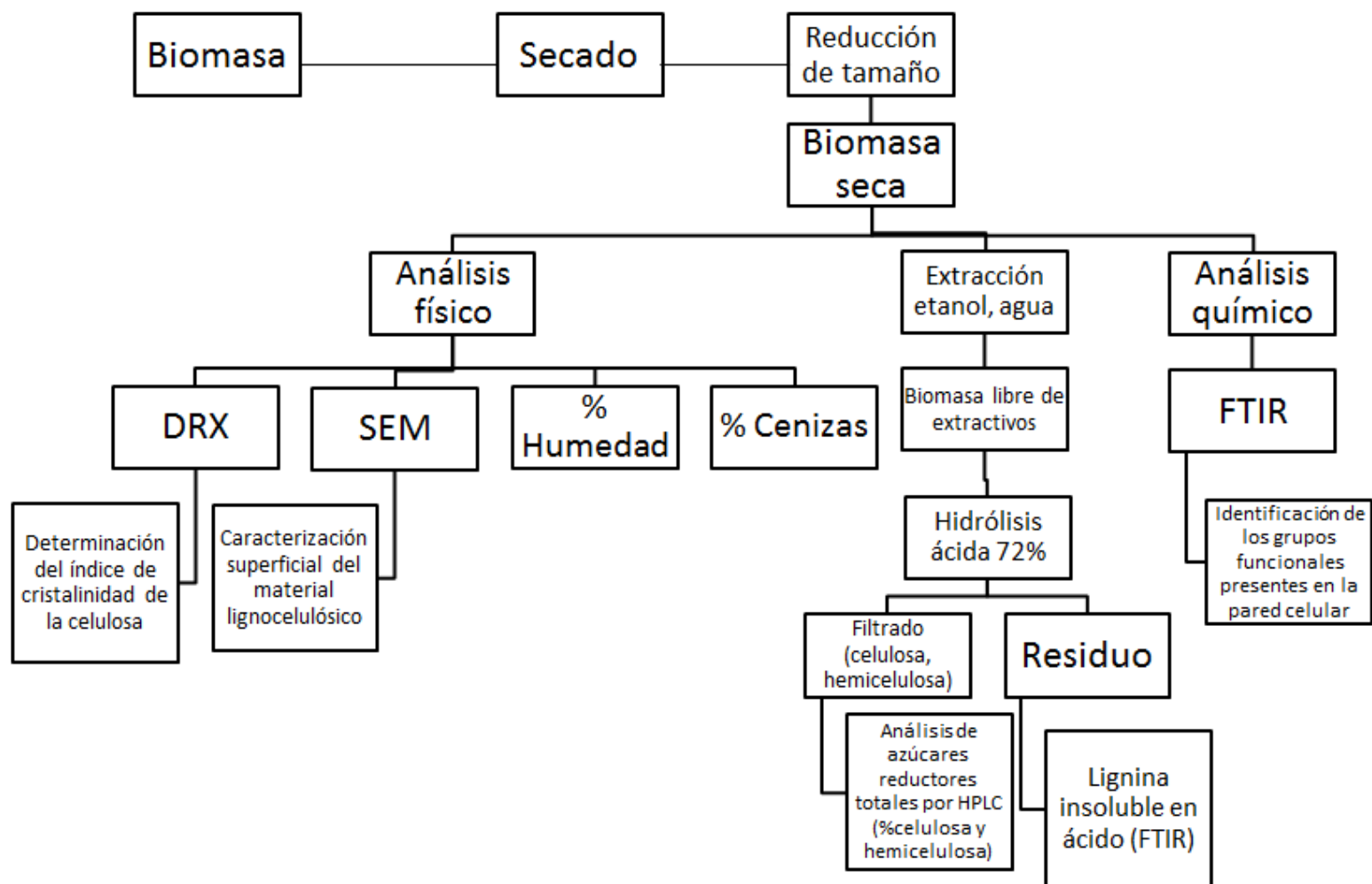
Cuadro 9. Resultados encontrados por Velmurugan y col. de la caracterización fisicoquímica del bagazo de caña de azúcar antes y después del pretratamiento

	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)
Antes del pretratamiento	35,6	26,63	17,1
Después de pretratamiento	44,61	26,32	5,26

Fuente. Velmurugan y col.⁷¹

5. DISEÑO METODOLÓGICO

Figura 12. Metodología planteada



Fuente. Autor

En la Figura 12 se planteó de manera general la metodología planteada para este trabajo; allí se puede observar que se realizaron tres análisis fundamentales una vez se secó la muestra. Se realizó un análisis físico (MEB, DRX, determinación porcentaje de humedad y cenizas), extracción etanol – agua para la determinación de la celulosa, hemicelulosa y lignina, y finalmente un análisis químico (FTIR)

La metodología planteada en este trabajo se basó en los protocolos establecidos por la NREL que se encuentran en el Cuadro 10.

Cuadro 10. Protocolos NREL

Procedimiento	Protocolo
Determinación de humedad	NREL/TP-510-42621
Determinación de cenizas	NREL/TP-510-42622
Extractivos con agua y etanol	NREL/TP-510-42621
Lignina soluble e insoluble	NREL/TP-150-42618
Celulosa y hemicelulosa	NREL/TP-510-42618

Fuente. Autor

Todos los procedimientos planteados en la metodología del presente trabajo se realizaron por triplicado con el fin de obtener resultados más confiables.

En el Cuadro 11 se encuentran los equipos usados en este trabajo y sus respectivas referencias.

Cuadro 11. Equipos utilizados en la investigación

Equipo	Referencia
Balanza	OHAUS®, PIONEER (capacidad máxima: 210 g; Desviación estándar: 0,0001g)
Mufla	E&Q, Mufla (Temperatura constante: 50 a 1100°C)
Estufa	Thermo Scientific
UV-Vis	Agilent 8453 (Sistema espectroscópico)
HPLC	Agilent 1200
MEB	Quanta 650 FEG ambiental, con energía dispersa de Rayos – X
FTIR	IRAffinity-1; SHIMADAZU
DRX	Difractómetro de polvo BRUKER - D8 ADVANCE Geometría DaVinci

Fuente. Autor

5.1. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA DE LOS DOS RESIDUOS ORGÁNICOS (BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR, CASCARILLA DE CAFÉ) Y DE LA MUESTRA PROBLEMA (MEZCLA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y LA CASCARILLA DE CAFÉ)

5.1.1. Determinación de la humedad⁷²

Se pesaron 5 gramos de muestra en base seca en una caja Petri previamente pesada, la cual se puso en un horno durante 4 horas a 105°C. Una vez pasado el tiempo, se retiró la muestra y se puso en un desecador hasta que esta se enfrió. Seguido a esto, la muestra fue pesada. La humedad de la biomasa fue determinada con la siguiente ecuación:

Ecuación 1. Determinación de humedad

$$\%humedad = \left(\frac{g_{vidrio+muestra\ seca} - g_{vidrio}}{g_{vidrio+muestra\ húmeda}} \right) * 100$$

5.1.2. Determinación de las cenizas⁷³

Los crisoles usados se pusieron en una mufla a 575°C durante 4 horas, seguido a esto se retiraron, se dejaron enfriar en un desecador y se pesaron. Se pesaron 2 gramos de muestra en base seca en un crisol, seguido a esto se puso en la mufla. Se tuvo en cuenta la siguiente rampa de temperatura, teniendo en cuenta que la temperatura inicial fue de 105°C:

- Se dejó la temperatura a 105°C durante 12 minutos
- Se subió la temperatura a 250°C (10°C por minuto)
- Se mantuvieron los 250°C durante 30 minutos
- Se subió la temperatura a 575°C (20°C por minuto)
- Se mantuvo la temperatura durante 180 minutos
- Se bajó la temperatura a 105°C

Una vez pasado el tiempo, la muestra fue retirada de la mufla y se dejó enfriar en un desecador a temperatura ambiente. Seguido a esto se pesó. Este procedimiento fue repetido 3 veces con el fin de tener un peso constante. La determinación de cenizas se realizó usando la siguiente ecuación:

Ecuación 2. Determinación de cenizas

$$\%cenizas = \left(\frac{M_c - M_a}{M_b - M_a} \right) * 100$$

Donde:

M_a= gramos del crisol

M_b= gramos del crisol con muestra

M_c= gramos del crisol con cenizas

5.1.3. Cuantificación de extractivos⁷⁴

Para determinar el porcentaje de extraíbles se realizó un montaje tipo Soxhlet. En un papel de filtro, previamente pesado, se adicionaron de 7 a 10 gramos de muestra en base seca, el cual fue introducido en el tubo Soxhlet. Las extracciones se realizaron con etanol durante 24 horas con cambios cada 8 horas por etanol fresco. Luego de esto, se realizó otra extracción con agua durante 24 horas con cambios cada 8 horas por agua fresca, esto con el fin de retirar todos los extractivos presentes en la muestra. El porcentaje de extraíbles fue determinado usando la siguiente ecuación:

Ecuación 3. Determinación de extractivos

$$\% extractivos = \left(\frac{g_{muestra} - g_{muestra\ seca}}{g_{muestra}} \right) * 100$$

5.1.4. Preparación de la muestra para determinación de azúcares reductores⁷⁵

Se pesaron 300 ± 10 mg de la muestra en base seca en un tubo de ensayo. Se adicionaron $3 \pm 0,01$ mL de ácido sulfúrico al 72% en la muestra. Se mezcló de manera homogénea la muestra. Se introdujo el tubo en un baño de agua a 30 ± 3 °C durante una hora. Se agitó la muestra cada cinco y diez minutos (sin retirar de

baño de agua) con una varilla de agitación. Una vez pasado el tiempo establecido se diluyó el ácido a una concentración del 4% mediante la adición de $84 \pm 0,04$ mL de agua desionizada.

Se preparó un conjunto estándar de azúcares (D (+) –Celobiosa, D-(+)-glucosa, D-(+)-xilosa y D-(+)-arabinosa), para obtener las curvas de calibración.

5.1.5. Análisis de la lignina insoluble en ácido⁷⁵

La mezcla obtenida durante la preparación para la determinación de azúcares reductores (numeral 5.1.4) se filtró a través de papel de filtro previamente pesado. El filtrado se adicionó en un erlenmeyer. Seguido a esto, se tomó una alícuota de 50 mL la cual se puso en una botella de almacenamiento, muestra que se utilizó para la determinación de lignina soluble y carbohidratos. Se enjuagaron los sólidos con agua desionizada hasta obtener un pH neutro.

Se secó el papel de filtro junto con los residuos del ácido insoluble a 105 ± 3 °C durante cuatro horas. Una vez pasado el tiempo, se retiró la muestra del horno y se dejó enfriar a temperatura ambiente en un desecador. Se anotó el peso. Seguido a esto, se realizó el procedimiento de cenizas (numeral 5.1.2). La cantidad de lignina insoluble en ácido se calculó teniendo en cuenta la Ecuación 4.

Ecuación 4. Determinación cantidad lignina insoluble en ácido (LIA)

$$\%LIA = \left(\frac{g_{filtro+muestra} - g_{filtro}}{g_{muestra}} \right) * 100 - \%cenizas$$

5.1.6. Análisis de la lignina soluble en ácido⁷⁵

Se usó un espectrofotómetro UV-VIS. Se usó la alícuota previamente almacenada, a la cual se le midió la absorbancia a una longitud de onda apropiada (280 nm). Se diluyó la muestra (en agua desionizada o ácido sulfúrico al 4%), obteniendo una absorbancia en un intervalo de 0,7 a 1,0. Se registró la absorbancia obtenida. La cantidad de lignina soluble en ácido se calculó teniendo en cuenta la Ecuación 5:

Ecuación 5. Determinación cantidad lignina soluble en ácido

$$\%ASL = \frac{UVabs * Volumen filtrado * Dilución}{\epsilon * muestra ODW} * 100$$

Donde:

UVabs: promedio de absorbancia UV-vis para la muestra a 320 nm.

Dilución: factor de dilución (en este caso se usó un factor de dilución de 10)

ϵ : absorbancia de la biomasa en la longitud de onda específica (valor recomendado por NREL: 25)

Para la determinación de la lignina total se usó la Ecuación 6.

Ecuación 6. Determinación lignina

$$\% LIGNINA = \%LIA + \%LSA$$

5.1.7. Análisis de una muestra para carbohidratos estructurales⁷⁵

Se prepararon curvas de calibración para conjunto de estándares de calibración (D-(+)-glucosa, D-(+)-xilosa, D-(+)-arabinosa, celobiosa), los cuales fueron analizados en el HPLC Agilent 1200, donde se tuvo en cuenta las siguientes condiciones del equipo:

- Columna: Agilent ZORBAX Carbohydrate Analysis Column (Columna Análisis de Carbohidratos)
- Detector: Agilent 1200 Series Refractive Index Detector (Detector Índice de Refracción)
- Volumen de inyección: 5 μ L
- Fase móvil: acetonitrilo-agua desionizada (75:25)
- Rango de flujo: 0,8 mL/minuto
- Temperatura de la columna: 30°C
- Temperatura del detector: lo más cercano a la temperatura de la columna
- Tiempo: 12 minutos

En un tubo de ensayo se adicionaron 5mL de la alícuota obtenida en el procedimiento anterior (Análisis de la lignina insoluble en ácido, numeral 5.1.5). Se usó carbonato de calcio (muestra sólida, polvo) para neutralizar la muestra a pH 5 – 6, seguido a esto se centrifugó la muestra con el fin de asentarla y decantarla. Se preparó la muestra para el análisis HPLC, el líquido decantado se pasó a través de un filtro de 0,2 µm en un vial de automuestreador. Se procedió al análisis, se tomó nota de los resultados obtenidos.

Teniendo en cuenta la concentración de D-(+)-glucosa y celobiosa se determinó la celulosa presente en la muestra, y la concentración de D-(+)-arabinosa y D-(+)-xilosa permitió determinar la hemicelulosa presente.

5.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS DOS RESIDUOS ORGÁNICOS (BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y CASCARILLA DE CAFÉ) Y DE LA MUESTRA PROBLEMA (MEZCLA DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y LA CASCARILLA DE CAFÉ)

5.2.1. Caracterización mediante microscopía electrónica de barrido (SEM)⁷⁶

Se usó un microscopio de barrido electrónico Quanta 650 FEG ambiental, con energía dispersa de Rayos – X. A las muestras se les realizó un recubrimiento de oro para una mejor observación de la superficie de estas. Este análisis se realizó en los laboratorios de la Universidad Industrial de Santander, UIS, sede Guatiguará.

5.2.2. Caracterización mediante difracción de Rayos – X (DRX)⁷⁶

Este análisis se realizó con el fin de evaluar el cambio de la cristalinidad de las muestras después de la etapa de pretratamiento. Este análisis se realizó en los laboratorios de la Universidad Industrial de Santander, UIS, sede Guatiguará.

El índice de cristalinidad de las materias lignocelulósicas se calculó teniendo en cuenta la Ecuación 6.⁷⁶

Ecuación 7. Determinación del índice de cristalinidad

$$I_c = \left(\frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \right) * 100$$

Donde:

I_c : índice de cristalinidad (%).

I_{002} : intensidad del pico cristalino # 002 ($2\theta = 22,6^\circ$).

I_{am} : intensidad del pico en la fase amorfa ($2\theta = 19,0^\circ$).

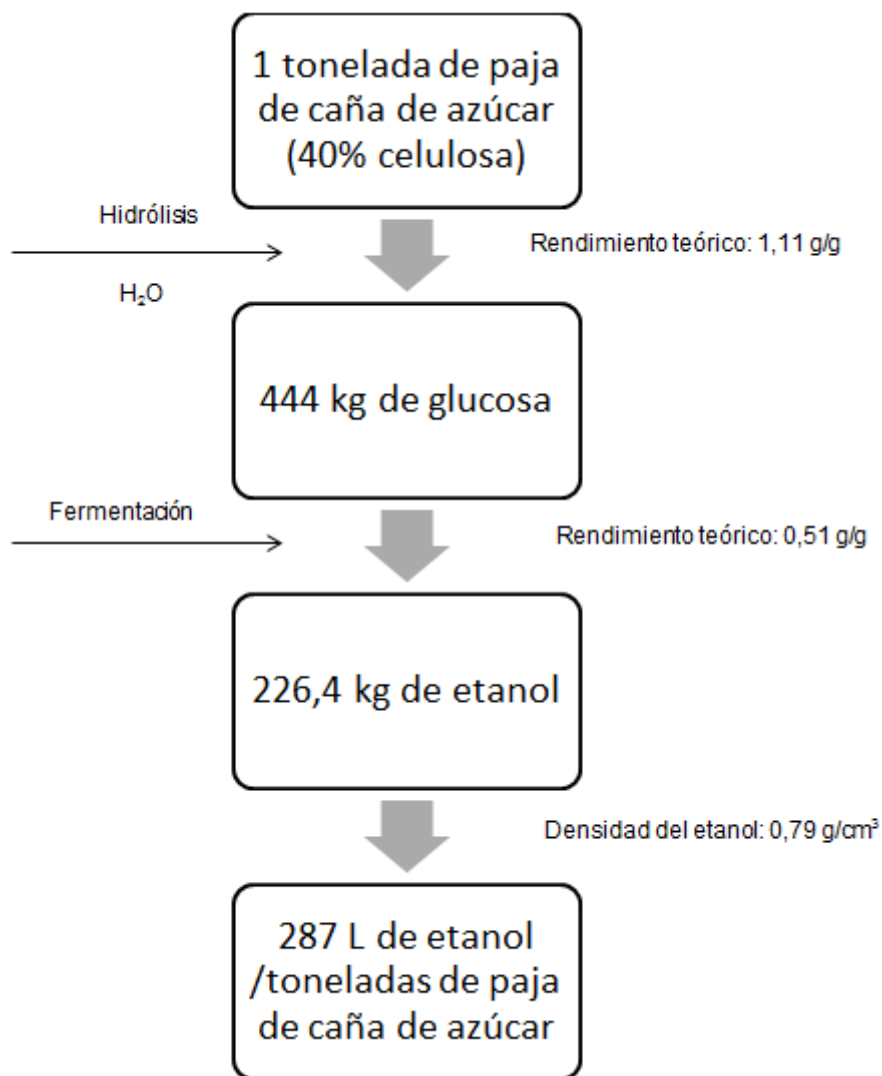
5.2.3. Caracterización mediante Espectroscopía Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)⁷⁶

Este análisis se realizó con el fin de observar los grupos funcionales de las muestras antes de ser sometidas a una etapa de pretratamiento. Este análisis se realizó en los laboratorios de la Universidad Santo Tomás, Seccional Bucaramanga, Campus Floridablanca.

5.3. DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL TEÓRICO DE LA MUESTRA (MEZCLA DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y CASCARILLA DE CAFÉ) PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN

Para la determinación del porcentaje para la producción de bioetanol de segunda generación a partir de la mezcla del bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café, se siguió el Figura 13, la cual se basa en la investigación realizada por Santos y col.⁷⁷ en el 2012, donde tomaban como referencia paja de caña de azúcar con un porcentaje teórico de celulosa del 40%, al cual le realizaron una hidrólisis ácida con un rendimiento teórico de 1,11g/g, obteniendo 444 kg de glucosa, a la cual se realizó un proceso de fermentación con un rendimiento teórico de 0,51 g/g, obteniendo 226,4 kg de etanol, finalmente, mediante la densidad del etanol, de 1 tonelada de paja de caña de azúcar con un 40% de celulosa, se obtuvieron 287 litros de bioetanol.

Figura 13. Rendimiento teórico de la producción de etanol por hectárea



Fuente. Santos y col.⁷⁷

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El bagazo de caña de azúcar usado en este trabajo fue donado por la finca Bore Sur, ubicada en el municipio de Piedecuesta, Santander, la cual tiene una cosecha de caña de azúcar panelera (Figura 14). La cascarilla de café usada en este trabajo fue donado por la hacienda El Roble, ubicada en el municipio de Los Santos, Santander (Figura 15).

Figura 14. Cultivo de caña de azúcar y almacenamiento de bagazo de caña de azúcar, finca Bore Sur.



Fuente. Autor

Figura 15. Cultivo de café y almacenamiento de la cascarilla de café, hacienda El Roble.



Fuente. Autor

6.1.DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR, LA CASCARILLA DE CAFÉ Y SUS RESPECTIVAS MEZCLAS

Para este trabajo se usaron tres mezclas de bagazo de caña de azúcar y cascarilla de café, teniendo en cuenta que siempre se tuvo en mayor proporción el bagazo de caña de azúcar. Las mezclas usadas fueron: 50:50 (bagazo de caña de azúcar:cascarilla de café), 70:30 (bagazo de caña de azúcar:cascarilla de café) y 90:10 (bagazo de caña de azúcar:cascarilla de café).

6.1.1. Determinación del porcentaje de humedad

Para la determinación de la humedad de las biomásas a analizar se usó la Ecuación 1. Los resultados obtenidos se encuentran en el Cuadro 12.

Cuadro 12. Resultados porcentaje de humedad

Muestra	% Humedad
Bagazo de caña de azúcar	5,76 ± 0,19
Cascarilla de café	5,82 ± 0,21
Mezcla 50:50	5,72 ± 0,08
Mezcla 70:30	6,18 ± 0,41
Mezcla 90:10	5,93 ± 0,43

Fuente. Autor

Teóricamente, el bagazo de caña de azúcar tiene un porcentaje de humedad de 50%⁷⁸ y la cascarilla de café de 15%.⁵⁴ Como se puede observar en el cuadro anterior, los porcentajes de humedad del bagazo de caña de azúcar y de cascarilla de café son 5,76% y 5,82%, respectivamente, valores alejados de los teóricos, esto se debe a que la biomasa analizada se encontraba en base seca, lo cual era necesario para la realización del resto de los análisis.

6.1.2. Determinación del porcentaje de cenizas

Para la determinación del porcentaje de cenizas se trabajó a partir de una base seca tanto de bagazo de caña de azúcar como de cascarilla de café. Los valores observados en el Cuadro 13 se determinaron mediante la Ecuación 2.

Cuadro 13. Resultados porcentaje de cenizas

Muestra	% cenizas
Bagazo de caña de azúcar	2,38 ± 0,40
Cascarilla de café	1,72 ± 0,12
Mezcla 50:50	1,48 ± 0,28
Mezcla 70:30	1,36 ± 0,09
Mezcla 90:10	1,74 ± 0,13

Fuente. Autor

Las cenizas son la materia inorgánica que se encuentra enlazada en la estructura física de la biomasa.⁷³ Por otro lado, se sabe que un alto contenido de cenizas puede afectar la hidrólisis y la fermentación de la biomasa para la obtención del etanol; asimismo, teniendo en cuenta que dicho etanol será destinado al sector de transporte, las biomásas usadas como materia prima con alto contenido de cenizas puede provocar ciertos problemas de formación de depósitos, por lo cual no sería una buena opción para la producción de biocombustibles líquidos (mayor porcentaje de cenizas, requiere más mantenimiento).^{10,48}

Teóricamente el bagazo de caña de azúcar tiene un porcentaje (promedio) de cenizas de 2,84%⁴⁸ y la cascarilla de café de 5,4%.⁵⁴ Como se observa en el Cuadro 12, los porcentajes de cenizas obtenidos en este trabajo para el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café fueron 2,38% y 1,72%, respectivamente. El valor obtenido para el bagazo de caña de azúcar se encuentra dentro del rango establecido teóricamente. Por otro lado, se debe tener en cuenta que el porcentaje de cenizas puede variar dependiendo de la forma como se haya realizado la colecta de la biomasa y que tan cerca está del suelo.⁷⁹

6.1.3. Determinación del porcentaje de extractivos

Para la determinación del porcentaje de los compuestos extraíbles se usó la Ecuación 3. Los resultados obtenidos se encuentran en el Cuadro 14. Este procedimiento fue realizado a partir de la biomasa en base seca.

Cuadro 14. Resultados porcentaje de extractivos

Muestra	% extractivos
Bagazo de caña de azúcar	21,27 ± 0,34
Cascarilla de café	11,32 ± 0,23
Mezcla 50:50	14,59 ± 0,54
Mezcla 70:30	14,76 ± 0,31
Mezcla 90:10	10,99 ± 0,39

Fuente. Autor

Estudios encontrados en la literatura muestran que el bagazo de caña de azúcar tiene un porcentaje (promedio) de extractivos de 5,63%,⁴⁸ y la cascarilla de café de 15,6%.⁵⁴ En este trabajo se obtuvo para el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café un porcentaje de extractivos de 21,11% y 11,29%, respectivamente. Por otro lado, se puede observar en el Cuadro 14 que el porcentaje de extractivos del bagazo de caña de azúcar disminuye cuando se mezcla con la cascarilla de café.

Dentro de los compuestos extractivos de la biomasa se encuentran los ésteres, ácidos grasos, esteroides, compuestos alcohólicos y fenólicos, los cuales representan alrededor del 4 al 10% de la composición de la biomasa⁴³⁻⁴⁵ Como se puede observar en los resultados obtenidos, el porcentaje de extractivos del bagazo de caña de azúcar es bastante alto respecto al reportado teóricamente, lo cual puede ser producto de que la extracción del jugo de la caña de azúcar en los trapiches es poco eficaz, por lo cual el bagazo que queda tiene un alto contenido de azúcares incluso después del secado, los cuales son solubilizados en el proceso de extracción con agua, haciendo que el porcentaje de extractivos aumente de manera significativa.⁸⁰ Por otro lado, se observa que el porcentaje de extractivos en la cascarilla de café comparado con el de las biomásas en general, es muy parecido.

6.1.4. Determinación del porcentaje de lignina total

Para la determinación de la lignina total se usó la Ecuación 6, para la cual se debió determinar la lignina insoluble en ácido (Ecuación 4) y la lignina soluble en ácido (Ecuación 5). La biomasa usada en este procedimiento se encontraba libre de extractivos. En el Cuadro 15 se pueden observar los resultados obtenidos.

Cuadro 15. Resultados lignina insoluble en ácido, lignina soluble en ácido y lignina total

Muestra	%LIA	%LSA	% Lignina total
Bagazo de caña de azúcar	19,42 ± 0,85	9,88 ± 0,62	29,30 ± 0,63
Cascarilla de café	22,21 ± 0,25	10,25 ± 0,25	32,46 ± 0,35
Mezcla 50:50	13,56 ± 0,09	5,94 ± 0,10	19,50 ± 0,18
Mezcla 70:30	24,82 ± 1	8,96 ± 0,92	33,78 ± 0,24
Mezcla 90:10	17,52 ± 0,39	11,20 ± 0,04	28,85 ± 0,41

Fuente. Autor

La lignina es muy importante dentro de la composición de la biomasa lignocelulósica debido a que esta proporciona un soporte estructural, rigidez y protección a la celulosa y hemicelulosa.^{25,31}

Teóricamente la biomasa lignocelulósica tiene un porcentaje de lignina total que varía entre 15 – 25%, dependiendo del tipo de planta.⁴² Para el caso del bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café, el porcentaje de lignina de estos dos, según datos reportados, es de 21,56%⁴⁸ y de 23,7%,⁵⁴ respectivamente. Como se observa en el Cuadro 15, el porcentaje de lignina total para el bagazo de caña de azúcar fue de 29,30% y para la cascarilla de café fue de 32,46%. Respecto a las mezclas de las biomásas, se puede observar que los porcentajes de lignina son ligeramente bajos respecto a los obtenidos para las materias primas.

El hecho que las biomásas analizadas tengan un alto porcentaje de lignina quiere decir que son materiales leñosos, lo cual hace difícil el acceso a la celulosa. Por otro lado, la cascarilla de café se presenta de dos formas, una de estas tiene un componente fibroso llamado pergamino de café (compuesta de celulosa: 40 – 49%, hemicelulosa: 25 – 32%, lignina: 33 – 35%, cenizas 0,5 – 1%), lo cual puede explicar por qué el porcentaje de lignina de la cascarilla de café determinada en este trabajo es tan alto respecto al porcentaje reportado.^{52,56}

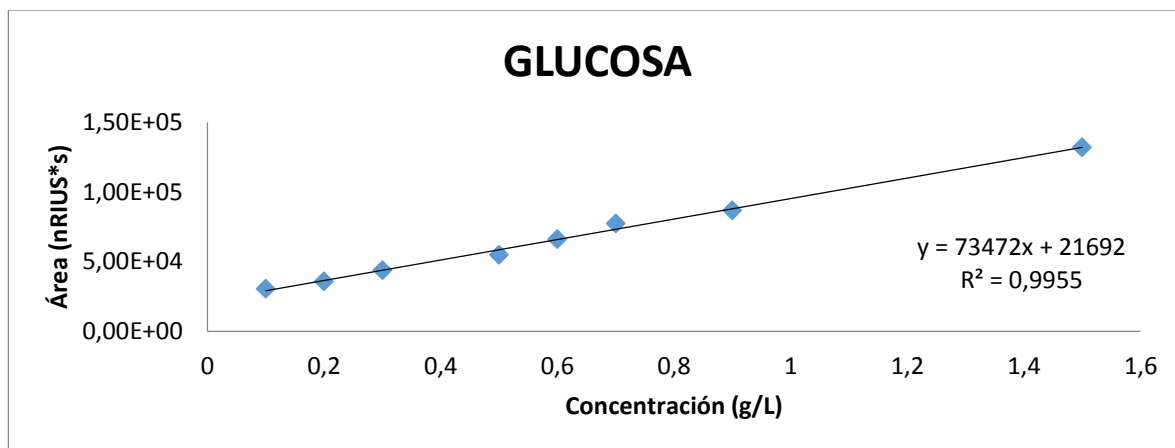
6.1.5. Determinación de azúcares reductores totales

Los azúcares reductores totales que se analizaron en este trabajo fueron glucosa, celobiosa, arabinosa y xilosa, mediante los cuales se determinó el porcentaje de celulosa y hemicelulosa presente en la biomasa lignocelulósica. Para la obtención de dichos resultados, primero fue necesario realizar una curva de calibración para cada azúcar (se realizó un triplicado de la curva de calibración). En los Anexos 1 – 5, se encuentran los cromatogramas obtenidos en el equipo de HPLC que se

usaron para la determinación del porcentaje de azúcares presentes en las muestras.

- Glucosa

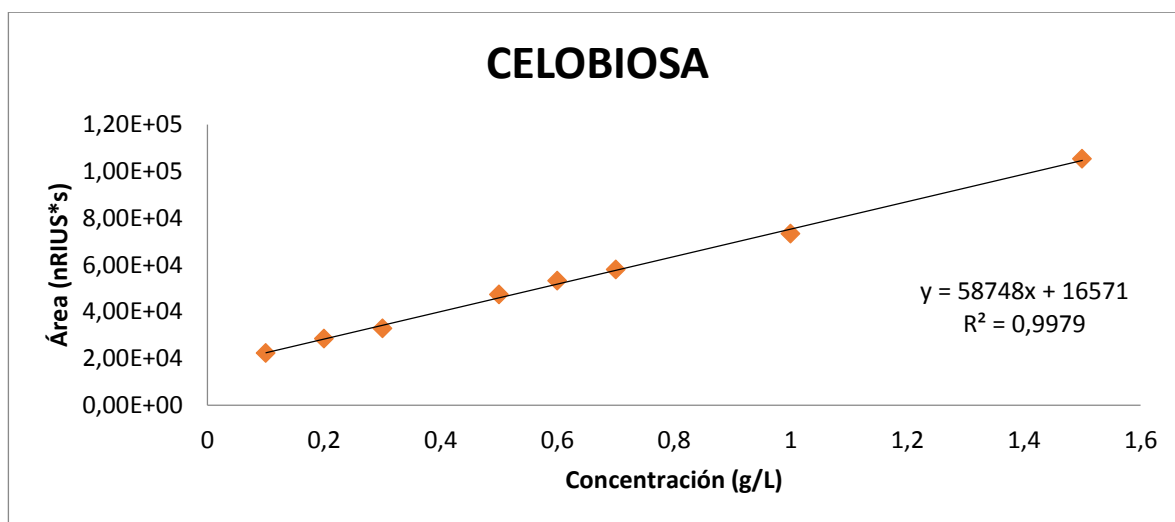
Figura 16. Curva de calibración para la determinación de glucosa en la muestra



Fuente. Autor

- Celobiosa

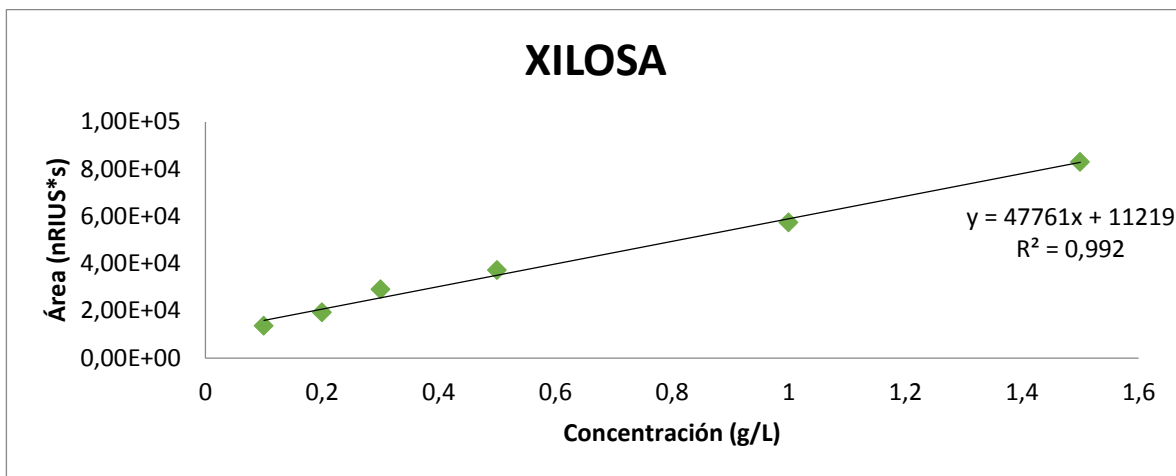
Figura 17. Curva de calibración para la determinación de celobiosa en la muestra



Fuente. Autor

- Xilosa

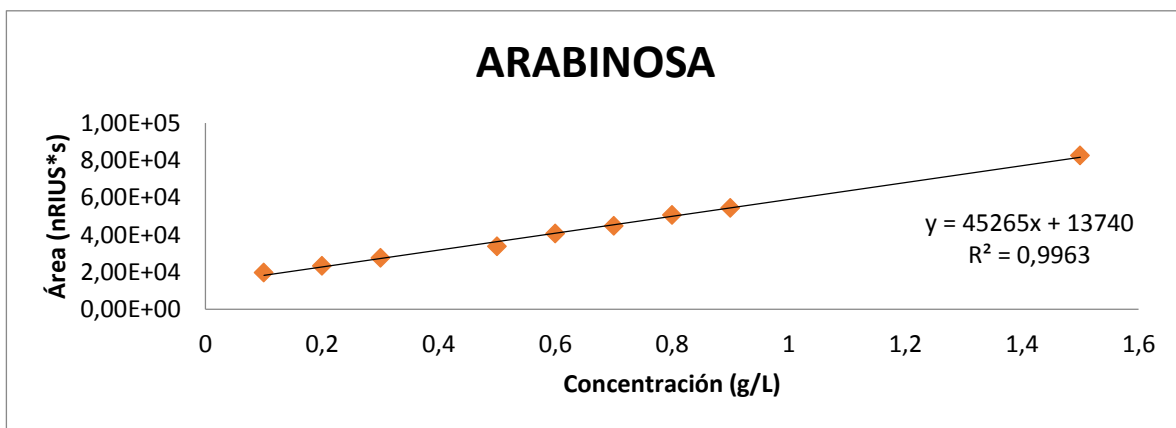
Figura 18. Curva de calibración para la determinación de xilosa en la muestra



Fuente. Autor

- Arabinosa

Figura 19. Curva de calibración para la determinación de arabinosa en la muestra



Fuente. Autor

Ecuación 8. Ecuación de la recta (Determinación de la concentración de cada azúcar)

$$y = mx + b$$

Ecuación 9. Determinación porcentaje de ART

$$\%ART = \left(\frac{C_{ART} * FC * V_{filtrado}}{g_{muestra}} \right) * 100$$

Donde:

C_{ART}: concentración determinada mediante la Ecuación 8.

FC: factor de corrección para determinar la concentración polimérica de los azúcares dada la concentración de los azúcares monoméricos (glucosa: 0,9, celobiosa: 0,95, xilosa: 0,88, arabinosa: 0,88)

V_{filtrado}: 0,087 L

g_{muestra}: gramos usados en el procedimiento para la determinación de lignina.

Para la determinación de la concentración de cada azúcar se usó la Ecuación 8. Una vez obtenido este resultado, se determinó el porcentaje de los azúcares en la biomasa analizada mediante la Ecuación 9. Los resultados obtenidos se pueden observar en el Cuadro 16.

Cuadro 16. Resultados porcentaje de azúcares reductores totales

Muestra	% Glucosa	% Celobiosa	% Xilosa	% Arabinosa
Bagazo de caña de azúcar	22,68 ± 1,74	-	11,24 ± 0,97	-
Cascarilla de café	20,20 ± 2,7	-	7,62 ± 0,39	-
Mezcla 50:50	23,54 ± 1,89	-	13,15 ± 0,26	-
Mezcla 70:30	25,55 ± 0,8	-	13,62 ± 2,07	-
Mezcla 90:10	21,91 ± 2,41	-	7,84 ± 1,59	-

Fuente. Autor

Teóricamente la biomasa lignocelulósica tiene un porcentaje de celulosa que varía entre 23 – 53% (en base seca); por otro lado, el porcentaje de hemicelulosa de la biomasa lignocelulósica varía entre 22 – 37%; esto depende del tipo de biomasa, condiciones climáticas y ubicación geográfica.^{35,37} Según datos reportados en la literatura, el bagazo de caña de azúcar tiene un porcentaje de celulosa y hemicelulosa de 42,19% y 27,60%,⁴⁸ respectivamente; por otro lado, la cascarilla de café tiene un porcentaje de celulosa y hemicelulosa de 24,5% y 27,7%,⁵⁴ respectivamente.

Respecto a los porcentajes de celulosa y hemicelulosa obtenidos para el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café, se puede observar que al mezclarlos dichos porcentajes aumentan, lo cual es una ratificación de que estos dos productos agroindustriales se complementan cuando están mezclados.

6.2. DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL TEÓRICO DE LA MUESTRA (MEZCLA DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y CASCARILLA DE CAFÉ) PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN

A partir de la Figura 13 se realizaron los cálculos teóricos para determinar el potencial teórico del bagazo de caña de azúcar, la cascarilla de café y sus respectivas mezclas para la producción de bioetanol de segunda generación. En el Cuadro 17 se presentan todos los resultados obtenidos en este trabajo, datos necesarios para la determinación de los litros (teóricos) producidos por tonelada de la biomasa, los cuales son directamente proporcionales al porcentaje de celulosa determinado. Al tener un mayor porcentaje de celulosa presente en la biomasa, se tendrá un rendimiento teórico de producción de etanol mayor.

Cuadro 17. Resultados caracterización de las biomásas y sus mezclas

Parámetro	Bagazo de caña de azúcar	Cascarilla de café	Mezcla 50:50	Mezcla 70:30	Mezcla 90:10
% Humedad	5,76 ± 0,19	5,82 ± 0,21	5,72 ± 0,08	6,18 ± 0,41	5,93 ± 0,43
% Cenizas	2,38 ± 0,40	1,72 ± 0,12	1,48 ± 0,28	1,36 ± 0,09	1,74 ± 0,13
% Extractivos	22,27 ± 0,34	11,32 ± 0,23	14,59 ± 0,54	14,76 ± 0,31	10,99 ± 0,39
% Lignina	29,30 ± 0,63	32,46 ± 0,35	19,50 ± 0,18	33,78 ± 0,24	28,72 ± 0,41
%LIA	19,42 ± 0,85	22,21 ± 0,25	13,56 ± 0,09	24,82 ± 1	17,52 ± 0,39
%LSA	9,88 ± 0,62	10,25 ± 0,25	5,94 ± 0,10	8,96 ± 0,92	11,20 ± 0,04
% Celulosa	22,68 ± 1,74	20,20 ± 2,7	23,54 ± 1,89	25,55 ± 0,8	21,91 ± 2,41
% Hemicelulosa	11,24 ± 0,97	7,62 ± 0,39	13,15 ± 0,26	13,62 ± 0,2	7,84 ± 1,5
Litros de etanol/tonelada de la biomasa	162,52	144,75	168,68	183,09	157

Fuente. Autor

Los litros de etanol por tonelada de biomasa varían según el porcentaje de celulosa y hemicelulosa que ésta tenga. Teóricamente el bagazo de caña de azúcar, sin ninguna clase de pretratamiento, tiene un porcentaje de celulosa entre 42 – 50%, lo cual, teniendo los cálculos realizados a partir del Esquema 2, por tonelada de bagazo de caña de azúcar se estarían produciendo entre 300,96 y 358,29 litros de etanol. Por otro lado, teóricamente, la cascarilla de café tiene un porcentaje de celulosa entre 40 – 49%, teniendo una produciendo entre 286,63 y 351,13 litros de etanol por tonelada de cascarilla de café.

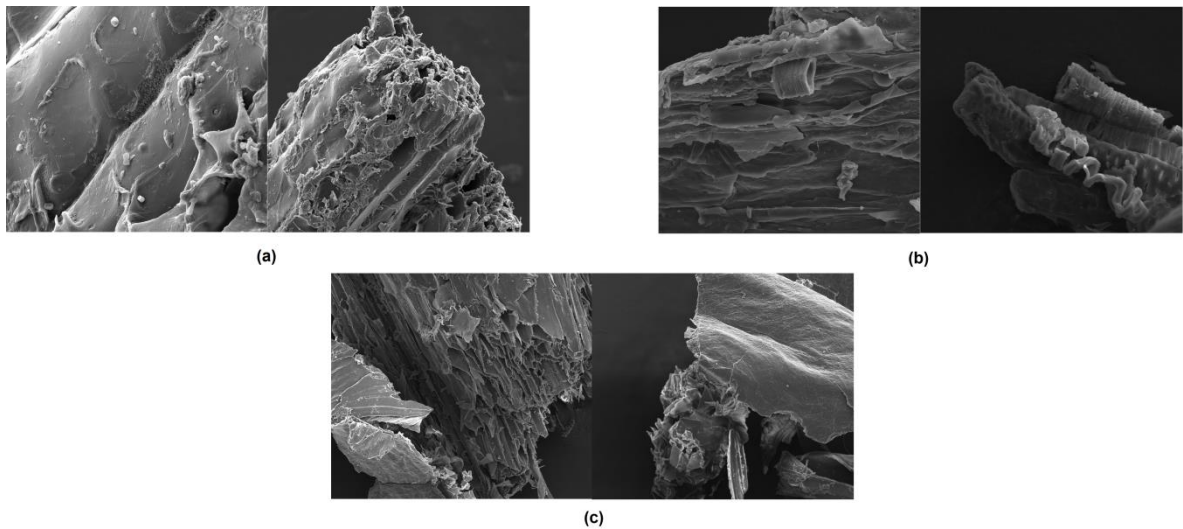
Como se observa en el Cuadro 17, los litros de etanol producidos por tonelada de las respectivas biomásas y sus mezclas, son aproximadamente la mitad de los reportados anteriormente, lo cual no significa que estas biomásas no sirvan para la producción de bioetanol, ya que con un pretratamiento adecuado se puede llegar a obtener un mayor porcentaje de celulosa amorfa disponible, lo cual influirá en el aumento de los litros de etanol producidos por tonelada de la biomasa.

De igual forma el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café, según la investigación realizada en este trabajo producirán más litros de etanol por tonelada de biomasa si se mezclan, lo cual indica que la mezcla de estas dos es funcional para la producción de bioetanol de segunda generación.

6.3. ANÁLISIS MORFOLÓGICO DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR, LA CASCARILLA DE CAFÉ Y SUS MEZCLAS MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

El análisis de MEB se realizó con el fin de evaluar la superficie y morfología de las biomásas analizadas (bagazo de caña de azúcar, cascarilla de café y su mezcla 50:50).

Figura 20. Micrografías de las biomasas: (a) Bagazo de caña de azúcar; (b) Cascarilla de café; (c) Mezcla 50:50



Fuente. Autor

En la Figura 20 (a) se observa que las fibras del bagazo de caña de azúcar tienen una estructura compacta, con una superficie continua (plana) y suave; asimismo, en la punta de la biomasa se puede ver como esta es más porosa, lo cual facilita el ingreso a la parte interna de esta (al momento de realizar una hidrólisis ácida).

Por otro lado, en la Figura 20 (b) se observa que la cascarilla de café tiene unas fibras largas y ordenadas, presentando una morfología consistente con vasos paralelos conductivos visibles, y al igual que el bagazo de caña de azúcar, posee una estructura compacta, con una superficie continua (plana) y suave. (De igual forma se alcanza a observar las fibras de la celulosa presente en la cascarilla de café).^{81,82}

La mezcla 50:50 del bagazo de caña de azúcar y cascarilla de café observada en la Figura 20 (c), muestra que las dos biomasas comparten ciertas características como se mencionó anteriormente. De igual forma, las micrografías con mayor aumento muestran las fibras de celulosa que hay en las biomasas.

6.4. ANÁLISIS DEL ÍNDICE DE CRISTALINIDAD DE LA CELULOSA

Para la determinación del índice de cristalinidad de la celulosa presente en el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café se usó la técnica de Difracción de Rayos X (DRX). Teniendo en cuenta los datos presentados en el Figura 21 (bagazo de caña de azúcar) y Figura 22 (cascarilla de café), se empleó la Ecuación 7, para así obtener los datos reportados en el Cuadro 18.

La celulosa tiene una estructura cristalina debido a los enlaces de hidrógeno y las interacciones de Van der Waals que hay entre las moléculas de celulosa contiguas, en comparación con la hemicelulosa y la lignina, las cuales son de naturaleza amorfa. Teniendo en cuenta lo anterior, la celulosa es muy difícil de degradar, por lo cual se deben emplear procedimientos tales como la catálisis ácida o enzimática para poder degradarla, por esto es importante conocer el índice de cristalinidad de la celulosa ya que es uno de los principales factores que influyen en la hidrólisis enzimática.^{76,81,83}

Cuadro 18. Índices de cristalinidad (IC) para el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café

Muestra	Índice de Cristalinidad (%)
Bagazo de caña de azúcar	33,60
Cascarilla de café	39,23

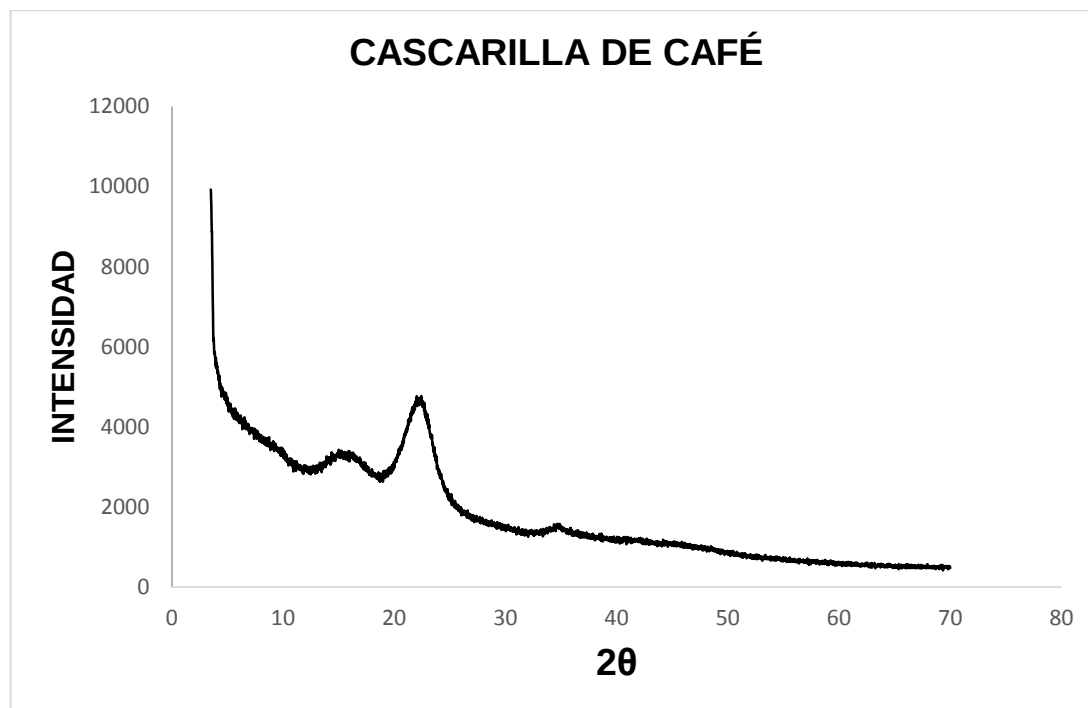
Fuente. Autor

Figura 21. Difractograma del bagazo de caña de azúcar



Fuente. Autor

Figura 22. Difractograma de la cascarilla de café



Fuente. Autor

Como se observa en el Figura 21, para el bagazo de caña de azúcar el pico de la celulosa cristalina se encuentra en el rango de 2θ en $22,6^\circ$, teniendo como resultado un índice de cristalinidad del bagazo de caña de azúcar de 33,60%. De igual forma, en el difractograma se puede observar el pico de la celulosa amorfa, el cual se encuentra en el rango de 2θ en $19,0^\circ$. Según datos reportados en la literatura, el bagazo de caña de azúcar tiene un índice de cristalinidad que varía entre 49 – 59%.^{76,81,84}

Por otro lado, para la cascarilla de café (Figura 22), el pico de la celulosa cristalina se encuentra en el rango de 2θ en $22,6^\circ$, teniendo como resultado un índice de cristalinidad de 39,23%. De igual forma, en el difractograma se puede observar el pico de la celulosa amorfa en el rango de 2θ en $19,0^\circ$.

Tanto para el bagazo de caña de azúcar como para la cascarilla de café, los picos de la celulosa amorfa son menos intensos y más alargados que los de la celulosa cristalina, lo cual indica que en las biomásas analizadas hay mayor proporción de celulosa cristalina que de celulosa amorfa, lo cual influye en los resultados reportados en el Cuadro 17, donde se puede observar que el valor de celulosa para ambas biomásas es bajo comparado con los resultados reportados en la teoría.

6.5. ANÁLISIS DE ESPECTROSCOPÍA INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Para el análisis de los espectros FTIR del bagazo de caña de azúcar y la mezcla 50:50 de las biomásas (bagazo de caña de azúcar:cascarilla de café), se usó el Cuadro 19, en el cual se encuentran las bandas vibracionales que se pueden encontrar en las biomásas lignocelulósicas.

El espectro FTIR del bagazo de caña de azúcar (Figura 23) muestra bandas características de las biomásas lignocelulósicas.^{81,82,84} La banda que se encuentra a 3336 cm^{-1} corresponde a las vibraciones de estiramiento O–H que hay en los grupos hidroxilos de las moléculas de celulosa. La banda presente en 2887 cm^{-1} representa el estiramiento entre los enlaces C–H de los grupos metilo y metileno. El pico de absorción a 1724 cm^{-1} se debe al estiramiento que hay entre C=O de la cetona del carboxilo perteneciente a los ácidos urónicos o grupos acetil que se encuentran unidos a la hemicelulosa. Dentro de los picos que se encuentran en la región de la lignina (1253 a 1514 cm^{-1}) se pueden destacar las vibraciones de los enlaces C–H alifáticos de los grupos metilos a 1363 cm^{-1} , y de los enlaces C=O aromáticos de la lignina. La banda que se encuentra a 1157 cm^{-1} corresponde al estiramiento que hay entre C–O–C de los enlaces β -(1-4) glicosídicos de la celobiosa. La banda que se encuentra a 1031 cm^{-1} representa el estiramiento que hay entre C–O de la celulosa, hemicelulosa y lignina, o también puede ser debido

al estiramiento presente en C–O–C de la celulosa y la hemicelulosa. Las bandas presentes dentro de la región 831 a 989 cm^{-1} se deben los enlaces glicosídicos C–O–C entre la celulosa y la hemicelulosa.

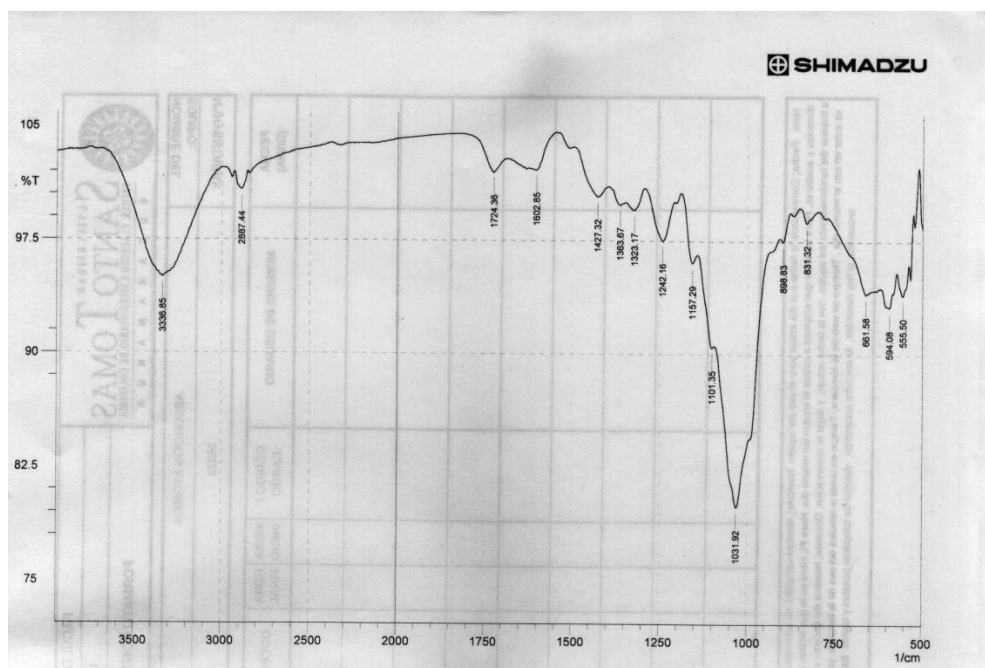
En la Figura 24 se observa el espectro FTIR de la mezcla del bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café en una proporción 50:50. Al igual que en el espectro FTIR del bagazo de caña de azúcar se pueden observar las bandas características que se encuentran en la biomasa lignocelulósica.^{81,82,84,85} La banda en 3323 cm^{-1} es menos pronunciada que en el bagazo de caña de azúcar, pero de igual forma indica que en esta mezcla hay vibraciones de estiramiento O–H que se encuentran en los grupos hidroxilos de las moléculas de la celulosa. En este espectro FTIR se observan unos picos característicos de la cascarilla de café (2800 a 2900 cm^{-1}), los cuales corresponden al estiramiento que hay en los enlaces C–H del grupo metilo presente en la molécula de la cafeína, la cual también se puede observar en la banda que se encuentra a 1653 cm^{-1} . Dentro de la región de la lignina (1253 a 1514 cm^{-1}), se observan más bandas comparado con la muestra del bagazo de caña de azúcar. En esta región se destacan las vibraciones aromáticas C=C de la lignina entre 1419 y 1516 cm^{-1} ; asimismo se observan las vibraciones C–H alifáticas en 1371 cm^{-1} , y las vibraciones entre los enlaces C–C y C–O en 1319 cm^{-1} . De igual forma, en la región de la lignina se observa la banda a 1238 cm^{-1} correspondiente al estiramiento C=O de los aromáticos. Al igual que en el bagazo de caña de azúcar, en la mezcla de las biomásas se encuentra presente la banda a 1029 cm^{-1} perteneciente al estiramiento que hay entre C–O de la celulosa, hemicelulosa y lignina.

Cuadro 19. Bandas vibracionales de los compuestos lignocelulósicos

cm^{-1}	Descripción
898	C–O–C vibraciones de los enlaces β -glicosídicos en la celulosa y hemicelulosa
1094	C–O, C–C estiramiento y flexión C–OH en la hemicelulosa
1127	Celulosa
1172	C–O–C estiramiento β -glicosídico en la celulosa
1200	Hemicelulosa
1253	Aromáticos C–O estiramiento en la lignina
1325	C–C y C–O vibraciones
1374	C–H vibraciones alifáticas
1429	C=C en el anillo aromático
1465	C–H vibraciones aromáticas
1514	C=C vibraciones aromáticas en el anillo de la lignina
1605	Vibraciones aromáticas dentro del esqueleto
1630	Banda de agua residual
1734	C=O estiramiento de la cetona del grupo carboxilo
1850	C–H estiramiento del metileno, metilo o metano
3406	O–H estiramiento

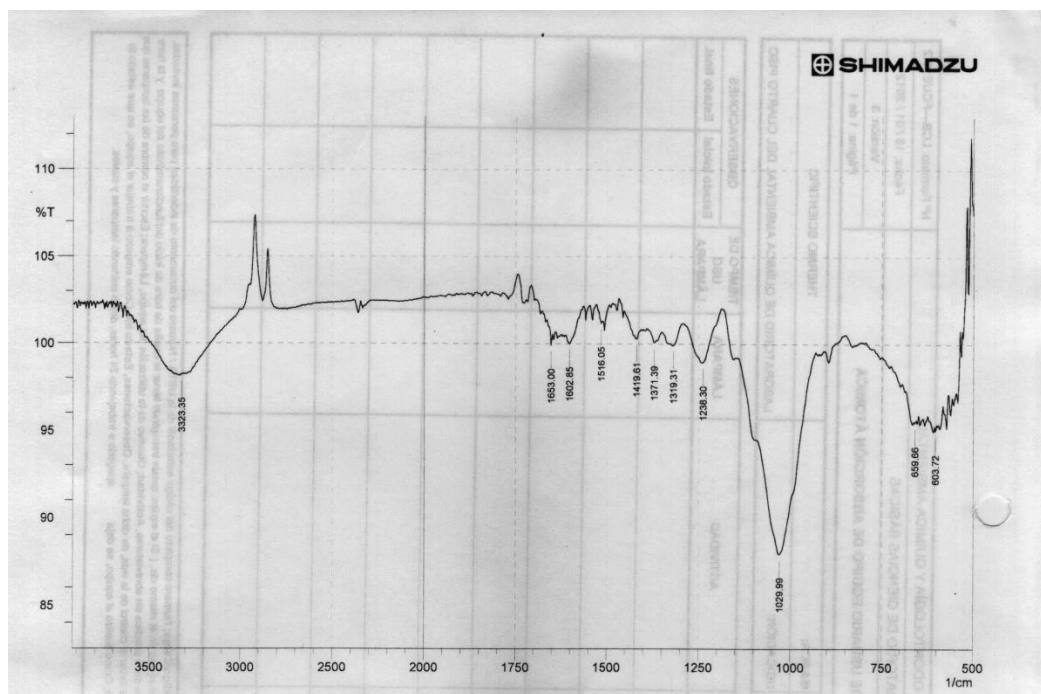
Fuente. Bayona Ayala.⁷⁶

Figura 23. Espectro de FTIR del bagazo de caña de azúcar



Fuente. Autor

Figura 24. Espectro de FTIR de la mezcla de las biomásas 50:50 (bagazo de caña de azúcar:cascarilla de café)



Fuente. Autor

7. CONCLUSIONES

Se realizaron las respectivas mezclas de bagazo de caña de azúcar y cascarilla de café, 50:50, 70:30 y 90:10, teniendo siempre con mayor proporción el bagazo de caña de azúcar debido a que teóricamente se conoce que esta biomasa tiene un alto rendimiento para la producción de etanol (300 – 359 litros de etanol por tonelada de bagazo de caña de azúcar). Teniendo en cuenta los resultados obtenidos a partir de la caracterización fisicoquímica de las biomásas, se concluye que la mezcla de estos dos residuos agroindustriales es buena para la producción de bioetanol de segunda generación, ya que, como se observa en el Cuadro 17, los litros de etanol (teóricos) producidos por tonelada de la biomasa, es mayor cuando el bagazo de caña de azúcar y la cascarilla de café están mezclados.

Se logró determinar el porcentaje de lignina soluble e insoluble mediante la hidrólisis ácida y el análisis UV-Vis. El porcentaje de lignina total de las biomásas y sus mezclas es ligeramente alto en comparación con los valores reportados en la teoría (bagazo de caña de azúcar: 21,56%; cascarilla de café: 23,7%), para el bagazo de caña de azúcar: 29,30%; cascarilla de café: 32,46%; mezcla 50:50: 19,50%; mezcla 70:30: 33,78%; mezcla 90:10: 28,85%. Teniendo en cuenta esto, la lignina de este material lignocelulósico podría ser extraída ya que posee ciertas aplicaciones tales como dispersantes de pesticidas, emulsificantes y secuestradores de metales pesados (por lo cual es usada en la purificación de aguas).^{42,86}

Se cuantificaron los azúcares reductores totales de los residuos agroindustriales y sus respectivas mezclas mediante HPLC. Los porcentajes de celulosa fueron relativamente bajos en comparación con los valores teóricos; asimismo, mediante el análisis de DRX, se determinó el porcentaje de celulosa cristalina de las biomásas. Teniendo en cuenta estos datos (cuantificación de azúcares reductores totales y análisis DRX), se concluye que el bajo porcentaje de celulosa amorfa obtenido en este trabajo puede ir aumentando a medida que se realicen los adecuados pretratamientos, ya que mediante estos, la celulosa cristalina presente en las biomásas irá disminuyendo, consecuente a esto, la celulosa amorfa aumentará. Teniendo en cuenta esto, se recomienda realizar un pretratamiento de vapor de agua caliente, donde la biomasa es atravesada por vapor a temperaturas mayores de 240°C, y explosión de vapor, ya que mediante estas dos se logra la explosión de las fibras. Combinando estos pretratamientos, se logra solubilizar la hemicelulosa y se presentará una disrupción en la celulosa cristalina. De igual forma, el pretratamiento de explosión de fibras con solución de amoniaco acuoso (AFEX), también se recomienda, ya que mediante este se logra una degradación de la lignina, solubilización de la hemicelulosa y la reducción de la cristalinidad de la celulosa.⁸⁷

Se determinó la morfología de las biomásas mediante la técnica MEB, concluyendo que tanto el bagazo de caña de azúcar como la cascarilla de café tienen ciertas similitudes en su estructura, esto se pudo corroborar mediante el análisis de FTIR, donde se observó que las biomásas tenían los grupos funcionales característicos de este tipo de material lignocelulósico.

Teniendo en cuenta lo anterior, se puede concluir que la mezcla del bagazo de caña de azúcar con la cascarilla de café, tiene un gran potencial para la producción de bioetanol de segunda generación (mezcla 50:50: 168,68 L/Ton; mezcla 70:30: 183,09 L/Ton; mezcla 90:10: 157 L/Ton), siempre y cuando se realice el pretratamiento adecuado.

8. DIVULGACIÓN DE RESULTADOS

- El presente trabajo fue presentado en el **II Congreso Internacional en Tecnologías Limpias** en modalidad de poster, el cual se llevó a cabo durante los días 4, 5 y 6 de noviembre del 2015.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Federación Nacional de Cafeteros <http://www.federaciondecafeteros.org/> (accessed Oct 26, 2015).
- (2) Su, Y.; Zhang, P.; Su, Y. An Overview of Biofuels Policies and Industrialization in the Major Biofuel Producing Countries. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2015, 50, 991–1003.
- (3) Peng, F.; Peng, P.; Xu, F.; Sun, R.-C. Fractional Purification and Bioconversion of Hemicelluloses. *Biotechnol. Adv.* 2012, 30 (4), 879–903.
- (4) Cooper, G. M.; Hausman, R. E. *La célula*; Marbán, 2009.
- (5) Morrison, R. T.; (coaut.), R. N. B. *Química orgánica*; Pearson Educación, 1998.
- (6) Chen, S.; Zhang, X.; Liu, Y.; Hu, Z.; Shen, X.; Ren, J. Simulated Acid Rain Changed the Proportion of Heterotrophic Respiration in Soil Respiration in a Subtropical Secondary Forest. *Appl. Soil Ecol.* 2015, 86, 148–157.
- (7) :: Fedepanela - INICIO <http://www.fedepanela.org.co/> (accessed Oct 26, 2015).
- (8) Billmeyer, F. W. *Ciencia de Los Polímeros*; Reverté, 1975.
- (9) Sun, Y.; Cheng, J. Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production: A Review. *Bioresour. Technol.* 2002, 83 (1), 1–11.
- (10) Schmitt, E.; Bura, R.; Gustafson, R.; Cooper, J.; Vajzovic, A. Converting Lignocellulosic Solid Waste into Ethanol for the State of Washington: An Investigation of Treatment Technologies and Environmental Impacts. *Bioresour. Technol.* 2012, 104, 400–409.
- (11) Ezhumalai, S.; Thangavelu, V. Kinetic and Optimization Studies on the Bioconversion of Lignocellulosic Material into Ethanol. *Bioresources* 2010, 5 (3), 1879–1894.
- (12) Huang, Y.; Qin, X.; Luo, X.-M.; Nong, Q.; Yang, Q.; Zhang, Z.; Gao, Y.; Lv, F.; Chen, Y.; Yu, Z.; et al. Efficient Enzymatic Hydrolysis and Simultaneous Saccharification and Fermentation of Sugarcane Bagasse Pulp for Ethanol Production by Cellulase from *Penicillium Oxalicum* EU2106 and Thermotolerant *Saccharomyces Cerevisiae* ZM1-5. *Biomass Bioenergy* 2015, 77, 53–63.
- (13) Choi, I. S.; Wi, S. G.; Kim, S.-B.; Bae, H.-J. Conversion of Coffee Residue Waste into Bioethanol with Using Popping Pretreatment. *Bioresour. Technol.* 2012, 125, 132–137.
- (14) Mohr, S. H.; Wang, J.; Ellem, G.; Ward, J.; Giurco, D. Projection of World Fossil Fuels by Country. *Fuel* 2015, 141, 120–135.
- (15) U.S. Energy Information Administration http://www.eia.gov/forecasts/aeo/tables_ref.cfm (accessed Oct 12, 2015).
- (16) Sector Azucarero Colombiano <http://www.asocana.org/> (accessed Oct 26, 2015).
- (17) Ospina Henao, S. M.; Hernández Rodríguez, E. N.; Lozano Moreno, C. A. Estudio experimental del proceso fermentación de residuos agroindustriales

- del mango (*Mangifera Indica* L.) usando *sacharomyces cerevisiae*. Thesis, 2012.
- (18) Liscano Martínez, Y.; others. Producción de Bioetanol a Partir de Tallos de Yuca, Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín.
 - (19) Benítez, L. T.; Tovar, C. T.; Ortiz, Á. V.; Dunoyer, A. T.; Alvear, M.; Castillo, C.; Henao, D.; Marimón, W.; Madariaga, N. Producción de Bioetanol a Partir de La Fermentación Alcohólica de Jarabes Glucosados Derivados de Cáscaras de Naranja Y Piña. *Rev. Educ. En Ing.* 2010, 5 (10), 120–125.
 - (20) Choi, I. S.; Lee, Y. G.; Khanal, S. K.; Park, B. J.; Bae, H.-J. A Low-Energy, Cost-Effective Approach to Fruit and Citrus Peel Waste Processing for Bioethanol Production. *Appl. Energy* 2015, 140, 65–74.
 - (21) de_Richter, R.; Caillol, S. Fighting Global Warming: The Potential of Photocatalysis against CO₂, CH₄, N₂O, CFCs, Tropospheric O₃, BC and Other Major Contributors to Climate Change. *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.* 2011, 12 (1), 1–19.
 - (22) Ming, T.; de_Richter, R.; Liu, W.; Caillol, S. Fighting Global Warming by Climate Engineering: Is the Earth Radiation Management and the Solar Radiation Management Any Option for Fighting Climate Change? *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2014, 31, 792–834.
 - (23) Song, J.; Song, S. J.; Oh, S.-D.; Yoo, Y. Evaluation of Potential Fossil Fuel Conservation by the Renewable Heat Obligation in Korea. *Renew. Energy* 2015, 79, 140–149.
 - (24) Jaramillo Henao, G.; Zapata Marquez, L. M. Aprovechamiento de Los Residuos Sólidos Orgánicos En Colombia, Tesis (Especialista en Gestion Ambiental) Universidad de Antioquia Departamento de Ingenieria Sanitaria y Ambiental, 2009.
 - (25) Riaño, A. S.; Morales, A. G.; Hernández, J. M.; Barrero, C. R. Producción de Bioetanol a Partir de Subproductos Agroindustriales Lignocelulósicos. *Tumbaga* 2010, 1 (5), 61–91.
 - (26) El Café de Colombia | Café de Colombia http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/el_cafe_de_colombia/ (accessed Oct 26, 2015).
 - (27) CENICAÑA - Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia <http://www.cenicana.org/> (accessed Oct 26, 2015).
 - (28) Federación Nacional de Biocombustibles de Colombia <http://www.fedebiocombustibles.com/> (accessed Oct 26, 2015).
 - (29) Shafiee, S.; Topal, E. When Will Fossil Fuel Reserves Be Diminished? *Energy Policy* 2009, 37 (1), 181–189.
 - (30) Höök, M.; Tang, X. Depletion of Fossil Fuels and Anthropogenic Climate change—A Review. *Energy Policy* 2013, 52, 797–809.
 - (31) Castro, J. A. O.; Huertas, I.; García, J. C. F.; Kalenatic, D.; Cadena, K. Potencial de Producción de Bioetanol a Partir de Caña Panelera: Dinámica Entre Contaminación, Seguridad Alimentaria Y Uso Del Suelo. *Ingeniería* 2011, 16 (1), 6–26.

- (32) Zamora-Hernández, T.; Prado-Fuentes, A.; Capataz-Tafur, J.; Barrera-Figueroa, B. E.; Peña-Castro, J. M. Demostraciones prácticas de los retos y oportunidades de la producción de bioetanol de primera y segunda generación a partir de cultivos tropicales. *Educ. Quím.* 2014, 25 (2), 122–127.
- (33) Cuervo, L.; Folch, J. L.; Quiroz, R. E. Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para La Producción de Etanol. *Bio Tecnol.* 2009, 13 (3), 11–25.
- (34) Ummartyotin, S.; Manuspiya, H. A Critical Review on Cellulose: From Fundamental to an Approach on Sensor Technology. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2015, 41, 402–412.
- (35) Liu, C.-F.; Sun, R.-C. Cellulose. In *Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biomaterials and Biofuels*; Elsevier, 2010; pp 131–167.
- (36) Zhang, Q.; Lin, D.; Yao, S. Review on Biomedical and Bioengineering Applications of Cellulose Sulfate. *Carbohydr. Polym.* 2015, 132, 311–322.
- (37) Ren, J.-L.; Sun, R.-C. Hemicelluloses. In *Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biomaterials and Biofuels*; Elsevier, 2010; pp 73–130.
- (38) Gírio, F. M.; Fonseca, C.; Carvalheiro, F.; Duarte, L. C.; Marques, S.; Bogel-Łukasik, R. Hemicelluloses for Fuel Ethanol: A Review. *Bioresour. Technol.* 2010, 101 (13), 4775–4800.
- (39) Peng, P.; She, D. Isolation, Structural Characterization, and Potential Applications of Hemicelluloses from Bamboo: A Review. *Carbohydr. Polym.* 2014, 112, 701–720.
- (40) Lupoi, J. S.; Singh, S.; Parthasarathi, R.; Simmons, B. A.; Henry, R. J. Recent Innovations in Analytical Methods for the Qualitative and Quantitative Assessment of Lignin. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2015, 49, 871–906.
- (41) Duval, A.; Lawoko, M. A Review on Lignin-Based Polymeric, Micro- and Nano-Structured Materials. *React. Funct. Polym.* 2014, 85, 78–96.
- (42) Sifontes, M. C.; Domine, M. E. Lignina, Estructura Y Aplicaciones: Métodos de Despolimerización Para La Obtención de Derivados Aromáticos de Interés Industrial. *Av. En Cienc. E Ing.* 2013, 4 (4), 15–46.
- (43) Peng, P.; Bian, J.; Sun, R.-C. Extractives. In *Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biomaterials and Biofuels*; Elsevier, 2010; pp 49–72.
- (44) Abril, A.; Navarro, E. A. *Etanol a partir de biomasa lignocelulósica*; Aleta: [Sueca, Valencia, 2012.
- (45) Marques, G.; del Río, J. C.; Gutiérrez, A. Lipophilic Extractives from Several Nonwoody Lignocellulosic Crops (flax, Hemp, Sisal, Abaca) and Their Fate during Alkaline Pulping and TCF/ECF Bleaching. *Bioresour. Technol.* 2010, 101 (1), 260–267.
- (46) Sheshmani, S. Effects of Extractives on Some Properties of Bagasse/high Density Polypropylene Composite. *Carbohydr. Polym.* 2013, 94 (1), 416–419.
- (47) Loh, Y. R.; Sujun, D.; Rahman, M. E.; Das, C. A. Sugarcane bagasse—The Future Composite Material: A Literature Review. *Resour. Conserv. Recycl.* 2013, 75, 14–22.

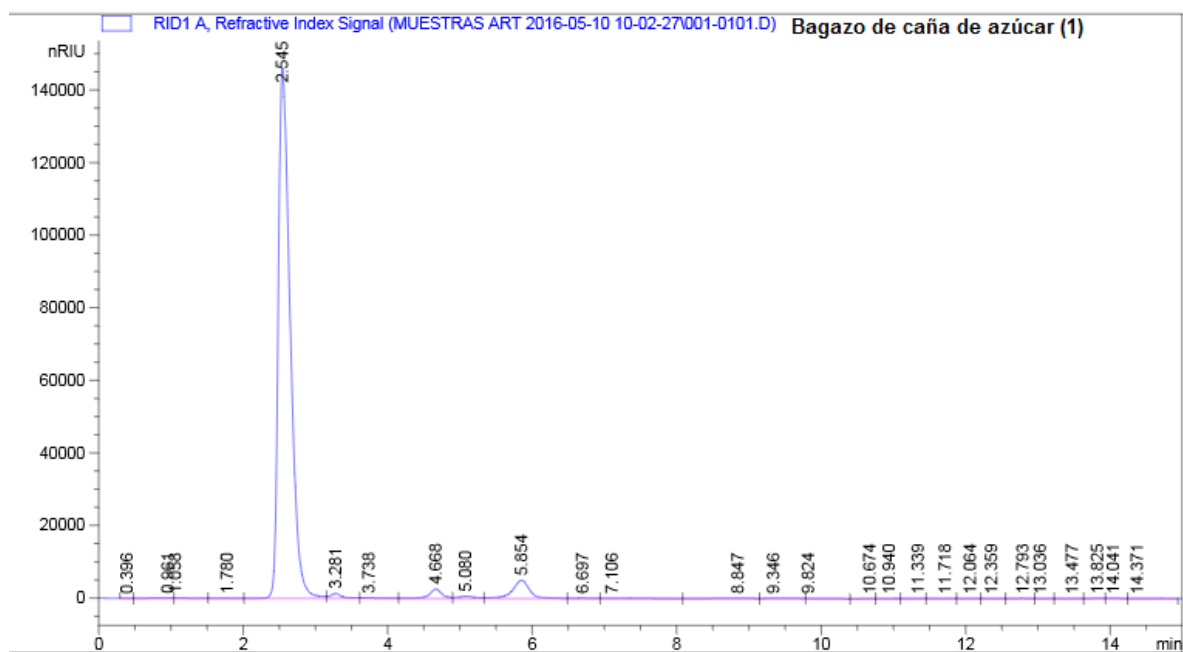
- (48) Rocha, G. J. de M.; Nascimento, V. M.; Gonçalves, A. R.; Silva, V. F. N.; Martín, C. Influence of Mixed Sugarcane Bagasse Samples Evaluated by Elemental and Physical–chemical Composition. *Ind. Crops Prod.* 2015, *64*, 52–58.
- (49) Moubarik, A.; Grimi, N.; Boussetta, N.; Pizzi, A. Isolation and Characterization of Lignin from Moroccan Sugar Cane Bagasse: Production of Lignin–phenol-Formaldehyde Wood Adhesive. *Ind. Crops Prod.* 2013, *45*, 296–302.
- (50) LEY 693 DE SEPTIEMBRE 19 DE 2001.
- (51) Chauhan, M. K.; Varun; Chaudhary, S.; Kumar, S.; Samar. Life Cycle Assessment of Sugar Industry: A Review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2011, *15* (7), 3445–3453.
- (52) Esquivel, P.; Jiménez, V. M. Functional Properties of Coffee and Coffee by-Products. *Food Res. Int.* 2012, *46* (2), 488–495.
- (53) Pandey, A.; Soccol, C. R.; Nigam, P.; Brand, D.; Mohan, R.; Roussos, S. Biotechnological Potential of Coffee Pulp and Coffee Husk for Bioprocesses. *Biochem. Eng. J.* 2000, *6* (2), 153–162.
- (54) Murthy, P. S.; Madhava Naidu, M. Sustainable Management of Coffee Industry by-Products and Value addition—A Review. *Resour. Conserv. Recycl.* 2012, *66*, 45–58.
- (55) Andrade, K. S.; Gonçalves, R. T.; Maraschin, M.; Ribeiro-do-Valle, R. M.; Martínez, J.; Ferreira, S. R. S. Supercritical Fluid Extraction from Spent Coffee Grounds and Coffee Husks: Antioxidant Activity and Effect of Operational Variables on Extract Composition. *Talanta* 2012, *88*, 544–552.
- (56) Matos, L. P. C. de. Compostos Fitoquímicos E Atividade Antioxidante de Casca de Café. 2014.
- (57) Thangavelu, S. K.; Ahmed, A. S.; Ani, F. N. Review on Bioethanol as Alternative Fuel for Spark Ignition Engines. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2016, *56*, 820–835.
- (58) Morelos Gómez, J. Análisis de la variación de la eficiencia en la producción de biocombustibles en América Latina. *Estud. Gerenciales* 2016.
- (59) Barroso Casillas, M. Pretratamiento de Biomasa Celulósica Para La Obtención de Etanol En El Marco de Una Biorrefinería. 2010.
- (60) Demanda y Eficiencia Energética | UPME <http://www1.upme.gov.co/demanda-y-eficiencia-energetica> (accessed Jun 25, 2016).
- (61) Douglas A. Skoog, T. A. N. Capítulo 28. Cromatografía de líquidos de alta eficacia. In *Principios de Análisis Instrumental*; McGRAW-HILL INTERAMERICANA DE ESPAÑA: España, 2001; p 785.
- (62) Lai, J. F.; Franke, A. A. Analysis of Circulating Lipid-Phase Micronutrients in Humans by HPLC: Review and Overview of New Developments. *J. Chromatogr. B* 2013, *931*, 23–41.
- (63) Douglas A. Skoog, T. A. N. Capítulo 16. Espectrometría de absorción en el infrarrojo. In *Principios de Análisis Instrumental*; McGRAW-HILL INTERAMERICANA DE ESPAÑA: España, 2001; p 409.

- (64) Chadwick, D. T.; McDonnell, K. P.; Brennan, L. P.; Fagan, C. C.; Everard, C. D. Evaluation of Infrared Techniques for the Assessment of Biomass and Biofuel Quality Parameters and Conversion Technology Processes: A Review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2014, 30, 672–681.
- (65) Douglas A. Skoog, T. A. N. Capítulo 12. Espectrometría atómica de rayos X. In *Principios de Análisis Instrumental*; McGRAW-HILL INTERAMERICANA DE ESPAÑA: España, 2001; p 291.
- (66) Douglas A. Skoog, T. A. N. Capítulo 21. Caracterización de superficies por espectroscopía y microscopía. In *Principios de Análisis Instrumental*; McGRAW-HILL INTERAMERICANA DE ESPAÑA: España, 2001; p 577.
- (67) National Renewable Energy Laboratory (NREL) Home Page <http://www.nrel.gov/> (accessed Oct 26, 2015).
- (68) Cripwell, R.; Favaro, L.; Rose, S. H.; Basaglia, M.; Cagnin, L.; Casella, S.; van Zyl, W. Utilisation of Wheat Bran as a Substrate for Bioethanol Production Using Recombinant Cellulases and Amylolytic Yeast. *Appl. Energy* 2015.
- (69) Kallioinen, A.; Uusitalo, J.; Pahkala, K.; Kontturi, M.; Viikari, L.; Weymarn, N. von; Siika-aho, M. Reed Canary Grass as a Feedstock for 2nd Generation Bioethanol Production. *Bioresour. Technol.* 2012, 123, 669–672.
- (70) Binod, P.; Kuttiraja, M.; Archana, M.; Janu, K. U.; Sindhu, R.; Sukumaran, R. K.; Pandey, A. High Temperature Pretreatment and Hydrolysis of Cotton Stalk for Producing Sugars for Bioethanol Production. *Fuel* 2012, 92 (1), 340–345.
- (71) Velmurugan, R.; Muthukumar, K. Utilization of Sugarcane Bagasse for Bioethanol Production: Sono-Assisted Acid Hydrolysis Approach. *Bioresour. Technol.* 2011, 102 (14), 7119–7123.
- (72) A. Sluiter. Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples, National Renewable Energy Laboratory, NREL <http://www.nrel.gov/> (accessed Oct 26, 2015).
- (73) A. Sluiter. Determination of Ash in Biomass, National Renewable Energy Laboratory NREL. <http://www.nrel.gov/> (accessed Oct 26, 2015).
- (74) A. Sluiter. Determination of Extractives in Biomass, National Renewable Energy Laboratory, NREL. <http://www.nrel.gov/> (accessed Oct 26, 2015).
- (75) A. Sluiter. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass, National Renewable Energy Laboratory, NREL. <http://www.nrel.gov/> (accessed Oct 26, 2015).
- (76) Olga Lucia Bayona. Avaliação de pré-tratamentos para a hidrólise enzimática de palha de cana-de-açúcar considerando a produção de etanol <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000866998> (accessed Oct 26, 2015).
- (77) Santos, F. A.; QUEIRÓZ, J. de; Colodette, J. L.; Fernandes, S. A.; Guimarães, V. M.; Rezende, S. T. Potencial Da Palha de Cana-de-Açúcar Para Produção de Etanol. *Quím. Nova* 2012, 35 (5), 1004–1010.

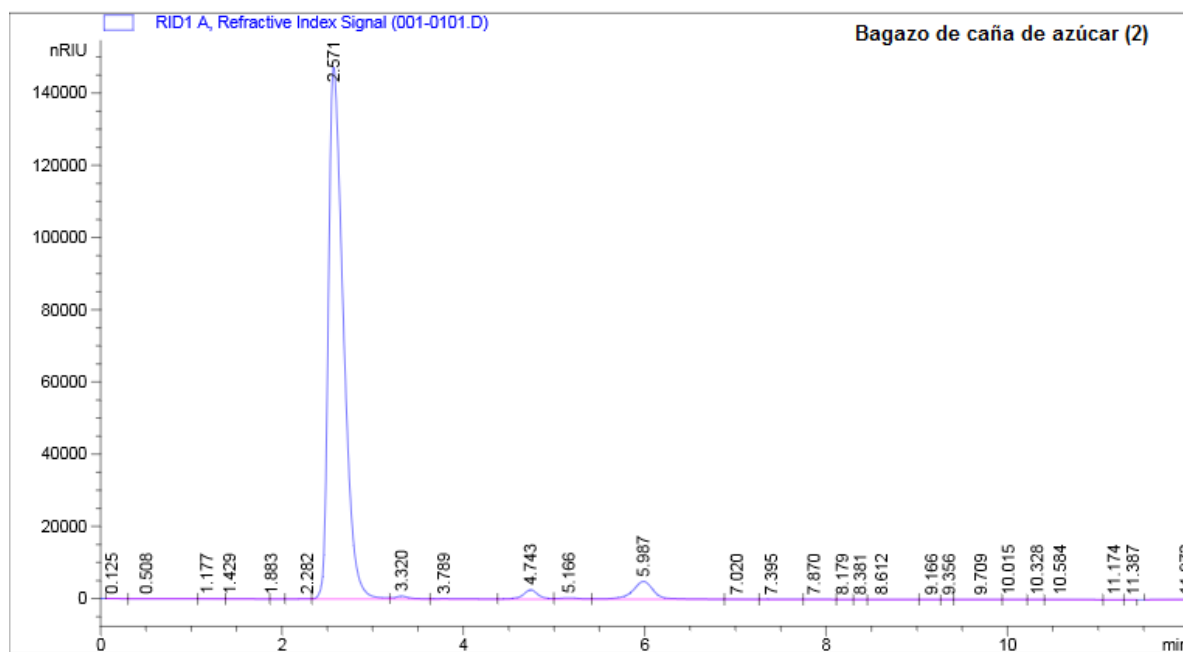
- (78) Paz, G.; Virginia, R.; Martínez Silva, S. V. Estudio Del Poder Calorífico Del Bagazo de Caña de Azúcar En La Industria Azucarera de La Zona de Risaralda. 2007.
- (79) Melissari, B. Comportamiento de Cenizas Y Su Impacto En Sistemas de Combustión de Biomasa. *Mem. Trab. Difus. Científica Téc.* 2012, No. 10, 69–82.
- (80) Aguilar Valencia, D. M.; others. Producción de Etanol a Partir de Bagazo de Caña Panelera Mediante Un Sistema Híbrido de Fermentación Y Pervaporación= Ethanol Production from Panelera Cane Bagasse Using a Hybrid Fermentation and Pervaporation System, Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales.
- (81) Ramadoss, G.; Muthukumar, K. Influence of Dual Salt on the Pretreatment of Sugarcane Bagasse with Hydrogen Peroxide for Bioethanol Production. *Chem. Eng. J.* 2015, 260, 178–187.
- (82) Lachos-Perez, D.; Martinez-Jimenez, F.; Rezende, C. A.; Tompsett, G.; Timko, M.; Forster-Carneiro, T. Subcritical Water Hydrolysis of Sugarcane Bagasse: An Approach on Solid Residues Characterization. *J. Supercrit. Fluids* 2016, 108, 69–78.
- (83) Saelee, K.; Yingkamhaeng, N.; Nimchua, T.; Sukyai, P. An Environmentally Friendly Xylanase-Assisted Pretreatment for Cellulose Nanofibrils Isolation from Sugarcane Bagasse by High-Pressure Homogenization. *Ind. Crops Prod.* 2015.
- (84) Ramadoss, G.; Muthukumar, K. Mechanistic Study on Ultrasound Assisted Pretreatment of Sugarcane Bagasse Using Metal Salt with Hydrogen Peroxide for Bioethanol Production. *Ultrason. Sonochem.* 2016, 28, 207–217.
- (85) Reis, N.; Franca, A. S.; Oliveira, L. S. Discrimination between Roasted Coffee, Roasted Corn and Coffee Husks by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy. *LWT - Food Sci. Technol.* 2013, 50 (2), 715–722.
- (86) Lu, F.; Ralph, J. Lignin. In *Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biomaterials and Biofuels*; Elsevier, 2010; pp 169–207.
- (87) Guarnizo, A.; Martínez, P. N. Biomasa Lignocelulósica Y La Producción de Etanol.

ANEXOS

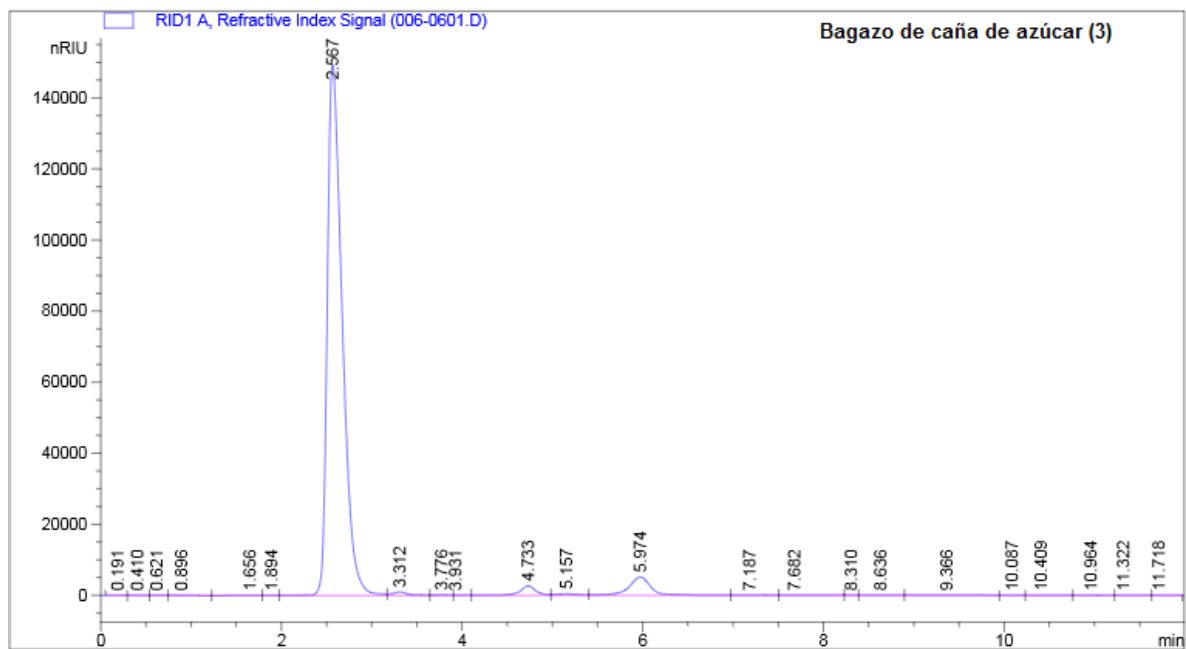
Anexo 1. Cromatogramas muestra bagazo de caña de azúcar



Fuente. Autor

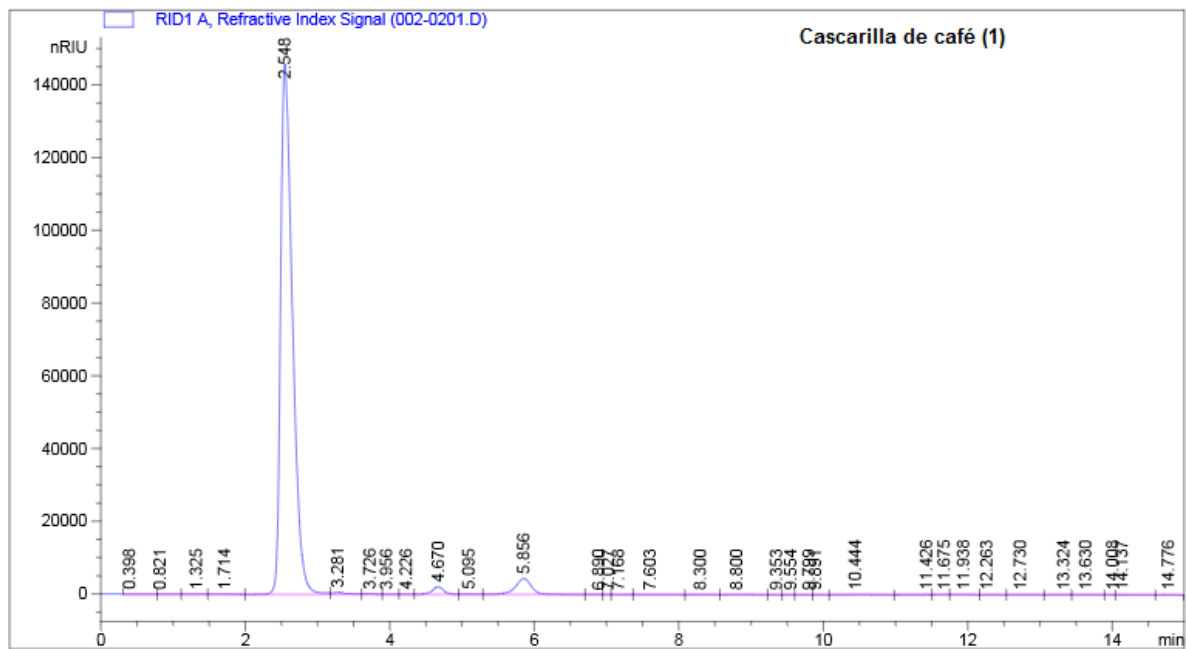


Fuente. Autor

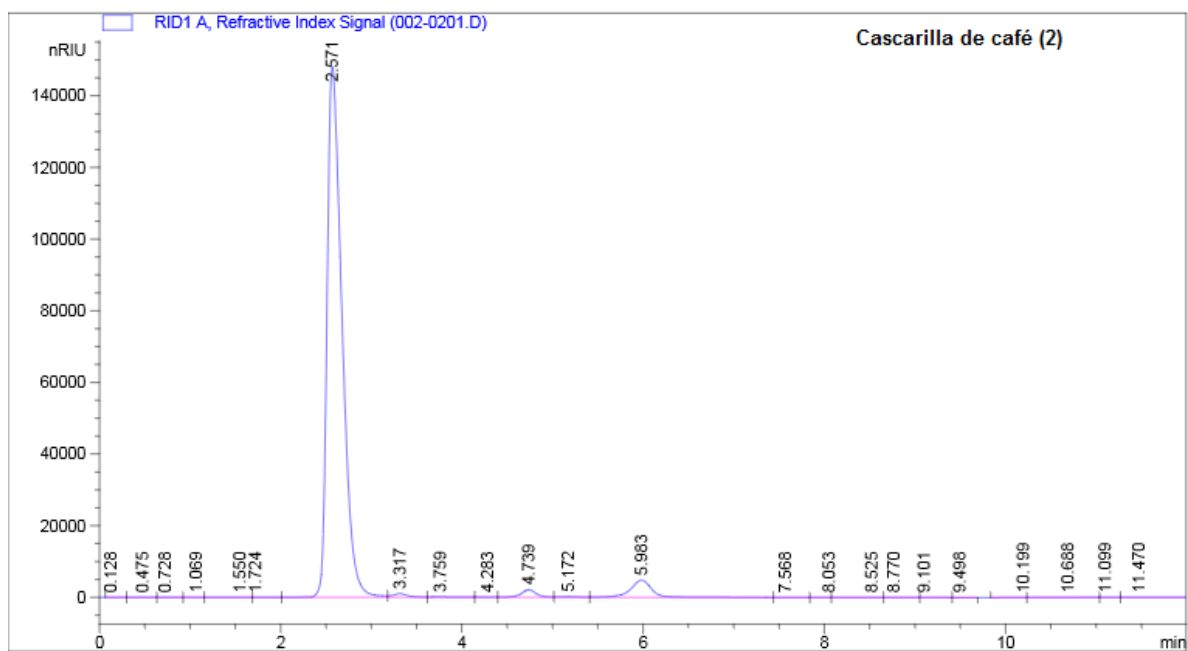


Fuente. Autor

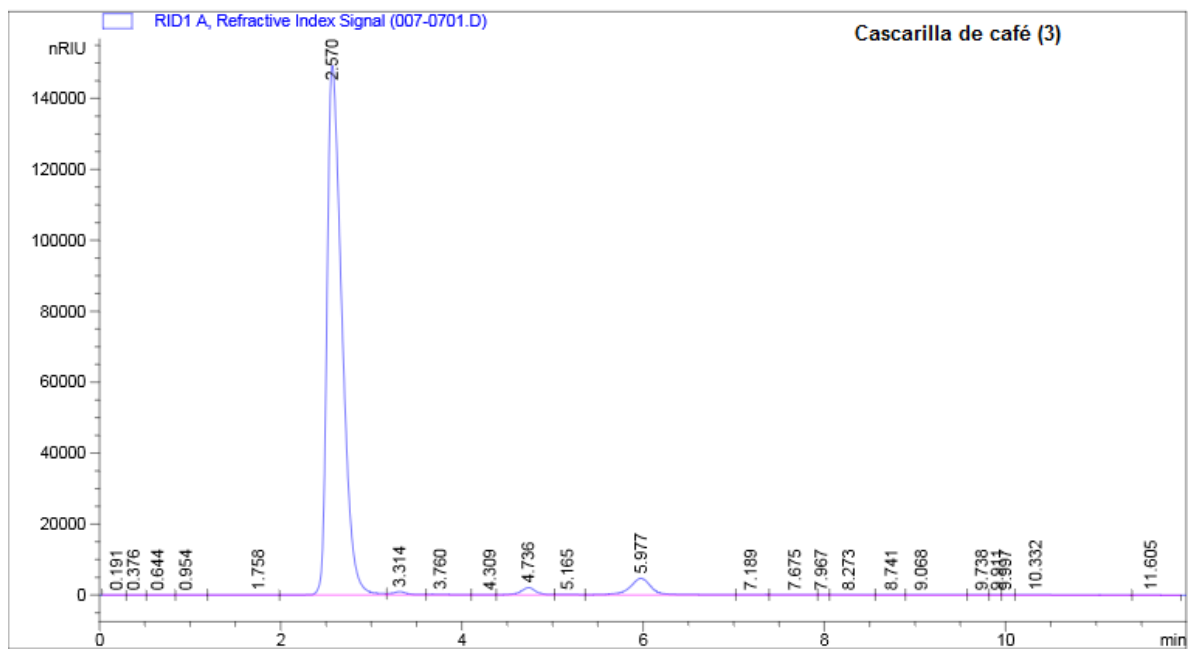
Anexo 2. Cromatogramas cascarilla de café



Fuente. Autor

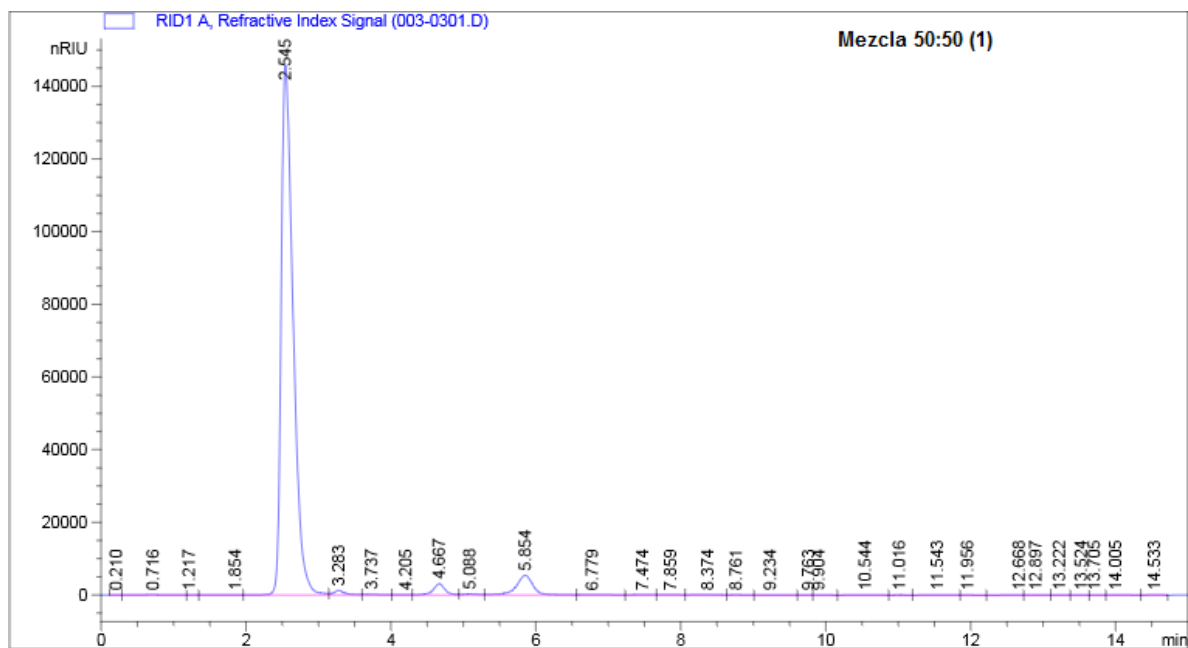


Fuente. Autor

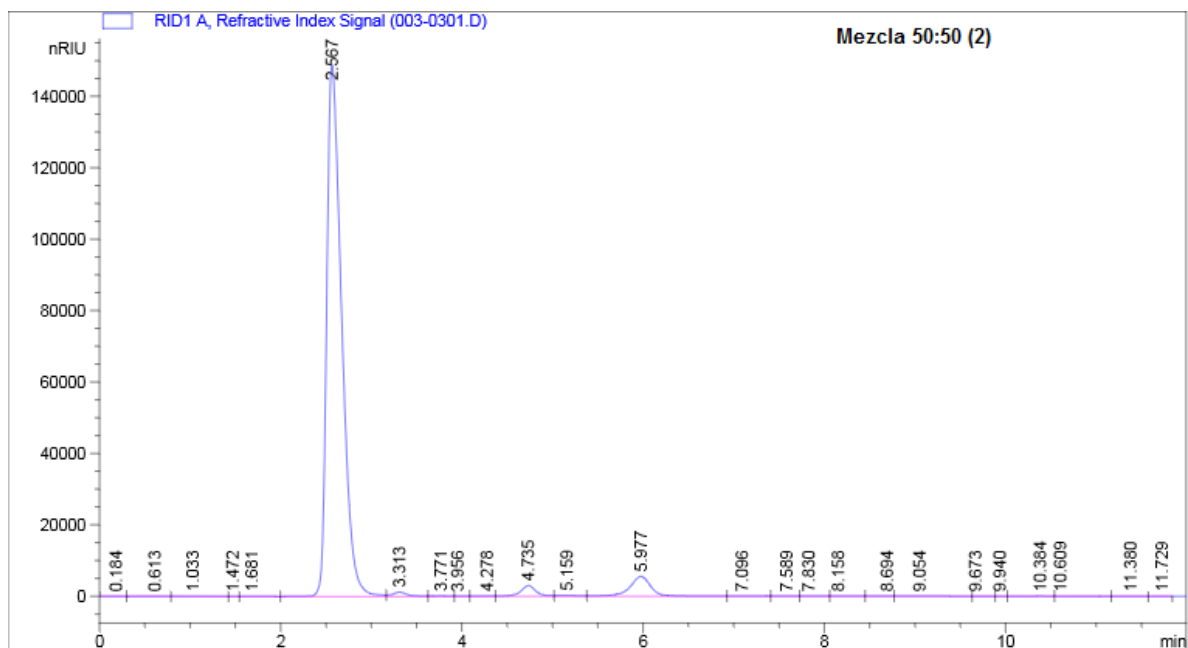


Fuente. Autor

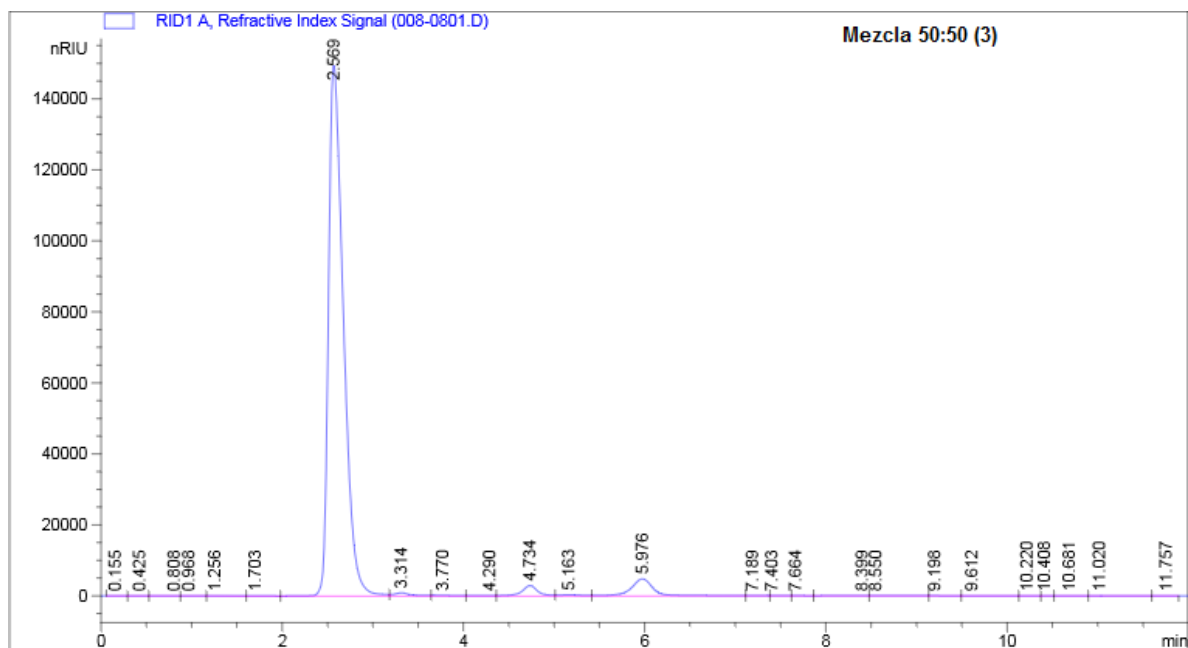
Anexo 3. Cromatogramas mezcla 50:50



Fuente. Autor

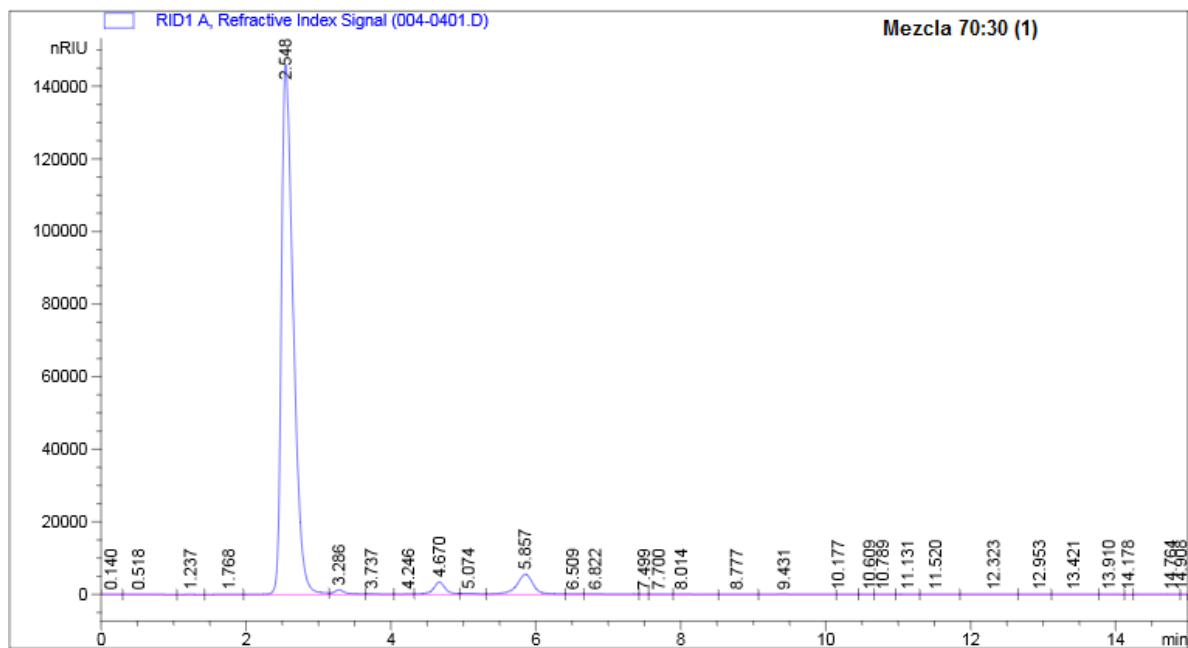


Fuente. Autor

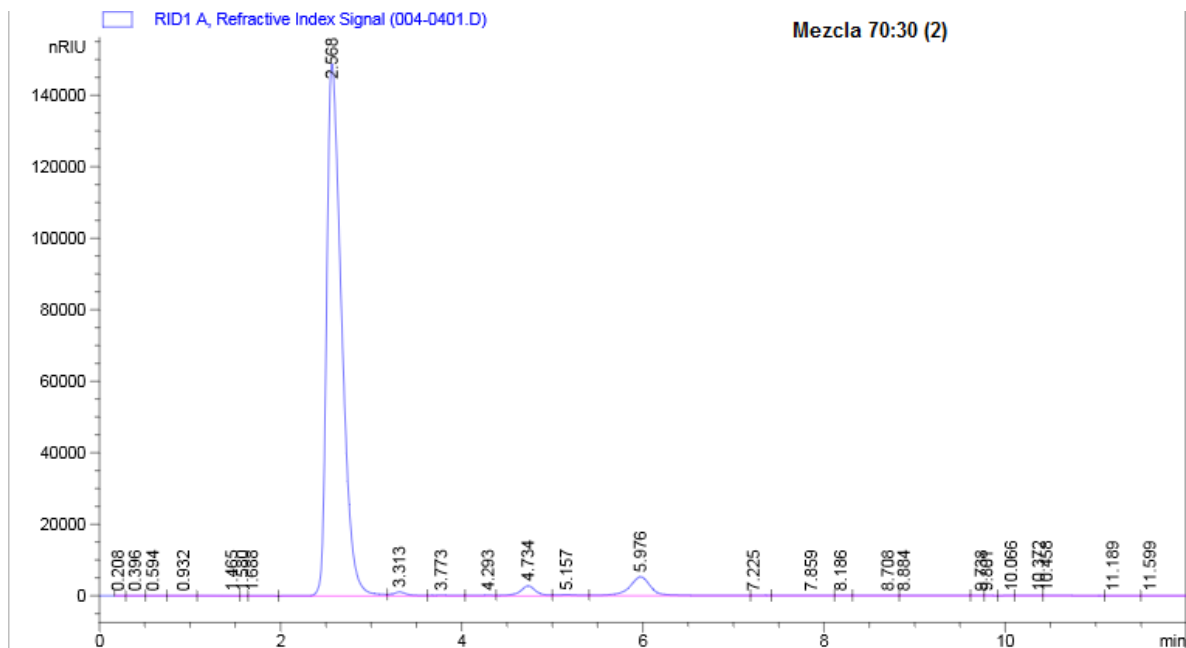


Fuente. Autor

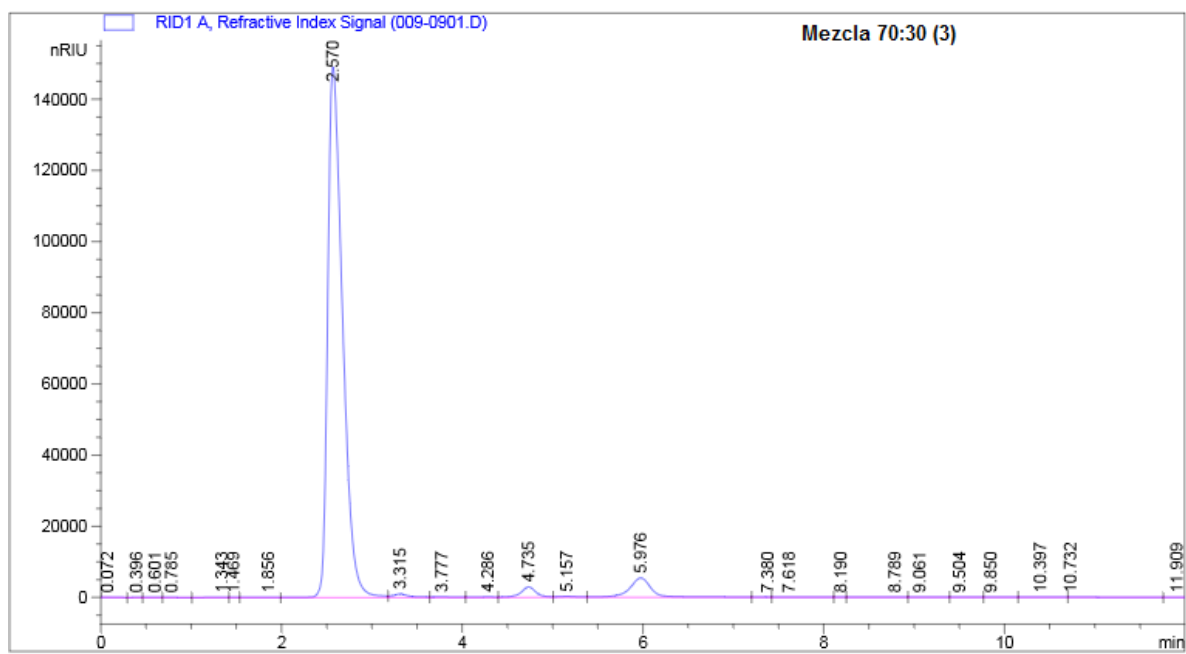
Anexo 4. Cromatogramas mezcla 70:30



Fuente. Autor

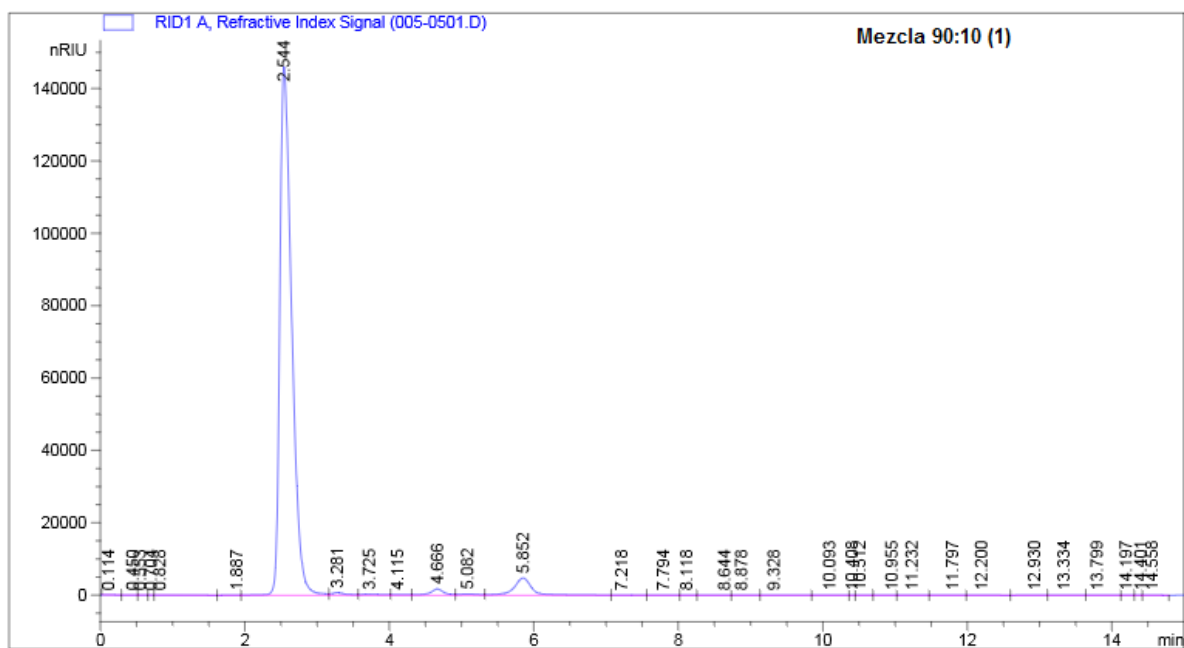


Fuente. Autor

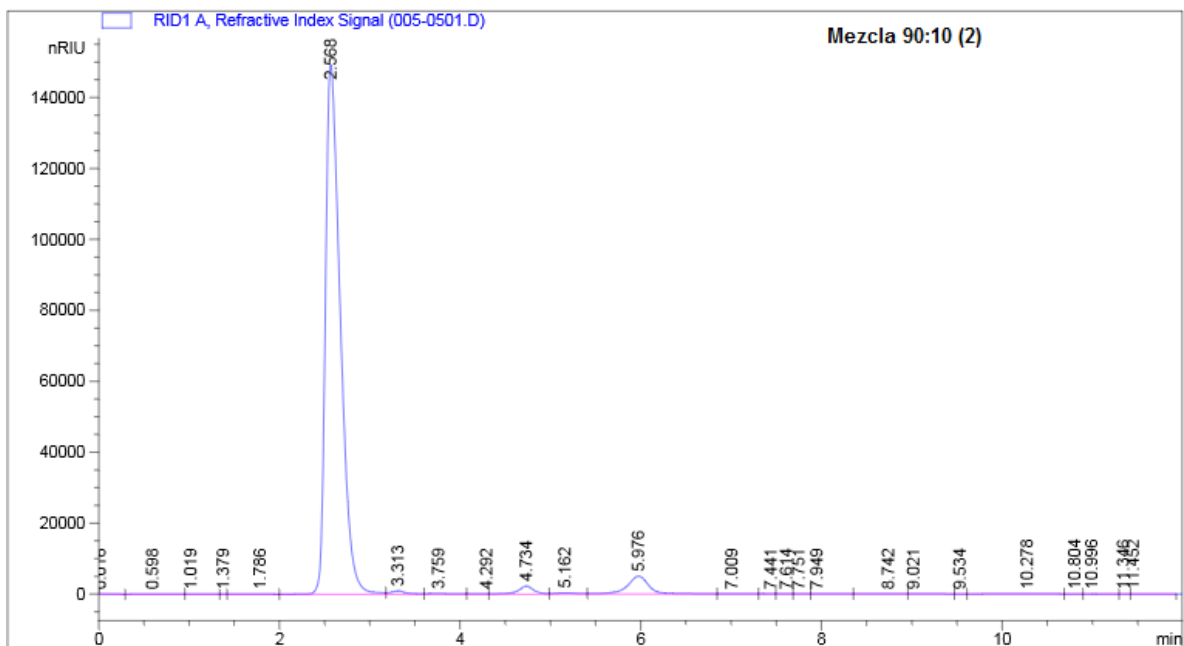


Fuente. Autor

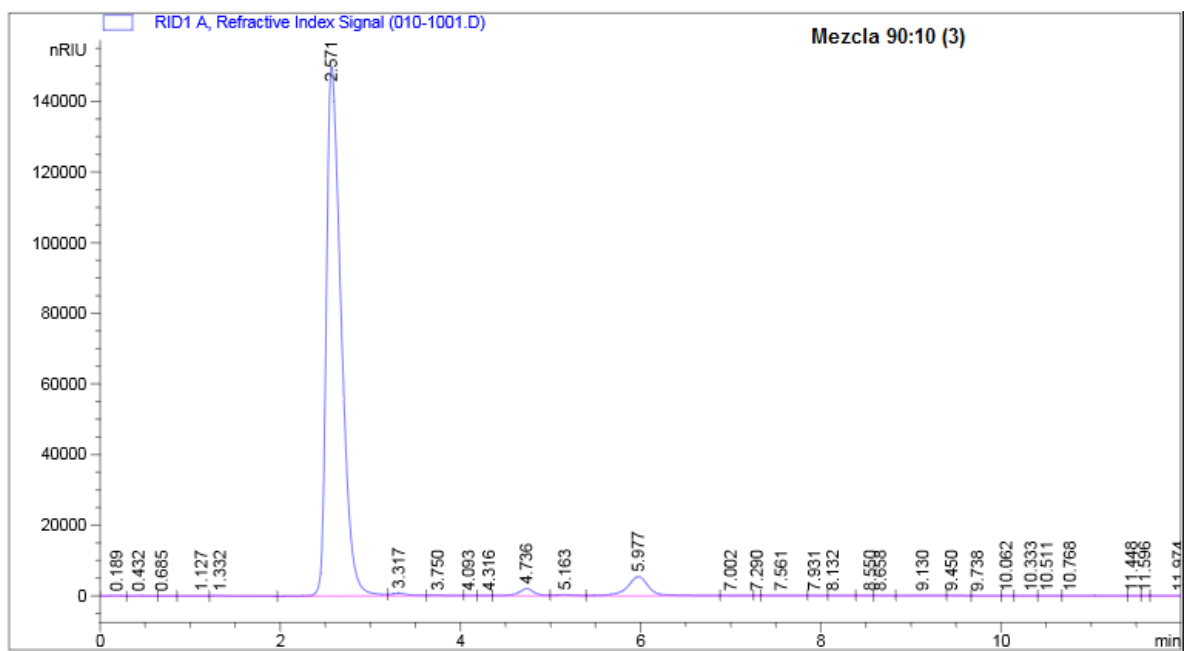
Anexo 5. Cromatogramas mezcla 90:10



Fuente. Autor

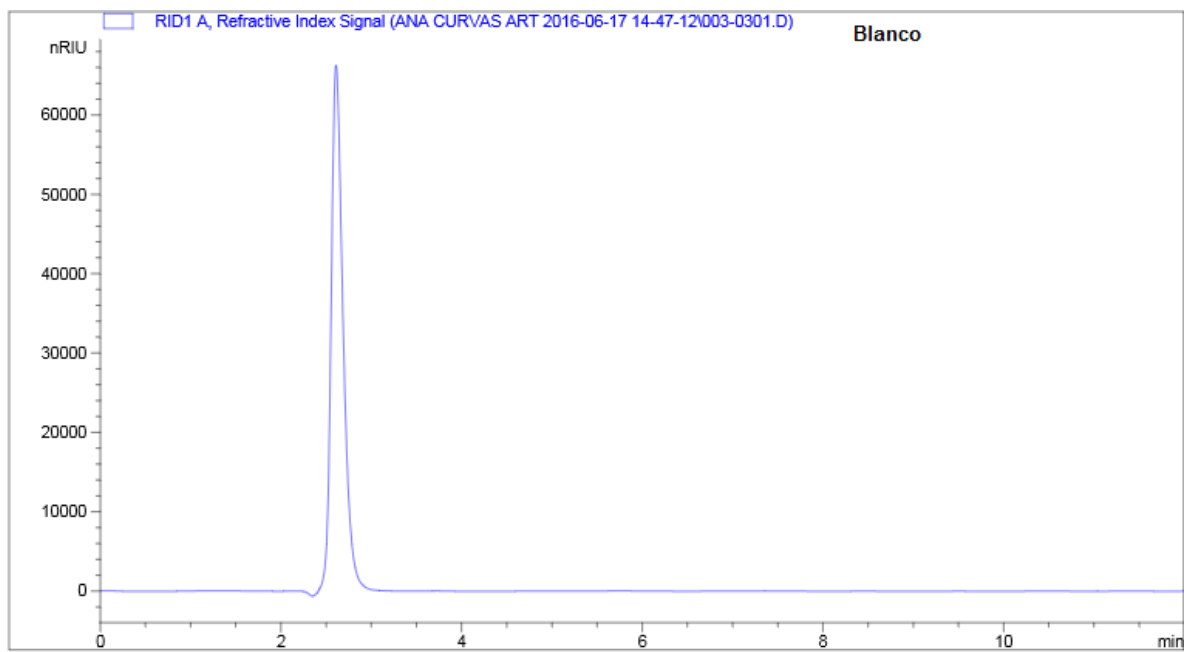


Fuente. Autor



Fuente. Autor

Anexo 6. Cromatograma blanco



Fuente. Autor