

Visión general del aprovechamiento de residuos cítricos como materia prima de biorrefinerías

ANTONIO GÓMEZ MANRIQUE¹

*Universidad Complutense de Madrid
antoniogomezmanrique@gmail.com*

SUMARIO

El objetivo del presente artículo es dar una visión global de la posibilidad del aprovechamiento de residuos cítricos como materia prima en biorrefinerías. Este tipo de residuos se producen en gran cantidad por las factorías de zumo de frutas presentes en España. Mediante su alimentación a procesos de biorrefino se pretende no solamente reaprovechar los residuos, minimizando el impacto medioambiental que pudiesen generar, sino también generar biocarburantes como el bioetanol, que presentan unas emisiones netas derivadas de su combustión inferiores a la de los combustibles fósiles convencionales².

Palabras clave: Biorrefinerías de segunda generación, bioetanol, residuos de naranja, hidrólisis enzimática.

1 Antonio GÓMEZ MANRIQUE es Graduado en Ingeniería Química por la Universidad de Salamanca y estudiante de Máster en Ingeniería Química: Ingeniería de Procesos en la Universidad Complutense de Madrid. Actualmente es educador en el Colegio Mayor Tomás Luis de Victoria.

2 En el presente artículo se da una visión global de las posibilidades del reaprovechamiento de residuos cítricos como materia prima de biorrefinerías, el estudio se completa con una optimización de la sacarificación enzimática de residuos de naranja en “Sacarificación enzimática de residuos de naranja secados con acetona: Operaciones en discontinuo y continuo” presentado como Trabajo de Fin de Máster en Ingeniería Química por Antonio Gómez Manrique en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid durante el curso 2017-2018.

SUMMARY

The aim of this article is providing a general vision about the possible reutilization of citric waste as raw material in biorefineries. This type of waste is large produced by orange juice factories located in Spain. Through using citric waste as raw material of biorefinery process, a reduction in environmental impact and a sustainable biocarburants production, such as bioethanol, could be achieved. These biocarburants have less emission rates from combustion than traditional fossil fuels.

Key words: 2G Biorefinery, bioethanol, OPW (orange peel waste), enzymatic hydrolysis.

1. SOSTENIBILIDAD EN LA INDUSTRIA QUÍMICA

La industria química ha contribuido en inmensa medida a conseguir la calidad de vida actual, tratándose de dar solución, hoy en día, a problemas de carácter energético, climático o de disponibilidad de agua y alimentación, a través de la misma. Las iniciativas que persiguen estos fines forman parte de la Estrategia Europea 2020 y de la Estrategia Española de Ciencia, Tecnología e Innovación 2013-2020³.

No obstante, en la actualidad, las presiones dirigidas a cambiar los procedimientos de trabajo convencionales por alternativas más respetuosas con el medio ambiente van en aumento. Los aspectos que suscitan el surgimiento de estas presiones incluyen: el uso excesivo de recursos energéticos no renovables; el daño medioambiental causado por los procesos de producción actuales, que en ocasiones pueden ser inseguros y generar productos y residuos tóxicos; la existencia de productos no reciclables y degradables al concluir su vida útil; y la excesiva concentración regional de las industrias productivas, no extendiéndose geográficamente el beneficio social que generan^{4 5}.

En lo relativo al uso excesivo de recursos no renovables, el consumo y utilización intensivos de derivados de petróleo, en combinación con la disminución de las fuentes de abastecimiento de este combustible fósil, ocasionan problemas de ca-

3 Sus-Chem España, Plataforma Tecnológica Española de Química Sostenible. El futuro de la Química Sostenible. Hoja de ruta, pp. 6-7, 2013.

Disponible en: <https://www.feique.org/el-futuro-de-la-quimica-sostenible/>

4 ULRICH, E.M., CAPERELL-GRANT, A., JUNG, S. H., HITES, R. A. & BIGSBY, R. M. Environmentally relevant xenoestrogen tissue concentrations correlated to biological responses in mice. *Environ Health Perspect*, nº 10, vol. 108, pp.973-977, 2000.

5 ASANO, K., ONO, A., HASHIMOTO, S., INOUE, T. & KANNO, J. Screening of endocrine disrupting chemicals using a surface plasmon resonance sensor. *Analytical Sciences*, vol.20, pp.611-616, 2004.

rácter político y medioambiental en el mundo actual. Existe evidencia científica de que las emisiones de gases de efecto invernadero, como dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) y óxido nitroso (N₂O), provenientes de la quema de combustibles fósiles, entre otras actividades humanas, están alterando el clima en la Tierra⁶.

En la actualidad, la principal fuente de energía para el sector de transportes y para la industria de producción química es el petróleo. La demanda mundial de este bien de consumo se estima en 96,80 millones de barriles (1 barril = 159 l) diarios de media durante el año 2017⁷, suponiendo que se incrementará aproximadamente un 40 % para 2030⁸. En la industria química en concreto, el petróleo no solamente es usado como fuente de energía. La dependencia de los combustibles fósiles se debe, fundamentalmente, a su uso como materia prima, difícilmente sustituible, en diversos procesos de producción. La mayoría de los productos químicos comienzan sus procesos de producción en refinerías, empleándose casi el 4% de petróleo con este fin⁹.

Actualmente, la sociedad se está comprometiendo progresivamente en la consecución de una economía sostenible basada en la explotación de recursos renovables. De este modo, a través de la investigación en el campo de la química, se pretende conseguir desarrollar procesos de producción sostenibles en el marco social y medioambiental actual¹⁰ mediante el potenciamiento del reciclaje de residuos y la concepción de productos obtenidos de procesos ecológicamente eficientes³. A estos efectos la biomasa, fundamentalmente de origen vegetal, parece la mejor opción para reemplazar un elevado porcentaje de los combustibles fósiles en sus aplicaciones de carácter energético y químico⁹.

6 IPCC. CUBASCH, U., DING, Y., MAURITZEN, C., MOKSSIT, A., PETERSON, T. & PRATHER, M. Historical Overview of Climate Change Science. En: Solomon, S. et al. Climate change 2007: the physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, Reino Unido y Nueva York, Estados Unidos. Cambridge University Press, 2007.

7 Agencia EFE. "La OPEP eleva la demanda de petróleo en 2017 y 2018". Expansión, 2017. Consulta en línea a fecha de 20/12/2017. Disponible en: <http://www.expansion.com/mercados/materias-primas/2017/10/11/59de046ae2704ed0438b45a8.html>

8 IEA. World energy outlook 2017. IEA Publications, International Energy Agency, 2017. Disponible en: <https://www.iea.org/publications/freepublications/publication/world-energy-outlook-2017---executive-summary---spanish-version.html>

9 CHERUBINI, F. The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. Energy Conversion and Management 51 pp. 1412-1421. Elsevier, 2010.

10 APPA, Asociación de Productores de Energías renovables. Consulta en línea a fecha de 23/12/2017. Disponible en: http://www.appa.es/03biocarburantes/03que_son.php

2. BIOMASA Y BIORREFINERÍAS

Pese a que la electricidad y el calor podrían producirse mediante una gran variedad de fuentes renovables (energía eólica, solar, hidroeléctrica...), en la obtención de carburantes y productos químicos la única alternativa viable actualmente resulta ser la biomasa, el único material rico en carbono disponible en el planeta en cantidad suficiente al margen de los combustibles fósiles⁹.

Se conoce como biomasa a la materia orgánica originada en un proceso biológico espontáneo o provocado, que puede emplearse como fuente de energía. La biomasa comprende un amplio conjunto de materias orgánicas caracterizado por su heterogeneidad en lo relativo a origen y naturaleza, distinguiéndose generalmente entre biomasa agrícola y forestal, pero considerándose también aguas residuales, lodos de depuradora o la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos, entre otros¹⁰.

De este modo, en respuesta a dichas necesidades de carburantes y sustancias químicas producidas a partir de biomasa, surgen las instalaciones industriales conocidas como biorrefinerías. El concepto de biorrefino hace referencia “al proceso sostenible por el que la biomasa se convierte en una gran variedad de productos comerciales y energía”⁹. Esta actividad abarca un amplio rango de tecnologías que permiten fragmentar la biomasa en sus moléculas componentes (hidratos de carbono, proteínas, triglicéridos...), que posteriormente pueden ser convertidas en productos químicos de valor añadido como biocarburantes. Así, una biorrefinería comprendería las instalaciones y equipos necesarios para obtener energía, biocarburantes y otros productos químicos a partir de biomasa. Por tanto, el concepto de biorrefinería sería análogo al de una refinería convencional, en la que se producen multitud de combustibles y sustancias químicas a partir de petróleo. Este hecho se debe a que tanto biomasa como petróleo son promotores de los conocidos como químicos base (“building blocks”), 20 sustancias a partir de las cuales podría elaborarse el 85% de los productos químicos comerciales¹¹.

En una biorrefinería, por lo tanto, se obtendrían productos energéticos: biocombustibles sólidos (pelets, carbón vegetal...), líquidos (bioetanol, biodiesel...) y gaseosos (biogás, hidrógeno...); y productos de base biológica: productos de química fina, aminoácidos, ácidos, resinas, polímeros, biomateriales (fibras de celulosa y papel), productos alimenticios para humanos y animales, fertilizantes...¹¹.

11 Bioenarea. Guía de Actuación en las Regiones Participantes en el Proyecto BIOREF. Consulta en línea a fecha de 23/12/2017. Disponible en: http://www.bioenarea.eu/sites/www.bioenarea.eu/files/Activity%205-6_Spanish%20Guide.pdf

Al referirse a los productos energéticos generados a partir de biomasa en las biorrefinerías, se puede hacer distinción entre los de 1ª y 2ª generación.

Se conoce como biocarburantes de 1ª generación a aquellos que se producen a partir de materias primas que pueden ser empleadas en alimentación o para ser procesadas en la industria alimentaria.

Los biocarburantes de 2ª generación son producidos empleando como materias primas residuos procedentes de la industria alimentaria o cultivos no utilizables en alimentación.

La competitividad entre la materia prima de los biocarburantes de 1ª generación y la industria alimentaria ocasiona barreras de carácter ético, político y medioambiental a este tipo de procesos de producción. Las biorrefinerías de 2ª generación solventarían estas cuestiones, generando un beneficio medioambiental al encargarse del tratamiento de residuos de otras industrias, mediante la obtención de productos de alto valor añadido⁹. Otro inconveniente clave de la obtención de biocarburantes de 1ª generación reside en la economía de proceso, ya que numerosas materias primas vegetales ricas en azúcares fermentables tienen un coste que constituye un factor limitante a grandes escalas de producción. Cabe tener en cuenta que el precio de la materia prima contribuye en más de un 55% al total de los costes de producción en este tipo de procesos, por lo que resultaría muy positivo considerar materias primas baratas como biomasa lignocelulósica o residuos agrícolas o de la industria alimentaria, a fin de resultar competitivos en el mercado¹². En la actualidad la mayoría de procesos y tecnologías de producción de biocarburantes de 2ª generación (fundamentalmente diesel Fischer-Tropsch producido a partir de biomasa y bioetanol producido a partir de materia prima lignocelulósica) se encuentran en una etapa precomercial⁹, habiéndose puesto en funcionamiento las primeras instalaciones industriales en el año 2017 por parte de la empresa Praj en la India¹³. En esta etapa de desarrollo de las biorrefinerías para obtención de biocarburantes de 2ª generación, cabe destacar que se han llevado a cabo numerosos estudios en relación a la multitud de materias primas disponibles para el proceso (residuos de madera, cultivos agrícolas no empleados en alimentación, residuos sólidos urbanos, algas, microalgas)¹⁴.

12 DEL CAMPO, I., ALEGRIA, I., ZAZPE, M., ECHEVERRIA, M., & ECHEVERRIA, I. Diluted acid hydrolysis pretreatment of agri-food wastes for bioethanol production, 24, pp. 214-221. *Industrial Crops and Products*. Elsevier, 2006.

13 SHETH, A. Biomass to Bioethanol - Second Generation Technology by Praj. 18-19 de febrero de 2016. Consulta en línea a fecha de 23/12/2017. Disponible en: www.aidaindia.org/pdf/2.pdf

14 LADERO, M. *et al.* Optimization of the Enzymatic Saccharification Process of Milled Orange Wastes. *Fermentation*, 3, 37 pp.1-14. DOI: 10.3390. MDPI, 2017.

En dicha conversión de biomasa en bienes comerciales de alto valor añadido, intervienen procesos de diferente índole¹¹:

- *Procesos termoquímicos*: implican la descomposición térmica de los componentes de la biomasa, liberándose energía en forma de calor y pudiéndose obtener sustancias combustibles a lo largo del proceso. Los procesos termoquímicos fundamentales llevados a cabo en biorrefinerías son la gasificación y la pirolisis.
- *Procesos bioquímicos*: se llevan a cabo lentamente mediante la acción de enzimas y microorganismos, a temperaturas moderadas. En biorrefinerías el proceso bioquímico fundamental llevado a cabo es la fermentación anaeróbica de azúcares simples, como por ejemplo sacarosa, o polímeros, como por ejemplo almidón o celulosa, de la cual se obtiene fundamentalmente etanol; y la digestión anaeróbica, proceso del cual se obtiene el biogás y que es aplicable a cualquier tipo de biomasa.
- *Procesos mecánicos*: alteran el tamaño de la biomasa, para adecuar la materia prima a los requisitos de la instalación, o separan los componentes de ésta, extrayéndose los de interés industrial. De este modo en los procesos mecánicos no se altera el estado ni la composición química de la biomasa.
- *Procesos químicos*: suponen una modificación en la estructura química de la molécula por reacción con otras sustancias. Los procesos químicos más comunes en biorrefinerías son la hidrólisis y la transesterificación. Mediante la hidrólisis ácida, alcalina o enzimática se despolimerizan fundamentalmente polisacáridos, como en la obtención de glucosa a partir de celulosa, y proteínas. La transesterificación es el método de producción de biodiesel a partir de derivados de ácidos grasos.

3. APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS DE INDUSTRIA ALIMENTARIA. RESIDUOS DE NARANJA

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), en torno al 30% de la producción de alimento global se pierde durante su cosecha, procesado y consumo final, suponiendo esta cantidad más de 1.300 millones de toneladas anuales¹⁵. Una buena parte de estos residuos generados por la industria alimentaria corresponden a frutas y otros vegetales, afectando a

15 BALASUBRAMANIAN, R., KAUSHIK, MAHMOOD, R.R., PHAM, T.P.T., & PARSHETTI, G.K. Food waste-to-energy conversion technologies: Current status and future directions. *Waste Management*, 38, pp. 399-408. Elsevier, 2015.

los vertederos municipales por su biodegradabilidad y emisiones de metano¹⁶. Estos residuos del procesado de frutas y verduras contienen, generalmente, grandes cantidades de sólidos en suspensión y presentan elevadas demandas química (DQO) y bioquímica (DBO) de oxígeno, lo que influye en los costes de tratamiento y en las posibilidades de recuperación de los mismos¹⁷. Este tipo de residuos orgánicos tienen una composición media aproximada de un 75% de azúcares y hemicelulosa, un 9% de celulosa y un 5% de lignina. De este modo, los residuos de este tipo estarían principalmente compuestos por hidratos de carbono, con pequeñas cantidades de proteínas y lípidos, y con una humedad de entre el 80 y el 90%¹⁸.

Entre la amplia variedad de frutas y verduras, cuyo procesamiento genera residuos aptos para ser empleados como materia prima en una biorrefinería, cabe destacar los cítricos por poseer una pequeña porción comestible. Este hecho propicia que se generen grandes cantidades de residuos en forma de piel, pulpa y semillas en el proceso de producción de zumo y otros alimentos derivados¹⁷. Estos residuos generados en la producción de zumos cítricos son fuente de diversos compuestos, principalmente agua, azúcares solubles, fibra, ácidos orgánicos, aminoácidos, proteínas, sales minerales, aceites y lípidos, conteniendo además flavonoides y vitaminas¹⁹.

Existen multitud de aplicaciones para los subproductos residuales generados en el procesado de frutas cítricas:

- El albedo de limón y el polvo de fibra alimenticia de naranja se emplean en diferentes concentraciones en salchichas y embutidos para incrementar su contenido en fibra¹⁹.
- El agua obtenido en la producción de zumo de naranja como residuo es otra fuente de fibra alimenticia¹⁷.
- Crizel et al. (2013) estudiaron la aplicación de subproductos generados en la obtención de zumo de naranja para reemplazar la grasa del helado.
- Otra aplicación interesante de estos subproductos cítricos es la alimentación de ganado, especialmente rumiante¹⁷.

Entre la variedad de frutas cítricas comestibles, cabe destacar que el árbol frutal más abundante en el mundo es el naranja (*Citrus sinensis* L.), de cuyas cosechas

16 MISI, S.N. & FORSTER, C.F. Semi-continuous anaerobic co-digestion of agro-wastes. *Environmental Technology*, vol. 23, nº 1, pp. 445-451.

17 MIRABELLA N, CASTELLANI V, SALA S, Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. *Journal of Cleaner Production*, 65, pp. 28-41. DOI 10.1016. Elsevier, 2014.

18 KOSSEVA, M.R. Management and Processing of Food Wastes. En: Moo-Young, M. *Comprehensive Biotechnology*, vol. 6. Environmental Biotechnology and Safety. Elsevier, 2011.

19 FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., FERNÁNDEZ-GINÉS, J.M., ALESON-CARBONELL, L., SENDRA, E., SAYAS-BARBERÁ, E. & PÉREZ ALVAREZ, J.A. Application of functional citrus by-products to meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 15, pp. 176-185. Elsevier, 2004.

se obtienen el 60% del total de frutas cítricas del mundo, que supondrían en torno a 70 millones de toneladas anuales²⁰. La producción y transformación de naranjas en zumo genera casi 30 millones de toneladas anuales de residuos¹⁴. Parte de este residuo puede destinarse a las diversas aplicaciones ya mencionadas, destacando la de alimentación de ganado. No obstante, se encuentra en tal cuantía que grandes cantidades terminan depositándose en vertederos causando graves problemas de índole medioambiental y económica²¹. Por esto, se puede plantear su uso como materia prima de biorrefinerías para obtener aceites esenciales, pectina, bioetanol, energía y productos de alto valor añadido con aplicaciones alimenticias, entre otros¹⁴.

España es el sexto productor mundial de naranjas con una producción anual de casi 3,5 millones de toneladas de naranjas, lo que supondría un 5% del total de la producción mundial²². Este hecho haría considerar el residuo derivado del procesado de la naranja como una potencial materia prima para biorrefinerías de 2ª generación en España por tener un coste bajo debido a su naturaleza residual y por su gran disponibilidad ya mencionada.

Los residuos procedentes de la fabricación de zumo de naranja están formados por pulpa, semillas y piel. La piel, a su vez, está compuesta de una capa externa naranja (flavado) y una capa interna blanca y esponjosa (albedo). La pulpa de naranja es muy húmeda y rica en monosacáridos (glucosa y fructosa) y disacáridos (sacarosa). La capa interna de albedo es rica en pectina, mientras que la capa externa de flavado contiene una gran cantidad de aceites esenciales, con limoneno como componente principal, y flavonoides. El residuo de naranja, en general, contiene lignina y proteínas en cantidades bajas, cantidades considerables de celulosa y hemicelulosa, y cantidades aún mayores de pectina, pudiendo variar su composición en función del cultivo, la época del año y la región y tecnología usada en la producción de zumo. Pese a estas posibles variaciones el residuo de naranja es siempre muy húmedo, con un contenido de agua variable entre el 80 y el 84%²³.

20 ERUKAINURE, O.L., EBUEHI, O.A.T., CHOUDHARY, M.I., MESAİK, M.A., SHUKRALLA, A., MUHAMMAD, A., ZARUWA, M.Z. & ELEMO, G.N. Orange peel extracts: Chemical characterization, antioxidant, antioxidative burst, and phytotoxic activities. *Journal of Dietary Supplements*, 13, pp. 585-594. Taylor & Francis, 2016.

21 TRIPODO, M.M., LANUZZA, F., MICALI, G., COPPOLINO, R. & NUCITA, F. Citrus waste recovery: a new environmentally friendly procedure to obtain animal feed. *Bioresource Technology*, 91, pp. 111-115. Elsevier, 2004.

22 SANFELIU, I. (20/04/2016). La citricultura en España. Presente y futuro. Comité de Gestión de Cítricos, Hotel Barceló Valencia. Disponible en: https://www.agronegocios.es/digital/files/plantar/Sanfeliu_pstar_citricos_valencia.pdf

23 REZZADORI, K.; BENEDETTI, S.; AMANTE, E.R. Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for new products. *Food & Bioproducts Processing*, 90, pp. 606-614. DOI 10.1016, 2012.

A continuación, se describirán más detalladamente los componentes principales del residuo de naranja, que se muestran en el esquema adjunto en la figura 1²⁴.

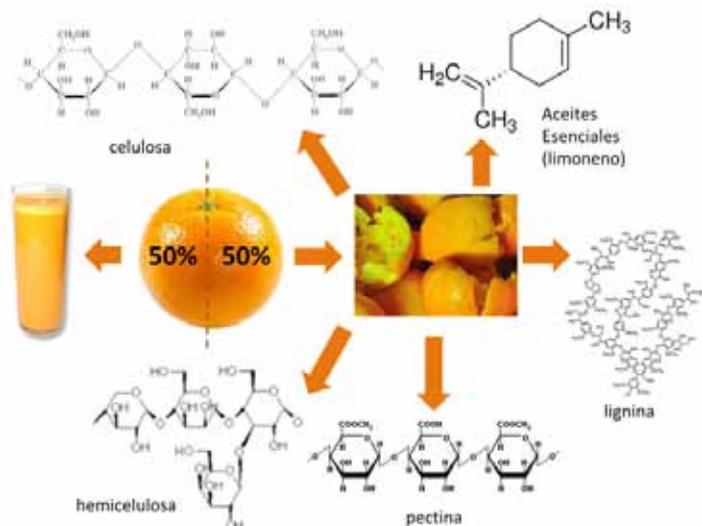


Figura 1: Esquema de composición de naranja y residuos de naranja

- La celulosa es un polisacárido formado por monómeros de glucosa (β -D-glucopiranosas) dispuestos en cadenas lineales de entre 5.000 y 14.000 unidades de monosacárido, constituyente de la pared celular vegetal. Las cadenas lineales se agrupan uniéndose por puentes de hidrógeno, pudiéndose distinguir, en función del ordenamiento de estos grupos de cadenas, entre regiones cristalinas (más ordenadas) y amorfas (menos ordenadas). La celulosa es menos soluble e hidrolizable cuanto más cristalina es su estructura²⁵.
- La hemicelulosa es un polímero heterogéneo integrado por cadenas cortas y ramificadas de polisacáridos. Dichos polisacáridos se encuentran formados por monómeros de D-xilosa, L-arabinosa, D-galactosa, D-mannosa y D-glucosa, y derivados de éstos como ácidos urónicos. La hemicelulosa, que también constituye la pared celular vegetal, presenta un grado de poli-

24 ALVIRA, P., TOMÁS-PEJÓ, E., BALLESTEROS, M., & NEGRO, M. J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A Review. *Bioresource Technology*, vol. 101, nº 13, pp. 4851-4861. Elsevier, 2010.

25 RAVINDRAN, R. & KUMAR A. A comprehensive review on pre-treatment strategy for ligno-cellulosic food industry waste: Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*, vol. 199, pp. 92-102. Elsevier, 2016.

merización y una cohesión por puentes de hidrógeno menores que los de la celulosa, por lo que es más fácilmente hidrolizable que ésta²⁵.

- La pectina es un heteropolisacárido compuesto por polímeros lineales de ácido galacturónico, que actúa como matriz en la que se insertan las fibras de celulosa y hemicelulosa en la pared celular vegetal²⁶.
- La lignina es un polímero complejo, muy ramificado, formado por los alcoholes aromáticos p-cumarílico, coniferílico, sinapílico y los derivados de éste último. La lignina posee una estructura tridimensional con ordenación amorfa, y actúa como agente protector de la celulosa ante el ataque microbiano y confiriendo resistencia e impermeabilidad a la biomasa en que se encuentra. Dada la función protectora de la lignina, su retirada parece facilitar la hidrólisis de la celulosa, ya que no sólo estabiliza este sustrato, sino que también parece tener cierta capacidad de adsorción irreversible de enzimas que aumenta a temperaturas elevadas²⁵.
- Los aceites esenciales contenidos en todos los cítricos en general, y particularmente en la naranja, son D-limoneno, en un 90%, y α -terpineol, en una cantidad inferior.

El D-limoneno es un terpeno cíclico, responsable del aroma característico de los cítricos, muy empleado en química, alimentación y cosmética, entre otros.

El α -terpineol es un alcohol monoterpénico, isómero del D-limoneno, muy empleado como componente de perfumes, debido a su aroma.

Además de los componentes descritos anteriormente los residuos de naranja poseerían cierta cantidad de azúcares solubles libres como glucosa, fructosa y sacarosa.

4. PRETRATAMIENTO E HIDRÓLISIS EN BIORREFINERÍA DE MATERIAL LIGNOCELULÓSICO

En la figura 2 (modificado a partir de Bioenarea, 2012)¹¹ se observa un esquema del proceso llevado a cabo en una biorrefinería de material lignocelulósico. El esquema del procedimiento de biorrefino llevado a cabo se ajusta al que se llevaría a cabo en una biorrefinería que operase con residuos de la industria de producción de zumo de naranja como materia prima.

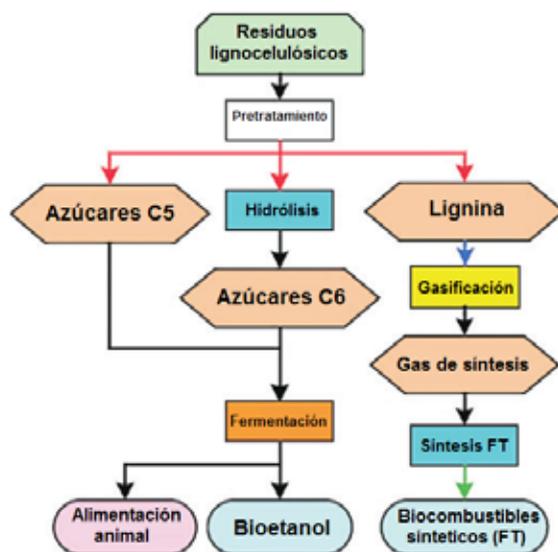


Figura 2: Esquema de proceso de biorrefinería de material lignocelulósico

En el apartado 3, se detalló la composición de los residuos de naranja, ricos en pectina, celulosa y hemicelulosa. A la vista de dicha composición, la primera etapa del proceso de biorrefino cobra importancia, pues sería necesario convertir los polisacáridos presentes en la biomasa en azúcares fermentables.

Los primeros procesos de sacarificación se realizaban empleando ácido como catalizador. Este proceso de hidrólisis debe ser realizado con concentraciones elevadas de ácido (70%) y a temperaturas elevadas (260 °C), obteniéndose rendimientos máximos del 70%. Además, en este proceso de hidrólisis ácida se obtienen aldehídos, como furfural e hidroximetilfurfural, como subproducto. Estas sustancias inhiben los procesos siguientes de la actividad de biorrefino²⁷. La sacarificación enzimática es una estrategia favorable de hidrólisis de biomasa en comparación con el procedimiento con ácido, dado sus reducidos requerimientos energéticos, sus condiciones de operación a menor presión, temperatura y pH, y sus bajos niveles de contaminación²⁵.

La sacarificación enzimática de residuos como los de naranja presenta una cinética lenta. Esto se debe a que la estructura de la biomasa no favorece la hidrólisis,

27 WYMAN, C.E., DECKER, S.R., HIMMEL, M.E., BRADY, J.W., SKOPEC, C.E. & VIKARI, L. Capítulo 43: Hydrolysis of Cellulose and Hemicellulose. En: Dumitriu, S. Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility. 2ª Ed. pp. 1023-1062. Marcel Dekker. Nueva York, 2004.

dificultando la accesibilidad y disminuyendo la actividad de las enzimas, especialmente las celulasas. Con el fin de promover la accesibilidad y actividad de las enzimas durante la hidrólisis se lleva a cabo el pretratamiento de la materia prima, previamente al proceso de sacarificación enzimática²⁸.

El mencionado pretratamiento de la materia prima se puede llevar a cabo por diversos métodos físicos, como molienda y tamizado; químicos, como el tratamiento con ácidos y bases; fisicoquímicos, como la explosión de vapor; y biológicos²⁵²⁸. Cualquier proceso de pretratamiento pretende: romper los puentes de hidrógeno en la estructura cristalina de la celulosa, romper los enlaces en la matriz de hemicelulosa y lignina, y aumentar la porosidad y el área superficial de los sustratos de la hidrólisis enzimática²⁹.

En el proceso de sacarificación enzimática de biomasa lignocelulósica intervienen más de 20 enzimas que son obtenidas industrialmente de hongos de los géneros *Trichoderma*, *Aspergillus* y *Penicillium*³⁰. A fin de facilitar la comprensión del proceso de sacarificación enzimática de residuos lignocelulósicos sobre el cual versa el presente estudio, se describen, a continuación, las principales enzimas intervinientes en el proceso.

- 1) Las *celulasas* son las enzimas encargadas de la ruptura de las cadenas lineales de celulosa, distinguiéndose entre endoglucanasas y exoglucanasas³¹.
 - La enzima *endo-β-1,4-glucanasa* rompe las cadenas de celulosa al azar, disminuyendo el grado de polimerización de éstas y facilitándose así la acción de las demás enzimas. Las endoglucanasas son las primeras enzimas en atacar la celulosa, haciéndolo en regiones amorfas y generando lugares de actuación para las exoglucanasas.
 - La enzima *exo-β-1,4-glucanasa* actúa en los extremos no reductores de las cadenas de celulosa previamente atacadas por las endoglucanasas, liberando celobiosa.

28 KHARE S.K., PANDEY A. & LARROCHE C. Current perspectives in enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass. *Biochemical Engineering Journal*, vol. 102, pp. 38–44. Elsevier, 2015.

29 HAGHIGHI S., HOSSEIN A., TABATABAEI M., SALEHI G., HASSAN G., GHOLAMI M. & Ardjmand M. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 27, pp. 77–93. Elsevier, 2013.

30 BENNET, J. W. *Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology*. *Journal of Biotechnology*, vol. 66, pp 101-107. Elsevier, 1998.

31 ZHANG, X. Z. & ZHANG, Y.H.P. Cellulases: Characteristics, Sources, Production and Applications. En: *Bioprocessing Technologies in Biorefinery for Sustainable Production of Fuels, Chemicals, and Polymers* Yang, S.T., El-Enshasy H. A. & Thongchul, N. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, Nueva Jersey, Estados Unidos, 2013.

- La β -glucosidasa no se trata de una celulasa como tal, pues no ataca directamente a la celulosa, si bien interviene en el proceso de despolimerización de la misma. Esta enzima se encarga de hidrolizar el enlace presente en la celobiosa, liberando dos moléculas de glucosa. Pese a que, como se dijo, no se trata rigurosamente de una celulasa, su acción de eliminación de la celobiosa se combina con la hidrólisis realizada por las endoglucanasas y las exoglucanasas, ya que este disacárido actúa como inhibidor en el proceso de despolimerización.

En la figura 3 se observa la sucesión de reacciones de hidrólisis enzimática de celulosa con celulosas.

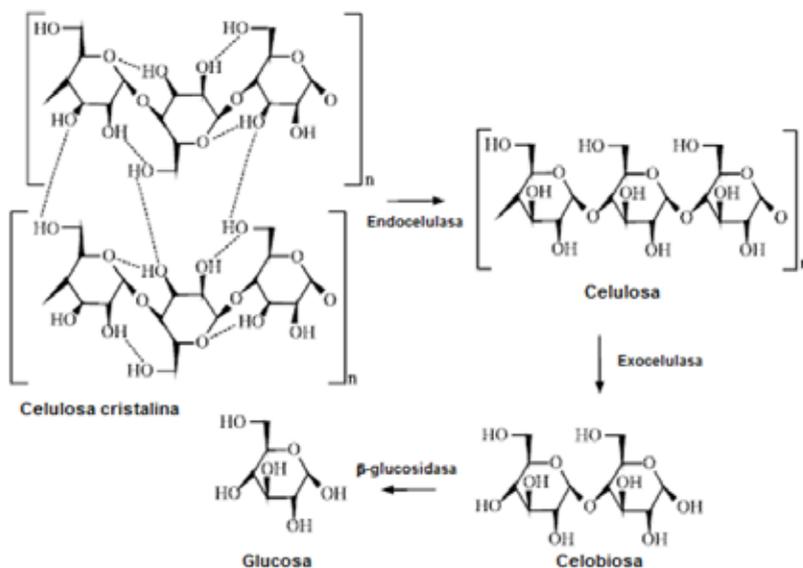


Figura 3: Esquema de reacción de hidrólisis enzimática de celulosa

- 2) Las *hemicelulasas* se encargan de despolimerizar la hemicelulosa. Debido a la heterogeneidad de este polisacárido, las hemicelulasas son un grupo formado por diversas enzimas: las *xilanasas*, que se encargan de hidrolizar las cadenas de xilano liberando xilobiosas, y de atacar ésta última liberando finalmente xilosa; *manasas* y *arabinasas*³².

32 SONI, H. & KANGO, N. Hemicellulases in Lignocellulose Biotechnology: Recent Patents. Recent Patents on Biotechnology, vol. 7, n°3, pp 207-218. Bentham Science Publishers, Emiratos Arabes Unidos, 2013.

- 3) Las *ligninasas* son las enzimas capaces de hidrolizar la lignina, pudiendo clasificarse en las *lacasas*, con actividad fenol oxidasa, y las peroxidadas, como *LIP* (lignina peroxidasa) y *MNP* (manganeso peroxidasa)³³.
- 4) Las *pectinasas* son las enzimas empleadas en la degradación de la pectina. En la composición de los complejos enzimáticos comerciales de pectinasas se encuentran *poligalacturonasas*, *pectinliasas* y *pectinesterasas*³⁴.

En el proceso de hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos, además de la composición de los complejos enzimáticos empleados y el pretratamiento realizado a la materia prima, el pH, la velocidad y calidad de la agitación, la temperatura y la concentración y composición del sustrato, resultan factores clave.

- La actividad de las enzimas se multiplica notablemente aumentando la temperatura a la que lleva a cabo la reacción que catalizan por encima de los 10 °C, hasta los 40-50 °C temperatura a la cual su actividad comienza a decaer. A temperaturas superiores a 60-70 °C las proteínas globulares que son las enzimas se desnaturalizan³⁵. Cada enzima tiene una temperatura óptima de actuación, siendo la de los complejos enzimáticos empleados en el proceso de sacarificación de residuos lignocelulósicos de en torno a 50 °C.
- La actividad enzimática varía con el pH. El intervalo de pH óptimo no es común a todas las enzimas, pero a condiciones de acidez o alcalinidad superiores a las de este intervalo de actividad las enzimas se desnaturalizan³⁶.
- La agitación influye en la actividad enzimática, puesto que es el factor que proporciona la mezcla de los compuestos en el reactor. Al aumentar la calidad y la velocidad de la agitación, se incrementa la velocidad de la reacción, ya que disminuye el tamaño de partícula y, por tanto, las limitaciones por la transferencia de materia, además de aumentar el área superficial. No obstante, agitaciones demasiado elevadas podrían ocasionar desactivación enzimática³⁷.

33 ARANTES, V. & MILAGRES, A. M. F. The synergistic action of ligninolytic enzymes (MnP and Laccase) and Fe³⁺-reducing activity from white-rot fungi for degradation of Azure B. *Enzyme and Microbial Technology*, nº 42, pp. 17-22. Elsevier, 2007.

34 JAYANI, R. S., SAXENA, S. & GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry*, vol. 40, nº 9, pp.2931-2944. Elsevier, 2005.

35 ALDABE, J., HUETO, A., JUNI, J. & LÓPEZ, P. *Biología*, p. 128. Ed. Erein, 1998.

36 LEHNINGER, A., NELSON, D. & COX, M. *Principios de Bioquímica*, 4º Edición, p. 212. Ed. Omega, Barcelona, 2006.

37 KADIC, A., PALMQVIST, B. & LIDEN, G. Effects of agitation on particle-size distribution and enzymatic hydrolysis of pretreated spruce and giant reed. *Biotechnology for Biofuels*. DOI: 10.1186. Biomed Central, 2014.

- La composición y la cantidad de sustrato en la mezcla reaccionante resulta un factor clave en el rendimiento y la velocidad del proceso de hidrólisis enzimática. Una concentración excesivamente elevada de sustrato puede ocasionar problemas en la transferencia de materia del proceso, ocasionándose también una desactivación de la enzima celulasa relacionada con relaciones elevadas entre la concentración de sustrato y de enzima. Esta relación entre concentraciones es más fácilmente ajustable variando la cantidad de sustrato, actuando la cantidad de enzima como factor limitante debido al elevado coste de los complejos enzimáticos comerciales. La facilidad de las enzimas para hidrolizar la celulosa del sustrato, viene dada por la estructura de éste, resultando clave para la obtención de rendimientos elevados, someter el sustrato a pretratamientos previos a la hidrólisis³⁸.

5. CONCLUSIONES

La industria de producción de zumo y otros procesados de cítricos genera anualmente en España unas cantidades de residuos, que no pueden ser completamente asimiladas por los procesos de reaprovechamiento y tratamiento actuales. Buena parte de esos residuos se destinan a la producción de alimento para ganado, existiendo, no obstante, un excedente que podría ser empleado con otros fines.

En la actualidad, la industria del biorrefino produce bienes de alto valor añadido, principalmente biocarburantes, utilizando cultivos ricos en azúcares, como son determinados cereales, la remolacha o la caña de azúcar. El empleo de materias primas empleadas en la producción de alimentos suscita el surgimiento de problemas de carácter ético, económico y político, que podrían solucionarse con la implantación de biorrefinerías de 2ª generación.

Las biorrefinerías de 2ª generación (2G) proponen emplear residuos, generalmente lignocelulósicos, de otras industrias como materia prima. De este modo el coste de adquisición de las materias primas del proceso se reduce notablemente respecto de las biorrefinerías de 1ª generación, y, además, se anulan las controversias éticas que pudiese generar la operación de las biorrefinerías de cereal convencionales.

El presente estudio ha pretendido analizar la posibilidad de empelar parte de los residuos generados por la industria de procesado de cítricos como materia prima

38 TAHERZADEH, M. J. & KARIMI, K. Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. *Bioresources*, vol. 2, nº 4 pp.707-738, 2007.

de biorrefinerías 2G. Atendiendo a la estructura y composición de los residuos de naranja, se concluye que éstos podrían ser tratados a través de procesos de hidrólisis enzimática para dar lugar a disoluciones de azúcares fermentables de las que podría obtenerse biocarburantes, como el bioetanol, y otros bienes de alto valor añadido.