

OBTENCIÓN DE XILOSA A PARTIR DE DESECHOS LIGNOCELULÓSICOS DE LA PRODUCCIÓN Y PROCESO INDUSTRIAL DE LA PIÑA (*Ananascomusus*)

XYLOSE FROM LIGNOCELLULOSIC WASTE IN THE PRODUCTION AND INDUSTRIAL PROCESSING OF PINNEAPPLE (*Ananascomusus*)

Karla Ramírez Amador¹
Oscar Rojas Carrillo²
Patricia Alvarado Aguilar³
José Vega-Baudrit⁴

RESUMEN

Los desechos lignocelulósicos de la producción de piña son una materia prima muy útil para la producción de xilosa por medio de hidrólisis, que a su vez, puede convertirse a xilitol. El objetivo de este trabajo fue estudiar la hidrólisis de la cáscara de piña con concentración de ácido sulfúrico y tiempo de reacción variable (2-6% y 0-350 min respectivamente) y temperatura de 98°C. Se determinó la concentración de xilosa, glucosa y los productos de degradación como ácido acético y furfural. Las condiciones óptimas encontradas para la hidrólisis fueron 6% H₂SO₄ a 98 °C por 83 min con un rendimiento de 26,9 g xilosa/L, 2,61 g glucosa/L, 7,71 g ácido acético/L y 0,29 g furfural/L.

Palabras clave: desechos agrícolas, azúcar, xilosa, hidrólisis

ABSTRACT

Lignocellulosicwaste from the pineapple production is a raw material useful for the xylose production by hydrolysis and it can be converted to xylitol. The objective of this work was to study the hydrolysis of pineapple peel with sulfuric acid at variable concentration (2-6%), reaction time (0-350 min) and temperature at 98 °C. The concentration of xylose, glucose and degradation products as acetic acid and furfural was determined. Optimal conditions found for hydrolysis were 6% H₂SO₄ at 98 °C for 83 min which yield was 26,9 g xylose/L, 2,61 g glucose/L, 7,71 g acetic acid/L and 0,29 g furfural/L.

Keywords: agricultural residues, sugar, xylose, hydrolysis.

1 Laboratorio de Polímeros POLIUNA. Universidad Nacional, Ap. 86-3000, Heredia, Costa Rica. e-mail: kramirez@una.ac.cr

2 Laboratorio de Polímeros POLIUNA. Universidad Nacional, Ap. 86-3000, Heredia, Costa Rica. e-mail: osca-rr13@gmail.com

3 Laboratorio de Polímeros POLIUNA. Universidad Nacional, Ap. 86-3000, Heredia, Costa Rica. e-mail: pat.alv.ag@gmail.com

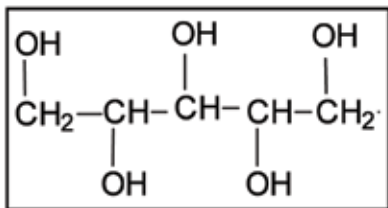
4 Laboratorio Nacional de Nanotecnología, LANOTEC-CeNAT, Costa Rica. Laboratorio de Polímeros POLIUNA. Universidad Nacional, Ap. 86-3000, Heredia, Costa Rica. e-mail: jvegab@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Debido a los diferentes problemas de salud que involucra para algunas personas el consumo de sacarosa en su dieta diaria, en los últimos años se han elaborado algunos sustitutos de este compuesto, llamados edulcorantes, los cuales tienen muchas ventajas.

Un tipo de edulcorante es el xilitol, el cual, es un polialcohol natural de cinco átomos de carbono, que se encuentra en algunas plantas, levaduras, hongos, líquenes, frutas y vegetales, pero en muy pequeñas cantidades (menores a los 900 mg/100 g), lo cual provoca que su extracción sea un proceso poco rentable (Mussatto *et al.*, 2002). Su fórmula estructural ($C_5H_{12}O_5$), se presenta en la figura 1.

Figura 1. Estructura química de la molécula de xilitol (Lima *et al.*, 2003)

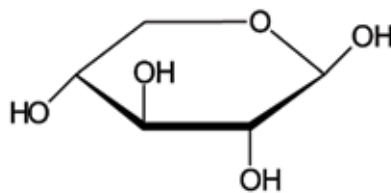


Su consumo se ha incrementado en los últimos años debido, entre otras cosas, a que tiene un poder edulcorante parecido al de la sacarosa, siendo utilizado principalmente por las personas diabéticas, con la ventaja de ser anticariogénico y además tener un sabor agradable aún después de haber sido ingerido (Carvalho *et al.*, 2003). Es usado en el área clínica porque es muy bien asimilado en infusiones posquirúrgicas por los pacientes con dificultad de metabolizar la sacarosa, mejora las propiedades bioquímicas de los huesos en caso de osteoporosis y previene la otitis aguda (Carvalho *et al.*, 2003)

El xilitol comercial es obtenido por procesos químicos que consisten en la hidrogenación catalítica de la D-xilosa; esta a su vez es

ampliamente encontrada en la naturaleza y obtenida por hidrólisis ácida o enzimática de la fracción hemicelulósica de los materiales lignocelulósicos. La estructura de este azúcar se muestra en la figura 2.

Figura 2. Estructura molecular de la D-xilosa. (Fengelet *et al.* 1984)



Los materiales lignocelulósicos se encuentran constituidos de tres componentes principales: celulosa, hemicelulosa y lignina. La celulosa, es el principal polímero natural, cuyas cadenas se encuentran altamente ordenadas y rodeadas en una matriz por la hemicelulosa y la lignina. La hemicelulosa está constituida principalmente de azúcares, que pueden ser fácilmente obtenidos por medio de hidrólisis ácida. Por su parte, la lignina es un polímero aromático que forma parte de los tejidos de sostén de los vegetales.

En Costa Rica, la producción de xilosa se presenta como una buena alternativa, porque utiliza como materia prima los desechos agroindustriales contribuyendo a minimizar los problemas ambientales. Entre estos desechos tenemos los de la piña, los cuales, debido al incremento en su producción y al contenido en hemicelulosa podrían ser una alternativa para la producción de este azúcar. A nivel nacional, la mayor parte de la producción de esta fruta es consumida como fruta fresca. Sin embargo, el comercio mundial constituye mayormente productos procesados, ya sea enlatados, como jalea o como jugo, lo cual provoca que durante el proceso de preparación, se dé una gran generación de desechos y presentó problemas ambientales.

Estos desechos están constituidos por la cáscara, el corazón y sólidos centrifugados en la producción del jugo (IPGRI 2001).

El Laboratorio de Polímeros de la Universidad Nacional (POLIUNA) ha desarrollado varias líneas de investigación orientadas al aprovechamiento de este tipo de desechos. Así por ejemplo, se han realizado estudios en la obtención de acetato de celulosa a partir de fibra de piña (Sibaja *et al.*, 1986) y más recientemente, en la utilización del rastrojo de piña como refuerzo de una resina poliéster comercial (Quesada *et al.*, 2005). Como parte de esta línea de investigación se ejecutó un proyecto, con el aporte del CONICIT, el cual consiste en la utilización de los desechos de cáscara de piña para la producción biotecnológica de xilitol, con el fin de aprovechar al máximo el componente hemicelulósico de la cáscara de piña, para la obtención de xilosa que posteriormente será empleada como materia prima para la producción de xilitol por medios fermentativos.

Hidrólisis de los desechos de la cáscara de piña

Las plantas almacenan la energía solar en forma de hidratos de carbono, los cuales pueden ser posteriormente utilizados en la fabricación de diferentes productos con un alto valor agregado, y siguen diferentes etapas, dentro de las cuales se encuentra la hidrólisis, que es un proceso de transformación en medio acuoso, de las moléculas complejas en azúcares simples mediante reactivos químicos. Durante esta reacción química, los ácidos empleados actúan como catalizadores, y transforman las cadenas de polisacáridos en sustancias más simples. Para esta reacción se han empleado gran cantidad de ácidos como el sulfuroso, clorhídrico, sulfúrico, fosfórico y nítrico, pero a escala industrial sólo se han empleado el sulfúrico y el clorhídrico (Oliva, 2003).

A nivel industrial los procesos de hidrólisis ácida se agrupan en dos tipos: los que em-

plean ácidos concentrados y los que utilizan ácidos diluidos. Si se utilizan ácidos concentrados se opera a baja temperatura, obteniéndose altos rendimientos de hidrólisis (superiores al 90% de la glucosa potencial). Sin embargo este es un proceso que presenta la desventaja de no ser rentable, debido a la gran cantidad de ácido que se utiliza y lo costoso de su recuperación. Esto sin tomar en cuenta la necesidad de una posterior etapa de neutralización para que el producto pueda ser fermentado (Oliva, 2003).

Al utilizar ácidos diluidos la principal ventaja que se tiene es el relativo bajo consumo de ácidos, sin embargo, se deben emplear altas temperaturas para alcanzar rendimientos aceptables de conversión (Oliva 2003). En la hidrólisis con ácido diluido, se obtiene una fracción líquida que contiene principalmente xilosa (alrededor de un 50 a un 70% de peso en peso), (Aguilar *et al.*, 2002).

Diseño experimental de la hidrólisis de cáscara de piña

De acuerdo con la literatura existen diversos estudios relacionados con el aprovechamiento de varios residuos agroindustriales para la obtención de xilosa por medio de un tratamiento con ácido diluido.

Investigadores en el campo de la hidrólisis establecen condiciones similares de proceso, porque en la mayoría de los casos se utiliza como catalizador HCl o H₂SO₄ en concentraciones que varían entre el 2 y el 6% v/v y en un rango de temperatura entre 100-128° C, con lo cual se acelera la producción de los azúcares hemicelulósicos por la relativa alta energía de activación en la fase sólido-líquido del medio de reacción.

Sin embargo, a altas temperaturas parte de la xilosa obtenida puede ser degradada rápidamente y la celulosa de la región amorfa puede producir glucosa. Una buena selección de temperatura y tiempos de reacción resultan

en una alta producción de azúcares, principalmente xilosa. Estudios realizados por Aguilar (2002), demuestran que en el caso de la hidrólisis a temperaturas mayores de 98 °C se presenta un decaimiento en la producción de xilosa (Aguilar *et al.*, 2002), por lo tanto, para efectos de este estudio se decidió emplear esta temperatura.

Compuestos secundarios generados durante la hidrólisis

Durante la hidrólisis del material lignocelulósico no solo se obtienen los azúcares provenientes del rompimiento de las macromoléculas sino que también debido a las altas temperaturas y condiciones ácidas en las que se desarrolla el proceso, se originan una serie de compuestos secundarios que pueden actuar como inhibidores potenciales de la posterior fermentación. La naturaleza y la concentración de estos compuestos depende del tipo de materia prima y de las condiciones del proceso (temperatura y tiempo) (Oлива, 2003).

El furfural ejerce un efecto dañino debido a que al ser un aldehído, es un compuesto químicamente reactivo que puede formar compuestos con moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, produciendo una disminución en la eficiencia de los microorganismos de fermentación (Oлива, 2003).

La presencia de ácido acético a relativas altas concentraciones inhibe el crecimiento del microorganismo que produce el xilitol y por lo tanto podría impedir o prevenir un siguiente paso de fermentación debido a que puede introducirse en las membranas celulares y disminuir el pH intracelular afectando el metabolismo de los microorganismos. (Aguilar *et al.*, 2002).

Además, la producción de xilitol, se puede ver afectada por la presencia de altas concentraciones de glucosa porque esta provoca una

represión catabólica sobre las enzimas xilosa reductasa y xilitol deshidrogenasa que son de vital importancia en la bioconversión xilosa-xilitol (Martínez *et al.*, 2002).

Por el contrario, si la concentración de glucosa presente en el medio es baja y también hay presencia de ácido acético, la glucosa contribuye a minimizar el efecto tóxico causado por el ácido durante el metabolismo de la xilosa (Martínez *et al.*, 2002).

Cinética química de la hidrólisis de cáscara de piña

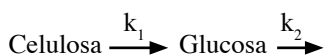
El principal objetivo al estudiar la cinética de cualquier reacción química es determinar experimentalmente la rapidez de una reacción y su dependencia de parámetros tales como concentración, temperatura y catalizadores (Chang, 1986); sin embargo, para este trabajo fue también muy importante definir los valores de las variables que optimicen el proceso, y obtiene una mayor concentración de xilosa, con una menor producción de inhibidores (glucosa, ácido acético y furfural). Los datos básicos en cinética química son las concentraciones de los reactivos y productos a diferentes tiempos. El método que se usa para controlar las concentraciones, depende de las sustancias implicadas y de la rapidez con la que cambian. Los datos pueden ser obtenidos mediante un análisis en tiempo real, analizando la composición del sistema mientras transcurre la reacción, ya sea separando una pequeña muestra o controlando la totalidad. La rapidez de reacción es sensible a la temperatura, por lo que la temperatura de la mezcla de reacción, debe mantenerse constante (Atkins 1991).

Tanto el grado de hidrólisis, como la rapidez del proceso dependen de diferentes variables dentro de las cuales se encuentra la concentración de la biomasa, el tipo de materia orgánica y el tamaño de partícula (Aguilar *et al.*, 2002).

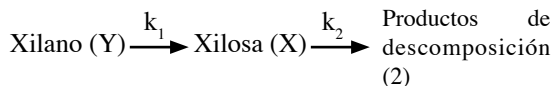
Para el caso de la reacción de hidrólisis en ácido diluido de la cáscara de piña, los estudios cinéticos se realizaron principalmente para ver la variación con el tiempo de los mayores productos generados y optimizar el proceso de hidrólisis con el fin de obtener la mayor concentración de xilosa, con el menor grado de inhibidores.

Los estudios previos en este tipo de procesos presentan varios modelos cinéticos para describir la reacción, sin embargo estos modelos y parámetros cinéticos son muy específicos para sustratos y condiciones limitadas de reacción (Eken-Saraçoğlu *et al.*, 1997), esto debido a la heterogeneidad de la estructura química y física de la hemicelulosa, que varía de un material biomásico a otro (Ladish 1989).

Por lo tanto es común utilizar modelos simplificados para determinar la cinética de hidrólisis de materiales lignocelulósicos en los cuales se propone un modelo donde se usan reacciones homogéneas irreversibles de pseudo primer orden. El primer modelo usado satisfactoriamente fue propuesto por Saeman(1945) donde:



Este modelo se propuso para la hidrólisis con H₂SO₄ de madera de abeto. Sin embargo, el modelo puede ser aplicado para reacciones de hidrólisis de fracciones hemicelulósicas como se muestra a continuación:



Donde k₁ es la constante de rapidez de reacción de la xilosa producida (min⁻¹) y k₂ es la constante de rapidez de descomposición de xilosa(min⁻¹). La variación de los componentes, basada en la reacción (2) se muestra mediante las ecuaciones diferenciales 3 y 4:

$$\frac{dY}{dt} = -k_1[Y] \quad (3)$$

$$\frac{dX}{dt} = k_1[Y] - k_2[X] \quad (4)$$

donde:

[Y]= concentración xilano (g/L)

[X]= concentración xilosa (g/L)

k₁= constante de velocidad de formación xilosa

k₂=constante de velocidad de descomposición xilosa

Con base en este modelo de reacción y resolviendo las ecuaciones diferenciales se obtiene la siguiente ecuación de primer orden(5) que expresa la concentración de xilosa [X] en función del tiempo (t):

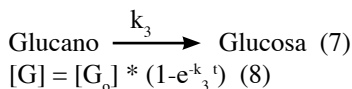
$$[X] = \frac{k_1[Y_0]}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) + [X_0]e^{-k_2 t} \quad (5)$$

Las concentraciones iniciales de xilano y xilosa se definen en el tiempo cero como [Y₀] y [X₀] respectivamente. Para simplificar el modelo, se asume que [X₀] es cero y se obtiene la siguiente ecuación:

$$[X] = \frac{k_1[Y_0]}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \quad (6)$$

La concentración potencial de xilosa [X] presente en el material lignocelulósico corresponde a la conversión estequiométrica de los pentosanos. Al ajustar los datos experimentales al modelo descrito en la ecuación 6 se obtienen los valores de k₁ y k₂.

Un modelo similar se puede usar para describir el incremento de la concentración de glucosa, pero en este caso la reacción de descomposición se considera insignificante y el modelo se simplifica como se muestra a continuación:

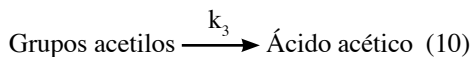


Donde $[G_0]$ es la concentración potencial de glucosa la cual se obtiene al ajustar los datos experimentales con el modelo de la ecuación 8.

Para el caso de la concentración de furfural, se puede obtener un modelo similar al de la glucosa, donde k_4 representa la constante de formación de furfural (min^{-1}) y $[F_0]$ la concentración potencial de furfural:

$$[F] = [F_0] * (1 - e^{-k_4 t}) \quad (9)$$

El modelo del ácido acético se puede obtener a partir de la siguiente ecuación:



A partir de la ecuación 10 se puede expresar la concentración de ácido acético $[Ac]$ en función del tiempo:

$$[Ac] = [Ac_0] * (1 - e^{-k_5 t}) \quad (11)$$

donde $[Ac_0]$ representa la concentración inicial de ácido acético obtenida por regresión al graficar la concentración del ácido en función del tiempo.

METODOLOGÍA

En este trabajo se realizó la caracterización física y química de los desechos de cáscara de piña mediante la determinación del contenido de humedad, cenizas, solubilidad en agua fría y caliente, extractos en ciclohexano-etanol, α -celulosa, holocelulosa, lignina y xilano. Además, se realizó la hidrólisis de la cáscara de piña pretratada con ácido diluido y se determinaron los valores de los parámetros cinéticos de dicha hidrólisis.

1. Preparación de la cáscara de piña

La variedad de piña utilizada fue la MD2. Esta fue molida con una picadora para céspe y secada en secadores solares durante tres semanas. El material seco fue nuevamente molido en un molino de martillos y posteriormente se tamizó para obtener la muestra en diferentes tamaños de partícula (en mallas con número de criba 40, 60 y 80.

2. Caracterización química del sustrato

2.1. Determinación del porcentaje de humedad

Para la determinación del porcentaje de humedad, se aplicó el método ASTM D1102-56.

2.2 Determinación del porcentaje de cenizas

Para la determinación del porcentaje de cenizas, se utilizó el método ASTM D1102-56.

2.3 Determinación del porcentaje de solubilidad en agua fría

Para la determinación del porcentaje de material soluble en agua fría se aplicó el método ASTM D1110-56.

2.4 Determinación del porcentaje de solubilidad en agua caliente

Al igual que para la determinación del material soluble en agua fría, el porcentaje de solubilidad en agua caliente se determinó por el método ASTM D1110-56.

2.5 Porcentaje de solubilidad en ciclohexano-etanol

Se realizó bajo la norma ASTM D-1107-56 adaptado por el Laboratorio de Polímeros de la Universidad Nacional, sustituyendo el benceno con ciclohexano.

2.6 Determinación del porcentaje de lignina

El contenido de lignina en el material seco, se determinó mediante la norma ASTM D1106-56.

2.7 Determinación del porcentaje de holocelulosa

El porcentaje de holocelulosa se calculó mediante el método ASTM D1104-56 modificado por Pereira (1995), para ésto se colocó en erlenmeyer 3 g de muestra y se agregó 120 mL de agua destilada. Se tapó cada uno con erlenmeyer invertidos de 50 mL. Se colocó en baño maría con agitación constante y cuando se alcanzó 70 °C, se añadió 1 mL de ácido acético glacial y 2,5 g de clorito de sodio y se calentó y agitó durante 1 h. Se repitió la adición de clorito de sodio y ácido acético una vez más. Se filtró el material y se lavó con 1,5 L de agua.

2.8 Determinación del porcentaje de α -celulosa

La cantidad de α -celulosa, se determinó mediante el método ASTM D1103-60.

2.9 Determinación de pentosanos

Primeramente, se preparó el reactivo de orcinol y el etanol libre de aldehídos. El reactivo de orcinol se preparó disolviendo 0,400 g orcinol y 0,500 g de cloruro de hierro (III) en 1 L de ácido clorhídrico 11 M y se guardó en refrigeración. Este se utilizó para poder detectar los productos en el espectrofotómetro. El etanol se disolvió durante 1 h con NaOH en una proporción del 10%.

2.9.1 Preparación de la curva de calibración

Se secó la xilosa durante 2 h en una estufa a 60 °C y se pesaron varias muestras en el rango de 10 a 100 mg, cada una se colocó en un balón de fondo plano y se realizó la destilación. Se midió la absorbancia de los destilados a 630 nm, usando un blanco con 5 mL de HCl 3,85 M. Los miligramos de xilano en el espécimen se calcularon de la siguiente forma:

$$\text{mg xilano} = \text{xilosa (mg)} \times 0,88 \quad (\text{Ec. 10})$$

Nota: 0,88 corresponde a la relación de pesos moleculares entre la xilosa (132 g/mol) y el xilano (150 g/mol)

2.9.2 Determinación de pentosanos

El contenido de pentosanos en la cáscara de piña se determinó mediante el método TAPPI 223 cm-84.

3. Hidrólisis de la cáscara de piña con ácido sulfúrico

Como referencia se utilizó el método descrito por Aguilar *et al.* (2002), para lo cual se pesó 1 g de la muestra de cáscara de piña seca, molida y retenida en una malla de 60 en tubos de ensayo. Se le agregó 10 mL de ácido sulfúrico al 2, 4 y 6% v/v y se colocó en un baño de aceite tapado con taponés de hule provistos de un tubo de vidrio como reflujo. Al alcanzar los 98 °C se sacaron los tubos en cada uno de los siguientes tiempos: 20, 40, 60, 80, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300 y 350 minutos. El experimento se realizó por triplicado para cada tiempo de reacción.

Finalizado el tiempo, cada muestra fue colocada en un baño de hielo, posteriormente se filtraron las muestras y se tomó del líquido 2,5 mL los cuales se diluyeron en balones aforados de 25 mL con agua tridestilada, se filtró cada muestra con filtro de membrana y se inyectó en el cromatógrafo líquido de alta resolución.

4. Caracterización y cuantificación de las muestras hidrolizadas mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

4.1 Purificación de furfural

El furfural usado se debió destilar para eliminar residuos y contaminantes del líquido. Se colocó 250 mL de furfural impuro en un balón de 250 mL y se colocó en un sistema de destilación, se calentó en un baño con agua hasta los 70 °C aproximadamente durante 5 h. El destilado se recogió en un balón de fondo plano. Para establecer el grado de pureza del destilado, se determinó el punto de ebullición mediante el método semimicro y el índice de refracción descritos por Calvo (2004).

4.2 Determinación de xilosa, glucosa, ácido acético y furfural en las muestras hidrolizadas

Tanto la inyección de las muestras del hidrolizado como la confección de las curvas de calibración se realizó bajo las siguientes condiciones:

Cuadro 1. Metodología utilizada para la cuantificación y caracterización del hidrolizado

Condición	Producto		
	Xilosa y Glucosa	Ácido Acético	Furfural
Fase Móvil	0,1% H ₃ PO ₄		CH ₃ CN/ H ₂ O 1:8
Flujo (mL/min)	0,5	1	
Detector	IR	UV-vis (210 nm)	UV-vis (280 nm)
Temperatura (° C)	30		

4.5 Determinación de los parámetros cinéticos de la hidrólisis de cáscara de piña con H₂SO₄ 98° C

Para obtener los parámetros cinéticos de hidrólisis de los desechos de cáscara de piña se utilizó el programa de ajuste de curvas Curve Expert 1.3 el cual abarca un amplio número de modelos de regresión, tanto lineales como no lineales.

El modelado de datos puede ser realizado por varias técnicas como la interpolación y la regresión. La interpolación garantiza que la curva pasará por cada punto de datos. La regresión es una función arbitraria que reduce al mínimo la divergencia entre los datos y el modelo.

En este acercamiento, los parámetros son ajustados al modelo hasta que la función sea adecuada. Por medio de este programa los valores de “x” y “y” pueden ser modelados utilizando alrededor de 30 modelos o

incluyendo el modelo que el operador desee emplear. Con el fin de dar validez a los datos obtenidos mediante el ajuste se utiliza el valor de r.

4.6 Modelos cinéticos

Los modelos generalizados para todos los productos pueden obtenerse correlacionando los parámetros cinéticos por medio de la siguiente ecuación:

$$K_j = k_o C_a^n(10)$$

Donde j es un integrador en el rango de 2 a 6, k_o y n son parámetros de regresión y C_a es la concentración de ácido expresado como % v/v. Por medio de análisis de regresión no lineal se pueden obtener los parámetros cinéticos y las constantes.

Estos datos cinéticos se optimizaron utilizando los criterios de maximización de la concentración de xilosa y minimización de la concentración de los productos inhibidores. Para la optimización de los parámetros cinéticos, se utilizó la herramienta Solver de Microsoft Excel (Microsoft Office Excel, 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la cáscara de piña

La cáscara de piña está constituida por una gran variedad de compuestos químicos, los cuales son característicos según la variedad, el grado de madurez de la fruta, y las condiciones de cultivo (clima, altitud, zonas de cultivo), los cuales pueden afectar el comportamiento del sustrato (cáscara de piña) al ser sometido a una reacción de hidrólisis.

En el cuadro 2, se muestran los resultados promedio obtenidos para la caracterización de la cáscara de piña variedad MD2, cada análisis se realizó por triplicado.

De manera comparativa, los resultados obtenidos en la caracterización de esta variedad de piña son mucho mayores que los obtenidos por Sibaja *et al.* 1988, a excepción de la lignina, sin embargo, se debe tomar en cuenta que la variedad utilizada en el estudio de Sibaja (1988), fue Champaka.

Cuadro 2. Composición de la cáscara de piña seca y molida variedad MD2.

Ensayo	Resultado
Humedad	7,46 % ($\pm 0,01$)
Cenizas	4,25 % ($\pm 0,01$)
Solubilidad agua fría	29,32 % ($\pm 0,01$)
Solubilidad agua caliente	30,93 % ($\pm 0,01$)
Solubilidad ciclohexano-etanol	24,74 % ($\pm 0,02$)
Lignina	9,05 % ($\pm 0,02$)
α -celulosa	41,19 % ($\pm 0,01$)
Holocelulosa	65,61 % ($\pm 0,01$)
Xilano	28,40 g/L ($\pm 0,04$)

El material soluble en agua fría y caliente es producto de la presencia de taninos, gomas, colorantes y azúcares y en el caso del agua caliente, también se da la presencia de almidones. Por su parte, el porcentaje de extractos solubles en ciclohexano-etanol determina el contenido de grasas, ceras, resinas, aceites y taninos (Sibaja *et al.*, 1988).

El porcentaje de holocelulosa presente en la cáscara de piña es significativamente favorable, debido a que ésta representa la suma del contenido de α -celulosa y hemicelulosa; a su vez, la última es la base para este trabajo, ya que está constituida mayormente de xilosa, que es el producto final que se desea obtener en mayor proporción después de la hidrólisis (Aguilar *et al.*, 2002).

El alto contenido de xilano indica que la cáscara de piña, es un adecuado sustrato para la producción de xilosa, debido a que según la

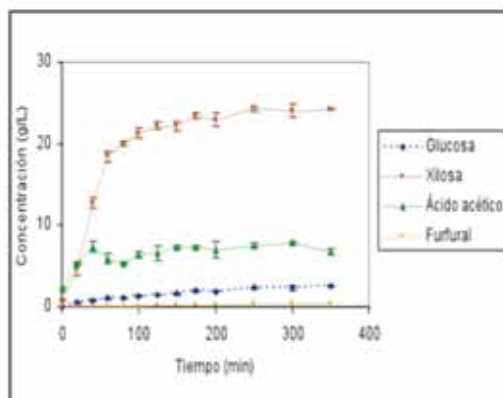
bibliografía consultada, otros sustratos contienen un menor contenido de xilano y se obtienen buenos resultados con ellos.

Hidrólisis de cáscara de piña

En la hidrólisis de cáscara de piña la degradación de la hemicelulosa es un proceso gradual, durante el cual largas cadenas de polímero son degradadas a oligosacáridos y finalmente a monosacáridos. (Sanchez *et al.*, 2004).

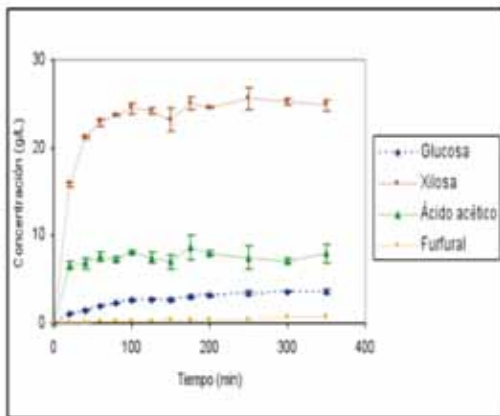
Las figuras 3, 4 y 5 muestran los resultados de la hidrólisis. La figura 3 muestra la dependencia con el tiempo de la formación de xilosa, glucosa, ácido acético y furfural durante la hidrólisis con H_2SO_4 al 2% v/v a 98° C. Se observa que conforme avanza el tiempo de reacción se da una mayor formación de xilosa que de los otros compuestos. La concentración de los azúcares aumenta progresivamente en los tiempos iniciales de reacción, hasta obtener valores alrededor de los 24,2 g/L para la xilosa a los 250 minutos, esta concentración representa un 85,2% del xilano potencial en el desecho de cáscara de piña. Por su parte, la glucosa a los 250 minutos alcanza los 2,31 g/L, mientras que los productos de descomposición aumentan hasta los 0,36 g/L para el furfural y los 7,9 g/L para el ácido acético a los 300 minutos.

Figura 3. Dependencia de la formación de xilosa, glucosa, furfural y ácido acético durante la hidrólisis con H_2SO_4 al 2% v/v a 98° C con respecto al tiempo.



La figura 4 muestra la formación de los productos caracterizados con respecto al tiempo durante la hidrólisis con H_2SO_4 al 4% v/v a 98° C. A los 100 minutos se obtuvo una concentración de aproximadamente 24,5 g/L, la cual representa un 86,3% del xilano presente en la cáscara de piña. La mayor concentración de glucosa se obtiene a los 350 minutos, y alcanza 3,6 g/L, mientras que los productos de descomposición se mantienen en valores menores a los 0,79 g/L para el furfural y los 7,9 g/L para el ácido acético a los 350 minutos. Como era de esperar al aumentar la concentración de H_2SO_4 en la reacción de hidrólisis, se presenta un ligero incremento en las concentraciones de los productos de descomposición.

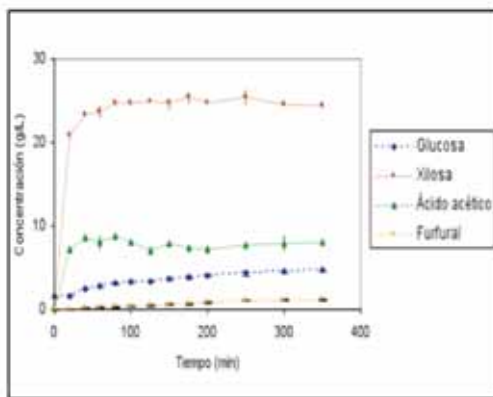
Figura 4. Dependencia de la formación de xilosa, glucosa, furfural y ácido acético durante la hidrólisis con H_2SO_4 al 4% v/v a 98° C con respecto al tiempo.



La figura 5 muestra la concentración de xilosa formada durante la hidrólisis con H_2SO_4 al 6% v/v a 98° C, esta se mantiene prácticamente constante a partir de los 80 minutos, donde se alcanzó 24,7 g/L (87,0% del xilano potencial en la cáscara de piña), para el caso de la glucosa el máximo valor alcanzado fue de 4,75 g/L a los 350 minutos, mientras que los productos de descomposición en este mismo tiempo sólo alcanzan el 1,15 g/L para el furfural y los 8,13 g/L para el ácido acéti-

co. Tal como se observó en los gráficos anteriores el incremento de la concentración de H_2SO_4 trae consigo el aumento en la concentración de los productos de descomposición.

Figura 5. Dependencia de la formación de xilosa, glucosa, furfural y ácido acético durante la hidrólisis con H_2SO_4 al 6% v/v a 98° C con respecto al tiempo.



Comparando los gráficos con respecto a la dependencia de la formación de xilosa con la concentración de ácido, se observa que al hidrolizar con H_2SO_4 al 2% v/v, la producción inicial de xilosa es menor que con las otras concentraciones de ácido, sin embargo aproximadamente a partir de los 100 minutos la concentración de xilosa producida se mantuvo en un rango muy similar, llegando a ser prácticamente constante. Durante la hidrólisis con H_2SO_4 al 4% v/v se obtiene gran cantidad de xilosa desde los 20 minutos de reacción, pero esta permanece constante a partir de los 100 minutos; por su parte la concentración de xilosa al hidrolizar con ácido al 6% v/v se mantiene prácticamente constante desde el principio de la reacción.

Es importante mencionar que la concentración de todos los productos de reacción se mantiene constante a partir de cierto tiempo para los tres porcentajes de ácido empleado en la hidrólisis, pero no se presenta alguna disminución en las curvas lo cual demuestra que ni la xilosa ni los subproductos se descomponen bajo las condiciones utilizadas.

Para el caso de la glucosa, ácido acético y furfural, la concentración aumenta proporcional a la concentración de H_2SO_4 , sin embargo este no es tan marcado como para la xilosa. A partir de los 100 minutos el aumento en la concentración de cada uno de estos productos de hidrólisis es menor. La concentración casi constante que se obtiene en cada uno de los productos de hidrólisis para las tres concentraciones de ácido evidencia que a partir de ese tiempo, no existe dentro del sustrato material susceptible a la hidrólisis bajo las condiciones empleadas.

Según Aguilar *et al.* 2002, aunque el ácido acético es el producto mayormente producido después de la xilosa, se considera que la concentración obtenida es aceptable para que no inhiba la síntesis enzimática del xilitol. El ácido acético se produce por la hidrólisis de los grupos acetilos enlazados a los monómeros hemicelulósicos. La concentración de ácido acético que afecta el crecimiento de los microorganismos que producen xilitol no está muy claro, pues según Aguilar otros autores reportan que 10 g/L de ácido acético impide el crecimiento del microorganismo empleado (*Pichiastipitis*), pero utilizando *Saccharomyces cerevisiae* la presencia de una concentración de 9-10 g/L de ácido acético realza el crecimiento y la productividad de la bacteria. (Aguilar *et al.*, 2002).

Tomando como referencia a Aguilar (2002), la formación de furfural es casi insignificante en todos los casos de hidrólisis, lo cual es positivo para los fines posteriores, debido a que como ya se dijo este inhibe la producción enzimática del xilitol.

La poca producción de glucosa, que se observa claramente en las figuras 3, 4 y 5, confirma la no ruptura de las moléculas de celulosa. Para que este proceso se lleve a cabo se necesitan condiciones más fuertes que las necesarias para la hidrólisis de la hemicelulosa, debido a que los enlaces de esta última son más débiles que los de la celulosa, ade-

más de que cada molécula de celulosa está unida por enlaces de hidrógeno, y forman gran proporción de fracciones de celulosa cristalina y poca cantidad de segmentos de celulosa amorfa (que es más susceptible a ser hidrolizada).

La resistencia de la celulosa también se puede basar en el hecho de que la combinación de la hemicelulosa y la lignina provee un tipo de "capa protectora" alrededor de la celulosa, que debe ser removida antes, para que se pueda dar una hidrólisis en la celulosa.

En el caso de la lignina, esta solo puede ser degradada por algunos organismos, formando productos de alto valor agregado como por ejemplo ácidos orgánicos y fenoles (Hamelinck *et al.*, 2003). Esto significa que bajo las condiciones utilizadas durante la hidrólisis, la lignina se mantiene intacta y como la celulosa tampoco reacciona, se presenta un residuo sólido que puede ser empleado para la producción de soluciones de glucosa, para la producción de pulpa de papel y en condiciones adecuadas el residuo se puede separar y utilizar para la obtención de varios productos químicos y farmacéuticos; por su parte el producto de hidrólisis puede ser posteriormente utilizado para obtener xilitol (Martínez *et al.*, 2002).

En el cuadro 3 se presenta la mayor concentración de xilosa y sus correspondientes productos de degradación obtenidos bajo las condiciones de hidrólisis utilizadas en este trabajo. Comparando estos resultados con los obtenidos por otros autores, se puede observar que al hidrolizar la cáscara de piña se obtiene una menor cantidad de productos secundarios como el furfural y la glucosa y una mayor proporción de xilosa, lo cual refuerza que las condiciones de hidrólisis utilizadas, son las apropiadas, además de que la cáscara de piña es un sustrato adecuado para obtener este tipo de compuesto.

Cuadro 3. Composición del hidrolizado hemicelulósico de cáscara de piña

% H_2SO_4	Xilosa(g/L)	Glucosa (g/L)	Ácido acético (g/L)	Furfural (g/L)
2	24,27	2,57	7,91	0,36
4	25,60	3,59	8,70	0,79
6	24,97	4,75	8,10	1,15

Modelo cinético de la concentración de xilosa

Por medio de análisis de regresión no lineal se determinaron los parámetros cinéticos que se muestran en el cuadro 4 y los resultados fueron evaluados estadísticamente por medio del coeficiente de ajuste estadístico r para determinar la validez del modelo.

Comparando los valores de k_1 y k_2 , las reacciones de formación de xilosa (representadas con k_1) tienden a ser más favorables con el aumento de la concentración de ácido, con respecto a las reacciones de descomposición de xilosa (representado con k_2). Como $k_1 \gg k_2$ cuando se obtiene la conversión máxima de xilano a xilosa, la formación de productos de degradación puede ser minimizada rápidamente (Ladish 1989).

Por su parte, como era de esperar, la constante de formación de glucosa k_3 y la de formación de ácido acético k_5 incrementan en proporción a la concentración de ácido, mientras que la formación de furfural (k_4) no presenta el mismo comportamiento, al aumentar excesivamente en la hidrólisis con H_2SO_4 al 6% y disminuir con ácido al 4%, esto conlleva a dudar sobre la validez del punto al 4% puesto que el potencial de furfural (F_o) obtenido por regresión es muy alto y no concuerda con los valores obtenidos para la hidrólisis con H_2SO_4 al 2 y 6%, sin embargo posiblemente esto se deba a la complejidad de la matriz.

Cuadro 5. Parámetros cinéticos de los productos de hidrólisis con H_2SO_4 diluido de cáscara de piña a 98° C.

Modelo	2% H_2SO_4	4% H_2SO_4	6% H_2SO_4
Xilosa			
k_1 (min ⁻¹)	0,015	0,033	0,054
k_2 (min ⁻¹)	0,00071	0,00065	0,00066
r	0,9876	0,9729	0,9701
Glucosa			
k_3 (min ⁻¹)	0,0068	0,013	0,016
[G _o]	2,721	3,497	4,358
r	0,9915	0,9908	0,9746
Furfural			
k_4 (min ⁻¹)	0,00033	0,00022	0,00137
[F _o]	3,169	10,382	3,226
r	0,9705	0,9907	0,9917
Ácido acético			
k_5 (min ⁻¹)	0,081	0,089	0,09
[Ac _o]	6,899	7,684	8,567
r	0,9384	0,9696	0,9114

El coeficiente de correlación r es altamente significativo en todos los casos, inclusive su-

perior a los estudios realizados con anterioridad con otras matrices (Eken-Saraçoğlu *et al.*, 1997, Aguilar *et al.*, 2002, Herrera *et al.*, 2003), donde se aceptan valores de hasta 0,86 asumiéndolo como una buena correlación, debido a lo complejo de la matriz polimérica donde hay mucha variedad de compuestos que pueden interferir durante la hidrólisis y una gran heterogeneidad en el medio de reacción al estar el sustrato en fase sólida y el catalítico en fase líquida. Esto indica que los datos se ajustan adecuadamente a los modelos seleccionados.

Los parámetros cinéticos mostrados en el cuadro 5 pueden ser correlacionados con la concentración de ácido por medio de la ecuación 10 y se obtiene un modelo generalizado para las tres concentraciones (cuadro 6), el cual se utiliza posteriormente para encontrar el punto óptimo.

De igual manera, se puede predecir la concentración de glucosa mediante un modelo generalizado correlacionándola con la concentración de ácido por medio de la ecuación 13. Las ecuaciones 14 y 15 muestran las mismas correlaciones para el caso del furfural y del ácido acético respectivamente. Estos modelos cinéticos son válidos dentro del rango estudiado.

Cuadro 6. Modelos generalizados para la predicción de los parámetros cinéticos de la hidrólisis con H_2SO_4 diluido de cáscara de piña a $98^\circ C$

Producto	Modelo generalizado	r
Generación xilosa	$k_1=0,00649Ca^{1,18}$ (11)	0,9998
Degradación xilosa	$k_2=0,00074Ca^{0,07}$ (12)	0,8683
Glucosa	$k_3=0,00438Ca^{0,73}$ (13)	0,9873
Furfural	$k_4=0,00008Ca^{1,48}$ (14)	0,9801
Ácido acético	$k_5=0,07624Ca^{0,1}$ (15)	0,9593

Es importante recordar que el objetivo principal de la optimización fue obtener una alta concentración de xilosa, con una baja concentración de inhibidores (furfural y ácido acético) y de glucosa con el fin de que el posterior paso de fermentación sea más eficiente. Tomándolo en cuenta, se realizó una optimización general usando los modelos anteriores donde se obtuvo las mejores condiciones de hidrólisis con una mayor concentración de xilosa. Estos datos se muestran en cuadro 7.

Cuadro 7. Condiciones óptimas obtenidas con la herramienta Solver de la hoja de cálculo Excel de Microsoft

[H_2SO_4] (% v/v)	Tiempo (min)	[Xilosa] (g/L)	[Glucosa] (g/L)	[Ácido acético] (g/L)	[Furfural] (g/L)
2	217	24,37	2,80	7,72	0,15
4	120	26,21	2,69	7,72	0,23
6	83	26,90	2,61	7,71	0,29

Como se observa, al utilizar una concentración de ácido sulfúrico del 2% v/v la mayor concentración de xilosa se obtiene a los 217 minutos (24,37 g/L), mientras que al 4% v/v se obtiene un máximo de 26,21 g/L a los 120 minutos y al 6% v/v se consigue casi la misma cantidad (26,9 g/L), pero en un tiempo mucho menor de 83 minutos. En cuanto a la concentración de glucosa y ácido acético la concentración mínima obtenida fue casi la misma en todos los casos, mientras que la cantidad de furfural aumentó conforme incrementó la concentración de ácido.

Tomando en cuenta estos resultados y con base en la concentración potencial de xilano (Y_o) la cual corresponde a 28,40 g/L, se observa que durante la hidrólisis con H_2SO_4 al 2% v/v la máxima cantidad de xilosa producida con una mínima concentración de productos secundarios corresponde al 86% de Y_o , mientras que con H_2SO_4 al 4% v/v se alcanzó el 92%; para el caso de la hidrólisis con ácido al 6% v/v el aumento fue muy poco alcanzando casi el 95%. Esto demuestra la efectividad de las condiciones de la hidrólisis ácida, además, indica que la cáscara de piña es un sustrato muy adecuado para la obtención de xilosa.

Con base en los datos obtenidos en el cuadro 5 se puede concluir que las mejores condiciones de hidrólisis de desechos de cáscara de piña con H_2SO_4 a 98° C bajo las condiciones estudiadas son las siguientes: concentración de H_2SO_4 de 6% v/v y un tiempo de reacción de 83 minutos.

Esto porque a pesar de que al hidrolizar con H_2SO_4 al 4% v/v se obtiene casi la misma cantidad de xilosa que al 6% v/v, el tiempo empleado para obtenerla es mucho menor obteniendo concentraciones de glucosa y de ácido acético aceptables para que no inhiban la producción de xilitol. La concentración de furfural obtenida es mayor que para las otras dos concentraciones, sin embargo es una cantidad muy baja que no afectaría la acción de

los microorganismos de fermentación según la literatura estudiada (Aguilar *et al.*, 2002).

CONCLUSIONES

Los desechos de cáscara de piña son residuos potenciales para la obtención de xilosa bajo condiciones sencillas de hidrólisis.

El alto contenido de xilano como fuente de xilosa proporciona un mayor valor agregado a este tipo de materiales lignocelulósicos producto del procesamiento industrial de la piña.

La máxima producción de xilosa durante la hidrólisis ácida a 98° C alcanza valores alrededor del 95% del xilano potencial.

Las condiciones óptimas para obtener una mayor producción de xilosa con menor concentración de inhibidores bajo las condiciones estudiadas son: H_2SO_4 al 6% v/v, tiempo de reacción 83 minutos, temperatura 98° C de acuerdo al modelo cinético utilizado.

La presencia de glucosa en pequeñas cantidades es un indicador de que la reacción de hidrólisis ácida bajo las condiciones experimentales se lleva a cabo mayoritariamente sobre la hemicelulosa.

Los altos valores de k_1 en comparación con la k_2 indican que las reacciones de formación de xilosa son más favorables que las de descomposición.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, R., Ramírez, J., Garrote, G., Vázquez, M. (2002). Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. *Food Engineering*. 55: 309-318.
- American National Standard Institute (ASTM). (R 1974). Standard Method of Test for Ash in Wood. Designation D 1102-56. *American National Standard 013.1-1960*: 335.
- American National Standard Institute (ASTM). (R 1974). Standard Method of Test for Alpha-cellulose in Wood. Designation D 1103-60. *American National Standard 013.2-1960*: 336-338.

- American National Standard Institute (ASTM). (R 1974). Standard Method of Test for Holocellulose in Wood. Designation D 1104-56. *American National Standard 013.3-196*: 339.
- American National Standard Institute (ASTM). (R 1974). Standard Method of Test for Preparation of Stractive-Free Wood. Designation D 1105-56. *American National Standard 013.4-1960*: 340, 341.
- American National Standard Institute (ASTM). (R 1974). Standard Method of Test for Lignin in Wood. Designation D 1106-56. *American National Standard 013.5-1960*: 342, 343.
- American National Standard Institute (ASTM). (R 1974). Standard Method of Test for Alcohol-benzene Solubility of Wood. Designation D 1107-56. *American National Standard 013.6-1960*: 344, 345.
- American National Standard Institute (ASTM). (R 1974). Standard Method of Test for Water Solubility of Wood. Designation D 1110-56. *American National Standard 013.9-1960*: 349, 350.
- Atkins, P. (1991). *Fisicoquímica*. Editorial Addison-Wesley Iberoamericana. Wilmington, Estados Unidos, 804.
- Calvo, M. En prensa. (2004). *Manual de Laboratorio de Química Orgánica Escuela de Química Universidad Nacional*.
- Carvalho, W., Silva, S., Santos, J., Converti, A. (2003). Xilitol production by ca-alginate entrapped cells: comparison of different fermentation systems. *Enzyme and Microbial Technology*. 32: 553-559.
- Chang, R. (1986). *Fisicoquímica con aplicaciones a sistemas biológicos*. Compañía Editorial Continental S.A. México, 52-53.
- Eken-Saraçoğlu, N., Mutlu, F. (1997). *Kinetics of dilute acid catalyzed hydrolysis of corn cob hemicellulose at 98°C*. Qafqaz University. 1: 92-102.
- Fengel, D., Wegener, G. (1984). *Wood. Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. Editorial Walter de Gruyter. Nueva York. 106.
- Ferrer, J., Páez, G; Arenas, L., Chandler, C., Mármol, Z., Sandoval, L. (2002). Cinética de hidrólisis ácida de bagacillo de caña de azúcar. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 19.
- Herrera, A., Téllez, S., González, J; Ramírez, J., Vázquez, M. (2003). Effect of the hydrochloric acid concentration on the hydrolysis of sorghum straw at atmospheric pressure. *Food Engineering*. 3: 1-8.
- Herrera, A., Téllez, S., Ramírez, J., Vázquez, M. (2003). Production of xylose from sorghum straw using hydrochloric acid. *Cereal Science*. 37: 267-274
- IPGRI. (2001). Los recursos fotogénicos en las Américas. Recuperado en junio 2005: <http://www.ipgri.cgiar.org/regions/americas/programas/pineapple.htm>.
- Ladish, M. (1989). *Biomass handbook*. Gordon and Breach Publishers, New York, 434-449.
- Lima, L., Berlinck, C. (2003). Xilitol, o adoçante do futuro. *Ciência Hoje*. 33: 66.
- Martínez, E., Villarreal, M., Almeida, J., Solenzal, A., Canilha, L., Mussato, S. (2002). Uso de diferentes materias primas para la producción biotecnológica de xilitol. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 3: 295-301.
- Mussatto, S., Conceição, I. (2002). Produção biotecnológica de xilitol a partir de palha de arroz. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. 28: 34-39.
- Oliva, J. (2003). *Efecto de los productos de degradación originados en la explosión por vapor de biomasa de chopo sobre "kluveromyces marxianus"*. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología de la Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- Pereira, R. (1995). *Polpação etanol-agua de bagaço de cana-de- açúcar. estudo cinético e derivatização da polpa obtida*. Tesis de Maestría en Ciencias, Departamento de Físico Química de la Universidad de São Paulo, São Paulo, Brasil. 38-42 p
- Pessoa, A., Mancilla, I., Sato, S. (1997). Acid hydrolysis of hemicellulose from sugarcane bagasse. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 14.
- Quesada, K., Alvarado, P., Sibaja, R., Veja, J. (2005). Utilización de las fibras de Rastrojo de Piña (variedad *Chompaka*) Como Material de Refuerzo en Resinas de Poliéster. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 6.
- Saeman, J. (1945). Kinetics of Wood Saccharification. Hydrolysis of cellulose and decomposition of sugars in dilute acid at high temperature. *Industrial and Engineering chemistry*. 37: 43-52.
- Sanchez, G., Pilcher, L., Roslander, C., Modig, T., Galbe, M., Liden, G. (2004). Dilute-acid hydrolysis for fermentation of the Bolivian straw material Paja Brava. *Bioresource Technology*. 93: 249-256.
- Sibaja, R., Durán, M. (1986). Modificación Química de la Celulosa de Piña. Obtención de Acetato de Celulosa. *Ingeniería, Ciencia y Química*. 10: 50-54.
- Sibaja, R; Moya, M., Duran, M., Pereira, R., Madrigal, R. (1988). Caracterización química de algunos desechos agroindustriales en Costa Rica. *Uniciencia*. 5: 27-32.
- TAPPI Standard. (1984). Pentosans in Wood and Pulp. *Tappi*, T 223 cm-84.