

## Production of ethanol from fruit waste by alcoholic fermentation

Norbels Freitez<sup>[1]\*</sup>, María Elena Vasquez<sup>[1]</sup>, Carmen González<sup>[1]</sup> y Daunarima Renaud<sup>[2]</sup>

<sup>[1]</sup>Universidad Nacional Experimental Politécnica Antonio José de Sucre – UNEXPO,  
Barquisimeto, Venezuela

<sup>[2]</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas – INIA, Núcleo Lara,  
Barquisimeto, Venezuela

### Abstract

The objective of this research is the evaluation of obtaining ethanol by alcoholic fermentation of the extraction waste of essential oil of orange (*D-limonene*), for this fermentations of waste were carried out at different times of extraction of essential oil of orange, and fermentations of samples of the wastes brought to 10° Brix of concentration; used as yeast, *Sacharomyces cerevisiae* for 48 hours. A simple distillation and subsequent analysis of ethanol was carried out by means of UV-visible spectroscopy using the potassium dichromate method. Reporting concentrations from 2.1° Brix to 40 min and from 19° Brix to 160 min of oil extraction which shows that the extraction process favors the disposition of fermentable sugars. At the same time alcohol concentrations of 1.39 % at 0 min and up to 17.92 % were obtained at 160 min of oil extraction, with yields of 5.46 % and 41.58 % in each case, evidencing the importance of remove the essential oil to promote fermentation. Concluding that the best waste to produce ethanol is the glucose syrup from the extraction by steam drag.

**Keywords:** fermentation; essential oil; waste; ethanol; extraction.

## Producción de etanol a partir de desechos frutales mediante fermentación alcohólica

### Resumen

La meta de esta investigación es evaluar la obtención de etanol por fermentación alcohólica de los desechos de extracción de aceite esencial de naranja (*D-limoneno*), para ello se llevaron a cabo fermentaciones de desechos a diferentes tiempos de extracción de aceite esencial de naranja, y fermentaciones de muestras de los desechos llevados a 10° Brix de concentración; empleándose como levadura, *Sacharomyces cerevisiae* durante 48 horas. Se procedió a una destilación simple y posterior análisis de etanol por medio de espectroscopia de UV-visible empleando el método de dicromato de potasio. Reportándose concentraciones desde 2,1° Brix a 40 min y de 19° Brix a 160 min de extracción de aceite lo cual demuestra que el proceso de extracción favorece la disposición de azúcares fermentables. A su vez se obtuvieron concentraciones de alcohol de 1,39 % a 0 min y hasta 17,92 % a 160 min de extracción de aceite, con rendimientos de 5,46 % y 41,58 % en cada caso, evidenciándose la importancia de retirar el aceite esencial para favorecer la fermentación. Concluyendo que el mejor desecho para producir etanol es el jarabe glucosado proveniente de la extracción por arrastre de vapor.

**Palabras clave:** fermentación; aceite esencial; desechos; etanol; extracción.

Recibido: mayo, 2019;

Aceptado: julio, 2019.

Autor para correspondencia: N. Freitez e-mail: belinor2510@gmail.com.

## 1. Introducción

En la actualidad, la biomasa lignocelulósica y en especial los subproductos agroindustriales han dejado de ser desecho-problema, para convertirse en materia prima potencial para diversos procesos tanto de tipo agrícola como industrial, siendo la producción de etanol uno de los más importantes. Sin embargo, son muchas las limitantes que se han presentado en torno a la obtención de etanol a partir de este tipo de materiales, debido a su estructura lignocelulósica de compleja degradación.

Por ello, han surgido diversidad de trabajos e investigaciones, que abarcan distintas problemáticas y proponen alternativas de solución y aportes enormes que poco a poco han abierto el camino hacia la explotación de la biomasa lignocelulósica para este objetivo. Por tal motivo, en la presente investigación se tratan los desechos provenientes de la extracción de aceite esencial de naranja (*D-limoneno*) con el fin de evaluar el rendimiento del proceso de fermentación para la obtención de etanol con parámetros fijos que permiten realizar un aporte a los factores influyentes en dicho proceso, además se analizará el residuo de la destilación de etanol en la búsqueda de flavonoides y alcaloides a través de una marcha fitoquímica con el objeto de evaluar si los residuos de fermentación tienen potencial para usarse como inhibidores de las enfermedades de las plantas.

Así mismo, las cáscaras de naranja son un desecho generado abundantemente en el estado Lara, más específicamente, los desechos provenientes del proceso de extracción de aceite esencial (*D-limoneno*), producidos en el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícola (INIA) por sus estudios sobre las cualidades que tiene dicho aceite en la inhibición del crecimiento de microorganismos patógenos en las plantas.

Esta es la razón por la cual, dichos desechos fueron tomados en cuenta para producir etanol por fermentación alcohólica, esta investigación promueve la aplicación de procesos de reutilización para los desechos productivos, enmarcados en los principios de desarrollo sustentable exigidos por la nueva sociedad, con el fin de mejorar la calidad de vida. De la misma forma el proceso productivo que ayuda a las nuevas formas de producción

agrícolas, urbana y rural que exige la nueva sociedad como es la economía sustentable, en su defecto también a nivel ambiental, es relevante ya que promueve la obtención de productos biocidas naturales aplicables en la agricultura que no son tóxicos ni afectan el equilibrio del medio ambiente, a su vez, logran disminuir la contaminación que estos pueden generar. Los desechos orgánicos como la cáscara de naranja puedan generar en su mala disposición, así como también, en el empleo de sustancias naturales para el control de plagas que no afectan el medio ambiente, tomando en cuenta lo antes mencionado, por consiguiente este tipo de investigación contribuye a mejorar la calidad de vida de la población.

El empleo de los desechos, en concreto la cáscara de naranja (*Citrus sinensis*), de la extracción de aceites esenciales de naranja, en la obtención de etanol a partir de la fermentación alcohólica de dichos residuos, considerando trabajos como los de Genera [1], que señala “Se ha reconocido el uso potencial de las cáscaras de naranja en la conversión en azúcares fermentables de acuerdo a su alto contenido en pectina, celulosa y hemicelulosa, lo que facilita o promueve a la fermentación”. De la misma forma Daza [2], en su artículo “Optimizan el pre-tratamiento de cáscara de naranja para extraer etanol” señala que para la obtención de etanol a partir de la cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) es necesario extraer el aceite esencial que contiene propiedades que inhiben la fermentación.

Por otro lado, la obtención de etanol, y la posterior evaluación en las extracciones de metabolitos secundarios (incluyendo aceites esenciales), facilita el uso de estos compuestos como biocidas e insecticidas en el tratamiento de enfermedades de las plantas, lo que tendrá como ventajas la sustitución de agro tóxicos, que según Torres y Capote [3], en su trabajo han establecido que sólo un 0.1 por ciento de la cantidad de agro tóxicos aplicados llega a la plaga, mientras que el restante circula por el medio ambiente, contaminando posiblemente el suelo, agua y la biota, es decir son causantes de contaminación ambiental. Sumado a lo anterior, Linarez [4] en su trabajo de grado afirma que el deterioro ambiental afecta el bienestar y la calidad de vida de la población, limita sus posibilidades de desarrollo y compromete gravemente el de

las generaciones futuras. Aunque las causas del deterioro ambiental son numerosas, entre estas se destaca el generado por las basuras y su disposición final haciendo uso de desechos del proceso de extracción de aceites, sumado a esto se puede emplear esta alternativa a niveles industriales, ya sea para su aplicación en el área fitopatológica desplazando el uso de agro tóxicos los cuales generan un gasto de importación, de 73.357.007,99\$ anuales o disminuyendo la importación de etanol que se encuentra estimada en 27.170.958,39\$ anuales [5].

Cabe resaltar que esta investigación es una invitación al empleo de tecnologías para reducir el impacto ambiental contribuyendo con el desarrollo sostenible del país.

## 2. Materiales y equipos

### 2.1. Reactivos

Agua destilada, ácido sulfúrico 0,1 N, cáscara de naranja (*Citrus Sinensis*), dicromato de potasio, sulfato de magnesio, ácido sulfúrico 1 N, etanol 70 %, ácido clorhídrico 5 % , hidróxido de sodio 2 M, nitrato básico de bismuto 8,5 %, ácido acético glacial 99,85 %, yoduro de potasio 20 %, ácido 3,5-dinitrobenzoico 3 % y hexano 99 %, levadura seca marca Mauripan.

### 2.2. Materiales de laboratorio

Pinza de estrangulación, beacker de 200, 600, 1000 mL, balón aforado de 25, 50 y 100 mL, pipetas volumétricas de 1, 5 y 10 mL, pizeta, frascos y envases plásticos, soporte universal, tubos de ensayos, agitador de vidrio, termómetro, matraces 500 mL, embudos de filtración, pipetas de 10 mL, probetas de 5, 10, 500, 1000 y 2000 ml, cápsulas de porcelana, papel indicador de pH, espátulas, papel de filtro, vidrio de reloj, propipetas, agitador magnético ,tapones, balón de destilación 2000 mL, condensador, claysen, mangueras, pinzas sujetadoras.

### 2.3. Equipos de análisis de laboratorio

- Balanza analítica.
- Balanza mecánica.

- Bioreactor: se utilizaron como reactores recipientes de vidrio con capacidades volumétrica de 4 litros y de 500 mL, respectivamente.
- Espectrofotómetro de Absorción Molecular, Marca: Spectronic Unicam Modelo: GENESIS 10UV de haz sencillo, usado a 400 nm.
- Plancha de calentamiento y agitación.
- Refractómetro de campo.
- Lámpara UV.

## 3. Tratamiento de la muestra

Cada ensayo tuvo una muestra representada por 300 g de cáscara de naranja y 2L de jarabe provenientes del proceso de extracción de aceite esencial a diferentes tiempos de extracción de aceite.

Para llevar a cabo los estudios requeridos de esta investigación fue necesaria la digestión, y el pretratamiento de la muestra, lo cual consistió en el licuado de los jarabes y las cáscaras remanentes de dicho proceso de extracción. Al resultado de este proceso se le llamó mosto. Posteriormente, se realizó la determinación de grados Brix a la preparación tomando 1mL de muestra, empleando el método refractométrico o refractometría.

Inmediatamente se llenó el recipiente con un volumen definido de 500 mililitros de sustrato preparado y se le agregó el pie de cuba , consistente en 20 g de *Saccharomy cerevisiae* enriquecido con 5 g de sulfato de magnesio como nutriente, para dar comienzo a la fermentación. Así mismo se añadió 1,5 L de la solución de jarabe glucosado que contiene el sustrato, a un flujo constante de 9,8 mL/min hasta alcanzar un volumen final de 2 litros. A medida que se adicionó el resto del sustrato se midió a cada hora la disminución de los grados Brix, durante 4 horas continuas con ayuda de la refractometría.

Es de hacer notar, que el etanol producido por fermentación alcohólica aeróbica no es puro en su totalidad, este posee contenido de agua sobrenadante de los medios de cultivo, por lo cual fue necesario someterlo a separaciones para aumentar su concentración, en este paso se tuvo que tomar en cuenta que el Instituto Nacional de Investigaciones (INIA) núcleo Lara no cuenta con equipos adecuados para realizar las separación, por

ello el etanol producido se sometió a un proceso de destilación simple, el cual no garantizó la total eliminación de agua y del producto. Sin embargo, el proceso se llevó a cabo calentando hasta 98° C la solución contenida balón de destilación acoplado a un condensador.

El porcentaje de rendimiento es determinado mediante la Ecuación 1

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Rend}_r}{\text{Rend}_t} \times 100, \quad (1)$$

donde:

$\text{Rend}_r$ : El rendimiento real es la cantidad de etanol obtenido experimentalmente, para determinarla se realizó una curva de calibración para medir las concentraciones de etanol producidas en la fermentación, usando la técnica de espectroscopía UV-visible, apoyada en el método de dicromato de potasio.

$\text{Rend}_t$ : El rendimiento teórico fue determinado partiendo de los grados Brix determinados por refractometría y usando la relación: 1 g de Glucosa equivale a 0,647 mL de Etanol.

## 4. Diseño Experimental

Para el desarrollo de la investigación fue necesario el empleo de tres diseños experimentales:

### 1. Diseño extracción de aceite esencia de naranja (*D-limoneno*)

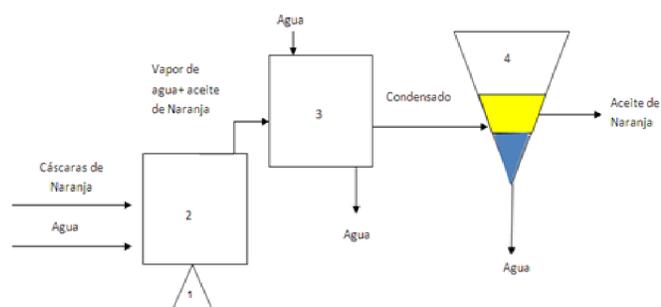


Figura 1: Extracción de aceite esencial de naranja

Como fase de preparación e la materia prima para el proceso de fermentación se realizó la extracción de

aceite esencial de cascara de naranja como muestra la Figura 1 en la cual están detallados:

1. fuente de calor que se generó a partir de gas doméstico y el uso de un reverbero,
2. recipiente contentivo de una malla para la disposición de las cáscaras,
3. condensador con serpentín,
4. Sistema de separación de aceite e hidrolatos el cual tiene como base fundamental la decantación, en la parte superior observamos una fase orgánica aceite esencial de naranja.

### 2. Diseño para el proceso de fermentación

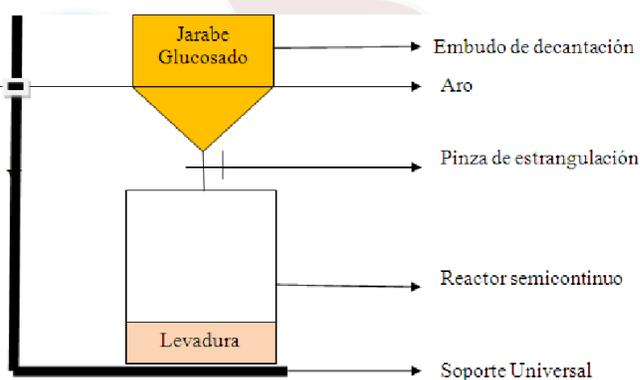


Figura 2: Proceso de fermentación de los mostos preparados en un reactor semi-continuo

Los desechos del proceso de extracción de aceite esencial de naranja (de jarabes glucosados y cáscaras), se procesaron y luego se preparó una solución con cáscaras y jarabes glucosados. Una vez hecho esto se llenó el recipiente con un volumen definido de 500 mililitros de cáscara procesada y se le agregó el pie de cuba para dar comienzo a la fermentación (ver Figura 2). Así mismo se añadió 1,5 L de la solución de jarabe glucosado que contiene el sustrato, a un flujo constante de 9,8 mL/min hasta alcanzar un volumen final de 2 litros. A medida que se adiciona el resto del sustrato se midió a cada hora la disminución de los grados Brix.

## 2. Diseño para el proceso de fermentación

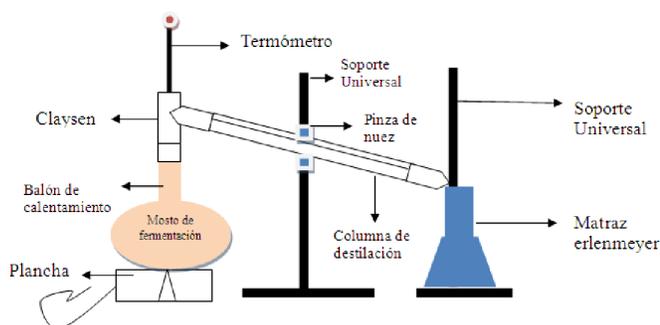


Figura 3: Proceso de destilación para la obtención de etanol (separación)

El etanol producido por fermentación alcohólica aeróbica no es puro en su totalidad, este tendrá contenido de agua sobrenadante de los medios de cultivo, por lo cual es necesario someterlo a separaciones para aumentar su concentración dicha separación se hizo a partir de una destilación simple. El proceso se llevó a cabo calentando hasta 98° C la solución contenida balón de destilación acoplado a un condensador como detalla la Figura 3.

## 5. Resultados y discusión

### 5.1. Identificación de la cantidad de azúcares fermentables en desechos provenientes de la extracción de aceite esencial de naranja (*D-limoneno*)

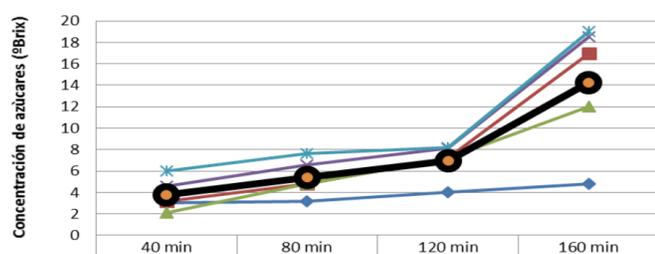


Figura 4: Gráfico de grados Brix iniciales de sustratos provenientes de diferentes tiempos de extracción

La cantidad de azúcares fermentables en desechos provenientes del proceso de extracción de aceite esencial de naranja (*D-limoneno*) ante los diferentes tratamientos aplicados se reúnen en la Figura 4.

Se observa que en relación al comportamiento del promedio de las concentraciones de azúcares tiende a aumentar con respecto al tiempo de extracción de aceite esencial. Realizando un análisis más detallado de los datos, se tiene que la menor cantidad de azúcar 3,8 grados Brix fue determinada a los 40 min de extracción de aceite, y la máxima de 14,3 grados Brix a las 160 min de extracción de aceite. En todo caso, el aumento en cuanto a dicha variable corresponde según Rodríguez [6], debido a que la exposición de las cáscaras con vapor de agua a altas temperaturas por determinados tiempos favorecen la ruptura de los enlaces de hidrogeno, hemicelulosa y celulosa, generando azúcares fermentables para obtención de etanol; por lo que se infiere que el proceso de extracción de aceite por arrastre de vapor contribuye al aumento de azúcares disponibles para la fermentación de la cáscara de naranja.

Además, la mayor cantidad de azúcares promediada fue de 14,3 grados Brix, lo que se encuentra muy cercano a los valores reportados por Rezzadori *et al.* [7] quienes señalan que la mayor cantidad de azúcares solubles presentes en la cáscara de naranja es 16,9%, lo que corresponde a una concentración de 14,5 grados Brix en solución, sin embargo en los últimos dos bloques esta cantidad es superada, ya que se midieron de valores de 18,5 grados Brix y 19 grados Brix, a los 160 min de extracción, estos resultados sobrepasan el promedio; con base a esta situación, este mismo autor señala que la cáscara de naranja posee 9,21% de celulosa y 10,5% de hemicelulosa, ambas azúcares se pueden convertir en fermentables por medio del tratamiento con vapor, realizando un aumento de la cantidades en cuanto al promedio.

De aquí que, luego de cada tratamiento hay un aumento de azúcares y se alcanza una mayor concentración que la expuesta anteriormente por el investigador. En el caso del bloque uno se aprecian concentraciones de azúcares muy inferiores en comparación con los demás, como lo indican Cardona *et al.* [8], “La calidad de las frutas y su desecho depende de factores como clima, altitud, tipo de suelo, cantidad de lluvias, edad de la

planta, estado fenológico, método de cultivo, época de recolección, modo de manejo y almacenamiento del material vegetal”, por lo tanto, esto hace referencia a que pueden existir diferencias en las propiedades de las cáscaras, lo que estuvo fuera del alcance del investigador, debido a las razones descritas anteriormente, y es por ello que existe este comportamiento que a pesar de que se rige por el promedio, se encuentra por debajo de él.

De esta forma, se tiene que el comportamiento de las cantidades de azúcares en las cáscaras y por consiguiente jarabes glucosados con mayores cantidades de azúcares se obtienen a mayores tiempos de extracción de aceite esencial de naranja, lo cual indica que el proceso favorece y enriquece la presencia de dichos azúcares, haciendo más factible la fermentación para la obtención de etanol a partir de estos desechos.

## 5.2. Descripción del proceso de fermentación alcohólica de los desechos provenientes de la extracción de aceite esencial de naranja (*D-Limoneno*), en un reactor Semi-continuo y usando la levadura (*Saccharomy cerevisiae*)

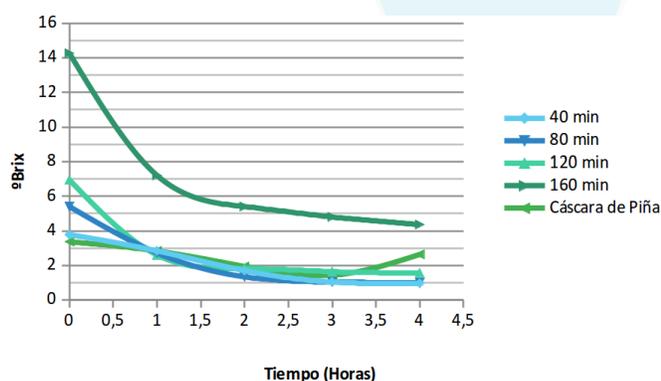
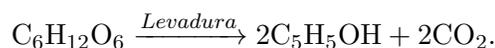


Figura 5: Gráfico de grados Brix en función del tiempo

La Figura 5 muestra cómo la cantidad de azúcares disminuye al transcurrir el tiempo del proceso de fermentación lo que se traduce que dichos azúcares fueron consumidos por la levadura para la formación

de etanol, siguiendo la reacción



Observándose en todos los tiempos una disminución similar en el consumo de azúcares. En comparación con el seguimiento de la fermentación de la cáscara de piña realizada por Gutiérrez y Martínez [9], se observa que la conversión de azúcares es mucho más rápida en el caso de los desechos del proceso de extracción, además que en ellos se encontraron mayor cantidad de azúcares disponibles para fermentación. Al cumplirse el tiempo de fermentación, el producto se separó mediante una destilación simple y posteriormente fue analizado mediante la técnica de dicromato de potasio, lo cual afirmó la presencia de dicho alcohol.

Para el estudio del proceso de fermentación de los desechos provenientes del proceso de extracción de aceite esencial de naranja, cáscara y jarabes glucosados, inicialmente se fijó un valor de pH igual a 4, pues el crecimiento de la *Saccharomy cerevisiae* se ve favorecido a pH entre 3,5 – 5,5, además Gutiérrez y Martínez [9] indican que la máxima producción de etanol se obtiene a pH 4, sin embargo este valor disminuyó a 3 en todos los casos analizados de fermentación, esto es como resultado de la formación de productos como lo es el caso del ácido láctico y ácido acético.

De la misma manera se mantuvo un flujo de sustrato de aproximadamente 9,8 mL/min, a temperaturas entre 29° C y 33° C, se manejó dicho rango ya que estas fueron las temperaturas del ambiente durante el proceso de fermentación, se recomienda que esta temperatura permanezca constante, lograr que esta condición se mantenga es difícil, sin embargo resalta Vela *et al.* [10] que es recomendable conservar la temperatura entre 28,5° C y 34° C, por lo tanto, los ensayos pudieron realizarse dentro de los parámetros recomendables de temperatura.

Al mismo tiempo, se llevó a cabo las fermentaciones alcohólicas, añadiendo como nutriente sulfato de magnesio para fomentar el desarrollo de la levadura en este caso *Saccharomy cerevisiae*, ya que Vela *et al.* [10] exponen que una carencia de magnesio en la fermentación alcohólica conlleva a la producción de ácido acético, disminuyendo la

formación de productos secundarios de este tipo durante el proceso fermentativo. Sin embargo por la variación de pH señalada anteriormente, sumada la percepción del olor característico del ácido acético, se infiere que durante proceso si hubo una formación apreciable de productos secundarios como el ácido láctico y el acético, esto debido a la posible infección del mosto con bacterias del género *Lactobacillus* y *Acetobacter*, respectivamente.

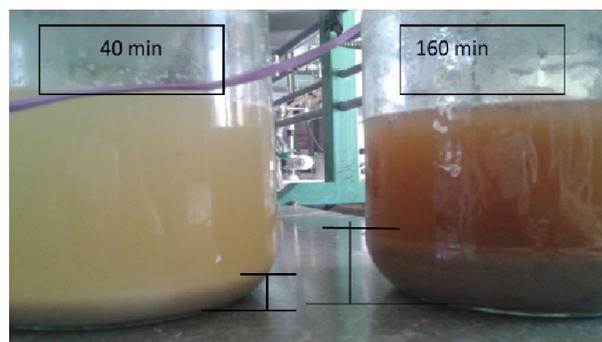


Figura 6: Crecimiento de la Levadura en los mostos de 40 y 160 min de tiempo de extracción de aceite esencial

Otro dato importante que se visualizó luego del proceso de fermentación, consistió en el crecimiento de la levadura presente en los diferentes mostos, en figura se observa que para 40 minutos de extracción de aceite, el crecimiento de levadura fue muy pobre en comparación con el de 160 minutos (ver Figura 6), esto es como consecuencia tanto de la presencia de aceite esencial en el mosto como concentración de azúcares en el medio.

### 5.3. Evaluación el etanol obtenido usando una técnica de espectroscopia de UV-Visible

La Figura 7 muestra las concentraciones de etanol determinadas mediante espectroscopia de UV-Visible de cada bloque a lo largo del tiempo de extracción,

El comportamiento predominante es que la concentración de dicho alcohol aumenta conforme aumenta el tiempo de extracción de aceite, esto

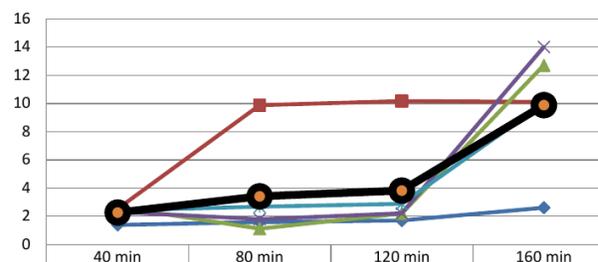


Figura 7: Concentración de etanol obtenido (% v/v) del proceso de extracción de aceite esencial de naranja (*D-limoneno*) vs tiempo de extracción de aceite esencial

donde:

◆ bloque 1, ■ bloque 2, ▲ bloque 3,  
✕ bloque 4, ✱ bloque 5 y ● promedio.

quiere decir que el proceso fermentativo es inhibido por el aceite y mejora cuando se retira.

Como puede observarse, el valor máximo promedio determinado de concentración de etanol es de 9,88 % a los 160 minutos de extracción de aceite esencial y el valor mínimo es de 2,26 % a los 40 minutos, es notable también que la concentración de dicho alcohol aumenta, conforme aumenta el tiempo de extracción de aceite, en tal sentido, y estudiando las variables antes expuestas, se puede decir, que la extracción de aceite esencial en las cáscaras de naranja favorece la producción de etanol a partir de la fermentación de las mismas.

Con base en las observaciones anteriores, cabe destacar la investigación realizada por Boluda y López [11], en la cual se señala la importancia de la actividad antimicrobiana del aceite esencial *D-limoneno* sobre *Saccharomy cerevisiae*, esta se basa en la alteración que causa a la membrana celular de dicha levadura, ya que impide el transporte de iones como el  $H^+$  y  $K^+$  que juegan papel importante en el crecimiento de la levadura.

Los bloques 3, 4 y 5 siguen una tendencia promedio similar, es decir, el aumento de la concentración del alcohol conforme transcurre la extracción de aceite esencial. A su vez, se puede señalar que el bloque uno, sigue la tendencia antes descrita, sin embargo, la producción de etanol es menor, esto corresponde a dos fenómenos, dicho bloque fue el más pobre en cuanto a la presencia de azúcares fermentables, además de que fue el

Tabla 1: Cantidad de aceite esencial extraído en cada bloque

Bloque	Volumen de aceite extraído (mL)
1	8,7
2	27,9
3	12,6
4	10,8
5	12,2

bloque en el que se extrajo menor cantidad de aceite esencial. Cabe mencionar, que para realizar este seguimiento se tuvo que interrumpir el proceso a cada tiempo de extracción, lo que pudo ocasionar la pérdida de aceite esencial por volatilización, disminuyendo el rendimiento del mismo en el caso de algunos bloques (ver Tabla 1).

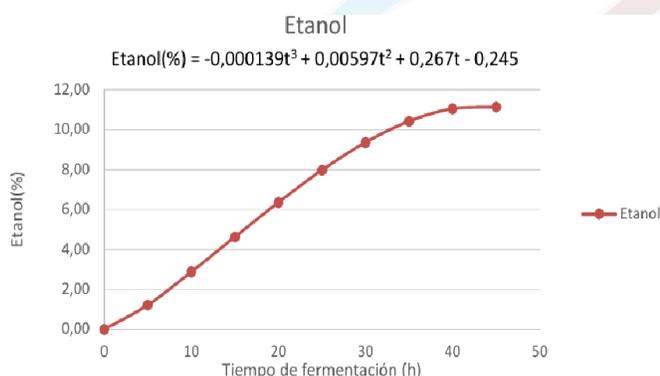


Figura 8: Modelaje en lote de la fermentación de glucosa al 10% para la producción de etanol

El bloque 2 muestra un comportamiento distintivo, ya que las concentraciones de etanol presentes, crecieron más rápido comparación con los demás. Sin embargo al comparar con modelajes matemáticos la producción de etanol por fermentación alcohólica presentado en [12], el cual se muestra la Figura 8, se visualiza que el comportamiento del bloque 2 coincide con el del modelaje, esto puede relacionarse, ya que en dicho bloque se pudo extraer la mayor cantidad de aceite esencial de naranja. Por lo anteriormente discutido, se infiere, que hubo menos efecto inhibitorio por parte del aceite esencial en el proceso fermentativo en el bloque 2, y es por ello que en él se alcanzan

las mayores concentraciones de etanol producidos entre todos los bloques, a la vez que es el único que muestra una tendencia de producción de etanol parecida al modelo matemático.

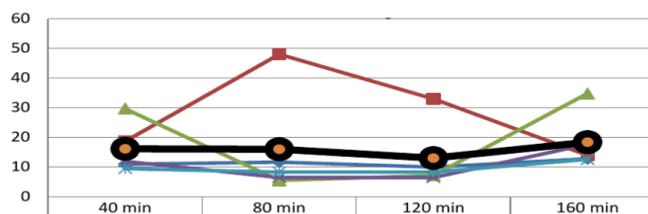


Figura 9: Gráfico del porcentaje de rendimiento de etanol obtenido por bloque en función del tiempo

Es importante analizar también, el rendimiento del proceso para poder comparar y hacer las inferencias necesarias para complementar la investigación, es así como se llega a la Figura 9 del análisis de rendimiento fermentativo.

De acuerdo a la Figura 9, el rendimiento promedio máximo de etanol obtenido es de 18%, a su vez se observa una tendencia creciente del mismo con respecto al tiempo de extracción de aceite esencial.

Por otra parte, es distinguible que en el bloque dos se obtienen los rendimientos más altos con respecto al promedio y aunque se esperaba que este comportamiento se diera al final del tiempo de extracción, este bloque es particularmente distintivo ya que a pesar de sus favorecedoras características en cuanto a presencia de azúcares y extracción de aceite, a 160 min el rendimiento disminuyó, concluyéndose que existen otros factores dentro del proceso fermentativo que influyen en el rendimiento, así como altas concentraciones de azúcares que afectarían el equilibrio de la célula por el aumento de la presión osmótica en el medio, lo que conlleva a que la levadura se deshidrate, además de las concentraciones de alcohol producto de la fermentación, ya que este compuesto afecta el transporte de energía dentro de la célula y su intercambio de nutrientes, lo que hace que la levadura muera.

Debido a la variabilidad entre los resultados obtenidos para los distintos bloques se hizo necesario el diseño de un análisis estandarizado que permitió hacer una evaluación de la producción de etanol y la relación que guarda el proceso fermentativo con la extracción del aceite esencial. Dichos resultados

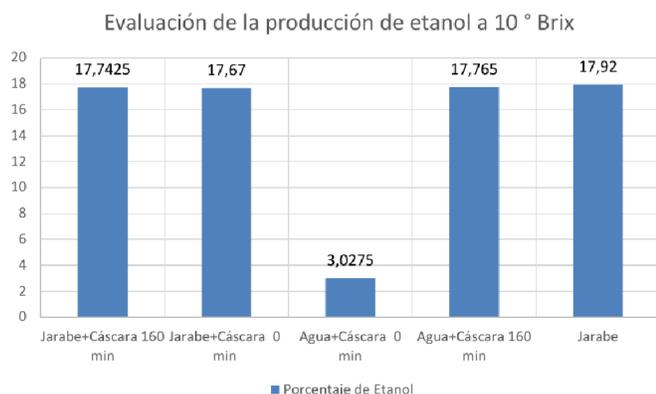


Figura 10: Producción de etanol de diferentes sustratos llevados a 10 grados Brix

se expresan en la Figura 10.

Es apreciable que en el análisis de cáscara – agua a tiempo de extracción cero, los resultados son completamente desfavorables en la producción de etanol, hecho que afirma la necesidad de extraer el aceite esencial como un pre-tratamiento para favorecer la fermentación a partir de desecho cítricos de naranja. Se evidencia que en la producción de etanol a partir de jarabe glucosado se obtuvo la mayor concentración de etanol, no muy lejano a esto está el comportamiento del ensayo constituido por agua-cáscara de naranja con 160 minutos de extracción de aceite, siendo este superior al de jarabe- cáscara a los 160 minutos y finalizando con jarabe-cáscara cero, lo cual evidencia la importancia del pre-tratamiento de extracción de aceite esencial para el proceso fermentativo.

Sobre la base de las ideas expuestas, Choi *et al.* [13] indican en su investigación que la obtención de concentraciones de etanol entre 15 y 19 % con un rendimiento del 90 % a las 48 horas de fermentación, la presente investigación alcanza valores de hasta 17,92 %, la cual se mantiene entre dichos parámetros. Sin embargo cabe resaltar que la investigación en cuanto al rendimiento se alcanza un 41,76 % a las 48 horas de fermentación valor que está muy alejado de lo expuesto por Choi *et al.* [13], esto pudiera tener una justificación ya que este emplea un tratamiento más riguroso de los desechos, como es la aplicación de hidrólisis ácida, lo cual genera mayores rendimientos en comparación con el tratamiento de esta investigación que solo

constituyó extracción de aceite esencial y molienda.

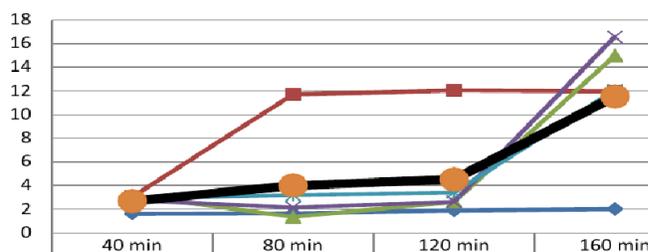


Figura 11: Gráfico de la relación de masa de Etanol obtenido por cada gramo de cáscara usado en diferentes tiempos de extracción de aceite esencial de naranja

Seguidamente, Tejada *et al.* [14] indican una obtención de 8,4 mg de etanol/g cáscara, por su parte, esta investigación obtuvo valores entre 2,68 y 11,52 mg de etanol/g de cáscara, como muestra la Figura 11.

Por lo cual se puede afirmar que con este diseño experimental se logra una mayor relación de producción de Etanol, tomando en cuenta que el proceso de fermentación fue mayor (48 horas) que el de la anterior investigación, por lo cual benefició el proceso fermentativo. Dando paso a una comparación entre lo obtenido el trabajo [9], donde presentan una concentración de 3,11 % de etanol a partir de la cáscara de piña, se concluye que los desechos provenientes del proceso extracción de aceite esencial de naranja son más factibles como materia prima para producción del etanol reportando la mayor concentración de 17,92 %, una concentración casi 6 veces mayor en relación con el anterior sustrato.

## 6. Conclusiones

Sobre la base de los resultados obtenidos de investigación se realizan las siguientes conclusiones Se identificaron cantidades variables de azúcares fermentables, siendo la más baja de 2,1 grados Brix a 40 min de extracción de aceite y la más alta de 19 grados Brix a 160 min de extracción de aceite, lo cual indica que el proceso de extracción de aceite favorece la disposición de azúcares para la

posterior fermentación de igual modo la presencia de *D-limoneno* no presenta influencia en el contenido de azúcares fermentables disponibles en la cáscara, por otra parte proceso de fermentación de los desechos provenientes del proceso de extracción de aceite esencial de naranja se caracterizó por realizarse a temperatura de 29° C, con un pH de 4 en un reactor semi-continuo 4L, manteniendo un flujo de sustrato de 9,8 mL/min, durante un tiempo de 48 horas empleando *Sacharomy cerevisiae* como levadura y sulfato de magnesio como nutriente, produciendo etanol y otros productos secundarios finalmente se obtuvieron concentraciones de etanol en el rango de 1,39% v/v a 17,92% v/v para 40, 80, 120 y 160 minutos de extracción de aceite esencial de naranja. Los porcentajes de rendimientos de la fermentación variaron desde 5,4% a 41,75% alcanzándose relaciones de producción de etanol desde 2,68 mg de etanol/g de cáscara hasta 11,52 mg de etanol/g de cáscara.

En base a estos resultados se comprobó que los desechos de extracción de aceite esencial, se pueden aprovechar como materia prima en la producción de etanol.

## Referencias

- [1] F. Genera. Obtención de jarabes azucarados a partir de la hidrolisis química de residuos de la cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) y papa (*Solanum tuberosum*) variedad diacol capiro (r12) para ser empleado como edulcorantes en la industria de alimentos. Trabajo de grado, Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia, 2013.
- [2] S. Daza. Optimización del pretratamiento de la cáscara de naranja para extraer etanol. Trabajo de grado, Universidad Nacional de Colombia, Colombia, 2014.
- [3] D. Torres and T. Capote. Agroquímicos un problema ambiental global: Uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental. *Ecosistemas*, 13(3), 2004.
- [4] I. Linarez. Evaluación de los desechos patológicos generados en quirófano del complejo hospitalario universitario Ruiz y Paez. Trabajo de grado, Universidad de Oriente, Ciudad Bolívar, Venezuela, 2011.
- [5] Importaciones por aduana, Sistemas de consultas de estadísticas, Instituto Nacional de Estadísticas, Caracas, Venezuela. *Productos diversos de otras industrias químicas*, 2014.
- [6] I. Rodríguez. Pretratamiento de hidrólisis hidrotérmica para la degradación de los carbohidratos complejos de residuos de frutas para la obtención de bioetanol. Trabajo de grado de máster universitario en biotecnología alimentaria, Universidad de Oviedo, Oviedo, España, 2016.
- [7] K. Rezzadori, S. Benedetti, and E. Amante. Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for new products. *Food and Bioproducts*, 90, 2012.
- [8] C. Cardona-Alzate, Ó. Sánchez-Toro, J. Ramírez-Arango, and L. Alzate Ramírez. Biodegradación de residuos orgánicos de plazas de mercado. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 6(2):78–89, 2004.
- [9] L. Gutiérrez and N. Martínez. Evaluación de la concentración de la cáscara de piña (*Ananas comosus*) para mejorar el rendimiento de etanol en un reactor semi-continuo. Trabajo especial de grado, Universidad Nacional Experimental Politécnica “Antonio José de Sucre”, Barquisimeto, Venezuela, 2016.
- [10] B. Vela, R. Nixon, R. Muro, and J. Luis. Optimización de los parámetros del proceso de fermentación del jugo de caña para obtener bioetanol en la planta piloto de alcohol de la Facultad de Ingeniería Química. Trabajo especial de grado para la obtención del título de Ingeniero Químico, Universidad Nacional Agropecuaria el Perú, Iquitos, Perú, 2017.
- [11] M. Boluda-Aguilar and A. López-Gómez. Production of bioethanol fermentation of lemon (*Citrus limon L.*) peel wastes pretreated with steam explosion. *Industrial crops and products*, 41:188–197, 2013.

- [12] J. Morales, L. Rodríguez, and S. Ronco. Producción de etanol en una fermentación batch. Trabajo especial de grado profesional, Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile, 2012.
- [13] I. Choi, Y. Lee, S. Khanal, B. Park, and H. Bae. A low-energy, cost-effective approach to fruit and citrus peel waste processing for bioethanol production. *Applied Energy*, 140:65–74, 2015.
- [14] L. Tejada, W. Marimón, and M. Medina. Evaluación del potencial de las cáscaras de frutas en la obtención de bioetanol. *Hechos Microbiológicos*, 5(1), 2016.

