

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN**

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Trabajo Fin de Grado

**FRACCIONAMIENTO DE PIEL PLATEADA DE CAFÉ
A PARTIR DE DISOLVENTES EUTÉCTICOS EN UN
MODELO DE BIORREFINERÍA**

**(Coffee silverskin fractionation by using Deep
Eutectic Solvents within a biorefinery)**

Para acceder al Título de

Graduado en Ingeniería Química

Autor: Samuel Fernández Revuelta

TÍTULO	Fraccionamiento de piel plateada de café a partir de disolventes eutécticos en un modelo de biorrefinería		
AUTOR	Samuel Fernández Revuelta		
DIRECTOR/CODIRECTOR	Tamara Llano Astuy/Alberto Coz Fernández		
TITULACIÓN	Grado en Ingeniería Química	FECHA	19/01/2023

PLABRAS CLAVE

Café, piel plateada, disolventes eutécticos, biorrefinería, pretratamiento, celulosa, hemicelulosa, lignina.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La generación de residuos agroalimentarios está suponiendo un desafío para las industrias de procesamiento de alimentos debido a las emisiones de dióxido de carbono y la liberación de productos químicos contaminantes. El café es uno de los productos alimenticios más consumidos y es el segundo producto comercial más grande después del petróleo. La piel plateada de café (CSS) es un residuo que se obtiene en el proceso de tostado, siendo este el segundo mayor residuo generado en todo el procesamiento del café después de los posos gastados (SCG).

La ruta de valorización más extendida de biomasa lignocelulósica es la separación de los componentes principales (celulosa, hemicelulosa y lignina). Este proceso es de vital importancia para lograr altas eficiencias en posteriores etapas dentro de un proceso integrado de biorrefinería. Generalmente, los tratamientos de separación de componentes lignocelulósicos más utilizados son procesos intensivos en energía. Sin embargo, en este trabajo se ha elegido un tratamiento con disolventes eutécticos (DES), el cual un procedimiento innovador que suple los inconvenientes de los métodos tradicionales.

En el presente estudio se trató el CSS con DES para su valorización. Para ello, se realizó: (i) una caracterización de la biomasa, (ii) la preparación de dos mezclas DES (cloruro de colina con ácido láctico y cloruro de colina con ácido oxálico), (iii) una serie de experimentos de tratamiento del CSS con las mezclas DES (en las que varió la temperatura, el tiempo y el ratio biomasa:disolvente), (iv) un análisis estadístico basado en el diseño Box-Behnken y (v) una comparación exhaustiva de los resultados con la bibliografía.

El estudio forma parte del proyecto europeo CELISE, el cual investiga la producción sostenible de productos y aditivos a base de celulosa para su uso en pequeñas y medianas empresas y zonas rurales. El objetivo de este proyecto es encontrar nuevas soluciones ecológicas, innovadoras y rentables basándose en la economía circular y en la bioeconomía. Este proyecto ha sido supervisado por el grupo de investigación GER de la Universidad de Cantabria y profundiza los resultados anteriores de dicho grupo.

RESULTADOS

La caracterización inicial de la biomasa reveló que el CSS tiene una composición del 19,1% en celulosa, 30,3% en hemicelulosa, 33,4% en lignina, 10,2% en humedad y un tamaño de partícula mayoritario entre 0,01 y 0,5 mm.

La mezcla DES que presentó mejores resultados fue la de cloruro de colina y ácido oxálico (ChCl:OxA) con óptimos de un 63,2% en celulosa, 29,1% en holocelulosa y 13,1% en lignina. Por otro lado, la mezcla de cloruro de colina y ácido láctico llegó a un 44,3% en celulosa, 34,3% en holocelulosa y 18,7% en lignina. En estos resultados la variable que más influyó fue

la temperatura. En el caso del ChCl:LA, las condiciones de operación que optimiza cada componente estudiado son las siguientes: para la celulosa es óptimo trabajar 5h, a 120°C y con un ratio de 1:20; para la holocelulosa 3h, a 60 °C y con un ratio de 1:30; y para la lignina 5h, a 120°C y con un ratio 1:30. En el caso del ChCl:OxA, las condiciones de operación que optimiza cada componente estudiado son las siguientes: para la celulosa es óptimo trabajar 1h, a 118,65°C y con un ratio de 1:10; para la holocelulosa 5h, a 76,5°C y con un ratio de 1:30; y para la lignina 1h, a 66,5°C y con un ratio 1:30.

Comparando los resultados con tratamientos de CSS con otros DES encontrados en la bibliografía, se puede decir que los disolventes estudiados resultan más eficaces a la hora de aumentar el contenido en celulosa, mientras que el nivel de deslignificación es similar. Por otro lado, comparando con otros residuos lignocelulósicos, se ve que los resultados entran dentro del rango de valores esperado.

CONCLUSIONES

Los resultados óptimos obtenidos se presentaron en la mezcla DES de ChCl:OxA, por lo que se puede concluir que es el mejor disolvente de los estudiados. De las variables de operación estudiadas, la que más influye es la temperatura, mientras que el ratio y el tiempo tienen una importancia similar. Los mejores resultados de celulosa y lignina en la mezcla de ChCl:LA se obtuvieron para la temperatura y tiempo máximos estudiados (120°C y 5h), mientras que el ratio óptimo varía según el componente a optimizar. Para la mezcla de ChCl:OxA se observa que el tiempo óptimo es el mínimo (1h), pero que la temperatura y el ratio varían según el componente a optimizar.

El tratamiento con DES se puede considerar un proceso innovador y más sostenible que los convencionales, debido a su menor consumo energético y uso de reactivos más ecológicos y fácilmente recuperables. Estos reactivos además son más fáciles de sintetizar, estables y rentables en comparación con los utilizados en otros procesos.

BIBLIOGRAFÍA

- Siñeriz Niembro, Nuria. 2021. "Use of Deep Eutectic Solvents in coffee silverskin residue for its valorization". TFG. Universidad de Cantabria.
- Alessandra Procentese, Francesca Raganati , Giuseppe Olivieri, Maria Elena Russo, Lars Rehmann and Antonio Marzocchella. 2018. Deep Eutectic Solvents pretreatment of agro-industrial food waste. *Biotechnol Biofuels* 11:37 <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1034-y>
- Laura Sofía Torres-Valenzuela & Ana Ballesteros-Gómez & Soledad Rubio (2019) Green Solvents for the Extraction of High Added-Value Compounds from Agri-food Waste. *Food Engineering Reviews* (2020) 12:83–100. <https://doi.org/10.1007/s12393-019-09206-y>

TITLE	Coffee silverskin fractionation by using Deep Eutectic Solvents within a biorefinery		
AUTOR	Samuel Fernández Revuelta		
DIRECTOR/CODIRECTOR	Tamara Llano Astuy/Alberto Coz Fernández		
TITULATION	Degree in Chemical Engineering	DATE	19/01/2023

KEYWORDS

Coffee, coffee silverskin, deep eutectic solvents, biorefinery, pretreatment, cellulose, hemicellulose, lignin.

SCOPE

The generation of agri-food waste is raising a challenge to food processing industries due to carbon dioxide emissions and the release of polluting chemicals. Coffee is one of the most consumed food products and it is the second largest commercial commodity after oil. Silver coffee skin (CSS) is a residue obtained in the roasting process, this being the second largest residue generated in all coffee processing after spent grounds.

The most widespread route of valorization of lignocellulosic biomass is the separation of the main components (cellulose, hemicellulose and lignin). This process is of vital importance to achieve high efficiencies in later stages within an integrated biorefinery process. Generally, the most used lignocellulosic component separation treatments are energy-intensive processes. However, in this work a treatment with deep eutectic solvents (DES) has been chosen, which is an innovative procedure that makes up for the disadvantages of traditional methods.

In the present study, CSS was treated with DES for valorization. To achieve this goal, the following tasks were done: (i) a characterization of the biomass, (ii) the preparation of two DES mixtures (choline chloride with lactic acid and choline chloride with oxalic acid), (iii) some CSS treatment experiments with DES mixtures (where temperature, time and biomass ratio: solvent were varied), (iv) a statistical analysis based on the Box-Behnken design and (v) a deep comparison of the results with the literature.

The study is part of the European project CELISE, which investigates the sustainable production of cellulose-based products and additives for using in small and medium-sized enterprises and rural areas. The aim of this project is to find new ecological, innovative and cost-effective solutions based on the circular economy and the bioeconomy. This project has been supervised by the GER research group of the University of Cantabria and previous results of this group have been considering.

RESULTS

The initial characterization of the biomass revealed that the CSS has a composition of 19,1% in cellulose, 30,3% in hemicellulose, 33,4% in lignin, a water content of 10,2%, and a majority particle size between 0,01 and 0,5 mm.

The choline chloride and oxalic acid (ChCl:OxA) combination was the DES mixture with the best results, giving optimums of 63,2% in cellulose, 29,1% in holocellulose and 13,1% in lignin. On the other hand, the mixture of choline chloride and lactic acid reached 44,3% in cellulose, 34,3% in holocellulose and 18,7% in lignin. In these results, the most influential variable was temperature. In the case of ChCl:LA, the operating conditions that optimize each studied component are the following: for cellulose it is optimal to work at 5h, with

120°C and a ratio of 1:20; 3h, at 60°C and with a ratio of 1:30 for holocellulose; and 5h, at 120°C and with a ratio of 1:30 in the case of lignin. Regarding ChCl:OxA, the operating conditions optimized by each component studied are the following: 1h, at 118.65°C and with a ratio of 1:10 for cellulose; 5h, at 76.5°C and with a ratio of 1:30 for holocellulose; and 1h, at 66.5°C and with a ratio of 1:30 in the case of lignin.

Comparing the results with CSS treatments with other DES found in the literature, it can be said that the studied solvents are more effective in increasing the cellulose content, while the level of delignification is similar. On the other hand, comparing with other lignocellulosic residues, it is seen that the results fall within the expected range of values.

CONCLUSIONS

The optimal obtained results were presented in the DES mixture of ChCl:OxA, so it can be concluded that it is the best studied solvent. Among all of the operating variables studied, the most influential is temperature, while ratio and time have similar importance. The best results of cellulose and lignin in the mixture of ChCl:LA were obtained for the maximum temperature and time studied (120°C and 5h), while the optimal ratio varies according to the component to be optimized. For the mixture of ChCl:OxA it is observed that the optimal time is the minimum (1h), but that the temperature and the ratio vary according to the component to be optimized.

DES treatment can be considered an innovative and more sustainable process than conventional ones, due to its lower energy consumption and use of more ecological and easily recoverable reagents. These reagents are also easier to synthesize, stable and cost-effective compared to others used in other processes.

REFERENCES

- Siñeriz Niembro, Nuria. 2021. "Use of Deep Eutectic Solvents in coffee silverskin residue for its valorization". TFG. Universidad de Cantabria.
- Alessandra Procentese, Francesca Raganati, Giuseppe Olivieri, Maria Elena Russo, Lars Rehmann and Antonio Marzocchella. 2018. Deep Eutectic Solvents pretreatment of agro-industrial food waste. *Biotechnol Biofuels* 11:37 <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1034-y>
- Laura Sofía Torres-Valenzuela & Ana Ballesteros-Gómez & Soledad Rubio (2019) Green Solvents for the Extraction of High Added-Value Compounds from Agri-food Waste. *Food Engineering Reviews* (2020) 12:83–100. <https://doi.org/10.1007/s12393-019-09206-y>

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Residuos agroalimentarios.....	1
1.1.1. Industria del café y residuos.....	2
1.2. Tratamiento de biomasa lignocelulósica	4
1.3. Tratamiento con DES de biomasa lignocelulósica	7
2. OBJETIVOS.....	10
3. METODOLOGÍA	11
3.1. Reactivos y materiales.....	11
3.2. Determinación de la humedad.....	12
3.3. Distribución de tamaño de partícula.....	13
3.4. Molienda	14
3.5. Preparación de DES	14
3.4. Tratamiento con DES.....	16
3.6. Caracterización de la biomasa.....	17
3.6.1. Celulosa.....	18
3.6.2. Holocelulosa	18
3.6.3. Lignina.....	19
3.7. Diseño estadístico de experimentos	20
4. RESULTADOS	23
4.1. Caracterización de la materia prima	23
4.2. Análisis estadístico y modelado matemático	24
4.2.1. Diagramas de Pareto	24
4.2.2. Diagramas de superficie de respuesta	26
4.2.3. Comparación de observados y predichos	27
4.2.4. Análisis de varianza.....	28
4.3. Comparativa y discusión de resultados.....	32
4.3.1. Comparativa con otros DES	32
4.3.2. Comparativa con otras biomاسas	34
5. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO.....	38
6. BIBLIOGRAFÍA.....	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos para la separación de componentes lignocelulósicos.	6
Tabla 2. Tipos de mezclas de DES.	8
Tabla 3. Tratamientos de CSS con DES.	9
Tabla 4. Reactivos utilizados	12
Tabla 5. Materiales y equipos utilizados.....	12
Tabla 6. Variables de entrada.	21
Tabla 7. Ensayos a realizar.	22
Tabla 8. Composición del CSS según diferentes autores.	23
Tabla 9. Tabla ANOVA para el contenido en celulosa de los ensayos con ChCl:LA.	29
Tabla 10. Tabla ANOVA para el contenido en holocelulosa de los ensayos con ChCl:LA.	29
Tabla 11. Tabla ANOVA para el contenido en lignina de los ensayos con ChCl:LA.	30
Tabla 12. Tabla ANOVA para el contenido en celulosa de los ensayos con ChCl:OxA.	31
Tabla 13. Tabla ANOVA para el contenido en holocelulosa de los ensayos con ChCl:OxA. ..	31
Tabla 14. Tabla ANOVA para el contenido en lignina de los ensayos con ChCl:OxA.....	32
Tabla 15. Condiciones de operación óptimas para tratamientos con DES.....	33
Tabla 16. Composición lignocelulósica de diferentes biomásas (D.S. Naidu et al., 2018). ...	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Consumo de café anual por regiones (ICO, 2022).	2
Figura 2. Producción de café anual por regiones exportadoras (ICO, 2022).	2
Figura 3. Estructura de un grano de café (Shalini S. et al., 2021).	3
Figura 4. Productos y subproductos generados del procesamiento del café (Shalini S. et al., 2021).	3
Figura 5. Separación de componentes lignocelulósicos.	4
Figura 6. Estructuras típicas de donantes de enlaces de hidrógeno (HBD) y aceptores de enlaces (HBA) para la síntesis de DES (Sarmad et al., 2017).	7
Figura 7. Metodología experimental del proceso.	11
Figura 8. Medidor de humedad rápido GRAM FM-S 120.	13
Figura 9. Tamizadora CISA RP.20.	13
Figura 10. Molino de aspas.	14
Figura 11. CSS antes (izq.) y después (dcha.) de la molienda.	14
Figura 12. Tratamiento con DES ChCl:LA.	17
Figura 13. Método Seifert de caracterización de celulosa.	18
Figura 14. Frascos ISO en baño de aceite.	19
Figura 15. Tubos de ensayo en el digestor de tubos.	20
Figura 16. Diseño Box-Behnken de tres factores (Aziz A. et al., 2018).	21
Figura 17. Distribución en masa de la muestra tamizada.	24
Figura 18. Diagramas de Pareto de las variables respuesta de: a) %Celulosa (ChCl:LA), b) %Holocelulosa (ChCl:LA), c) %Lignina (ChCl:LA), d) %Celulosa (ChCl:OxA), e) %Holocelulosa (ChCl:OxA), f) %Lignina (ChCl:OxA).	25
Figura 19. Diagramas de superficie de respuesta de las variables: a) %Celulosa (ChCl:LA), b) %Holocelulosa (ChCl:LA), c) %Lignina (ChCl:LA), d) %Celulosa (ChCl:OxA), e) %Holocelulosa (ChCl:OxA), f) %Lignina (ChCl:OxA).	26
Figura 20. Comparación de valores observados vs predichos para: a) %Celulosa (ChCl:LA), b) %Holocelulosa (ChCl:LA), c) %Lignina (ChCl:LA), d) %Celulosa (ChCl:OxA), e) %Holocelulosa (ChCl:OxA), f) %Lignina (ChCl:OxA).	28
Figura 21. Variación de la celulosa y la lignina según varias fuentes.	33
Figura 22. Comparativa de la variación de celulosa de varias biomásas utilizando DES.	34
Figura 23. Comparativa de la variación de lignina de varias biomásas utilizando DES.	35

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Residuos agroalimentarios

Según el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP), la cantidad de residuos agroalimentarios se estima en 5.000 millones de toneladas de residuos de biomasa anuales en el mundo (Sarvesh Naidu DS. et al., 2018). Solo en la Unión Europea, el total anual de biorresiduos se tasa entre 76,5 y 102 millones de toneladas (Jablonsky M. et al., 2018). Hoy en día, la disposición final de los residuos agroalimentarios se ha convertido en un gran desafío para las industrias de procesamiento de alimentos debido a su potencial impacto negativo en el medio ambiente. Así, los subproductos agroalimentarios representan 3.300 millones de toneladas de emisiones de dióxido de carbono cada año a nivel mundial (Galanakis C., 2015) y, a menudo, conduce a la liberación de productos químicos como hidrocarburos aromáticos policíclicos y dioxinas causando problemas medioambientales severos (Sarvesh Naidu DS. et al., 2018).

Los desechos agroalimentarios se caracterizan por un alto contenido en azúcares y, típicamente, por un bajo contenido de lignina (Procentese A. et al., 2018). Se estima que los residuos agrícolas mundiales tienen el mismo valor energético que 1.200 millones de toneladas de petróleo, que es una cuarta parte de la producción mundial del petróleo (Sarvesh Naidu DS. et al., 2018). Además, los residuos de desechos agrícolas son una fuente valiosa de carbohidratos y, por lo tanto, pueden considerarse como una materia prima viable a partir de la cual se pueden desarrollar materiales de base biológica.

En los últimos años, la evaluación de estos subproductos como fuentes de compuestos biológicamente activos ha suscitado un gran interés tanto para disminuir el volumen de residuos como para obtener compuestos de alto valor añadido (Strati I. et al., 2014). Los compuestos bioactivos naturales de los residuos agroalimentarios constituyen una amplia variedad de moléculas con diferentes estructuras y grupos funcionales para la producción de nutraceuticos, alimentos funcionales y cosméticos, tales como polifenoles, licopeno, antocianinas, lípidos, azúcares, alcaloides, proteínas, fibras dietéticas, etc. (Kumar K. et al, 2017).

1.1.1. Industria del café y residuos

El café es uno de los productos alimenticios más consumidos y es el segundo producto comercial más grande después del petróleo (Tucker, 2017). Los granos de café son las semillas de la baya del café y se usan popularmente para la preparación de bebidas. Según la Organización Internacional del Café (ICO), Europa es el mayor consumidor de café con un total de 3,24 millones de toneladas consumidas en el periodo de 2020/2021 (Figura 1). Por otra parte, el mayor productor de café de los países exportadores es América del Sur, que produjo 4,96 millones de toneladas en el año 2021 (Figura 2).

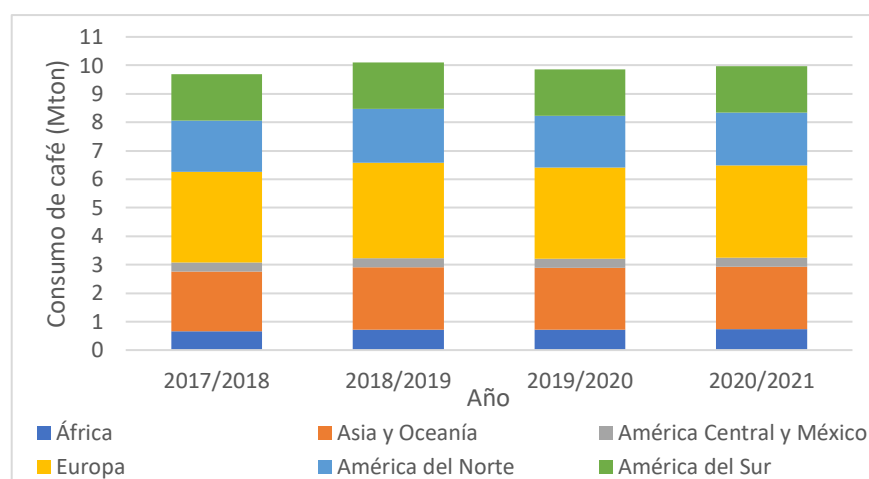


Figura 1. Consumo de café anual por regiones (ICO, 2022).

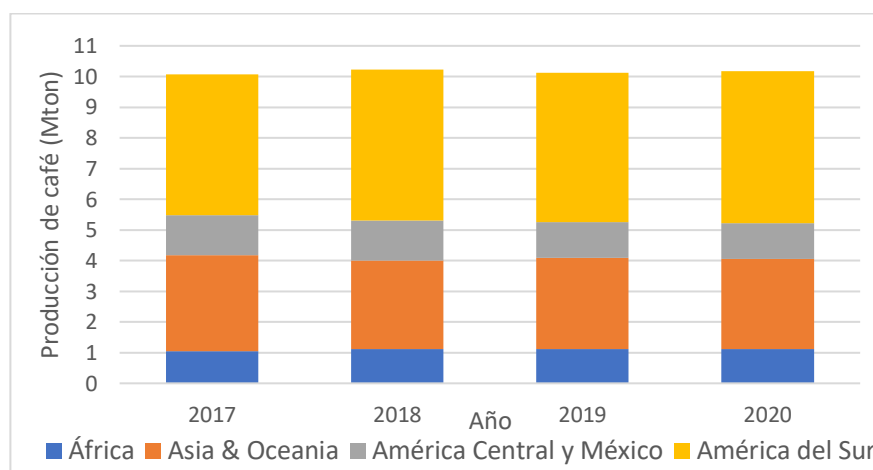


Figura 2. Producción de café anual por regiones exportadoras (ICO, 2022).

En la figura 3, se muestra la estructura de un grano de café.



Figura 3. Estructura de un grano de café (Shalini S. et al., 2021).

En el procesamiento del café para su consumo, los posos de café gastados (SCG) y la piel plateada del café (CSS) son los residuos más producidos en todo el mundo, entre otros desechos generados. El CSS es un tegumento del grano de café obtenido como subproducto principal del proceso de tostado y el SCG es el residuo generado después del proceso de elaboración del café. Estos desechos contienen concentraciones significativas de tanino y cafeína que pueden representar un peligro potencial para el medio ambiente si se descargan incorrectamente (Getachew y Chun, 2017). Además, estos subproductos son ventajosos debido a que su forma seca y en polvo junto con sus fuertes propiedades fisicoquímicas lo convierten en una excelente opción de biorrefinería integrada. En la figura 4, se pueden apreciar los productos y subproductos generados en el procesamiento del café (Shalini S. et al., 2021).



Figura 4. Productos y subproductos generados del procesamiento del café (Shalini S. et al., 2021).

1.2. Tratamiento de biomasa lignocelulósica

La biomasa es renovable y muy abundante, además de ser la mejor fuente sostenible de combustibles y productos químicos. Entre 70 y 95 % de la biomasa total es biomasa lignocelulósica, la cual supone residuos de muchas procedencias, como madera, ramas, cortezas, podas, paja de cereales, etc., que se producen en abundancia de forma continua, en muchos casos concentrados en un mismo lugar y en una época del año, lo que presenta evidentes ventajas para procesar.

Existen principalmente dos estrategias para la valorización de biomasa lignocelulósica: las rutas termoquímicas y los procesos basados en la separación de los componentes principales (celulosa, hemicelulosa y lignina) (Figura 5). El primero utiliza procesos de combustión (sólo para la producción de energía: calor y electricidad), gasificación, licuefacción, hidrogenación y/o pirólisis, que originan una compleja mezcla de productos con fines fundamentalmente energéticos; el segundo incluye diferentes procesos físicos, químicos y biológicos que han recibido mucha atención en los últimos años (García-Ochoa F. et al., 2021).

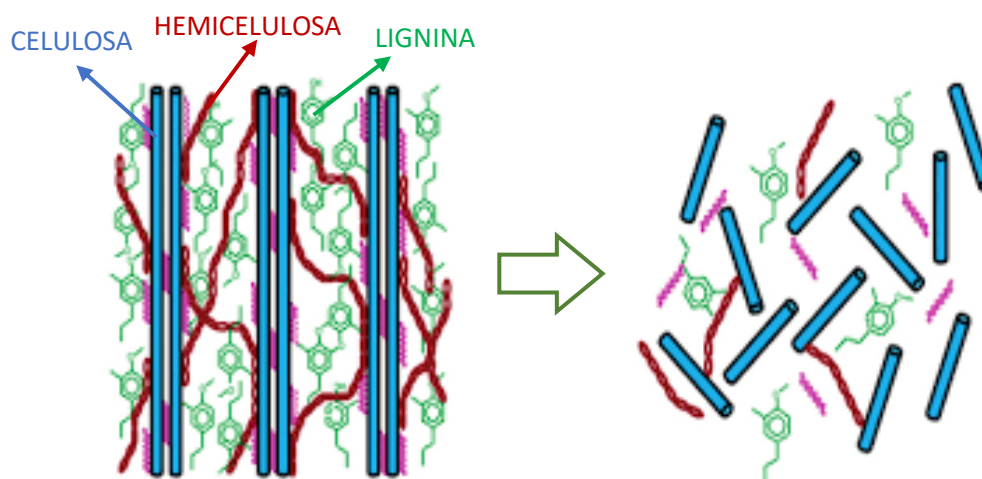


Figura 5. Separación de componentes lignocelulósicos (Kumar et al., 2009).

Un diseño de proceso convencional incluye reducción de tamaño, separación de componentes lignocelulósicos, hidrólisis enzimática, fermentación y destilación como los principales pasos del proceso. La separación de los componentes lignocelulósicos es fundamental para lograr altas eficiencias de hidrólisis enzimática. Los azúcares recuperados de este proceso y en la hidrólisis enzimática se pueden fermentar para producir etanol u otros biocombustibles y productos químicos básicos a través de rutas bioquímicas y

termoquímicas. También existen diseños de procesos alternativos, como la combinación de hidrólisis enzimática y fermentación en un solo paso conocido como sacarificación y fermentación simultáneas, o un proceso de un solo recipiente donde los diferentes procesos se llevan a cabo en el mismo recipiente, para reducir los costos de producción (Satlewal A. et al., 2018).

Una separación de la celulosa, hemicelulosa y lignina eficiente libera productos altamente fermentables con la mínima formación de compuestos no digeribles. La fracción de polisacáridos se ve menos afectada, por lo que no se forman compuestos inhibidores durante el proceso (Rajeev Ravindran et al., 2017).

Son muy pocos los trabajos sobre la recuperación de azúcar mediante el procesamiento de residuos de cascarilla de café. Los tratamientos de separación de componentes lignocelulósicos más utilizados son procesos intensivos en energía, ya que requieren alta temperatura y presión para eliminar la lignina (Procentese et al., 2018).

Tras una búsqueda bibliográfica exhaustiva, en la tabla 1 se muestra una recopilación de tratamientos convencionales para los residuos de café más producidos (SCG y CSS), así como sus características. Además de estos tratamientos convencionales, son necesarios procedimientos alternativos que de forma sencilla (sin un equipamiento instrumental complejo), no utilicen reactivos altamente contaminantes, ni elevadas presiones o temperaturas, permitan a pequeña escala, fraccionar y separar la celulosa del resto de macrocomponentes de la biomasa.

Tabla 1. Tratamientos para la separación de componentes lignocelulósicos.

Autor y año	Tratamiento	Biomasa	Condiciones	Celulosa, hemicelulosa y lignina	
				Inicial (%)	Final (%)
Rajeev Ravindran et al., 2017	Plasma	Posos de café gastados (SCG)	Utilización de electrodos t= 2, 4, 6 min, V=60, 70, 80 kV Almacenamiento: 24h, 10°C	8,6 33,5 15,9	12,65 ± 0,1 38,85±0,9 16,12 ± 0,1
	Ferric chloride		T=120 °C, t=30 min, P=15 psi FeCl 0,1M, NaOH 0,1M		10,74 ± 0,9 45,51±1,3 12,32 ± 0,45
	Organosolv		T=120 °C, t=30 min, pH=7 Mezcla etanol agua ((50–70% de etanol (v/v)) Catalizador: ácido sulfúrico (1% p/p) Separación por centrifugación		7,04 ± 3,1 64,68 ± 0,5 14,45 ± 0,12
	Microwave-alkali		NaOH 1% p/v Pot. microondas=140, 400, 560, 800 W. t=30-120 s, pH=6 Secado al aire		11,02 ± 2,7 42,69 ± 0,5 21,20 ± 0,4
	Dilute acid hydrolysis		T=121 °C, t=10, 20, 30 min Centrifugación (8000 rpm, 12 min) Ácido sulfúrico (1%, 1,3%, 1,6%)		15,37 ± 0,2 10,17 ± 2,4 25,67 ± 0,3
	AFEX		T=70-120°C, t=1-30 min ml agua:g biomasa seca= 0.2:1-2:1 Secado al aire (12h)		8,70 ± 1,2 15,24 ± 0,8 12,20 ± 3,4
	Steam explosion		T=121 °C, t=30 min Humedad en residuos: 50% p/v		6,20 ± 0,4 35,7 ± 1,2 24,50 ± 0,9
	Conc. phosphoric acid acetone		T=50 °C Incubación a 120 rpm, t=1 h Ácido fosfórico concentrado (85%) Centrifugación a 8000 rpm Ajuste a pH a 6 utilizando NaOH 10M		18,14 ± 0,5 7,57 ± 0,6 21,43 ± 0,4
	Tratamiento secuencial		Conc. phosphoric acid acetone+AFEX		20,01 ± 0,2 6,54 ± 1,2 10,30 ± 0,2
Procentese, Raganasti, et al., 2018	Hidrólisis alcalina	Piel plateada de café (CSS)	T=120 °C, t=30 min Biomasa:Solvente=1:10 Recuperación biomasa=60%	17,5 ± 0,05 9,6 ± 0,01 27,0 ± 0,02	22,1 ± 0,04 9,7 ± 0,03 15,2 ± 0,03
	Pretratamiento hidrotermal-hidrólisis alcalina		T=120 °C (hidrólisis) Biomasa:Solvente=1:10 (hidrólisis) Biomasa:Solvente=1:10-1:30 (hidrotermal) t=10, 20, 60 min (hidrotermal) Recuperación biomasa=30-60%		22,2-27,4 ± 0,05 9,7-10,1 ± 0,05 9,7-15,8 ± 0,03
Niglio S. Procetense A. et al., 2019	Hidrólisis alcalina		T=120 °C, t=75 min, P=2 bar Solvente= NaOH Recuperación biomasa=60% Neutralización con H ₂ SO ₄ Biomasa:Solvente=11:100	20,9 ± 1,0 7,7 ± 0,1 30,5 ± 0,4	26,8 ± 1,1 6,7 ± 0,2 27,4 ± 0,5
Niglio S. et al., 2020	Hidrólisis alcalina		T=121 °C, P=2 atm Solvente= NaOH Neutralización con H ₂ SO ₄ 0,5M		28,0 ± 1,1 7,8 ± 0,1 27,9 ± 0,1

1.3. Tratamiento con DES de biomasa lignocelulósica

Los disolventes eutécticos profundos (DES) se introdujeron como mezclas eutécticas de bajo costo, con propiedades físicas y químicas comparables a los líquidos iónicos. Por lo general, se preparan mezclando un aceptor de enlaces de hidrógeno (HBA) (como las sales de amonio cuaternario) y un donador de enlaces de hidrógeno (HBD) como amidas, ácidos carboxílicos y alcoholes a temperaturas moderadas (60 °C a 80 °C) para formar mezclas eutécticas. En la figura 6 se pueden observar algunos ejemplos de HBA y HBD (Sarmad et al., 2017). Los enlaces de hidrógeno dan como resultado la deslocalización de la carga entre el HBA y el HBD y, en consecuencia, el punto de congelación de la mezcla eutéctica es mucho más bajo en comparación con los de compuestos individuales. Por ejemplo, el punto de fusión de una mezcla ChCl:urea (1:2) es de 12 °C, que es mucho más bajo que 302 °C y 133 °C para ChCl y urea, respectivamente (Satlewal A. et al., 2018).

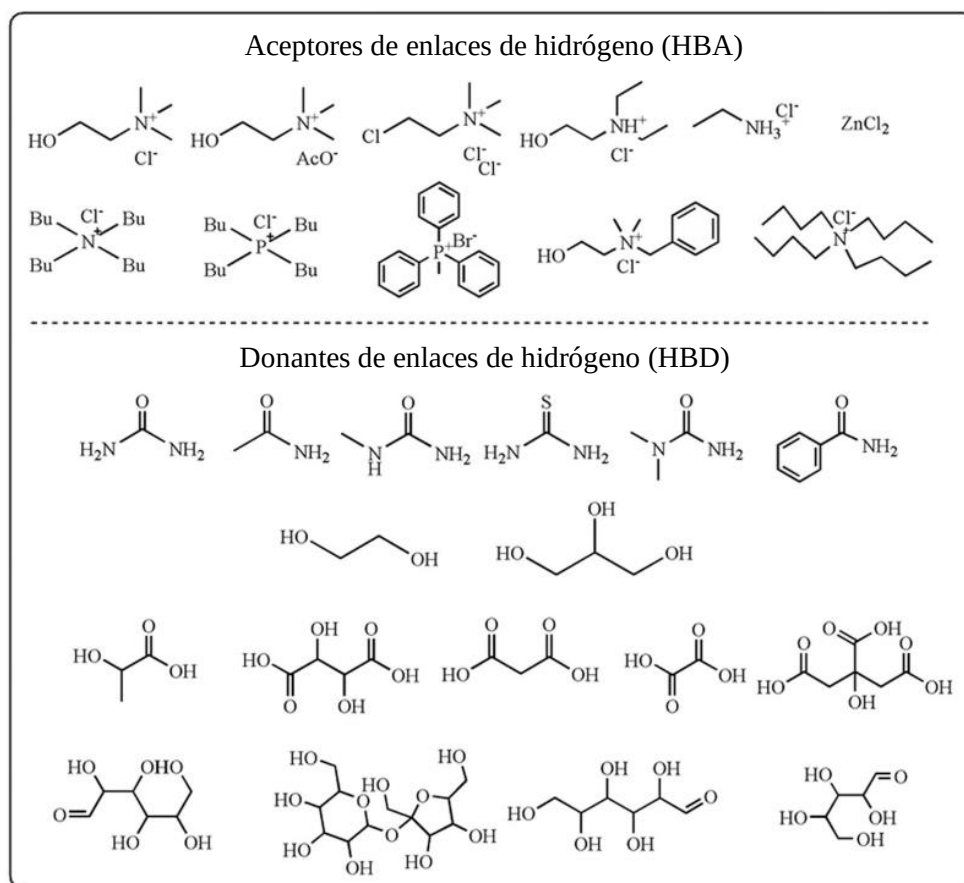


Figura 6. Estructuras típicas de donantes de enlaces de hidrógeno (HBD) y aceptores de enlaces (HBA) para la síntesis de DES (Sarmad et al., 2017).

Los DES se han clasificado en función de las combinaciones de sus constituyentes químicos (Tabla 2). Los DES tipo I tienen una aplicación limitada en el procesamiento de biomasa debido a los altos puntos de fusión de los haluros metálicos no hidratados, mientras que los DES tipo II son más viables para los procesos industriales debido a los costos relativamente más bajos de los haluros metálicos hidratados. Sin embargo, los DES tipo III son los más estudiados debido a su rápida y fácil preparación, no reactividad con el agua, naturaleza biodegradable y rentabilidad (Smith et al., 2014). Finalmente, los DES tipo IV incorporan el uso de metales de transición inorgánicos con urea para formar mezclas eutécticas, aunque las sales metálicas normalmente no se ionizarían en medios no acuosos (Sattlewal A. et al., 2018).

Tabla 2. Tipos de mezclas de DES.

Tipo	Componentes	Ejemplo
I	Sal orgánica + Sal metálica	$\text{ZnCl}_2 + \text{ChCl}$
II	Sal orgánica + sal metálica hidratada	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + \text{ChCl}$
III	Sal orgánica + HBD	Urea + ChCl
IV	Zinc/Cloruro de aluminio + HBD	$\text{ZnCl}_2 + \text{urea}$

Una de las características atractivas de DES es su capacidad de ajuste. Por lo tanto, se puede obtener una gran cantidad de mezclas eutécticas con viscosidad, densidad, miscibilidad y polaridad variables simplemente cambiando uno o ambos componentes de la mezcla. De esta manera, los DES se pueden adaptar fácilmente para aplicaciones específicas. El DES más utilizado ha sido el compuesto por cloruro de colina (ChCl) mezclado con diferentes grupos funcionales químicos como aminas, alcoholes, ácidos y azúcares, que actúan como donantes de puentes de hidrógeno. La colina no es tóxica, tiene un bajo costo y está clasificada como una provitamina en Europa (Torres Valenzuela L. et al., 2019).

Los procesos basados en disolventes eutécticos profundos requieren menos energía que los procesos convencionales. Los DES solubilizan la lignina y aumentan la disponibilidad de la celulosa para la hidrólisis a baja temperatura y presión. En su mayoría se encuentran en forma líquida compuesta por dos o tres compuestos iónicos capaces de autoasociarse para formar una mezcla eutéctica. Por otra parte, los DES son mucho más ecológicos y económicos que los líquidos iónicos (Procentese et al., 2018).

Según numerosos artículos publicados se han utilizado DES para la extracción de tocoles del aceite de palma crudo, antocianinas del vino; genistina, genisteína y apigenina de raíces de guandú; lignina de paja de arroz y antocianinas de orujo de uva. También se han extraído polifenoles de cáscaras de limón, hojas de olivo, residuos sólidos de cebolla, orujo de uva roja, salvado de trigo, pieles de uva, hojas de *Cajanus cajan*, hojas de *Morus alba* L., orujo de aceituna y posos de café gastados. El tiempo de extracción y el rendimiento de los bioactivos variaron según el tipo de DES, la estructura del biocompuesto, la temperatura de extracción aplicada y el uso de energía auxiliar (como microondas o ultrasonido) (Torres Valenzuela L. et al., 2019).

La tabla 3 reúne algunas características de procesos encontrados en la literatura realizados con diferentes mezclas de DES para la piel plateada de café. Son muy pocos los estudios llevados a cabo que utilizan este método para tratar el CSS ya que resulta de un proceso novedoso.

Tabla 3. Tratamientos de CSS con DES.

Autor y año	Tratamiento	Biomasa	Condiciones	Celulosa, Hemicelulosa, Lignina	
				Inicial (%)	Final (%)
Procentese et al., 2018	DES (ChCl:Glicerol)	Piel plateada de café (CSS)	T=60-150 °C, t=3 h Biomasa:Solvente=1:8,1:16,1:32 (g:g) Recuperación biomasa=50-80 %	17,5 ± 0,05 9,6 ± 0,01 27,0 ± 0,02	18-33 ± 0,01 8,9-0,8 ± 0,04 26,5-17,7 ± 0,02
	DES (ChCl:Etilenglicol)				17-27 ± 0,04 9-0,5 ± 0,04 27,2-19,2 ± 0,04
Procentese and Rehmann, 2018	DES (ChCl:Glicerol)		T=60-150 °C, t=3 h ChCl:Glicerol=1:2 Biomasa:Solvente=1:8,1:16,1:32 (g:g) Recuperación biomasa=50-80 %	22,88 ± 0,01 6,98 ± 0,02 34,02 ± 0,02	23,64-33,3 ± 0,01 6,9-2,75 ± 0,03 34,1-26,4 ± 1,4

2. OBJETIVOS

No son muchos los estudios llevados a cabo cuyo objetivo sea el tratamiento de piel plateada de café mediante DES. El presente proyecto trata de paliar dicha escasez realizando una investigación profunda en este ámbito, cumpliendo además el objetivo de indagar en la búsqueda de alternativas que permitan utilizar reactivos más verdes fácilmente obtenibles que permitan satisfacer las metas propuestas. El desarrollo de este estudio se ha realizado en el grupo Green Engineering and Resources (GER) a partir de la investigación anterior de Nuria Siñeriz Niembro.

Este trabajo se ha centrado en la piel plateada del café, que es uno de los residuos más producidos (junto con los posos) en el proceso del consumo del café en todo el mundo. Para tratar este residuo, se ha optado por la utilización de DES. Este procedimiento es una novedosa técnica de tratamiento de biomasa lignocelulósica que se presenta como una opción muy a tener en cuenta debido a sus numerosas ventajas frente a los métodos convencionales. Por tanto, el objetivo principal de este proyecto es encontrar las mejores condiciones de operación que optimicen la separación de celulosa, hemicelulosa y lignina de nuestra biomasa. Para ello, han de abordarse una serie de objetivos específicos tales como:

- La caracterización de las muestras tratadas.
- El estudio de la influencia de la temperatura, tiempo de operación y ratio biomasa:DES.
- El análisis estadístico de los resultados.
- La comparación de resultados con los de otros procedimientos experimentales.

El estudio forma parte del proyecto europeo CELISE (<https://celise.unican.es>), el cual es un proyecto de investigación sobre la producción sostenible de productos y aditivos a base de celulosa para su uso en pequeñas y medianas empresas y zonas rurales. La meta de este proyecto es encontrar nuevas soluciones ecológicas, innovadoras y rentables basándose en la economía circular y en la bioeconomía.

Además, este trabajo se alinea con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) propuestos para 2030 por la Organización de Naciones Unidas. Más específicamente con los objetivos de producción y consumo responsables y de acción por el clima.

3. METODOLOGÍA

Para cumplir los objetivos del trabajo, se llevarán a cabo varias etapas experimentales durante el proceso, tal y como se puede ver en la figura 7. La primera etapa consiste en el acondicionamiento de la biomasa que se realizará mediante la molienda. Seguidamente se llevará a cabo un análisis en términos de tamaño de partícula, humedad, celulosa, holocelulosa y lignina de la biomasa molida. A continuación, se efectuará el tratamiento con DES para separar los componentes lignocelulósicos del CSS. Este tratamiento se realizará para los dos disolventes eutécticos profundos elegidos: la mezcla de cloruro de colina y ácido láctico y la mezcla de cloruro de colina y ácido oxálico. Por último, se caracterizarán las muestras obtenidas en términos de composición de celulosa, holocelulosa y lignina.

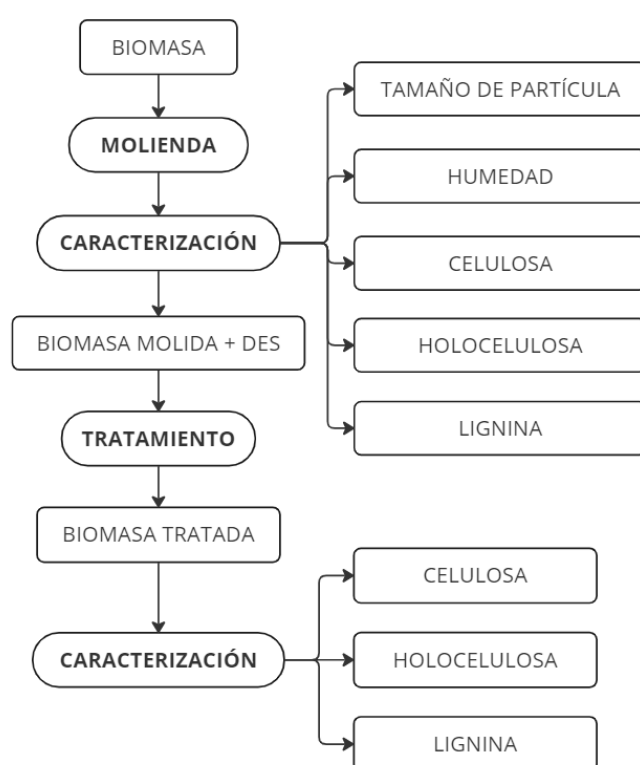


Figura 7. Metodología experimental del proceso.

3.1. Reactivos y materiales

En la tabla 4 se recogen todos los reactivos utilizados para realizar los experimentos, así como su función y características.

Tabla 4. Reactivos utilizados

Reactivo	Función	Mw (g/mol)
Cloruro de clorina (ChCl)	Preparación de DES	139,62
Ácido láctico (LA)		90,08
Ácido oxálico (OxA)		126,04
Ácido acético glacial (CH ₃ COOH)	Caracterización holocelulosa	60,05
Clorito sódico (NaClO ₂)		90,44
Acetilacetona (C ₅ H ₈ O ₂)	Caracterización celulosa	100,13
1,4-dioxano (C ₄ H ₈ O ₂)		88,11
Ácido clorhídrico (HCl)		36,46
Metanol (CH ₃ OH)		32,04
Acetona (C ₃ H ₆ O)		58,08
Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄)		90,08
	Caracterización lignina	

Por otra parte, en la tabla 5, pueden verse los materiales y equipos utilizados, además de su función en el proyecto.

Tabla 5. Materiales y equipos utilizados.

Material/Equipo	Función
Báscula de precisión	Pesado
Placa calefactora	Calentamiento
Agitador magnético	Mezcla de líquidos
Baño de silicona	Calentamiento
Agitador de palas	Mezcla de líquidos
Molino de aspas	Molienda de biomasa
Termómetro de mercurio	Control de temperatura
Tamices	Separación de sólidos
Estufa	Secado
Placas porosas	Enfriamiento
Filtros	Filtrado
Vasos filtrantes	Filtrado
Desecador	Aislamiento de la humedad
Vórtex	Agitación
Digestor de tubos	Calentamiento

3.2. Determinación de la humedad

Para medir el porcentaje de agua presente en la muestra molida, se utiliza un medidor de humedad rápido de la marca GRAM, más concretamente el modelo FM-S 120. Para ello, se introduce una muestra en el equipo (Figura 8). A continuación, se pone a funcionar el equipo

y pasados unos minutos muestra el porcentaje de humedad de la muestra inicial además de la masa de la muestra ya secada que se ha introducido.

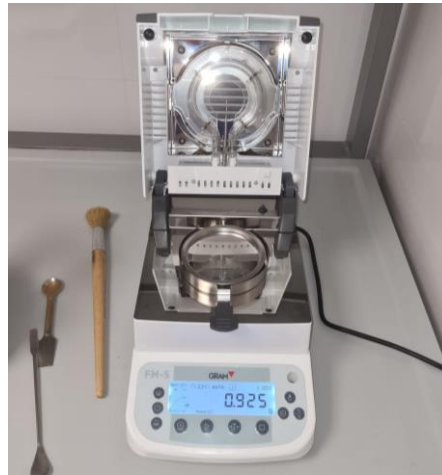


Figura 8. Medidor de humedad rápido GRAM FM-S 120.

3.3. Distribución de tamaño de partícula

El método elegido para conocer la distribución del tamaño de partícula de la biomasa molida es el tamizado. El tamizado se llevará a cabo con una tamizadora marca CISA, modelo RP.20 (Figura 9) en la que se colocarán 8 tamices de entre 0,63 y 0,001. Se tamizarán muestras de CSS durante dos periodos de 15 y 10 minutos para cada muestra. Si la distribución de masa en cada tamiz no varía demasiado entre los dos periodos mencionados, se toma la segunda distribución de masa válida.



Figura 9. Tamizadora CISA RP.20.

3.4. Molienda

Tal y como se indica en la bibliografía, se procederá a someter al CSS a un proceso de molienda (Procentese and Rehmann, 2018). El objetivo es disminuir el volumen de la muestra, lo que facilitará la manipulación del material y aumentará su área superficial. Esto supone una mejora en la interacción de la muestra con el solvente, lo que llevará a mejores resultados.

La molienda se lleva a cabo con un molino de aspas de la marca Taurus mostrado en la figura 10. Por otro lado, en la figura 11, se puede ver la comparación entre la biomasa antes y después de la molienda.



Figura 10. Molino de aspas.



Figura 11. CSS antes (izq.) y después (dcha.) de la molienda.

3.5. Preparación de DES

Para preparar cada mezcla, se ha de conocer primero cuánta cantidad de CSS molido se va a tratar. Este se estimará a partir de la cantidad de biomasa tratada que se necesita para llevar a cabo la valorización de celulosa, holocelulosa y lignina. Además, hay que tener en cuenta la recuperación de biomasa (ya que esto supondrá pérdidas de CSS en el proceso) y el número de experimentos. La cantidad necesaria se puede obtener mediante la ecuación 1.

$$m_{CSS} = R_{bio} \cdot N^{\circ} \exp \cdot \sum m_i \quad (ec. 1)$$

donde:

m_{CSS} = masa de CSS molida (g).

m_i = masa necesaria para analizar el componente i (g).

i = celulosa, holocelulosa o lignina.

R_{bio} = recuperación de biomasa.

$N^{\circ} \exp$ = número de experimentos a realizar.

La masa necesaria para analizar la celulosa se fija en 2 g (Danielewicz et al. 2015). En el trabajo de Nuria Siñeriz, tras realizar varias pruebas, se llegó a la conclusión de que la cantidad mínima de biomasa con una desviación estándar aceptable era de 1 g para la holocelulosa. En el caso de la lignina, la cantidad necesaria son 0,35 g (Cruz et al. 2018). Para la recuperación de biomasa se ha elegido un valor de 0,5, el cual es una aproximación del valor medio de recuperación de biomasa que se obtendrá experimentalmente. Por último, el número de experimentos que se van a llevar a cabo son 32.

Una vez conocida la cantidad de CSS molido necesaria, se podrá estimar la cantidad de DES que se necesita preparar. Se sabe que de los 32 ensayos que se van a llevar a cabo, la mitad se realizarán con un ratio biomasa:disolvente de 1:10 y la otra mitad con un ratio de 1:30. Con esta información se puede calcular la masa de cada DES necesaria mediante la ecuación 2.

$$m_{DES} = \frac{m_{CSS}}{2} \cdot 10 + \frac{m_{CSS}}{2} \cdot 30 \quad (ec. 2)$$

donde:

m_{DES} = masa de DES a utilizar (g).

m_{CSS} = masa de CSS molida (g).

A partir de la masa de cada DES total, pueden obtenerse las cantidades de cada componente de la mezcla. Estas cantidades se calcularán con ayuda de los ratios molares de cada mezcla y los pesos moleculares de cada componente. Esta relación queda descrita por las siguientes ecuaciones 3 y 4.

$$\frac{x}{y} = \frac{a}{b} \cdot \frac{PM\ a}{PM\ b} \quad (ec. 3)$$

$$x + y = m_{DES} \quad (ec. 4)$$

donde:

x = masa de ChCl (g).

y = masa de LA u OxA (g).

$\frac{a}{b}$ = ratio molar.

$PM\ a$ = peso molecular ChCl.

$PM\ b$ = peso molecular LA u OxA.

m_{DES} = masa de la mezcla ChCl: LA o ChCl: OxA.

Los ratios molares utilizados serán los mismos los utilizados en la memoria del trabajo fin de grado de Nuria Siñeriz, siendo estos 1/9 para la mezcla ChCl:LA y 1/3 para la mezcla ChCl:OxA (Arce et al. 2020).

3.4. Tratamiento con DES

Para tratar la biomasa con los DES, primero se ha de pesar el CSS molido necesario que se va a utilizar en el ensayo. Esta cantidad de CSS se calculó a partir de la ecuación 1 y se fijó en un valor 12 gramos.

A continuación, se introduce la biomasa en un Erlenmeyer junto a la cantidad de DES necesaria. Esta mezcla se calienta en una placa calefactora y se agita con ayuda de un agitador magnético durante el tiempo establecido (Shen et al. 2019) (Figura 12). Las condiciones de temperatura, tiempo y ratio de biomasa y disolvente dependerán de cada experimento. Se utilizará un termómetro de mercurio para controlar la temperatura.

Una vez transcurra el tiempo deseado se deja enfriar la mezcla y se pasa por un tamiz de 160 μm mientras se lava bien con agua todo el sólido (Arce et al., 2020). Por último, se deja secar en la estufa durante un día.



Figura 12. Tratamiento con DES ChCl:LA.

3.6. Caracterización de la biomasa

Una vez que se ha llevado a cabo el proceso de tratamiento de la biomasa con los DES, se ha de realizar un análisis de la composición de las muestras tratadas. El procedimiento para cada análisis dependerá del componente que se desee estudiar. Para calcular el porcentaje que representa cada componente en la muestra se utiliza la ecuación 5.

$$Comp_i (\%) = \frac{m_i}{m_m} \cdot 100 \quad (ec. 5)$$

donde:

$Comp_i$ = porcentaje del componente i .

m_i = masa del componente i (g).

m_m = masa de la muestra tratada (g).

i = celulosa, holocelulosa o lignina.

De esta caracterización también se va a obtener la recuperación de biomasa, que será diferente según se modifiquen las condiciones de operación del tratamiento con DES. Este parámetro viene dado por la ecuación 6.

$$R_{bio} = \frac{m_m}{m_{CSS}} \cdot 100 \quad (ec. 6)$$

donde:

R_{bio} = recuperación de la biomasa (%).

m_m = masa de la muestra tratada (g).

m_{CSS} = masa de la CSS molida (g).

3.6.1. Celulosa

La caracterización de la celulosa será realizada mediante el método Seifert (Danielewicz et al. 2015). Para ello, se pesan 2 g de biomasa tratada. Esta biomasa se introduce en un matraz de 50 mL, en el que se añaden 4 mL de 1,4-dioxano, 3 mL de HCl concentrado y 12 mL de acetilacetona. El paso siguiente es poner a hervir a reflujo la mezcla 35 min dentro de una campana extractora (Figura 13). A continuación, y tras esperar a que la muestra se enfríe, se procede a la filtración con ayuda de vasos filtrantes mientras se lava la muestra con 100 mL de metanol, 300 mL de agua y 100 mL de acetona. Una vez hecho esto, la muestra se seca en una estufa a 105 °C durante una hora y 15 minutos. El sólido que queda es la celulosa, por lo que se enfría en el desecador y se pesa.



Figura 13. Método Seifert de caracterización de celulosa.

3.6.2. Holocelulosa

La holocelulosa se compone de la suma del contenido en celulosa y del contenido en hemicelulosa de la biomasa. La forma más común de medir la hemicelulosa es midiendo el contenido en holocelulosa y celulosa por separado. La caracterización de la holocelulosa se lleva a cabo, según la bibliografía (Haykiri-Acma et al., 2014), pesando primeramente 5 g de CSS en un frasco ISO de 250 mL, al que se añaden 160 mL de agua. Seguidamente se introduce el frasco en un baño de aceite a unos 80°C (Figura 14).



Figura 14. Frascos ISO en baño de aceite.

A continuación, se le añade a la mezcla 10 gotas de ácido acético glacial y 5 ml de clorito de sodio al 25%. Se debe esperar durante una hora agitando periódicamente y controlando la temperatura. Pasada la hora, se deben añadir los reactivos mencionados de nuevo y esperar otra hora. El proceso se repite una vez más.

Seguidamente, se espera a que se enfríe la mezcla y se filtra con agua fría y acetona. Se deja secar durante un día en la estufa a 100-105°C. El sólido resultante del proceso es la holocelulosa.

Según el desarrollo experimental llevado a cabo en la memoria de Nuria Siñeriz, se concluyó que la muestra de CSS podía reducirse hasta 1 g manteniéndose los resultados con una desviación estándar aceptable.

3.6.3. Lignina

La cantidad de lignina que se obtiene tras el tratamiento se obtendrá mediante un proceso en serie de dos hidrólisis ácidas a (Cruz et al. 2018).

La primera hidrólisis será una hidrólisis fuerte, para la cual, se introducirán 0,35 g de una muestra de CSS tratada en un tubo de ensayo. A continuación, se añaden 10 mL de H_2SO_4 (72% w/w) y se agita la mezcla en el vórtex. Posteriormente, el tubo de ensayo se coloca en un digestor de tubos (Figura 15) durante 60 minutos a 30 °C. Cada 10 minutos debe agitarse el tubo en el vórtex.



Figura 15. Tubos de ensayo en el digestor de tubos.

Para realizar la segunda hidrólisis, se pasa la muestra a un frasco ISO de 250 mL. A este frasco se le añaden 144 mL de agua ultrapura, la cual baja la concentración del ácido sulfúrico al 4% w/w. Los frascos se cierran para evitar la emisión de gases y se introducen en el baño de aceite mostrado en la Figura 12 a 120 °C un periodo de 60 minutos. Posteriormente, se deja enfriar y se filtra a vacío con filtros de fibra de vidrio de 1,2 μm . El sólido resultante es la lignina, que se debe secar en la estufa a 105 °C un total de 24 horas. Por último, se pesa el sólido.

3.7. Diseño estadístico de experimentos

Se llevará a cabo un diseño Box-Behnken. Para ello, se debe tener información de un total de 15 experimentos para cada DES. Las condiciones más adecuadas para realizar estos experimentos se han extraído de la bibliografía.

Según (Llano et al., 2018 y Santos Terán, 2017) han definirse varios pasos para realizar el análisis estadístico.

1. Definir las variables de respuesta medidas.

En este caso, las variables de respuesta medidas son las obtenidas en la caracterización de los componentes lignocelulósicos. Por tanto, se estaría hablando de composición de celulosa, holocelulosa y lignina.

2. Definir los factores experimentales que se van a medir.

Los factores experimentales que se van a medir hacen referencia a las variables de entrada.

Estas variables se recogen en la tabla 6.

Tabla 6. Variables de entrada.

Variable	Unidades	Rango
Temperatura	°C	60-120
Ratio	g _{biomasa} :g _{DES}	1:10-1:30
Tiempo	h	1-5

3. Seleccionar el diseño experimental.

El diseño estadístico elegido es el diseño Box-Behnken. Este diseño sugiere establecer tres niveles para tres variables con el fin de crear superficies de respuesta. Estos niveles están formados por la consolidación de factoriales 2k con contornos de bloque incompletos. Los niveles corresponden a -1 como nivel mínimo, a 0 como centro y a +1 como máximo. El total de ensayos realizados para cada diseño será de 15 con tres centros (Aziz A. et al., 2018).

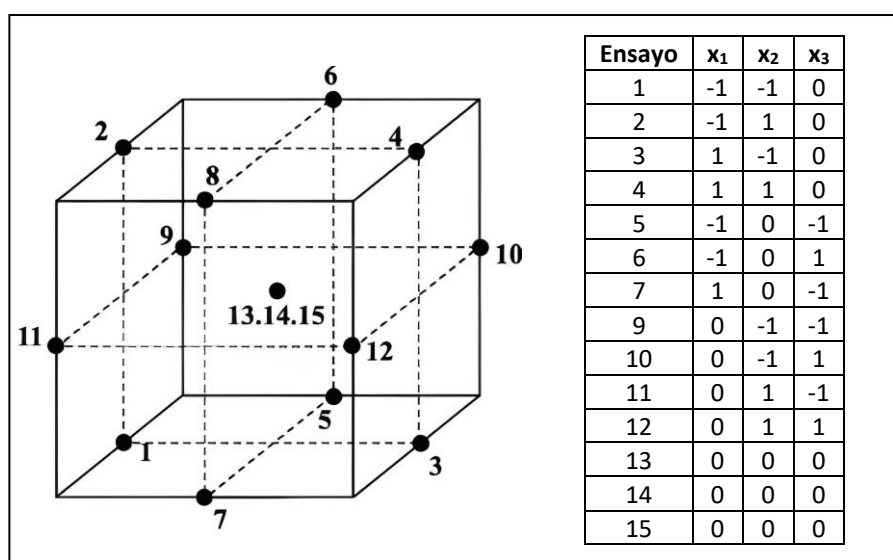


Figura 16. Diseño Box-Behnken de tres factores (Aziz A. et al., 2018).

Según (Hao et al., 2021) para realizar este diseño, se debe hacer un ajuste de a partir de polinomios de segundo grado definido por la ecuación 7.

$$Y = A_0 + A_1X_1 + A_2X_2 + A_3X_3 + A_4X_1X_2 + A_5X_2X_3 + A_6X_1X_3 + A_7X_1^2 + A_8X_2^2 + A_9X_3^2 \quad (ec. 7)$$

donde:

Y = variable respuesta medida.

A_i = coeficientes de regresión ($i = 1, 2, 3 \dots 9$).

X_n = variables independientes ($n = 1, 2, 3$).

$X_n X_n$ = interacción de los términos cuadráticos.

El número de ensayos queda determinado por la ecuación 8.

$$N = 2k(k - 1) + n_c \quad (\text{ec. 8})$$

donde:

N = número de ensayos.

k = número de variables experimentales.

n_c = número de puntos centrales.

En la tabla 7 se muestran las condiciones de operación de los ensayos que se deben realizar para obtener el diseño Box-Behnken. Estos ensayos deben realizarse para cada mezcla de DES. Los experimentos marcados en azul son los ya realizados por Nuria Siñeriz, mientras que los marcados en verde son los que se han realizado en este trabajo.

Tabla 7. Ensayos a realizar.

Ensayo	Ratio ($g_{\text{biom}}:g_{\text{DES}}$)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Tiempo (h)
1	1:20	120	5
2	1:30	90	1
3	1:20	60	1
4	1:10	90	1
5	1:30	90	5
6	1:10	120	3
7	1:30	120	3
8	1:20	60	5
9	1:10	90	5
10	1:10	60	3
11	1:20	120	1
12	1:30	60	3
13	1:20	90	3
14	1:20	90	3
15	1:20	90	3

4. Introducir los datos en StatGraphics 19.

Para llevar a cabo el análisis estadístico se recurre al software StatGraphics Centurion 19. Mediante esta herramienta se realizará el diseño Box-Behnken para obtener los parámetros estadísticos y los gráficos pertinentes para el estudio.

4. RESULTADOS

4.1. Caracterización de la materia prima

La composición del CSS en materia lignocelulósica puede variar en función del tipo de café, el tratamiento que haya recibido, las condiciones en las que se haya almacenado, entre otros factores. En la tabla 8 se muestra la composición del CSS obtenida con ayuda de los procedimientos experimentales descritos en la metodología junto con las composiciones encontradas en varias fuentes bibliográficas.

Tabla 8. Composición del CSS según diferentes autores.

Autor y año	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)	Otros (%)
Nuestro caso de estudio	19,11	30,27	33,35	17,27
Siñeriz N., 2021	17,59	28,15	33,01	21,25
Procentese et al., 2018	17,5	9,6	30	42,9
Niglio S. et al., 2020	20,9	7,7	30,5	40,9
Procentese and Rehman, 2018	22,88	6,98	34,02	50,16
Ballesteros et al., 2014	23,8	16,7	28,6	30,9

Los porcentajes de celulosa y lignina resultaron similares a los encontrados en la bibliografía, sin embargo, la composición en hemicelulosa medida en este trabajo y en el de Nuria Siñeriz resultó significativamente más elevada que la señalada por otros autores. La composición lignocelulósica de los residuos agroalimentarios puede variar en función de varios factores tales como el origen del residuo, el tratamiento del que ha salido, en qué condiciones se ha almacenado, la época del año en la que ha sido cultivado y recogido, etc.

El porcentaje referido a “otros” hace referencia a otros componentes como humedad, proteínas, nitrógeno, grasas, carbohidratos, cenizas y fibra dietética soluble e insoluble (Shalini S. et al., 2021). El porcentaje de humedad medido en el presente estudio se estimó en un valor del 10,24%.

Por otra parte, la distribución de masa de la muestra utilizada para el tamizado se ve reflejada en la figura 17, donde se puede ver que la mayoría de las partículas tienen un tamaño menor de 0,5 mm.

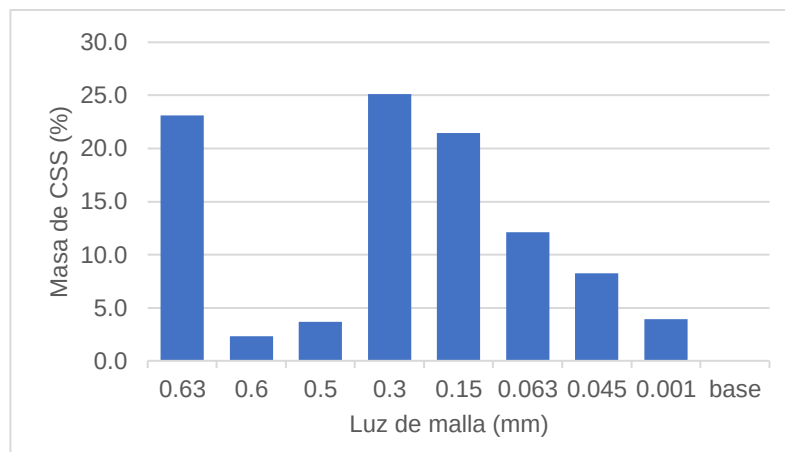
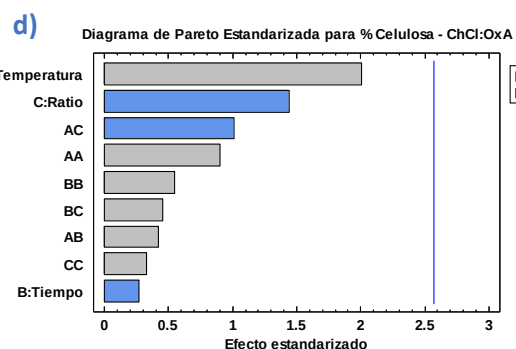
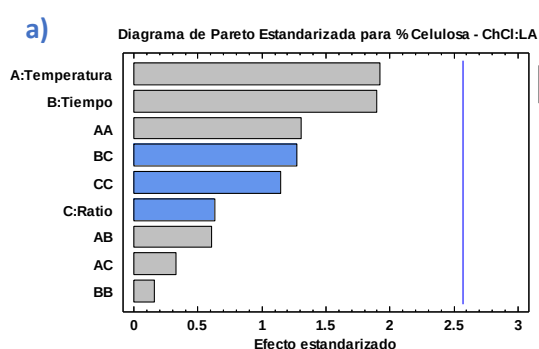


Figura 17. Distribución en masa de la muestra tamizada.

4.2. Análisis estadístico y modelado matemático

4.2.1. Diagramas de Pareto

El diagrama de Pareto muestra los valores absolutos de los efectos estandarizados desde el efecto más grande hasta el efecto más pequeño. Se utiliza para determinar la magnitud y la importancia de los efectos de los factores. En el diagrama de Pareto, las barras que cruzan la línea de referencia son estadísticamente significativas. Por otro lado, las barras en grises muestran una influencia positiva en la variable respuesta, mientras que las barras azules una influencia negativa. En la figura 18 se muestra el diagrama de Pareto de cada variable.



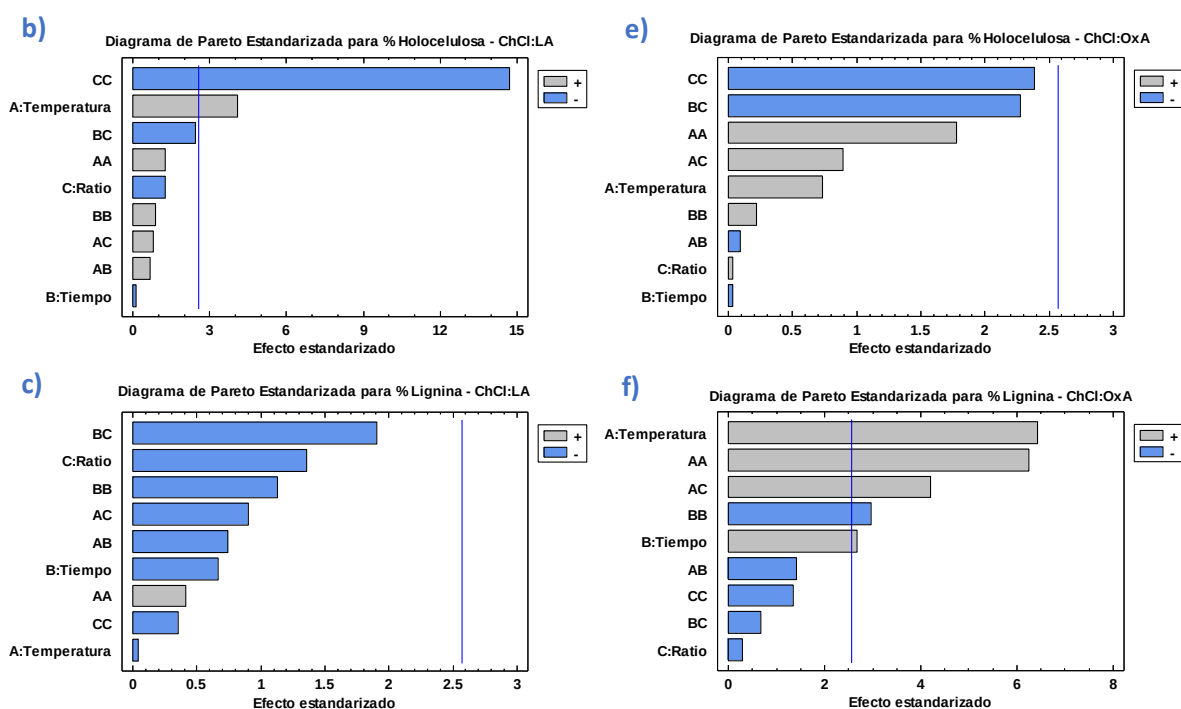


Figura 18. Diagramas de Pareto de las variables respuesta de: a) %Celulosa (ChCl:LA), b) %Holocelulosa (ChCl:LA), c) %Lignina (ChCl:LA), d) %Celulosa (ChCl:OxA), e) %Holocelulosa (ChCl:OxA), f) %Lignina (ChCl:OxA).

Como se puede apreciar en los diagramas, solamente en dos de ellos (b y f) algún factor rebasó la línea de referencia, lo que quiere decir que en solo dos de los diagramas hay variables estadísticamente significativas.

Por otro lado, se ve que el factor más influyente es la temperatura, siendo el que presenta un mayor efecto estandarizado en todas las variables respuesta excepto en una. El segundo factor más relevante va cambiando según la variable respuesta, siendo en algunas ocasiones el ratio y en otras el tiempo.

Por último, se puede observar un comportamiento generalizado en la influencia positiva o negativa en algunos factores. En el caso de la temperatura, esta afecta, de forma general, positivamente en las variables de salida, mientras que el ratio afecta negativamente. En el caso del tiempo, no hay una tendencia clara en función del tipo de DES o el tipo de componente lignocelulósico estudiado.

4.2.2. Diagramas de superficie de respuesta

Los diagramas de superficie de respuesta ofrecen una visual de los valores que van adoptando las variables estudiadas con respecto dos de los factores. Para realizar esta representación gráfica, se consideró constante el factor que menos afectaba a cada variable. En el caso de la celulosa, se fijó el valor del factor constante en aquel que maximizase la variable y en el caso de la holocelulosa y lignina, se fijaron las constantes en aquellos que minimizasen las variables. Los diagramas de superficie de respuesta están reflejados en la figura 19.

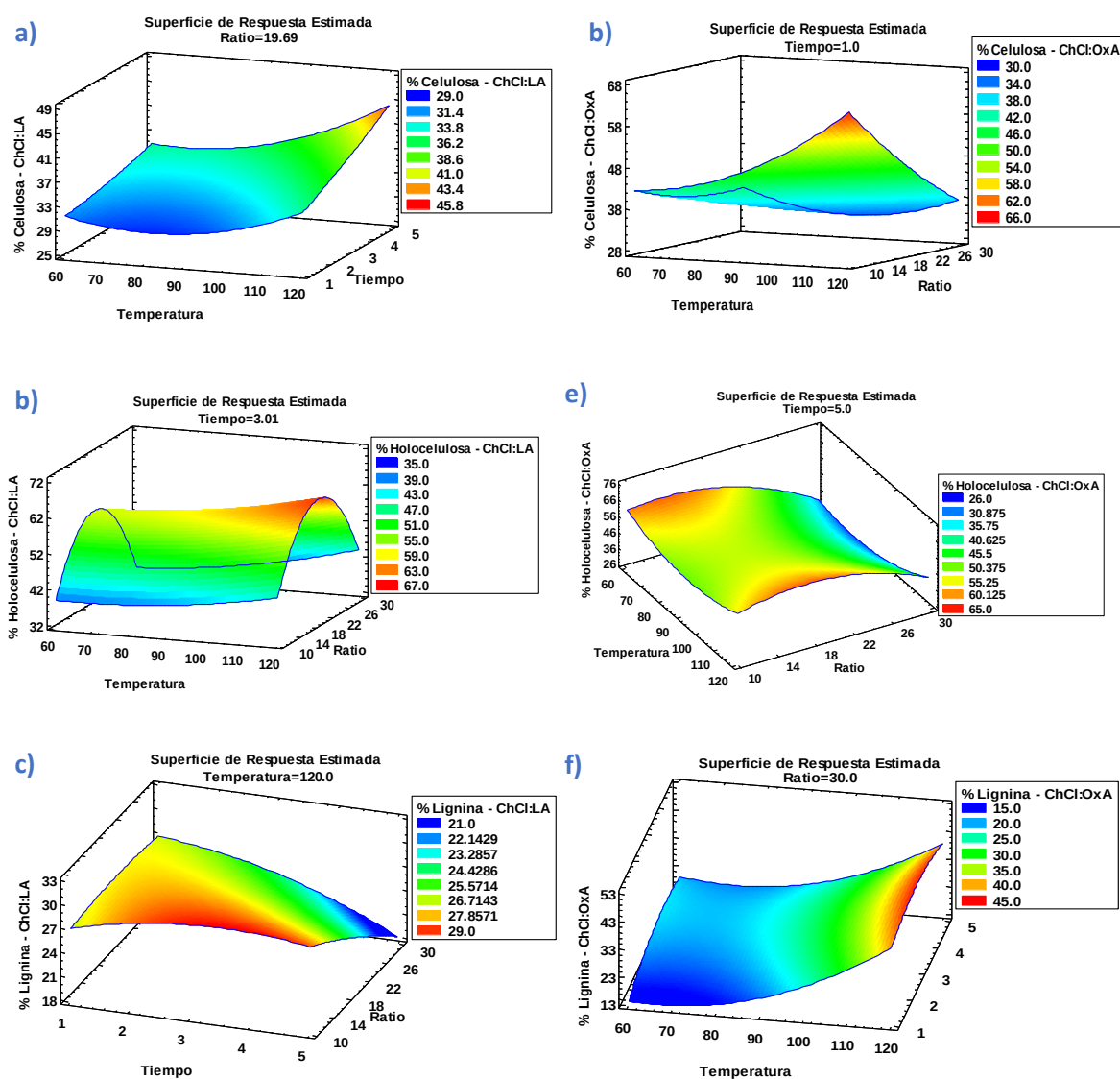


Figura 19. Diagramas de superficie de respuesta de las variables: a) %Celulosa (ChCl:LA), b) %Holocelulosa (ChCl:LA), c) %Lignina (ChCl:LA), d) %Celulosa (ChCl:OxA), e) %Holocelulosa (ChCl:OxA), f) %Lignina (ChCl:OxA).

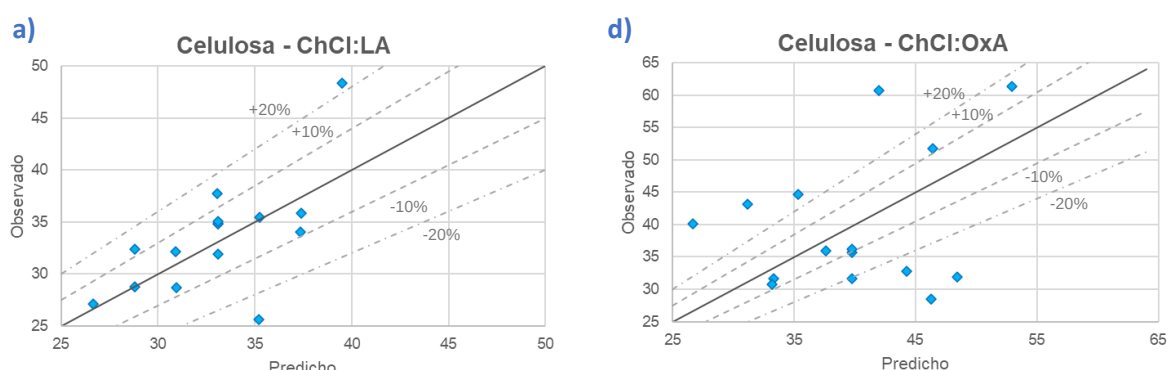
Atendiendo a los resultados obtenidos en la figura 17, pueden obtenerse los valores máximos de celulosa y mínimos de holocelulosa y lignina para cada mezcla DES, así como las condiciones de operación correspondientes.

Comenzando por la mezcla de ChCl:LA, se obtuvo un valor máximo de celulosa del 44,26%. Para ello, se precisan unas condiciones de 120°C, 5h y un ratio de 1:19,69 gCSS/gDES. Para la holocelulosa, se llegaron a obtener valores del 34,29% para 60°C, 3,01h y ratio 1:30 gCSS/gDES. Por último, se alcanzó una deslignificación que llegó a un valor óptimo de 18,66% para 120°C, 5h, y ratio 1:30.

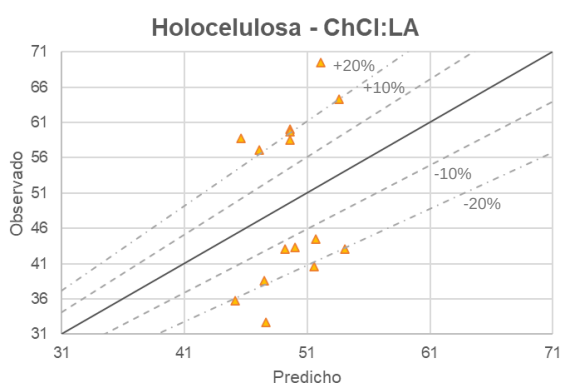
Para el DES formado por ChCl:OxA se llegó a un máximo de celulosa del 63,24% para 118,65°C, 1h y un ratio 1:10 gCSS/gDES. La holocelulosa se consiguió reducir hasta un 29,11% en unas condiciones de 76,5°C, 5h, y un ratio de 1:29,98 gCSS/gDES. En el caso de la lignina, se redujo hasta el 13,06% a 66,5°C, 1h y un ratio de 1:30.

4.2.3. Comparación de observados y predichos

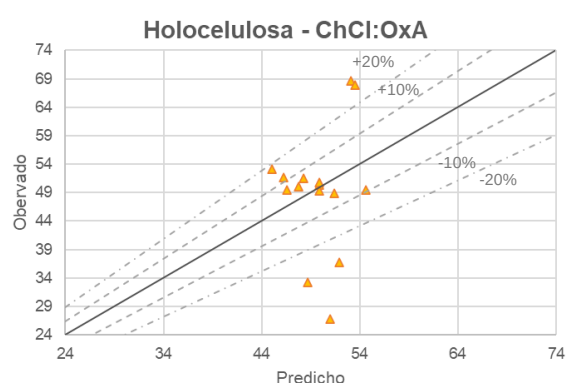
A partir de los resultados obtenidos experimentalmente, se realizó una regresión múltiple para cada variable de salida con sus condiciones de operación. Esto permitió obtener una expresión linealizada de la variable respuesta en función de la temperatura, el tiempo y el ratio. En la figura 20 se muestra una representación gráfica del comportamiento predicho por la regresión múltiple para cada componente lignocelulósico (representado por una recta), así como una desviación del 10% y del 20% del comportamiento predicho (simbolizado por rectas discontinuas), junto con los valores observados experimentalmente (representado por puntos).



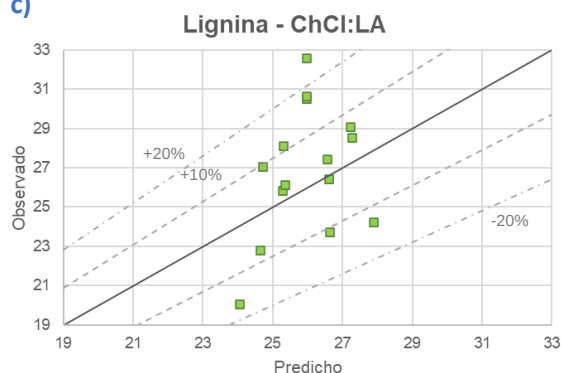
b)



e)



c)



f)

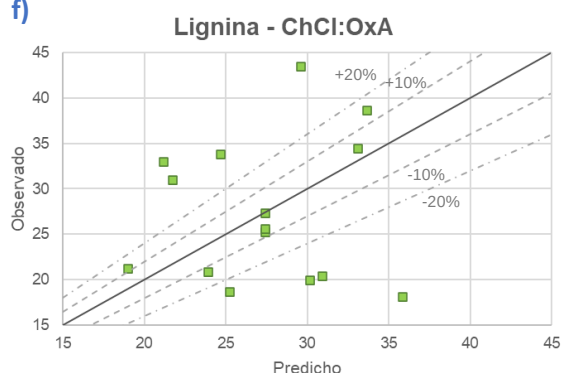


Figura 20. Comparación de valores observados vs predichos para: a) %Celulosa (ChCl:LA), b) %Holocelulosa (ChCl:LA), c) %Lignina (ChCl:LA), d) %Celulosa (ChCl:OxA), e) %Holocelulosa (ChCl:OxA), f) %Lignina (ChCl:OxA).

4.2.4. Análisis de varianza

A continuación, se examinarán las tablas ANOVA y una serie de parámetros estadísticos (R^2 , error estándar del estimado y error absoluto) de cada una de las variables estudiadas. Los ANOVA evalúan la importancia de uno o más factores al comparar las medias de la variable de respuesta en los diferentes niveles de los factores.

En la tabla 9 se muestra la tabla ANOVA del estudio de la celulosa para el DES compuesto por ChCl:LA. La suma total de los cuadrados y los cuadrados medios ayudan a expresar la variación total que se puede atribuir a diferentes factores. La influencia de los factores es mayor para la temperatura, seguida del tiempo y el ratio. En este caso, 0 efectos tienen un valor-P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95%, lo cual indica una importancia estadísticamente significativa. El estadístico R^2 indica que el modelo, así ajustado, explica 72,32% de la variabilidad en el porcentaje de celulosa para la mezcla ChCl:LA. El error estándar del estimado muestra que

la desviación estándar es de 4,76. El error medio absoluto es de 2,35, el cual es el promedio de la diferencia absoluta entre los valores observados y los valores predichos.

Tabla 9. Tabla ANOVA para el contenido en celulosa de los ensayos con ChCl:LA.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	83.5278	1	83.5278	3.68	0.1132
B:Tiempo	81.984	1	81.984	3.61	0.1158
C:Ratio	9.03125	1	9.03125	0.40	0.5559
AA	38.5215	1	38.5215	1.70	0.2494
AB	8.2944	1	8.2944	0.37	0.5719
AC	2.41803	1	2.41803	0.11	0.7573
BB	0.547292	1	0.547292	0.02	0.8827
BC	36.7842	1	36.7842	1.62	0.2590
CC	29.9382	1	29.9382	1.32	0.3027
Error total	113.491	5	22.6981		
Total (corr.)	410.131	14			

En la tabla 10 se muestra la tabla ANOVA del estudio de la holocelulosa para el DES compuesto por ChCl:LA. La influencia de los factores es mayor para la temperatura, seguida del ratio y el tiempo. En este caso, 3 efectos tienen un valor-P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95%. El estadístico R^2 indica que el modelo, así ajustado, explica 98,93% de la variabilidad en el porcentaje de holocelulosa para la mezcla ChCl:LA. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar es de 1,9. El error medio absoluto es de 0,97, el cual es el promedio de la diferencia absoluta entre los valores observados y los valores predichos.

Tabla 10. Tabla ANOVA para el contenido en holocelulosa de los ensayos con ChCl:LA.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	84.565	1	84.565	23.43	0.0047
B:Tiempo	4.5	1	4.5	1.25	0.3149
C:Ratio	11.2101	1	11.2101	3.11	0.1383
AA	4.6627	1	4.6627	1.29	0.3072
AB	0.6724	1	0.6724	0.19	0.6840
AC	4.43103	1	4.43103	1.23	0.3183
BB	1.16308	1	1.16308	0.32	0.5948
BC	42.9025	1	42.9025	11.89	0.0183
CC	1485.24	1	1485.24	411.54	0.0000
Error total	18.045	5	3.60901		
Total (corr.)	1691.65	14			

En la tabla 11 se muestra la tabla ANOVA del estudio de la lignina para el DES compuesto por ChCl:LA. La influencia de los factores es mayor para el ratio, seguido del tiempo y la temperatura. En este caso, 0 efectos tienen un valor-P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95%. El estadístico R^2 indica que el modelo, así ajustado, explica 63,95% de la variabilidad en el porcentaje de lignina para la mezcla ChCl:LA. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar es de 2,69. El error medio absoluto es de 1,19, el cual es el promedio de la diferencia absoluta entre los valores observados y los valores predichos.

Tabla 11. Tabla ANOVA para el contenido en lignina de los ensayos con ChCl:LA.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	0.0098	1	0.0098	0.00	0.9721
B:Tiempo	3.20045	1	3.20045	0.44	0.5358
C:Ratio	13.2613	1	13.2613	1.83	0.2342
AA	1.21018	1	1.21018	0.17	0.6998
AB	4.0	1	4.0	0.55	0.4910
AC	5.9049	1	5.9049	0.81	0.4082
BB	9.24667	1	9.24667	1.28	0.3100
BC	26.2144	1	26.2144	3.62	0.1156
CC	0.913869	1	0.913869	0.13	0.7371
Error total	36.2515	5	7.2503		
Total (corr.)	100.555	14			

En la tabla 12 se muestra la tabla ANOVA del estudio de la celulosa para el DES compuesto por ChCl:OxA. La influencia de los factores es mayor para la temperatura, seguido del ratio y el tiempo. En este caso, 0 efectos tienen un valor-P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95%. El estadístico R^2 indica que el modelo, así ajustado, explica 63,47% de la variabilidad en el porcentaje de celulosa para la mezcla ChCl:OxA. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar es de 10,75. El error medio absoluto es de 5,12, el cual es el promedio de la diferencia absoluta entre los valores observados y los valores predichos.

Tabla 12. Tabla ANOVA para el contenido en celulosa de los ensayos con ChCl:OxA.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	467.262	1	467.262	4.04	0.1006
B:Tiempo	8.18101	1	8.18101	0.07	0.8008
C:Ratio	239.915	1	239.915	2.08	0.2093
AA	93.5426	1	93.5426	0.81	0.4096
AB	20.5662	1	20.5662	0.18	0.6907
AC	118.701	1	118.701	1.03	0.3574
BB	34.8185	1	34.8185	0.30	0.6067
BC	23.6196	1	23.6196	0.20	0.6702
CC	12.1075	1	12.1075	0.10	0.7593
Error total	578.033	5	115.607		
Total (corr.)	1582.24	14			

En la tabla 13 se muestra la tabla ANOVA del estudio de la holocelulosa para el DES compuesto por ChCl:OxA. La influencia de los factores es mayor para la temperatura, seguido del ratio y el tiempo. En este caso, 0 efectos tienen un valor-P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95%. El estadístico R^2 indica que el modelo, así ajustado, explica 81,35% de la variabilidad en el porcentaje de holocelulosa para la mezcla ChCl:OxA. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar es de 8,07. El error medio absoluto es de 3,85, el cual es el promedio de la diferencia absoluta entre los valores observados y los valores predichos.

Tabla 13. Tabla ANOVA para el contenido en holocelulosa de los ensayos con ChCl:OxA.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	95.4271	1	95.4271	1.47	0.2802
B:Tiempo	0.28125	1	0.28125	0.00	0.9502
C:Ratio	14.7153	1	14.7153	0.23	0.6546
AA	327.323	1	327.323	5.03	0.0751
AB	1.1881	1	1.1881	0.02	0.8978
AC	167.832	1	167.832	2.58	0.1694
BB	0.336939	1	0.336939	0.01	0.9455
BC	409.658	1	409.658	6.29	0.0540
CC	348.096	1	348.096	5.34	0.0688
Error total	325.686	5	65.1371		
Total (corr.)	1746.76	14			

En la tabla 14 se muestra la tabla ANOVA del estudio de la lignina para el DES compuesto por ChCl:OxA. La influencia de los factores es mayor para la temperatura, seguido del tiempo y el ratio. En este caso, 5 efectos tienen un valor-P menor que 0,05, indicando que son

significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95%. El estadístico R^2 indica que el modelo, así ajustado, explica 96,07% de la variabilidad en el porcentaje de lignina para la mezcla ChCl:OxA. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar es de 1,34. El error medio absoluto es de 2,62, el cual es el promedio de la diferencia absoluta entre los valores observados y los valores predichos.

Tabla 14. Tabla ANOVA para el contenido en lignina de los ensayos con ChCl:OxA.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	284.507	1	284.507	41.44	0.0013
B:Tiempo	48.7776	1	48.7776	7.10	0.0446
C:Ratio	0.569245	1	0.569245	0.08	0.7849
AA	267.434	1	267.434	38.95	0.0015
AB	13.7196	1	13.7196	2.00	0.2166
AC	121.882	1	121.882	17.75	0.0084
BB	60.1426	1	60.1426	8.76	0.0315
BC	3.03805	1	3.03805	0.44	0.5354
CC	12.486	1	12.486	1.82	0.2353
Error total	34.3293	5	6.86585		
Total (corr.)	873.37	14			

4.3. Comparativa y discusión de resultados

4.3.1. Comparativa con otros DES

A partir de los datos obtenidos experimentalmente y de la tabla 3, en la que se realizaba una recopilación de los resultados de los tratamientos con DES encontrados en la bibliografía, se ha conformado la figura 21. En este gráfico de barras se puede visualizar una comparativa de la variación de los dos componentes de mayor interés del CSS: la celulosa y la lignina.

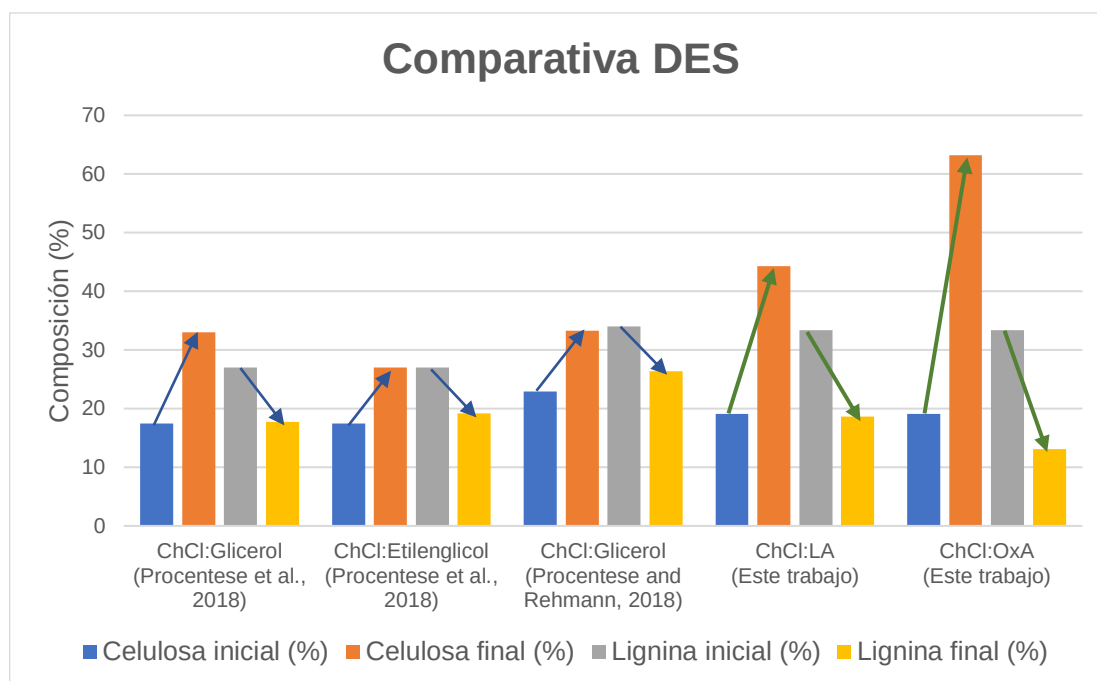


Figura 21. Variación de la celulosa y la lignina según varias fuentes.

Tal y como se puede apreciar en la figura 21, tanto los incrementos de porcentaje en celulosa como la reducción porcentual de lignina han sido mayores en las mezclas de DES utilizadas en este trabajo (flechas verdes). Las condiciones óptimas de operación de cada DES para alcanzar estos objetivos se plasman en la tabla 15.

Tabla 15. Condiciones de operación óptimas para tratamientos con DES.

DES y Autor	Incremento de celulosa			Deslignificación		
	Temp. (°C)	Tiempo (h)	Ratio (gCSS:gDES)	Temp. (°C)	Tiempo (h)	Ratio (gCSS:gDES)
ChCl:Glicerol (Procentese et al., 2018)	150	3	1:32	150	3	1:32
ChCl:Etilenglicol (Procentese et al., 2018)	150	3	1:32	150	3	1:32
ChCl:Glicerol (Procentese and Rehmann, 2018)	150	3	1:32	150	3	1:32
ChCl:LA (Este trabajo)	120	4,95	1:19,69	120	5	1:29,79
ChCl:OxA (Este trabajo)	118	1	1:10	66	1	1:30

Las condiciones de operación óptimas encontradas en la bibliografía se dan para unas condiciones de operación de temperatura y ratio máximos dentro de las condiciones en las que se operó. El tiempo de operación no se modificó en estos estudios, por lo que se mantuvo constante en 3 horas. Para nuestra mezcla de ChCl:LA, las condiciones óptimas corresponden con unas condiciones máximas de temperatura, tiempo y ratio (exceptuando el ratio óptimo de incremento de celulosa). En la mezcla de ChCl:OxA esta tendencia cambia.

En este caso, el tiempo de operación óptimo se reduce al mínimo. Por otro lado, esta mezcla DES necesita para incrementar el porcentaje de celulosa una temperatura de 118°C y un ratio de 1:10, es decir, una temperatura cercana a la máxima y un ratio mínimo. Para deslignificar necesita una temperatura de 66°C y un ratio de 1:30, es decir, una temperatura cercana a la mínima y un ratio máximo.

4.3.2. Comparativa con otras biomásas

Según se ha comentado, el CSS es un residuo agroalimentario de gran interés para aplicarse en modelos biorrefinerías debido a su composición y a que se produce en grandes cantidades. Sin embargo, existen también otras materias primas que sirven como biomasa a las que se les puede aplicar el tratamiento con DES. En las figuras 22 y 23 se ha realizado una recopilación en la que se compara la variación de celulosa y lignina respectivamente antes y después del proceso con DES.

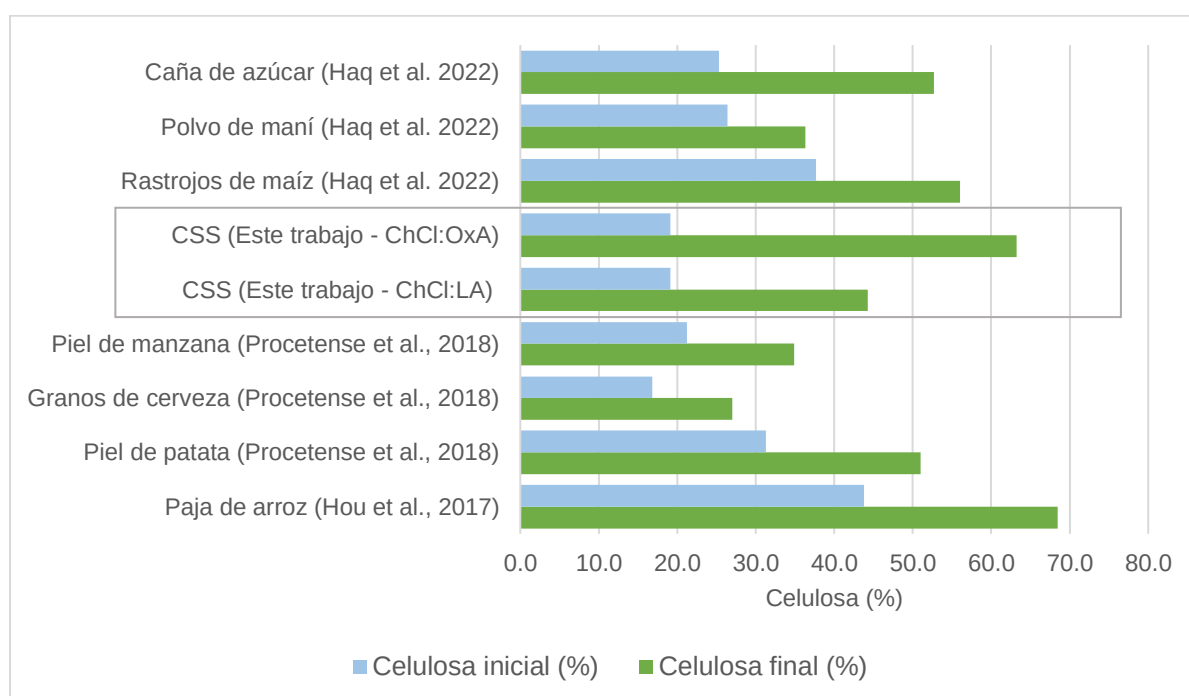


Figura 22. Comparativa de la variación de celulosa de varias biomásas utilizando DES.

Enfocando el problema desde una visión global, es beneficioso trabajar con biomasa que posea unos altos niveles de celulosa, ya que después del tratamiento con DES se debe aplicar un proceso de sacarificación (siendo la hidrólisis enzimática el proceso más extendido) como etapa de una biorrefinería cuya materia prima es material lignocelulósico.

En la figura 22 se puede visualizar que los dos tratamientos con DES realizados entran dentro del rango valores que se muestran en la bibliografía, siendo el proceso con ChCl:OxA el segundo que mayor porcentaje de celulosa posee tras el tratamiento. Los resultados de la mezcla de ChCl:LA muestran unos valores aceptables de contenido final en celulosa a pesar de que a priori el CSS no es una biomasa que destaque por su alto contenido en este componente.

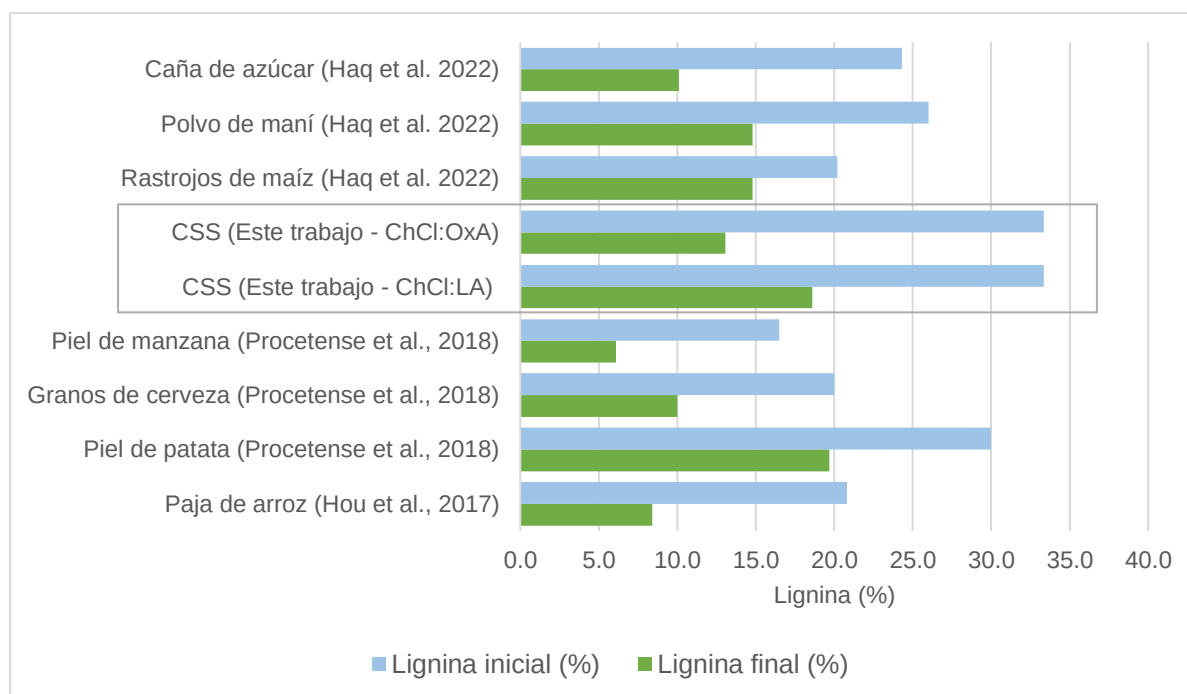


Figura 23. Comparativa de la variación de lignina de varias biomásas utilizando DES.

Por otra parte, un alto contenido en lignina no resulta beneficioso ya que restringe la hidrólisis enzimática de la biomasa actuando como una barrera (Sattlewal A. et al., 2018). Además, es extremadamente resistente a la degradación química y enzimática y es responsable de proteger la biomasa lignocelulósica del ataque de bacterias (D.S. Naidu et al, 2018). Por tanto, en un principio el CSS no se trata de la mejor biomasa en cuanto a lo que en términos de contenido en lignina se refiere, ya que tiene un alto porcentaje de esta macromolécula en comparación con otras biomásas reflejadas en la figura 2. Como se puede ver, los contenidos en lignina después del tratamiento con DES entran dentro del rango de los resultados encontrados en la literatura. La mezcla de ChCl:OxA presenta una deslignificación considerable, por lo que resulta una buena opción. Por otro lado, la

deslignificación de CSS con la mezcla de ChCl:LA no presenta tan buenos resultados, aunque llega a unos valores aceptables.

Como se ha comentado, es beneficioso trabajar con biomasa que de partida cuente con una composición elevada en celulosa y baja en lignina y hemicelulosa. En la tabla 16 se muestran las composiciones en términos de celulosa, hemicelulosa y lignina de varias biomásas lignocelulósicas.

Tabla 16. Composición lignocelulósica de diferentes biomásas (D.S. Naidu et al., 2018).

Biomasa	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)
Álamo	50,8-53,3	26,2-28,7	15,5-16,3
Roble	40,4	35,9	24,1
Eucalipto	54,1	18,4	21,5
Pino	42,0-50,0	24,0-27,0	20
Abeto	44	11	27
Píceas	45,5	22,9	27,9
Paja de trigo	35,0-39,0	23,0-30,0	12,0-16,0
Cebada	34	36	13,8-19,0
Paja de cebada	36,0-43,0	24,0-33,0	6,3-9,8
Paja de arroz	29,2-34,7	23,0-25,9	17,0-19,0
Cáscara de arroz	28,7-35,6	12,0-29,3	15,4-20,0
Paja de avena	31,0-35,0	20,0-26,0	10,0-15,0
Paja de rayo	36,2-47,0	19,0-24,5	9,9-24,0
Mazorca de maíz	33,7-41,2	31,9-36,0	6,1-15,9
Tallos de maíz	35,0-39,6	16,8-35,0	7,0-18,4
Bagazo de caña de azúcar	25,0-45,0	28,0-32,0	15,0-25,0
Paja de sorgo	32,0-35,0	24,0-27,0	15,0-21,0
Gramíneas	25,0-40,0	25,0-50,0	10,0-30,0
Hierba	36,0-40,0	25,0-50,0	15,0-20,0

Tal y como se puede observar, las materias primas madereras (álamo, roble, eucalipto, pino, abeto y pícea) son las que poseen un mayor contenido en celulosa, llegando hasta el 53,3% en el caso del álamo. Estas materias primas madereras también son las que poseen una mayor cantidad de lignina, por lo que requerirán de un tratamiento con alto grado de deslignificación. En el caso de la hemicelulosa, la mayoría de las biomásas presentan unos valores similares en torno al 20-25% mientras que destacan algunas con valores comparativamente más bajos como el abeto (11%) o la cáscara de arroz (12%).

En este caso de estudio, se estudió el CSS, en el que se detectaron valores más bajos de celulosa y más altos de hemicelulosa y lignina que los plasmados en la tabla 16, por lo que en principio no es una biomasa con unas composiciones lignocelulósicas óptimas. Sin embargo, en la tabla 8 se documenta las composiciones de otras muestras de CSS que mostraban una composición de hemicelulosa significativamente más baja, incluso más baja que las de las biomasas de la tabla 16, por lo que sí resultaría competitiva en términos de hemicelulosa. Además, el CSS, a diferencia de algunos residuos mostrados en la tabla 16, se trata de un residuo y que en Europa normalmente está asociado a pequeñas o medianas empresas, por lo que se enmarca dentro del proyecto del proyecto CELISE y de los conceptos de economía circular y bioeconomía.

5. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

El tratamiento de residuos provenientes de la actividad agrícola supone un inconveniente medioambiental que ha suscitado un gran interés, tanto como para disminuir el volumen de residuos, como para obtener compuestos de alto valor añadido a partir de ellos. En el presente trabajo se ha estudiado como tratar el segundo mayor residuo producido en la industria cafetera: la piel plateada del café (CSS). Para ello, se ha estudiado un procedimiento de valorización de la biomasa, que forma parte de una de las etapas que engloba un proceso de biorrefinería de materia lignocelulósica. Este procedimiento es la utilización de disolventes eutécticos profundos (DES) como elemento separador de los componentes lignocelulósicos estudiados (celulosa, hemicelulosa y lignina).

El trabajo realizado ha consistido en varias etapas. Primeramente, se ha caracterizado el CSS en términos de composición lignocelulósica, humedad y tamaño de partícula. En segundo lugar, se prepararon las dos mezclas de DES: una de cloruro de colina con ácido láctico (ChCl:LA) y otra de cloruro de colina con ácido oxálico (ChCl:OxA). A continuación, se llevaron a cabo una serie de experimentos en los que se puso en contacto la biomasa con las mezclas de DES. Estos experimentos se realizaron en diferentes condiciones de operación, ya que se varió la temperatura, el tiempo y el ratio de biomasa:disolvente. Para cada ensayo se realizó una caracterización en términos de celulosa, hemicelulosa y lignina. Una vez hecho todo esto, se realizó un análisis estadístico Box-Behnken de los resultados obtenidos y se procedió a comparar los resultados con los disponibles en la literatura científica. De este estudio se han obtenido las siguientes conclusiones:

- El CSS tienen una composición del 19,11% en celulosa, 30,27% en hemicelulosa, 33,35% en lignina y 10,24% en humedad. Además, la mayoría de las partículas de CSS tenían un tamaño entre 0,01 y 0,5 mm.
- Los dos DES estudiados presentaron unos buenos resultados a la hora de incrementar el porcentaje de celulosa y de eliminar la hemicelulosa y la lignina. La mezcla de ChCl:LA alcanzó unos valores óptimos del 44,26% en celulosa, 34,29% en holocelulosa y 18,66% en lignina. Por otro lado, la mezcla de ChCl:OxA llegó a unos valores de 63,24% en celulosa, 29,11% en holocelulosa y 13,06% en lignina. Estos datos nos indican que el DES que mejor resultados ofrece es la de ChCl:OxA.

- La variable que más ha influido en los experimentos realizados ha sido la temperatura, mientras que el ratio y el tiempo han tenido una influencia similar.
- En el caso del ChCl:LA, las condiciones de operación que optimiza cada componente estudiado son las siguientes: para la celulosa es óptimo trabajar 5h, a 120°C y con un ratio de 1:19,69; para la holocelulosa 3,01h, a 60°C y con un ratio de 1:30; y para la lignina 5h, a 120°C y con un ratio 1:30.
- En el caso del ChCl:OxA, las condiciones de operación que optimiza cada componente estudiado son las siguientes: para la celulosa es óptimo trabajar 1h, a 118,65°C y con un ratio de 1:10; para la holocelulosa 5h, a 76,5°C y con un ratio de 1:29,98; y para la lignina 1h, a 66,5°C y con un ratio 1:30.
- En cuanto al análisis de varianza, para la mezcla de ChCl:LA, el modelo explica 72,32% de la variabilidad en el porcentaje de celulosa, el 98,93% de la variabilidad del porcentaje en holocelulosa y el 63,95% de la variabilidad del porcentaje en lignina. Para la mezcla de ChCl:OxA el modelo explica 63,97% de la variabilidad en el porcentaje de celulosa, el 81,35% de la variabilidad del porcentaje en holocelulosa y el 96,07% de la variabilidad del porcentaje en lignina.
- Comparando los resultados de los DES estudiados con otros encontrados en la bibliografía utilizados para tratar CSS, se puede concluir que resultan más eficaces a la hora de aumentar el contenido en celulosa, mientras que el nivel de deslignificación es similar.
- Comparando con otros residuos lignocelulósicos, se ve que los resultados tanto de celulosa, como de lignina obtenidos tras el tratamiento entran dentro del rango de valores esperado.
- Se podría decir que el CSS es una buena materia prima para implementar en un modelo de biorrefinería rural, ya que se trata de un residuo con el que se propiciaría la economía circular. Además, presenta un buen comportamiento en la aplicación del tratamiento con DES y bajo contenido típico en hemicelulosa.
- El tratamiento con DES se puede considerar un proceso innovador y más sostenible que los convencionales, debido a su menor consumo energético y uso de reactivos más ecológicos. Estos reactivos además son más fáciles de sintetizar, estables y rentables en comparación con los utilizados en otros procesos.

- Este trabajo ha contribuido en los resultados del proyecto europeo CELISE y sirve de base para la innovación en pequeñas y medianas empresas, así como zonas rurales de Europa y América Latina a través de la valorización de residuos de agricultura.

Como trabajo futuro sería de interés estudiar más en profundidad la viabilidad técnica y económica de una implementación del proceso a mayor escala. Por otra parte, resultaría interesante indagar en el uso de nuevos DES e incluso en la combinación de procesos de pretratamiento. Por último, y para incidir más en el concepto de economía circular, sería oportuno valorar rutas de recuperación de los residuos generados en el proceso.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Siñeriz Niembro, Nuria. 2021. "Use of Deep Eutectic Solvents in coffee silverskin residue for its valorization". TFG. Universidad de Cantabria.
- International Coffee Organization. Información histórica. 2022. [Consulta 27/10/2022]. Disponible en: https://www.ico.org/new_historical.asp
- Danielewicz, Dariusz et al. 2015. "Selected Grass Plants as Biomass Fuels and Raw Materials for Papermaking, Part II. Pulp and Paper Properties." *BioResources* 10(4): 8552–64.
- Cruz, Noemi et al. 2018. "THM Densification of Wood." *BioResources* 13(2): 2268–82
- Arce, Carlos, Tamara Llano, Sara González, and Alberto Coz. 2020. "Use of Green Solvents as Pre-Treatment of Dissolving Pulp to Decrease CS₂ Consumption from Viscose Production." *Cellulose* 27(17): 10313–25. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03465-3>
- Naidu DS, Hlangothi SP, John MJ (2018) Bio-based products from xylan: a review. *Carbohydr Polym* 179:28–41. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.064>
- Jablonský M, Škulcová A, Malvis A, Šima J (2018) Extraction of value-added components from food industry based and agro-forest biowastes by deep eutectic solvents. *J Biotechnol* 282:46–66. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.06.349>
- Laura Sofía Torres-Valenzuela & Ana Ballesteros-Gómez & Soledad Rubio (2019) Green Solvents for the Extraction of High Added-Value Compounds from Agri-food Waste. *Food Engineering Reviews* (2020) 12:83–100. <https://doi.org/10.1007/s12393-019-09206-y>
- Galanakis CM (2015) Food waste recovery. Processing technologies and industrial techniques. Elsevier
- Kumar K, Yadav AN, Kumar Vet al (2017) Desperdicio de alimentos: un recurso biológico potencial para la extracción de nutraceuticos y compuestos bioactivos. *Biorecurso Bioproceso* 4:18–14. <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0148-6>
- Carciochi RA, D'Alessandro LG, Vauchel P, et al. (2017) Capítulo 4 - valorización de subproductos agroalimentarios mediante la extracción de valiosos compuestos bioactivos mediante procesos ecológicos. En: Grumezescu AM, Holban AM (eds) *Extracción de ingredientes por métodos fisicoquímicos en alimentos*. Prensa académica, págs. 191– 228. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811521-3.00004-1>

- Strati IF, Oreopoulou V (2014) Recuperación de carotenoides de los subproductos del procesamiento del tomate: una revisión. *Alimentos Res Int* 65: 311-321.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.032>
- Shalini S. Arya, Rahul Venkatram, Pavankumar R. More, Poornima Vijayan (2021). The wastes of coffee bean processing for utilization in food: a review.
- Alessandra Procentese, Francesca Raganati, Giuseppe Olivieri, Maria Elena Russo, Lars Rehmann and Antonio Marzocchella (2018) Deep Eutectic Solvents pretreatment of agro-industrial food waste. *Biotechnol Biofuels* 11:37
<https://doi.org/10.1186/s13068-018-1034-y>
- Rajeev Ravindran, Swarna Jaiswal, Nissreen Abu-Ghannam, Amit K. Jaiswal (2017). Two-step sequential pretreatment for the enhanced enzymatic hydrolysis of coffee spent waste.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852417306880?via%3Dihub>
- Félix García-Ochoa, Priscila Vergara, Mateusz Wojtusik, Soledad Gutiérrez, Victoria E. Santos, Miguel Ladero, Juan C. Villar (2021) Multi-feedstock lignocellulosic biorefineries based on biological processes. *Cultivos y productos industriales* 172.
www.elsevier.com/locate/indcrop
- Alok Satlewal, Ruchi Agrawala, Samarthya Bhagiaa, Joshua Sangoroa, Arthur J. Ragauskas (2018) Natural deep eutectic solvents for lignocellulosic biomass pretreatment: Recent developments, challenges and novel opportunities. Department of Chemical and Biomolecular Engineering, University of Tennessee, Knoxville, TN 37996, USA.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.08.009>
- Sarmad, S., Xie, Y., Mikkola, J.-P., Ji, X., 2017. Screening of deep eutectic solvents (DESs) as green CO₂ sorbents: from solubility to viscosity. *New J. Chem.* 41 (1), 290–301.
- Smith, E.L., Abbott, A.P., Ryder, K.S., 2014. Deep Eutectic Solvents (DESs) and their applications. *Chem. Rev.* 114 (21), 11060–11082.
- A. R. A. Aziz, S. A. Aziz. 2018. Application of Box Behnken Design to Optimize the Parameters for Kenaf-Epoxy as Noise Absorber. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 454 012001 doi:10.1088/1757-899X/454/1/012001
- Hao, J., Fang, X., Zhou, Y., Wang, J., Guo, F., Li, F., & Peng, X. (2021). Development and optimization of solid lipid nanoparticle formulation for ophthalmic delivery of

chloramphenicol using a Box-Behnken design.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3084315/>

- Shen, Xiao Jun et al. 2019. "Facile Fractionation of Lignocelluloses by Biomass-Derived Deep Eutectic Solvent (DES) Pretreatment for Cellulose Enzymatic Hydrolysis and Lignin Valorization." *Green Chemistry* 21(2): 275–83.
- Ballesteros, Lina F., José A. Teixeira, and Solange I. Mussatto. 2014. "Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin." *Food and Bioprocess Technology* 7(12): 3493–3503.
- Haykiri-Acma, H., S. Yaman, M. Alkan, and S. Kucukbayrak. 2014. "Mineralogical Characterization of Chemically Isolated Ingredients from Biomass. "Energy 41 Conversion and Management 77: 221–26". Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2013.09.024>
- Faqeeha Fatima Haq, Hamayoun Mahmood, Tanveer Iqbal, Muhammad Measam Ali, Maria Jafar Khan, Muhammad Moniruzzaman. 2022. Development of sustainable biocomposite panels assisted with deep eutectic solvent pretreatment of agro-industrial residue. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.120417>
- Xue-Dan Hou, Guo-Jian Feng, Mei Ye, Chao-Mei Huang, Yi Zhang. 2017. Significantly enhanced enzymatic hydrolysis of rice straw via a highperformance two-stage deep eutectic solvents synergistic pretreatment. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.027>
- Parveen Kumar, Diane M. Barrett, Michael J. Delwiche, and Pieter Stroeve *Industrial & Engineering Chemistry Research* 2009 48 (8), 3713-3729 DOI: 10.1021/ie801542g
- Darrel Sarvesh Naidua, Shanganyane Percy Hlangothib, Maya Jacob Johna. 2018. Bio-based products from xylan: A review. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.064>