

Producción de oligosacáridos mediante autohidrólisis de cáscara de cacao

Dana Carolina Gómez Castillo y Geoffry Farid Jaimes Villamizar

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico

Modalidad trabajo de investigación

Directora

Debora Alcida Nabarlatz

Ph. D. in Chemical and Process Engineering

Codirector

Laura Valentina Quintero Prada

Ingeniera Química

Universidad Industrial De Santander

Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Bucaramanga

2024

**Dedicatoria**

*A mi familia por sus buenos deseos durante la carrera.*

*A mis padres César y Stella por su amor y apoyo incondicional en cada etapa de mi vida,  
estando siempre cuando más los necesitaba.*

*A mis mejores amigos de la vida por su constante apoyo, especialmente a Víctor y Juanes por  
todas experiencias vividas y su constante ayuda durante la carrera.*

*A Dana, mi compañera y amiga por estar presente siempre que la necesitaba y por sus  
enseñanzas.*

*A mis compañeros y amigos de carrera por contribuir en mi formación y en los momentos  
vividos durante esta etapa.*

**Geoffry Farid Jaimes Villamizar**

*A mi familia por el apoyo brindado durante toda la carrera.*

*A mis padres y mis hermanos por su esfuerzo, amor y apoyo en cada momento de mi vida y creer siempre en mí.*

*A mis mejores amigos de la universidad por escucharme y acompañarme en los buenos y malos momentos.*

*A Geoffry, mi compañero y amigo por su amistad, apoyo y todos los momentos vividos.*

*A mis compañeros y amigos de carrera por todas las enseñanzas y experiencias vividas.*

***Dana Carolina Gómez Castillo***

### **Agradecimientos**

A nuestra directora Débora Nabarlatz, por su acompañamiento y guía durante este proceso.

A los técnicos don Eduardo y don Guillermo por su constante apoyo en el laboratorio de procesos de la escuela.

Al los miembros del grupo INTERFASE, especialmente a Valentina por sus enseñanzas con el manejo de los equipos de laboratorio y de cómo llevar a cabo la investigación.

Al grupo GIFTEX por prestarnos su cromatógrafo para llevar a cabo el análisis del proyecto, especialmente a Jesús por enseñarnos el manejo del equipo y estar siempre atento a nuestras dudas.

A la Universidad Industrial de Santander por haber sido parte de nuestra formación y ser nuestro segundo hogar durante esta etapa.

**Tabla de contenido**

|  |    |
|--|----|
| Introducción.....  | 12 |
| 1. Estado del arte.....  | 14 |
| 1.1. Composición de la biomasa residual .....  | 14 |
| 1.2. Métodos de producción de oligosacáridos .....   | 15 |
| 1.3. Obtención de oligosacáridos a partir de residuos agroindustriales.....  | 16 |
| 1.4. Modelo Cinético de la producción de oligosacáridos .....  | 17 |
| 1.5. Polifenoles totales de la cáscara de cacao .....  | 20 |
| 2. Objetivos.....  | 22 |
| 2.1. Objetivo general .....  | 22 |
| 2.2. Objetivos específicos .....   | 22 |
| 3. Metodología.....  | 23 |
| 3.1. Análisis del efecto de la variación de la temperatura y el tiempo de reacción sobre la<br>producción de oligosacáridos mediante autohidrólisis a escala laboratorio ..... | 23 |
| 3.1.1. Autohidrólisis.....   | 23 |
| 3.1.2. Cuantificación de oligosacáridos .....  | 24 |
| 3.1.3. Distribución de masa molar .....  | 26 |
| 3.1.4. Cuantificación de polifenoles totales .....   | 26 |
| 3.1.5. Caracterización del sólido remanente.....   | 26 |
| 3.2. Definición del modelo cinético .....  | 27 |
| 3.2.1. Selección y desarrollo del camino de reacción y determinación de los parámetros<br>cinéticos.....   | 27 |
| 3.3. Validación de las mejores condiciones de producción de oligosacáridos a escala piloto (20<br>L).....  | 28 |
| 4. Resultados y discusión .....  | 29 |

|  |    |
|--|----|
| 4.1. Biomasa disuelta.....   | 29 |
| 4.2. Concentración de monómeros y oligómeros presentes en el hidrolizado.....        | 32 |
| 4.3. Distribución de masa molar de los oligosacáridos .....                          | 34 |
| 4.4. Caracterización del sólido remanente de la autohidrólisis.....                  | 36 |
| 4.5. Cuantificación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu.....        | 38 |
| 4.6. Modelo cinético de producción de oligosacáridos.....                            | 39 |
| 4.7. Validación de mejores condiciones de autohidrólisis a escala piloto (20 L)..... | 42 |
| 5. Conclusiones .....  | 46 |
| 6. Recomendaciones.....  | 47 |
| Referencias bibliográficas .....   | 48 |
| Apéndices .....  | 55 |

**Lista de tablas**

|   |    |
|---|----|
| Tabla 1 Caracterización de la cáscara de cacao .....                | 14 |
| Tabla 2 Parámetros cinéticos provenientes del modelo cinético ..... | 41 |

### Lista de figuras

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 Esquema de la metodología propuesta en el presente trabajo .....  | 23 |
| Figura 2 Cantidad de masa disuelta con respecto al tiempo de reacción para la autohidrólisis de cáscara de cacao a 160°C (●), 180°C (●) y 190°C (●) en microrreactores de 50 mL.....   | 30 |
| Figura 3 Hemicelulosa extraída de la cáscara de cacao respecto al tiempo de reacción a 160°C (a), 180°C (b) y 190°C (c) en microrreactores de 50 mL.....   | 31 |
| Figura 4 Concentración de monómeros y oligómeros de glucosa (●) y xilosa + arabinosa (●) obtenidos en el hidrolizado producto de autohidrólisis a 160°C (a), 180°C (b) y 190°C (c) en microrreactores de 50 mL.....  | 32 |
| Figura 5 Distribución de masa molar para los hidrolizados de cáscara de cacao obtenidos a 160°C (a), 180°C (b) y 190°C (c) y tiempos de reacción de 15 min (●), 30 min (●) y 60 min (●) en microrreactores de 50 mL.....   | 35 |
| Figura 6 Concentraciones de lignina Klason (●) y monómeros de glucosa (●) y xilosa + arabinosa (●) presentes en el sólido remanente del proceso de autohidrólisis a 160°C (a), 180°C (b) y 190°C (c) en microrreactores de 50 mL.....  | 36 |
| Figura 7 Rendimiento de polifenoles totales para la autohidrólisis de la cáscara de cacao a 160°C (●), 180°C (●) y 190°C (●) en microrreactores de 50 mL.....  | 38 |
| Figura 8 Modelo cinético (---) para la reacción de autohidrólisis a diferentes temperaturas y tiempos de reacción, ajustado a las concentraciones de hemicelulosa remanente en el sólido (▲), oligosacáridos (■) y monómeros (◆) en el licor ajustado a los valores experimentales ..... | 40 |
| Figura 9 Curvas de calentamiento en el microrreactor de 50 mL (●) y el reactor de 20 L (●).....  | 43 |
| Figura 10 Concentración de monómeros (●) y oligómeros (●) de glucosa y xilosa + arabinosa obtenidos en el reactor de 20 L (a) y en el microrreactor de 50 mL (b).....  | 44 |
| Figura 11 Distribución de masa molar para el hidrolizado de cáscara de cacao obtenido en el reactor de 20 L (a) y en el microrreactor de 50 mL (b).....  | 45 |

**Lista de apéndices**

|  |    |
|--|----|
| Apéndice A Curvas de calibración para la cuantificación de azúcares mediante HPLC .....                            | 55 |
| Apéndice B Curva de calibración para análisis de distribución de masa molar mediante GPC ...                       | 58 |
| Apéndice C Curva de calibración para la cuantificación de polifenoles utilizando ácido gálico como patrón .....    | 59 |
| Apéndice D Modelo cinético .....   | 60 |
| Apéndice E Protocolos de operación .....   | 64 |
| Apéndice F Concentración de monómeros y oligómeros de xilosa y arabinosa y glucosa en el licor hidrolizado .....   | 67 |
| Apéndice G Concentración de Lignina Klason y monómeros de xilosa, arabinosa y glucosa en el sólido remanente ..... | 68 |
| Apéndice H Perfiles de temperatura .....   | 69 |
| Apéndice I Resultados autohidrólisis a escala piloto en el reactor batch de 20 L .....                             | 71 |

## Resumen

**Título:** Producción de oligosacáridos mediante autohidrólisis de cáscara de cacao\*

**Autor:** Dana Carolina Gómez Castillo, Geoffry Farid Jaimes Villamizar\*\*

**Palabras clave:** Oligosacáridos, cáscara de cacao, autohidrólisis, modelo cinético, HPLC, severidad, escala piloto.

**Descripción:** El presente trabajo de investigación consistió en determinar las condiciones de operación adecuadas para maximizar el rendimiento de producción de oligosacáridos a partir de la cáscara de cacao, el cual es uno de los principales residuos generados a partir de este fruto en Colombia. Para esto, se realizó una autohidrólisis a escala laboratorio en reactores de 50 mL empleando diferentes condiciones de tiempo y temperatura para la extracción de los oligosacáridos. La cuantificación de oligo y monosacáridos presentes en el licor se realizó mediante HPLC y SEC. Adicionalmente, se cuantificaron los polifenoles totales y el sólido remanente. Las condiciones que permitieron obtener el mayor rendimiento de extracción de xilo-oligosacáridos se validaron a escala piloto en un reactor batch de 20 L. Los resultados mostraron que el hidrolizado obtenido a las condiciones de temperatura de 180°C y tiempo de reacción de 30 minutos alcanzó una concentración máxima de xilo-oligosacáridos de 10.714 g/L, así como una concentración máxima de oligómeros de glucosa de 6.461 g/L. El modelo cinético para la reacción de autohidrólisis permitió ajustar los parámetros que describen la producción de oligosacáridos, los cuales presentaron un ajuste ( $R^2$ ) superior a 0.97 respecto a los valores experimentales.

---

\*Trabajo de grado.

\*\*Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Ph. D. Debora Alcida Nabarlatz, Codirector: Ing. Valentina Quintero Prada.

### Abstract

**Title:** Production of oligosaccharides by autohydrolysis of cocoa pod husk\*

**Authors:** Dana Carolina Gomez Castillo, Geoffry Farid Jaimes Villamizar\*\*

**Keywords:** Oligosaccharides, cocoa pod husk, autohydrolysis, kinetic model, HPLC, severity, pilot scale.

**Description:** The present research work focused on determining the appropriate operation conditions to maximize the production yield of oligosaccharides from cocoa pod husk, which is one of the main wastes generated from this fruit in Colombia. To achieve this, autohydrolysis was carried out on a laboratory scale in 50 mL reactors using different time and temperature conditions for the extraction of oligosaccharides. The quantification of oligo and monosaccharides present in the liquor was carried out by HPLC and SEC. Additionally, total polyphenols and the remaining solid were quantified. The conditions that allowed obtaining the highest extraction yield of xylo-oligosaccharides were validated on a pilot scale in a 20 L batch reactor. The results showed that the hydrolyzate obtained at the temperature conditions of 180°C and reaction time of 30 minutes reached a maximum concentration of xylo-oligosaccharides of 10.714 g/L, as well as a maximum concentration of glucose oligomers of 6.461 g/L. The kinetic model for the autohydrolysis reaction allowed adjusting the parameters that describe the production of oligosaccharides, which presented an adjustment ( $R^2$ ) greater than 0.97 with respect to the experimental values.

---

\*Bachelor thesis.

\*\*Faculty of Physical-Chemical Engineering. School of Chemical Engineering. Director: Ph. D. Debora Alcida Nabarlatz, Co-director: Ing. Valentina Quintero Prada.

### **Introducción**

En la actualidad, el cacao es uno de los principales productos agrícolas de Colombia, dado que se producen aproximadamente 62.000 toneladas anuales, las cuales generan 165.000 empleos en más de 400 municipios del país [1]. En la cadena agroindustrial del cacao se aprovecha tan solo el 15% del material vegetal, mientras que el 85% restante corresponde a residuos vegetales acumulados en los periodos de cosecha y procesamiento, de los cuales el más abundante es la cáscara de cacao, la cual representa el 70-80% de todo el fruto [2]. Estos residuos equivalen a 45.000 toneladas anuales que se dejan en los suelos de las áreas de cultivo o se incineran, lo que genera consecuencias ambientales como contaminación, propagación de malos olores y enfermedades que ocasionan la muerte de algunos árboles y lesiones en la parte externa e interna del fruto, que finalmente afectan la calidad y producción del cacao [3].

Debido a esto, en la actualidad se están buscando alternativas para aprovechar estos residuos tales como producción de fertilizantes, biomateriales o alimento para ganado [3]. Debido a que la biomasa vegetal está compuesta de hemicelulosa, celulosa y lignina, una oportunidad de aprovechamiento es la obtención de oligosacáridos con potencial prebiótico a partir de este material lignocelulósico. De esta forma, los residuos de biomasa como la cáscara de cacao representan una materia prima potencial para la producción de oligosacáridos dado su bajo costo y alta disponibilidad [4], por lo que, la valorización de la cáscara de cacao como fuente de producción de oligosacáridos podría ser una opción favorable para su aprovechamiento.

Los oligosacáridos son carbohidratos de bajo peso molecular formados por monosacáridos unidos mediante enlaces glucosídicos. Existen distintos tipos de oligosacáridos, como los xilooligosacáridos, fructooligosacáridos y galactooligosacáridos, los cuales poseen un potencial efecto prebiótico benéfico para la salud humana, ya que estimulan el crecimiento de bacterias benéficas

en el colon y son fuente de fibra dietaria, lo cual ha hecho que adquieran gran interés en la industria alimentaria y farmacéutica [5].

Debido a su efecto prebiótico, el cual se obtiene a menores concentraciones cuando se los compara con otros compuestos similares, se considera que los oligosacáridos son uno de los ingredientes alimenticios con mayor competitividad en el mercado [6]. Esto se debe a que el precio de los oligosacáridos en el mercado puede variar entre 25-50 USD/kg dependiendo de su pureza y, dado que el mercado mundial de oligosacáridos está en aumento, se estima una proyección incremental de 130 millones de USD para 2025, así como ganancias de aproximadamente 9.4 billones de USD para el año 2026 [7].

El grupo de investigación INTERFASE ha realizado investigaciones en la producción de oligosacáridos a partir de biomasas como pergamino de café, bagazo de caña y raquis de palma mediante autohidrólisis en microrreactores y reactor a escala piloto de 5 y 20 L [13]. En el presente trabajo, se propone obtener oligosacáridos a partir de cáscara de cacao mediante reacción de autohidrólisis en microrreactores de 50 mL. Para ello, se analizará el efecto de la temperatura y el tiempo de reacción sobre el rendimiento y las características de composición y peso molecular de los oligosacáridos, ajustando los parámetros cinéticos de reacción, y finalmente se validarán a escala piloto (20 L) las mejores condiciones de producción de oligosacáridos establecidas.

## 1. Estado del arte

### 1.1. Composición de la biomasa residual

Según *Patel* [3], la biomasa vegetal está compuesta principalmente por material lignocelulósico, el cual se encuentra conformado mayoritariamente por celulosa, hemicelulosa y lignina. La composición de biomasa de la cáscara de cacao (%p/p) en base seca es: 36.60-56.10% de fibra dietética, 24.24-35% de celulosa, 11.00-18.72% de hemicelulosa, 14.60-26.38% de lignina, 4.21-10.74% de proteínas totales, 1.50-2.24% de lípidos, 6.10-9.20% de pectina, 6.70-10.02% (variable según el pretratamiento que tenga la biomasa) de cenizas y 4.60-6.90% de componentes fenólicos totales [3], [4].

Por otro lado, *Sanabria, J* [8] con el apoyo del grupo INTERFASE realizó una caracterización de la cáscara de cacao para evaluar el potencial de la biomasa como materia prima en la producción de oligosacáridos. La caracterización obtenida se muestra en la **tabla 1**.

**Tabla 1**

*Caracterización de la cáscara de cacao.*

| Cáscara de cacao      |                    |
|-----------------------|--------------------|
| Compuesto             | Composición [%p/p] |
| Hemicelulosa          | 18.047             |
| Alfacelulosa          | 30.480             |
| Lignina               | 27.902             |
| Extractivos acuosos   | 9.967              |
| Extractivos orgánicos | 0.135              |
| Cenizas               | 5.520              |
| Humedad               | 11.83              |

*Nota.* [%p/p] en base seca. Adaptado de *Sanabria, J.* (2016). Caracterización de biomasa residual agrícola para la evaluación de su uso como materia prima en la producción de oligosacáridos.

## 1.2. Métodos de producción de oligosacáridos

Para la extracción de oligosacáridos existen tres métodos usados frecuentemente que permiten obtener altos rendimientos [9]. En primer lugar, se tienen los tratamientos químicos empleando hidrólisis ácida o básica, los cuales proporcionan rendimientos de extracción mayores que los obtenidos en otros tratamientos como, por ejemplo, la autohidrólisis. Sin embargo, los tratamientos químicos involucran el uso de ácidos y bases fuertes, dando lugar a la formación de subproductos tóxicos como el furfural y el HMF, donde además en este tipo de tratamiento también se suele presentar corrosión en los equipos por las altas temperaturas empleadas normalmente en el proceso [11].

En segundo lugar, se encuentra la hidrólisis enzimática, la cual presenta una alta especificidad que permite obtener una pureza en los oligosacáridos mayor a la de la hidrólisis ácida y básica, por lo que, al ser más selectiva, evita la formación de subproductos no deseados. Sin embargo, la enzima debe ser compatible con el sustrato y se requieren pretratamientos del material lignocelulósico, lo que representa un método más costoso si se desea implementar a escala industrial [9], [31].

Finalmente, se encuentra la autohidrólisis, la cual permite la degradación del material lignocelulósico con el uso de agua como solvente, ya sea como vapor o líquido, en condiciones de alta temperatura, por lo que es un método amigable desde el punto de vista ambiental. No obstante, es importante encontrar las condiciones adecuadas para este proceso ya que variables como la temperatura y el tiempo de reacción afectan considerablemente el rendimiento de extracción de oligosacáridos, el tamaño de estos, y la formación de subproductos [10], [22].

### 1.3. Obtención de oligosacáridos a partir de residuos agroindustriales

En los últimos años, se ha investigado con mayor rigurosidad el potencial que tienen los residuos agroindustriales como fuente de biomasa para múltiples aplicaciones como lo son la producción de alimentos, salud, fuentes de energía, entre otras [11]. En el caso de la extracción de oligosacáridos mediante autohidrólisis se han estudiado diferentes biomásas vegetales como el pergamino de café, raquis del palma y bagazo de caña con las cuales se ha buscado encontrar las condiciones de operación más adecuadas [12], [13].

En el año 2017, *Leal* [9] realizó una investigación acerca de la extracción de oligosacáridos a partir de residuos de café tales como la cáscara y la borra, en donde se determinó que éstos presentan un gran potencial para la obtención de oligosacáridos mediante autohidrólisis, alcanzando concentraciones de 20.00 y 28.43 [g/L] en el hidrolizado de la cáscara y la borra de café, respectivamente. Por otro lado, se observó que la temperatura y el tiempo de reacción más adecuados fueron 190°C y 30 min, pues se obtuvo un alto rendimiento de extracción en porcentaje másico para ambas biomásas del 65.7 y 67% [g/g], respectivamente. A su vez, esta investigación estudió la relación de biomasa/solvente, y se encontró que el efecto de esta variable fue poco significativo en la extracción de oligosacáridos [9].

Por otro lado, en trabajos previos del grupo de Investigación en Tecnologías de Valorización de Residuos y Fuentes Agrícolas e Industriales para la Sustentabilidad Energética (INTERFASE) en la obtención de oligosacáridos mediante autohidrólisis, se buscó evaluar la temperatura y tiempo de reacción mediante autohidrólisis para obtener xilo-oligosacáridos (XOs) a partir de raquis de palma, bagazo de caña panelera y pergamino de café a escala de laboratorio [13], [20].

En el caso de *Sandoval y Viviescas* [13], se encontró que el pergamino de café fue la biomasa con mayor potencial para la extracción de xilo-oligosacáridos, con una concentración máxima de 12.38 g/L de XOS en un rango de 170-200°C en un tiempo de reacción de 30 minutos. A su vez, se llevó a cabo el experimento a escala piloto (5 L) a las mismas condiciones de operación para el pergamino de café, encontrando una concentración máxima de 9.33 g/L de XOs aproximadamente [13]. De igual forma, en los resultados de *Acosta* [20] se presentó al pergamino de café como la biomasa con mayor potencial para la extracción XOs con una concentración máxima de 14.2 g/L de XOs a las mismas de condiciones de temperatura y tiempo de reacción estudiadas por *Sandoval y Viviescas* [13]. Por otro lado, presentó una concentración máxima de 13.4 g/L de XOs a escala piloto (3.78 L) a esas mismas condiciones [20].

Pese a la gran variedad de estudios que se han realizado, sigue siendo poca la información que se encuentra acerca de la extracción de XOs en residuos de cacao. Sin embargo, en el año 2021 se realizó una investigación en donde se empleó un tratamiento hidrotérmico con ácido cítrico para la obtención de xilo-oligosacáridos, pectina y xilosa a partir de la cáscara de cacao. Las condiciones más adecuadas de ese pretratamiento fueron de 120°C y un tiempo de reacción de 10 minutos, en donde se pudo extraer 55 kg de xilosa y 25 kg de xilo-oligosacáridos a partir de 1 tonelada de cáscara de cacao [14].

#### **1.4. Modelo cinético de la producción de oligosacáridos**

Existen muchas herramientas que permiten entender y controlar el comportamiento del proceso de autohidrólisis. Las más relevantes son el factor de severidad y los modelos cinéticos. El factor de severidad es un factor adimensional que corresponde a una medida de la intensidad de las variables, el cual permite relacionar los parámetros de temperatura con el tiempo de reacción

[15]. El ajuste de los parámetros para alcanzar el valor de severidad requerido se realizó a través del modelo planteado por *Overend et al.* [14]:

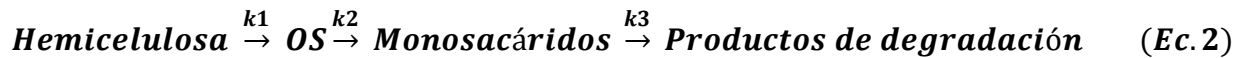
$$R_o = \int_0^t \exp \left[ \frac{T(t)-100}{14.75} \right] dt \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde  $t$  es el tiempo de reacción en min,  $T$  es la temperatura de reacción en °C, 14.75 es un valor empírico relacionado a la energía de reacción y 100 es la temperatura de referencia en °C.

Por un lado, el factor de severidad es utilizado para comparar el proceso de autohidrólisis del tratamiento del material lignocelulósico a diferentes condiciones y equipamiento, el cual permite analizar qué tan severo es el efecto de la temperatura en función del tiempo al que se degrada el material lignocelulósico [16], [18].

En el caso de los modelos cinéticos, estos son la principal herramienta para entender el proceso y poder trabajar a escalas mayores [16]. Los modelos que representan degradación de hemicelulosa son complejos y rigurosos debido a que existen limitaciones como la producción y difusión desigual que se da a través de los iones de la matriz polimérica heterogénea y la formación de reacciones secundarias complejas [17]. Para modelar esto a un menor costo computacional se realizan dos aproximaciones las cuales consisten en la asunción de una degradación de polisacáridos irreversible y bajo una cinética de primer orden [16], [18]. Adicionalmente, se considera que el sistema de reacciones es pseudo-homogéneo, por lo que la cinética sigue la ecuación de Arrhenius [18].

Un posible camino de reacción que se utiliza para desarrollar el modelo cinético se presenta en la ecuación 2, el cual se encuentra en función de la hemicelulosa, los oligosacáridos (OS), los monosacáridos y los productos de degradación.



*Nota.* Adaptado de “Autohydrolysis of Annona cherimola Mill. seeds: Optimization, modeling, and products characterization” (pp. 2-9), por P. Branco, A. Dionísio, I. Torrado, F. Carvalheiro, P. Castilho, & L. Duarte, 2015, *Biochemical Engineering Journal*, 104 [18].

En este camino de reacción se asume que la producción de OS (oligosacáridos) es a partir de la fracción de hemicelulosa, los cuales luego son hidrolizados en monómeros que son finalmente descompuestos en productos de degradación [18]. Sin embargo, el modelamiento de la autohidrólisis de la hemicelulosa es complejo debido a la ocurrencia de múltiples reacciones, por lo que se asume que cada constante cinética ( $k_1$ ,  $k_2$  y  $k_3$ ) es dependiente de la temperatura y que la cinética sigue la ecuación de Arrhenius [13], [16]. Además, se asume que toda la hemicelulosa es hidrolizable y para los oligosacáridos solo se considera una fracción, independientemente de su peso molecular. Es decir, las unidades de monómeros que conforman los oligosacáridos se cuantifican como una sola, ignorando la estructura y tamaño de las cadenas que los conforman [16], [18].

Existe una variedad de modelos cinéticos de la degradación de sólidos lignocelulósicos disponibles en literatura como los expuestos por *Nabarlatz* [17] [38] y *Branco* [18] que exponen con mayor detalle la degradación de los productos de degradación como el furfural y el HMF, y la inclusión del ácido acético como compuesto derivado de la autohidrólisis.

Por otro lado, para definir las constantes cinéticas se utiliza el estudio de la velocidad de reacción, el cual describe el aumento o incremento de los oligosacáridos dependiente del tiempo, a temperatura constante. Se emplea la siguiente expresión [13]:

$$r_i = k * f(C_i) \quad (\text{Ec. 3})$$

En donde  $k$  es la constante de velocidad de reacción,  $f(C_i)$  es la concentración en función del tiempo y  $r_i$  la velocidad de reacción. Para el caso de la constante cinética, tal como se había mencionado, se sigue la ley de Arrhenius [13]:

$$k = k_o * e^{\frac{-E}{RT}} \quad (\text{Ec. 4})$$

En donde  $k_o$  es el factor pre exponencial o factor de frecuencia [ $\text{min}^{-1}$ ],  $E$  es la energía de activación [ $\text{kJ} * \text{mol}^{-1}$ ],  $R$  la constante de los gases [ $\text{J} * \text{mol}^{-1} * \text{K}^{-1}$ ] y  $T$  la temperatura absoluta a la que se lleva a cabo la autohidrólisis [ $\text{K}$ ].

### 1.5. Polifenoles totales de la cáscara de cacao

La cáscara de cacao contiene componentes fenólicos que pueden ser usados como sustancias antibacteriales y antioxidantes. Estos componentes fenólicos son resultado del metabolismo secundario de plantas que contienen uno o más derivados de hidróxidos de los anillos del benceno. Algunos de los componentes fenólicos que se encuentran en la cáscara de cacao son los ácidos fenólicos, flavonoles y flavonas [19],[21], [24], [36].

Para cuantificar los polifenoles totales extraídos de la cáscara de cacao se puede emplear el método de Folin-Ciocalteu. Una investigación realizada por *Nova, López & Cáceres* [35] propone usar Folin-Ciocalteu como método de cuantificación de polifenoles totales para la cáscara de cacao, en donde el reactivo Folin-Ciocalteu actúa como un agente oxidante de los polifenoles complejos al reaccionar con Folin y carbonato de sodio [19], los cuales pueden ser medidos por espectroscopía UV-Vis a 765 nm con el uso de ácido gálico como referencia para su cuantificación. De la investigación obtuvieron un rendimiento de 54.75 mg de ácido gálico/g de extracto seco de la prueba [36]. En trabajos anteriores del grupo de investigación INTERFASE ya se ha utilizado

este método para determinar los componentes fenólicos de hidrolizados de residuos agroindustriales [20].

Según un estudio realizado por *Nguyen et al* [21], la cáscara de cacao presenta un rendimiento de componentes fenólicos totales en un rango de 8.00-29.01 mg de ácido gálico/g de extracto seco con el método Folin-Ciocalteu. Por otro lado, con otros métodos de cuantificación tradicionales al emplear una solución metanol/acetona su rendimiento se encuentra entre 2.07-3.65 mg de ácido gálico/g de extracto seco de componentes fenólicos para la cáscara de cacao [22].

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo general

Determinar las condiciones de operación adecuadas para maximizar el rendimiento de producción de oligosacáridos mediante autohidrólisis de la cáscara de cacao a escala laboratorio y piloto.

### 2.2. Objetivos específicos

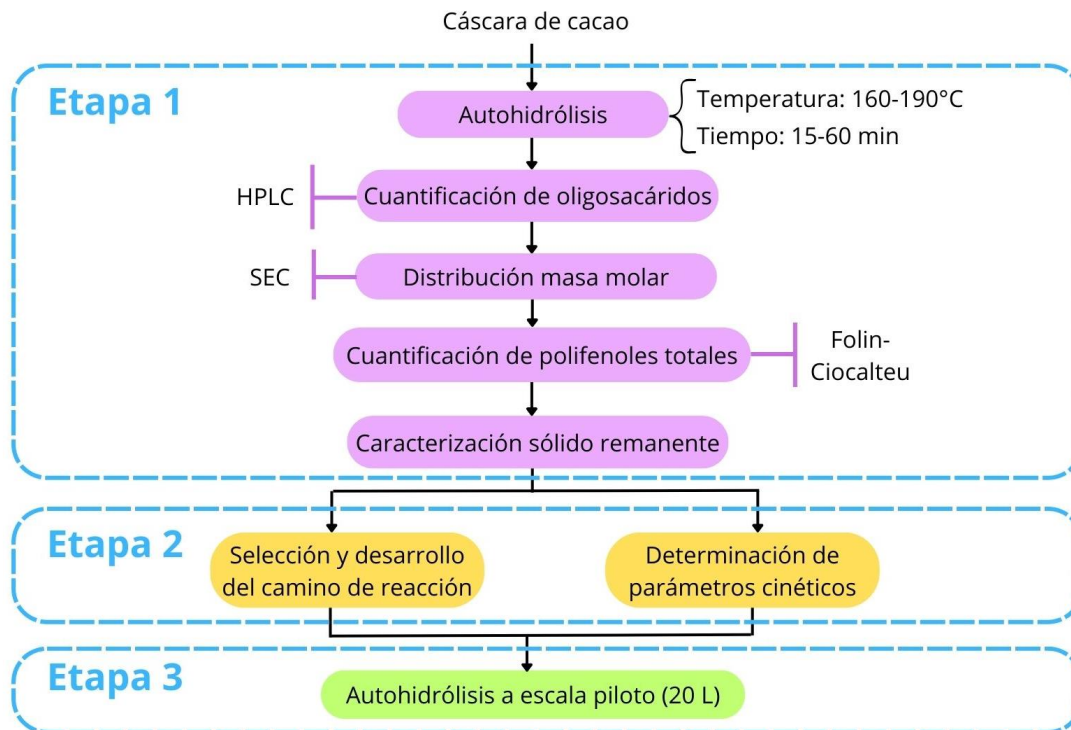
- Analizar el efecto de la variación de la temperatura y el tiempo de reacción sobre el rendimiento y las características de los oligosacáridos obtenidos mediante autohidrólisis a escala laboratorio (50 mL).
- Definir el modelo cinético que se ajuste a los parámetros que describen la producción de oligosacáridos a partir de cáscara de cacao.
- Validar las mejores condiciones de producción de oligosacáridos a escala piloto (20 L).

### 3. Metodología

El desarrollo metodológico del presente trabajo se llevó a cabo en tres etapas, las cuales se presentan en la **Figura 1**:

**Figura 1**

*Esquema de la metodología propuesta en el presente trabajo.*



#### 3.1. Análisis del efecto de la variación de la temperatura y el tiempo de reacción sobre la producción de oligosacáridos mediante autohidrólisis a escala laboratorio

##### 3.1.1. Autohidrólisis

La autohidrólisis fue realizada usando cáscara de cacao previamente sometida a un proceso de secado a 105°C y molienda posterior. El tamaño de partícula debe encontrarse entre 0.35-0.85 mm de acuerdo con lo establecido en [14]. Para la autohidrólisis se usaron reactores de 50 mL, los cuales fueron sumergidos en un baño de aceite de marca Memmert One 10 previamente calentado a la temperatura de reacción. Para cada experimento se utilizaron 3.75 g de biomasa seca y 30 mL

de agua destilada, de modo que se manejara una relación g de agua/g de biomasa de 8:1. El perfil de temperatura dentro del reactor fue monitoreado durante el proceso.

Los experimentos fueron realizados por duplicado usando condiciones de temperatura de 160, 180 y 190°C y tiempos de reacción de 15, 30 y 60 min. Estas condiciones fueron seleccionadas tomando como referencia pruebas previas realizadas en el grupo de investigación INTERFASE y los experimentos realizados en [13], las cuales fueron utilizadas para establecer el modelo cinético descrito en la sección 3.2.

Al finalizar el tiempo de reacción, los reactores fueron enfriados en un baño de agua fría para detener inmediatamente la reacción. Los reactores fueron descargados y el contenido fue filtrado al vacío para separar la fase líquida (hidrolizado) del sólido remanente. El sólido se secó en una estufa a 105°C durante 24 horas, para luego ser pesado con el fin de determinar el porcentaje de masa disuelta. Adicionalmente, una muestra del hidrolizado fue filtrado usando un filtro de jeringa de 0.2  $\mu\text{m}$  y se almacenó en viales de 2 mL a -24°C para su posterior caracterización por HPLC y SEC.

### **3.1.2. Cuantificación de oligosacáridos**

Para la cuantificación de oligosacáridos, se tomó una muestra del hidrolizado obtenido en la etapa anterior y se sometió a un proceso de poshidrólisis. Para ello, se tomaron 5 mL de muestra de licor de autohidrólisis y se mezclaron con 1 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5N. Esta solución se hidrolizó a 120°C en una autoclave durante 45 min para despolimerizar todos los oligosacáridos en sus respectivos monómeros mediante la ruptura de los enlaces existentes. La solución se filtró a través de un filtro de jeringa de 0.2  $\mu\text{m}$  y se almacenó en viales de 2 mL a -24°C para su posterior caracterización por HPLC.

Para la cuantificación de los monosacáridos y oligosacáridos en el licor de autohidrólisis mediante HPLC, se usó un cromatógrafo marca Shimadzu, facilitado por el Grupo de Investigación en Fisicoquímica Teórica y Experimental (GIFTEX), equipado con un detector de índice de refracción (RID) para detectar carbohidratos [22]. El método utiliza una columna Zorbax Carbohydrate a 30°C con fase móvil de acetonitrilo (ACN) / agua (70:30) v/v, con un flujo de 1.2 mL/min. Para cada uno de los componentes de interés (xilosa, arabinosa, glucosa, galactosa, manosa, fructosa, ramnosa) se establecieron curvas de calibración utilizando patrones de cada monómero, las cuales son presentadas en el **Apéndice A**.

La cantidad de oligosacáridos se calculó haciendo uso de la ecuación 5, donde  $O_i$  es la cantidad de oligosacáridos del componente  $i$  [g/L],  $MO_{phi}$  y  $MO_{hi}$  son la cantidad de monómeros del componente  $i$  [g/L] después de la poshidrólisis y autohidrólisis, respectivamente, obtenidos por el análisis de HPLC.

$$[O]_i = [MO_{phi}]_i - [MO_h]_i \quad (\text{Ec. 5})$$

El porcentaje de masa extraída (ME) se calculó mediante la ecuación 6, donde MI es la masa de la biomasa inicial [g] y MF es la masa seca del sólido obtenida después de realizar el proceso de autohidrólisis [g].

$$ME = \frac{MI - MF}{MI} * 100 \quad (\text{Ec. 6})$$

El porcentaje de hemicelulosa presente en el licor (% H) se determinó mediante la ecuación 7.

$$\% H = \frac{MO_h + O}{MI} * 100 \quad (\text{Ec. 7})$$

### 3.1.3. Distribución de masa molar

Para analizar la distribución de masas molares en el hidrolizado, se realizó un proceso de caracterización mediante cromatografía por exclusión de tamaño (SEC). La cromatografía SEC es una técnica de separación molecular que separa los compuestos en función de su tamaño [14]. Para este método se utilizó una columna Sepax a 30°C con fase móvil de acetonitrilo (ACN) / agua en una relación 10:90 v/v, con flujo de 0.3 [mL/min] en el mismo cromatógrafo utilizado en la etapa 3.1.2. El sistema fue calibrado utilizando xilosa (150 Da), glucosa (180 Da), celobiosa (342 Da) y dextranos de 6, 20 y 40 kDa como estándares, respectivamente. La respectiva curva de calibración se encuentra en el **Apéndice B**.

### 3.1.4. Cuantificación de polifenoles totales

Se realizó la respectiva cuantificación de polifenoles totales en los hidrolizados mediante el método de Folin-Ciocalteu. Para esto, se siguió la metodología descrita en [24] mediante espectrofotometría UV-Vis a una longitud de onda de 765 nm y volumen de muestra de 100  $\mu$ L utilizando ácido gálico como patrón (la curva de calibración se encuentra en el **Apéndice C**), con el fin de detectar las cantidades de polifenoles extraídos de la cáscara de cacao [25].

### 3.1.5. Caracterización del sólido remanente

Se realizó la caracterización del sólido remanente con el propósito de determinar el contenido de lignina Klason y si este tiene un contenido significativo de hemicelulosa u otros compuestos de interés que puedan extraerse para obtener una mayor cantidad de oligosacáridos. Para esto, se puso en contacto una muestra de 0.3 g de sólido con 3 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 24.1 N a 30°C durante una hora para realizar una hidrólisis primaria. Después, la solución H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> se diluyó a una concentración de 0.8 N para luego ser hidrolizada en autoclave a 120°C durante 30 min (hidrólisis secundaria) [20]. El hidrolizado obtenido de este análisis fue caracterizado por HPLC.

### 3.2. Definición del modelo cinético

#### 3.2.1. Selección y desarrollo del camino de reacción y determinación de los parámetros cinéticos

Para la evaluación del modelo cinético se seleccionó el camino de reacción expuesto en la ecuación 2 por su simplicidad matemática [18], cuyos parámetros cinéticos se determinaron para entender el comportamiento de las concentraciones de las especies a través del tiempo que permitieran describir adecuadamente el proceso de autohidrólisis. Las velocidades de reacción dependen de la temperatura según el modelo propuesto por Arrhenius y se consideraron reacciones pseudo-homogéneas y de primer orden. La estructura matemática del modelo se describió a través de los balances de masa individuales derivados del camino de reacción (ecuaciones 8-10), los cuales representan el modelo cinético de la degradación de los residuos lignocelulósicos y describen el cambio en la concentración de hemicelulosa presente en el sólido [H], oligosacáridos [O] y monómeros [M] con respecto al tiempo de reacción.

$$[H] = [H]_0 e^{-k_1 t} \quad (\text{Ec. 8})$$

$$[O] = [H]_0 * \left[ \frac{k_1}{k_2 - k_1} \right] * (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \quad (\text{Ec. 9})$$

$$[M] = [H]_0 * \left[ \frac{k_2 * k_1}{(k_2 - k_1) - (k_3 - k_1)} \right] * (e^{-k_1 t} - e^{-k_3 t}) - [H]_0 * \left[ \frac{k_2 * k_1}{(k_2 - k_1) - (k_3 - k_2)} \right] * (e^{-k_2 t} - e^{-k_3 t}) \quad (\text{Ec. 10})$$

$$F_o = \sum_n^i ([H] - [H_{exp}]) + ([O] - [O_{exp}]) + ([M] - [M_{exp}]) \quad (\text{Ec. 11})$$

Donde  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$  son las constantes de velocidad cinéticas de la ecuación 2,  $[H]_0$  la concentración inicial de hemicelulosa en el sólido lignocelulósico,  $t$  el tiempo de reacción y  $[H_{exp}]$ ,  $[O_{exp}]$ ,  $[M_{exp}]$  son las concentraciones experimentales de hemicelulosa, oligosacáridos (comprendidos por xilosa y arabinosa) y monómeros, respectivamente. Para la solución del sistema

de ecuaciones (8-10) se realizaron múltiples iteraciones en función de las constantes de velocidad empleando una función objetivo (ecuación 11). Para la optimización y ajuste de parámetros cinéticos mediante mínimos cuadrados se usó la función Isqnonlin de MATLAB. El código de programación realizado se encuentra en el **Apéndice D**. A su vez, se estimaron los parámetros cinéticos ( $k_o$  y  $E_a$ ) del modelo cinético mediante la linealización de la ecuación 4. El código en donde se estimaron estos parámetros se ubica en el **Apéndice D**.

### **3.3. Validación de las mejores condiciones de producción de oligosacáridos a escala piloto (20 L)**

Se realizó la reacción de autohidrólisis en el reactor batch modelo Star serie No. 2937 de 20 L con agitación ubicado en el Laboratorio de Procesos de la Escuela de Ingeniería Química con las condiciones óptimas determinadas en la etapa 3.1.2., con el fin de verificar el efecto del incremento del volumen en los rendimientos y las características de los oligosacáridos obtenidos. Para todas las pruebas, el reactor fue cargado con 1080 g de biomasa y 8640 mL de agua destilada, de modo que se mantuviera la misma relación biomasa/agua de la sección 3.1.1., y se realizó el proceso según el protocolo establecido en el **Apéndice E**.

Dado que la temperatura máxima que puede alcanzar el reactor batch es de 160°C, las condiciones de operación en la autohidrólisis se trabajaron en función del factor de severidad. Cuando se alcanzó el tiempo de reacción para obtener el valor de severidad estipulado, se detuvo el flujo de vapor y se inició el enfriamiento haciendo pasar agua por la chaqueta del reactor. Posteriormente, el licor obtenido se filtró y se almacenó a -24°C, asimismo, el sólido fue secado en horno a 105°C durante 24 horas. Los hidrolizados obtenidos se caracterizaron de la misma forma que en las etapas 3.1.2. y 3.1.3.

## 4. Resultados y discusión

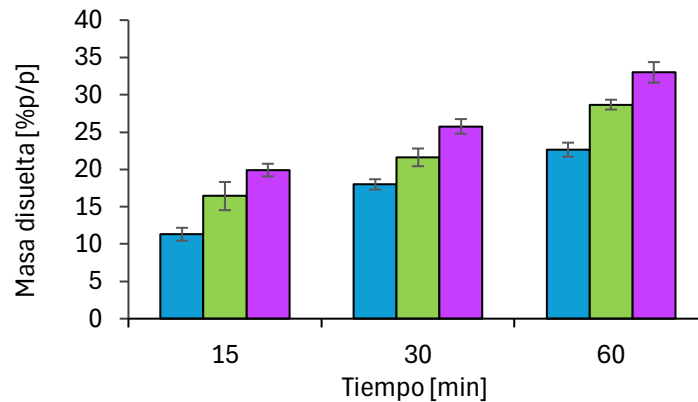
### 4.1. Biomasa disuelta

La **Figura 2** muestra el porcentaje de biomasa disuelta respecto a las condiciones del proceso de autohidrólisis de la cáscara de cacao. En esta se observa que al aumentar la temperatura y el tiempo de reacción ocurre un incremento en la masa extraída y se obtienen los mayores valores a 60 minutos y 190°C. Esto ocurre debido a que a mayores temperaturas y tiempos de reacción se incrementa la severidad de la reacción de autohidrólisis, lo que hace que ocurra una mayor despolimerización tanto de la celulosa como de la hemicelulosa, resultando en la degradación de un mayor número de componentes [23].

Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por otros estudios en los que se han empleado factores de severidad similares a los manejados en este trabajo para extraer la mayor cantidad de masa posible [26]. En la autohidrólisis llevada a cabo por *Sandoval y Viviecas* [13], se logró extraer entre 20-40%p/p de masa del raquis de palma, entre 10-30%p/p de masa del pergamino de café y entre 25-40%p/p de masa del bagazo de caña, en condiciones de temperatura entre 160 y 200°C y tiempos de reacción entre 15 y 120 minutos, las cuales son similares a las establecidas en este trabajo. En el estudio realizado por *Soledad et al* [27] se realizó una autohidrólisis de la poda del árbol de olivo a condiciones similares a las del presente estudio, obteniendo como resultado que la celulosa y hemicelulosa extraída alcanzó entre el 30-40%p/p. Por otro lado, *Xiao et al* [28] realizaron una autohidrólisis de bambú a condiciones de temperatura entre 140 y 200°C y tiempos de reacción entre 30-120 minutos, donde se evidenció que al aumentar el grado de severidad aumenta la masa disuelta y la despolimerización de otros componentes.

**Figura 2**

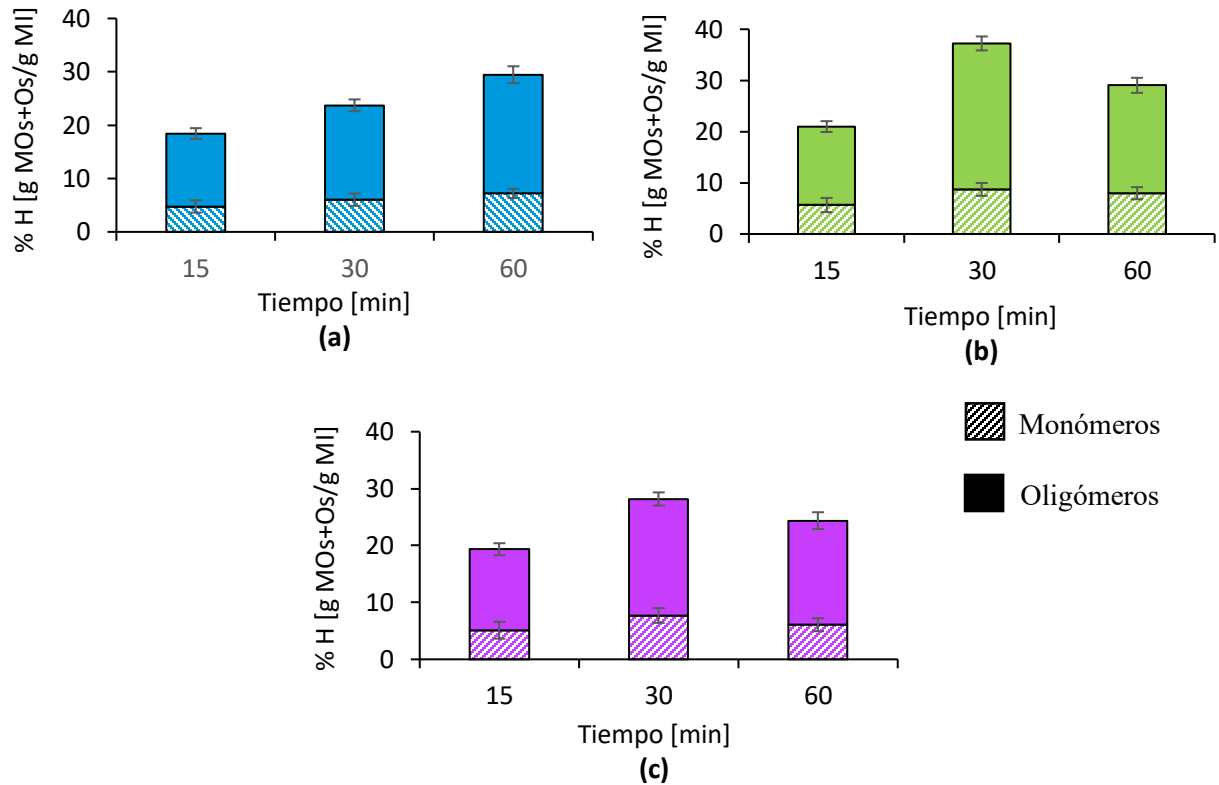
Cantidad de masa disuelta con respecto al tiempo de reacción para la autohidrólisis de cáscara de cacao a 160°C (●), 180°C (●) y 190°C (●) en microrreactores de 50 mL.



La **Figura 3** presenta el porcentaje de hemicelulosa extraída de la cáscara de cacao calculado mediante la ecuación 6, así como la distribución de monómeros y oligómeros en el licor de autohidrólisis. Como puede observarse, el mayor porcentaje de hemicelulosa extraída se obtuvo a las condiciones de 180°C y 30 minutos y, además, puede observarse que el porcentaje de hemicelulosa en todos los casos es menor al 40%. Esto es acorde con lo establecido por *Porto et al* [22], donde se menciona que logra extraerse un porcentaje de hemicelulosa entre 30-40%p/p de la cáscara de cacao empleando autohidrólisis a condiciones de temperatura entre 150-230°C. También se evidencia que la relación de monómeros respecto al total de hemicelulosa extraída es menor al 30%p/p en cada hidrolizado, lo que indica que la mayor parte de la hemicelulosa extraída se encuentra en forma de oligómeros [29].

**Figura 3**

Hemicelulosa extraída de la cáscara de cacao respecto al tiempo de reacción a 160°C (a), 180°C (b) y 190°C (c) en microreactores de 50 mL.



Nota. MOs + Os (g de xilosa y arabinosa), MI (g de masa seca inicial).

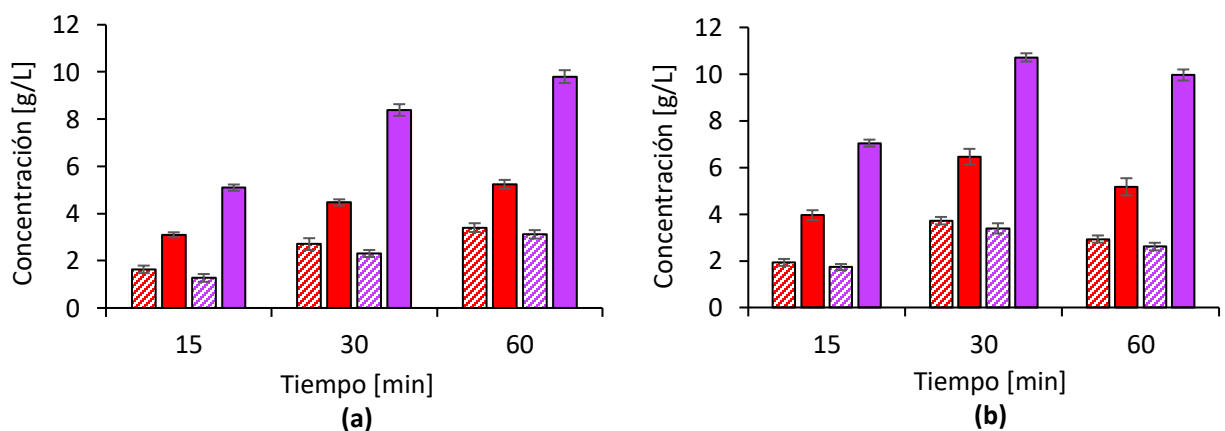
De forma general, logra observarse que en los experimentos realizados a una temperatura de 160°C se logra un incremento en la presencia de oligómeros y monómeros a medida que se aumenta la severidad de las condiciones de operación. En cambio, para los experimentos realizados a 180°C y 190°C, se observa una disminución en los porcentajes de hemicelulosa a las mayores condiciones de severidad, esto pudo deberse a que la severidad de las condiciones del proceso hace que los oligómeros se descompongan más rápidamente. Este comportamiento es similar al observado en los resultados de *Sandoval y Viviescas* [13], donde se emplean condiciones de operación similares a las de este trabajo.

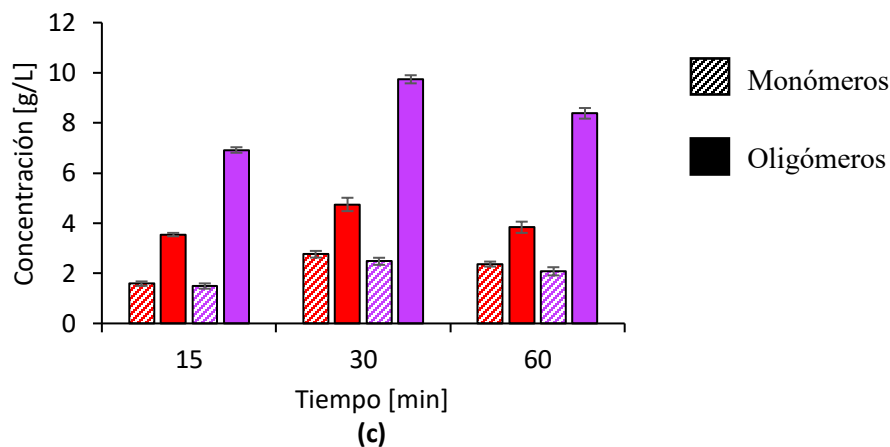
#### 4.2. Concentración de monómeros y oligómeros presentes en el hidrolizado

En la **Figura 4** se observan las concentraciones obtenidas de los monómeros y oligómeros cuantificados en los hidrolizados, los cuales correspondieron a glucosa, xilosa y arabinosa. Es posible evidenciar que la concentración de oligómeros de xilosa y arabinosa (xilo-oligosacáridos) es mayor que la de glucosa. Asimismo, respecto a los monómeros, la glucosa presenta la mayor concentración, esto se debe a que la celulosa presente en la biomasa tiende a despolimerizarse debido al alto grado de severidad en las condiciones de operación [29], generando un mayor contenido de monómeros de glucosa [30]. La concentración detallada de los monómeros y oligómeros de cada compuesto (g/L) en el licor de autohidrólisis se presentan en el **Apéndice F**.

#### Figura 4

*Concentración de monómeros y oligómeros de glucosa (●) y xilosa + arabinosa (●) obtenidos en el hidrolizado producto de autohidrólisis a 160°C (a), 180°C (b) y 190°C (c) en microrreactores de 50 mL.*





Se observa que la máxima concentración de oligosacáridos se logra a 180°C y 30 minutos, donde el contenido máximo de monómeros y oligómeros de xilosa y arabinosa es de 3.390 y 10.714 g/L, respectivamente, mientras que las concentraciones máximas de monómeros y oligómeros de glucosa tienen un valor de 3.719 y 6.461 g/L, respectivamente. Estos resultados coinciden con lo reportado por *Valladares et al* [14], donde se alcanzaron concentraciones máximas de xilo-oligosacáridos de 9-11 g/L, en condiciones similares a las de este trabajo. Los resultados también presentan similitudes con las autohidrólisis de raquis de palma, bagazo de caña y pergamino de café llevadas a cabo por *Sandoval y Viviescas* [13], donde se obtuvieron los mayores valores de xilo-oligosacáridos de 9.03 g/L para el raquis de palma, 7.91 g/L para el bagazo de caña y 12.38 g/L para el pergamino de café. En este caso también se trabajó a condiciones similares y las diferencias en los rendimientos se atribuyen principalmente a la naturaleza de las biomásas.

Los resultados que se muestran en la **Figura 4** permiten evidenciar que a medida que aumentan la temperatura y el tiempo de reacción, aumentan las concentraciones de monómeros y oligómeros de cada compuesto, hasta llegar a un punto máximo. Posteriormente, como puede observarse, para las autohidrólisis a 180°C y 190°C ocurre que, a 60 minutos, las concentraciones empiezan a disminuir. Esto se debe a que, en la autohidrólisis, a mayores condiciones de severidad,

los monómeros y oligómeros comienzan a descomponerse y dan lugar a la formación de productos de degradación [18], [31].

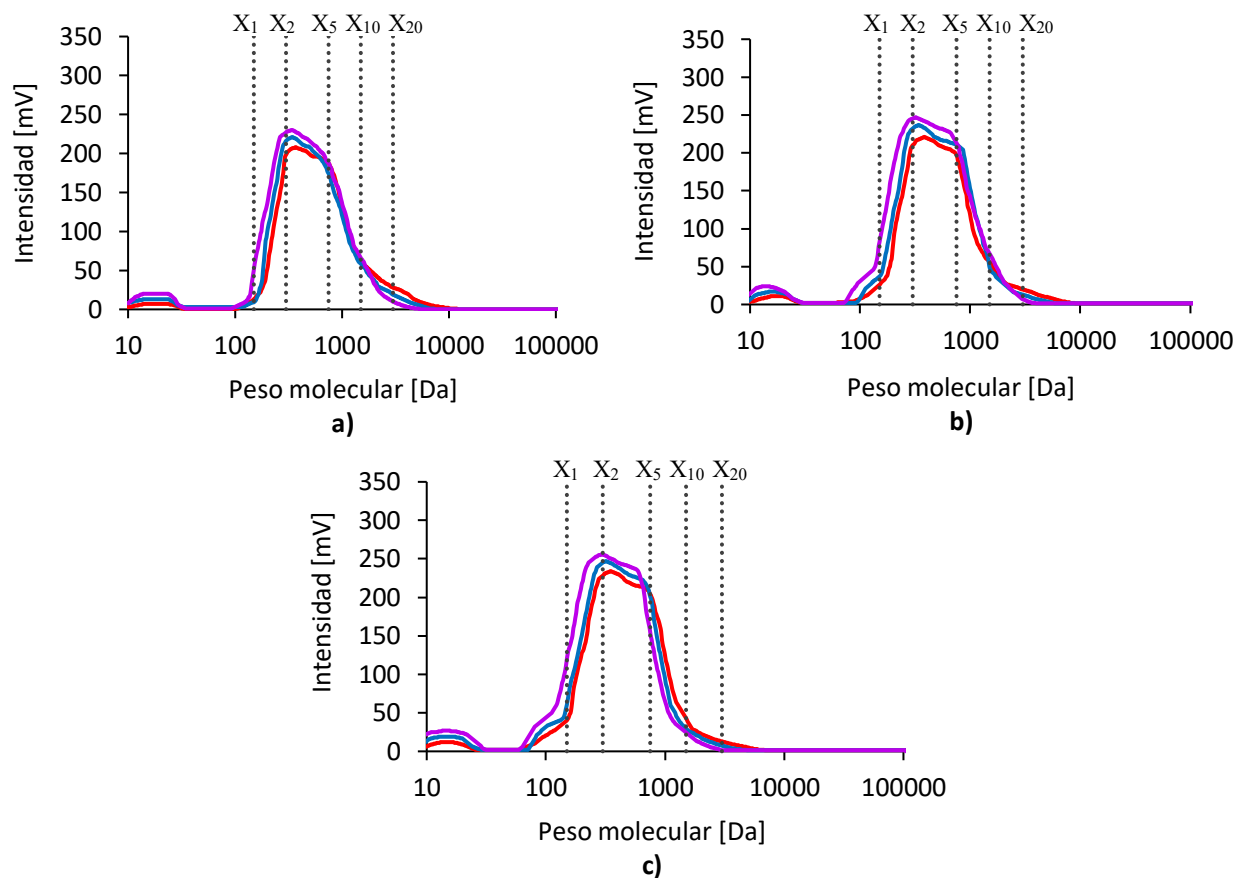
Los productos de degradación que generalmente están presentes en los hidrolizados son el furfural, hidroximetilfurfural y ácido acético [13], quienes están presentes en cantidades significativamente menores a las concentraciones de monómeros y oligómeros. Según *Leal* [9], las concentraciones de furfural e hidroximetilfurfural suelen ser menores a 0.5 g/L, sin embargo, de acuerdo con *Rivas* [32], el furfural aumenta su concentración a medida que aumenta el factor de severidad, lo cual afecta el rendimiento del proceso. El comportamiento observado en las autohidrólisis a 180°C y 190°C es acorde con los estudios realizados por *Sandoval y Viviescas* [13] y *Valladares et al* [14], en los cuales, las concentraciones de los azúcares aumentaban con el tiempo y temperatura, pero para los valores más altos de severidad, las concentraciones empezaban a disminuir; en este caso, además, las concentraciones de furfural obtenidas estaban entre 0.05-0.3 g/L.

#### 4.3. Distribución de masa molar de los oligosacáridos

Las curvas de distribución de masa molar obtenidas para cada temperatura y tiempo de reacción junto con los pesos moleculares de referencia para la unidad monomérica de xilosa y los oligómeros formados a partir de 2 a 20 unidades de xilosa se presentan en la **Figura 5**. Se observa que, en general, la distribución de masa molecular se encuentra principalmente en el rango de pesos moleculares de 100-3000 Da para todas las temperaturas, equivalente a un grado de polimerización de  $X_1$  a  $X_{20}$  (equivalentes a entre 1 y 20 unidades de xilosa).

**Figura 5**

Distribución de masa molar para los hidrolizados de cáscara de cacao obtenidos a 160°C (a), 180°C (b) y 190°C (c) y tiempos de reacción de 15 min (●), 30 min (●) y 60 min (●) en microrreactores de 50 mL.



Es posible evidenciar que las distribuciones de masa molar obtenidas no presentan diferencias significativas entre sí, lo que indica que las condiciones de severidad utilizadas no tienen tanto efecto en los tamaños de los compuestos presentes en el hidrolizado como el presentado en la extracción de los oligosacáridos. Además, se observa que, a medida que aumentan las condiciones de temperatura y tiempo de reacción, las distribuciones se desplazan hacia pesos moleculares menores a 150 Da, lo cual indica que a medida que aumentaban las condiciones de severidad, ocurre una mayor degradación de los oligómeros de mayores pesos moleculares, dando lugar a oligómeros con menor grado de polimerización, así como estos a monómeros y

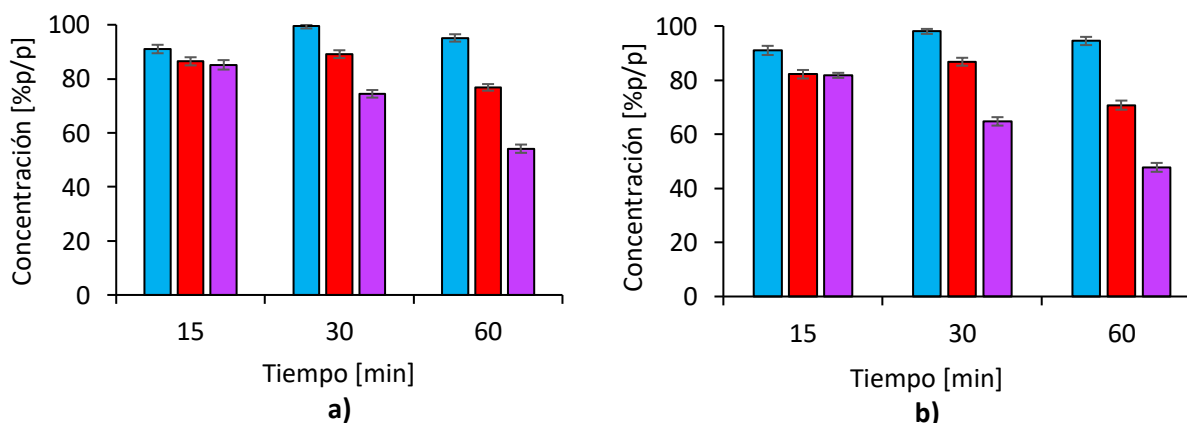
posteriormente a productos de degradación [20]. Esto se confirma con la aparición de picos a masas molares menores a 100 Da, como el furfural o polifenoles, quienes se generan debido a la degradación de los oligómeros [13].

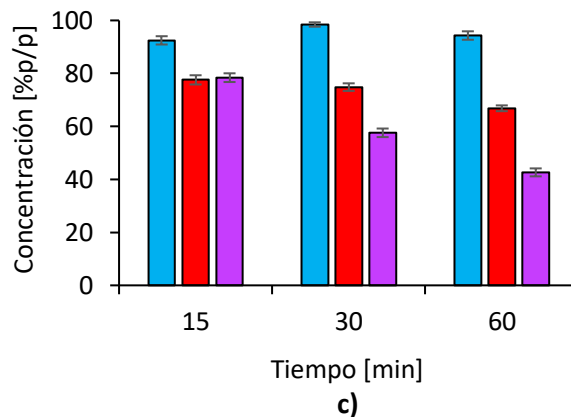
#### 4.4. Caracterización del sólido remanente de la autohidrólisis

La **Figura 6** presenta la composición del sólido remanente respecto a la biomasa inicial para las diferentes condiciones de autohidrólisis. Se observa que, para cada condición, la concentración de xilosa y arabinosa en el sólido disminuye a medida que aumenta tanto la temperatura como el tiempo de reacción. Esta misma tendencia se observó en los estudios realizados por *Acosta* [20], indicando que la extracción de la hemicelulosa se está produciendo exitosamente. La concentración de Lignina Klason y monómeros en el sólido remanente para cada experimento se presenta en el **Apéndice G**.

#### Figura 6

*Concentraciones de lignina Klason (●) y monómeros de glucosa (●) y xilosa + arabinosa (●) presentes en el sólido remanente del proceso de autohidrólisis a 160°C (a), 180°C (b) y 190°C (c) en microrreactores de 50 mL.*





*Nota.* Porcentajes dados en g de compuesto/g de compuesto inicial.

En el caso de la xilosa y arabinosa presente en el sólido remanente, se evidencia que para las reacciones de autohidrólisis realizadas a 160°C entre 60-85%p/p de la xilosa y arabinosa original permanecen en el sólido, mientras que a 180°C permanece el 45-80%p/p y a 190°C permanece el 40-70%p/p. Respecto a la glucosa, esta no tiene una variación significativa a medida que aumenta la temperatura y tiempo de reacción, este comportamiento es similar al obtenido por *Acosta* [20] el cual se debe a la degradación de la celulosa a medida que aumenta el tiempo y la temperatura [18]. En un estudio realizado por *Romero et al* [33] de autohidrólisis de poda de olivo se obtienen valores similares de glucosa, pero en el caso de la xilosa esta permaneció entre 38-70%p/p en el sólido, debido a las diferencias en la biomasa y a que se trabajó a mayores condiciones de temperatura entre 180 y 220°C.

Por otro lado, aproximadamente el 90-98%p/p de la lignina original permanece en el sólido, siendo valores menores a los obtenidos por *Acosta* [20], siendo estos entre 95-100%p/p de la lignina original y esto se debe a que en este trabajo no se tuvo en cuenta la presencia de productos de degradación, los cuales pueden hacer que ocurra una re-polimerización y reacciones con otros compuestos en el sólido [23].

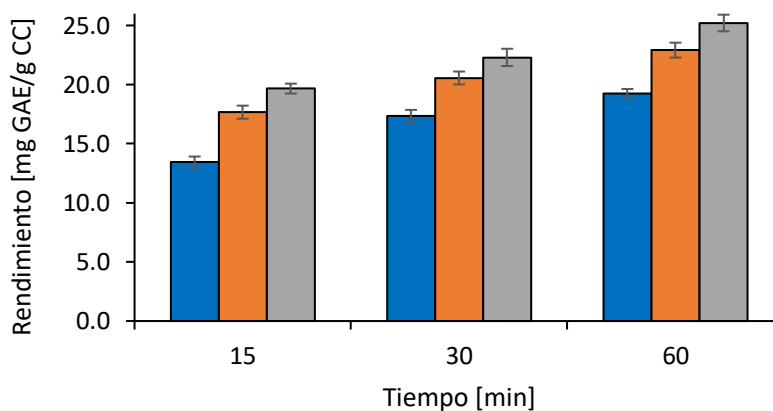
#### 4.5. Cuantificación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu

La concentración de componentes fenólicos se encuentra en un rango de 1.023-1.901 g ácido gálico /L como se observa en la **Figura C.2** del **apéndice C**. Al observar la **Figura C.2** se encontró que la extracción de componentes fenólicos se ve favorecida por el aumento de temperatura y tiempo de reacción del proceso de autohidrólisis, ya que al aumentar estas condiciones se facilita la ruptura de las estructuras celulares que contienen los componentes fenólicos, lo que también favorece la extracción de estos componentes derivados de la lignina soluble [21].

El rendimiento máximo obtenido lo presenta la muestra hidrolizada a condiciones de temperatura de 190°C para un tiempo de reacción de 60 minutos con un valor de  $25.21 \pm 0.70$  mg de ácido gálico/g de cáscara de cacao. La **Figura 7** presenta los rendimientos encontrados para cada hidrolizado.

#### Figura 7

*Rendimiento de polifenoles totales (en mg GAE/g CC) para la autohidrólisis de la cáscara de cacao a 160°C (●), 180°C (●) y 190°C (●) en microrreactores de 50 mL.*



*Nota.* Rendimientos dados en mg de ácido gálico (GAE) /g de cáscara de cacao (CC)

De acuerdo con trabajos realizados por *Nguyen et al* [21] y *Suarez et al* [34], para la cáscara de cacao, los rendimientos obtenidos de polifenoles totales empleando el método Folin-Ciocalteu son de 29.01 y 26.64 mg de ácido gálico/g de cáscara de cacao, respectivamente, obteniendo rendimientos cercanos a los obtenidos en el presente trabajo a 190°C.

Sin embargo, siguiendo la investigación de *Nova, López & Cáceres* [35] se observa que, bajo ciertas condiciones de extracción del sólido (relación etanol:agua, relación soluto:solvente, temperatura de extracción), se pueden alcanzar valores de polifenoles totales de hasta  $54.75 \pm 1.49$  mg de ácido gálico/g de cáscara de cacao habiendo realizado una optimización previa de las condiciones de extracción, por lo que las condiciones de extracción de los polifenoles a partir de la cáscara de cacao influyen en la cantidad de polifenoles totales obtenidos.

#### 4.6. Modelo cinético de producción de oligosacáridos

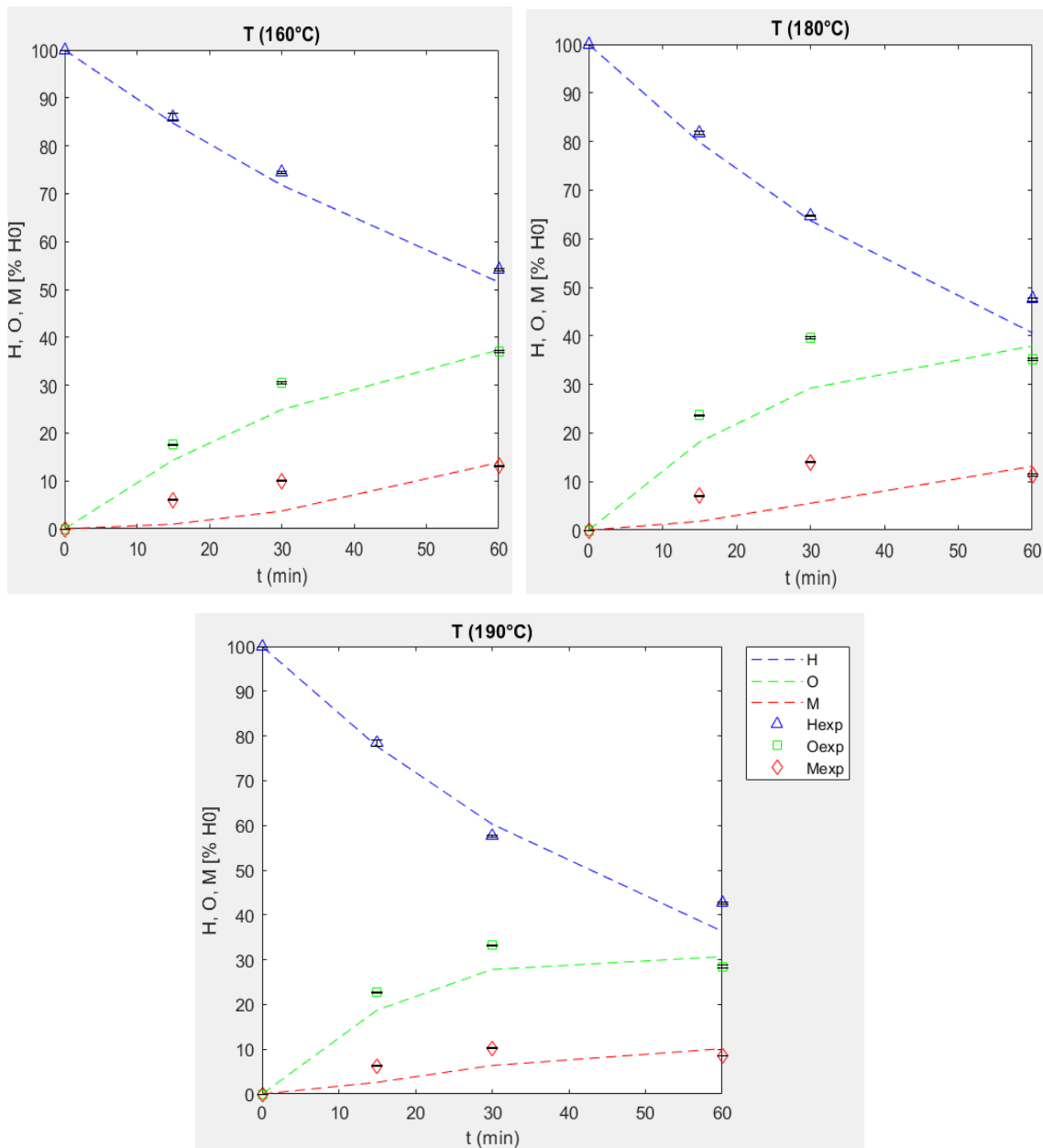
El modelo cinético ajustado a partir de los datos experimentales mediante el sistema de ecuaciones presentadas anteriormente se encuentra en la **Figura 8**. La concentración de hemicelulosa remanente en el sólido lignocelulósico ( $\blacktriangle$ ) sigue el camino de reacción propuesto en la ecuación 2, descomponiéndose en oligosacáridos ( $\blacksquare$ ) y estos últimos en monómeros ( $\blacklozenge$ ) durante el tiempo de reacción.

Los oligosacáridos se producen hasta alcanzar su máximo punto de extracción, debido a que sigue habiendo oligosacáridos remanentes en el sólido al no despolimerizarse la hemicelulosa en su totalidad, a la vez que se van hidrolizando a monómeros, y posteriormente convirtiéndose en productos de degradación, lo que concuerda con el comportamiento que se presenta en el estudio cinético de *Sandoval y Viviescas* [13] para diferentes biomásas a condiciones análogas. El modelo

cinético para las diferentes condiciones de temperatura y tiempo de reacción se ajusta correctamente al coeficiente de correlación entre 0.975-0.991 ( $R^2$ ).

**Figura 8**

*Modelo cinético (---) para la reacción de autohidrólisis a diferentes temperaturas y tiempos de reacción, ajustado a las concentraciones de hemicelulosa remanente en el sólido ( $\blacktriangle$ ), oligosacáridos ( $\blacksquare$ ) y monómeros ( $\blacklozenge$ ) en el licor ajustado a los valores experimentales.*



Los parámetros cinéticos obtenidos se presentan en la **Tabla 2** junto a su respectivo ajuste.

**Tabla 2**

*Parámetros cinéticos provenientes del modelo cinético.*

| <b>Parámetros</b> | <b><math>\ln(k_0)</math> [<math>\text{min}^{-1}</math>]</b> | <b><math>E_a</math> [kJ/mol]</b> | <b><math>R^2</math></b> |
|-------------------|---|----------------------------------|-------------------------|
| k1                | 42.619  | 153.261                          | 0.9702                  |
| k2                | 33.251  | 118.239                          | 0.9701                  |
| k3                | 39.924  | 143.477                          | 0.9700                  |

Las constantes cinéticas optimizadas por el modelo presentan  $k_1 > k_3 > k_2$  como respuesta para las condiciones de severidad empleadas. Siguiendo el camino de reacción mostrado en la ecuación 2, la hemicelulosa (k1) y los monómeros (k3) se descomponen con mayor velocidad en oligómeros y productos de degradación, respectivamente. Sin embargo, la degradación de oligómeros (k2) al presentar la menor constante de velocidad afecta al rendimiento de la hidrólisis de oligómeros a monómeros, lo que provoca que las concentraciones obtenidas de monómeros no sean muy altas en comparación a los oligómeros, como se evidencia en la **Figura 4**.

Los valores de energía de activación provenientes del modelo cinético se encuentran en un rango de 118.239-153.261 [kJ/mol] coincidiendo con los estudios de modelamiento cinético para la cáscara de cacao de *Mensah et al* [36] y para la mazorca del maíz de *Garrote, Domínguez y Parajó* [37].

Al observar los estudios cinéticos de *Nabarlatz, Farriol y Montané* [17], [38] para biomásas lignocelulósicas y cáscara de almendra se pueden alcanzar valores hasta de 251.7 y 248.9 [kJ/mol], respectivamente, usando modelos cinéticos más complejos. Los factores de frecuencia se encuentran en un rango de 33.251-42.619 [ $\text{min}^{-1}$ ], que coinciden también con los estudios de *Nabarlatz, Farriol y Montané* [38]. Este factor representa las colisiones efectivas para superar la

energía de activación a la que se lleva a cabo la reacción de autohidrólisis en el sólido lignocelulósico [18]. Según el estudio cinético de la cáscara de cacao realizado por *Mensah et al* [36], la severidad afecta significativamente a las constantes de velocidad obtenidas, por lo que el comportamiento que presenta el camino de reacción usado depende considerablemente de las condiciones de operación, lo cual concuerda los resultados obtenidos en anteriores estudios cinéticos realizados por *Nabarlatz, Farriol y Montané* [17], [38] mencionados anteriormente.

#### 4.7. Validación de mejores condiciones de autohidrólisis a escala piloto (20 L)

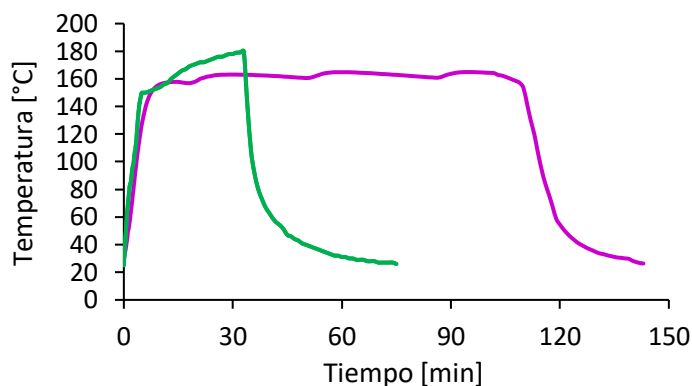
El análisis realizado en la sección 4.2 permitió determinar que la condición óptima para la producción de oligosacáridos a partir de cáscara de cacao teniendo en cuenta el rendimiento de extracción es 180°C y 30 minutos, por lo que se seleccionó esta condición para replicar y realizar la autohidrólisis en el reactor batch de 20 L. A esta condición, se calculó el factor de severidad para estas condiciones obtenidas a partir de la reacción en microrreactores haciendo uso de la ecuación 1, dando como resultado una severidad de 3.69. El valor de severidad obtenido es adecuado ya que, según *Quintero y Riaño* [39], los valores de severidad para los cuales se obtienen concentraciones adecuadas de xilo-oligosacáridos sin que se presente una degradación significativa del producto oscilan entre 3.66-3.90.

En la **Figura 9** se presenta la curva de calentamiento del reactor de 20 L, así como la curva de calentamiento del microreactor (50 mL) a las condiciones de operación seleccionadas. En la curva de calentamiento del reactor de 20 L puede observarse un comportamiento casi isotérmico, este comportamiento es similar al presentado en el reactor de 20 L de la autohidrólisis de bagazo de caña realizada por *Quintero y Riaño* [39]. Los perfiles de temperatura en los microrreactores (50 mL) y en el reactor de 20 L para cada experimento se encuentran en el **Apéndice H**. Para poder

mantener el mismo factor de severidad en el reactor de 20 L, fue necesario trabajar a condiciones de temperatura de 160°C, ajustando los tiempos de reacción entre 90-100 minutos.

### Figura 9

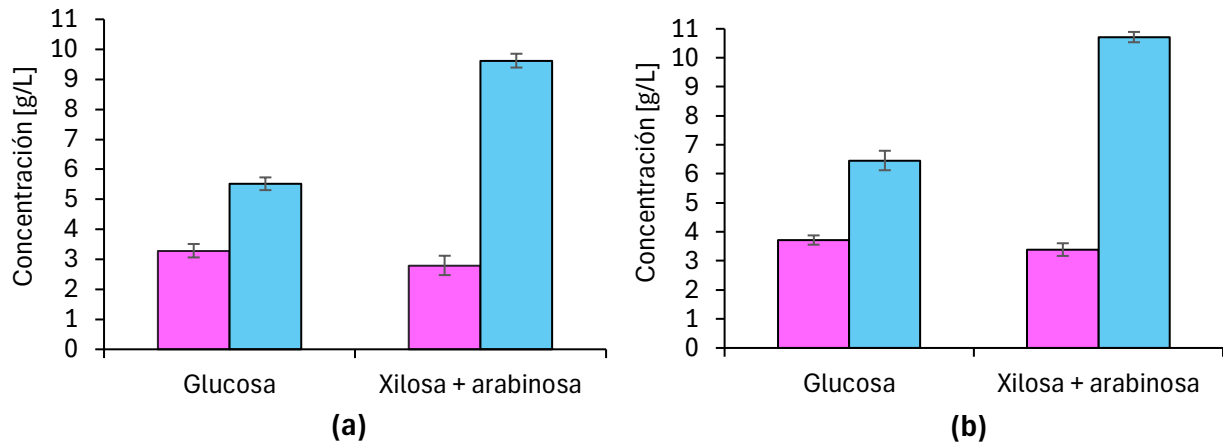
*Curvas de calentamiento en el microrreactor de 50 mL (●) y el reactor de 20 L (●).*



En la **Figura 10** se observan las concentraciones de monómeros y oligómeros de glucosa y xilosa y arabinosa obtenidas en el reactor de 20 L y en el microrreactor de 50 mL a las condiciones de operación seleccionadas. Los resultados presentan un comportamiento similar, sin embargo, las concentraciones obtenidas en el reactor de 20 L son menores. Para el caso de los xilooligosacáridos, en el reactor de 20 L se obtuvo una concentración de 9.622 g/L, mientras que en el microrreactor se obtuvo una concentración de 10.714 g/L. Las concentraciones obtenidas de oligómeros y monómeros en el reactor de 20 L para cada experimento se presentan en el **Apéndice I**.

**Figura 10**

Concentración de monómeros (●) y oligómeros (●) de glucosa y xilosa + arabinosa obtenidos en el reactor de 20 L (a) y en el microrreactor de 50 mL (b).



Los resultados son similares a los obtenidos en la autohidrólisis a escala piloto de pergamino de café usando un reactor con volumen de 5 L realizada por *Sandoval y Viviescas* [13], en la cual se obtuvo una concentración de 9.33 g/L de xilo-oligosacáridos, mientras que en los microrreactores se obtuvo una concentración de 12.38 g/L a las mismas condiciones.

Una de las razones de que se obtuvieran concentraciones menores en el reactor de 20 L es debido a la diferencia en la velocidad de calentamiento del reactor, así como el hecho de que el reactor sufriera bastantes fluctuaciones en la temperatura durante el proceso. En la autohidrólisis de residuos forestales llevada a cabo por *Pontes et al* [40] se evidencia que la velocidad de calentamiento presentó diferencias considerables en los experimentos y provocó que se obtuvieran concentraciones menores a las esperadas, dando origen además a una mayor cantidad de productos de degradación como el furfural.

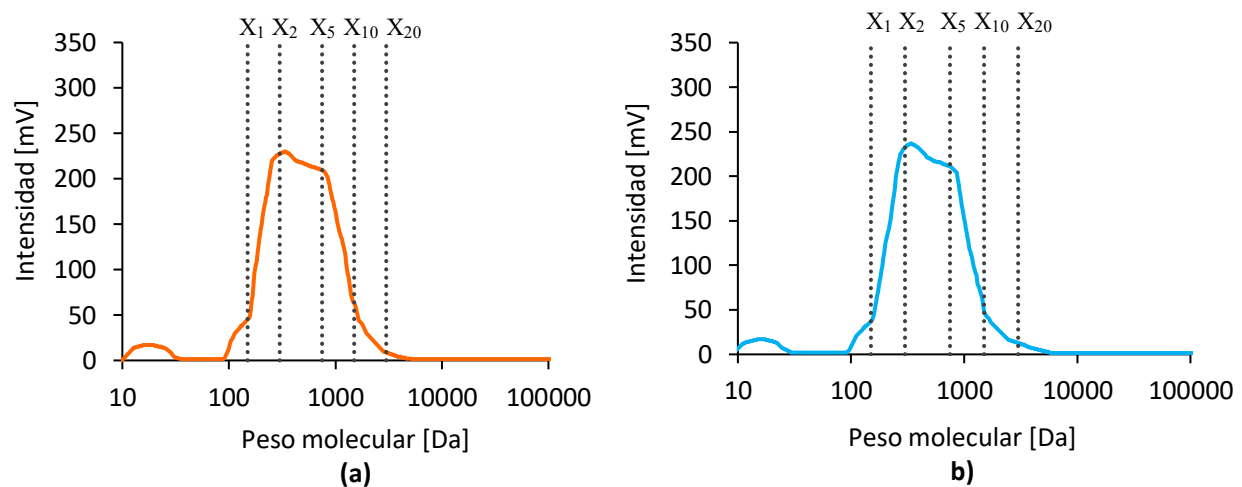
Por lo tanto, es posible que factores como las dimensiones del reactor, transferencia de calor y otros como la formación de productos de degradación tengan un efecto negativo en la

autohidrólisis [37], [41], lo que hace que no sea tan sencillo reproducir las mismas concentraciones de oligosacáridos obtenidas a escala laboratorio a iguales condiciones de tiempo y temperatura.

En la **Figura 11** se presenta la distribución de masa molar obtenida para el reactor de 20 L y el microrreactor de 50 mL a las condiciones de operación seleccionadas. Es posible observar que las distribuciones presentan similitudes ya que ambas distribuciones se encuentran principalmente en el rango de pesos moleculares de 100-3000 Da, lo que corresponde a oligómeros de xilosa con un grado de polimerización de  $X_1$  a  $X_{20}$ .

### Figura 11

*Distribución de masa molar para el hidrolizado de cáscara de cacao obtenido en el reactor de 20 L (a) y en el microrreactor de 50 mL (b).*



En este caso también es posible evidenciar que una parte de la distribución se encuentra en el rango de pesos moleculares menores a 150 Da para ambos casos, indicando la presencia de productos de degradación y compuestos fenólicos totales en el hidrolizado. Por lo tanto, aunque el incremento del volumen del reactor a las mismas condiciones de severidad muestre algunas diferencias en el rendimiento de extracción, la distribución de masa molar de los compuestos del hidrolizado no se ve afectado de manera significativa.

## 5. Conclusiones

- La temperatura y el tiempo de reacción tienen un efecto favorable sobre la concentración de oligosacáridos obtenida. Sin embargo, para altos valores de severidad, las concentraciones se ven afectadas por factores como la formación de productos de degradación. De acuerdo con los resultados, las condiciones de operación a las que se obtuvo la mayor concentración de oligosacáridos son 180°C y 30 minutos, la cual fue de 10.714 g/L de xilo-oligosacáridos y 6.461 g/L de oligómeros de glucosa a escala de laboratorio (50 mL).
- El modelo cinético seleccionado describe correctamente el proceso de autohidrólisis para la cáscara de cacao, presentando un buen ajuste a partir de los datos experimentales de hemicelulosa, oligosacáridos y monómeros. Por otro lado, al ser un modelo simple de la degradación de oligosacáridos, se presenta la oportunidad de incluir otros elementos como los productos de degradación que permitan describir la producción de oligosacáridos con mayor detalle para las condiciones de severidad empleadas.
- El comportamiento de la cáscara de cacao en la autohidrólisis a escala piloto en el reactor de 20 L es similar al observado en los microreactores, sin embargo, la concentración de xilo-oligosacáridos obtenida fue de 9.622 g/L, mientras que en los microreactores fue de 10.714 g/L. Esto indica que la reproducción de la autohidrólisis a un mayor volumen no depende únicamente de las condiciones de tiempo y temperatura sino también de otros factores como la velocidad de calentamiento del reactor y la formación de productos de degradación.

## 6. Recomendaciones

- Cuantificar experimentalmente los productos de degradación como el furfural para determinar si estos productos se obtienen en mayor concentración al incrementar la escala del proceso.
- Desarrollar un estudio de sensibilidad para el modelo cinético que permita conocer de forma más detallada el comportamiento de la descomposición de los mono y oligosacáridos a través del tiempo para otros valores de severidad.
- Identificar y analizar factores como la transferencia de calor en el reactor de 20 L para que se puedan mejorar los rendimientos de la autohidrólisis a escala piloto a las mismas condiciones de operación.

**Referencias bibliográficas**

- [1] Federación Nacional de Cacaoteros [sitio web]. Producción cacaotera presentó una reducción del 10% en 2022 por lluvias. [Consultado 14 de octubre de 2023]. Recuperado de: <https://www.fedecacao.com.co/post/producci%C3%B3n-cacaotera-present%C3%B3-una-reducci%C3%B3n-del-10-en-2022-por-lluvias>.
- [2] Barrios, Y., Salas, K., Orozco, D., Gentile, P., & Girón, J. Cocoa Pod Husk: A High-Pectin Source with Applications in the Food and Biomedical Fields. *ChemBioEng Rev*, 9(5), 462-474, 2022.
- [3] Vásquez, Z., De Carvalho Neto, D., De Melo Pereira, G., De Souza Vandenberghe, L., De Oliveira, P., Tiburcio, P., Rogez, H., Gómez-Neto, A., & Soccol, C. Biotechnological approaches for cocoa waste management: A review. *Waste Management*, 90, 72–83, 2019, doi: 10.1016/j.wasman.2019.04.030.
- [4] Patel, S., & Goyal, A. Functional oligosaccharides: production, properties, and applications. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 27(5), 1119–1128, 2010, doi: 10.1007/s11274-010-0558-5.
- [5] Palaniappan, A., Antony, U., & Naushad, M. Current status of xylooligosaccharides: Production, characterization, health benefits and food application. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 506-519, 2021.
- [6] Manicardi, T., Baioni, G., Longati, A., Paiva, T., Souza, J., Pádua, T., Furlan, F., Giordano, R., Giordano, R., & Milessi, T. Xylooligosaccharides: A Bibliometric Analysis and Current Advances of This Bioactive Food Chemical as a Potential Product in Biorefineries' Portfolios. *Foods*, 12, 1-25, 2023. <https://doi.org/10.3390/foods12163007>

- [7] Valladares-Diestra, K., de Souza Vandenberghe, L., Vieira, S., Goyzueta, L., de Mattos, P., Manzoki, M., Soccol, V., & Soccol, C. The Potential of Xylooligosaccharides as Prebiotics and Their Sustainable Production from Agro-Industrial by-Products. *Foods*, 12, 2681, 2023. <https://doi.org/10.3390/foods12142681>
- [8] Sanabria, J. *Caracterización de biomasa residual agrícola para la evaluación de su uso como materia prima en la producción de oligosacáridos*. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander, 2016.
- [9] Leal, M. *PRODUCCIÓN DE OLIGOSACÁRIDOS MEDIANTE AUTOHIDRÓLISIS DE RESIDUOS PROVENIENTES DE LA CADENA AGROINDUSTRIAL DEL CAFÉ*. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander, 2017.
- [10] Yue, P., Hu, Y., Tian, R., Bian, J., & Peng, F. Hydrothermal pretreatment for the production of oligosaccharides: A review. *Bioresource Technology*, 343, 126075, 2022, doi: 10.1016/j.biortech.2021.126075.
- [11] Parajó, J., Garrote, G., Cruz, J., & Domínguez, H. Production of xylooligosaccharides by autohydrolysis of lignocellulosic materials. *Trends in Food Science and Technology*, 15(3–4), 115–120, 2004, doi: 10.1016/j.tifs.2003.09.009.
- [12] Santibáñez, L., Henríquez, C., Corro-Tejeda, R., Bernal, S., Armijo, B., & Salazar, O. Xylooligosaccharides from lignocellulosic biomass: A comprehensive review. *Carbohydrate Polymers*, 251, 117118, 2021, doi: 10.1016/j.carbpol.2020.117118.
- [13] Sandoval, M. & Viviecas, P. *AUTOHIDRÓLISIS DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS DE LA AGROINDUSTRIA COLOMBIANA: ANÁLISIS DEL PROCESO PARA LA*

- PRODUCCIÓN DE XILO-OLIGOSACÁRIDOS (XOs)*. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander, 2017.
- [14] Valladares-Diestra, K., De Souza Vandenberghe, L., Torres, L., Filho, A., Woiciechowski, A., & Soccol, C. Citric acid assisted hydrothermal pretreatment for the extraction of pectin and xylooligosaccharides production from cocoa pod husks. *Bioresource Technology*, 343, 126074, 2022, doi: 10.1016/j.biortech.2021.126074.
- [15] Otieno, D. O., & Ahring, B. K. The potential for oligosaccharide production from the hemicellulose fraction of biomasses through pretreatment processes: xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS), and mannoooligosaccharides (MOS). *Carbohydrate Research*, 360, 84–92, 2012. doi:10.1016/j.carres.2012.07.017
- [16] Rafiqul, I. S. M., & Mimi Sakinah, A. M. Kinetic studies on acid hydrolysis of Meranti wood sawdust for xylose production. *Chemical Engineering Science*, 71, 431–437, 2012. doi:10.1016/j.ces.2011.11.007
- [17] Nabarlantz, D., Farriol, X. & Montané, D. Kinetic modeling of the autohydrolysis of lignocellulosic biomass for the production of hemicellulose-derived oligosaccharides. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 43, 4124–4131, 2004.
- [18] Branco, P., Dionísio, A., Torrado, I., Carvalheiro, F., Castilho, P., & Duarte, L. Autohydrolysis of *Annona cherimola* Mill. seeds: Optimization, modeling, and products characterization. *Biochemical Engineering Journal*, 104, 2–9, 2015, doi: 10.1016/j.bej.2015.06.006.
- [19] Dias, M., Romani-Pérez, M., Romani, A., de la Cruz, A., Pastrana, L., Fuciños, P., Amado, I. Recent Technological Advances in Phenolic Compounds Recovery and Applications

- Source of Nutraceuticals for the Management of Diabetes. *Applied Sciences*, 12, 1-26, 2022, <https://doi.org/10.3390/app12189271>.
- [20] Acosta Fernández, R. *Producción de xilooligosacáridos (XOs) a partir de biomasa residual procedente de la agroindustria colombiana*. Tesis doctoral. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander, 2019.
- [21] Nguyen, V. T., Tran, A., & Le, V. S. Microencapsulation of phenolic-enriched extract from cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.). *Powder Technology*, 386, 136–143, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2021.03.033>
- [22] De Souza Vandenberghe, L. P., Valladares-Diestra, K. K., Bittencourt, G. A., De Mello, A. F. M., Vásquez, Z. S., De Oliveira, P. Z., De Melo Pereira, G. V., & Soccol, C. R. Added-value biomolecules' production from cocoa pod husks: A review. *Bioresource Technology*, 344, 126-252, 2022, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126252>
- [23] Nabarlatz, D., Ebringerová, A. & y Montané, D. Autohydrolysis of agricultural by-products for the production of xylo-oligosaccharides. *Carbohydr. Polym.*, 69, 20–28, 2007.
- [24] Hernández, M. *Caracterización de oligosacáridos y evaluación de alternativas de purificación*. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander, 2019.
- [25] Diniardi, E., Argo, B., & Wibisono, Y. Antibacterial activity of cocoa pod husk phenolic extract against *Escherichia coli* for food processing. *IOP Conference Series*, 475(1), 012006, 2020, doi: 10.1088/1755-1315/475/1/012006.

- [26] Carvalho, A., Neto, P., Silva, D., & Pastore, G. Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis. *Food Research International*, 51(1), 75-85, 2013.
- [27] Soledad, M., Puentes, J., Sanchez, S., & Moya, A. Oligosaccharides and monomeric carbohydrates production from olive tree pruning biomass. *Carbohydrate polymers*, 93, 416-423, 2013.
- [28] Xiao, X., Bian, J., Peng, X., Xu, H., Xiao, B., & Sun, R. Autohydrolysis of bamboo (*Dendrocalamus giganteus* Munro) culm for the production of xylo-oligosaccharides. *Bioresour. Technol.*, 138, 63–70, 2013.
- [29] Pinales, D., Rodríguez, R., Araújo, R., Loredó, A., Nabarlatz, D., Gullón, B., & Ruiz, H. Circular bioeconomy and integrated biorefinery in the production of xylooligosaccharides from lignocellulosic biomass: A review. *Industrial Crops & Products*, 162, 1-17, 2021.
- [30] Martins, J., Torres, P., & Lachos, D. Hydrothermal Processing of Lignocellulosic Biomass: an Overview of Subcritical and Supercritical Water Hydrolysis. *BioEnergy Research*, 16, 1296-1317, 2022, doi: <https://doi.org/10.1007/s12155-022-10553-8>.
- [31] Soares, T. & Oliveira, M. Cocoa By-Products: Characterization of Bioactive Compounds and Beneficial Health Effects. *Molecules*, 27, 1-23, 2022, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules27051625>.
- [32] Rivas, S., González, M., Santos, V., & Parajó, J. Acidic processing of hemicellulosic saccharides from pine wood: Product distribution and kinetic modeling. *Bioresource Technology*, 162, 192–199, 2014.

- [33] Romero, J., López, J., Contreras, M., Romero, I., & Castro, E. Exploitation of olive tree pruning biomass through hydrothermal pretreatments. *Industrial Crops & Products*, 176, 1-9, 2022.
- [34] Suarez, A. Q., Cadena-Chamorro, E. M., Ciro-Velásquez, H. J., & Arango-Tobón, J. C. (2024). By-products of the cocoa agribusiness: high value added materials based on their bromatological and chemical characterization. *revistas.unal.edu.co*. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v77n1.107738>
- [35] Muvdi Nova, C. J., López Giraldo, L. J., & Cáceres-Roa, S. A. Extracción de polifenoles: una comparación a partir de cáscara de cacao húmeda vs cáscara de cacao secada. *Ingeniería y Competitividad*, 25(2), 1-15, 2023. <https://doi.org/10.25100/iyc.v25i2.12223>
- [36] Mensah, M., Asiedu, N., Neba, F., Amaniampong, P., Boakye, P., & Addo, A. Modeling, optimization and kinetic analysis of the hydrolysis process of waste cocoa pod husk to reducing sugars. *SN Applied Sciences*, 2(7), 1-17, 2020. doi:10.1007/s42452-020-2966-y
- [37] Garrote, G., Domínguez, H., & Parajó, J. Autohydrolysis of corncob: study of non-isothermal operation for xylooligosaccharide production. *Journal of Food Engineering*, 52(3), 211-218, 2002.
- [38] Nabarlatz, D., Farriol, X., & Montané, D. Autohydrolysis of almond shells for the production of xylo-oligosaccharides: Product characteristics and reaction kinetics. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 44(20), 7746–7755, 2005.
- [39] Quintero, V. & Riaño, D. *Evaluación de la producción de Xilooligosacáridos mediante autohidrólisis de bagazo de caña panelera a escala piloto*. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander, 2019.

- [40] Pontes, R., Romaní, A., Michelin, M., Domingues, L., Teixeira, J., & Nunes, J. Comparative autohydrolysis study of two mixtures of forest and marginal land resources for co-production of biofuels and value-added compounds. *Renewable Energy*, 128, 20-29, 2018.
- [41] Garrote, G., & Parajó, P. Non-isothermal autohydrolysis of Eucalyptus wood. *Wood Science and Technology*, 36(1), 111-123, 2002.

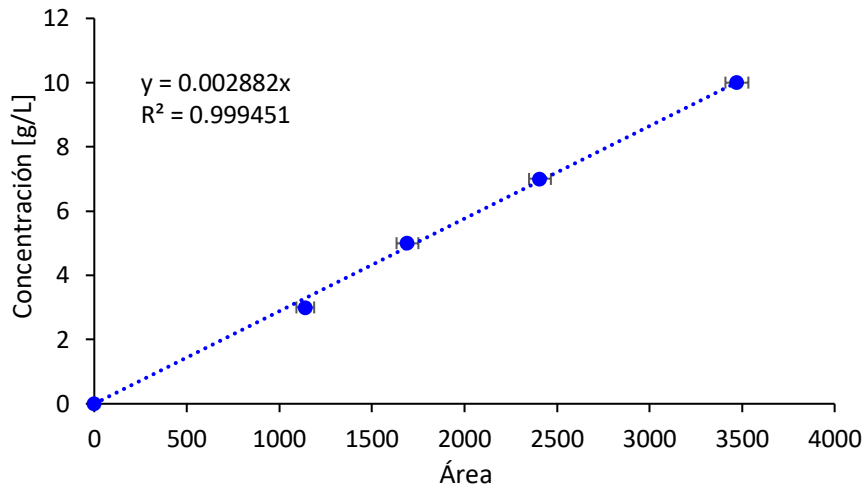
## Apéndices

### Apéndice A. Curvas de calibración para la cuantificación de azúcares mediante HPLC

- Glucosa

#### Figura A.1

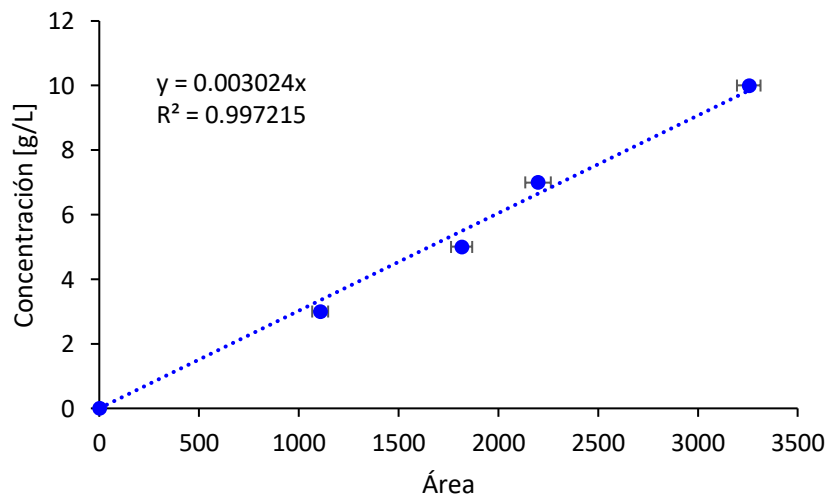
*Curva de calibración para Glucosa.*



- Xilosa

#### Figura A.2

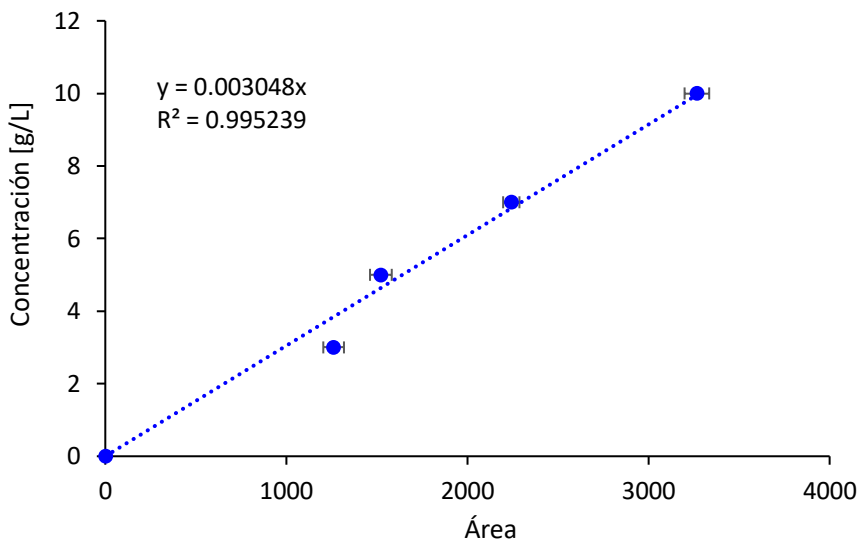
*Curva de calibración para Xilosa.*



- Arabinosa

**Figura A.3**

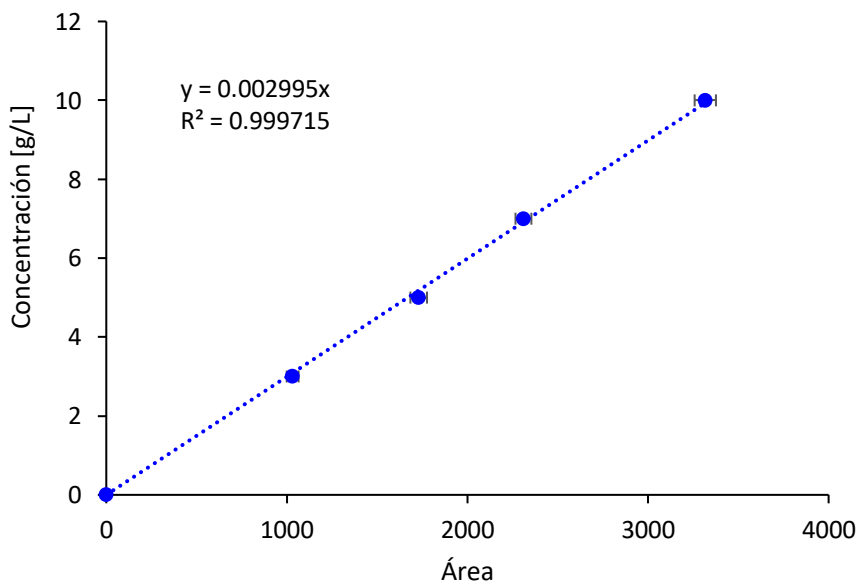
*Curva de calibración para Arabinosa.*



- Fructosa

**Figura A.4**

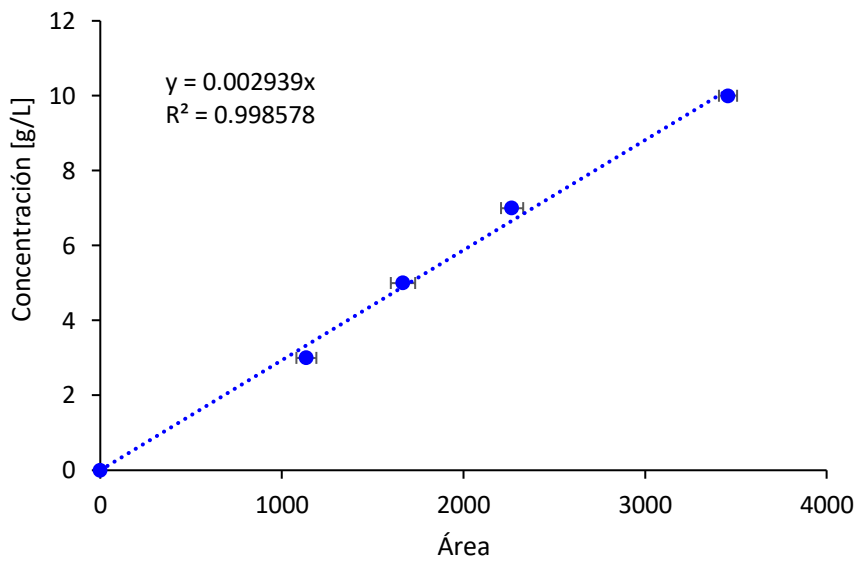
*Curva de calibración para Fructosa.*



- Manosa

**Figura A.5**

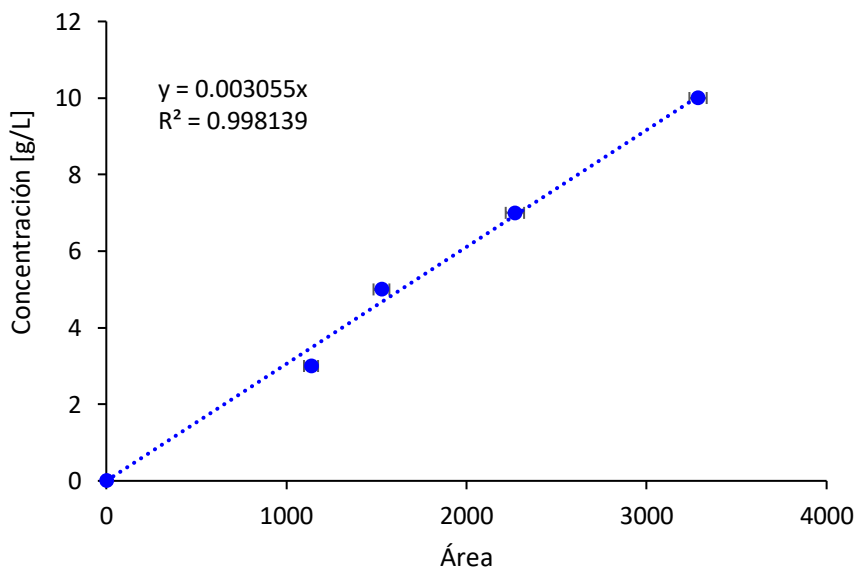
*Curva de calibración para Manosa.*



- Galactosa

**Figura A.6**

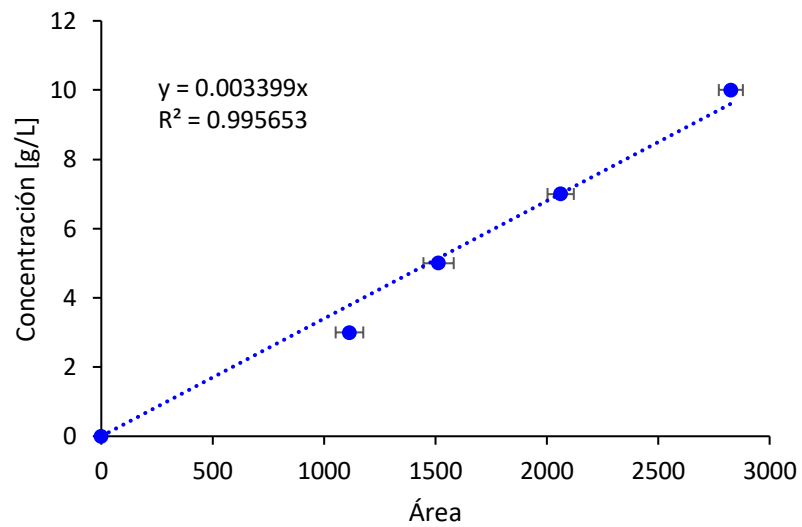
*Curva de calibración para Galactosa.*



- Ramnosa

**Figura A.7**

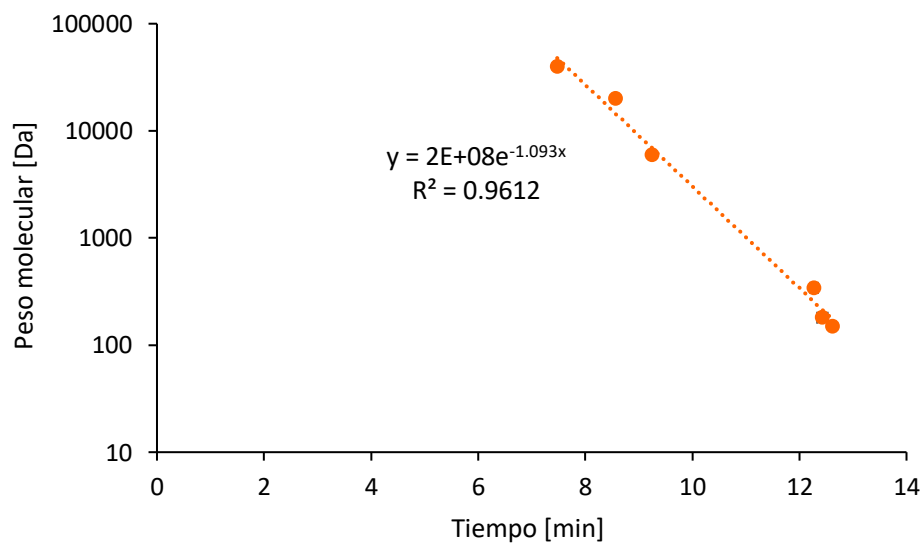
*Curva de calibración para Ramnosa.*



**Apéndice B.** Curva de calibración para análisis de distribución de masa molar mediante GPC

**Figura B.1**

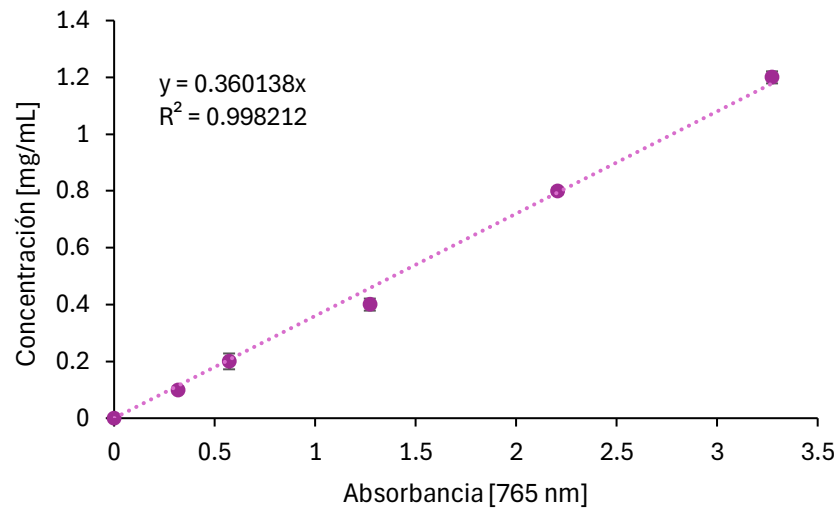
*Peso molecular en función del tiempo para SEC*



**Apéndice C.** Curva de calibración para la cuantificación de polifenoles utilizando ácido gálico como patrón

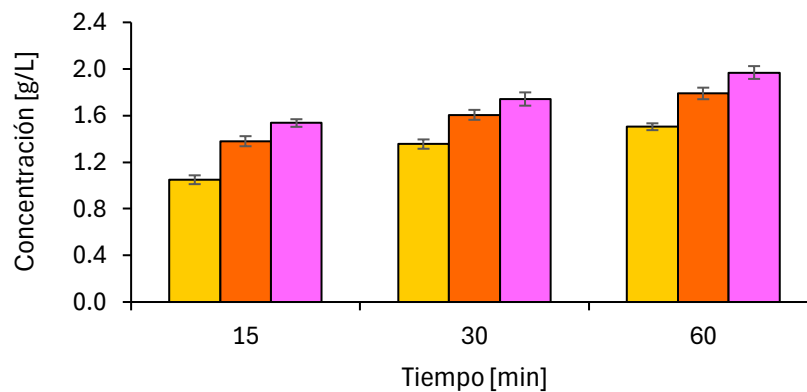
### Figura C.1

*Concentración de solución patrón de ácido gálico vs absorbancia, medido por espectrofotometría UV-Vis a 765 nm, volumen de muestra 100  $\mu$ L.*



### Figura C.2

*Concentración de polifenoles totales de autohidrólisis de la cáscara de cacao a 160°C (●), 180°C (●) y 190°C (●) en microrreactores de 50 mL.*



**Apéndice D. Modelo cinético****Apéndice D. 1 Códigos empleados para el modelo cinético**

## Código MATLAB modelo cinético

```

clear prueba5
clc

% Soluciones analíticas de las concentraciones
function Y = simulateModelAnalytical(k, t_exp)
    k1 = k(1);
    k2 = k(2);
    k3 = k(3);
    CH0 = 23.175; % Valor inicial de la hemicelulosa

    % Calcula las concentraciones utilizando las soluciones analíticas
    CH = CH0 * exp(-k1 * t_exp);
    CO = CH0 * (k1 / (k2 - k1)) * ((exp(-k1 * t_exp)) - (exp(-k2 * t_exp)));
    CM = (CH0 * (k2 * k1 / ((k2 - k1) * (k3 - k1))) * ((exp(-k1 * t_exp)) - (exp(-k3
* t_exp)))) - ...
        (CH0 * (k2 * k1 / ((k2 - k1) * (k3 - k2))) * ((exp(-k2 * t_exp)) - (exp(-k3
* t_exp))));

    % Concentraciones calculadas
    Y = [CH, CO, CM];
end

% Función objetivo
function error = objectiveFunction(k, t_exp, H_exp, O_exp, M_exp)
    Y_model = simulateModelAnalytical(k, t_exp);
    error = norm(Y_model(:) - [H_exp(:); O_exp(:); M_exp(:)]);
end

% Datos experimentales
Data = xlsread('Datosexperimentales', 'Datos', 'B6:E9');
t_exp = Data(:, 1);
H_exp = Data(:, 2);
O_exp = Data(:, 3);
M_exp = Data(:, 4);

% Ajuste de parámetros
k0 = [0.099, 0.09, 0.08]; % Empleando valores iniciales de k encontrados en
literatura

% Opciones de optimización
options = optimoptions('lsqnonlin', 'MaxFunctionEvaluations', 10000, 'MaxIterations',
10000, 'StepTolerance', 1e-6, 'FunctionTolerance', 1e-6);

% Ajuste de parámetros con opciones de optimización
k_opt = lsqnonlin(@(k) objectiveFunction(k, t_exp, H_exp, O_exp, M_exp), k0, [], [],
options);

```

```

% Solución del sistema de ecuaciones con parámetros ajustados
yout = simulateModelAnalytical(k_opt, t_exp);

% Cálculo R^2
y_mean = mean([H_exp; O_exp; M_exp]);
SStot = sum((([H_exp; O_exp; M_exp] - y_mean).^2));
SSres = sum((([H_exp; O_exp; M_exp] - yout(:)).^2));
R2 = 1 - SSres/SStot;
disp(['Coeficiente de determinación R^2: ', num2str(R2)]);

% Composiciones del modelo
Ho = 23.175; %valor inicial de hemicelulosa [g/L]
H = (yout(:,1)*100) / Ho; %composición de hemicelulosa
O = (yout(:,2)*100) / Ho; %composición de oligómeros
M = (yout(:,3)*100) / Ho; %composición de monómeros

% Composiciones experimentales
Comp = xlsread('Datos experimentales', 'Datos', 'C14:E17');
H_expe = Comp(:,1)*100;
O_expe = Comp(:,2)*100;
M_expe = Comp(:,3)*100;

% Gráfico resultados
plot(t_exp, H, '--', 'Color', 'blue');
hold on;
plot(t_exp, O, '--', 'Color', 'green');
plot(t_exp, M, '--', 'Color', 'red');

plot(t_exp, H_expe, '^', 'Color', 'blue');
plot(t_exp, O_expe, 's', 'Color', 'green');
plot(t_exp, M_expe, 'd', 'Color', 'red');
% Gráfico barras de error
error= xlsread('Error', 'Hoja1', 'C35:E38');
error_H=error(:,1);
error_O=error(:,2);
error_M=error(:,3);
barra1=errorbar(t_exp,H_expe,error_H, 'vertical');
barra1.Color = [0 0 0];
barra1.LineStyle = 'none';
barra2=errorbar(t_exp,O_expe,error_O, 'vertical');
barra2.Color = [0 0 0];
barra2.LineStyle = 'none';
barra3=errorbar(t_exp,M_expe,error_M, 'vertical');
barra3.Color = [0 0 0];
barra3.LineStyle = 'none';
hold off
xlabel('t (min)')
ylabel('H, O, M [% H0]')
title('Cinética')

legend('H', 'O', 'M', 'Hexp', 'Oexp', 'Mexp');
legend('Location', 'northeastoutside');

```

## Código MATLAB parámetros cinéticos

```

clear parametros
clc
%Obtención de Ea y ko
%Datos de entrada de temperatura y constantes de velocidad k1,k2 y k3
%Temperatura
Tc=xlsread('Datos2.xlsx', 'Hoja1', 'A9:A11'); %°C;
Tk=Tc+(273.15); %K;
%Constantes de velocidad
k=xlsread('Datos2.xlsx', 'Hoja1', 'B3:D5'); %min^-1;
k1=k(:,1); %min^-1;
k2=k(:,2); %min^-1;
k3=k(:,3); %min^-1;
%Linealización
T_L=1./(Tk);
k1_L=log(k1); k2_L=log(k2); k3_L=log(k3);
P1=polyfit(T_L,k1_L,1);
P2=polyfit(T_L,k2_L,1);
P3=polyfit(T_L,k3_L,1);

%Calculo de parámetros energía de activación y ln(k)
R=0.008314; %kJ/mol*K
Ea1=-P1(1)*R;
Ea2=-P2(1)*R;
Ea3=-P3(1)*R;
lnk1=P1(2);
lnk2=P2(2);
lnk3=P3(2);
disp(['Ea (kJ/mol) para k1: ', num2str(Ea1)]);
disp(['Ea (kJ/mol) para k2: ', num2str(Ea2)]);
disp(['Ea (kJ/mol) para k3: ', num2str(Ea3)]);
disp(['Ln(k1) (min^-1) para k1: ', num2str(lnk1)]);
disp(['Ln(k2) (min^-1) para k2: ', num2str(lnk2)]);
disp(['Ln(k3) (min^-1) para k3: ', num2str(lnk3)]);

% Calculo de R^2
y_fit1 = polyval(P1, T_L);
y_fit2 = polyval(P2, T_L);
y_fit3 = polyval(P3, T_L);

% Calcular el R^2 para cada ajuste
SS_tot1 = sum((k1_L - mean(k1_L)).^2);
SS_res1 = sum((k1_L - y_fit1).^2);
R_squared1 = 1 - (SS_res1 / SS_tot1);

SS_tot2 = sum((k2_L - mean(k2_L)).^2);
SS_res2 = sum((k2_L - y_fit2).^2);
R_squared2 = 1 - (SS_res2 / SS_tot2);

SS_tot3 = sum((k3_L - mean(k3_L)).^2);
SS_res3 = sum((k3_L - y_fit3).^2);
R_squared3 = 1 - (SS_res3 / SS_tot3);

```

```

disp(['R^2 para k1: ', num2str(R_squared1)]);
disp(['R^2 para k2: ', num2str(R_squared2)]);
disp(['R^2 para k3: ', num2str(R_squared3)]);

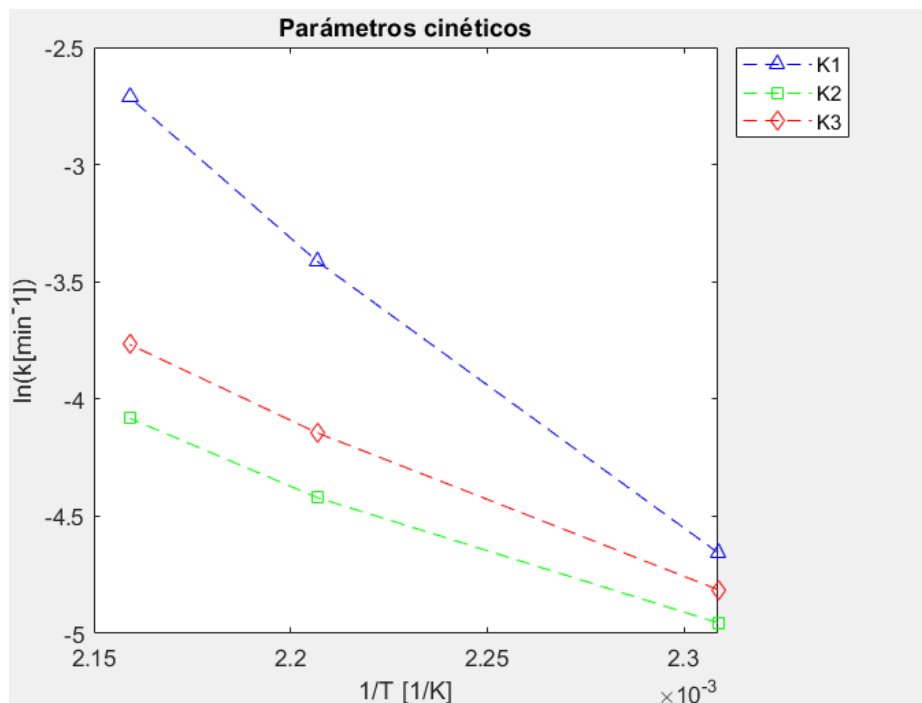
% Graficar resultados
K1_g=log(k(1,:)); K2_g=log(k(2,:)); K3_g=log(k(3,:));
plot(T_L, k1_L, '--^', 'Color', 'blue');
hold on;
plot(T_L, k2_L, '--s', 'Color', 'green');
plot(T_L, k3_L, '--d', 'Color', 'red');
xlabel('1/T [1/K]')
ylabel('ln(k[ $\text{min}^{-1}$ ])')
title('Parámetros cinéticos')
legend('K1', 'K2', 'K3');
legend('Location', 'northeastoutside');

```

## Apéndice D.2 Parámetros cinéticos del modelo Arrhenius

### Figura D.2

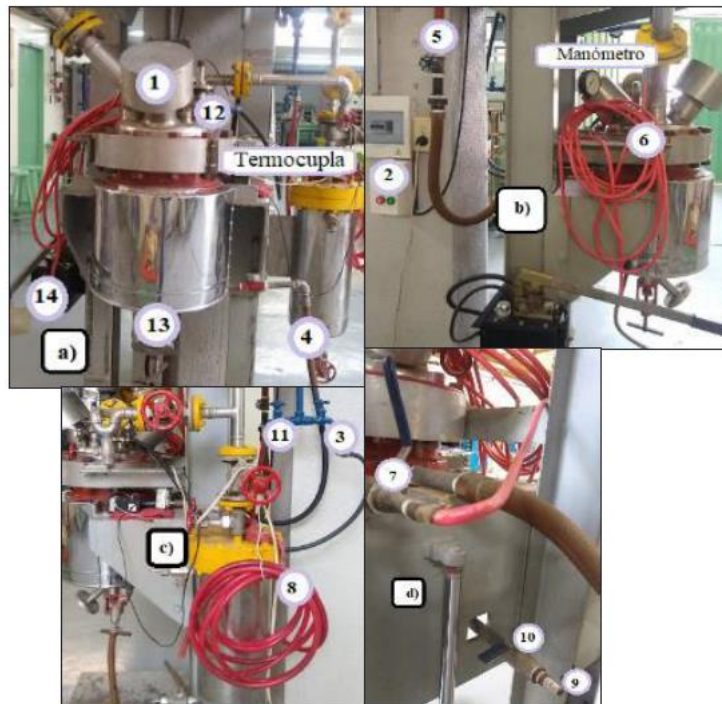
*Dependencia parámetros cinéticos del modelo Arrhenius con la temperatura*



## Apéndice E. Protocolos de operación

**Protocolo de operación Reactor piloto 20 L – Laboratorio de procesos – Escuela de ingeniería química****Figura E.1.**

*Imágenes del reactor a) vista frontal b) vista lateral izquierda c) vista lateral derecha d) vista posterior.*



1. Cargar el reactor a través de la válvula de alimentación (1) con la biomasa y el agua destilada en relación 1:8 (1080 g de biomasa y 8640 mL de agua destilada).
2. Ajustar los tornillos de manera diagonal para evitar fugas durante el proceso.
3. Colocar la termocupla en el baño de aceite ubicado en el reactor y encenderla.
4. Verificar el funcionamiento correcto de la caldera y dirigirse al distribuidor para abrir la válvula de globo que permite el paso de vapor proveniente de la caldera al distribuidor,

- inmediatamente abrir la válvula de globo que permite la distribución de vapor de alta a los equipos.
5. Encender el sistema de agitación (2) y abrir la llave terminal (3) que permite el paso de agua para el sistema de enfriamiento del agitador.
  6. Ubicar la manguera de salida del vapor (4) en el desagüe continuo, permitir el paso del vapor al abrir completamente la válvula de globo (5) de vapor de alta ubicada al costado del reactor.
  7. Registrar datos de temperatura vs tiempo, hasta llegar al valor de severidad deseado.
  8. Al llegar al factor de severidad de reacción cerrar válvula del paso de vapor (5).
  9. Ubicar la manguera de salida de vapor (6) en el desagüe continuo al reactor, abrir la válvula de bola (7) que se encuentra en la parte lateral posterior del reactor para permitir la salida del vapor de la chaqueta, tener cuidado con la manguera de salida de vapor.
  10. Colocar y ajustar la manguera para enfriamiento (8) de la chaqueta en la salida de la válvula (9) que se encuentra en la parte inferior posterior.
  11. Permitir paso de agua lentamente a la chaqueta abriendo simultáneamente las válvulas (10) y (11).
  12. Apagar sistema de agitación (2) y cerrar las válvulas de enfriamiento (3) y (11) al alcanzar temperatura ambiente.
  13. Despresurizar el equipo al abrir completamente la válvula (12), ubicar un recipiente grande debajo del equipo y abrir lentamente la válvula de salida del reactor (13), permitiendo el paso del hidrolizado.
  14. Abrir el reactor con ayuda del gato hidráulico (14), sacar la biomasa y filtrar con filtro liencillo, almacenar el hidrolizado congelado a  $-24^{\circ}\text{C}$  y el residuo sólido secarlo.

15. Una vez extraída toda la biomasa, con la manguera de agua (8) lavar el reactor, pasar una esponja con agua y jabón por las paredes del reactor y lavar nuevamente con abundante agua.
16. Dejar secar el reactor y cerrarlo.

#### **Protocolo para la cuantificación de polifenoles totales usando el reactivo Folin-Ciocalteu**

1. Preparar una solución patrón de ácido gálico [2 mg/mL] en un balón de 50 mL.
2. A partir de la solución patrón, preparar disoluciones entre 0.2 y 1.8 mg/mL en tubos de ensayo de 5 mL, por duplicado.
3. En tubos de ensayo de 5 mL, protegidos de la luz, adicionar 100  $\mu$ L de la solución patrón o del extracto fenólico. El agua es un blanco.
4. Realizado lo anterior, añadir 3 mL de la solución Folin-Ciocalteu a los tubos de ensayo con las muestras a analizar. Tapar y agitar 10 s y dejar reposar por 5 minutos.
5. Transcurrido ese tiempo, añadir a las muestras 3 mL de solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 7.5% p/v y tapar, agitar nuevamente por 10 s. Almacenar durante 1 hora en condiciones de oscuridad.
6. Transcurrido el tiempo, pasar las muestras al espectrofotómetro a 765 nm.
7. Con la curva de calibración (Apéndice C), reemplazar el valor de la absorbancia y determinar la concentración de polifenoles totales, equivalente a la concentración de ácido gálico.

**Apéndice F.** Concentración de monómeros y oligómeros de xilosa y arabinosa y glucosa en el licor hidrolizado

**Tabla F.1**

*Concentración de monómeros y oligómeros de xilosa + arabinosa y glucosa en el licor hidrolizado para la autohidrólisis a 160°C.*

| Tiempo [min] | Xilosa + arabinosa [g/L] |               | Glucosa [g/L] |               |
|--------------|--------------------------|---------------|---------------|---------------|
|              | Monómeros                | Oligómeros    | Monómeros     | Oligómeros    |
| 15           | 1.274 ± 0.165            | 5.098 ± 0.134 | 1.636 ± 0.159 | 3.102 ± 0.106 |
| 30           | 2.309 ± 0.149            | 8.388 ± 0.247 | 2.707 ± 0.250 | 4.470 ± 0.133 |
| 60           | 3.119 ± 0.178            | 9.803 ± 0.273 | 3.405 ± 0.186 | 5.239 ± 0.188 |

**Tabla F.2**

*Concentración de monómeros y oligómeros de xilosa + arabinosa y glucosa en el licor hidrolizado para la autohidrólisis a 180°C.*

| Tiempo [min] | Xilosa + arabinosa [g/L] |                | Glucosa [g/L] |               |
|--------------|--------------------------|----------------|---------------|---------------|
|              | Monómeros                | Oligómeros     | Monómeros     | Oligómeros    |
| 15           | 1.731 ± 0.132            | 7.042 ± 0.150  | 1.933 ± 0.148 | 3.958 ± 0.214 |
| 30           | 3.390 ± 0.219            | 10.714 ± 0.178 | 3.719 ± 0.159 | 6.461 ± 0.336 |
| 60           | 2.609 ± 0.164            | 9.962 ± 0.236  | 2.933 ± 0.155 | 5.172 ± 0.367 |

**Tabla F.3**

*Concentración de monómeros y oligómeros de xilosa + arabinosa y glucosa en el licor hidrolizado para la autohidrólisis a 190°C.*

| Tiempo [min] | Xilosa + arabinosa [g/L] |               | Glucosa [g/L] |               |
|--------------|--------------------------|---------------|---------------|---------------|
|              | Monómeros                | Oligómeros    | Monómeros     | Oligómeros    |
| 15           | 1.492 ± 0.105            | 6.919 ± 0.110 | 1.587 ± 0.089 | 3.545 ± 0.068 |
| 30           | 2.478 ± 0.141            | 9.739 ± 0.162 | 2.759 ± 0.133 | 4.747 ± 0.266 |
| 60           | 2.079 ± 0.164            | 8.382 ± 0.212 | 2.368 ± 0.099 | 3.836 ± 0.224 |

**Apéndice G.** Concentración de Lignina Klason y monómeros de xilosa, arabinosa y glucosa en el sólido remanente

**Tabla G.1**

*Concentración de Lignina Klason y monómeros de xilosa + arabinosa y glucosa en el sólido remanente del proceso de autohidrólisis a 160°C.*

| Tiempo [min] | Xilosa + arabinosa [%p/p] | Glucosa [%p/p] | Lignina Klason [%p/p] |
|--------------|---------------------------|----------------|-----------------------|
| 15           | 85.174±2.252              | 86.469±1.607   | 91.025±1.565          |
| 30           | 74.444±1.406              | 89.127±2.209   | 99.467±0.831          |
| 60           | 54.133±1.538              | 76.828±1.228   | 95.130±1.365          |

*Nota.* Porcentajes dados en g de compuesto/g de compuesto inicial.

**Tabla G.2**

*Concentración de Lignina Klason y monómeros de xilosa + arabinosa y glucosa en el sólido remanente del proceso de autohidrólisis a 180°C.*

| Tiempo [min] | Xilosa + arabinosa [%p/p] | Glucosa [%p/p] | Lignina Klason [%p/p] |
|--------------|---------------------------|----------------|-----------------------|
| 15           | 81.768±0.923              | 82.170±1.575   | 90.973±1.675          |
| 30           | 64.740±1.559              | 86.791±2.097   | 98.013±0.919          |
| 60           | 47.742±1.646              | 70.748±1.684   | 94.466±1.521          |

*Nota.* Porcentajes dados en g de compuesto/g de compuesto inicial.

**Tabla G.3**

*Concentración de Lignina Klason y monómeros de xilosa + arabinosa y glucosa en el sólido remanente del proceso de autohidrólisis a 190°C.*

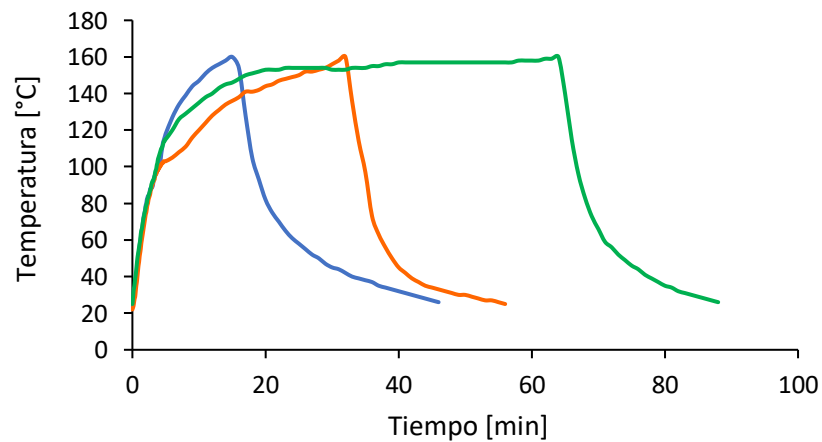
| Tiempo [min] | Xilosa + arabinosa [%p/p] | Glucosa [%p/p] | Lignina Klason [%p/p] |
|--------------|---------------------------|----------------|-----------------------|
| 15           | 78.399±1.945              | 77.567±1.739   | 92.479±1.715          |
| 30           | 57.582±1.617              | 74.824±1.436   | 98.456±0.826          |
| 60           | 42.647±1.802              | 66.843±2.148   | 94.296±1.597          |

*Nota.* Porcentajes dados en g de compuesto/g de compuesto inicial.

## Apéndice H. Perfiles de temperatura

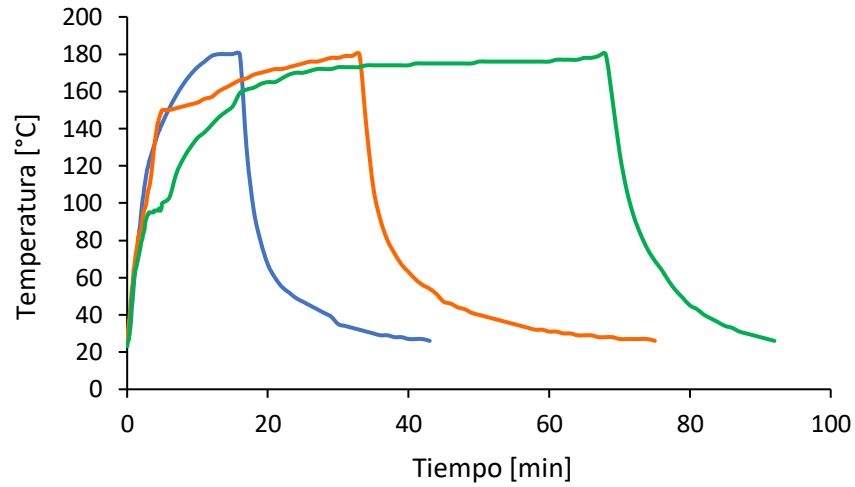
**Figura H.1**

*Perfil de temperatura para experimentos a temperatura de 160°C para tiempos de 15 min (●), 30 min (●) y 60 min (●) en el microreactor.*

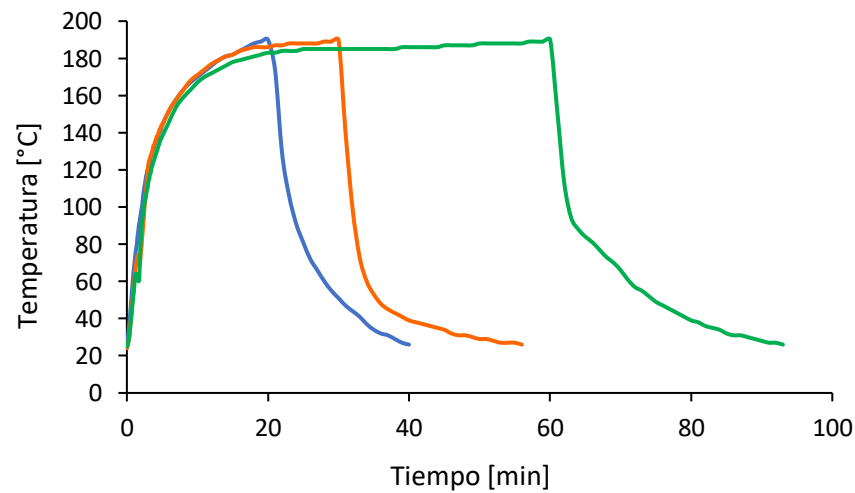


**Figura H.2**

Perfil de temperatura para experimentos a temperatura de 180°C para tiempos de 15 min (●), 30 min (●) y 60 min (●) en el microreactor.

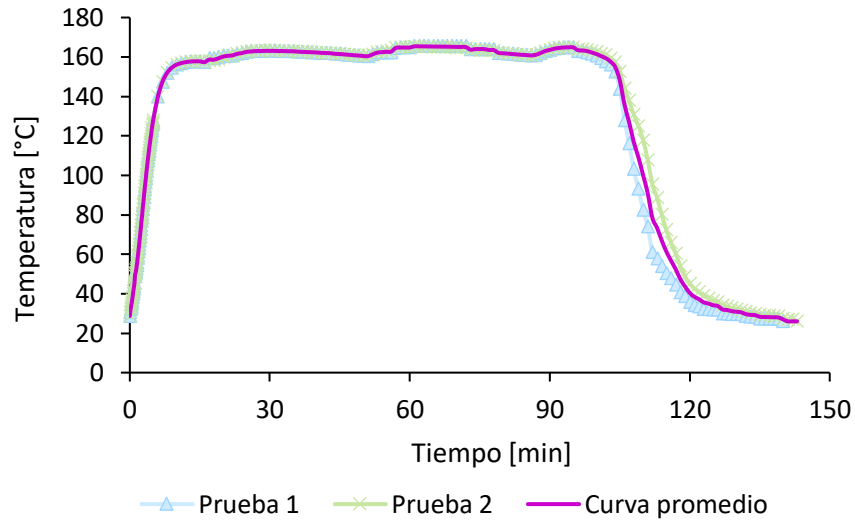
**Figura H.3**

Perfil de temperatura para experimentos a temperatura de 190°C para tiempos de 15 min (●), 30 min (●) y 60 min (●) en el microreactor.



**Figura H.4**

*Perfil de temperatura para experimentos con factor de severidad de 3.68 (temperatura 160°C) en el reactor de 20 L.*

**Apéndice I.** Resultados autohidrólisis a escala piloto en el reactor batch de 20 L**Tabla I.1**

*Concentraciones obtenidas en el reactor batch de 20 L.*

| <b>Azúcar</b>      | <b>Monómeros [g/L]</b> | <b>Oligómeros [g/L]</b> |
|--------------------|------------------------|-------------------------|
| Xilosa + arabinosa | $2.797 \pm 0.231$      | $9.622 \pm 0.231$       |
| Glucosa            | $3.287 \pm 0.224$      | $5.519 \pm 0.212$       |