

Universidad de Matanzas
“Camilo Cienfuegos”
Facultad de Ingenierías
Departamento de Química e Ingeniería Química.



Tesis de diploma en Ingeniería Química

Evaluación del efecto de la evaporación al vacío sobre la fermentabilidad de los hidrolizados de cáscara de arroz de dos alternativas tecnológicas para la producción de etanol en Cuba.

Autor: Alejandro Bacallao Expósito

Tutor: Lic. Yeinier Hechavarria Morales

Asesor: Dr. Jesús Luis Orozco

Matanzas, 2013

Pensamiento.

“...La química es la única fuente constante, cierta y extremadamente pura de riqueza...”

José Martí.

DECLARACIÓN DE AUTORIDAD

Declaro ser el único autor de este trabajo de diploma que lleva como título: “Evaluación del efecto de la evaporación al vacío sobre la fermentabilidad de los hidrolizados de cáscara de arroz de dos alternativas tecnológicas para la producción de etanol en Cuba” y autorizo al Departamento de Química e Ingeniería Química, perteneciente a la Facultad de Ingenierías de la Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos” a hacer uso del mismo con la finalidad de realizar estudios sobre la temática.

Firma del Estudiante:_____ Fecha:_____

NOTA DE ACEPTACIÓN

Presidente del Tribunal Firma

Miembro del Tribunal Firma

Miembro del Tribunal Firma

CIUDAD

FECHA

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi padre Ignacio,

Mi madre Eva

Y a la memoria de mi abuela Eva Marichal,

Agradecimientos

- ❖ A mis padres, ya que fueron mi inspiración en todos estos años, gracias por su paciencia su apoyo incondicional, por estar siempre a mi lado cuando más lo necesitaba, por hacer mi sueño realidad, y más que mi sueño su sueño, por su infinita paciencia MIL GRACIAS.
- ❖ A mi abuela que aunque ya no se encuentra entre nosotros fue parte fundamental en mi carrera
- ❖ A mi tutor Yeinier por haberme guiado por un camino correcto, por su entrega, su dedicación al trabajo, por las noches sin dormir en los laboratorios y en la escritura de la tesis que compartió siempre a mi lado, gracias por hacer posible este trabajo, también a su familia que me acogió como si fuera uno más de ellos.
- ❖ A mi hermanita que de una forma u otra me ha apoyado en todo.
- ❖ A toda mi familia por estar siempre pendiente de mis estudios gracias por su preocupación.
- ❖ A mis compañeros de aula por soportarme a su lado todos estos años
- ❖ A Ana Diana amiga incondicional y tutora desde primer año, gracias por toda tu ayuda, paciencia y por el sacrificio que hiciste por mí.
- ❖ A Raquel y Armando por el apoyo brindado, su hospitalidad y sus conocimientos.
- ❖ A Arletis y a mi hermanaso Adrián Roque (el titi) por su ayuda en los laboratorios y por estar siempre pendiente de mí.
- ❖ A todos los profesores que me educaron y me mostraron el camino correcto en especial a Orozco y Santiago gracias por su motivación y dedicación. También al profe Yoney que a pesar de estar enredado con su doctorado tuvo un pequeño tiempo para mí.
- ❖ Al profe Ariel por su ayuda desinteresada y por ayudarme a enfocar el trabajo

- ❖ A mis compañeros de “*party*” y de cuarto por hacer más agradable mi estancia en la universidad en el transcurso de los años Daniel, El Bolo, Armando, Carlitos, Javier, Rubén, Yackiel Carlos (el calvo), Ochoa, Alexey, Dashiel, Roberi entre otros.
- ❖ En fin a todos lo que contribuyeron al desarrollo de este trabajo directa o indirectamente gracias por alentarme y discúlpenme si no los mencioné.

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la evaporación al vacío sobre la fermentabilidad de los hidrolizados de cáscara de arroz de dos de las alternativas tecnológicas propuestas en un caso base de una tecnología de sacarificación de cáscara de arroz en Cuba para la producción de etanol. Para ello, se realizó una búsqueda bibliográfica sobre el tema con el fin de sentar las bases teóricas. Se obtuvieron los hidrolizados de cada una de las alternativas tecnológicas. Se determinó el efecto de la evaporación al vacío y la detoxificación con hidróxido de calcio y se diseñó el cuádruple efecto de evaporación cumpliendo este con los requisitos técnicos establecidos por la literatura. Se determinó, mediante un análisis de varianza multifactorial, que la concentración de los hidrolizados de las alternativas tecnológicas, por evaporación al vacío en las condiciones ensayadas, inhibió su fermentabilidad y que el método de detoxificación no fue selectivo a los principales inhibidores. En este estudio preliminar, se concluyó que se debe incrementar la temperatura y el vacío aplicado durante la evaporación a fin de conseguir la eliminación de los inhibidores volátiles en los hidrolizados durante la concentración de los mismos. Se recomienda para experimentos posteriores fomentar estrategias para la disminución de la formación de inhibidores entre las cuales se encuentra estudiar menores tiempos de retención en las prehidrólisis ácida del almidón.

Abstract

The goal of this study was to evaluate the effect of the vacuum evaporation on the alcoholic fermentation of the hydrolisates of rice hull of two of the technological alternatives proposed in a base case of a scarification technology of rice hull in Cuba for the ethanol production. For this purpose, was carried out a bibliographical research on the topic in order to sitting down the theoretical bases. It was obtained the hydrolisates of each technological alternative. It was determined the effect of the vacuum evaporation and the calcium hydroxide detoxification and the quadruple evaporation effect was designed according to the technical requirements settled down by the literature. It was founded, by a multifactorial analysis of variance, that the concentration of the hydrolisates of the technological alternatives by vacuum evaporation under the tested conditions, inhibited its fermentabilidad and that the destoxificación method it was not selective to the main inhibitors. In this preliminary study, it was concluded that it should be increased the temperature and the vacuum applied during the evaporation in order to get the elimination of the volatile inhibitors in the hydrolisates during its concentration. It is recommended for later experiments to foment strategies for decrease the formation of inhibitors; to study smaller retention times in the acidic prehidrólisis of the starch is an example.

Tabla de contenido

Contenido

Introducción.....	13
Problema:.....	15
Hipótesis:	15
Objetivo General:	15
Objetivos específicos	15
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	16
1.1 Biocombustibles, importancia de su utilización.	16
1.1.1 Bioetanol y materias primas para su obtención	17
1.2 Materiales lignocelulósicos	19
1.2.1 Composición del material lignocelulósico	20
1.3 Cáscara de arroz. Composición.....	22
1.4 Pretratamientos.....	23
1.5 Hidrólisis de los materiales lignocelulósicos	25
1.6 Inhibidores que se forman en la fermentación etílica.	27
1.6.1 Métodos para minimizar el efecto de la inhibición durante la fermentación.	27
1.7 Evaporación. Definiciones.....	28
Evaporación	28
1.8 Obtención de etanol por fermentación	29
Conclusiones parciales del capítulo 1.	30
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS	32
2.1 Obtención de los hidrolizados de las alternativas tecnológicas estudiadas. 32	
2.1.1 Hidrólisis ácida diluida del almidón.	32
2.1.2 Hidrólisis ácida diluida de la celulosa.....	33
2.1.3 Condiciones de hidrólisis enzimática.	33
2.1.4 Obtención del hidrolizado de la alternativa tecnológica 1	33
2.1.5 Obtención del hidrolizado de la alternativa tecnológica 3.	34

2.2 Concentración por rotoevaporación.....	34
2.3 Destoxificación.....	34
2.4 Condiciones de fermentación.....	34
2.4.1 Preparación del medio para la fermentación de referencia.....	35
2.4.2 Microorganismo.....	35
2.5 Métodos analíticos utilizados.....	35
2.6 Procesamiento estadístico de los resultados.....	35
2.7 Diseño del cuádruple efecto.....	35
CAPÍTULO 3. RESULTADOS.....	41
3.1 Fermentabilidad de los hidrolizados.....	41
3.2 Resultados del diseño del cuádruple efecto.....	45
Tabla 3.4. Otros resultados.....	46
Conclusiones.....	47
Recomendaciones.....	48
Referencias Bibliográficas.....	49
Anexos.....	55

Símbolos, términos y abreviaturas

Leyenda para identificar el tipo de hidrolizado.

HAA: Hidrólisis ácida del almidón.

HAA C: Hidrólisis ácida del almidón concentrada

HAA D: Hidrólisis ácida del almidón destoxificada.

HAC1: hidrolizados ácidos de la celulosa 1.

HAC1 C: hidrolizados ácidos de la celulosa 1 concentrados.

HAC1 D: hidrolizados ácidos de la celulosa 1 destoxificados

HAC2: hidrolizados ácidos de la celulosa 2.

HAC2 C: hidrolizados ácidos de la celulosa 2 concentrados.

HAC2 D: hidrolizados ácidos de la celulosa 2 destoxificados.

Alt 1: alternativa 1

Alt 1 C: alternativa 1 concentrados.

Alt 1D: alternativa 1 destoxificados.

Alt 3: alternativa 3

Alt 3 C: alternativa 3 concentrados.

Alt 3D: alternativa 3 destoxificados.

Introducción

Uno de los problemas enfrentados por la humanidad hoy en día es el agotamiento de los combustibles fósiles. Las posibilidades de encontrar nuevas fuentes de reserva es cada vez menor, como consecuencia los precios de los mismos son cada día más elevados. Debido a este problema se hace inminente la búsqueda de nuevas alternativas para la producción de estos productos que son de vital importancia para el desarrollo de la humanidad basada en fuentes renovables de energía como la solar, la hídrica, la eólica y de la biomasa.

La biomasa ha tenido múltiples usos a través de la historia en los que se destaca la cocción de alimentos, como medio de calefacción así como la producción de energía y biocombustibles.

Una de las fuentes prometedoras para la obtención de estos combustibles a partir de biomasa son los materiales lignocelulósicos ya que no contaminan el medio ambiente y son de bajo valor económico. (Martín *et al.* 2007).

La producción de etanol a partir de materias primas azucaradas y amiláceas es un proceso industrial bien establecido que ha sido usado por muchos años sobre todo para la producción de etanol potable. Sin embargo, la cantidad de materiales azucarados y amiláceos existentes en el mundo no es suficiente para satisfacer la creciente demanda de etanol combustible sin afectar la alimentación humana y animal (Hahn-Hägerdal *et al.*, 2001).

La producción de etanol se ha incrementado a un 10% por año a nivel mundial. Dentro de los productores destaca Brasil, que produce etanol a partir de la caña de azúcar, y Estados Unidos que lo hacen a partir de maíz o de trigo. Estas materias primas han sido ampliamente investigadas y sus procesos siguen optimizándose. El problema radica en que estas materias primas tienen relación directa con el consumo humano, por lo que es deseable la búsqueda de alternativas para sustituirla. (Martín, A. y Martín, C. 2008)

Uno de los materiales lignocelulósicos prometedores para la producción de bioetanol es la cáscara de arroz residual de la industria arrocera, ya que es una de las de mayor rendimiento según Balat Balat, (2009).

Para la obtención de azúcares fermentables a partir de la cáscara de arroz uno de los pretratamientos más eficaz es la hidrólisis ácida diluida con ácido sulfúrico (Mosier *et al.*, 2005b). Sin embargo, aunque este método permite alcanzar altos rendimientos de azúcares y bajos costos para algunas materias primas específicas (Wyman *et al.*, 2005), producen inhibidores de la fermentación etílica (Palmqvist y Hahn-Hägerdal, 2000a; Almeida *et al.*, 2007).

En trabajos previos del grupos de Biorrecursos de la Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos” han demostrado el potencial de uso de la cáscara de arroz de molinos artesanales para la producción de etanol lignocelulósico ya que esta, a diferencia de la cáscara de arroz industrial, contiene remanentes de granos incrementan el contenido de carbohidratos de la materia prima y por consiguiente su potencial para la producción de etanol. (López, 2011)

En estudios previos del grupo de Biorrecursos de la mencionada universidad, se propuso un caso base de una tecnología de sacarificación de cáscara de arroz en Cuba para la producción de etanol, donde se optimizaron las condiciones de trabajo y propusieron las alternativas tecnológicas de las cuales se analizarán dos de ellas. (López 2011).

La alternativa 1 consiste en una hidrólisis ácida del almidón para hidrolizar los pequeños gramos remanentes en la muestra, seguida después por una hidrólisis ácida de la celulosa. También conlleva una deslignificación alcalina y una hidrólisis enzimática. Con el objetivo de concentrar azúcares se realiza una evaporación al vacío y luego se fermenta.

La alternativa 3 es similar a la alternativa 1 lo que en esta se omite la hidrólisis del almidón, todos los pasos posteriores se repiten de igual manera.

Problema: Se desconoce el efecto de la evaporación al vacío sobre la fermentabilidad de los hidrolizados de cáscara de arroz de dos alternativas tecnológicas propuestas en un caso base de una tecnología de sacarificación de cáscara de arroz en Cuba para la producción de etanol.

Hipótesis: Si se estudia el efecto de la evaporación al vacío sobre la fermentabilidad de los hidrolizados de cáscara de arroz de dos alternativas tecnológicas propuestas en un caso base de una tecnología de sacarificación de cáscara de arroz en Cuba para la producción de etanol, entonces se valorará la necesidad de emplear un método de detoxificación después de la concentración obligatoria antes de la fermentación alcohólica industrial de estos hidrolizados.

Objetivo General: Evaluar la fermentabilidad de los hidrolizados de cáscara de arroz concentrados por evaporación al vacío.

Objetivos específicos:

- Obtener los hidrolizados de cáscara de arroz de las alternativas tecnológicas estudiadas.
- Evaluar la fermentabilidad los hidrolizados de cáscara de arroz de las alternativas tecnológicas, concentrados y no concentrados, detoxificados y no detoxificados.
- Diseñar el cuádruple efecto de evaporación.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Biocombustibles, importancia de su utilización.

Dado el escenario económico actual marcado por la tendencia al agotamiento de las reservas de combustibles fósiles, es necesaria la búsqueda de fuentes renovables de energía, entre las cuales la biomasa juega un papel muy importante.

Una de las acepciones de la biomasa se refiere a lo útil que es en términos energéticos. La energía radiante del sol que las plantas transforman en energía química a través de la fotosíntesis, queda almacenada en forma de materia orgánica. Esta energía puede recuperarse quemándola directamente o transformándola en combustible. La biomasa podría proporcionar energía sustitutiva a los combustibles fósiles, a través de agrocombustibles líquidos (como el biodiesel o el bioetanol), gaseosos (gas metano) o sólidos (leña), siempre y cuando no se incurra en otros consumos de combustibles en los procesos de transformación, y de que la utilidad energética sea la más oportuna frente a otros usos posibles.

Los biocombustibles son alcoholes, éteres, ésteres y otros productos químicos elaborados a partir de biomazas celulósicas tales como plantas herbáceas y leñosas, residuos agrícolas y forestales y una gran parte de los residuos municipales e industriales. El término biocombustible puede referirse tanto a combustibles para electricidad como a combustibles para transporte.

Los biocombustibles ofrecen muchos beneficios. Son buenos para el medioambiente porque agregan menores emisiones a la atmósfera que los combustibles de petróleo y utilizan desechos que comúnmente no tienen uso. A diferencia del petróleo, que es un recurso natural no renovable, los biocombustibles son renovables y representan una fuente inagotable de combustible.(Medina-Morales 2011)

Según Medina-Morales (2011) los biocombustibles son los combustibles de origen biológico obtenidos de manera renovable a partir de restos orgánicos. Constituyen la primera fuente de energía que conoció la humanidad, entre estos está la biomasa proveniente de cultivos como: caña de azúcar, maíz, sorgo, yuca y otros, usada para producir etanol, y los aceites provenientes de palma africana, soya, Higuierita, *Jatropha curcas*, colza y otras plantas, utilizados para producir biodiesel.

1.1.1 Bioetanol y materias primas para su obtención

El alcohol etílico o etanol es un producto químico obtenido a partir de la fermentación de los azúcares que se encuentran en los productos vegetales, tales como cereales, remolacha, caña de azúcar o biomasa. Estos están combinados en forma de sacarosa, almidón, hemicelulosas y celulosa. Las plantas crecen gracias al proceso de fotosíntesis, en el que la luz del sol, el dióxido de carbono de la atmósfera, el agua y los nutrientes de la tierra forman moléculas orgánicas complejas que se concentra en la parte fibrosa la planta.

El uso más extendido del etanol ha sido la producción de bebidas, perfumes, como solvente o como punto de partida para obtener otros productos químicos, surgiendo de esta forma la Alcoquímica, rama de la química que estudia el desarrollo del uso del etanol para la obtención de diferentes compuestos químicos, (Gadde, 2009), pero, desde 1973, con el surgimiento de la crisis energética, este producto ha adquirido una mayor importancia por su uso como carburante, en mezclas con gasolina, anhidro o hidratado, de ahí que se estudien nuevas, mejores y prometedoras vías para su obtención (Palmarola, 2004).

Actualmente, el bioetanol es el biocombustible con mayor producción mundial, del que se elaboraron más de 40.000 millones de litros durante el año 2004 en todo el mundo. Para su fabricación se pueden utilizar una gran cantidad de materias primas. Brasil produjo 15.066 millones de litros, principalmente de caña de azúcar, EE.UU. 13.351 millones de litros, procedentes del almidón del maíz, por resaltar los dos mayores productores, pero también se utiliza remolacha, cereal o residuos

forestales. Se está estudiando la posibilidad de cultivar árboles, con alto contenido de celulosa, con el único fin de producir etanol, como pueden ser el chopo o el sauce. Igualmente, el cultivo específico de algunas plantas con el fin de producir combustible, podría ser una alternativa a las tierras sin cultivo, en el marco de la Política Agraria Común (PAC).(Camús y Laborda, 2006)

Otra alternativa a las cosechas dedicadas a fines energéticos, es el uso de residuos de procesos agrícolas, forestales o industriales, con alto contenido en biomasa. Estos residuos pueden ir desde la paja de cereal a las “limpias” forestales, pasando por los residuos sólidos urbanos (RSU) o las cáscaras de cereal o de arroz. Los residuos tienen la ventaja de su bajo coste, ya que son la parte no utilizada en los procesos, salvo cuando son utilizados en la alimentación del ganado. Los RSU, como el papel y la madera, tienen un alto contenido en celulosa, que los hace una potencial fuente de materia prima, aunque debido a su diversa procedencia pueden contener otros componentes cuyo proceso de separación incrementa mucho el costo de obtención del bioalcohol.(Camús y Laborda 2006)

El etanol es el biocombustible más ampliamente utilizado hoy en día en los Estados Unidos. Más de 1.500 millones de galones (5.670 millones de litros aprox.) se agregan anualmente a la gasolina para mejorar el rendimiento de los vehículos y reducir la contaminación atmosférica.

El etanol es un alcohol y su mayor parte se fabrica siguiendo un procedimiento similar al de la cerveza, en el que los almidones son convertidos en azúcares, los azúcares se convierten por fermentación en etanol, el que luego es destilado en su forma final. El etanol fabricado a partir de materiales con biomasa celulósica en lugar de los forrajes tradicionales (cultivos ricos en almidones) es llamado bioetanol.

La producción de combustibles a partir de biomasa es una realidad comercial en el mundo actual. Sin embargo, su obtención a partir de alimentos como el maíz, el trigo, la soya, la caña de azúcar, entre otros, conspira contra la seguridad alimentaria y carece de fundamento ético si se tiene en cuenta que cientos de millones de personas aún sufren hambre en nuestro planeta. Como solución a estos problemas se ha propuesto producir biocombustibles a partir de materias primas que no compitan con la alimentación humana ni animal, por ejemplo, los materiales lignocelulósicos (MLC).

1.2 Materiales lignocelulósicos

Los materiales lignocelulósicos representan el recurso renovable más prometedor para la obtención de combustibles orgánicos, materia prima y químicos. (Lufenberg, (2003))

En general las paredes celulares de plantas consisten en polisacáridos, compuestos fenólicos que pueden alcanzar hasta 30 % en peso seco de las paredes celulares secundarias y compuestos minoritarios (minerales, lípidos, proteínas, etc.). Los polisacáridos se clasifican en celulosa, hemicelulosas y ligninas. Gran parte de los compuestos fenólicos están presentes en la estructura de lignina. La pared celular primaria envuelve la célula que durante la fase de expansión celular crece hasta un tamaño 100 veces mayor que su tamaño justo después de dividirse. Después, ciertas células empiezan a desarrollar una pared secundaria. (Scheller, 2010)

Según (Martín 2009), de acuerdo a su origen, los MLC se clasifican como:

- De origen forestal (madera, residuos forestales),
- De origen agrícola (desechos de cosecha y de poda, cultivos energéticos),
- De origen industrial (residuos de industria alimentaria, azucarera, de la producción de pulpa y papel),
- De origen urbano (residuos de jardinería, papel y cartón reciclado).

1.2.1 Composición del material lignocelulósico

Los materiales lignocelulósicos están compuestos principalmente por celulosa, hemicelulosas y lignina:

- Celulosa

En su mayoría, los carbohidratos presentes en la naturaleza se encuentran en forma de polisacáridos, estos no solamente están compuestos por azúcares unidos por enlaces glicosídicos, sino también pueden contener estructuras sacáridas poliméricas unidas por enlaces covalentes a aminoácidos, péptidos, proteínas, lípidos y otras estructuras (Santos, 2002).

La celulosa es el polímero más abundante de la naturaleza, es un biopolímero ya que forma parte de estructuras biológicas vegetales. Su estructura está formada por monómeros de glucosa unidos por enlaces en el carbono 1 y el carbono 4 por medio de una unión β , es de peso molecular alto. (Laureano-Pérez, 2005).

- Hemicelulosas

La hemicelulosa es un polímero ramificado de carbohidratos que consiste de diferentes monómeros, tales como: pentosas (xilosa y arabinosa), hexosas (glucosa, manosa y galactosa), y ácidos uránicos. La cadena principal de las hemicelulosas, de algunos materiales vegetales como maderas duras, está constituida por xilanos y en maderas suaves por glucomanos. (Hendriks y Zeeman, 2009).

Los polisacáridos estructurales tienen propiedades dramáticamente diferentes a los polisacáridos que almacenan energía (almidón), aunque su composición puede ser similar a estos como en el caso de la celulosa. Estos polisacáridos estructurales se encuentran en las paredes celulares de todas las plantas; es uno de los principales componentes que proveen estructura y fuerza. La celulosa es un homopolímero lineal de glucosa similar a una α -amilosa del almidón. La diferencia estructural que existe entre ellas, la cual altera completamente las propiedades del polímero, es que en la celulosa las unidades de glucosa están unidas por enlaces

β 1-4 y en la α -amilosa el enlace es α 1-4. La conformación más estable conferida por enlaces glicosídicos es dada por el enlace β 1-4, ya que adopta una conformación extendida. La posición de los monómeros de esas cadenas permite un eficiente entrecruzamiento por medio de puentes de hidrógeno, que es la base de la fuerza de la celulosa (Garret y Grisham, 1996).

- Lignina

Después de la celulosa y hemicelulosa, la lignina es uno de los polímeros más abundantes en la naturaleza. Es un heteropolímero amorfo que consiste de tres diferentes unidades fenilpropano (*p*-coumaril, coniferil y alcohol sinapil) unidos por diferentes tipos de enlaces. El principal propósito de la lignina es dar soporte estructural a la planta, impermeabilidad y resistencia a ataques microbianos o a stress oxidativo. Este polímero es insoluble en agua y ópticamente inactivo, en conjunto hace que la degradación de la lignina sea difícil.(Medina-Morales, 2011).

Actualmente existe una gran variedad de residuos agroindustriales como el bagazo de caña, fibra de maíz, paja y cáscara de arroz, entre otros, que son susceptibles de ser utilizados como materia prima en diversos procesos fermentativos, por su naturaleza lignocelulósica, resultando, además, ventajoso su uso por ser una fuente abundante y de bajo costo en el mercado. Además del valor económico de los productos obtenidos, estos procesos son parte del tratamiento para un mejor manejo ambiental de estos residuos.(Cadavid, 2009)

La cáscara de arroz por sus características fisicoquímicas, resulta poco digerible convirtiéndose en un desecho altamente contaminante. Su peso y volumen generan altos costos de almacenamiento y transporte para la industria arrocera; además, debido a su bajo valor proteico y baja digestibilidad, posee un aprovechamiento limitado para la alimentación animal (Martínez, 2002)

1.3 Cáscara de arroz. Composición

La composición media de los residuos arroceros (paja y cáscara) es: celulosa (32-47%), hemicelulosas (19-27%) y lignina (5-24%),. La cáscara de arroz está compuesta por 36-40% de celulosa y 12-19% hemicelulosas. (Keikhosro, 2006)

Según Prinsen, (2010), también contienen grasas, alcaloides, resinas, aceites esenciales, otros componentes y aproximadamente 12% de cenizas, compuesta principalmente por sílice (80-90%), pero también por K₂O, P₂O₅ (5%), CaO (4-12%) y cantidades pequeñas de Mg, Fe y Na.

Otros autores como García (2010) plantean que la cáscara de arroz posee una composición aproximada de 43,5% de celulosa, 22% de hemicelulosas y 17,2% de lignina, además de un alto contenido de pentosanos.

Según (Valverde et al. 2007) la cáscara de arroz en diferentes regiones del mundo en cuanto al porcentaje en base seca tiene los siguientes parámetros: Sólidos volátiles (51,9-67 %); celulosa (29,2-35,5%); hemicelulosas (18,1-21,4%); lignina (18,2-24,3%); nitrógeno total (0,38 – 1,88%); carbono (37,6 – 42,6%); hidrógeno (4,7 – 5,78%) y azufre (0,01–0,18%). Estudios con cáscara de arroz obtenida en Matanzas, Cuba, caracterizan esta materia prima con un 49.1% de glucanos; 8.3 % de xilanos; 1.3 % de arabinanos; 6.4 % de extractivos en etanol; 12.9 % de lignina de Klason y 15.2 % de cenizas que corresponden a la fracción mineral (Martín *et al*, 2007).

En Cuba, la producción de arroz gana cada vez más importancia, ya que es un alimento básico para la población, con una producción estimada para el 2015 de 1 086 000 t. En algunas regiones arroceras del país como el Sur del Jíbaro se estima un crecimiento prospectivo de 5 000 t anuales hasta el 2016 (Linares y Meneses, 2011).

La cáscara de arroz es fundamentalmente convertida en energía mediante procesos termo-químicos debido a su alto contenido en componentes inorgánicos, principalmente silicio que es un metal precioso para la industria electrónica pero en nuestro país no se explota esa posibilidad además de ser un proceso destructivo en el cual se destruyen los carbohidratos presentes en la materia prima. No obstante sería interesante investigar qué cantidad de silicio queda en la torta de cáscara de arroz después de la hidrólisis ácida diluida para la fermentación etílica. Esto sería conveniente porque la torta se pudiera utilizar como combustible y las cenizas como fuente de silicio para la industria electrónica.

Para procesar adecuadamente los materiales lignocelulósicos es necesario someterlos a pretratamientos para favorecer la hidrólisis de la celulosa que generar azúcares fermentables mediante el uso de celulasas. La lignocelulosa es altamente resistente a la hidrólisis, ya que el conjunto de celulosa, hemicelulosa y lignina, están unidos entre sí por enlaces covalentes, diversos puentes intermoleculares y fuerzas de Van der Waals (Kumar, 2010).

El fin de someter a pretratamiento al material vegetal es facilitar la hidrólisis principalmente de la celulosa ya que la conformación natural, cristalina, es muy resistente a la hidrólisis. Los pretratamientos promueven la generación de regiones amorfas en la celulosa las cuales son más susceptibles a la hidrólisis, también disminuyen la cristalinidad y (Hu y Wen, 2008).

1.4 Pretratamientos

Existen diversos procesos químicos, físicos y mecánicos para llegar al mismo fin (procesar adecuadamente los materiales lignocelulósicos para favorecer la hidrólisis de la celulosa para generar azúcares fermentables mediante el uso de celulasas según Kumar 2010), donde el tratamiento mecánico, consiste en la reducción de tamaño de partícula aumentando el área superficial favoreciendo la hidrólisis disminuyendo el grado de polimerización de los polímeros (Palmowski y Mueller, 1999).

También se usan tratamientos físicos donde el efecto es que a altas temperaturas (150-180 °C) la hemicelulosa y lignina comienzan a solubilizarse dejando a la celulosa más expuesta a ser hidrolizada. Se han usado tratamientos ácidos y alcalinos, los cuales promueven de igual manera la solubilización de la lignina y principalmente la hemicelulosa teniendo el mismo propósito que el tratamiento térmico. (Keikhosro, 2006)

También se puede optar por tratamientos oxidativos, donde se agregan agentes oxidantes como ácido, peróxido de hidrogeno u ozono, donde el objetivo es afectar la lignina y hemicelulosa y promover la accesibilidad a la celulosa para su hidrolisis. Al igual que los tratamientos mecánicos, los tratamientos químicos (ácidos, álcalis u oxidación) se pueden combinar con los térmicos para poder aumentar la susceptibilidad de la celulosa a la hidrolisis (Hendriks y Zeeman, 2009).

A continuación se muestra el cuadro (1) con algunos ejemplos de pretratamientos.

Cuadro 1.- Ejemplos de pretratamientos a materiales lignocelulósicos.

Métodos	Procedimientos	Referencia
Pulverizado mecánico	Molienda	Sun y Cheng, 2002
Pirólisis	Temp. > 300 °C	Yu y Zhang, 2003
Explosión a vapor	Vapor saturado a 160 - 260 °C, p= 0.69 - 4.85 MPa por unos segundos o minutos y liberación de presión hasta presión atmosférica	Söderströmet 2003
Agua líquida	Agua caliente a presión T= 170 - 230 °C	Lyndet2002

caliente	1 - 46 min	
Explosión de fibra con amoniaco	1 - 2 Kg de amoniaco/kg de material seco 90 °C/30 min	Chundawatet 2007
Explosión con CO2	4 kg de CO2/kg de material p= 5.62 MPa	Sun y Cheng, 2002
Ozonólisis	Ozono a temperatura y presión ambiente	Sun y Cheng, 2002
Hidrólisis con ácido diluido	H2SO4, HCl, HNO3 1-5% (T= 120 - 160 °C 1, MPa	Rodríguez-Chong 2004
Hidrólisis con ácido concentrado	H2SO4 10 - 30%, ácido paracético 21 - 60% (T= 170 - 190 °C)	Teixeira 1999
Hidrólisis alcalina	NaOH diluido, 24 h/60 °C	Sun y Cheng, 2002
Organosolventes	Solventes orgánicos y su mezcla con 1% de H2SO4 y HCl	Lynd2002

Una vez que se haya encontrado el pretratamiento adecuado para el material con el que se va a trabajar, se procede a hidrolizar el material para generar azúcares monoméricos.

1.5 Hidrólisis de los materiales lignocelulósicos

Para la obtención de azúcares fermentables útiles en la producción de etanol a partir de esta materia prima, se requiere de un previo proceso de hidrólisis. La hidrólisis puede ser catalizada por ácidos ya sea concentrados o diluidos o por enzimas. La hidrólisis enzimática y con ácidos concentrados se realiza a temperaturas normales mientras que con ácidos diluidos se requiere de temperaturas superiores (Martín *et al*, 2007).

La hidrólisis de la celulosa se ha llevado a cabo a través de la hidrólisis ácida y/o enzimática (Pereira, 2001). De acuerdo con esto, la hidrólisis ácida diluida ha sido investigada con una amplia gama de catalizadores ácidos tales como ácido fluorhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido clorhídrico. (Rodríguez-Chong, 2004).

El uso de ácidos concentrados se basa fundamentalmente en la solubilización de los polisacáridos de la biomasa en ácido sulfúrico (72% w/v) o ácido clorhídrico (35% w/v) a bajas temperaturas, seguido de una dilución en ácido concentrado y calentamiento a 100 – 120 °C durante 30 – 60 minutos. (Sun y Cheng, 2002)

La hidrólisis ácida diluida a bajas temperaturas puede ser empleada para la hidrólisis de las hemicelulosas y el almidón que ocurren a temperaturas relativamente bajas y como pretratamiento para la hidrólisis enzimática. Para la hidrólisis de la celulosa utilizando este método se necesitan condiciones de temperatura más severas.

Si bien es cierto que la hidrólisis ácida diluida tiene ventajas desde el punto de vista económico y de rapidez respecto a la hidrólisis con ácido concentrado y la enzimática, lo cierto es que también presenta desventajas como la utilización de altas temperatura, bajo rendimiento de azúcares, afectaciones de equipos por corrosión y alta formación de inhibidores de la fermentación (Martín 2007).

La principal desventaja de la hidrólisis con ácido diluido radica en la formación de inhibidores de la fermentación etílica de los hidrolizados.

1.6 Inhibidores que se forman en la fermentación etílica.

Durante los procesos de pretratamiento y de hidrólisis ácida, conjuntamente con la liberación de los azúcares se forman sustancias inhibitoras de la fermentación, las cuales generalmente se clasifican en tres grupos: ácidos alifáticos, aldehídos furánicos y compuestos fenólicos. Las concentraciones de estos compuestos en los hidrolizados varían en dependencia del tipo de materia prima, el método de hidrólisis y las condiciones del pretratamiento (Palmqvist y Hahn-Hägerdal, 2000a; Almeida et al., 2007).

Algunos de estos inhibidores son el ácido acético obtenido a partir de la desacetilación de las hemicelulosas; el ácido fórmico y levulínico que son productos de la degradación de azúcares; compuestos fenólicos formados a partir de la degradación parcial de la lignina principalmente y el furfural y 5-hidrometilfurfural (HMF) obtenidos de la degradación de las pentosas el primero y de las hexosas el segundo (Martín *et al.*, 2007). Para una eficiente fermentación se precisa evitar la formación de estos productos o es necesario destoxificar los hidrolizados, con lo que se incurre en costos adicionales del proceso.

1.6.1 Métodos para minimizar el efecto de la inhibición durante la fermentación.

Para enfrentar la inhibición de la fermentación de hidrolizados lignocelulósicos pueden aplicarse diversas estrategias; selección de las condiciones del pretratamiento para minimizar la formación de inhibidores (Saddler *et al.*, 1993; Martín *et al.*, 2002a); destoxificación de los hidrolizados (Larsson *et al.*, 1999b; Palmqvist y Hahn-Hägerdal, 2000a); (c) selección de cepas específicas basada en cambios evolutivos (Martín *et al.*, 2007d); transformación genética de microorganismos para incrementar su tolerancia a inhibidores (Larsson *et al.*, 1999a); y aplicación de esquemas alternativos de fermentación para minimizar el efecto de los inhibidores (Tahezadeh *et al.*, 1999).

La destoxificación con hidróxido de calcio Ca(OH)_2 es un método muy estudiado y resulta eficiente en hidrolizados de distintos materiales el cual consiste en llevar la

solución a pH igual 10 añadiendo hidróxido de calcio y se espera una hora. Después se disminuye el pH hasta 5,5 (Ranatunga *et al.*, 2000; Alriksson *et al.*, 2006). Otros métodos reportados para la destoxificación de hidrolizados de bagazo son: tratamiento con la enzima lacasa (Martín *et al.*, 2002b), resinas de intercambio iónico (Watson *et al.*, 1984), carbón activado (Alves *et al.*, 2000) y ajuste del pH con diferentes bases (Gong *et al.*, 1993). Algunos de esos métodos, como los basados en resinas intercambiadoras o en carbón activado, están limitados por sus elevados costos. Algunos inhibidores pueden ser metabolizados por las levaduras, lo que ofrece la posibilidad de destoxificación *in situ* (Tahezadeh y Karimi, 2007a).

Otro paso que sería importante analizar fuese el efecto de la concentración en los hidrolizados para analizar su repercusión en los inhibidores formados en las hidrólisis.

1.7 Evaporación. Definiciones.

Evaporación

Según Geankoplis, 1998 se comprende por evaporación, a la operación unitaria, en la cual se lleva a cabo el aumento de concentración de una solución de un líquido, que se denomina solvente, y uno o varios solutos sólidos disueltos en dicho solvente, los cuales son prácticamente no volátiles a la temperatura de operación, la cual es la temperatura de ebullición del solvente, a la presión de operación. Esta separación se realiza por medio de la adición de calor a la solución, para llevarla a la temperatura de ebullición, de modo que el solvente se volatilice y los solutos permanezcan en la solución, de modo que aumente la concentración de los mismos.

Evaporadores

Un evaporador es un intercambiador de calor entre fluidos, de modo que mientras uno de ellos se enfría, disminuyendo su temperatura, el otro se calienta aumentando su temperatura, pasando de su estado líquido original a estado vapor (cabiendo la posibilidad de un calentamiento ulterior, con lo que se alcanza el

estado de vapor sobrecalentado). A fin de cuentas un evaporador, es un intercambiador de calor más complejo, en el que además de producirse el cambio de fase pueden darse otros fenómenos asociados a la concentración de la disolución, como la formación de sólidos, la descomposición de sustancias.

Evaporador al vacío: La evaporación al vacío consiste en reducir la presión del interior de la caldera del evaporador por debajo de la presión atmosférica. Esto permite reducir la temperatura de ebullición del líquido a evaporar, lo que reduce la cantidad de calor a aportar/eliminar en el proceso de ebullición y de condensación, además de otras ventajas técnicas como la de poder destilar líquidos con alto punto de ebullición, evitar la descomposición de sustancias sensibles a la temperatura.

1.8 Obtención de etanol por fermentación

Los azúcares mayoritarios que forman parte de los hidrolizados de los materiales lignocelulósicos se encuentran la glucosa y la xilosa, las cuales son el punto de partida para obtener bioproductos tales como el etanol y el xilitol respectivamente (Sedlak, 2004).

La fermentación de hidrolizados lignocelulósicos es cualitativamente diferente a la fermentación de sustratos azucarados y amiláceos. Esto se debe a la presencia de compuestos inhibitorios y a los altos contenidos de pentosas, las cuales no son utilizadas por la levadura *S. cerevisiae* (Hahn-Hägerdal *et al.*, 2001; Almeida *et al.*, 2007).

El etanol puede ser producido por vías química y bioquímica a partir, fundamentalmente de hexosas, tales como la glucosa. La vía química consiste en la hidratación del etileno en presencia de un catalizador. La vía bioquímica se basa en la fermentación de materiales ricos en glúcidos por la acción de microorganismos. Aproximadamente el 91% del etanol producido en el mundo es

obtenido por fermentación, mientras que sólo el 9% es producido sintéticamente. Murray (1996)

Los organismos más usados por el hombre en la obtención de etanol por fermentación son las levaduras del género *Saccharomyces*, lo que no quiere decir que son los únicos microorganismos, pues existen algunos géneros de bacterias (*Zymomonas*) y hongos (*Aspergillus*) que también tienen la capacidad de producir dicho bioproducto. (Palonen, (2004)

En trabajos previos se ha realizado la hidrólisis ácida diluida de la cáscara de arroz con H_2SO_4 al 2% y 122 °C empleando una razón sólido líquido de 1:10 obteniéndose un aumento del rendimiento de azúcares con el incremento del tiempo de reacción. Se obtuvieron altas concentraciones de azúcares fermentables (26–33.5 g/L) detectándose xilosa (4.8-6.9 g/L), glucosa (26–33.5 g/L), arabinosa (1.0-1.4 g/L) y galactosa (0.5-0.6 g/L).

En ese trabajo se constató que la hidrólisis ácida diluida incrementó de 2.7-3.7 veces, la convertibilidad de azúcares por hidrólisis enzimática en el bagazo de caña de azúcar pero no fue efectiva para la cáscara de arroz, conchas de manís, ni tallos de yuca(Martín et al. 2007).

Estos resultados sirven de precedente para realizar el estudio de la fermentabilidad de los hidrolizados de cáscara de arroz aplicando solamente la hidrólisis ácida diluida sin practicar posterior hidrólisis enzimática pues esta no incrementa significativamente el rendimiento de azúcares a la temperatura evaluada (125°C) que será la misma a la que se ensayará. Además resultaría interesante, experimentar a otras razones de sólido-líquido superiores para abaratar el costo del proceso por concepto de reactivos y menor rotoevaporación.

Conclusiones parciales del capítulo 1.

1. Los biocombustibles constituyen una alternativa prometedora para la sustitución de los combustibles fósiles.

2. Los materiales lignocelulósicos son una fuente sustancial de materia prima para la producción de bioetanol ya que no pueden ser utilizado como alimento debido a su bajo contenido proteico.
3. La cáscara de arroz constituye una materia prima prometedora ya que es un desecho de la industria arrocera.

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Obtención de los hidrolizados de las alternativas tecnológicas estudiadas.

Tabla 2.1. Condiciones empleadas para la obtención de las alternativas (López, 2010)

Tratamiento	Condiciones del Tratamiento
1. Hidrólisis ácida del almidón.	<ul style="list-style-type: none">• T=125 °C• % sólidos=8 %• c(H₂SO₄)=1.36 %• t = 74 min.
2. Hidrólisis ácida de la celulosa.	<ul style="list-style-type: none">• T=170 °C• % sólidos=10 %• c(H₂SO₄)=1 %• t =10 min
3. Deslignificación Alcalina.	<ul style="list-style-type: none">• T=120 °C• c(Na OH)=2 %• t= 90min• % sólidos= 5 %
4. Hidrólisis enzimática.	<ul style="list-style-type: none">• T=50 °C• c(Celulasas)=25 FPU/g• Agitación=120 rpm• pH=5• % sólidos=5 %
5. Evaporación al vacío	<ul style="list-style-type: none">• c(glucosa) deseada=10 %
6. Fermentación etílica	<ul style="list-style-type: none">• T=30 °C• pH=5,5• <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

2.1.1 Hidrólisis ácida diluida del almidón.

Se realizó en un reactor presurizado HB-32 con agitación, de 6 L de volumen efectivo a 125 °C, 8% de sólidos, 1,36 % de ácido sulfúrico y un tiempo de retención de 74 min.

Transcurrida la reacción, se descarga del material en un colector y la torta fue separada del hidrolizado mediante filtración a vacío. Se determinó el volumen del hidrolizado obtenido, se tomaron muestras para el análisis de la concentración de

azúcares reductores totales por el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico. (Miller, 1959) y el resto fue conservado a -20 °C hasta su uso. La torta fue lavada con agua destilada hasta neutralizarla; posteriormente se secó al aire hasta un contenido de materia seca igual o superior al 90 %. Finalmente se almacenaron en bolsas plásticas selladas hasta su posterior utilización en la etapa de hidrólisis ácida de la celulosa.

2.1.2 Hidrólisis ácida diluida de la celulosa.

Se realizaron 2 tipos de hidrólisis enzimática bajo las mismas condiciones pero con diferente materia prima de entrada pues para la alternativa tecnológica 1 se parte de la torta obtenida por hidrólisis ácida del almidón; mientras que para la alternativa tecnológica 3 se parte de la cáscara de arroz.

Se realizó en un reactor presurizado HB-32 con agitación, de 6 L de volumen efectivo a 170°C, 10% de sólidos, 1 % de ácido sulfúrico y un tiempo de retención de 10 min.

Con el prehidrolizado ácido obtenido y la torta se procedió de la misma manera que para la hidrólisis ácida del almidón.

2.1.3 Condiciones de hidrólisis enzimática.

Se conoce que durante la hidrólisis enzimática de la celulosa no se aportan inhibidores de la fermentación etílica al hidrolizado obtenido (López, 2011) por lo que en este trabajo se sustituyó el hidrolizado enzimático por una solución de agua destilada y glucosa a la concentración obtenida por López para cada alternativa.

2.1.4 Obtención del hidrolizado de la alternativa tecnológica 1

Se obtuvo mezclando los hidrolizados de la hidrólisis ácida del almidón, hidrólisis ácida de la celulosa e hidrólisis enzimática al culminar los tratamientos del 1-4 de la **tabla 2.1**.

2.1.5 Obtención del hidrolizado de la alternativa tecnológica 3.

Se obtuvo mezclando los hidrolizados de la hidrólisis ácida de la celulosa e hidrólisis enzimática al culminar los tratamientos del 2-4 de la **tabla 2.1**.

2.2 Concentración por rotoevaporación.

Se rotoevaporó a 60 °C hasta una concentración azúcares reductores totales de 100 g/L que resultó equivalente a 10⁰Brix.

2.3 Destoxificación

Los hidrolizados ácidos de bagazo fueron destoxificados por tratamiento con hidróxido de calcio (Alriksson *et al.*, 2006). Una solución de Ca(OH)₂ al 20% (m/v) fue adicionada al hidrolizado hasta alcanzar un pH igual a 10. Luego de una hora de tratamiento, el hidrolizado fue filtrado al vacío, ajustado a pH 5,5 con H₂SO₄ y filtrado nuevamente.

2.4 Condiciones de fermentación

La fermentación se llevó a cabo en condiciones de limitación de oxígeno en frascos de 8 mL de volumen efectivo equipados con tapas de goma y agujas para permitir la evolución del dióxido de carbono. Se llevó a cabo con agitación (120 rpm) a 30⁰C durante 24 h. Se inoculó 1 g/L de levadura que se encontraba en la fase exponencial de crecimiento. Se fermentaron los hidrolizados de las alternativas tecnológicas 1 y 3, así como los hidrolizados que los componían por separado. Los hidrolizados se concentraron y no concentraron, se destoxificaron y no destoxificaron. Todos fueron llevados a una concentración de 100 g/L y suplementaron con los nutrientes del medio de referencia exceptuando el extracto de levadura. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Paralelamente se realizaron fermentaciones de soluciones de referencia. Se monitoreó la evolución de dióxido de carbono a las 1, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 21, y 24h de cultivo.

2.4.1 Preparación del medio para la fermentación de referencia.

El medio de referencia se elaboró según Martín *et al.*, (2007) su composición química fue como sigue glucosa 100g/L, extracto de levadura, sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g/L; dihidrógeno fosfato de potasio, KH_2PO_4 , 1.38 g/L; sulfato de magnesio heptahidratado, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0.025 g/L.

Como criterio de fermentabilidad se utilizó el % de inhibición del consumo de glucosa en el tiempo con respecto a la fermentación de referencia.

2.4.2 Microorganismo

Se utilizó una levadura panadera *Saccharomyces cerevisiae* comercializada en Cuba.

2.5 Métodos analíticos utilizados

Los azúcares fueron analizados como azúcares reductores totales (ART) utilizando el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico con glucosa como estándar de calibración y leyendo la absorbancia a 546 nm (Miller, 1959).

2.6 Procesamiento estadístico de los resultados

Se realizaron tres réplicas de cada experimento. Los resultados experimentales fueron procesados estadísticamente usando los programas de *Microsoft Excel 2010* y *STATGRAPHICS Plus 5.0 for Windows*. Se realizó un análisis de varianza multifactorial ANOVA con la idea de comparar el efecto de los factores evaporación (concentrado y no concentrado), detoxificación (destoxificado y no destoxificado) y el tiempo a las 12 y 24 horas.

2.7 Diseño del cuádruple efecto.

1. Determinación del flujo de agua evaporada en la estación.

El flujo de agua evaporada se termina mediante la ecuación #1

$$W1 = Wf (1 - xi/xf) \quad (1)$$

Donde:

xi y xf: son las concentraciones iniciales y finales (Brix) del jugo clarificado.

W_f : es el flujo de jugo clarificado.

2. Determinación del flujo de agua evaporada en cada efecto.

El flujo de agua evaporada en cada efecto se determina mediante las ecuaciones siguientes:

$$W_1 = \frac{W_t}{1 + 1.1 + 1.2 + 1.3}$$
$$W_2 = \frac{1.1W_t}{1 + 1.1 + 1.2 + 1.3} \quad (3)$$

$$W_3 = \frac{1.2W_t}{1 + 1.1 + 1.2 + 1.3} \quad (4)$$

$$W_4 = \frac{1.3W_t}{1 + 1.1 + 1.2 + 1.3} \quad (5)$$

2. Determinación de las acto.

Para la determinación de las concentraciones en cada uno de los efectos son empleadas las ecuaciones siguientes:

$$x_1 = \frac{W_F x_i}{W_F - W_1} \quad (6)$$

$$x_2 = \frac{W_F x_i}{W_F - W_1 - W_2} \quad (7)$$

$$x_3 = \frac{W_F x_i}{W_F - W_1 - W_2 - W_3} \quad (8)$$

$$x_4 = \frac{W_F x_i}{W_F - W_1} \quad (9)$$

En el presente caso estas composiciones son conocidas (Bx de entrada y de salida a cada efecto)

4. Distribución de las presiones en cada efecto.

La distribución de las presiones de cada efecto es conocida.

5. Determinación de la elevación del punto de ebullición.

Efecto de la concentración:

Esta depresión depende del tipo de sustancia, de la concentración y de la presión. Se determina por tablas o gráficos. En el presente caso se determinó a través de la figura 2.3 (Wittwer, 1995).

Efecto de la presión hidrostática:

Será máxima en la parte inferior de los tubos del evaporador. Si se tiene un tubo vertical que contiene una solución, la temperatura en la superficie del líquido va a ser diferente a la temperatura del líquido que se encuentra en el fondo del tubo; producto, precisamente, a la presión hidrostática y es a esta diferencia, a la que se le denomina depresión hidrostática de la temperatura. Se determinó mediante la siguiente expresión:

$$EPEh = T_m - T_s \quad (10)$$

Donde:

T_s : es la temperatura de saturación a la presión del cuerpo del efecto, y se determina en (Keenan, 1988), tabla #2.

T_m : es la temperatura media de saturación a la presión media (P_m) del cuerpo del efecto, y se determina en (Keenan, 1988), tabla #2.

P_m se determina mediante la siguiente expresión:

$$P_m = P_s + \Delta P_h \quad (11)$$

Donde:

P_s : es la presión de vapor en el cuerpo del efecto.

ΔP_h : es la caída de presión hidrostática, y se determina por la expresión:

$$\Delta P_h = \rho \cdot g \cdot \Delta h \quad (12)$$

Donde:

ρ : es la densidad de la solución.

G: es la aceleración de la gravedad.

Δh : es la diferencia de nivel del líquido en los tubos. Según Hugot, 1987, esta debe ser 1/3 de la altura de los tubos.

Efecto hidrodinámico:

Es una depresión de la temperatura provocada por la circulación del fluido. Esta pérdida es casi imposible de determinar por lo que Kern, 1999 recomienda para el diseño de evaporadores químicos, valores entre 1 – 1.5 °C.

6. Determinación de la temperatura de ebullición de la solución con elevación del punto de ebullición.

$$T_{eb} = T_S + EPE_c + EPE_h + EPE_{hd} \quad (13)$$

7. Determinación de la diferencia útil de temperaturas.

El cálculo de la diferencia útil de temperaturas viene dado por la siguiente expresión:

$$\Delta T_{\text{útil}} = T_s - (T_c + \Sigma EPE) \quad (14)$$

Donde:

Ts: es la temperatura de saturación del vapor en la calandria en el primer efecto.

Tc: es la temperatura de saturación del vapor en el último efecto.

8. Balances de energía en cada efecto.

En cada efecto, el calor absorbido por la disolución se termina a partir de las expresiones siguientes:

$$Q_1 = W_F c_{p_1} (t_{eb_1} - t_F) + W_1 \lambda_1 \quad (15)$$

$$Q_2 = L_1 c_{p_2} (t_{eb_2} - t_{eb_1}) + W_2 \lambda_2 \quad (16)$$

$$Q_3 = L_2 c_{p_3} (t_{eb_3} - t_{eb_2}) + W_3 \lambda_3 \quad (17)$$

$$Q_4 = L_3 c_{p_4} (t_{eb_4} - t_{eb_3}) + W_4 \lambda_4 \quad (18)$$

Donde:

$$L1 = Wf - W1 \quad (19)$$

$$L2 = Wf - W1 - W2 \quad (20)$$

$$L3 = Wf - W1 - W2 - W3 \quad (21)$$

9. Consumo de vapor primario.

El consumo de vapor primario está dado por la siguiente expresión derivada del balance de energía.

$$Ws = Q1/\lambda_s \quad (22)$$

10. Determinación de la economía de evaporación.

La economía del evaporador es una medida de la cantidad de agua evaporada por la cantidad de vapor primario utilizado, y se determina mediante la ecuación #64.

$$E = Wt/Ws \quad (23)$$

11. Determinación de la eficiencia de evaporación.

La eficiencia de la evaporación se determina a partir de la cantidad de agua que se evapora en función de la cantidad de agua que entra, y se determina mediante la ecuación #65.

$$\eta = Wt/Wf (1-x_i) \quad (24)$$

12. Determinación del consumo efectivo.

El consumo efectivo se determina mediante la ecuación #66.

$$d = Ws/Wt \quad (25)$$

13. Distribución de la diferencia útil de temperaturas y área de transferencia de calor.

Siguiendo la metodología de diseño para áreas iguales:

$$\Delta T_{\text{útil}_i} = \frac{\Delta T_{\text{útil}} \left(\frac{Q_i}{U_{D_i}} \right)}{\Sigma \left(\frac{Q_i}{U_{D_i}} \right)} \quad (26)$$

$$A = \frac{Q}{U_D \Delta T_{\text{útil}}} \quad (27)$$

El costo de adquisición del cuádruple efecto se determinó usando la herramienta informática para análisis económicos Capcostt.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS.

3.1 Fermentabilidad de los hidrolizados

Tal como se esperaba, se observó que la fermentación de todos los hidrolizados estudiados estuvo inhibida con respecto a la fermentación de referencia sobre todo durante las primeras horas (Fig. 3.1 A y B) (Fig. 3.2 B).

La inhibición observada se debió a la presencia de compuestos tóxicos formados durante el pretratamiento, los cuales, si bien no se determinaron analíticamente, se conoce que están presentes en los hidrolizados de materiales lignocelulósicos tratados mediante prehidrólisis ácida diluida con ácido sulfúrico (Hahn-Hägerdal *et al.*, 2001; Almeida *et al.*, 2007). Además, bajo las condiciones ensayadas se obtienen altos contenidos de pentosas las cuales no son utilizadas por la levadura *Saccharomyces cerevisiae* ((Aldama 2009) (López 2013) Almeida *et al.*, 2007)

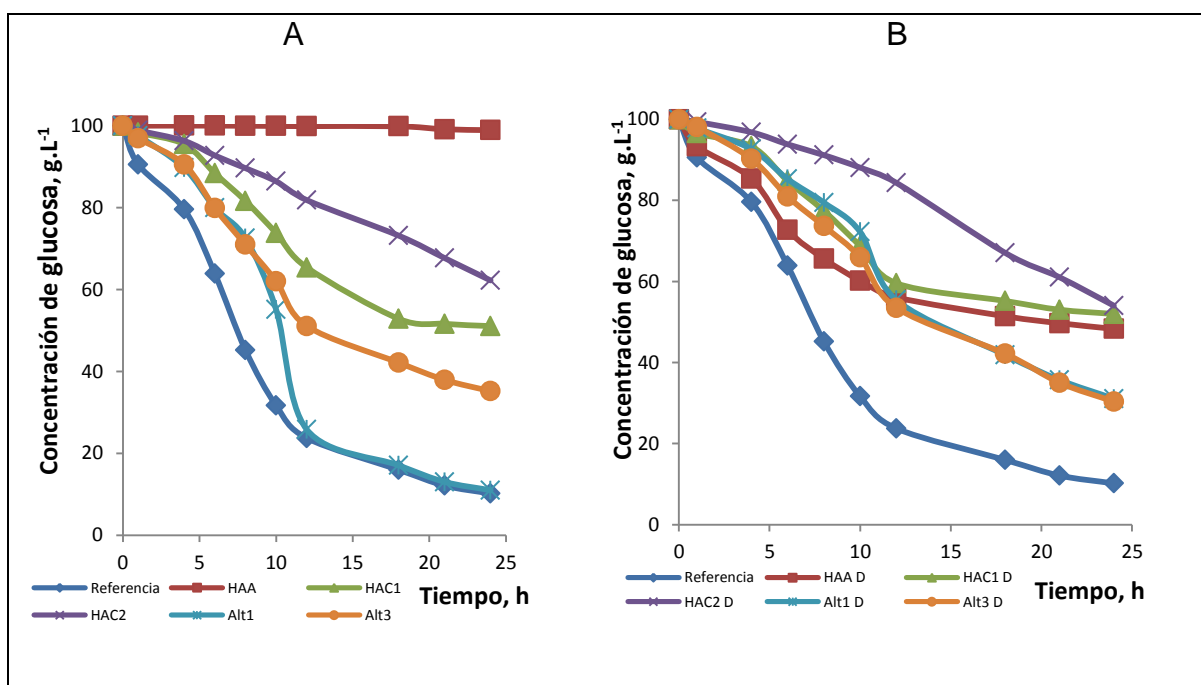


Figura 3.1: Cinética de consumo de glucosa de los hidrolizados no concentrados ni destoxificados (A) y destoxificados (B).

Mediante un análisis de varianza multifactorial, se determinó que tanto el tiempo (12 y 24 horas) como la evaporación al vacío, el tipo de hidrolizado y la

destoxificación fueron factores que contribuyeron de manera significativa al porcentaje de inhibición de los hidrolizados ensayados con un 95 % de intervalo de confianza (Tabla 3.1). Cuando se analizó el test de rangos múltiples de Tukey HSD, se observó que para el tipo de hidrolizado no se encontró diferencias significativas en el porcentaje de inhibición para un intervalo de confianza del 95% entre las alternativas 1 y 3, por lo que ambas alternativas fueron las que mejores fermentaron y no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí para el intervalo de confianza escogido (Anexo 1). Sin embargo, cuando se analizaron las gráficas de consumo de glucosa en el tiempo (Fig. 3.1 A y B) y (Fig. 2 A y B), resultó llamativo la diferencias en la fermentabilidad entre todos los hidrolizados concentrados y los no concentrados tanto a las 12 horas de fermentación como a las 24. En este análisis se analizaron sólo los efectos principales entre cada tipo de hidrolizado y no se alcanzó a analizar las interacciones entre los efectos de destoxificación y evaporación dentro de cada tipo de hidrolizado motivo por el cual se efectuó otro análisis de varianza multifactorial que permitió detectar las diferencias significativas entre los efectos de evaporación al vacío y detoxificación dentro de cada tipo de hidrolizado (Anexo 2).

Tabla 3.1: Análisis de varianza de los factores Tipo de hidrolizado, Evaporación al vacío, Destoxificación y el tiempo para el % de inhibición de la fermentación alcohólica.

Fuente	F-ratio	p-value
Efectos principales		
A: Tipo de Hidrolizado	23.95	0.0000
B: Tiempo	7.31	0.0078
C: Evaporación al vacío	151.75	0.0000

D: Destoxificación	6.14	0.0145
--------------------	------	--------

En contraposición a lo esperado, el efecto evaporación al vacío no inhibió la fermentabilidad de todos los hidrolizados (Fig. 3.2 A) y (anexo 2) por lo que se presume que los compuestos tóxicos de todos los hidrolizados no se evaporaron bajo las condiciones ensayadas o los compuestos tóxicos responsables de la inhibición de la fermentación etílica no son volátiles y por tanto durante la evaporación al vacío los concentró. Para el caso de los compuestos fenólicos se cumple esta condición pues los mismos poseen una temperatura de ebullición muy elevada para poder ser eliminados por evaporación (Aldama 2009).

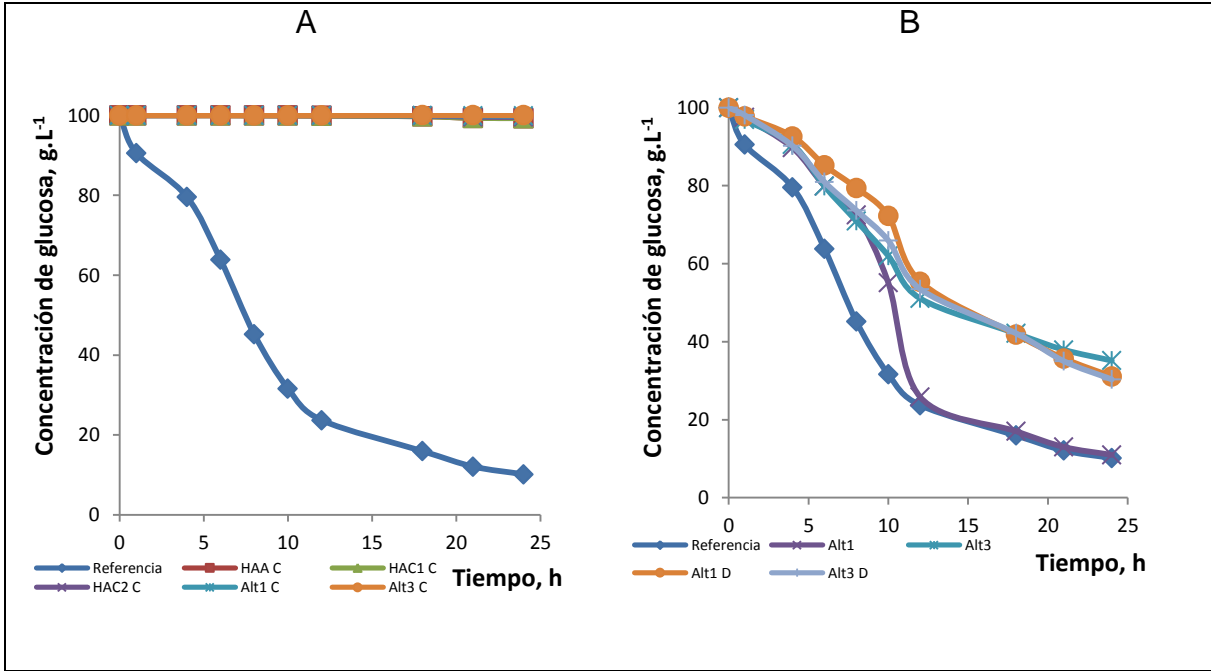


Figura 3.2: Cinética de consumo de glucosa de los hidrolizados concentrados (A) y las alternativas tecnológicas (B).

De las dos alternativas tecnológicas estudiadas se constató que la que mejor fermentabilidad presentó fue la alternativa 1 (Alt 1) sin concentrar ni destoxificar

(Fig. 3.2 B) (Ver anexo 2). Se observó (Fig. 2 B) que la detoxificación con hidróxido de calcio tampoco fue efectiva ya que no se observaron diferencias significativas entre la fermentabilidad de la alternativa tecnológica 3 destoxificada (Alt 3 D) y sin destoxificar ni concentrar y la Alt 1 sin destoxificar fue menos inhibida que la alternativa tecnológica 1 destoxificada (Alt 1 D) haciendo preferible la opción de no destoxificar para las alternativa sin concentrar. Se conoce que los métodos de detoxificación son selectivos para algunos tipos de inhibidores (Palmqvist y Hahn-Hagerdal 2000a), en particular el empleado en el presente trabajo no es efectivo para eliminar aldehídos furánicos ni compuestos fenólicos (Xiang *et al.*, 2004) por lo que estos componentes se quedarían en los hidrolizados como inhibidores de la fermentación alcohólica. Se concluyó que se requiere el empleo de otro método de detoxificación como podría ser el empleo de lacasas para la remoción de compuestos fenólicos.

Se observó que a las 24 h la glucosa no fue consumida totalmente ni siquiera por la fermentación de referencia (Fig. 3.1 A y B) (Fig. 3.2 A y B) por lo que se recomienda extender el monitoreo de la cinética de evolución de dióxido de carbono hasta 48 horas.

Este experimento constituyó un ensayo preliminar en el cual no se conocía de antemano cómo influía la evaporación al vacío, sobre la fermentabilidad de los hidrolizados en estudio, por lo que las condiciones de rotoevaporación no fueron las mejores y quizás sea prudente incrementar la temperatura de rotoevaporación de 60 °C hasta 70-80 °C e incrementar a su vez el vacío para de este modo lograr la evaporación de inhibidores volátiles como el ácido acético que posee tiene una temperatura de ebullición de 118,5 °C (Zaldívar e Ingram, 1999.)

Se constató que los inhibidores presentes en los hidrolizados son diluidos al construir las alternativas (Fig. 3.1 A y B) (Fig. 3.2 A y B) hasta concentraciones por debajo del límite de inhibición puesto que las alternativas tecnológicas 1 y 3 sin concentrar ni destoxificar fermentaron mejor que el resto de los hidrolizados.

Se concluyó que se requiere el empleo de otro método de detoxificación como podría ser el empleo de lacasas para la remoción de compuestos fenólicos.

3.2 Resultados del diseño del cuádruple efecto.

Los resultados obtenidos en la etapa de evaporación son aceptables en comparación con la bibliografía consultada (Hugot, 1987) el cual plantea que el agua evaporada tota entre la suma de área de transferencia de calor deben oscilar en el orden de los 36,05 kg/hm³. El resultado obtenido en el diseño fue de 58,9 kg/hm³. Autores como Pavlov, (1981), y Kern, (1999) reportan en su bibliografía un área permisible de transferencia de calor por cada etapa de 200 m³ a 600 m³ aproximadamente para este tipo de evaporadores. El costo de adquisición de este efecto múltiple de evaporación es permisible pero teniendo en cuenta el efecto negativo de la concentración para el proceso sería imprudente hacer esa inversión y añadir esta etapa al proceso. A continuación se muestran los resultados fundamentales del diseño de la etapa de evaporación.

Tabla 3.2: Agua evaporada en cada efecto y en la estación.

Efecto	Agua evaporada (kg/h)
I	19071,99
II	20979,19
III	22886,39
IV	24793,59
Total	87731,15

Tabla 3.3: Distribución de la diferencia útil de temperaturas y área de transferencia de calor.

Efecto	Q (kcal)	U_D (kcal/h°Cm ²)	Q/ U_D	$\Delta T_{\text{útil}}$ (°C)	A (m ²)
I	13256850,04	2180,00	6081,12	16,34	372,26
II	8988882,25	2285,00	3933,87	10,57	372,26
III	12207859,59	2290,00	5330,94	14,32	372,26
IV	13646514,25	2300,00	5933,27	15,94	372,26

Tabla 3.4. Otros resultados

Consumo de vapor (kg/h)	6165,98
Economía de evaporación (kg H ₂ O/kgv)	14,23
Eficiencia de evaporación (%)	73%
Consumo efectivo (kgv/kgH ₂ O)	0,07
$\Delta T_{\text{útil}}$ (°C)	57,16
Área de transferencia de calor (m ²)	372,26
Costo del cuádruple efecto(\$)	8 826 980

Conclusiones

1. Se obtuvieron los hidrolizados de cáscara de arroz de las alternativas tecnológicas a evaluar.
2. Como todos los hidrolizados sin ser concentrados se inhibieron en una cuantía estadísticamente significativa mucho menor con respecto a los concentrados (~100% inhibición) se concluye que el efecto de la evaporación al vacío, en las condiciones ensayadas, no evapora los inhibidores de la fermentación alcohólica y por tanto los concentra, impidiendo la fermentación etílica.
3. Como para las alternativas tecnológicas 1 y 3 la detoxificación no tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el % de inhibición, se concluye que no fue un método de detoxificación selectivo.
4. Se diseñó satisfactoriamente el cuádruple efecto de evaporación.

Recomendaciones

1. Fomentar estrategias para evitar la formación de inhibidores de la fermentación, ya que la concentración de los hidrolizados es un paso obligado en la industria para la fermentación alcohólica ya que de no hacerlo el costo del proceso de destilación sería inaceptable. En este sentido, se recomienda para posteriores investigaciones, evaluar tiempos de retención entre 0-74 minutos para la hidrólisis ácida del almidón con el fin de hacer menos severo este tratamiento.
2. Incrementar el vacío y la temperatura de evaporación para la concentración de los hidrolizados.
3. Destoxificar después de concentrar los hidrolizados para la fermentación alcohólica.
4. Emplear otro método de detoxificación para compuestos fenólicos como el empleo de lacasas para eliminar los compuestos fenólicos

Referencias Bibliográficas

1. Almeida, J., Modig, T., Petersson, A., Hahn-Hägerdal, B., Lidén, G., Gorwa, M.F. (2007) Increased tolerance and conversion of inhibitors in lignocellulosic hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **82**, 340-349.
2. Alriksson, B., Sjöde, A., Nilvebrant, N.O., Jönsson, L.J. (2006) Optimal conditions for alkaline detoxification of dilute-acid lignocelluloses hydrolysates. *Appl. Biochem. Biotech.*, **130**, 599-611.
3. Alves, L.A., Vitolo, I.M., Felipe, M.G.A., Almeida e Silva, J.B. (2000) Influencia de la remoción de fenoles del hidrolizado lignocelulósico de bagazo en la actividad de las enzimas XR y XDH de *C. guilliermondii*. V *Congreso Internacional de Azúcar y Derivados de la Caña*. La Habana, Cuba. Libro de resúmenes. p. 147.
4. Balat, M; Balat H, 2009. *Recent trends in global production and utilization of bioethanol fuel*. Applied Energy. In press.
5. Cadavid, M. V., Uribe, T. V., Zabala, M. A. & Paternina. 2009, 'Producción de xilitol a partir de cascarilla de arroz utilizando *Candida guilliermondii*', *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, vol. 62, pp. 4897-4905.
6. Camús, J. M. & Laborda, J. Á. 2006, 'Biocarburantes líquidos: biodiesel y bioetanol', pp. 1-122.
7. Gadde, B., Menke, C. & Wassmann, R. 2009, 'Rice straw as a renewable energy source in India, Thailand, and the Philippines: Overall potential and limitations for energy contribution and greenhouse gas mitigation.' *Biomass and Bioenergy*, vol. 33, pp. 1532-1546.
8. García, A. 2010, *Mejoramiento de la eficiencia energética y económica del CAI Arrocero Sur del Jíbaro mediante estudio de potenciales de ahorro por aprovechamiento energético de residuos.*, Máster thesis, Centro Universitario "José Martí Pérez".
9. Garret, R. H., Grisham, C. M. (1996). *Biochemistry*. Harcourt College Pub. 851 páginas.
10. GEANKOPLIS, Christie, "Procesos de transporte y operaciones unitarias", 3ra. Edición, Editorial Continental, México 1998.

11. Gong, C. S., Chen, C. S., Chen, L. F. (1993) Pretreatment of sugar cane bagasse hemicellulose hydrolyzate for ethanol production by yeast. *Appl. Biochem. Biotech.*, **39/40**, 83-88.
12. Hahn-Hägerdal, B., Wahlbom, C.F., Gardonyi, M., van Zyl, W.H., Cordero Otero, R., Jönsson, L.J. (2001) Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for xylose utilisation. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, **73**, 53-84.
13. Hahn-Hägerdal, B., Wahlbom, C.F., Gardonyi, M., van Zyl, W.H., Cordero Otero, R., Jönsson, L.J. (2001) Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for xylose utilisation. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, **73**, 53-84.
14. Hendriks, A. T. W. M., Zeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance digestibility of lignocellulosic biomass. **100**: 10-18.
15. Hu, Z., Wen, Z. (2008). Enhancing enzymatic digestibility of switch grass by microwave-assisted alkali pretreatment. *Biochemical engineering journal*. **38**: 369 . 378
16. Hugot, E. Manual para Ingenieros Azucareros. Edición 1987.
17. Keenan, Joseph H. Steam Tables. Edición Revolucionaria, 1988.
18. Keikhosro, K., Shauker, K. y Mohammad, J. 2006. Conversión of rice straw to sugars by dilute-acid hydrolysis. *Biomass and Bioengineering* (30):247-253.
19. Kern, DQ. 1999. "Procesos de Transferencia de Calor". Continental S.A. México.
20. Kumar, S., Gupta., Lee, Y. Y., Gupta, R. B. (2010). Cellulose pretreatment in subcritical water: Effect of temperature on molecular structure and enzymatic reactivity. *Bioresource technology*. **101**: 1337 . 1347
21. Larsson, S., Palmqvist, E., Hahn-Hägerdal, B., Tengborg, C., Stenberg, K., Zacchi, G., Nilvebrant N-O. (1999a) The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood. *Enzyme Microb. Tech.*, **24**, 151-159.
22. López. Y, K. K., M.J. Taharzadeh and C. Martín. 2011, 'Processing of artisan rice hulls by combining dilute-acid hydrolysis, alkaline delignification, NMO treatment and enzymatic hydrolysis.', *Science & Technology of Biomasses: Advances and Challenges*.

23. Lufenberg G, Kunz, B. And Nystroem, M. (2003) Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. *Bioresource Technol* 87:167-198
24. Martín, A., Martín, C. (2008) Un enfoque ético a la polémica de los biocombustibles. *Memorias del X Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados (Diversificación 2008)*. ICIDCA, La Habana. ISBN 978-959-7165-16-3.
25. Martín, C., Alriksson, B., Sjöde, A., Nilvebrant, N.-O. & Jönsson., L. J. 2007, 'Dilute Sulfuric Acid Pretreatment of Agricultural and Agro-Industrial Residues for Ethanol Production.', *Applied Biochemistry and Biotechnology.*, vol. 136–140, pp. 140-152.
26. Martín, C., Alriksson, B., Sjöde, A., Nilvebrant, N.-O. & Jönsson., L. J. 2007, 'Dilute Sulfuric Acid Pretreatment of Agricultural and Agro-Industrial Residues for Ethanol Production.', *Applied Biochemistry and Biotechnology.*, vol. 136–140, pp. 140-152.
27. Martín, C., Galbe, M., Nilvebrant, N.-O., Jönsson, L. J. 2002. Comparison of the fermentability of enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse pretreated by steam explosion using different impregnating agents. *Appl. Biochem. Biotech.*98/100, 699-716.
28. Martín, C., Galbe, M., Nilvebrant, N.-O., Jönsson, L. J. 2002. Comparison of the fermentability of enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse pretreated by steam explosion using different impregnating agents. *Appl. Biochem. Biotech.*98/100, 699-716.
29. Martín, C., Galbe, M., Wahlbom, C.F., Hahn-Hägerdal, B., Jönsson, L.J. (2002b) Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme Microb. Technol.*, **31**, 274-282.
30. Martín, C., Galbe, M., Wahlbom, C.F., Hahn-Hägerdal, B., Jönsson, L.J. (2002b) Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme Microb. Technol.*, **31**, 274-282.
31. Martín, C., Jönsson, L.J. (2003) Comparison of the resistance of industrial and laboratory strains of *Saccharomyces* and *Zygosaccharomyces* to fermentation inhibitors in lignocellulose hydrolyzates. *Enzyme Microb. Tech.*, **32**, 386-395.

32. Martín, C., Jönsson, L.J. (2003) Comparison of the resistance of industrial and laboratory strains of *Saccharomyces* and *Zygosaccharomyces* to fermentation inhibitors in lignocellulose hydrolyzates. *Enzyme Microb. Tech.*, **32**, 386-395.
33. Martín, C., Marcet, M., Almazán, O., Jönsson, L.J. (2007d) Adaptation of a recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae* strain to a bagasse hydrolysate with high inhibitor content. *Bioresource Technol.*, **98**, 1767–1773
34. Martín, C., Marcet, M., Almazán, O., Jönsson, L.J. (2007d) Adaptation of a recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae* strain to a bagasse hydrolysate with high inhibitor content. *Bioresource Technol.*, **98**, 1767–1773
35. Martínez, E.A., J.B. Almeida, L. Canilha, M. Villarreal, A.I. Solenzal and S.I. Mussatto. 2002. Uso de diferentes materias primas para la producción biotecnológica de xilitol. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 3 (5): 295–301
36. Miguel A. Medina-Morales, L. L., Cristóbal N. Aguilar, Heliodoro de laGarza-Toledo*. 2011, 'Aprovechamiento de materiales lignocelulósicos para la producción de etanol como carburante', vol. 3, pp. 35-41.
37. Miller, G.L. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem*, 31, 420-428.
38. Palmarola B (2004) Hydrolysis of by-products from cereal kernels for improved ethanol production. In: Department of chemical engineering. University of Lund, Sweden, pp 140
39. Palmarola B (2004) Hydrolysis of by-products from cereal kernels for improved ethanol production. In: Department of chemical engineering. University of Lund, Sweden, pp 140
40. Palmowski, L., Muller, J. (1999). Influence of the size reduction of organic waste on their anaerobic digestion. II International symposium on anaerobic digestion of solid waste. Barcelona, 15 . 17 June, pp. 137 . 144.
41. Palmqvist, E., Hahn-Hägerdal, B. 2000a. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. *Bioresource Technology*. 74, 17-24.

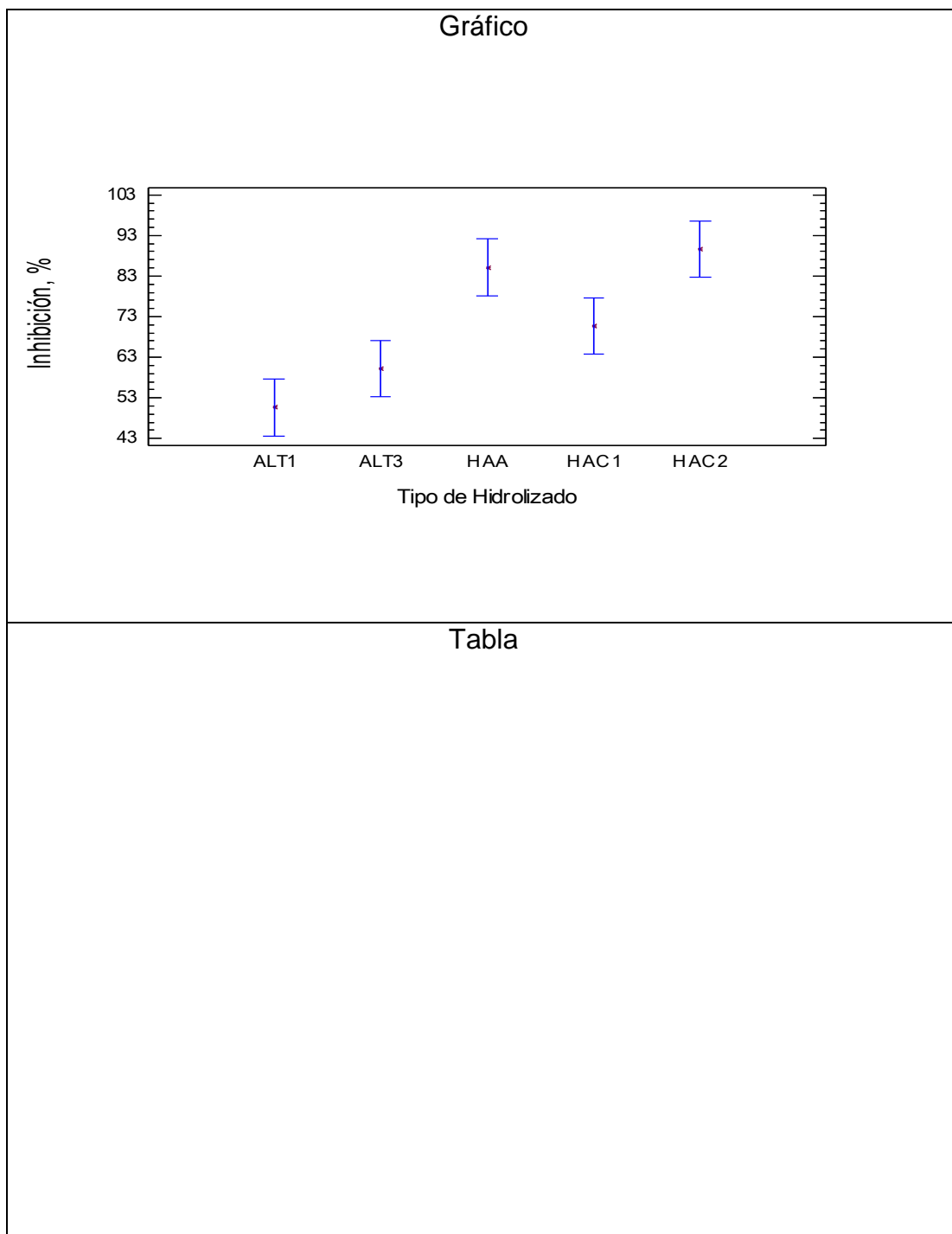
42. Palmqvist, E., Hahn-Hägerdal, B. 2000a. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. *Bioresource Technology*. 74, 17-24.
43. Parajó, J.C., Domínguez, H., Domínguez, J.M. (1997) Improved xylitol production with *Debaromyces hansenii* Y-7426 from raw or detoxified wood hydrolysates. *Enzyme Microb. Tech.*,
44. Pavlov, KF. 1981. "Problemas y Ejemplos para el curso de Operaciones Básicas y Aparatos en Tecnología Química" Mir. Moscú.
45. Pereira L (2001) The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Bioresource Technol*
46. Pereira L (2001) The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Bioresource Technol*.
47. Prinsen, P .2010, 'Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas', *SIC*, vol. 32, pp. 1-92.
48. Ranatunga, T.D., Jervis, J., Helm, R.F., McMillan, J.D., Wooley, R.J. (2000) The effect of overliming on the toxicity of dilute acid pretreated lignocellulosics: the role of inorganic, uronic acids and ether-soluble organics. *Enzyme Microb. Tech.*, **27**, 240-247.
49. Santos, J., Carvalho, W., Silva, S. y Converti, A. 2003. Xylitol production from sugarcane bagasse hydrolysate in fluidized bed reactor, effect of air flow rate. *Biochemical Engineering Journal* 25:25-31.
50. Scheller H.V. y Ulvskov P. (2010). Hemicelluloses. *Annual Review Plant Biology*, 61, 263-289.
51. Sedlak MaH, N. (2004) Production of ethanol from cellulosic biomass hydrolysates using genetically engineered saccharomyces yeast capable of cofermenting glucose and xylose. *Appl Biochem Biotechnol* 113 - 116:403 - 416
52. Sun, Y., Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource technology*. **83**: 1 . 11.
53. Taherzadeh, M.J., Karimi, K. (2007a) Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocelulosic materials: a review. *BioResources*, **2**, 472-499.
54. Valverde, G. A., Sarria, L. B. & Monteagudo, Y. J. 2007, 'Análisis comparativo de las características físico-químicas de la cascarilla de

arroz', in *Scientia et Technica Año XIII*, Universidad Tecnológica de Pereira.

55. Watson, N.E., Prior, B.A., Lategan, P. (1984) Factors in acid treated bagasse inhibiting ethanol production from D-xylose by *P. tannophilus*. *Enzyme Microb. Tech.*, **6**, 451-455.

Anexos

Anexo 1: Prueba de rangos múltiples TUKEY HSD para la comparación de medias del % de inhibición, factor Tipo de hidrolizado

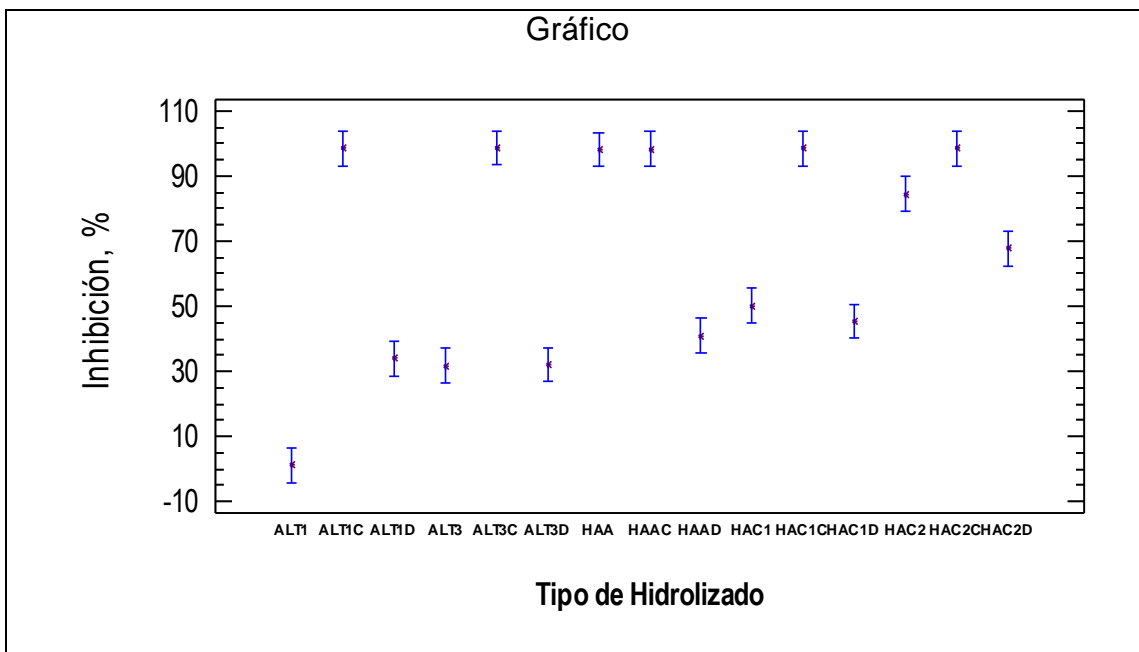


```

Multiple Range Tests for % Inhibición by Tipo de
-----
Method: 95,0 percent Tukey HSD
Level          Count      LS Mean      LS Sigma
-----
ALT1           27         50,6406      3,56065
ALT3           27         60,164       3,56065
HAC1           27         70,713       3,56065
HAA           27         85,1433      3,56065
HAC2           27         89,6503      3,56065
-----
Contrast                               Difference
-----
ALT1 - ALT3                             -9,5230
ALT1 - HAA                              *-34,500
ALT1 - HAC1                             *-20,070
ALT1 - HAC2                             *-39,000
ALT3 - HAA                              *-24,970
ALT3 - HAC1                             -10,540
ALT3 - HAC2                             *-29,480
HAA - HAC1                              *14,430
HAA - HAC2                               -4,5070
HAC1 - HAC2                             *-18,930
-----
* denotes a statistically significant difference

```

Anexo 2: Prueba de rangos múltiples TUKEY HSD para la comparación de medias del % de inhibición, factor Tipo de hidrolizado de un análisis de varianza multifactorial que incluye las interacciones de los efectos de evaporación y destoxificación dentro de los tipos de hidrolizados y entre los grupos de los mismos.



Tabla

Multiple Range Tests for % Inhibición by Tipo c

Method: 95,0 percent LSD			
Level	Count	LS Mean	LS Sigma

ALT1	9	1,28418	2,16088
ALT3	9	31,7597	2,16088
ALT3D	9	32,072	2,16088
ALT1D	9	34,0186	2,16088
HAAD	9	40,9908	2,16088
HAC1D	9	45,392	2,16088
HAC1	9	50,1642	2,16088
HAC2D	9	67,8075	2,16088
HAC2	9	84,5342	2,16088
HAA	9	98,0942	2,16088
HAAC	9	98,2499	2,16088
HAC1C	9	98,4879	2,16088
HAC2C	9	98,5144	2,16088
ALT1C	9	98,5242	2,16088
ALT3C	9	98,5653	2,16088