

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



**Trabajo de Diploma en opción al título de  
Ingeniero Químico**

**Título: “Determinación de las condiciones del  
pretratamiento ácido diluido del aserrín artesanal, para  
la obtención de bioetanol”.**

**Autor:  
Arletty Guerrero Tarifa**

**Tutor:  
Ing. Michael Yusniel López Infante**

*Matanzas, Junio, 2013.*

## Página de Aceptación

**Nota de aceptación.**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

NOMBRE Y APELLIDOS

---

FIRMA

---

NOMBRE Y APELLIDOS

---

FIRMA

---

NOMBRE Y APELLIDOS

---

FIRMA

## Declaración de Autoridad

Declaro ser la única autora de este trabajo de diploma que lleva como título: **“Determinación de las condiciones para el pretratamiento ácido diluido del aserrín artesanal, para la obtención de bioetanol”**, y autorizo a la Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos a hacer uso del mismo con la finalidad que estime conveniente.

---

Firma

## **Pensamiento**

*“Construye el futuro ahora porque allá es donde pasarás el resto de tu vida”.*

***Anónimo***

## **Dedicatoria**

A la memoria de mis abuelos Adelaida y Ángel.

A esas personas tan especiales en mi vida como lo son, mi mamá Caridad y mi papá Jorge. Que han sabido encaminarme y guiarme siempre por el buen camino, gracias a ellos soy hoy una mejor persona. También a mi hermana que adoro con toda mi alma a pesar de la diferencia de carácter que tenemos ambas.

## Agradecimientos

- ❖ Agradezco a mis padres por apoyarme en mis estudios, sin importarles todos los tropiezos a lo largo de estos cinco años de carrera. Gracias mami y papi y sepan que para mí lo son todo y más importante en la vida. Los quiero mucho.
- ❖ A mi hermana que me sabe sobrellevar en esos momentos donde me pongo algo intranquila y enojona. Te quiero no lo olvides nunca.
- ❖ A mi tío Oreste por ensañarme poco a poco que la superación nos hace querer ser una mejor persona.
- ❖ A mis abuelos Haydeé y Eliodoro por su paciencia para conmigo y por quererme tanto. Yo también los quiero.
- ❖ A toda mi familia por apoyarme de una forma u otra, a mis tíos: Ángel, L, Jacinto y Yenier, a mis primas y primos: Jennifer, Raiza, Miglán, Roxana y Chistoffer. Gracias por todo.
- ❖ Le agradezco enormemente a mi novio, Lester, por su apoyo incondicional, comprensión y amor en esos momentos donde más lo necesite, por saberte lejos pero a la vez sentirte tan cerca de mí, dándome ese aliento que me hace falta. Te quiero, no lo olvides nunca.
- ❖ A Ana Diana le agradezco esas noches de estudio y su grata amistad, gracias.
- ❖ A Raquel y Armando por acogerme con tanto cariño en su casa y apoyarme como a una hija, gracias.
- ❖ A mi suegra y suegro, Marta y Leonardo respectivamente por abrirme las puertas de su casa y considerarme como una más de la familia. Créanme los llevo dentro de mí, gracias.
- ❖ A mí cuñada Lilibet que siempre estuvo dispuesta a llevarme a donde yo lo necesitara. Gracias por todo.
- ❖ A mi sobrino, Juan Manuel, por prestarme la computadora cuando me hizo falta y enseñarme lo que es vivir esos momentos de rabia y después escuchar esas tan gratas palabras: ``tía yo te quiero mucho'', gracias mi amor, yo también te quiero mucho, mucho.

- ❖ A todos mis compañeros de aula con los que he compartido los mejores cinco años de mi vida, particularmente a Yanett, Yoslane y Alejandro (el baca). Bueno gracias a todos.
- ❖ A mi tutor que me ayudó y trabajó junto a mí esas largas jornadas de trabajo en el laboratorio.
- ❖ Al los profesores Santiago y Orozco por tener siempre un poco de paciencia y tiempo para las personas. No cambien nunca, gracias.

Bueno en general gracias a todos por su apoyo, y sepan que a todos los llevo siempre conmigo, están todos en mi corazón, los quiero. Gracias.

## Resumen

El presente trabajo de diploma fue realizado en los laboratorios de química básica y tecnología de biorrecursos pertenecientes a la Facultad de Ingenierías en la Universidad de Matanzas, con el objetivo de utilizar un residuo urbano (aserrín artesanal) proveniente de las carpinterías privadas que presenta aproximadamente un 20 % de Polisacáridos fácilmente hidrolizables, 47 % de Polisacáridos difícilmente hidrolizables y un 26 % de lignina, representando así la tercera parte en la composición del material, reafirmando la condición de sustancia lignocelulósica. Haciendo uso del diseño de superficie de respuesta (Box-Behnken) para el pretratamiento ácido diluido siendo las variables independientes: concentración de ácido sulfúrico (2, 7 y 12 %), tiempo (10, 65 y 120 min.) y relación sólido - líquido (4, 8 y 20 %) , trabajando a temperatura constante de 121 °C y el por ciento rendimiento de sólidos la variable respuesta, donde las mejores condiciones alcanzadas de este pretratamiento fueron: tiempo de pretratamiento (65 min.), RSL (8 %), concentración de ácido sulfúrico (2 %) y un rendimiento de sólidos máximo de 91 % para este rango de trabajo.

## Abstract

The present work gives diploma it was carried out in the laboratories he gives chemical basic and technology gives biorrecursos belonging to the Ability he gives Engineering in the University of Matanzas, with the object gives to use an urban residual (handmade sawdust) coming it gives the private carpentries that it presents 20 % approximately gives easily hydrolysable Polysaccharides, 47 % gives difficultly hydrolysable Polysaccharides and 26 % gives lignin, representing this way the third part in the composition gives the material, reaffirming the condition gives substance lignocellulosic. Making use gives the design it gives surface he gives answer (Box-Behnken) for the unthickened sour pre-cure being the independent variables: concentration gives sulphuric acid (2, 7 and 12%), time (10, 65 and 120 min.) and relationship solid - liquid (4, 8 and 20%), working to constant temperature gives 121 °C and the percent yield it gives solid the variable answer, where the best reached conditions give this pre-cure they were: time gives pre-cure (65 min.), RSL (8%), concentration gives sulphuric acid (2%) and a yield gives solid maximum and it gives 91% for this range he gives work.

## Índice

Contenido	
Introducción.....	1
Capítulo 1: Análisis bibliográfico.....	4
1.1 ¿Qué es la biomasa?.....	4
1.1.1 Beneficios medio ambientales de la biomasa.....	5
1.1.2 Orígenes de la biomasa lignocelulósica (Carrasco, 1990): .....	5
1.2 Materiales lignocelulósicos (MLC). .....	6
1.2.1 Composición de los MLC. ....	7
1.2.2 Componentes de los MLC.....	7
1.2.3 Componentes estructurales. ....	8
1.2.3.1 Lignina.....	8
1.2.3.2 Celulosa .....	9
1.2.3.3 Hemicelulosas.....	10
1.3 Pretratamientos utilizados en los MLC.....	11
1.3.1 Pretratamientos físicos.....	12
1.3.2 Pretratamientos químicos.....	12
1.3.3 Pretratamientos biológicos. ....	13
1.3.4 Pretratamientos combinados.....	13
1.4 Pretratamiento ácido diluido. ....	14
1.5 Formación de compuestos no deseados en el pretratamiento ácido diluido. ....	14
1.6 Hidrólisis enzimática. ....	15
1.6.1 Ventajas de la hidrólisis enzimática sobre la hidrólisis ácida. ....	15
1.6.2 Limitaciones de la hidrólisis enzimática:.....	15
1.7 Producción de bioetanol a partir de MLC.....	16
1.7.1 Ventajas ecológicas del bioetanol. ....	16
1.7.2 Ventajas económicas del uso del bioetanol. ....	17
1.8 Tipos de residuos madereros. ....	17
1.9 Conclusiones parciales del capítulo.....	18
Capítulo 2: Materiales y métodos.....	19
2.1 Muestreo, preparación y conservación de la materia prima.....	19
2.2 Caracterización físico-química de la materia prima. ....	19
2.2.1 Caracterización física de la materia prima .....	20
2.2.1.1 Análisis organoléptico .....	20
2.2.1.2 Determinación de la densidad aparente.....	20
2.2.2 Composición química de la materia prima. ....	20
2.2.2.1 Humedad.....	20
2.2.2.2 Cenizas. ....	21
2.2.2.3 Extractivos.....	21
2.2.2.4 Polisacáridos fácilmente hidrolizables (PFH). ....	22
2.2.2.5 Polisacáridos difícilmente hidrolizables (PDH). ....	23
2.2.2.6 Lignina Klason.....	23

---

2.3 Pretratamiento con ácido sulfúrico diluido. ....	24
2.4 Determinación cromatográfica de los azúcares. ....	25
2.5 Diseño de experimento utilizado en pretratamiento ácido diluido. ....	25
Capítulo 3: Análisis y discusión de los resultados. ....	27
3.1 Preparación y conservación de la materia. ....	27
3.2 Caracterización físico-química de la materia. ....	28
3.2.1 Caracterización física de la materia prima. ....	28
3.2.1.1 Análisis organoléptico. ....	28
3.2.1.2 Densidad aparente de la materia prima. ....	28
3.2.2 Composición química de la materia prima. ....	29
3.2.2.1 Humedad. ....	29
3.2.2.2 Cenizas. ....	29
3.2.2.3 Extractivos totales. ....	29
3.2.2.4 Polisacáridos fácilmente hidrolizables (PFH). ....	30
3.2.2.5 Polisacáridos difícilmente hidrolizables (PDH). ....	30
3.2.2.6 Lignina Klason. ....	30
3.3 Pretratamiento del aserrín artesanal con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> diluido. ....	32
3.3.1 Análisis estadístico ....	32
3.3.1.1 Determinación de los parámetros significativos sobre la variable respuesta. ....	32
3.4 Posibles etapas del proceso en cuestión. ....	36
3.4.1 Molienda: ....	36
3.4.2 Tamizado: ....	36
3.4.3 Tratamiento: ....	37
3.4.4 Filtrado y lavado: ....	37
3.4.5 Etapas estimadas: ....	37
3.5 Conclusiones parciales del capítulo. ....	38
Conclusiones Generales ....	39
Recomendaciones. ....	40
Bibliografía ....	41
Anexos ....	46

## Introducción

**N**uestro país se ha sumado a la labor de fomentar nuevas tecnologías que permitan el aprovechamiento de los residuos agrícolas e industriales, para lo cual realiza diferentes Programas Nacionales de Ciencia y Técnica, con miras a la creación de nuevas fuentes de ingresos de divisas, y la progresiva invención de nuevos productos que sustituyan de algún modo las importaciones, además de los beneficios medioambientales que reportan.

En el año 2004 el 13,2 % de la energía consumida en el mundo procedía de fuentes renovables, de las cuales el 79,4 % corresponde a la biomasa lignocelulósica (IEA, 2007), constituyendo una de las fuentes de energía más extendidas en el mundo y en la que descansan las mayores expectativas de desarrollo en las próximas décadas (Carrasco, 2002).

Entre las alternativas de interés se encuentran los materiales lignocelulósicos (MLC), los cuales constituyen fuentes renovables muy abundantes y ricas en carbohidratos, que pueden ser utilizados en la obtención de productos de alto valor agregado. Estos están a disposición de países no petroleros que de esta forma podrían satisfacer su demanda energética con biorecursos propios; siendo una materia prima atractiva por su abundancia, bajo costo de adquisición y emisión de dióxido de carbono neutral durante su conversión. (Carrasco, 1990).

Los MLC son considerados los recursos renovables más abundantes disponibles para la obtención de diferentes azúcares reductores totales (ART) entre ellos glucosa y xilosa, de los cuales se puede obtener posteriormente bioetanol. (Hahn-Hägerdal *et al.*, 2006; Prasad *et al.*, 2007). Han sido investigados diferentes procesos en búsquedas de métodos de pretratamiento eficientes y costeables para diferentes materiales entre ellos los pretratamientos físicos, químicos, biológicos y físico - químicos (Eggeman y Elander, 2005; Mosier *et al.*, 2005). Una vía para aumentar la eficiencia económica de la utilización de los MLC es la conversión integral de la materia prima a través de diferentes formas de tratamiento, lo que implica la obtención de distintos productos a partir de los diversos componentes de la biomasa (Huang *et al.*, 2008).

En Cuba, como parte de los Programas de la Revolución Energética, el Gobierno cubano formuló en el 2007 una iniciativa para el aprovechamiento de las fuentes renovables de energía, con el objetivo de asegurar un adecuado y sostenible suministro de energía, reducir las emisiones de gases de efecto invernadero y garantizar el continuo crecimiento económico del país (Martín, 2002).

El aserrín constituye uno de los residuos más comunes en regiones urbanas y montañosas de Cuba; el país produce alrededor de 700 toneladas anuales en aserríos estatales. Entre los residuos que se generan en las carpinterías privadas que podrían ser usados en la obtención de productos de alto valor agregado se encuentran las astillas, las costaneras y los finos o aserrín (Oconnell y Meaney 1997). Sólo pequeñas cantidades de aserrín compactado son usadas como combustible en la popular cocina rural (Fogón Nono); el resto es quemado o esparcido cerca de los sitios de producción.

Los residuos forestales, sobre todo el aserrín, son altamente contaminantes para el medio ambiente. No son pocos los expertos y las instituciones a nivel global y local, incluida la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) que, de un tiempo a la fecha, advierten sobre el impacto del aserrín como agente contaminante del suelo y del agua.

Sin embargo, todavía se acumulan en las carpinterías o son vertidos en los suelos alrededor de comunidades rurales, con el consecuente perjuicio para todos. Téngase en cuenta además que la degradación natural de los residuos de la industria maderera es casi nula. Pero hay más por lo que preocuparse estos subproductos reducen el espacio disponible en los centros de elaboración de la madera y con ello la movilidad necesaria para la producción; generan y acumulan polvo en el aire, que conlleva otro mal, el de la emisión de dióxido de carbono a la atmósfera, y perjudican la salud humana y de los habitantes de zonas cercanas a las carpinterías, a la vez que suponen otros problemas ambientales por incendios y auto combustión (Carrasco, 2002).

El aserrín acumulado en el bosque o en los locales privados constituye un depósito y un foco para la propagación de hongos (especialmente de los géneros *Fomes*, *Schizophyllum* y *Polyporus*, entre otros) que provocan la descomposición de árboles moribundos o muertos con un contenido de

humedad relativamente alto. Los residuos pueden ser un medio ideal para la propagación de plagas y enfermedades (Carrasco, 2002).

En Cuba, la agricultura y la agroindustria generan cantidades significativas de residuos lignocelulósicos, así como también los locales donde se trabaja de forma particular, los cuales no son usados económicamente y su acumulación constituye un problema para el medio ambiente.

A criterio del autor el aserrín es un residuo que debería ser utilizado o tratado tanto para la generación de energía como para la obtención de otros productos finales, debido a que este desecho puede provocar daños al medio ambiente mediante las emisiones de gases. Estos tratamientos se desarrollaran siempre y cuando estos no repercutan en la forma de obtención de los alimentos y no compitan con el medio ambiente. Por lo que se que se presenta a continuación el problema que dio paso a este trabajo.

**Problema Científico:** ¿Cómo determinar las mejores condiciones del pretratamiento ácido diluido al aserrín artesanal de forma tal que se pueda obtener un sólido enriquecido en celulosa como futura materia prima en la obtención de bioetanol ?

**Hipótesis:** Si se realiza un diseño experimental en condiciones de laboratorio del pretratamiento ácido diluido del aserrín artesanal, se obtendrán parámetros que garanticen la obtención de un sólido enriquecido en celulosa como futura materia prima en la obtención de bioetanol.

**Objetivo General:** Determinar las mejores condiciones para pretratar el aserrín artesanal, con ácido sulfúrico diluido para la obtención de bioetanol celulósico.

**Objetivos Específicos:**

1. Determinar en la literatura especializada las condiciones de trabajo para realizar el pretratamiento ácido diluido en los materiales lignocelulósicos.
2. Caracterizar la materia prima objeto de estudio.
3. Desarrollar el diseño de experimento del pretratamiento ácido diluido a la materia prima.
4. Determinar las mejores condiciones del pretratamiento ácido diluido de la materia prima objeto de estudio.

## Capítulo 1: Análisis bibliográfico.

**E**n este capítulo se realiza una búsqueda de la información existente relacionada con el tema de la tesis. Se hizo especial énfasis en las características del residuo, aserrín artesanal, generado por carpinterías privadas y su potencial de utilización como materia prima para la conversión de este material lignocelulósico (MLC) a productos de alto valor agregado. Se analizaron también la información existente sobre los distintos pretratamientos a los que puede ser sometida la materia prima.

### 1.1 ¿Qué es la biomasa?

Según Carrasco, 1990 la biomasa es considerada como una fuente renovable de energía muy interesante y prometedora. La biomasa está a menudo disponible localmente en grandes cantidades y a precios razonablemente bajos y la factibilidad de su conversión en portadores energéticos secundarios es indudable.

Comparando la definición anterior con lo expuesto por Bridgewater y Grassi, 1990 la biomasa puede definirse como el conjunto de materiales con un origen biológico próximo que son susceptibles de ser utilizados para otros fines distintos a los alimentarios. En el sentido de esta definición, quedan excluidos del término "biomasa" todos los productos agrícolas que sirvan para alimentación del hombre o los animales, así como los combustibles fósiles, estos últimos por derivar de materiales biológicos pero a través de transformaciones que han alterado muy profundamente su naturaleza.

Los productos derivados de la biomasa tienen carácter renovable, ya que constituyen una fase del ciclo biológico de los elementos carbono, oxígeno, hidrógeno y nitrógeno. La energía que puede ser obtenida de la biomasa es una forma de la energía solar que ha sido captada por las plantas y transformada en energía química. (Carrasco, 1990).

### 1.1.1 Beneficios medio ambientales de la biomasa.

1. El monóxido de carbono (CO<sub>2</sub>) liberado a la atmósfera durante la combustión forma parte del ciclo natural del carbono por lo que no supone un aporte neto de este y no contribuye a incrementar el efecto invernadero.
2. El uso de combustibles derivados de la biomasa contribuye a la autosuficiencia energética de países sin grandes reservas de combustibles convencionales.
3. Por otra parte, el proceso de producción de la biomasa permite la formación de oxígeno en la fotosíntesis, regula la evaporación de agua y evita la erosión del suelo. (Carrasco, 1990).

En el mundo existe gran variedad de biomasa lignocelulósica, como por ejemplo los tallos y tucas de maíz, el bagazo y la paja de caña de azúcar, la paja de trigo, los residuos maderables, entre otros. En Cuba, la agroindustria azucarera aporta alrededor de 5 toneladas de bagazo y residuos agrícolas por cada tonelada de azúcar producida (Bridgewater y Grassi, 1990), y la biomasa forestal tiene un potencial estimado en 3,5 millones de metros cúbicos al año sin peligro a romper el equilibrio ecológico, constituyen importantes recursos biomásicos a emplear con fines energéticos.

### 1.1.2 Orígenes de la biomasa lignocelulósica (Carrasco, 1990):

- a) Natural: Es la biomasa que se produce en los bosques y otros ecosistemas naturales. Su explotación no es interesante por razones de mantenimiento del equilibrio ecológico.
- b) Residual: Es la biomasa resultante de la actividad humana. Incluye residuos forestales, agrícolas, ganaderos, agroindustriales y de las industrias de la madera, así como residuos sólidos urbanos.
- c) Cultivos energéticos: Son aquellos cultivos dedicados a la producción de biomasa con fines no alimentarios. Suelen ser especies caracterizadas por su robustez a fin de abaratar los costos de cultivo y el precio de la biomasa final.

La producción global de los procesos fotosintéticos es de  $10-50 \times 10^{12}$  toneladas de biomasa seca anualmente, lo que corresponde al 50 % de toda la

biomasa en el mundo y expresado en términos energéticos, equivale a 10 veces el consumo global de energía. Sin embargo, solamente entre el 3 y el 4% de esos materiales son utilizados económicamente en el mundo occidental, fundamentalmente como alimentos, en la producción de pulpa y papel y en la generación de energía. Estas cifras ilustran la abundancia de los materiales lignocelulósicos y sus ilimitadas potencialidades con vistas a ser utilizados en la producción de etanol sin afectar la alimentación humana (IEA, 2007).

## **1.2 Materiales lignocelulósicos (MLC).**

Los MLC son aquellas partes de la biomasa vegetal que tienen como característica común el estar compuestos, fundamentalmente, por polisacáridos (celulosa y hemicelulosas) y lignina (un polímero de naturaleza fenólica) (Schurz, 1997).

Según Martín, 2002 los materiales lignocelulósicos se encuentran en abundancia en el mundo, donde se pueden encontrar a través de diferentes fuentes, como pueden ser los desechos industriales, como es el caso del bagazo, los desechos agrícolas tales como: rastrojo y olote de maíz, paja de trigo y arroz, restos forestales y algunos desperdicios de la industria del papel, que constituyen bienes naturales proveedores de energía y compuestos químicos.

Son una de las materias primas de interés industrial más importantes que existen en el mundo, debido a su composición y propiedades que los hacen aptos para ser utilizados en múltiples procesos, así como a su carácter renovable, su abundancia y su bajo costo (Gullón, 2011).

Estos materiales ofrecen una gran resistencia al ataque biológico y químico, debido precisamente a su alta complejidad en su composición y estructura química (Schurz, 1997).

Los materiales lignocelulósicos están formados por tres componentes principales: celulosa, hemicelulosas y lignina. Entre las principales materias primas lignocelulósicas se encuentran los cultivos energéticos, el papel reciclado, los residuos forestales, los desechos agrícolas e industriales, así como los residuos sólidos urbanos (Martín, 2002).

### 1.2.1 Composición de los MLC.

A criterio de Schurz, 1997 los MLC en general están formados por tres componentes principales: celulosa, hemicelulosas y lignina como se muestra en la *tabla 1.1*, los cuales son componentes de las paredes celulares. El conjunto de los polisacáridos celulosa y hemicelulosas se conoce como holocelulosa

Las cantidades de carbohidratos dependen del tipo de material, las maderas duras contienen entre un 39 y 54 % de celulosa, 14 y 37 % de hemicelulosas, 17 y 30 % de lignina, las maderas blandas poseen entre un 41 y 50 % de celulosa, 11 y 27 % de hemicelulosas y de 20 a 30 % de lignina. Los residuales agrícolas por ejemplo la paja de arroz contiene entre un 32 y 47 % de celulosa, 19 y 27 % de hemicelulosas y un 5 – 24 % de lignina. Otros ejemplos son mostrados en la tabla 1.1.

**Tabla 1.1:** Composición de algunos materiales lignocelulósicos (%)

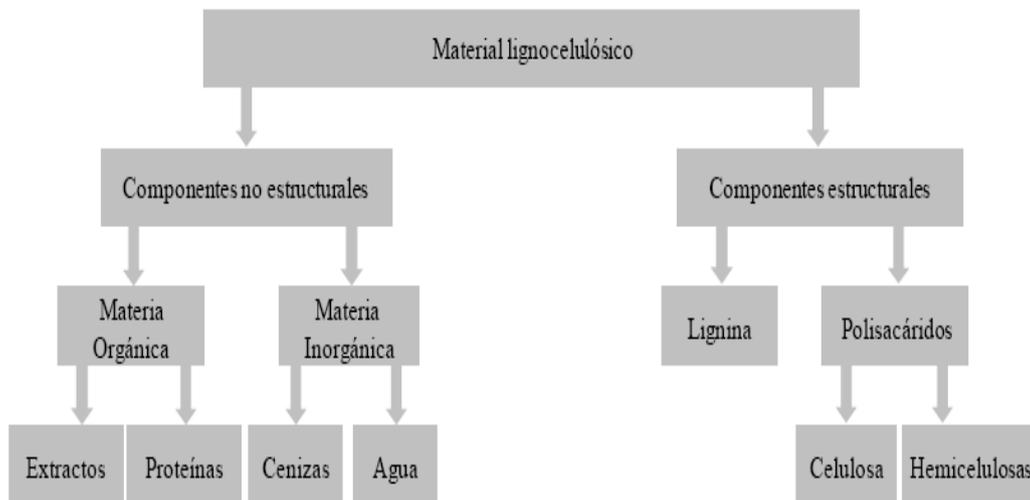
<b>Fuente</b>	<b>Celulosa</b>	<b>Hemicelulosa</b>	<b>Lignina</b>
Rastrojo de Maíz	36-37	22-23	16-17
Olote de maíz	36	23	17
Fibra de maíz	14,28	16,8	8,4
Bagazo de caña	50	20	30
Cebada	40-44	28-38	20-22
Paja de trigo	33-38	21-25	23
Paja de arroz	34	25	23
Paja de madera	40-50	20-26	17-30
Madera de pino	46,4	8,8	29,4
Pasto	31	20-24	17-18
Papel de oficina	68,6	12,4	11,3

Tomado de: (Irmene, 2008).

### 1.2.2 Componentes de los MLC.

Los MLC en general están formados por componentes estructurales y componentes no estructurales como se muestra en la figura.1.1, donde este grupo lo componen la materia orgánica (extractos y proteínas) y la inorgánica (cenizas y agua). Dentro de los componentes estructurales se encuentra la lignina, la hemicelulosa y la celulosa, estas dos últimas conocidas también

como polisacáridos, estos no son más que componentes de las paredes celulares. (Stewart *et al.*, 1997 y Vegas *et al.*, 2004). Los componentes estructurales representan la parte más importante desde el punto de vista cuantitativo (alcanzan en torno al 85% en peso seco) y confieren firmeza y protección a la célula. Los componentes estructurales de los materiales lignocelulósicos se encuentran interpenetrados y unidos mediante interacciones químicas y físicas. Dentro de ellos se pueden distinguir dos tipos: *lignina* (constituida por unidades fenilpropano oxigenadas) y *polisacáridos* (constituidos por unidades de azúcares). Atendiendo a los azúcares constituyentes de los polisacáridos podemos diferenciar entre celulosa (cuya unidad estructural es la glucosa) y hemicelulosas (constituidas por diferentes monosacáridos).



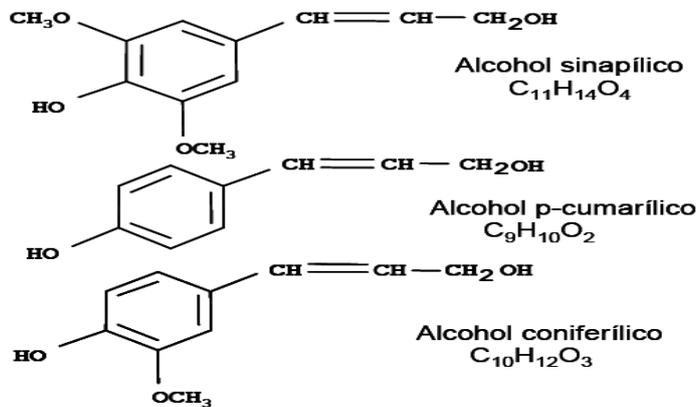
**Figura 1.1** Componentes de los MLC.

### 1.2.3 Componentes estructurales.

#### 1.2.3.1 Lignina.

La lignina es el principal componente no-carbohidrato de la madera. Es el polímero aromático más abundante en la naturaleza y representa entre el 20 y 25% de la materia seca en las maderas duras y entre un 26-32% en las maderas blandas. Algunas maderas duras tropicales pueden tener contenidos de lignina superiores al 30%. A diferencia de los polisacáridos, la lignina no es una sustancia individual sino una mezcla de polímeros aromáticos. Los

eslabones estructurales de la lignina son unidades de fenilpropano, además, la lignina no presenta una estructura regular y sus unidades estructurales están unidas por distintos tipos de enlaces, lo que las diferencia de otros biopolímeros como los polisacáridos y proteínas. (Hendricks *et al.*, 2009).

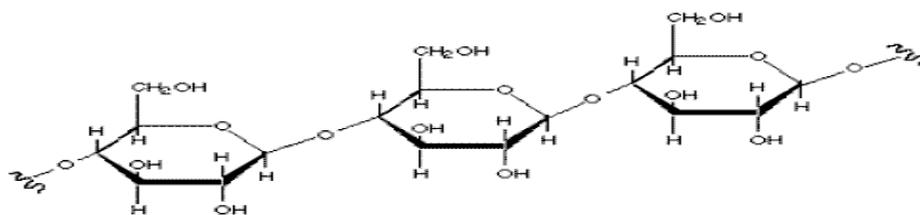


**Figura 1.2** Estructura química de la lignina.

### 1.2.3.2 Celulosa.

La celulosa es un polisacárido compuesto exclusivamente de moléculas de glucosa (compuesto por un solo tipo de monosacáridos). La celulosa es la biomolécula orgánica más abundante ya que forma la mayor parte de la biomasa terrestre.

Es el componente que está en mayor proporción en los MLC y es la base estructural de las células vegetales. Es el polímero biosintético más abundante en la naturaleza, y presenta una gran importancia económica, debido al aprovechamiento tecnológico que se hace del mismo. Las moléculas de celulosa, de fórmula  $(C_6H_{10}O_5)_n$  son polímeros lineales constituidos por unidades estructurales de anhidro glucosa. Las unidades de glucosa presentes en los extremos de la molécula de celulosa presentan un grupo  $OH^-$  adicional respecto a las unidades internas. La celulosa está compuesta por unidades de  $\beta$ -D-glucopiranosas unidas por enlaces glicosídicos como muestra la figura 1.3 (Sjöström, 1993).



**Figura 1.3** Estructura de la celulosa.

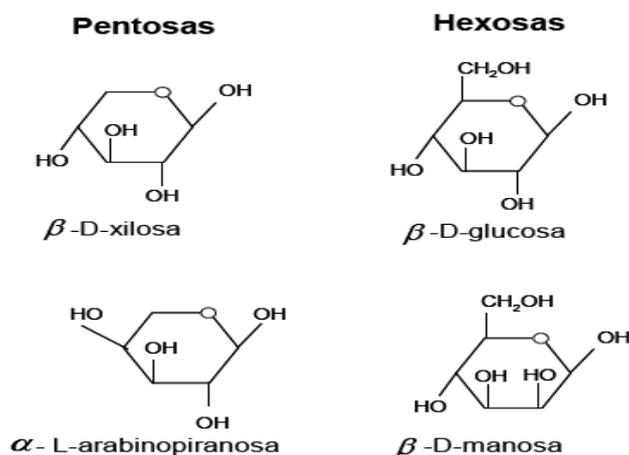
La celulosa es un polisacárido estructural en las plantas ya que forma parte de los tejidos de sostén. La pared de una célula vegetal joven contiene aproximadamente un 40 % de celulosa; la madera un 50 %, mientras que el ejemplo más puro de celulosa es el algodón con un porcentaje mayor al 90 % (Yúfera, 2002).

### 1.2.3.3 Hemicelulosas.

Atendiendo al criterio de (Hendriks y Zeeman, 2009) las hemicelulosas son heteropolisacáridos (polisacáridos compuestos por más de un tipo de monómero), formado por un conjunto heterogéneo de polisacáridos, unidos por enlaces  $\beta$  (1-4) (fundamentalmente xilosa, arabinosa, galactosa, manosa, glucosa, ácido glucurónico, patosa y orozcayosa), que forman una cadena lineal ramificada.

Los xilanos son los componentes más importantes de las hemicelulosas de la mayoría de las maderas duras (ver anexo 1) y de los desechos agrícolas, mientras que en las maderas blandas (anexos 2), los componentes dominantes de las hemicelulosas son los glucomananos. La solubilidad de los diferentes componentes de las hemicelulosas decrece en el siguiente orden: xilosa, glucosa, arabinosa y galactosa, y aumenta con el aumento de la temperatura (Hendriks y Zeeman, 2009).

Según Pérez *et al.*, 2002 las hemicelulosas suponen entre el 18 y el 40 % en peso seco de los materiales lignocelulósicos. La función de las hemicelulosas en los vegetales es facilitar las uniones químicas entre la celulosa y la lignina, actuando como puente de unión entre ellas.



**Figura 1.4** Unidades constituyentes de las hemicelulosas.

### 1.3 Pretratamientos utilizados en los MLC.

Según Azuma et al., 1985, los pretratamientos utilizados en la ruptura de la pared celular de los MLC pueden agruparse en cuatro categorías:

1. Físicos
2. Químicos
3. Biológicos
4. Los combinados

Los mismos liberan las hemicelulosas, reduce la cristalinidad de la celulosa y aumenta la porosidad del material, lo que facilita el acceso de las enzimas a las fibras (Galbe y Zacchi, 2002; Sun y Cheng, 2002). El pretratamiento es efectivo si:

- 1- Produce fibras, cuya fracción celulósica es fácilmente hidrolizable por celulasas.
- 2- Preserva la utilidad de las hemicelulosas.
- 3- Evita la formación de inhibidores de la hidrólisis y de la fermentación (Laser et al., 2002).

Para que el pretratamiento sea económico debe minimizar el uso de reactivos químicos, y el equipamiento y los procedimientos deben ser sencillos (Sun y Cheng, 2002).

Un pretratamiento se considera exitoso cuando mejora la formación de azúcares o facilita la formación de estos mediante hidrólisis, evita la degradación o pérdida de carbohidratos, no ocurre la formación de inhibidores para las etapas subsiguientes de hidrólisis y fermentación y es económicamente factible (Balat et al., 2008).

### 1.3.1 Pretratamientos físicos.

Para aumentar el área de superficie de contacto, reducir el grado de polimerización y disminuir la cristalinidad de las fibras, se necesita disminuir el tamaño de partícula de los materiales lignocelulósicos; lo que facilita el acceso de las enzimas y aumenta la reactividad de la celulosa y para alcanzar estos objetivos se utilizan las operaciones mecánicas de cortado, molienda y triturado (Sánchez *et al.*, 2004). Los métodos mecánicos no son muy atractivos por su alto consumo energético y costos capitales. Las exigencias energéticas para estas operaciones dependen del tamaño de partícula necesario y de las características de la biomasa (Sun y Cheng, 2002; Sánchez *et al.*, 2004). Otra limitación de los métodos mecánicos es que no eliminan la lignina ni las hemicelulosas, y como consecuencia de esto se producen inhibidores para los procesos subsiguientes (Jiang *et al.*, 2007; Bak *et al.*, 2009).

### 1.3.2 Pretratamientos químicos.

En los métodos químicos de pretratamiento se emplean reactivos, tales como ácidos, bases, agentes oxidantes y disolventes. Los métodos de pretratamiento han sido desarrollados para mejorar la accesibilidad de las enzimas a la celulosa (Moiser *et al.*, 2005).

En este método pueden utilizarse ácidos concentrados o diluidos. La función primera de la hidrólisis ácida es hidrolizar las hemicelulosas a azúcares monoméricos y simultáneamente remover parte de la lignina (Rocha *et al.*, 2011).

#### *Ventajas del método:*

- Alto rendimiento de azúcares derivados de las hemicelulosas.
- La remoción parcial de la lignina, lo que aumenta la exposición de la celulosa a las enzimas.

#### *Desventajas:*

- La necesidad de neutralización de los ácidos.
- La degradación de las hemicelulosas con formación de inhibidores de la fermentación.
- El alto costo de los materiales anticorrosivos requeridos para los reactores (Sánchez y Pilcher, 2004; Duarte *et al.*, 2009).

### 1.3.3 Pretratamientos biológicos.

Los pretratamientos biológicos incluyen microorganismos, generalmente hongos, los cuales solubilizan la lignina contenida en los materiales lignocelulósicos (Sun y Cheng, 2002). Existen varios tipos de hongos; pero los de podredumbre blanca, el *Chrysosporium* de *Phanerochaete*, son los basidiomicetes más efectivos en el pretratamiento biológico de los materiales lignocelulósicos (Sun y Cheng, 2002), ya que fue estudiado que degrada casi un 50 % de la lignina, un 5 % de celulosa y 20 % de hemicelulosas en los MLC. Las ventajas de estos pretratamientos biológicos son que requieren de poca energía y el medio es ambientalmente factible. Sin embargo, la proporción separada de lignina y de hemicelulosas sucede muy lenta en la mayoría de los procesos y todavía necesita ser perfeccionado para ser un método eficaz. (Sánchez *et al.*, 2008; Taherzadeh y Karimi, 2008).

### 1.3.4 Pretratamientos combinados.

Entre los pretratamientos combinados podemos encontrar diferentes tipos entre ellos se encuentran los siguientes:

- La explosión con vapor es un método combinado que da buenos rendimientos en un corto tiempo y minimiza el uso de reactivos químicos (Gregg y Saddler, 1996).
- Otro método es la utilización de agua caliente en estado líquido *Liquid Hot Water* (LHW). En este método, el cual no requiere del uso de reactivos, las hemicelulosas se solubilizan en forma de oligosacáridos y la fracción celulósica es fácilmente hidrolizable (Mosier *et al.*, 2005; Zeng *et al.*, 2007).
- La explosión con amoníaco (NH<sub>3</sub>), *Ammonia Fiber Explosion* (AFEX), el material es expuesto al amoníaco líquido a 90-100 °C durante unos 30 min. y luego la presión es reducida bruscamente. La AFEX mejora la hidrólisis enzimática y minimiza la formación de inhibidores de la fermentación (Chundawat *et al.*, 2007), pero es poco efectiva en materiales con alto contenido de lignina y se requiere de la recirculación del amoníaco. (Sun y Cheng, 2002; Eggeman y Elander, 2005).
- Otro método parecido es la explosión con CO<sub>2</sub>, la cual también opera a bajas temperaturas por lo que se evita la degradación de los azúcares.

La explosión con CO<sub>2</sub> es menos costosa que la explosión con NH<sub>3</sub>. (Zheng *et al.*, 1998).

#### **1.4 Pretratamiento ácido diluido.**

Consiste en el uso de ácidos diluidos para despolimerizar y solubilizar las hemicelulosas y activar la celulosa para la hidrólisis enzimática (Grohmann *et al.*, 1995). La prehidrólisis con ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) diluido es un método muy efectivo, entre cuyas ventajas se encuentran la recuperación de las hemicelulosas en forma de monosacáridos y la posibilidad de recuperar la lignina pura después de la hidrólisis. Su principal inconveniente es el alto costo de los materiales anticorrosivos requeridos para la construcción de los reactores (Mosier *et al.*, 2005).

Este pretratamiento como su nombre lo indica es el uso de ácidos tanto concentrados como diluidos para destruir la coraza de lignina y hemicelulosa, encontrada en la pared celular en los MLC. Los tratamientos con ácidos calientes rompen los enlaces de estos polisacáridos, dando xilosa, manosa, arabinosa, galactosa y glucosa (Grohmann *et al.*, 1995). En el pretratamiento se utilizan ácidos fuertes como, el clorhídrico, sulfúrico y el fluorhídrico a bajas temperaturas.

*Este pretratamiento presenta algunos inconvenientes tales como:*

- El requerimiento de equipos de acero inoxidable, lo cual incrementa considerablemente el costo (Wyman, 1999) y,
- La formación de productos de degradación de varios azúcares y pérdidas de material debido al tiempo en que se mantienen bajo estas condiciones las que no son las adecuadas.

#### **1.5 Formación de compuestos no deseados en el pretratamiento ácido diluido.**

De acuerdo con lo planteado por Mes-Hartree, y Saddler, 1983, Palmqvist *et al.*, 1996 se puede decir que durante el pretratamiento de la biomasa se pueden formar compuestos tóxicos que inhiben la hidrólisis enzimática y la fermentación alcohólica, Los cuales pueden dividirse dentro de tres grupos principales de acuerdo a su naturaleza química:

- El primer grupo consiste en derivados furánicos, ejemplos el furfural y el 5-hidroximetilfurfural (HMF), los cuales se forman por la deshidratación de las pentosas y hexosas, respectivamente, por la acción de ácidos y temperaturas altas.
- El segundo grupo de compuestos inhibidores son ácidos alifáticos de cadenas cortas. Típicamente los hidrolizados lignocelulósicos contienen varias cantidades de ácido acético, ácido fórmico y ácido levulínico. El ácido acético se forma por la desacetilación de las hemicelulosas. El ácido fórmico y el levulínico son productos de degradación del furfural.
- El tercer grupo de inhibidores comprende varios compuestos fenólicos liberados de la degradación parcial de la lignina.

### **1.6 Hidrólisis enzimática.**

Debido a los inconvenientes de la hidrólisis ácida, durante los últimos años se le ha dedicado especial atención a la hidrólisis enzimática (Martín, 2002), la cual consiste en el uso de enzimas celulíticas en lugar de ácidos para catalizar la hidrólisis de los polisacáridos contenidos en los MLC. Las enzimas celulíticas utilizadas son obtenidas de hongos del género *Trichoderma* (Tahezadeh y Karimi, 2007).

#### **1.6.1 Ventajas de la hidrólisis enzimática sobre la hidrólisis ácida.**

1. Es un método selectivo,
2. Con un mayor rendimiento,
3. Sin el inconveniente de la formación de productos colaterales.
4. Brinda la posibilidad de simultanearse con la fermentación alcohólica en procesos conocidos como SSF (del inglés *Simultaneous saccharification and fermentation*) (Tahezadeh y Karimi, 2007).

#### **1.6.2 Limitaciones de la hidrólisis enzimática:**

1. Alto costo de las enzimas.
2. Requerimiento de grandes reactores debido a la lentitud de la reacción (Martín, 2002).
3. La estructura cristalina de la celulosa y su estrecha interrelación con las hemicelulosas y la lignina restringen la accesibilidad de las enzimas.

Por esa razón es necesario someter la materia prima a un proceso de pretratamiento antes de la hidrólisis enzimática.

### **1.7 Producción de bioetanol a partir de MLC.**

El proceso para la producción de etanol a partir de la celulosa, en principio es muy sencillo, una hidrólisis de la celulosa a glucosa con una posterior fermentación, con la consiguiente destilación para obtener el bioetanol hasta un 95 % en volumen y la posterior deshidratación para obtener etanol absoluto (99 % en volumen), por destilación con mezclas de benceno, agua y etanol o utilizando tamices moleculares.

Llevando a cabo una tecnología económicamente factible se podría reducir la dependencia del petróleo crudo. Los productos principales de la fermentación alcohólica son el etanol y el dióxido de carbono, así como varios productos colaterales como glicerol, acetaldehído, alcoholes superiores, ésteres, éteres, ácidos, cetonas y otros compuestos. (Brizuela et al., 2000).

Toda tecnología para la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica debe contener una etapa de hidrólisis de los polisacáridos contenidos en su estructura, de manera que se obtengan azúcares simples que puedan ser convertidos en etanol por fermentación (Cuzens y Miller, 1996; Demirbas, 2007).

#### **1.7.1 Ventajas ecológicas del bioetanol.**

El uso del bioetanol también está relacionado con la protección del medio ambiente, ejerciendo un menor impacto sobre este. El bioetanol como combustible automotor contribuirá considerablemente a la disminución de la contaminación ambiental, ya que es un combustible obtenido a partir de la biomasa, por lo que no aporta dióxido de carbono neto a la atmósfera y así no contribuye al incremento del efecto invernadero. El uso masivo del etanol combustible en Brasil provocó una reducción de las emisiones en 46.7 millones t CO<sub>2</sub>/a entre 1985 y 1995 (Macedo, 1998). También por el alto contenido de oxígeno en el etanol, su combustión es más completa que la de la gasolina, por lo que emite menos monóxido de carbono (Cordovés, 2001). Por otro lado, la combustión de la gasolina y el diesel emiten compuestos aromáticos, muchos de los cuales son cancerígenos, así como otras impurezas, tales como octazufre, dicloro, compuestos órgano-metálicos,

hidrocarburos sin combustionar, óxidos de nitrógeno y compuestos orgánicos volátiles (Bailey, 1996).

### **1.7.2 Ventajas económicas del uso del bioetanol.**

La sustitución de la gasolina por el etanol permitiría reducir los volúmenes de petróleo destinados a este fin, lo cual es muy beneficioso para aquellos países dependientes del mercado mundial de hidrocarburos, lo que conduciría a una mejora de la balanza comercial de esos países (Glasser y Wright, 1998).

En Cuba, se debe tener en cuenta que el sector del transporte en el consumo energético nacional se hace cada vez más significativo. Debido, que prácticamente la totalidad de la generación eléctrica se realiza a partir de petróleo crudo y gas acompañante de origen nacional y que el número de vehículos aumenta considerablemente con la reanimación de la economía cubana, el peso del sector automotor en el consumo de combustible se ha elevado y continuará elevándose en un futuro inmediato. El uso del etanol carburante, producido a partir de recursos renovables de origen nacional, permitiría al país disminuir la importación de petróleo, lo que significaría un ahorro en divisas, algo muy importante para la oxigenación de nuestra economía (Martín, 2002). Por otro lado, teniendo en cuenta la gran disponibilidad de materias primas para su producción, el bioetanol es un combustible renovable que Cuba puede producir en grandes cantidades, lo que, en opinión del autor, permitirá que se beneficie la economía del país a pasos continuados.

### **1.8 Tipos de residuos madereros.**

En el epígrafe 1.1.2 podemos observar que uno de los orígenes de la biomasa lignocelulósica es en la industria de la madera, según Brake, 1992 la industria de transformación de la madera genera altos volúmenes de residuos y su acumulación provoca efectos ambientales negativos como la emisión a la atmósfera del dióxido de carbono, contenido en la materia orgánica.

Siendo cinco los tipos de residuos madereros que se generan indistintamente en las carpinterías privadas, los cuales son:

1. Aserrín.
2. Costanera (retal, costeros).
3. Corteza.

4. Viruta.

5. Leña. (Oconnell y Meaney 1997).

La biomasa que se origina en el proceso de aserrío sobre todo el aserrín, es un material lignocelulósico que por su naturaleza química (entre 60-70 % de polisacáridos) puede compararse con la del bagazo de caña y otros derivados que en Cuba ya se utilizan industrialmente, aportando a la sociedad diversos productos.

### **1.9 Conclusiones parciales del capítulo.**

- Los MLC son una fuente de materia prima con alto contenido de biomasa y de gran potencialidad para la producción de productos y subproductos finales de alto valor agregado.
- El aserrín por su composición química y abundancia en las carpinterías privadas de Cuba, puede ser utilizado como materia prima en la obtención de productos de gran importancia para el país.
- El bioetanol como combustible obtenido de los MLC aporta beneficios para el medio ambiente, ya que reduce las emisiones de gases a la atmósfera.

## Capítulo 2: Materiales y métodos.

**E**n el presente capítulo se describen los procedimientos aplicados y equipos fundamentales utilizados en la investigación. El trabajo experimental se desarrolló en los laboratorios de Química Básica y del Grupo de Tecnología de Biorrecursos del Departamento de Química e Ingeniería Química de la Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”, con vistas a darle uso a un residual sólido obtenido en carpinterías privadas conocido como aserrín artesanal de diferentes municipios con el propósito de conseguir subproductos de alto valor agregado, llevándose a cabo las siguientes tareas:

1. Muestreo, conservación y preparación de la materia prima.
2. Caracterización físico-química del residual sólido proveniente de las carpinterías privadas.
3. Estudio y optimización del pretratamiento ácido sulfúrico diluido.
4. Elaboración del informe final de la tesis.

### 2.1 Muestreo, preparación y conservación de la materia prima.

Inicialmente la materia prima se exhibe al sol por varios días, posteriormente en el laboratorio se divide en cuatro capas sucesivas de aproximadamente igual espesor, las mismas son divididas en ocho porciones iguales sobre una superficie rectangular y de estas se toman dos porciones opuestas entre sí y el resto se desecha, para garantizar que la muestra sea lo más real y representativa posible (Hernández, 1995). Las porciones finales de las muestras preparadas previamente, son secadas a 40-50 °C en estufa (Estufa - digital DHG- 9146 A, República de China, con control térmico) por espacio de 48 h. Posteriormente la muestra es tamizada a través de diferentes tamices de (1 y 2 mm) donde se obtienen fracciones útiles para cada experimento a seguir. La misma fue conservada en bolsas de polietileno a temperatura ambiente.

### 2.2 Caracterización físico-química de la materia prima.

Esta fase de la investigación comprende la caracterización físico-química del aserrín sólido, la misma se realiza siguiendo las técnicas operatorias regidas por los Métodos Standard para el Análisis de Biomasa, perteneciente a los

Laboratorios Nacionales de energía renovable (NREL) de Estados Unidos. Los análisis realizados para la determinación de la composición química del material son: Cenizas, Humedad, Hidrólisis ácida analítica, Polisacáridos fácilmente y difícilmente hidrolizables y Extractivos.

### **2.2.1 Caracterización física de la materia prima**

En la caracterización física de la materia prima se tuvo en cuenta el análisis organoléptico (color, aroma, estado de agregación), y la densidad aparente.

#### **2.2.1.1 Análisis organoléptico**

El análisis organoléptico de la materia prima objeto de estudio se realizó basándose en lo referido por (Nuñez, 1983), el cual consiste en la determinación de las características: color, aroma y estado físico.

#### **2.2.1.2 Determinación de la densidad aparente.**

Para la determinación de la densidad aparente se toman la muestra del aserrín artesanal, se pesa en balanza analítica y se divide esta masa entre el volumen ocupado por la misma en una probeta aforada (Rosabal, 2006).

La densidad aparente, siempre muestra un valor menor al de la densidad real de la partícula, debido a la película de agua situada entre las partículas del aserrín artesanal.

### **2.2.2 Composición química de la materia prima.**

#### **2.2.2.1 Humedad.**

La determinación de humedad es realizada según “*Standard Method for Determination of Total Solids in Biomass*”. Procedimiento analítico de laboratorio LAP 001. Este Método Standard para el Análisis de Biomasa se basa en el análisis gravimétrico por volatilización y en el mismo un crisol con su tapa es llevado a peso constante. Se pesa un gramo de muestra, en balanza analítica, (Balanza analítica digital Sartorius BS 124 S. Máx. 120g Sartorius, con una precisión de 0,1 mg), poniéndolo en la estufa a la temperatura de 105 °C por espacio de 24 h; llevándolo a la desecadora (previamente preparada con carbonato de calcio anhídrido y silicagel) y después pesando la muestra anhidra. El procedimiento anterior se repite hasta alcanzar peso

constante (dos pesadas consecutivas deben diferenciarse en 0,2 mg o menos). El resultado es aceptado cuando muestra y replicas tengan una desviación estándar igual o inferior a 0,19 % y un coeficiente de variación igual o inferior a 0,20 %. Las ecuaciones utilizadas son:

$$\% \text{ Sólidos totales} = \frac{\text{Peso crisol} + \text{muestra} - \text{Peso crisol}}{\text{Peso muestra}} * 100 \quad \text{Ec 2,1}$$

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \% \text{ Sólidos totales} \quad \text{Ec 2,2}$$

### 2.2.2.2 Cenizas.

La determinación de cenizas es realizada según: “*Standard Method for Ash in Biomass*”. Procedimiento analítico de laboratorio LAP 005. El análisis se basa en la gravimetría por volatilización. Se pesan exactamente y por duplicado en balanza analítica, crisoles de porcelana con su tapa (previamente preparados en el horno mufla modelo SX2- No. 3030, Temperatura máxima 1200 °C, República de China, a la temperatura de 550 ± 25 °C por 4 h) y 1,0000 g de muestra, la muestra se coloca en el horno mufla a temperatura de 550 ± 25 °C por tres horas; se ponen en desecadora por espacio de 15 a 30 minutos, hasta enfriar, se pesa y se repite la operación por una hora más, hasta obtener peso constante (dos pesadas consecutivas deben diferenciarse en 0,2 mg o menos). El cumplimiento de este procedimiento se acepta cuando muestra y réplicas cumplan con una desviación estándar igual o inferior a 0,05 % y un coeficiente de variación igual o inferior a 3,88 %. El cálculo se realiza mediante la ecuación siguiente:

$$\% \text{ Cenizas} = \left( \frac{(\text{Peso crisol} + \text{ceniza} - \text{Peso crisol})}{\text{Peso muestra} * \% \text{ sólidos totales}} * 100 \right) * 100 \quad \text{Ec 2,3}$$

### 2.2.2.3 Extractivos.

La determinación de extractivos es realizada según: “*Standard Method for the Determination of Extractives in Biomass*”. Procedimiento analítico de laboratorio LAP 010. El análisis se basa en la gravimetría por extracción sólido-líquido. Se pesan aproximadamente de 2 a 10 g de muestra tamizada en (balanza

analítica), se agrega la muestra cuantitativamente al dedal y se pesa, colocando el mismo en un aparato Soxhlet de 75 ml, se adiciona de 160-195 ml de etanol al 95 % en un balón previamente pesado en balanza analítica. Se calienta a reflujo por 24 h (baño de María, Modelo WB2- No. 575, Alemania), se requieren de 100 a 120 descargas durante el tiempo de reflujo, posteriormente se extrae el dedal y se lava con etanol al 95 % dejándolo al aire por dos días y (en estufa a 40 °C por 24 h). El lavado y el líquido que queda en el Soxhlet, se vierten en el balón el cual se coloca en el (Retro-evaporador analógico IKA RV 05 Basic, baño de agua IKA HB4 Basic a 45 ± 5 °C), después de haber eliminado todo el solvente visible haciendo uso de la (bomba de vacío Telstar) y sus respectivas trampas de vacío, se coloca el balón en (estufa por 24 h a una temperatura 40 ± 1°C), transcurrido este tiempo se coloca el balón en (desecadora hasta alcanzar temperatura ambiente), luego se pesa hasta peso constante. El análisis de determinación por extractivo es aceptado cuando muestra y replicas cumplen con una desviación estándar en contenido de extractos igual o inferior a 0,15% y un coeficiente de variación igual o inferior a 7,6%. Las ecuaciones utilizadas para determinar los diferentes por ciento de extractivos son:

$$Materia\ seca\ (MS) = Peso_{muestra} * \frac{\% \text{ Sólidos totales}}{100} \quad \text{Ec. 2,4}$$

$$\% \text{ Extractos no volátiles} = \left( \frac{Peso\ balón + extractos - Peso\ balón}{MS} \right) * 100 \quad \text{Ec. 2,5}$$

$$\% \text{ Extractos totales} = \left( \frac{(MS - (Peso\ dedal + muestra - Peso\ dedal))}{MS} \right) * 100 \quad \text{Ec. 2,6}$$

$$\% \text{ Extractos volátiles} = \% \text{ extracto totales} - \% \text{ extracto no volátiles} \quad \text{Ec. 2,7}$$

#### 2.2.2.4 Polisacáridos fácilmente hidrolizables (PFH).

La determinación de los PFH fue realizada según: (Leonovich y Obolenskaia, 1988). Este método se basa en el análisis gravimétrico. Se pesa 2,0000 g de biomasa libre de extractos en (balanza analítica); muestra y réplica. La cual se adiciona a un balón esmerilado de 100 ml con fondo redondo. Se añade 20 ml

de HCl al 5 % y se agita cuidadosamente esporádicamente por espacio de 30 min. Calentar a reflujo durante tres horas en (baño de María a temperatura de 100 °C). Transcurrido este tiempo se deja refrescar y se procede a filtrar a vacío. El residuo sólido o torta se seca por un día a temperatura ambiente y luego a (105 °C durante 24 h en estufa), pasado este tiempo se coloca en (desecadora hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesa hasta lograr peso constante. La determinación de PFH se utiliza la ecuación siguiente:

$$\% PFH = \frac{\text{Peso muestra} - \text{Peso final muestra}}{\text{Peso muestra}} * 100 \quad \text{Ec. 2,8}$$

#### 2.2.2.5 Polisacáridos difícilmente hidrolizables (PDH).

La determinación de los PDH fue realizada según:(Leonovich y Obolenskaia, 1988). Este método se basa en el análisis gravimétrico. Se pesan todo el residuo obtenido en la determinación de PFH en un beaker de 100 ml en la (balanza analítica); muestra y replica. La cual se adiciona 15 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 72 % y se agita cada 20 min por dos horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se transfieren lo más cuantitativamente posible a un balón esmerilado de 500ml con fondo redondo. Se agrega a la mezcla 135 ml de agua destilada y se calienta a reflujo durante dos horas en (baños de María a temperatura de 100 °C). Posteriormente se deja refrescar y se procede a filtrar a vacío. El residuo sólido o torta es secado por espacio de un día a temperatura ambiente y luego a (105 °C durante veinticuatro horas en estufa), finalizado este tiempo se coloca en (desecadora hasta temperatura ambiente) y pesado hasta peso constante. La ecuación utilizada para determinar los PDH es:

$$\% PDH = \frac{\text{Peso final muestra PFH} - \text{Peso final muestra}}{\text{Peso muestra}} * 100 \quad \text{Ec. 2,9}$$

#### 2.2.2.6 Lignina Klason.

La determinación de la HAA fue realizada según: “*Standard Method for the Determination of Carbohydrate in Biomasa by HPLC*”. Procedimiento analítico de laboratorio LAP 002, y haciendo uso de modificaciones técnicas adaptadas

a nuestras condiciones de análisis. El mismo se basa en el análisis gravimétrico para la determinación de la lignina y la extracción sólido-líquido para la determinación de los azúcares. En pomos de 250 mL se pesan (0,3 g de muestra en balanza analítica), se añade el volumen equivalente a 4,92 g de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (72 %). A continuación se introducen en baño de María a 30 °C, durante una hora con agitación (75 rpm), asegurándose que la muestra quede empapada por el líquido. Luego se añade 84 ml de agua destilada para detener la reacción (equivalente a una concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> del 4 %).

Seguidamente, se introduce en autoclave durante 1 h a 121 °C y 1,02 atm de sobrepresión. Finalizada esta segunda etapa de hidrólisis, se enfría en baño de agua y se reponen las posibles pérdidas con agua. Tras la hidrólisis se obtiene una suspensión en la que el hidrolizado (fracción líquida) contiene los productos de hidrólisis de los polisacáridos y el precipitado corresponde a la lignina Klason, la cual se seca a (105°C durante 24 horas en estufa). Al hidrolizado se le determinan los azúcares disueltos mediante técnicas analíticas como son HPLC y azúcares reductores totales por el método de ácido 3,5- dinitrosalicílico (DNS). Se utiliza para determinar el por ciento de lignina la ecuación:

$$\% \text{ Lignina} = \frac{\text{Peso final muestra}}{\text{Peso muestra}} * 100 \quad \text{Ec. 2,10}$$

### 2.3 Pretratamiento con ácido sulfúrico diluido.

El pretratamiento se realiza en autoclave modelo LDZX-50 KAS, a 1,02 atm., empleando un tiempo de reacción entre (10-120 min.), temperatura de hidrólisis de 121 °C, con una concentración de ácido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2-12 %) y relación sólido líquido (8-20 g/g). Los rangos de los diferentes parámetros fueron obtenidos de (Rafiqul y Mimi Sakinah, 2012)

Primeramente se pesan en balanza técnica los gramos de muestra correspondientes a cada experimento, en frasco de rosca (100 mL), seguidamente se añade H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con la concentración requerida hasta alcanzar el peso total de la dilución. Inmediatamente se colocan en autoclave por el tiempo de reacción adecuado, después de este, se filtra al vacío separando las dos fracciones.

La fracción sólida se seca en estufa por 24 h, después de este tiempo se pasa a desecadora por 1 h, este procedimiento se repite hasta peso constante es decir que exista una diferencia entre dos pesadas continuas 0,0002 g, los gramos de sólidos reportan el rendimiento de sólidos y así determinar a qué condiciones de trabajo se logró la menor solubilidad de las hemicelulosas.

#### 2.4 Determinación cromatográfica de los azúcares.

Los azúcares contenidos en los hidrolizados resultantes de la hidrólisis ácida analítica fueron analizados por cromatografía líquida de alta precisión (HPLC) para determinar el contenido de los polisacáridos estructurales de la biomasa (Sluiter *et al.*, 2003c). Se utilizó un sistema de HPLC Young Li (República de Corea). La glucosa y la xilosa fueron separadas en una columna IC Sep COREGEL-87 H355 (7,8 x 300mm) a  $60 \pm 1$  °C utilizando como fase móvil agua desionizada a un flujo de 0,4 mL/min, la glucosa y la xilosa fueron detectadas con un refractómetro diferencial (RID, YL 9170). El software de adquisición de datos Clarity (YL 9100 HPLC, USA) fue utilizado como interfase para realizar los análisis, obtener los resultados y controlar todo el sistema. Las concentraciones de las diferentes sustancias detectadas por el equipo se calculan a través de las ecuaciones obtenidas en la curva patrón para cada elemento.

##### Glucosa

$$Conc. = \frac{\text{Área} + 7,10172}{334,50271} \quad \text{Ec. 2,11}$$

##### Xilosa

$$Conc. = 322,73083 * \text{Área} \quad \text{Ec. 2,12}$$

##### Galactosa

$$Conc. = 321,35484 * \text{Área} \quad \text{Ec. 2,13}$$

#### 2.5 Diseño de experimento utilizado en pretratamiento ácido diluido.

Para la correcta ejecución de los experimentos y la obtención de las mejores condiciones de pretratamiento, es necesario apoyarse en un adecuado diseño de experimento.

El diseño utilizado fue de superficie de respuesta (Box-Behnken), siendo las variables independientes: tiempo, concentración de  $H_2SO_4$ , relación sólido líquido (RSL) y como variable respuesta el rendimiento de sólidos (%), obteniéndose 15 corridas, con tres puntos centrales. ( tabla 1, anexo 3)

El mismo se obtuvo a través del software Statgraphic 5.0, en la tabla 2.1 se observa el diseño obtenido.

*Tabla 2.1: Condiciones de trabajo utilizadas.*

No. Experimentos	Tiempo (min.)	Conc. $H_2SO_4$ (%)	RSL (g/l)
1	65	7	14
2	120	7	20
3	65	2	8
4	65	7	14
5	120	2	14
6	65	12	20
7	10	12	14
8	10	2	14
9	10	7	8
10	65	7	14
11	65	12	8
12	10	7	20
13	120	7	8
14	65	2	20
15	120	12	14

Todos los experimentos fueron realizados por triplicado (muestra y dos réplicas). Los resultados experimentales fueron procesados estadísticamente usando los programas Microsoft Excel 2007 y Statgraphics 5.0.

## Capítulo 3: Análisis y discusión de los resultados.

**E**n el presente capítulo se analiza cada uno de los resultados obtenidos. En la primera parte se analiza la composición físico-química de la materia prima a utilizar. Posteriormente el rendimiento de sólidos en el pretratamiento es analizado con vista a determinar las mejores condiciones de trabajo en el rango de estudio.

### 3.1 Preparación y conservación de la materia.

Primeramente se analizó cada uno de los aserrines recolectados en diferentes carpinterías privadas de la provincia de Matanzas con el fin de conocer si existían diferencias significativas en cuanto a: humedad, concentración de azúcares reductores totales (ART) y por ciento de Lignina, para los dos últimos parámetros nos apoyamos en la hidrólisis ácida analítica explicada en el epígrafe 2.2.2.6.

Los resultados obtenidos fueron analizados en el software Statgraphic 5.0 y los mismos arrojaron que no existían diferencias significativas estadísticamente entre las muestras de aserrín en los tres parámetros analizados para un 95 % de confianza, debido a que el p-valor entre los grupos y dentro de los mismos, en todos los casos es mayor que 0,05 como se pueden observar en las (tablas 2, 3, 4) en el anexo 4.

Al no existir diferencia significativa entre los tres aserrines, se mezclaron los mismos tomando una proporción similar de cada muestra y así obtener la materia prima final.

Posteriormente fue secada al aire durante una semana y en estufa a 45 °C durante 24 h. A continuación, el material seco fue tamizado para separar en dos fracciones, una con tamaño de partícula de 1 mm, para el análisis de la composición química, y otra de 2 mm, para ser utilizada en el pretratamiento. Ambas fracciones fueron homogenizadas utilizando la técnica del pastel para garantizar una composición idéntica en todas las alícuotas del material, y conservadas en bolsas plásticas con el objetivo de mantener una humedad constante.

### 3.2 Caracterización físico-química de la materia.

La composición de la biomasa es un factor muy importante para la determinación de la factibilidad de su uso, en un proceso determinado. Por eso se realiza un estudio muy cuidadoso de la estructura de la materia prima debido a que su uso dependerá de los resultados que estos arrojen.

#### 3.2.1 Caracterización física de la materia prima.

##### 3.2.1.1 Análisis organoléptico.

En el análisis organoléptico realizado a la materia prima se lograron los siguientes resultados:

- Aroma: Característico.
- Color: Carmelitoso.
- Estado físico: Sólido

Correspondiendo así con las características de diferentes materias procedentes de los residuos madereros.

##### 3.2.1.2 Densidad aparente de la materia prima.

En el análisis para la determinación de la densidad aparente se alcanzan los resultados que se muestran en la tabla 3.1, donde se puede observar que la materia prima presenta una densidad aparente de 242,12 kg/m<sup>3</sup>, obteniendo un coeficiente de variación (CV) de 3,88 % lo cual indica que la media es representativa de los datos. Siendo el valor de la densidad aparente inferior a los de diferentes maderas reportado por (Atencia, 2003), esto puede estar influenciado a que la materia prima es una mezcla de aserrines de distintas maderas y lo analizado en la literatura antes mencionada es solamente para un tipo de madera específicamente.

Tabla 3.1 Densidad aparente del aserrín artesanal

<b>Muestra</b>	<b>Peso muestra</b>	<b>Densidad aparente (kg/m<sup>3</sup>)</b>	
1	25.241	252.41	
2	23.010	230.10	<b>Promedio</b>
3	23.870	238.70	<b>242.12</b>
4	25.330	253.30	
5	23.490	234.90	
6	24.330	243.30	

### **3.2.2 Composición química de la materia prima.**

En el análisis de los resultados de la composición química del aserrín artesanal se tuvo un interés especial en los principales constituyentes como la celulosa, la hemicelulosa y la lignina. Durante el presente capítulo se realiza un análisis exhaustivo de la literatura especializada realizándose una comparación con los resultados obtenidos en el trabajo de diploma. Se reporta junto a los datos experimentales los valores del coeficiente de variación (CV) y desviación estándar. Para realizar el cálculo de los mismos se utiliza el software Statgraphics Plus 5.0.

#### **3.2.2.1 Humedad.**

La materia prima según análisis realizados presenta un contenido de humedad de  $6,25 \pm 0,011$  %, como promedio para un 93,75 % de sólidos totales, entre muestra y réplicas existe una desviación estándar (DE) de 0,011 % y  $CV= 0,18$  %. Estos valores cumplen con las especificaciones propuestas en el (epígrafe 2.2.2.1,  $DE=0,19$  % y  $CV=0,20$  %). Los datos del análisis se encuentran en la tabla 5 del anexo 5.

#### **3.2.2.2 Cenizas.**

El aserrín artesanal presenta un  $6,66 \pm 0,036$  % de cenizas, se analizó por triplicado (muestra y réplica), los parámetros estadísticos de desviación estándar y coeficiente de variación fueron obtenidos mediante el software Statgraphics iguales a 0,036 y 0,54 respectivamente, cumpliendo con lo reportado en el (epígrafe 2.2.2.2.) Los resultados se hallan en la tabla 6, anexo 5.

#### **3.2.2.3 Extractivos totales.**

Los extractivos totales se definen como la fracción de una muestra de biomasa que es soluble en el etanol y que queda como residuo después de una extracción Soxhlet. En este caso los experimentos realizados arrojaron que hay un contenido de  $6,13 \pm 0,095$  % de extractos totales en la materia, siendo este valor semejante al de marabú, 5,37 y 5,63 % reportado por (Hernández, 2012 y Triana, 2011) respectivamente. Entre muestra y réplica en el experimento realizado, existe un valor de  $DE= 0,095$  % y un  $CV=1,55$  %, los mismos se

encuentran dentro de los valores permisible propuesto en el epígrafe 2.2.2.3 (DE= 0,15 % y CV= 7,6 %). Los datos se dan a conocer en la tabla 7, anexo 5.

#### **3.2.2.4 Polisacáridos fácilmente hidrolizables (PFH).**

El promedio conseguido de PFH libres de extractivos es de  $20,54 \pm 0,11$  %, obteniéndose por cada gramo de muestra 0,2054 g de polisacáridos fácilmente hidrolizables que están presente en la solución en forma de oligómeros, y en mayor cantidad como monómeros. El resultado se encuentra dentro del rango de 20-26 %, reportado por (Irmene, 2008) para la paja de madera. Los valores obtenidos de desviación estándar y coeficiente de variación son DE= 0,11 y CV=0,51 % respectivamente, este último indicando que los datos se encuentran muy agrupados alrededor de la media. (Anexo 5, tabla 8).

#### **3.2.2.5 Polisacáridos difícilmente hidrolizables (PDH).**

En la determinación de PDH libres de extractos se obtuvo un  $46,97 \pm 0,42$  %. Los valores obtenidos de desviación estándar y coeficientes de variación entre muestra y réplicas mediante el software Statgraphics son de 0,42 % y 0,20 %. Mostrando que el valor promedio presenta muy poca dispersión pues  $CV < 4$  entonces podemos decir que la media es representativa de los datos. Además el valor conseguido es similar al 43,73 % logrado por (Hernández, 2012) y se encuentra dentro del rango de 40-50 % reportado por (Irmene, 2008). Los resultados se presentan en el anexo 5, tabla 9.

#### **3.2.2.6 Lignina Klason.**

El contenido de Lignina presente en el aserrín artesanal libre de extractos es de  $26,36 \pm 0,11$  %, existiendo entre muestra y réplicas una DE=0,11 y un CV=0,42 %. Al mismo tiempo el por ciento de Lignina se encuentra muy cercano al 29,4 % expuesto por (Irmene, 2008) para la madera de pino y muy superior al 12,72 % que presentó (Rapado, 2011) en la cáscara de la *Jatropha Curcas L.*, esta diferencia puede ser debido al tipo de MLC, donde según Rapado, 20011 la materia prima utilizada es un residuo agrícola mientras que la manejada en este trabajo de diploma es un residuo maderero. Estos datos se encuentran en el anexo 5, tabla 10.

En la tabla 3.2 se muestran algunas características del aserrín artesanal.

Tabla 3.2 Características del aserrín artesanal

<b>Análisis realizados</b>	<b>Resultado</b>
<b>Humedad</b>	<b>6,25 %</b>
<b>Sólidos totales</b>	<b>93,75 %</b>
<b>Cenizas</b>	<b>6,66 %</b>
<b>Extractivos totales</b>	<b>6,13 %</b>
<b>PFH</b>	<b>21,88 %</b>
<b>PDH</b>	<b>50,04 %</b>
<b>Lignina de klason</b>	<b>28,08 %</b>
<b>g iniciales de Glucanos/g muestra</b>	<b>0,3316 g/g</b>
<b>g iniciales de Xilanos/g muestra</b>	<b>0,1034 g/g</b>
<b>g iniciales de Galactanos/g muestra</b>	<b>0,0746 g/g</b>

Los gramos de glucanos, xilanos y galactanos se determinaron por Cromatografía líquida de alta precisión (HPLC), a través de las áreas obtenidas y sustituidas en la ecuaciones planteadas en el epígrafe 2.4, las mismas se obtienen de las curvas patrones de: xilosa, glucosa y galactosa mostradas en los anexos 6,7 y 8 respectivamente.

Tabla 3.3 Datos de la composición de la materia prima libre de extractos.

<b>Análisis realizados</b>	<b>%</b>
<b>Extractivos totales</b>	<b>6,13</b>
<b>PFH</b>	<b>20,54</b>
<b>PDH</b>	<b>46,97</b>
<b>Lignina de klason</b>	<b>26,36</b>

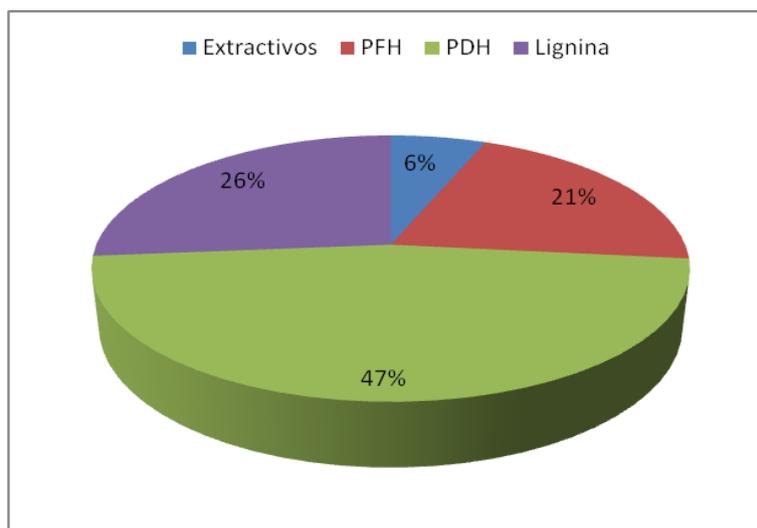


Figura 3.1: Composición química del aserrín artesanal libre de extractivos.

### 3.3 Pretratamiento del aserrín artesanal con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluido.

El pretratamiento con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluido se realiza con fines de obtener el mayor por ciento de rendimientos de sólidos, que nos indicaría donde existe menor solubilización de las hemicelulosas en la fracción líquida y una mayor concentración de la celulosa en la fracción sólida.

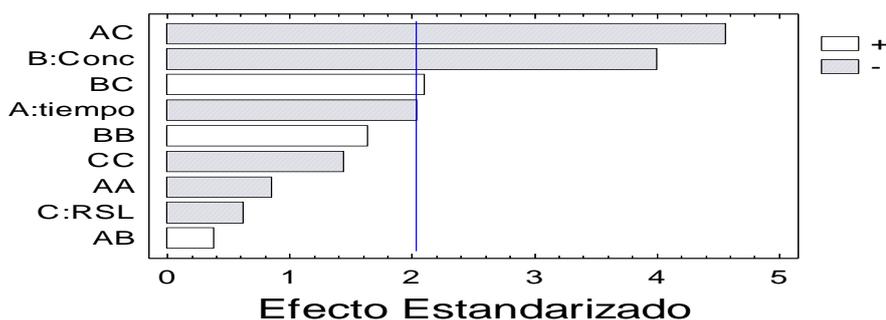
Para encontrar las mejores condiciones del pretratamiento antes mencionado partimos del diseño estadístico de superficie de respuesta Box-Behnken, bajo los parámetros expuestos en el epígrafe 2.3, en el mismo se pueden determinar aquellos parámetros estadísticamente significativos o no, sobre la variable respuesta por ciento de rendimiento de sólidos (% RS), este resultado se puede obtener mediante la tabla ANOVA del modelo cuadrático y el diagrama de Pareto. (Figura 3.2)

#### 3.3.1 Análisis estadístico

##### 3.3.1.1 Determinación de los parámetros significativos sobre la variable respuesta.

- Diagrama de Pareto

El análisis del diagrama de Pareto reveló que sobre la variable respuesta (% RS), el efecto lineal de las variables concentración de ácido, tiempo, así como las interacciones, (tiempo- RSL) y (concentración de ácido- RSL), influyen significativamente. Al aumentar la concentración de ácido disminuye el % RS debido a su influencia negativa sobre la variable antes mencionada, lo mismo ocurre para el parámetro tiempo. En la interacción (tiempo- RSL), a mayores tiempos de pretratamiento y menor la RSL disminuye el % RS y viceversa. A medida que varía la concentración de ácido en forma ascendente y disminuyendo la RSL, aumenta el % RS, como lo muestra el diagrama de Pareto (figura 3.2). Siendo estos cuatro factores los únicos que influyen sobre el por ciento de rendimiento de sólidos.



**Figura 3.2** Diagrama de Pareto para el % RS

- Tabla Anova.

En la tabla ANOVA (tabla 3.4), se puede observar los valores de p-valor, donde se reafirma los resultados analizados en el diagrama de Pareto, se trabajo para un 95 % de confianza.

**Tabla 3.4:** Tabla ANOVA para %RS

Análisis de Varianza para el % RS		
Fuente	Coef. F	P- Valor
A:tiempo	4,18	0,0490 *
B:Conc	16,05	0,0003 *
C:RSL	0,39	0,5367
AA	0,73	0,3985
AB	0,14	0,7058
AC	20,80	0,0001 *
BB	2,69	0,1106
BC	4,44	0,0428 *
CC	2,08	0,1590
Bloques	0,00	0,9980

(\*) Variables significativas

- Obtención y ajuste del modelo matemático

Para el ajuste del modelo, se realiza un análisis de regresión múltiple donde se analiza el p-valor del modelo, para determinar si el mismo se ajusta a los datos experimentales.

Tabla 3.5: Análisis de regresión múltiple

Análisis de regresión múltiple		
Variable dependiente: % RS		
Parámetros	Coef. F	P- Valor
A: tiempo	2,96836	0,0054
B: Conc	-3,35881	0,0019
C: RSL	1,76866	0,0857
AA	-0,880877	0,3844
AB	1,68858	0,1002
AC	-1,48403	0,1468
BB	0,392104	0,6974
BC	-4,69706	0,0000
CC	2,17024	0,0369
Modelo	6,12	<b>0,0000</b>

Como se muestra en la tabla 3.5 el p-valor del modelo es 0,000 lo cual indica que el mismo se ajusta a los datos experimentales. El modelo matemático ajustado se presenta en la ecuación 3.1. el cual correlaciona los diferentes parámetros con el por ciento de rendimiento de sólidos. (Ecuación 3,1).

$$\begin{aligned} \%RS = & 74,0069 + 0,246 * \text{Tiempo} - 3,261 * \text{Conc.} + 1,884 * \text{RSL} - 0,0004 * \text{Tiempo}^2 + \\ & 0,0017 * \text{Tiempo} * \text{Conc.} - 0,0174 * \text{Tiempo} * \text{RSL} + 0,0856 * \text{Conc.}^2 + 0,0883 * \text{Conc.} * \text{RSL} - \\ & 0,0523 * \text{RSL}^2 \end{aligned} \quad \text{Ec. 3,1}$$

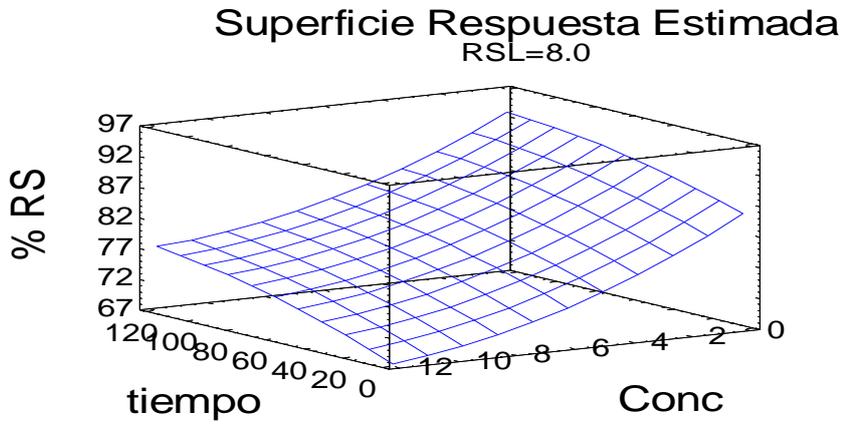
Para hacer un poco más sencillo el modelo ajustado podemos excluir todos aquellos parámetros que no influyen significativamente sobre la variable respuesta % RS, obteniendo el nuevo modelo matemático. (Ecuación 3,2)

$$\begin{aligned} \% RS = & 74,0069 + 0,246 * \text{Tiempo} - 3,261 * \text{Conc.} + 1,884 * \text{RSL} - 0,0174 * \text{Tiempo} * \text{RSL} \\ & + 0,0883 * \text{Conc.} * \text{RSL} \end{aligned} \quad \text{Ec. 3,2}$$

- Análisis de la superficie respuesta.

Mediante el análisis de los gráficos de superficie respuesta, se obtienen las mejores condiciones de pretratamiento ácido diluido para el aserrín artesanal bajo el rango de trabajo estudiado. Se fija la relación sólido líquido (RSL) a 8 %, debido a que la misma no es significativa como se menciona en el análisis del

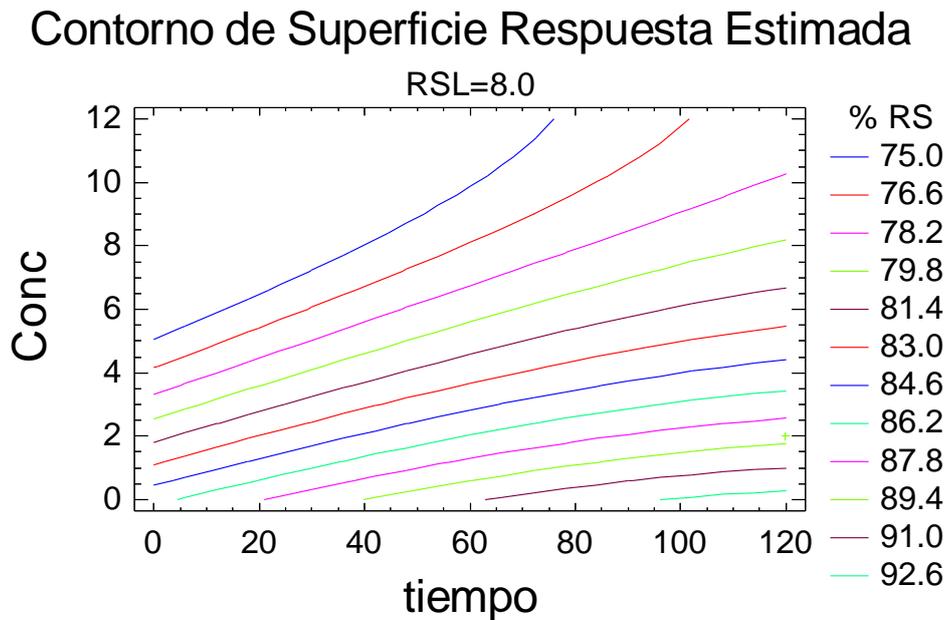
diagrama de Pareto y se elige el menor por ciento RSL estudiado para un ahorro económico en cuanto a la materia prima.



**Figura 3.3** Superficie respuesta para RSL de 8 %

La figura 3.3 nos indica que a una misma concentración a lo largo del tiempo se obtiene mayor % RS y el máximo valor que alcanza la variable respuesta (% RS), es a concentraciones bajas.

Para determinar exactamente el tiempo máximo alcanzado en el rango de trabajo se analiza la figura 3.4.



**Figura 3.4** Contorno de superficie respuesta estimada.

En la figura 3.4 se observa que a partir de los 60 min. de pretratamiento y a concentraciones de ácido diluido bajas, se consigue un % RS casi constante hasta los 120 min. igual a 91 %, aunque el máximo de rendimiento (92,6 %) se alcanza a los 120 min. la diferencia no es significativa respecto al por ciento anteriormente mencionado y por cuestiones de ahorro de energía es más conveniente trabajar a tiempos cercanos a 60 min.

Después de analizar los resultados anteriormente mostrados se logran las mejores condiciones de los diferentes parámetros del pretratamiento ácido diluido para el aserrín artesanal las mismas son:

1. Tiempo de pretratamiento 65 min.
2. Concentración de ácido sulfúrico diluido 2 %.
3. Relación sólido líquido 8 %.

Sustituyendo en el modelo matemático ajustado (Ec. 3,2), las mejores condiciones del pretratamiento antes mencionado se logra un por ciento de rendimiento de sólidos de 90,91 % y experimentalmente se obtuvo un 88,93 %, no existiendo diferencia significativa entre ambos, ratificando lo ajustado que está el modelo matemático a los datos experimentales, que se presentan en el anexo 9.

### **3.4 Posibles etapas del proceso en cuestión.**

#### **3.4.1 Molienda:**

Esta etapa es la encargada de reducir el tamaño de las partículas que entran por la corriente (1) para facilitar la separación de los tres componentes principales de la materia prima lignocelulósica (hemicelulosas, celulosa y lignina), el tamaño reportado por la literatura es menor e igual a 2 mm para el pretratamiento, con esto aumenta la porosidad del material lo que hace más efectivo el pretratamiento ácido diluido, debido a que la estructura química de la materia se rompe con más facilidad y se obtiene con más rapidez los elementos antes mencionado.

#### **3.4.2 Tamizado:**

En la fase de tamizado entra la corriente (2) correspondiente a la salida de la molienda, la cual no es homogénea en cuanto al tamaño de partículas, por lo

que es necesario reducir la porosidad de la partícula a 2 mm, como se expresa anteriormente. En esta fase se generan dos corrientes una entra a la próxima etapa (4) y la otra se recircula a la molienda (3).

#### **3.4.3 Tratamiento:**

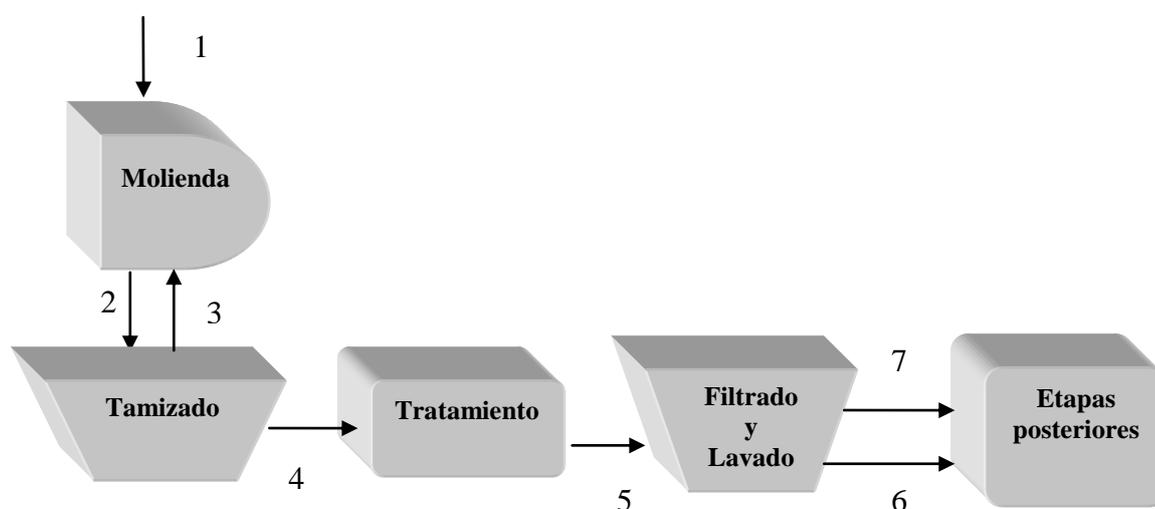
A esta etapa entra la corriente (4) y sale una hacia la fase de lavado y filtrado (5), es de suma importancia que el equipo donde se realice el pretratamiento sea de un material resistente a la corrosión, ya que se trabaja con ácido. Por lo general el equipo utilizado es un reactor, donde el mismo debe alcanzar la temperatura de 121°C y una presión de 1,002 atm, condiciones específicas del pretratamiento aplicado.

#### **3.4.4 Filtrado y lavado:**

En esta etapa ocurre primeramente el filtrado para la obtención de una fracción líquida (7) y una sólida (8), donde en la líquida se encuentra en mayor proporción las hemicelulosas y en la sólida predomina la celulosa y la lignina, componentes que se pueden utilizar posteriormente para la obtención de productos con valor agregado (Ejemplo: bioetanol, plástico, baquelita, entre otros), después de otros procesos. Seguidamente el lavado del sólido ocurre con agua con el objetivo de elevar el pH de ácido hasta aproximadamente neutro.

#### **3.4.5 Etapas estimadas:**

En esta etapa entran tanto la fracción líquida como la sólida provenientes del proceso de filtrado y lavado (7 y 8), para su posterior tratamiento teniendo en cuenta el producto final deseado. Ejemplo de los procesos que podrían componer esta etapa: fermentación, destilación, hidrólisis enzimática entre otras.



**Figura 3.5:** Posibles etapas del proceso.

**Leyenda de la figura 3.5**

- 1- Flujo de materia prima (aserrín artesanal).
- 2- Flujo de partículas con tamaño igual a 2 mm.
- 3- Recirculación hacia la molienda.
- 4- Partículas de 2 mm.
- 5- Flujo de materia primas más ácido.
- 6- Torta de sólido.
- 7- Fracción líquida.

**3.5 Conclusiones parciales del capítulo.**

1. Se determinaron las mejores condiciones del pretratamiento estudiado, tiempo 65 min, concentración de ácido sulfúrico igual a 2 % y una relación sólido líquido de 8 %, para el aserrín artesanal.
2. Se determinó la composición de la materia prima, obteniendo más del 75 % entre hemicelulosas, celulosas y lignina.

## Conclusiones Generales

1. Se determinaron las mejores condiciones del pretratamiento ácido diluido del aserrín artesanal, con un tiempo de pretratamiento 65 min, concentración de ácido de 2 % y relación sólido-líquido de 8 %.
2. El por ciento máximo de rendimiento de sólido obtenido bajo las mejores condiciones es de 91 %.
3. La relación sólido-líquido no es estadísticamente significativa sobre la variable respuesta % RS.
4. El modelo matemático obtenido se ajusta a los datos experimentales.

## **Recomendaciones**

1. Se recomienda estudiar el pretratamiento al aserrín como material lignocelulósico a grandes escalas, para compararlos con los resultados obtenidos en el laboratorio.
2. Realizar otros pretratamientos a la materia prima para así comparar la efectividad de los mismos con el aplicado en el trabajo de diploma presente.

## Bibliografía

1. Atencia, M. (2003) Densidad de distintas maderas. [Disponible en: [www.inti.gov.ar/maderaymuebles/pdf/densidad.comun.pdf](http://www.inti.gov.ar/maderaymuebles/pdf/densidad.comun.pdf)]. Consultado Junio del 2013.
2. Azuma, J-I., Asai, T., Isaka, M. and Koshijima, T. (1985) Effects of microwave irradiation on enzymatic susceptibility of crystalline cellulose. *J. ferment. Technol.* 63, 529-536.
3. Bailey, B.K. (1996) Performance of ethanol as a transportation fuel. En *Handbook on bioethanol: Production and utilization*. Ed. Wyman, C.H., Taylor & Francis Inc, Bristol, PA pp 37-60.
4. Bak, J., Ko, J., Han, H., Lee, C., Choi, I., Kim, H. (2009) Improved enzymatic hydrolysis yield of rice straw using electron beam irradiation pretreatment. *Bioresource Technology* 100, 1285 – 1290.
5. Balat, M., Balat, H., Öz, C. (2008) *Progress in bioethanol processing. Progress in Energy and Combustion Science* 34, 551–573.
6. Brake, JD. 1992. Evaluation of the Chemical and Physical Properties of Hardwood used as a Broiler Litter material. *Poultry Science* 71:467 - 472.
7. Bridgewater, A.V. y Grassi, G. (1990). Biomass for Energy, Industry and the Environment. A Strategy for the Future. Esagono Pub. Publication EUR/2S97EN~ de la Comisión de lasComunidades Europeas. Luxemburgo.
8. Brizuela, M.A., González, P., La Serna, G., Santiesteben, C. (2000) Enzima celulasa. En *Manual de los derivados de la caña de azúcar* (Ed. L.O. Gálvez). Tercera Edición. La Habana, Cuba.
9. Carrasco. J. (1990) La biomasa como fuente de energía y productos para la agricultura y la industria. Ministerio de Industria y Energía. 1-21
10. Carrasco. J. (2002) La biomasa como fuente de energía y productos para la agricultura y la industria. Ministerio de Industria y Energía. 1-50.
11. Chundawat, S. P., Venkatesh, B., Dale, B. E. (2007) Effect of particle size based separation of milled corn stover on AFEX pretreatment and enzymatic digestibility. *Biotechnology. Bioeng.*, 96,219-231.
12. Cordovés, M. (2001) Consideraciones ambientales sobre el uso del etanol carburante. *Memorias del III Taller Internacional de Producción de Alcohol*. Varadero, Cuba. ISBN 959-160095X.

13. Cuzens, J. C., Miller, J. R. (1996). Acid hydrolysis of bagasse for ethanol production. *Renewable Energy*, 10, 285-290.
14. Demirbas, A. (2007) Progress and recent trends in biofuels. *Progress in Energy and Combustion Science* 33, 1-18.
15. Duarte, L., Silva-Fernandes, T., Carvalheiro, F., Gírio, F. (2009) Dilute acid hydrolysis of wheat straw oligosaccharides. *Appl Biochem Biotechnol.* 153, 116–126.
16. Eggeman, T., Elander, R. T. (2005) Process and economic analysis of pretreatment technologies. *Bioresource Technol.*, 96, 2019-2025.
17. Galbe, M. Zacchi, G. (2002) A review of the production of ethanol from softwood. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59, 618-628.
18. Glasser W. G., Wright, R. S. (1998) Steam-assisted biomass fractionation. II. Fractionation behavior of various biomass resources. *Biomass and Bioenergy*, 14, 219-235.
19. Gregg, D., Saddler, J. N. (1996). A techno-economic assessment of the pretreatment and fractionation steps of a biomass-to-ethanol process. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 57/58, 711-727.
20. Grohmann, K., Cameron, R.G., Buslig, B.S. (1995) Fermentation of sugars in Orange peel Hydrolysates to Ethanol by Recombinant Escherichia coli K011. *Applied Biochemistry and Biotechnology.* 51. 423-435.
21. Hahn-Hagerdal B, Galbe M, Gorwa-Grauslund MF, Liden G, Zacchi G. Bio-ethanol—the fuel of tomorrow from the residues of today. *Trends Biotechnol* 2006; 24:549–56.
22. Hendricks, A.T.W.M., Zeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. 100, 10–18. Hydrolysis resulting in convertible cellulose and hemicellulose. *Biores. Technol.*, 49, 568-577.
23. Hernández, M. (2012) Deslignificación alcalina de pulpas acetosolv de marabú. Tesis en opción al título de ingeniero químico, Universidad de Matanzas ‘Camilo Cienfuegos’.
24. Hernández, Monzón Aldo. 1995. —Análisis Químico Cuantitativo. Editorial Félix Várela. La Habana. Tomo I. p. 356.
25. Huang, H.J., Ramaswamy, S., Tschirner, U.W., Ramarao, B.V. (2008) A review of separation technologies in current and future biorefineries. *Separation and Purification Technology*, 62, 1–21.

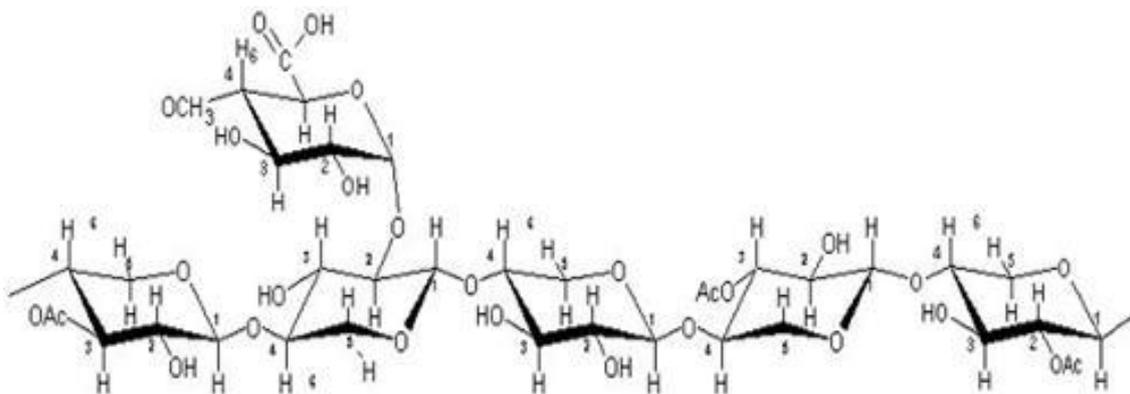
26. IEA (2007). INTERNATIONAL ENERGY AGENCY.
27. Irmene, O. Adela. (2008). "Pretratamiento de la biomasa lignocelulósica para la producción de biocombustibles: Aspectos Técnicos y Económicos". México D.F.
28. Jiang, Z., Yang, Z., So, C., Hse, C. (2007) Rapid prediction of wood crystallinity in *Pinus elliotii* plantation wood by near-infrared spectroscopy. *The Japan wood research society*.
29. Laser, M., Schulman, D., Allen, S. G., Lichwa, J., Antal, M. J., Lynd, L. R. (2002) A comparison of liquid hot water and steam pretreatment of sugarcane bagasse for bioconversion to ethanol. *Bioresource Technol.*, 81, 33-44.
30. Leonovich, A.I.; Obolenskaia A.V., 1988. Khimija drevesiny y polimerov. Lesnaja Promyshlennost. Leningrod.
31. López, Y., Gullon, B. Puls, J., Parajo, J.C., Martín C. *Dilute-acid pretreatment of starch-containing rice hulls for ethanol production*. *Holzforschung* 2011, 65, 467-473.
32. Macedo, I.D. (1998) Greenhouse gas emissions and energy balances in bio-ethanol production and utilization in Brazil. *Biomass and Bioenergy*, 14, 1, 77-81.
33. Martín, C. (2002). Tesis Doctoral, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química Mecánica, Universidad de Matanzas, Matanzas, Cuba.
34. Mes-Hartree, M., Saddler, J. N. (1983). The nature of inhibitory materials present in pretreated lignocellulosic substrates which inhibit the enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnol. Lett.* 5, 531-536.
35. Moiser, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M. Ladisch, M., (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* 96, 673–686.
36. Nuñez, A. (1983) Introducción al análisis orgánico. Editorial Pueblo y Educación. Ciudad de la Habana.
37. Oconnell, J; Meaney, W. 1997. Comparison of shredded newspaper and sawdust as bedding for dairy cows: Behavioural, clinical and economic parameters. *Irish Veterinary Journal* 50 (3):167 - 170.

38. Palmqvist, E., Hahn- Hägerdal, B., Galbe, M. and Zacchi, G. (1996). The effect of water- soluble inhibitors from steam- pretreated willow on the enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. *Enzyme Micro. Technol.* 19, 470- 479
39. Pérez, J., Muñoz-Dorado, J., de la Rubia T. & Martínez, J. 2002. *Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview*. *International Microbiology: Official Journal of the Spanish Society for Microbiology*, 5 (2): 53-63.
40. Prasad S, Singh A, Joshi HC (2007) Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. *Resources, Conservation and Recycling* 50, 1–39
41. Rafiqul, I.S.M.; Mimi Sakinah, A.M. (2012) Design of process parameters for the production of xylose from wood sawdust. *Chemical Engineering Research and Design*. Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering, Universiti Malaysia Pahang, 26300 Kuantan, Pahang, Malaysia
42. Rapado, J. 2011 Fraccionamiento de la cáscara de *Jatropha Curcas L* mediante pretratamiento ácido diluido e hidrólisis enzimática para la producción de etanol celulósico. Tesis en opción al título de ingeniero químico, Universidad de Matanzas ‘Camilo Cienfuegos’.
43. Sánchez, G., Pilcher, L. (2004) Dilute-acid hydrolysis for fermentation of the Bolivian straw material Paja Brava. *Bioresour Technol.* 93, 249-256.
44. Schurz, J. (1997) How to make native lignocellulosic materials accessible to chemical and microbial attack. *Proc. Bioconversion. Symp. IIT Delphi*, 37-58.
45. Sjöström, E. (1993) *Wood Chemistry: Fundamentals and applications*. 2nd edition. Academic Press, San Diego.
46. Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., Crocker, D. (2003c) Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP). Technical Report NREL/TP-510-42618. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado.
47. Soudham, V.P., Rodríguez, D., Rocha, G.J.M., Taherzadeh, M.J., Martín, C. (2011) Acetosolv delignification of marabou (*Dichrostachys cinerea*)

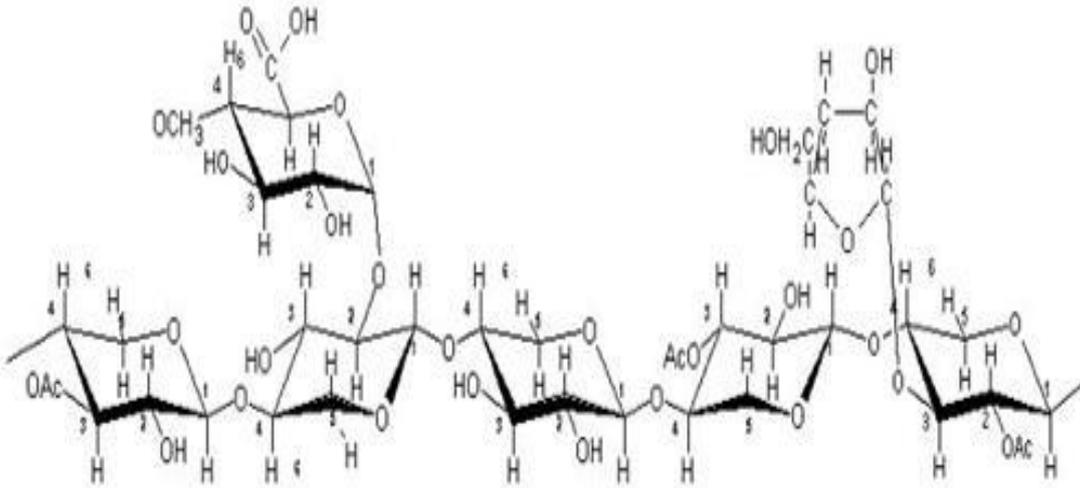
- wood with and without acid prehydrolysis. *Forestry Studies in China* 13, 63-70.
48. Stewart, D., Azzini, A., Hall, A. & Morrison, I. M. 1997. *Sisal fibers and their constituent noncellulosic polymers*. *Industrial Crops and Products*, 6: 17-26.
49. Sun, Y., Cheng, J. (2002) Hydrolysis of the lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technol.*, 83(1), 1-11.
50. Taherzadeh, M. J., Karimi, K. (2008) Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. *International Journal of Molecular Sciences* 9, 1621-1651.
51. Taherzadeh, M.J., Karimi K. (2007) Enzyme based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. *BioResources*. 2, 707- 738.
52. Triana, R. (2011) Deslignificación alcalina de marabu pretratado con lícero. Tesis en opción al título de ingeniero químico, Universidad de Matanzas 'Camilo Cienfuegos'.
53. Vegas, R., Alonso, J. L., Domínguez, H. & Parajó, J. C. 2004. *Processing of rice husk autohydrolysis liquors for obtaining food ingredients*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 7311-7317.
54. Wyman, C.E. (1999) Ethanol from lignocellulosic biomass: Technology, economics, and opportunities. *Bioresource Technol.* 50 3-16.
55. Yúfera, P. E. (2002). —Química Orgánica básica y aplicada. Editorial Reverte. S.A. Universidad.
56. Zeng, M., Mosier, N.S., Huang, C.P., Sherman, D.M., Ladisch, M.R. (2007) Microscope examination of changes of plant cell structure in corn stover do to hot water pretreatment and enzymatic hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 97, 265-278.
57. Zheng, Y., Ling, H., Tsao, G.T. (1998) Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion. *Biotechnol. Prog.*, 14, 890-896. Politécnica de Valencia, España. Tomo I. Pág. 801.
58. Rosabal Vega, Julio M. y Valles Matos, Manuel. (2006). Hidrodinámica y Separaciones Mecánicas. Editorial Félix Varela. La Habana. tomo I y II pp 317.

## Anexos

### Anexo 1. Xilano de maderas duras (Glucuronoxilano).



**Anexo 2.** Xilano de maderas blandas (*Arabinofuranosa Glucoronoxilano Galactoglucomanano (Mayoritario)*).



**Anexo 3. Tabla resumen de los datos del diseño de experimento**

Tabla 1: Resumen del diseño de experimento

Tipo de diseño	Superficie Respuesta			
Nombre del diseño	Box-Behnken			
Número de factores del experimento	3			
Número de bloques	3			
Número de respuesta	1			
Número de corridas	45	Alto	Bajo	Continuas
Factores	Tiempo	120	10	si
	Conc	12	2	si
	RSL	20	8	si

**Anexo 4** Tablas del análisis de varianza

Tabla 2: Análisis de varianza para el contenido de Lignina.

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Coef.-F	P-Valor
Entre Grupos	2,77314	2	1,38657	0,77	0,4784
Dentro Grupos	26,8443	15	1,78962		
Total (Corregido)	29,6175	17			

Tabla 3: Análisis de varianza para el contenido de Humedad.

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Coef.-F	P-Valor
Entre Grupos	0,0046333	2	0,0231667	1,19	0,3310
Dentro Grupos	0,0291667	15	0,00194444		
Total (Corregido)	0,0338	17			

Tabla 4: Análisis de varianza para la concentración de ART.

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Coef.-F	P-Valor
Entre Grupos	0,0300627	2	0,0150313	3,41	0,0602
Dentro Grupos	0,066123	15	0,0044082		
Total (Corregido)	0,0961857	17			

**Anexo 5** Tablas de los datos para el cálculo de la caracterización de la materia.

Tabla 5: Determinación del contenido de Humedad.

Réplicas	Pc	Pm	Pc+m	% ST	% Humedad	
1	34,6203	1,0000	35,5577	93,74	6,260	Promedio
2	36,5053	1,0029	37,4456	93,76	6,242	<b>6,25</b>
3	37,913	1,0012	38,8515	93,74	6,262	

Donde:

Pc -- Peso del crisol.

Pm – Peso de la muestra.

Pc+m – Peso del crisol mas la muestra.

% ST – Por ciento de sólidos totales.

Tabla 6: Determinación del contenido de Cenizas.

Réplicas	Pc	Pm	Pc+m	%Cenizas	
1	30,683	0,9381	30,7417	6,67	Promedio
2	30,4349	0,9375	30,4937	6,69	<b>6,66</b>
3	31,4463	0,9381	31,5045	6,62	

Tabla 7: Determinación del contenido de extractivos totales en etanol.

Réplicas	Pd	Pm	Pb	Pb+Pd+Pm	MS	% ET	
1	3,9389	6.0005	41.6432	50.8678	5.63	6.04	Promedio
2	3,6812	6.0006	40.5878	49.5441	5.63	6.23	<b>6,13</b>
3	3,7345	6.0003	40.5462	49.5615	5.63	6.12	

Donde:

Pd – Peso del dedal.

Pb – Peso del beaker.

MS – Materia seca

% ET –Por ciento de extractivos totales.

## Continuación del anexo 5

*Tabla 8: Determinación del contenido de Polisacáridos fácilmente hidrolizables*

Muestra	Ppfiltro	P.Muestra (a)	Ppf+M. (d)	%PFH	
1	1,4704	1,8743	2,9343	21,89	Promedio
2	1,4676	1,8746	2,9301	21,98	<b>21,88</b>
3	1,4724	1,8743	2,9387	21,77	

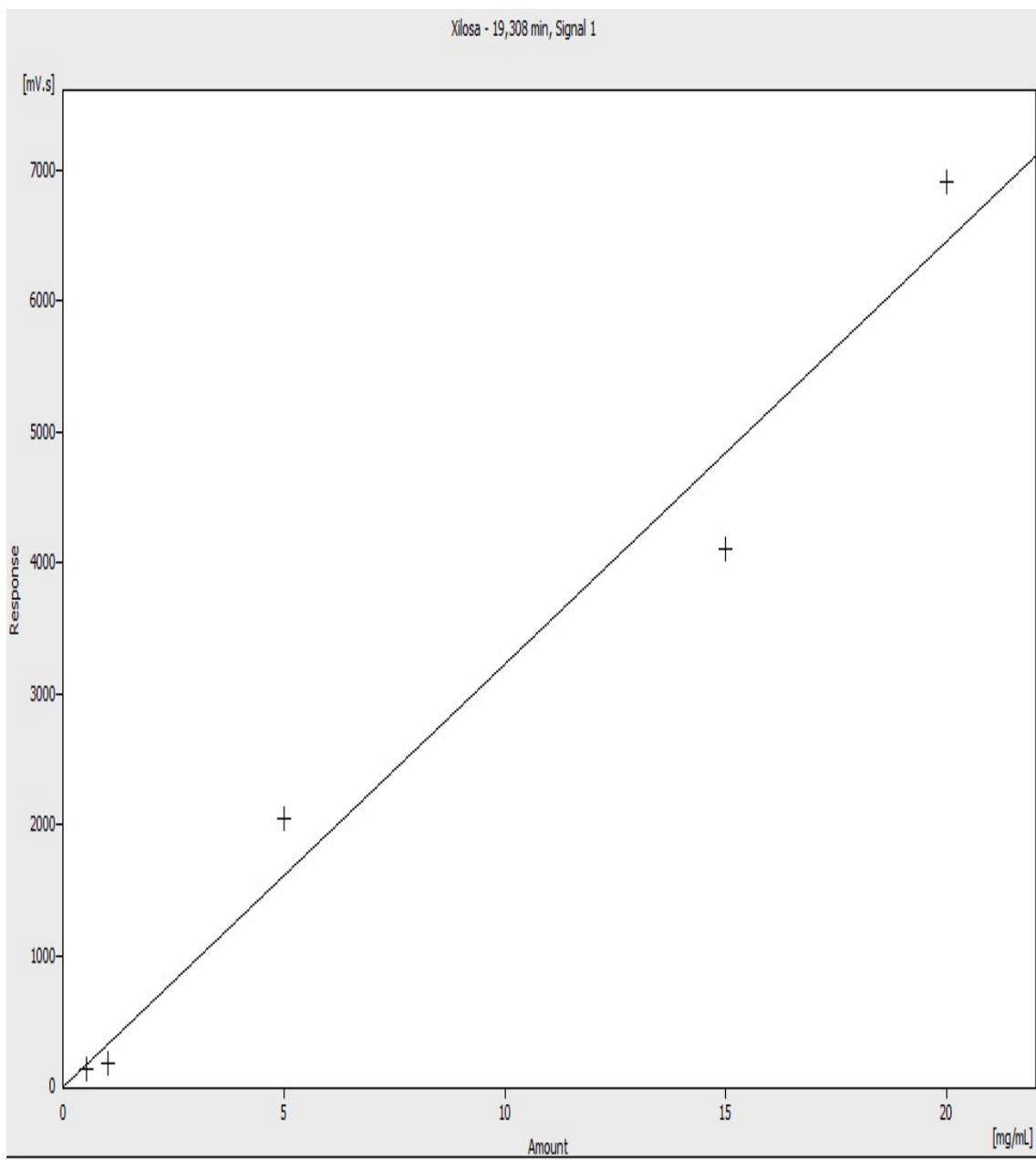
*Tabla 9: Determinación del contenido de Polisacáridos difícilmente hidrolizables*

Muestra	Peso Muestra(a)	P. Fritas (a)	PM+PF (d)	%PDH	
1	1,4639	22,7905	23,3189	49,91	Promedio
2	1,4625	22,0547	22,5812	49,93	<b>50,04</b>
3	1,4663	32,101	32,6249	50,28	

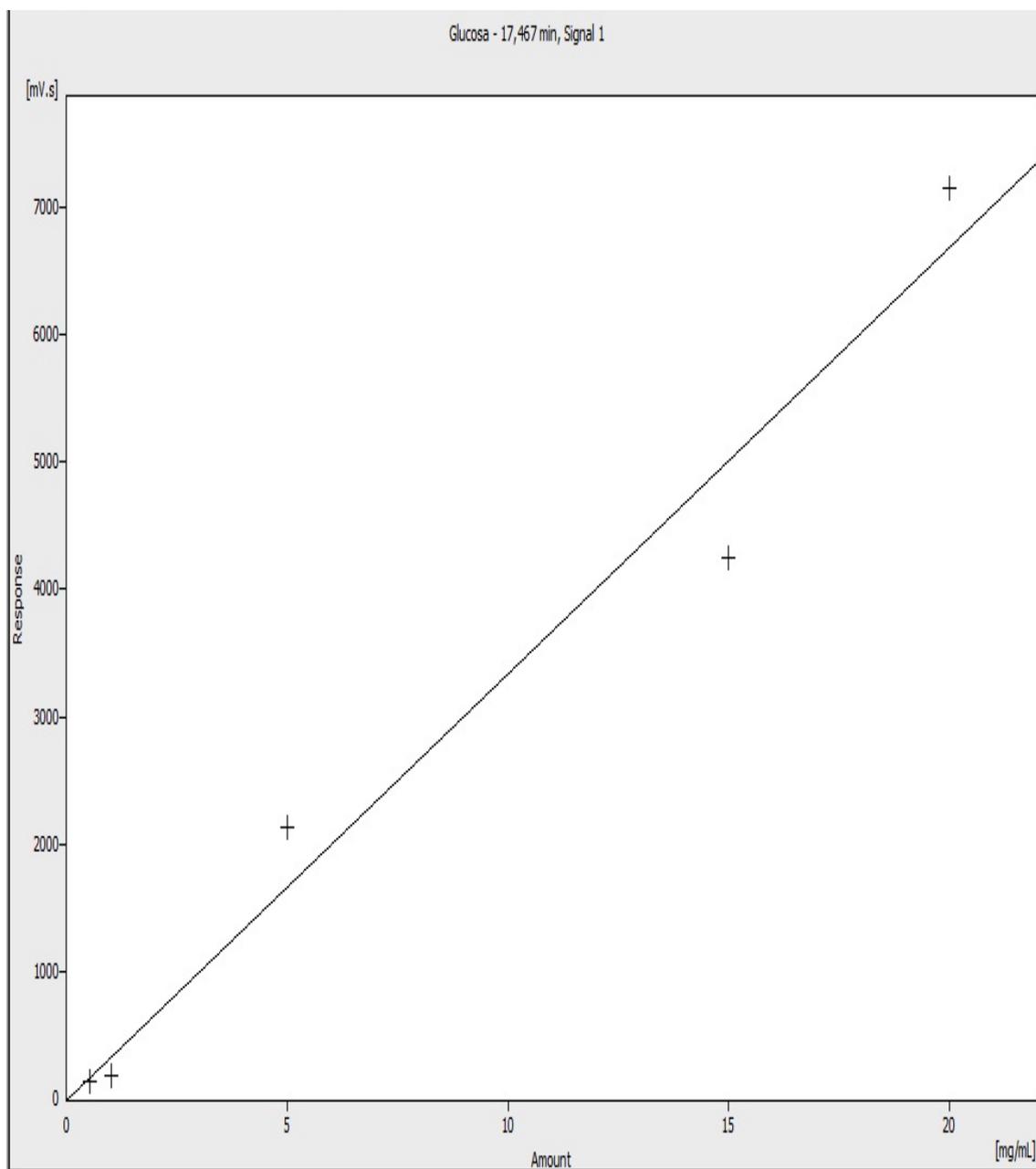
*Tabla 10: Determinación del contenido de Lignina Klason*

Muestra	P. Muestra	P. Muestra (f)	%Lig. Klason	
1	1,8743	0,5284	28,19	Promedio
2	1,8746	0,5265	28,09	<b>28,08</b>
3	1,8743	0,5239	27,95	

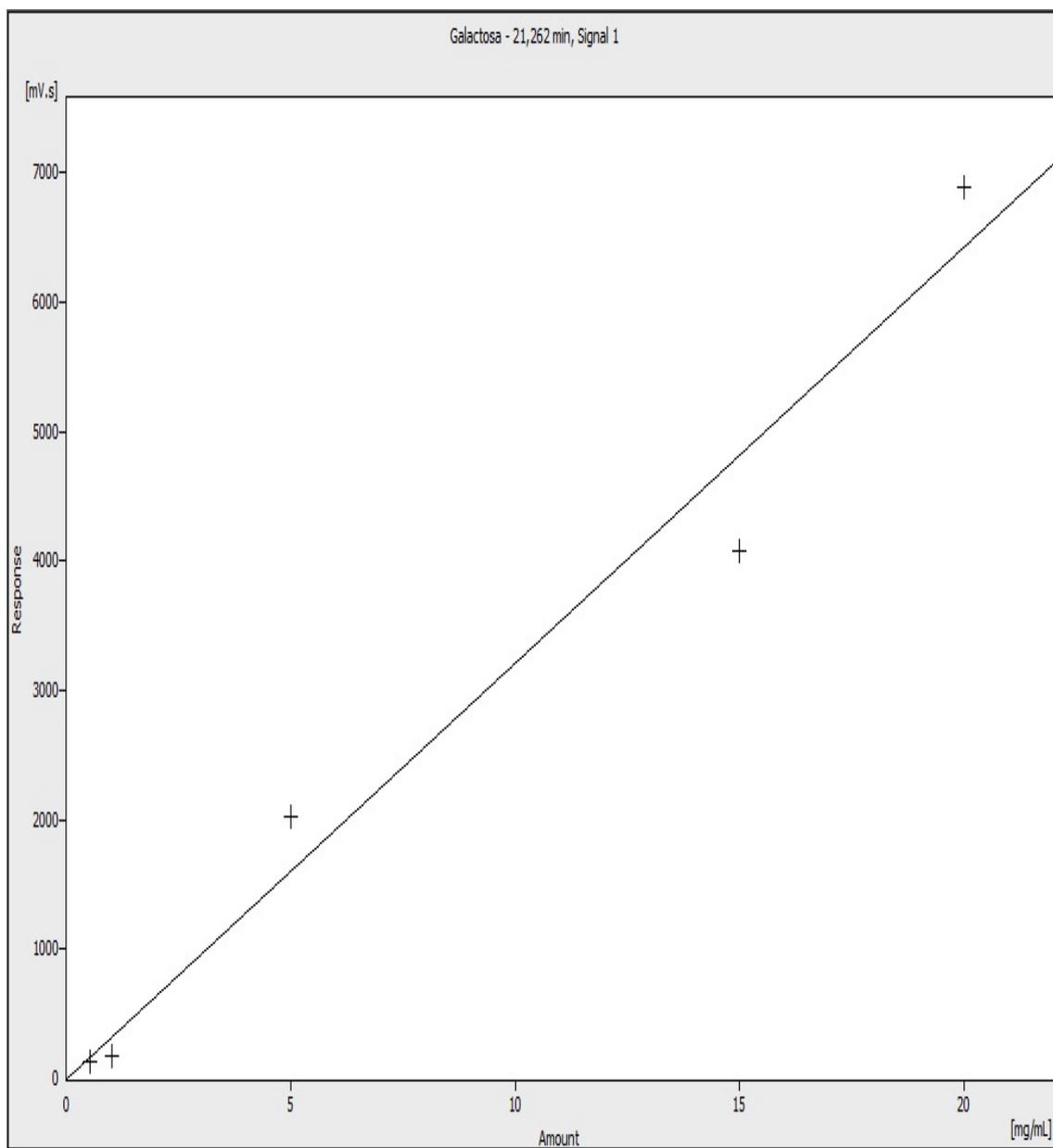
**Anexo 6:** Curva patrón para la determinación del contenido de xilosa por cromatografía líquida (HPLC).



**Anexo 7:** Curva patrón para la determinación del contenido de glucosa por cromatografía líquida (HPLC).



**Anexo 8:** Curva patrón para la determinación del contenido de galactosa por cromatografía líquida (HPLC).



**Anexo 9: Tabla de resultados del pretratamiento ácido diluido**

BLOCK	Tiempo (min)	Concentración H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	RSL (%)	% RS
1	10	2	14	90,90
1	120	2	14	80,46
1	10	12	14	79,62
1	120	12	14	71,77
1	10	7	8	66,27
1	120	7	8	79,76
1	10	7	20	84,16
1	120	7	20	75,20
1	65	2	8	88,78
1	65	12	8	80,02
1	65	2	20	74,53
1	65	12	20	76,69
1	65	7	14	79,09
1	65	7	14	79,54
1	65	7	14	79,71
2	10	2	14	90,67
2	120	2	14	80,61
2	10	12	14	79,57
2	120	12	14	71,47
2	10	7	8	66,89
2	120	7	8	80,00
2	10	7	20	84,65
2	120	7	20	75,41
2	65	2	8	89,07
2	65	12	8	79,78
2	65	2	20	74,67
2	65	12	20	75,31
2	65	7	14	79,34
2	65	7	14	79,94
2	65	7	14	80,01
3	10	2	14	91,05
3	120	2	14	80,53
3	10	12	14	79,88
3	120	12	14	70,55
3	10	7	8	66,13
3	120	7	8	80,27
3	10	7	20	84,91
3	120	7	20	75,09
3	65	2	8	88,93
3	65	12	8	79,07
3	65	2	20	74,99
3	65	12	20	76,05
3	65	7	14	79,85
3	65	7	14	79,24
3	65	7	14	79,36