

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



Trabajo de Diploma en opción al título de
Ingeniero Químico

“Deslignificación alcalina de pulpas acetosolv de marabú”

Autor: Majela Hernández Rivero

Tutor: MSc. Dani Jesús Rodríguez Álvarez

Matanzas, Junio, 2012.

Nota de aceptación

Presidente del Tribunal

Firma

Miembro del Tribunal

Firma

Miembro del Tribunal

Firma

Miembro del Tribunal

Firma

CIUDAD

FECHA

Declaración de autoridad

Declaro ser la única autora de este trabajo de diploma que lleva como título: "*Deslignificación alcalina de pulpas acetosolv de marabú*", y autorizo a la Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos" a hacer uso del mismo con la finalidad que estime conveniente. Autorizo para su consulta a todo aquel que la necesite, quedando prohibida la reproducción total o parcial de este documento.

Firma

Pensamiento

“Nunca considere el estudio una obligación, sino una oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber.”

Albert Einstein

Dedicatoria

Dedico este trabajo de Diploma a tres personas muy importantes en mi vida, a mi madre Eulalia Rosa Rivero Alemán, a mi padre Rafael Hernández Nodarse y a mi segunda madre Elvis Méndez Bello.

Agradecimientos

- ❖ A mis padres por ser incondicionales y apoyarme siempre en mi superación académica.
- ❖ A tata Elvis por ser una de las personas que ha estado siempre a mi lado aconsejándome y por ser un ejemplo a seguir.
- ❖ A mi hermana Loli, a mi cuñado Roniel y a mi tati Mélangy por los momentos de felicidad que hemos vivido juntos.
- ❖ A mi familia por brindarme siempre su amor y comprensión.
- ❖ A mami Elia, a papi Rigoberto y a mi tío Nieves por acogerme cuando más lo necesité.
- ❖ A mi tutor MSc. Dani Rodríguez por ofrecerme de manera incondicional su apoyo, por brindarme sus conocimientos y experiencia, por su paciencia, muchísimas gracias.
- ❖ A todos mis compañeros de aula por ayudarme a cumplir todas mis metas y en especial a Claudia, Samuel y Edel porque nunca tuvieron un no por respuesta.
- ❖ Al profesor José Luis Laucerica por compartir sus conocimientos y ayudarme en todo momento siempre que lo necesité y por ser un amigo.
- ❖ A Tania por su paciencia y apoyo.
- ❖ A los profesores Ariel, Michael y Yoney por brindarme su ayuda y experiencia siempre que la necesité.
- ❖ A Jorge Rapado Moreno por ser un amigo y porque sin él no hubiera sido posible la culminación de este trabajo.
- ❖ Quisiera agradecerles a todas aquellas personas que de una forma u otra me ayudaron a lo largo de mi carrera.

Resumen

La producción de etanol a partir de materiales lignocelulósicos (MLC) es una importante alternativa a la producción tradicional a partir de materias primas azucaradas y amiláceas. Entre las materias primas que encontramos en Cuba, una de mucho interés es el marabú (*Dichrostachys cinerea*), planta invasora que cubre grandes extensiones del área cultivable de la Isla, y cuya erradicación generará grandes cantidades de biomasa lignocelulósica que podría ser considerada para la producción de etanol y otros productos de alto valor agregado. Para esto, se realizó un análisis completo de la composición química de la biomasa de marabú, determinando sus componentes, tales como lignina (29,07%), hemicelulosas (17,93%), celulosa (43,73%), minerales (2,76%) y sustancias extractivas (5,37%). En este trabajo se realizaron dos etapas de pretratamiento químico de deslignificación: un pretratamiento acetosolv con ácido acético al 95% y 0,2 % de ácido clorhídrico como catalizador, donde se obtuvo 88,55% de rendimiento de sólidos, lográndose un 61,23% de solubilización de la lignina; una segunda etapa de deslignificación alcalina con hidróxido de sodio, para lo cual se realizó un diseño de experimentos con el auxilio del software *STATGRAPHICS Plus versión 5.0 para Windows*, obteniéndose como resultado pulpas enriquecidas en celulosa y un aumento en el grado de deslignificación, mostrando que en el segundo experimento realizado con 2,5% de hidróxido de sodio, a 100°C de temperatura y con una duración de 90 minutos, se obtuvo una pulpa con 80,23% de celulosa, 15,27% de hemicelulosas y 4,49% de lignina. Se comprobaron las potencialidades de la convertibilidad enzimática de la biomasa de marabú para ser utilizada como materia prima para la obtención de etanol y otros productos con un alto valor agregado, con más de 50 % de convertibilidad en todos los casos. Finalmente, se efectuó el diseño mecánico de un reactor para la deslignificación acetosolv de la biomasa de marabú.

Abstract

The production of ethanol using lignocellulosic materials is an important alternative to the traditional way of producing ethanol from sugars and starch. Among raw materials that are available in Cuba, one of high interest is the marabou (*Dichrostachys cinerea*); invasive plant, which is covering big extensions of arable areas in the country and it could be useful for producing bioethanol and others chemicals with high added value. A complete chemical analysis was performed to know the chemical composition of marabou biomass, as a result, the chemical analysis show that main components of this material are lignin (29,07%), hemicelluloses (17,93%), cellulose (43,73%), minerals (2,76%) and extractives (5,37%). In this research work was apply chemical pretreatment of delignification in two steps: the first one was the delignification of marabou wood by acetosolv process with 95 % acetic acid, as delignification agent in the presence of 0,2 % of hydrochloric acid with liquid-solid relation 9:1. As a result of this first step was achieved 88,55 % yield of solids, and the solubilization of lignin reached 61,23 %. The second step was an alkaline delignification of marabou wood by sodium hydroxide, to fulfill this stage was made an experimental design, using a professional software STATGRAPHICS Plus version 5.0 for Windows, as a result of this step were obtaining pulps enriched in cellulose and an increase in the degree of delignification process. The best result was achieved in the second experiment with 2,5 % of sodium hydroxide concentration, at the temperature of 100°C and 90 minutes of reaction time. In the above described experiment was obtained a pulp with 80,23 % of cellulose, 15,27 % of hemicelluloses and 4,49 % of lignin. The enzymatic convertibility of pretreated marabou biomass was over 50 % in all the cases, which confirm this material as a potential one for production of ethanol and others chemicals with high added value. At the end of this work was performed a mechanical design of the reactor for acetosolv delignification of marabou biomass.

Índice

Introducción.....	1
Capítulo 1: Análisis bibliográfico.....	3
1. Fundamentos teóricos.	3
1.1. Los combustibles fósiles.	3
1.1.1. Los combustibles fósiles y el medio ambiente.	4
1.2. Los biocombustibles	6
1.2.1. Materias primas utilizadas en la producción de biocombustibles.	7
1.2.2. Biocombustibles de primera generación.	9
1.2.3. Biocombustibles de segunda generación.	9
1.2.4. Los biocombustibles y el medio ambiente.	10
1.3. Producción de etanol.	11
1.3.1. Materias primas utilizadas en la producción tradicional de etanol.	12
1.3.1.1. Procesos industriales de la producción tradicional de etanol.	12
1.3.2. Materias primas utilizadas en la producción de bioetanol.	13
1.3.3. El etanol como combustible.	14
1.3.4. Producción de etanol a partir de la biomasa lignocelulósica.	15
1.3.4.1. Procesos industriales en la producción de bioetanol.	17
1.4. Materiales lignocelulósicos.	18
1.4.1. Composición química de los materiales lignocelulósicos.	18
1.4.2. Celulosa	19
1.4.2.1. Estructura molecular de la celulosa.	19
1.4.2.2. Función de la celulosa.	20
1.4.3. Hemicelulosas	20
1.4.4. Lignina.	21
1.4.4.1. Estructura química de la lignina	22
1.4.4.2. Enlaces lignina-carbohidratos	22
1.4.5. Extractivos.	23
1.5. Métodos de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica.	24
1.5.1. Métodos físicos de pretratamiento	25
1.5.2. Métodos químicos de pretratamiento	26

1.5.3. Métodos físico-químicos de pretratamiento.....	27
1.5.4. Métodos biológicos de pretratamiento.....	29
1.6. Pretratamiento organosolv.....	30
1.6.1. Pretratamiento acetosolv.....	31
1.6.2. Hidrólisis alcalina.....	32
1.7. Hidrólisis enzimática.....	32
1.8 .Características del árbol de <i>Dischostachys cinerea</i> (marabú).....	33
1.8.1. Usos de <i>Dichrostachys cinerea</i>	34
1.9. Evaluación económica del proceso acetosolv de la biomasa de <i>Dischostachys cinérea</i>	35
1.10. Conclusiones parciales.....	37
Capítulo 2: Materiales y Métodos.....	38
2.1. Etapas de la Investigación.....	38
2.2. Materia prima.....	38
2.2.1. Caracterización de la materia prima.....	39
2.2.2. Determinación de la humedad.....	39
2.2.3. Determinación de cenizas.....	40
2.2.4. Determinación de extractivos.....	40
2.2.5. Hidrólisis ácida analítica (HAA) y determinación de la lignina de Klason.....	41
2.2.6. Determinación de azúcares reductores totales (ART).....	42
2.2.7. Determinación cromatográfica de los azúcares.....	43
2.3. Pretratamiento acetosolv.....	44
2.3.1. Parámetros de caracterización físico-química para las pulpas sólidas obtenidas en el pretratamiento acetosolv.....	44
2.3.2. Parámetros de caracterización físico-química para los licores producidos en el pretratamiento acetosolv.....	45
2.4. Diseño estadístico en la etapa de deslignificación adicional con hidróxido de sodio.....	45
2.4.1. Parámetros de caracterización físico-química para las pulpas sólidas obtenidas en pretratamiento adicional con hidróxido de sodio.....	45

2.4.2. Parámetros de caracterización físico-química para los licores producidos en el pretratamiento adicional con hidróxido de sodio	46
2.4.3. Hidrólisis enzimática.....	46
2.5. Descripción de la metodología de cálculo empleada para el diseño del reactor.....	47
2.5.1. Parámetros principales para el cálculo.....	47
2.5.2. Presión	47
2.5.3. Temperatura.....	48
2.5.4. Material de construcción	48
2.5.5. Tensiones admisibles de los aceros.....	49
2.5.6. Módulo de elasticidad longitudinal.....	49
2.5.7. Coeficiente de resistencia de las uniones soldadas	49
2.5.8. Cálculo de los sobreespesores.	49
2.5.9. Cálculo de los tambores cilíndricos cargados con la presión interior. ...	50
2.5.10. Selección de bridas.....	50
2.5.11. Mezclado y Agitación.	51
2.5.12. Selección de la paleta.	51
2.5.13. Cálculo de la potencia necesaria para mover el fluido.	52
2.5.14. Soportes del aparato.	53
2.5.15. Cálculo del aislante térmico	53
Capítulo 3: Análisis de los Resultados	56
3.1. Composición de la materia prima.	56
3.2. Pretratamiento acetosolv.	58
3.3. Deslignificación adicional con hidróxido de sodio.	59
3.4. Caracterización de los licores obtenidos después de los pretratamientos de deslignificación acetosolv y deslignificación adicional	64
3.5. Hidrólisis enzimática	65
3.6. Diseño mecánico de un reactor para la deslignificación acetosolv de la biomasa de marabú	66
3.6.1. Cálculo de las dimensiones del reactor.....	66
3.6.2. Parámetros principales para el cálculo.....	67

3.6.3. Determinación de las temperaturas y presiones calculadas	68
3.6.4. Selección del material	68
3.6.5. Determinación de la tensión admisible.....	68
3.6.6. Módulo de elasticidad longitudinal del acero	69
3.6.7. Determinación de las presiones de prueba	69
3.6.8. Coeficiente de resistencia de las uniones soldadas	69
3.6.9. Cálculo del sobreespesor	69
3.7. Cálculo de los fundamentales cuerpos del aparato	70
3.7.1. Cálculo del tambor cilíndrico cargado con la presión interior	70
3.7.2. Cálculo de la Tapa y Fondo	71
3.8. Selección de Bridas	72
3.9. Mezclado y Agitación.....	72
3.9.1. Selección de la paleta.	73
3.9.2. Cálculo de la potencia necesaria para mover el fluido	73
3.10. Cálculo de la manta de calentamiento	74
3.10.1. Cálculo del tambor cilíndrico cargado con la presión atmosférica	74
3.10.2. Cálculo del fondo semiesférico a presión atmosférica	75
3.11. Selección y cálculo de los soportes.	76
3.12. Cálculo del espesor necesario para el aislamiento térmico	77
Conclusiones.....	79
Recomendaciones.....	80
Referencias bibliográficas	81

Introducción

La necesidad de reducir la dependencia mundial de los combustibles fósiles representa para la humanidad un gran reto. Hasta la actualidad la utilización de energías alternativas se ha visto frenada por dificultades tecnológicas y medioambientales (Galbe, 2002).

Como el consumo global de energía crece cada año, el desarrollo de ciertas fuentes alternativas de energía se hace cada vez más importante.

Las principales fuentes para la producción de etanol son materias primas amiláceas y azucaradas, lo que ha generado una competencia con la producción de alimentos (Taylor, 2008; Wyman, 2008). La búsqueda de materias primas alternativas es imprescindible para evitar la conversión de alimentos en biocombustibles. Entre las alternativas de interés se encuentran los materiales lignocelulósicos, los cuales constituyen fuentes renovables muy abundantes y ricas en carbohidratos, por lo que pueden ser utilizados en la producción de etanol y de otros derivados químicos de alto valor agregado (Conner y Lorenz, 1986).

Durante las últimas décadas, la agricultura cubana ha estado seriamente afectada por la infestación de sus campos por el marabú (*Dichrostachys cinerea*), planta invasora que ha ocupado extensas áreas a lo largo y ancho del país (Moyroud, 2000; Wakeling *et al.*, 2007). Actualmente, el estado cubano ha comenzado un programa nacional para la eliminación del marabú. Este programa puede generar una enorme acumulación de biomasa, la cual sería subutilizada si su único uso fuese como combustible sólido (leña o carbón). Recientemente se demostró que el marabú presenta altos contenidos de celulosa y lignina, y cantidades considerables de hemicelulosas, además de sustancias extractivas y minerales (Rodríguez, 2011, Soudham *et al.*, 2011, Triana, 2011), genera cantidades de biomasa que constituyen una materia prima no despreciable si es mirada desde el punto de vista del concepto de biorrefinerías.

Entre los métodos utilizados con el fin de lograr la separación de sus principales componentes y procesar a cada uno de ellos para la obtención de derivados específicos, se encuentran la prehidrólisis con ácidos diluidos y los

pretratamientos organosolv, los cuales utilizan disolventes orgánicos, como alcoholes, cetonas, aminas, glicoles, ésteres, peróxidos y ácidos, para separar los componentes de los materiales lignocelulósicos.

El ácido acético ha sido utilizado como disolvente orgánico para fraccionar diversos materiales lignocelulósicos, incluyendo maderas blandas, duras y bagazo de caña (Parajó *et al.*, 1993). Se han realizado trabajos previamente sobre tratamiento acetosolv de biomasa de marabú en la Universidad de Matanzas (Rodríguez *et al.*, inédito) no lográndose altos valores de convertibilidad enzimática, lo cual fue atribuido al alto contenido de lignina remanente en las pulpas. Permitted formular el siguiente problema científico:

Problema de la Investigación: *¿Cómo se puede reducir el contenido de lignina en pulpas de acetosolv, el cual afecta el proceso de convertibilidad enzimática?*

Como vía de solución al problema en cuestión se plantea la siguiente

Hipótesis de trabajo:

Si aplicamos un proceso de deslignificación adicional con disoluciones de hidróxido de sodio, entonces se logrará reducir el contenido de lignina en pulpas de acetosolv.

Teniendo en cuenta los aspectos anteriores el presente trabajo tiene como

Objetivo General:

Aplicar una deslignificación adicional con hidróxido de sodio que permita reducir el contenido de lignina en pulpas de acetosolv.

Para dar cumplimiento al objetivo general se formulan los siguientes **Objetivos**

Específicos:

- Determinar la composición química de la biomasa de marabú.
- Investigar el efecto de la deslignificación adicional con hidróxido de sodio de las pulpas obtenidas en el pretratamiento acetosolv.
- Determinar la convertibilidad enzimática de las pulpas obtenidas en la deslignificación alcalina adicional.
- Diseñar mecánicamente un reactor para la deslignificación acetosolv de la biomasa de marabú.

Capítulo 1: Análisis bibliográfico.

1. Fundamentos teóricos.

1.1. Los combustibles fósiles.

Los combustibles fósiles son recursos no renovables; los mismos se encuentran en cantidad limitada en el planeta, por tanto con el tiempo terminarán desapareciendo ya que conforman un sistema en el que solo hay salidas por gasto, y ninguna entrada, puesto que la mayoría de estos recursos se originan por la acción de los agentes geológicos internos y por tanto su síntesis es extremadamente lenta, lo que origina que su tasa de consumo sea muy superior a su tasa de síntesis, lo cual los convierte en algo limitado (Tester *et al.*, 2005). Dentro de este grupo de recursos podemos encontrar:

El petróleo: este se formó debido a la muerte masiva y precipitación del placton marino sobre el lecho del océano, compuesto por arenas y arcillas, con el paso del tiempo las arenas y arcillas se convirtieron en rocas sedimentarias y la materia orgánica se convirtió en petróleo tras sufrir un proceso de fermentación (Tester *et al.*, 2005).

El carbón: se forma a partir de la materia orgánica de origen vegetal acumulada en el fondo de lagos o deltas, donde esta queda sometida a condiciones anóxicas lo cual impide su destrucción por microorganismos aerobios. Se diferencian tres tipos de carbón: lignito, hulla y antracita (Smil, 2003).

El gas natural: está formado por una mezcla de gases ligeros que se encuentran frecuentemente en yacimientos de petróleo, disuelto o asociado con el mismo o en depósitos de carbón (Tester *et al.*, 2005).

Los combustibles fósiles son los principales recursos energéticos empleados por el ser humano en la actualidad, puesto que liberan por combustión una gran cantidad de energía, la cual puede ser empleada para diversos fines (Smil, 2003).

1.1.1. Los combustibles fósiles y el medio ambiente.

Uno de los principales inconvenientes de los combustibles fósiles es su elevadísima emisión de gases contaminantes como el dióxido de carbono, los óxidos de nitrógeno, y los óxidos de azufre, que suelen formarse en los procesos de combustión de estos combustibles, provocando estas emisiones aumentos en la temperatura global, alteraciones del clima, lluvias ácidas, entre otros efectos perniciosos que justifican los esfuerzos llevados a cabo para limitar su uso (Rivero, 2000).

Se denomina efecto invernadero al proceso por el que ciertos gases de la atmósfera retienen gran parte de la radiación infrarroja emitida por la Tierra y la remiten de nuevo a la superficie terrestre calentando la misma. Estos gases han estado presentes en la atmósfera en cantidades muy reducidas durante la mayor parte de la historia de la Tierra. Aunque la atmósfera seca está compuesta prácticamente por Dinitrógeno (78,1%), Dioxígeno (20,9%) y Argón (0,93%), además por gases muy minoritarios en su composición como el dióxido de carbono (0,035%: 350 ppm), el ozono y otros. Además, la atmósfera contiene vapor de agua (1%: 10.000 ppm), que también es un gas relativamente activo, siendo el gas natural con efecto invernadero más importante (Rivero, 2000). El Dióxido de carbono ocupa el segundo lugar en importancia (Erickson, 1992). Actualmente el Dióxido de carbono presente en la atmósfera está creciendo de modo no natural por la actividad antrópica, principalmente por la combustión de carbón, petróleo y gas natural, que está liberando el carbono almacenado en estos combustibles fósiles en forma de Dióxido de carbono. Del total emitido solo el 45% permanece en la atmósfera, el 30% es absorbido por los océanos y el restante 25% pasa a la biosfera terrestre. Por tanto no solo la atmósfera está aumentando

su concentración de Dióxido de carbono, también está ocurriendo en los océanos y en la biosfera.

Los gases de efecto invernadero permanecen activos en la atmósfera mucho tiempo, por eso se les denomina de larga permanencia. Eso significa que los gases que se emiten hoy permanecerán durante muchas generaciones produciendo el efecto invernadero. Así del Dióxido de carbono emitido a la atmósfera: el 50% tardará 30 años en desaparecer, un 30% permanecerá varios siglos y el 20% restante durará varios millares de años (Erickson, 1992).

Otra de las consecuencias siniestras que provocan las emisiones de los procesos de combustión de los combustibles fósiles son las denominadas lluvias ácidas que se forman cuando la humedad en el aire se combina con los óxidos de nitrógeno y el dióxido de azufre emitidos por fábricas, centrales eléctricas y vehículos que queman carbón o productos derivados del petróleo (Martínez y Díaz, 2004).

El agua de lluvia normalmente presenta un pH de aproximadamente 5,65 (ligeramente ácido), debido a la presencia del Dióxido de carbono atmosférico, que forma ácido carbónico, H_2CO_3 . Se considera lluvia ácida si presenta un pH menor que 5 y puede alcanzar el pH del vinagre (pH= 3). Estos valores de pH se alcanzan por la presencia de ácidos como el ácido sulfúrico, H_2SO_4 , y el ácido nítrico, HNO_3 (Rivero, 2000). Estos ácidos se forman a partir del Dióxido de azufre, SO_2 , y el Monóxido de nitrógeno que se convierten en ácidos.

El efecto de factores antropogénicos sobre la estabilidad del clima en el planeta Tierra, se ha abordado durante años, al igual que la posible amenaza del cambio climático. En la actualidad el cambio climático ya es una realidad que nos abate. Mediante el período entre los años 1906-2005 la temperatura del planeta aumentó en $0,7^{\circ}C$ (Demirbas, 2007). Se aprecian los efectos de ese aumento en el deshielo de los glaciares, en la elevación del nivel del mar, monzones inusuales y el traslado de los límites de las zonas climáticas (Schneider, 1997).

Las emisiones a la atmósfera de gases de efecto invernadero, son la causa fundamental del incremento de la temperatura, entre los que se encuentran el dióxido de carbono, el metano, los óxidos de nitrógeno y otros (Vilches y Gil, 2003; Lynas, 2004). Como producto de la combustión de fósiles se obtiene un valor considerable del dióxido de carbono emitido a la atmósfera, los cuales son utilizados en el transporte, así como en los sectores industrial y comercial. El consumo mundial de petróleo supera los 30 millardos de barriles por año (von Blottnitz y Curran, 2007; Haggström, 2008).

1.2. Los biocombustibles

Los biocombustibles son combustibles renovables, obtenidos a partir de materias primas orgánicas. Todos ellos reducen el volumen total neto de Dióxido de Carbono que se emite a la atmósfera, ya que lo absorben a medida que crecen las plantaciones, aunque emiten prácticamente la misma cantidad de gases que los combustibles convencionales cuando se queman, pero se produce un proceso de ciclo cerrado (Estevan, 2008).

Algunos biocombustibles, como el biodiesel, el biogás y el bioetanol, ya han irrumpido exitosamente en el mercado. El etanol y el biodiesel pueden sustituir fácilmente a los combustibles convencionales utilizados en el transporte sin muchas modificaciones en las tecnologías actuales de los medios de transportación. En el caso de los combustibles fósiles, la combustión de los biocombustibles genera Dióxido de carbono, sin embargo la contribución a la contaminación atmosférica del mismo derivado de los biocombustibles es mínima, puesto que es utilizado por las plantas para la realización del proceso de fotosíntesis, liberando dioxígeno a la atmósfera y generando las biomoléculas, a partir de las cuales se obtienen los biocombustibles (von Blottnitz y Curran, 2007).

Los biocombustibles son a menudo mezclados con otros combustibles en pequeñas proporciones, 5 o 10%, proporcionando una reducción útil pero limitada de gases de efecto invernadero. En Europa y Estados Unidos, se ha implantado una legislación que exige a los proveedores mezclar biocombustibles hasta unos niveles determinados. Esta legislación ha sido copiada luego por muchos otros países que creen que estos combustibles ayudarán al mejoramiento del planeta a través de la reducción de gases que producen el denominado 'Efecto Invernadero' (Estevan, 2008).

1.2.1. Materias primas utilizadas en la producción de biocombustibles.

Entre las materias primas utilizadas para la producción de biocombustibles se encuentran: especies de uso agrícola tales como el maíz, el trigo, el arroz y la yuca, ricas en carbohidratos, o plantas oleaginosas como la soja, el girasol y las palmas. También se pueden emplear otros materiales, tales como los lignocelulósicos forestales y herbáceos (Estevan, 2008).

El biodiesel es obtenido a partir de semillas oleaginosas, el biogás se produce mediante la digestión anaerobia de residuos, y el etanol es producido a partir de materiales azucarados y amiláceos (von Blottnitz y Curran, 2007).

La biomasa lignocelulósica es muy diversa, incluye la Madera, residuos forestales, yerbas, arbustos, residuos de jardinería y residuos agrícolas entre otras, siendo una fuente de energía renovable, almacenando la energía en los enlaces químicos (McKendry, 2002). Esta fuente de materia prima puede ser procesada químicamente para romper los enlaces químicos y transformar esta energía en biocombustibles, tales como el biodiesel, el bioetanol y el biogás. Una alternativa prometedora es convertir esta abundante biomasa lignocelulósica en bioetanol, sin embargo para romper la estructura compleja de las paredes celulares de las células vegetales y hacer accesible la celulosa a las enzimas es necesario aplicar algún método de pretratamiento (Chang y Holtzapple, 2000).

El biodiésel es un biocombustible que se fabrica a partir de cualquier grasa animal o aceites vegetales, que pueden ser ya usados o sin usar. Se suele utilizar girasol, canola, soja o jatropha, los cuáles, en algunos casos, son cultivados exclusivamente para producirlo. Se puede usar puro o mezclado con gasoil en cualquier proporción en motores diésel. El principal productor de biodiésel en el mundo es Alemania, que concentra el 63% de la producción. Le sigue Francia con el 17%, Estados Unidos con el 10%, Italia con el 7% y Austria con el 3% (Carpintero, 2006).

El sistema más habitual es la transformación de estos aceites a través de un proceso de transesterificación. De este modo, a partir de alcohol metílico, hidróxido sódico (soda cáustica) y aceite vegetal se obtiene un éster que se puede utilizar directamente en un motor diesel sin modificar, obteniéndose glicerina como subproducto. La glicerina puede utilizarse para otras aplicaciones (Carpintero, 2006).

El bioetanol, también llamado etanol de biomasa, es un alcohol que se obtiene a partir de maíz, sorgo, caña de azúcar o remolacha. Permite sustituir las gasolineras o naftas en cualquier proporción. Brasil es el principal productor de bioetanol, 45% de la producción mundial, Estados Unidos representa el 44%, China el 6%, la Unión Europea el 3%, India el 1% y otros países el restante 1% (Estevan, 2008).

El bioetanol puede proceder del maíz como en los EEUU o de la caña de azúcar como el que se fabrica en Brasil. En este último país se ha venido utilizando el alcohol (etanol puro) como combustible de motores de combustión interna desde la década del sesenta (Budny y Sotero, 2007).

La caña de azúcar, la remolacha o el maíz no son las únicas fuentes de azúcares. Puede ser utilizada la celulosa para obtener azúcares. La celulosa es una larga cadena formada por "eslabones" de glucosa. De este modo, casi todo residuo vegetal será susceptible de ser transformado en azúcar y luego gracias a la

fermentación por levaduras obtener el alcohol destilando el producto obtenido (Fengel y Wegener, 1989; Sjöström, 1993).

El biogás, resulta de la fermentación de los desechos orgánicos. Este combustible es una alternativa más en la matriz energética del país (Macedo *et al.*, 2004).

Se ha realizado la búsqueda de materias primas alternativas que aprueben producir biocombustibles sin afectar la producción de alimentos, debido al aumento de los precios de los alimentos básicos y la competencia por el uso de las tierras cultivables, ya que ha resultado de gran polémica la obtención de combustibles a partir de productos agrícolas (Martín y Martín, 2008).

1.2.2. Biocombustibles de primera generación.

Hasta ahora, los biocombustibles comercializados son “de primera generación”, los cuales están basados fundamentalmente en la producción agrícola (Sánchez y Cardona, 2007). El biodiesel es obtenido a partir de semillas oleaginosas, el biogás se produce mediante la digestión anaerobia de residuos, y el etanol es producido a partir de materiales azucarados y amiláceos (von Blottnitz y Curran, 2007).

La producción de biocombustibles de primera generación se ha incrementado notablemente durante los últimos años. En el año 2010 la producción global de biodiesel triplicó la producción del año 2005, mientras que en ese mismo período se duplicó la producción de bioetanol (Haberl *et al.*, 2010).

1.2.3. Biocombustibles de segunda generación.

La producción de biocombustibles a partir de productos agrícolas se ha convertido en un tema polémico, debido a la competencia por el uso de las tierras cultivables y al incremento de los precios de los alimentos básicos como el maíz y el trigo (Martín y Martín, 2008). Esta situación ha conllevado a la búsqueda de materias primas alternativas que permitan producir biocombustibles sin afectar la elaboración de alimentos.

Los biocombustibles obtenidos a partir de materiales lignocelulósicos se incluyen entre los llamados biocombustibles de segunda generación. Entre ellos se encuentran, además del etanol obtenido por la ruta de sacarificación de la biomasa, varios alcoholes obtenidos por la ruta termoquímica (Haggström, 2008; Zohreh, 2008).

A partir de la bibliografía consultada, este autor considera que la utilización de los materiales lignocelulósicos se desarrollará a un ritmo superior al inicialmente previsto, y en el futuro próximo se convertirá en la materia prima fundamental para la obtención de etanol, evitando de esta manera que ocurran perturbaciones en la producción de alimentos.

1.2.4. Los biocombustibles y el medio ambiente.

La disminución en el abastecimiento de combustibles traería consigo varios problemas en el sector del transporte, así como en la industria (von Blottnitz y Curran, 2007). Una de las soluciones a los problemas energéticos que desafía a la humanidad, es el reemplazo de los combustibles de origen fósil por biocombustibles; que además constituye, una vía sostenible para disminuir la emisión neta de gases de efecto invernadero (Demirbas, 2007).

Al igual que en el caso de los combustibles fósiles, la combustión de los biocombustibles genera Dióxido de carbono. A diferencia del Dióxido de carbono originado por los combustibles fósiles, la contribución a la contaminación atmosférica del Dióxido de carbono derivado de los biocombustibles es mínima, puesto que es utilizado por las plantas para la realización del proceso de fotosíntesis, liberando dioxígeno a la atmósfera y generando las biomoléculas, a partir de las cuales se obtienen los biocombustibles (Estevan, 2008).

A crecido en consideración la producción de biodiesel y etanol en los últimos años y se predice que continúe el crecimiento debido al incremento de la demanda de energía para el transporte, el aumento de los precios del petróleo, por los existentes problemas medioambientales globales y por la seguridad energética (Agarwal, 2007).

La protección del medio ambiente está estrechamente relacionada con el uso del bioetanol, lo cual costa de un enmarcado interés en la sociedad. Utilizándose el bioetanol como combustible favorecerá a la depreciación de la contaminación ambiental, porque no aporta dióxido de carbono neto a la atmósfera y así no contribuye al efecto invernadero (Galbe, 1994; Macedo, 1998).

1.3. Producción de etanol.

La mayor parte de la producción mundial se obtiene del procesamiento de materia biológica, en particular ciertas plantas que contienen azúcares. El etanol así producido se conoce como bioetanol. Por otra parte, también puede obtenerse etanol mediante la modificación química del etileno, por hidratación (Wheeler *et al.*, 1991).

En 2006 la producción mundial total de etanol en todos sus grados fue de 51,06 mil millones de litros (13,49 mil millones de galones internacionales). Los mayores productores de etanol en Asia son China y la India, mientras que en Europa son España, Francia y Suecia (Balat *et al.*, 2008; Zohreh, 2008). Los dos principales productores mundiales son Estados Unidos y Brasil, que juntos producen el 70% del total del etanol, seguidos por China, India y Francia. Incentivos del mercado han provocado el desarrollo de crecientes industrias en países como Tailandia, Filipinas, Guatemala, Colombia y República Dominicana. En Europa, tanto Alemania como España han incrementado considerablemente su producción de etanol (Goettemoeller y Goettemoeller, 2007). La producción a gran escala de etanol agrícola para emplearlo como combustible requiere importantes cantidades de tierra cultivable, por lo que esta alternativa a la gasolina es menos atractiva para las regiones industrializadas con una elevada densidad de población, como Europa Occidental (Balat *et al.*, 2008; Zohreh, 2008). El siguiente cuadro muestra la producción de etanol entre 2009 y 2011 para los quince mayores productores mundiales (Tabla 1.1, Anexos).

1.3.1. Materias primas utilizadas en la producción tradicional de etanol.

Para la producción de etanol a gran escala las materias primas fundamentales son fuentes con un elevado contenido de sacarosa (caña de azúcar, remolacha azucarera, melazas y sorgo dulce), también amiláceos (maíz, trigo, centeno, yuca, avena, etc.) y materiales lignocelulósicos (madera y residuos agrícolas) (Wheeler *et al.*, 1991).

La producción mundial de etanol alcanzó en el 2007 alrededor de 47 millardos de litros, y se augura un aumento incesante de la demanda hasta llegar a 125 millardos de litros en el año 2020 (Balat y Balat, 2009). En Brasil la materia prima fundamental utilizada es la caña de azúcar, a diferencia de Estados Unidos que es el maíz.

1.3.1.1. Procesos industriales de la producción tradicional de etanol.

Para la producción de etanol se desarrollan dos vías: la química, que ocurre en presencia de un catalizador; la hidratación del etileno y la bioquímica, que se basa en la fermentación de materiales ricos en glúcidos por la acción de microorganismos. Cerca del 9% del etanol producido en el mundo es elaborado sintéticamente, mientras que el 91% es logrado por fermentación (Wheeler *et al.*, 1991).

Los microorganismos más usados en la producción de etanol por la vía fermentativa son las levaduras del género *Saccharomyces* (Hernández *et al.*, 1986 y Ingledew, 1995). Las materias primas utilizadas en la obtención de etanol por fermentación son azucaradas y amiláceas. La ventaja que poseen las azucaradas es que sus carbohidratos componentes están en forma de monosacáridos y oligosacáridos, por lo que el sustrato logra ser fermentado claramente por los microorganismos productores.

La deshidratación se utiliza para obtener alcohol absoluto (99 %), utilizando tamices moleculares o por destilación con mezclas de benceno, agua y etanol. Realizando una tecnología económicamente viable se lograría reducir la sumisión

al petróleo (Brizuela *et al.*, 2000). Así como varios productos colaterales como glicerol, acetaldehído, alcoholes superiores, ésteres, éteres, ácidos, cetonas y otros compuestos, los productos primordiales de la fermentación alcohólica son el etanol y dióxido de carbono.

En la industria del azúcar, la melaza representa un tercio del peso del azúcar producido en el ingenio, y constituye un grave problema su depósito y eliminación. Entre los usos que recibe la misma está la alimentación animal y la industria de bebidas y licores nacional. Actualmente, en Cuba, están funcionando dieciocho destilerías de etanol con una capacidad de producción total de 100 millones de litros por año, usando la melaza como materia prima. Un programa de modernización de once plantas destiladoras está en marcha, donde se espera alcanzar una producción de 150 millones de litros por año (Grogg, 2007).

1.3.2. Materias primas utilizadas en la producción de bioetanol.

Se utilizan tres familias de productos para la obtención del bioetanol:

- Azucaradas, procedentes de la caña de azúcar, de la remolacha azucarera y del sorgo dulce
- Amiláceas, procedentes de los cereales, granos u otras materias primas que contienen almidón.
- Lignocelulósicas, que contienen celulosa y hemicelulosas.

Las materias primas más utilizadas hasta el momento son las azucaradas y las amiláceas, las cuales compiten con la producción de alimentos (Zohreh, 2008)

Los materiales lignocelulósicos son los que ofrecen un mayor potencial para la producción de bioetanol. También pueden utilizarse residuos generados en algunas industrias, como la papelera, la hortofrutícola o la fracción orgánica de residuos sólidos industriales. Muchos de estos residuos no sólo tienen valor económico en el contexto donde se generan sino que pueden ser causa de problemas ambientales durante su eliminación. El bioetanol se produce por la fermentación de los azúcares contenidos en la materia orgánica de las plantas, en

este proceso se obtiene el alcohol hidratado, con un contenido aproximado de 5% de agua, que tras ser deshidratado se puede utilizar como combustible (Estevan, 2008).

Constituye un problema importante la disponibilidad de materia prima para la producción de bioetanol, a consecuencia de que puede cambiar de acuerdo a las estaciones del año y depende de la situación geográfica. Es predecible un déficit de las materias primas, con el aumento de la demanda de bioetanol, lo que podría implicar un aumento de los precios de los alimentos. A su vez, el precio de las materias primas es esencial para alcanzar la producción del bioetanol a un costo que pueda competir con los precios de la gasolina (Zohreh, 2008).

Entre los cultivos y tierras utilizadas para la producción de biocombustibles y los utilizados para la alimentación humana existe un conflicto. Para la solución de este problema es imperioso producir los biocombustibles a partir de materias primas alternativas. Por su alta disponibilidad y un costo razonable, una de las materias primas más satisfactorias es la biomasa lignocelulósica (Hubbe, 2008). Se estima que estos materiales se convertirán en la principal fuente de materia prima para la obtención de bioetanol de bajo costo, y que comprenderán la base de biorrefinerías lignocelulósicas que serán esenciales en el desarrollo de la Industria Química (Zohreh, 2008).

1.3.3. El etanol como combustible.

Durante la mayor parte del siglo XX el bioetanol solamente resultó atractivo en tiempos de guerra. Hoy todos los carros pueden trabajar con mezclas de gasolina con 3-22% de etanol sin necesidad de hacer modificaciones en el motor (Berg, 1998). Existen motores que pueden utilizar etanol puro, así como los vehículos flexibles que pueden usar mezclas de 0-100% de etanol en gasolina (Bailey, 1996). Las alternativas de mezclas que han sido empleadas con diversos nombres como *Mafuco*, (Cuba), *Alcoholina* (Brasil), *Gasohol* (USA) requieren de la utilización de alcohol deshidratado (99,2 %) (von Blottnitz y Curran, 2007).

1.3.4. Producción de etanol a partir de la biomasa lignocelulósica.

La ampliación del uso del etanol combustible en el mundo, en estos últimos años y el desvelo por desvincular su obtención de materias primas que compitan con la alimentación humana ha elevado cuantiosamente el interés en la producción de etanol celulósico. A consecuencia, se han abordado propuestas de disímiles procesos tecnológicos, basados tanto en la hidrólisis ácida como en la enzimática (Bueno, 2008). Para esto se han realizado evaluaciones de las nuevas tecnologías en plantas pilotos, entre las cuales las más significativas están en EE.UU, Suecia, España, Canadá, Dinamarca, Japón y China (Bueno, 2008). Algunas de esas tecnologías se encuentran en estado naciente de planificación y para el futuro se distingue una expansión imponente de la producción de etanol a raíz de materiales lignocelulósicos (Tabla 1.2, Anexos).

Ante las propuestas para la producción de etanol como sustituto de los combustibles fósiles expuestos en diversos foros técnicos y medios de prensa, el enfoque recurrente es considerar como materias primas cultivos de maíz, trigo, remolacha o caña de azúcar. La tecnología para el bioetanol a partir de estas fuentes está bien establecida y con los actuales niveles de demanda el negocio es factible. Esta situación puede modificarse significativamente tanto por un alza de los precios del crudo como por consideraciones medioambientales. Estos aspectos harán cada vez más atractivo el bioetanol, que generará políticas públicas e incentivos a los agricultores orientados a los cultivos para la producción de sacarosa y almidones. ¿Pero habrá una oferta de tierras y biomasa de cultivos suficiente para satisfacer las necesidades del transporte y la alimentación? En esto se incluyen las proteínas animales, porque no debemos olvidar las tierras para la ganadería (Hubbe, 2008).

Una hipótesis posible es que en un escenario de elevada demanda por energía para el transporte no exista tierra suficiente para la demanda de etanol y los otros usos del suelo. Si este fuese el caso, será necesario recurrir a una fuente muy abundante de biomasa: los materiales lignocelulósicos (maderas duras y blandas,

corontas de maíz y otros residuos agroindustriales). La actividad fotosintética produce toneladas de biomasa vegetal, de la cual más de 80% es lignocelulósica (Kim y Bruch, 2004). De esta última el 89% no se usa y del resto que entra al procesamiento de fibras, combustibles y alimento humano, se pierde el 70%. La amplia existencia de estos recursos constituye un potencial de materias primas a partir de las que se puede establecer una "refinería de biomasa" que podría reemplazar a las refinerías de petróleo (Kim y Bruch, 2004; Balat *et al.*, 2008).

Mediante una combinación de biotecnología y tecnología química se obtiene celulosa, a partir de la cual se producen azúcares fermentables y finalmente etanol. Además de servir como combustible, puede ser convertido en etileno, la molécula básica de la industria de la química orgánica, para lograrlo el proceso de producción incluye cinco etapas diferentes que son: pretratamiento, hidrólisis, fermentación, destilación y tratamiento de los residuales líquidos (Balat *et al.*, 2008; Hendriks y Zeeman, 2009). La etapa de pretratamiento es necesaria para activar la celulosa para la hidrólisis enzimática. En el proceso de hidrólisis, la celulosa y la fracción de hemicelulosas no hidrolizada en el pretratamiento son convertidas en azúcares monoméricos, incluyendo tanto pentosas como hexosas. Las hexosas pueden ser fermentadas fácilmente a etanol por la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, pero la fermentación de las pentosas es realizada sólo por unos pocos microorganismos. Un problema de los hidrolizados lignocelulósicos es la presencia de inhibidores de la fermentación, tales como aldehídos furánicos, fenoles y ácidos carboxílicos. Después del proceso de fermentación, el etanol es separado de la mezcla por destilación. Los residuos sólidos de la hidrólisis y de la fermentación pueden ser utilizados como combustibles para satisfacer los requerimientos energéticos del proceso o como materia prima en la síntesis de otros productos químicos (Wyman, 1994).

Es importante destacar que el ciclo de producción a partir de materiales lignocelulósicos posee un balance de energía neto positivo; la combustión de

etanol es más limpia que los combustibles fósiles por lo que su uso disminuye los impactos ambientales negativos (Estevan, 2008).

1.3.4.1. Procesos industriales en la producción de bioetanol.

Una alternativa para sustituir las importaciones de combustible puede ser el bioetanol, en la mayoría de los países no petroleros (Amorim y Basso, 2001; Martin, 2002; Wheals *et al.*, 1999).

Existen diferentes procesos para la obtención de bioetanol, en dependencia de la materia prima utilizada. El esquema general de obtención del bioetanol (Figura 1.1, Anexos), muestra las siguientes fases en el proceso (Estevan, 2008):

Dilución: es la adición del agua para ajustar la cantidad de azúcar en la mezcla o (en última instancia) la cantidad de alcohol en el producto. Es necesario porque la levadura, usada más adelante en el proceso de fermentación puede morir debido a la elevada concentración de azúcar.

Conversión: es el proceso encargado de convertir el almidón/celulosa en azúcares fermentables. Puede ser lograda por el uso de la malta, extractos de enzimas contenidas en la malta, o por el tratamiento del almidón (o de la celulosa) con el ácido en un proceso de hidrólisis ácida.

Fermentación: la fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico realizado por las levaduras, básicamente, donde se obtienen un gran número de productos, entre ellos el etanol.

Destilación: la destilación es la operación de separar, mediante vaporización y recondensación, los diferentes componentes líquidos, sólido en líquido o gases licuados de una mezcla, aprovechando los diferentes puntos de ebullición (temperaturas de ebullición) de cada una de las sustancias. La destilación se utiliza para separar el etanol producido de la mezcla fermentada.

Para la producción de etanol a partir de biomasa, toda tecnología, debe contener una etapa de hidrólisis, para que así se obtengan azúcares simples que puedan ser transformados en etanol por fermentación (Cuzens y Miller, 1996; Galbe, 1994). Esta hidrólisis puede ser efectuada por ácidos o por enzimas (Tengborg,

2000). Como desventaja, la hidrólisis enzimática, tiene su lentitud y el alto costo de las enzimas, pero no degrada los azúcares, mientras que la hidrólisis ácida diluida posee un bajo consumo de ácido, pero presenta el inconveniente de la formación de productos colaterales.

1.4. Materiales lignocelulósicos.

Los materiales lignocelulósicos se encuentran en abundancia en el mundo, donde se pueden encontrar a través de diferentes fuentes, desde los bosques, desechos industriales, como es el caso del bagazo, 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 (Wheeler *et al.*, 1991). Los residuos lignocelulósicos se encuentran en la biomasa vegetal y permiten la obtención de productos sustentables y no contaminantes del medio ambiente, entre los que destaca el etanol (Martín, 2002).

En Cuba existen grandes cantidades de materiales lignocelulósicos, de los cuales el bagazo, la paja de caña de azúcar y el marabú se encuentran entre los más abundantes.

1.4.1. Composición química de los materiales lignocelulósicos.

La celulosa, las hemicelulosas y la lignina son los componentes más importantes por los que están constituidos los materiales lignocelulósicos, que representan aproximadamente el 90% de la masa total de estos materiales. También contienen cantidades menores de sustancias extractivas y componentes minerales (Fengel y Wegener, 1989; Sjöström, 1993).

La fracción mayoritaria de esta biomasa es la celulosa cristalina. La celulosa está compuesta por cadenas largas de moléculas de D-glucosa unidas por enlaces beta (1-4) que, a su vez, se agrupan en estructuras superiores de gran cristalinidad, lo que dificulta su hidrólisis y conversión a azúcares fermentables.

Sin embargo, una vez que se producen los azúcares simples, pueden fermentarse sin dificultad. La celulosa puede ser hidrolizada mediante procesos ácidos o enzimáticos (Tengborg, 2000).

La segunda fracción son las hemicelulosas, formadas por polímeros de azúcares de cinco átomos de carbono (principalmente xilosa). Esta fracción es fácilmente hidrolizable ya que no presenta estructura cristalina; sin embargo, la xilosa es un azúcar difícil de fermentar a etanol. La última fracción es lignina, polímero tridimensional de unidades de fenilpropano ligadas por enlaces éster y Carbono-Carbono (Fengel y Wegener, 1989; Sjöström, 1993).

Como promedio, los materiales lignocelulósicos contienen entre 35 y 50 % de celulosa, 20-35 % de hemicelulosas y 15-25 % de lignina y pequeñas cantidades de otros componentes tales como aceites vegetales, proteínas y minerales (Wyman, 1994).

1.4.2. Celulosa

La celulosa es un polisacárido compuesto exclusivamente de moléculas de glucosa; es pues un homopolisacárido (compuesto por un solo tipo de monosacárido); es rígido y las cadenas de celulosa contienen entre 5 000 y 15 000 unidades de glucosa (Fengel y Wegener, 1989; Sjöström, 1993). La celulosa es la biomolécula orgánica más abundante ya que forma la mayor parte de la biomasa terrestre.

La celulosa es el principal componente de los MLC. Aproximadamente 36-51% de la materia seca en la mayoría de las especies vegetales es celulosa, a excepción del algodón que es celulosa casi pura (Fengel y Wegener, 1989; Sjöström, 1993).

1.4.2.1. Estructura molecular de la celulosa

La celulosa se forma por la unión de moléculas de β -glucosa mediante enlaces β -1,4-O-glucosídico (Figura 1.2, Anexos). La celulosa es una larga cadena

polimérica de peso molecular variable, con fórmula empírica $(C_6H_{10}O_5)_n$, con un valor mínimo de $n= 200$.

La celulosa tiene una estructura lineal, las unidades de β -D-glucopiranososa presentan conformación silla, en la que se establecen múltiples enlaces por puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de distintas cadenas yuxtapuestas de glucosa, haciéndolas impenetrables al agua, lo que hace que sea insoluble en agua, y originando fibras compactas que constituyen la pared celular de las células vegetales (Hendriks y Zeeman, 2009). Además las cadenas se orientan en paralelo formando una superestructura cristalina molecular (Purwadi *et al.*, 2006).

1.4.2.2. Función 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).

A pesar de que está formada por moléculas de glucosa, los animales no pueden utilizar la celulosa como fuente de energía, ya que no cuentan con la enzima necesaria para romper los enlaces β -1,4-glucosídicos, es decir, no es digerible por los animales. En el intestino de los rumiantes, de otros herbívoros y de termitas, existen microorganismos, muchos metanógenos, que poseen una enzima llamada celulasa que rompe el enlace β -1,4-glucosídico y al hidrolizarse la molécula de celulosa quedan disponibles las moléculas de glucosa como fuente de energía (Hendriks y Zeeman, 2009).

1.4.3. Hemicelulosas

Las hemicelulosas son heteropolisacáridos (polisacáridos compuestos por más de un tipo de monómero), formado, en este caso un tanto especial, por un conjunto heterogéneo de polisacáridos, unidos por enlaces β (1-4) (fundamentalmente xilosa, arabinosa, galactosa, manosa, glucosa, ácido glucurónico, patosa y

orozcayosa), que forman una cadena lineal ramificada. Entre estos monosacáridos se destacan más: la glucosa, la galactosa o la fructosa. Forma parte de las paredes de las diferentes células de los tejidos vegetales, recubriendo la superficie de las fibras de celulosa y permitiendo el enlace de pectina. Las hemicelulosas se caracterizan por ser moléculas con ramificaciones, como lo es el ácido urónico, capaz de unirse a las otras moléculas mediante enlaces que constituyen la pared rígida que protege a la célula de la presión ejercida sobre esta por el resto de las células que la rodean. Las hemicelulosas son la parte más sensible desde el punto de vista termoquímico de este enrejado (Hendriks y Zeeman, 2009).

Los xilanos son los componentes más importantes de las hemicelulosas de la mayoría de las maderas duras (Figura 1.3, Anexos) y de los desechos agrícolas, mientras que en las maderas blandas, los componentes dominantes de las hemicelulosas son los glucomananos (Figura 1.4, Anexos). 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).

1.4.4. Lignina

La lignina es el tercer biopolímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa y las hemicelulosas (Sarkanen y Ludwig, 1971).

Se caracteriza por ser un complejo aromático (no carbohidrato) del que existen muchos polímeros estructurales (ligninas). Resulta conveniente utilizar el término lignina en un sentido colectivo para señalar la fracción lignina de la fibra. Después de los polisacáridos, la lignina es el polímero orgánico más abundante en el mundo vegetal. Es importante destacar que es la única fibra no polisacárido que se conoce (Hendricks *et al.*, 2009).

Este componente de la madera realiza múltiples funciones que son esenciales para la vida de las plantas. Por ejemplo, proporciona rigidez a la pared celular. Realmente, los tejidos lignificados resisten el ataque de los microorganismos, impidiendo la penetración de las enzimas destructivas en la pared celular (Hendricks *et al.*, 2009).

1.4.4.1. Estructura química de la lignina

La molécula de lignina presenta una elevada masa molecular, que resulta de la unión de varios ácidos y alcoholes fenilpropílicos (cumarílico, coniferílico y sinapílico). El acoplamiento aleatorio de estos radicales da origen a una estructura tridimensional, es un heteropolímero amorfo, insoluble en agua y ópticamente inactivo (Fengel y Wegener, 1989; Sjöström, 1993).

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 (Figura 1.5, Anexos). Conjuntamente debido a esos enlaces, la lignina es muy resistente a los ataques químicos y a la degradación enzimática. Aunque muchos aspectos de la química de la lignina aún no se conocen completamente, los principales elementos estructurales han sido aclarados como resultado de estudios detallados de preparaciones de lignina aislada (Hendricks *et al.*, 2009).

La lignina está compuesta por unidades guayacílicas, siringílicas y *p*-hidroxifenílicas. Estas unidades están enlazadas entre sí mediante diferentes enlaces químicos, formando una compleja estructura molecular.

1.4.4.2. Enlaces lignina-carbohidratos

La existencia de enlaces entre la lignina y los polisacáridos es una cuestión de extrema importancia por la necesidad de separar los polisacáridos de la lignina lo más selectivamente posible.

La existencia de fuerzas de asociación de naturaleza física, ha hecho difícil de verificar la existencia de enlaces químicos. Es generalmente aceptado que los

enlaces químicos existen y el término “complejos lignina-carbohidratos” se usa para agregados unidos covalentemente (Rowell, 2005).

Se han reportado enlaces químicos entre la lignina y prácticamente todos los componentes de las hemicelulosas (Figura 1.6, Anexos): Uniones éster de –OH con ácido 4-O-metilglucurónico de los xilanos (1) (fácilmente hidrolizables) y Uniones éter con la arabinosa del arabinoxilano (2) o con manosa del glucomanano (3) (estables).

1.4.4.3. Propiedades físicas de la lignina

Las ligninas son polímeros insolubles en ácidos y solubles en álcalis fuertes como el hidróxido de sodio, que no se digieren ni se absorben y tampoco son atacados por la microflora del colon. Pueden ligarse a los ácidos biliares y otros compuestos orgánicos (por ejemplo, colesterol), retrasando o disminuyendo la absorción en el intestino delgado de dichos componentes (Mosier *et al.*, 2005).

El grado de lignificación afecta notablemente a la digestibilidad de la fibra. La lignina, que aumenta de manera sostenida en la pared celular de la planta con el curso de la maduración, es resistente a la degradación bacteriana, y su contenido en fibra reduce la digestibilidad de los polisacáridos fibrosos (Mosier *et al.*, 2005).

1.4.5. Extractivos

Las sustancias extractivas (extractos) están compuestas por gran variedad de componentes solubles en disolventes neutrales (disolventes orgánicos o en agua), además se denominan constituyentes no estructurales de la madera, y presentan baja masa molar, con la excepción de algunos polisacáridos (Sjöström, 1993). Pueden ser separados por extracción con disolventes orgánicos, con agua o mediante arrastre con vapor.

Son un disímil grupo de sustancias, entre las que se encuentran lípidos, ácidos grasos, alcoholes superiores, fenoles, terpenos, esteroides, ácidos resínicos, ceras y otras sustancias orgánicas (Fengel y Wegener, 1989; Sjöström, 1993). Los

extractivos representan sólo entre 4-10% en masa de los materiales lignocelulósicos, y su contenido es superior en las maderas blandas que en las duras y varía según la especie, la zona geográfica y la estación del año.

Los extractivos, aunque generalmente representan una fracción pequeña, comprenden un número extraordinariamente grande de compuestos individuales tanto lipofílicos como hidrofílicos (Rowell, 2005).

Estos compuestos están presentes en los exudados que se forman en los árboles como respuesta al daño mecánico o al ataque por insectos u hongos. El color y el olor de la madera están determinados por la presencia de sustancias extractivas.

El aislamiento de todos los componentes individuales de los extractivos en estado puro es prácticamente imposible. Tienen importancia para aplicaciones técnicas, y son materias primas valiosas para producción de sustancias orgánicas. Juegan un papel importante en los procesos de pulpeo y de fabricación de papel (Rowell, 2005).

1.5. Métodos de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica

Para la extracción de los polisacáridos contenidos en los MLC, se hace necesario someter a la materia prima a un proceso capaz de romper la matriz donde ellos se encuentran y liberarlos en forma de azúcares monoméricos o oligómeros, durante este proceso se solubilizan parcialmente la lignina y las hemicelulosas, se incrementa el área superficial, disminuye el grado de cristalinidad de la celulosa, aumenta la porosidad del material y la fracción amorfa de la celulosa. Todo eso conlleva al aumento de la convertibilidad enzimática de la celulosa (Balat *et al.*, 2008).

El pretratamiento es necesario para exponer la celulosa o modificar los poros en el material para facilitar la penetración de las enzimas hacia las fibras, de modo que la celulosa pueda ser hidrolizada (Caldwell, 2006), lo que es lo mismo decir que el pretratamiento libera 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). Los objetivos principales del

pretratamiento son romper la estructura celular, incrementar la superficie accesible para las enzimas y eliminar la lignina.

Los métodos de pretratamiento han sido clasificados en cuatro grupos principales: físicos, físico-químicos, químicos y biológicos (Sun y Cheng, 2002). Los físicos (molienda, pirólisis, irradiación), no incluyen la aplicación de sustancias químicas (Azuma et al., 1985, Beardmore et al., 1980). Entre los físico-químicos tenemos la explosión con vapor, en la cual se pueden combinar dióxido de azufre y vapor de agua (Dekker y Wallis, 1983; Hörmeyer *et al.*, 1988; Lambert y Stratford 1999). Además de la utilización de agua caliente en estado líquido, explosión con amoníaco y explosión con dióxido de carbono (Sun y Cheng, 2002). Entre los pretratamientos químicos se encuentran la ozonólisis, la prehidrólisis ácida, la hidrólisis alcalina, la deslignificación oxidativa, la oxidación húmeda y los procesos organosolv (Vila *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2006). Los pretratamientos biológicos son aquellos en los cuales participan hongos y existe el uso de enzimas.

El pretratamiento es efectivo si: produce fibras, cuya fracción celulósica es fácilmente hidrolizable por celulasas, preserva la utilidad de las hemicelulosas y 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 tanto el equipamiento como los procedimientos deben ser sencillos (Sun y Cheng, 2002). Los métodos físicos son costosos y poco efectivos (Jiang *et al.*, 2007; Bak *et al.*, 2009). Los métodos biológicos son muy lentos, mientras que los métodos químicos y físico-químicos poseen menor costo y son más eficientes (Sánchez *et al.*, 2008; Taherzadeh y Karimi, 2008).

1.5.1. Métodos físicos de pretratamiento

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., 2008). 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.*, 2008). 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).

1.5.2. Métodos químicos de pretratamiento

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 la prehidrólisis ácida de los materiales lignocelulósicos pueden utilizarse ácidos minerales concentrados o diluidos. La función primordial de la hidrólisis ácida es hidrolizar las hemicelulosas a azúcares monoméricos y simultáneamente remover parte de la lignina (Rocha *et al.*, 2011). Las ventajas principales de la prehidrólisis ácida son el alto rendimiento de azúcares derivados de las hemicelulosas y la remoción parcial de la lignina, lo que aumenta la exposición de la celulosa a las enzimas. Las desventajas de este método están dadas por la necesidad de neutralización de los ácidos, la degradación de las hemicelulosas con formación de inhibidores de la fermentación, así como el alto costo de los materiales anticorrosivos requeridos para los reactores (Martínez y Granado, 1995; Sánchez y Pilcher, 2004; Duarte *et al.*, 2009). Un ejemplo, es la prehidrólisis con ácido sulfúrico diluido, este es un método 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 (Rocha *et al.*, 2011).

La oxidación húmeda está entre los procesos más simples en términos de equipamiento, energía y reactivos químicos requeridos (Chum *et al.*, 1985). Es un método, en el cual los materiales orgánicos son oxidados con dióxígeno gaseoso o

con aire en presencia de agua (Martin y Tatsuya, 2004). Apropiado para materiales con bajo contenido de lignina ya que los rendimientos decrecen con el aumento del contenido de ésta, unido a que una buena parte de la lignina se oxida y solubiliza. Ha sido utilizado en la industria fundamentalmente en el tratamiento de aguas residuales industriales y de residuos sólidos biológicos. En el pretratamiento de los materiales lignocelulósicos por oxidación húmeda la lignina se degrada a ácidos carboxílicos, dióxido de carbono y agua (Martin y Tatsuya, 2004), y la celulosa mejora su convertibilidad enzimática (Martín *et al.*, 2007). Una ventaja de la oxidación húmeda es la baja formación de aldehídos furánicos (Bjerre *et al.*, 1996) y fenólicos (Klinke *et al.*, 2002).

La ozonólisis es uno de los métodos eficaces bajo condiciones apacibles y es medioambientalmente factible, ya que el ozono no deja residuos debido a su corta vida, este método involucra el gas ozono en la separación de la lignina y las hemicelulosas. Las principales ventajas de la ozonólisis son la remoción efectiva de la lignina, la no producción de residuos tóxicos y la posibilidad de realizar las reacciones a temperatura y presión ambiental. Sin embargo, la gran cantidad de ozono requerida para su utilización en pretratamientos químicos lo hace costoso (Caldwell, 2006), además el ozono es altamente reactivo con los compuestos que presentan dobles enlaces conjugados y grupos funcionales con altas densidades electrónicas. Ataca a la lignina formando compuestos solubles de baja masa molar, y aumenta en cinco veces la velocidad de la hidrólisis enzimática al reducir en 60% el contenido de lignina de la paja de trigo (Balat *et al.*, 2008).

1.5.3. Métodos físico-químicos de pretratamiento

Los principales métodos físico-químicos de pretratamiento son: explosión con vapor, agua caliente en estado líquido (LHW), explosión con amoníaco (AFEX) y explosión con dióxido de carbono. Estos métodos son mucho más efectivos que los métodos físicos (Sánchez *et al.*, 2008; Taherzadeh y Karimi, 2008).

La explosión con vapor es un método químico-mecánico que da buenos rendimientos en un corto tiempo y minimiza el uso de reactivos químicos y durante

mucho tiempo ha sido empleado en la industria de la pulpa y el papel. En los últimos años, la explosión con vapor ha sido objeto de continua investigación encaminada al mejoramiento de su eficiencia (Martín, 2002). Consiste en el calentamiento de la biomasa a altas temperaturas y presión, seguido de una descompresión rápida (Balat *et al.*, 2008). Durante el calentamiento, los grupos acetilo de las hemicelulosas se hidrolizan y el ácido acético formado cataliza la hidrólisis de las hemicelulosas, por lo que este método también se conoce como autohidrólisis. El agua sobrecalentada atrapada en el interior de las células se evapora cuando la presión del reactor es disminuida bruscamente. De este modo ocurre la disrupción de la estructura celular debido a la presión interna generada por la evaporación instantánea, lo que conlleva al ablandamiento del material fibroso (Puri y Pearce, 1985).

Las ventajas fundamentales de la explosión con vapor son el bajo consumo energético en comparación con los métodos mecánicos de pretratamiento y la hidrólisis completa de las hemicelulosas. Las desventajas esenciales están en su poca efectividad para las maderas blandas, la destrucción de los xilanos, la separación incompleta de la lignina, la producción de inhibidores y el alto costo del reactor.

La utilización de agua caliente en estado líquido (LHW, Liquid Hot Water) es un método de pretratamiento muy prometedor (Laser *et al.*, 2002). Tan efectivo como la prehidrólisis ácida, es el pretratamiento LHW, pero a diferencia, este tiene la ventaja de que no es necesario la neutralización posterior (Balat *et al.*, 2008). 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. Durante este proceso se disuelve entre el 40 y el 60% del total de la biomasa, con un 2-22% de la celulosa, 35-60% de la lignina y el total de las hemicelulosas, pero los resultados son variables en dependencia del tipo de biomasa (Mosier *et al.*, 2005a).

El control del pH, la temperatura y el tiempo de reacción; son importantes, para mejorar la digestibilidad enzimática del material (Mosier *et al.*, 2005b). Este

método ha dado buenos resultados para el bagazo, llegando a superar a la explosión con vapor en cuanto al rendimiento de azúcares y a la disminución de la formación de inhibidores (Schluman *et al.*, 1999; Laser *et al.*, 2002).

La explosión con amoníaco, AFEX (Ammonia Fiber Explosion), es un pretratamiento físico-químico en el cual el material es expuesto al amoníaco líquido a 90-100°C durante unos 30 minutos y luego la presión es reducida bruscamente. En este proceso el amoníaco primeramente despolimeriza la lignina y rompe sus enlaces con los carbohidratos. Esto provoca la descristalinización de la celulosa y la remoción de la lignina y las hemicelulosas. Este pretratamiento permite, con una baja carga de enzimas, alcanzar conversiones hidrolíticas cercanas al rendimiento teórico (Mosier *et al.*, 2005; Balat *et al.*, 2008). 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), en aras de la economía del proceso y de la protección del medio ambiente.

Otro método parecido, ya que se basa en los mismos principios que la explosión con vapor y con amoníaco, es la explosión con dióxido de carbono (CO₂), pero el rendimiento es menor (Sánchez *et al.*, 2008). La cual también opera a bajas temperaturas por lo que se evita la degradación de los azúcares (Dale y Moreira, 1982). La misma genera menos inhibidores que la explosión con vapor pero es más costosa (Sun y Cheng, 2002).

1.5.4. Métodos biológicos de pretratamiento

Los pretratamientos biológicos principales 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 hongos 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 un

48,58% de la lignina, un 5,3% de celulosa y 19,72% 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. Estos métodos biológicos son costosos debido a su lentitud (Sánchez *et al.*, 2008; Taherzadeh y Karimi, 2008).

1.6. Pretratamiento organosolv

Estos métodos consisten en el calentamiento de la biomasa lignocelulósica con sistemas acuosos de disolventes orgánicos a temperaturas entre 50-200⁰C, surgieron como una alternativa más noble y racional a los procesos tradicionales de pulpeo (Vila *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2006). Estos procesos son variantes libres de azufre y permiten una mayor recuperación de lignina. Los disolventes usados deben ser reciclados para reducir el costo operacional y para evitar la inhibición de la hidrólisis enzimática y de la fermentación (Sun y Cheng, 2002). Entre los disolventes estudiados están los de baja temperatura de ebullición (etanol y metanol) y los de alta temperatura de ebullición (etilenglicol, alcohol tetrahidrofurfurílico y glicerol), así como otras clases de compuestos orgánicos como ácido acético, dimetilsulfóxido o fenoles (Chum *et al.*, 1985).

En este método, además de la lignina, también las hemicelulosas se solubilizan en cierto grado, con lo que la fracción sólida se enriquece en celulosa, la cual resulta activada para la hidrólisis enzimática. La combinación de pretratamiento organosolv con prehidrólisis ácida permite separar las hemicelulosas y la lignina en un proceso de fraccionamiento en dos etapas (Chum *et al.*, 1985).

En los procesos de deslignificación de la madera y otros materiales lignocelulósicos, los más eficientes entre los métodos organosolv, han sido los que utilizan oxácidos como disolvente orgánico. Cuando se utiliza ácido acético como agente deslignificante catalizado con ácido clorhídrico el proceso se llama

acetosolv; si se utiliza ácido fórmico en un medio catalizado se le denomina proceso formacell y sin catalizador acetocell. Estos tres procesos parecen ser los más prometedores para alcanzar una completa utilización de los materiales lignocelulósicos con un impacto ambiental mínimo (Vila *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2006).

1.6.1. Pretratamiento acetosolv

En la utilización completa de los materiales lignocelulósicos, con un mínimo impacto ambiental, se han demostrado tres procesos prometedores: el proceso acetocell es el tratamiento no catalizado con ácido acético, el proceso formacell, la acción del ácido acético es catalizada con ácido fórmico, mientras que el proceso acetosolv se cataliza con ácido clorhídrico. En el proceso acetosolv, la biomasa lignocelulósica puede ser fraccionada de una manera simple en pulpa celulósica, lignina, hemicelulosas o sus azúcares derivados o productos de degradación fácilmente utilizables (Xu *et al.*, 2006).

El proceso acetosolv presenta ventajas respecto a otras tecnologías utilizadas en la deslignificación de los materiales lignocelulósicos, ya que bajo condiciones suaves de operación se pueden alcanzar altos rendimientos de lignina y hemicelulosas removidas en un proceso de un solo paso y la pulpa obtenida presenta buenas características, además la degradación de la celulosa es mínima. La fracción de hemicelulosas es convertida en productos comerciables como azúcares y furfural, en proporciones que dependen de la severidad del proceso. En condiciones suaves la degradación de los azúcares es baja, mientras que en condiciones severas se favorece la formación de furfural. La pulpa puede ser manipulada para obtener derivados de la celulosa, tales como carboximetilcelulosa, celofán, viscosa, acetato de celulosa, combustibles y papel. La adición de agua facilita la separación efectiva de los compuestos derivados de las hemicelulosas, de esta manera la lignina disuelta puede ser fácilmente precipitada de los licores, además puede ser convertida en productos de alto valor añadido como fibras al carbono, carbón activado y adhesivos. El proceso

acetosolv presenta desventajas dadas por la corrosión originada por la presencia del ácido clorhídrico en el medio y la esterificación de la celulosa, alcanzándose una pulpa que presenta alto contenido de grupos saponificables (Vila *et al.*, 2003). El proceso acetosolv ha sido aplicado en la deslignificación de la biomasa de marabú con buenos resultados, obteniéndose pulpas ricas en celulosa y un alto grado de recuperación de la lignina (Soudham *et al.*, 2011; Rodríguez, 2011).

1.6.2. Hidrólisis alcalina

La hidrólisis alcalina puede ser utilizada como método de pretratamiento de los materiales lignocelulósicos, su efecto deslignificante depende del contenido de lignina del material pretratado (Sun y Cheng, 2002). El mecanismo de la hidrólisis alcalina está relacionado con la saponificación de los enlaces éster intermoleculares que unen a los xilanos de las hemicelulosas con los demás componentes (lignina y celulosa). La porosidad de los materiales lignocelulósicos aumenta con la eliminación de estos enlaces (Sun y Cheng, 2002). El tratamiento con disolución diluida de hidróxido de sodio crea porosidad y túneles que aumenta la superficie de contacto del material, disminuye su grado de polimerización, disminuye su cristalinidad, elimina los enlaces estructurales de la lignina con los carbohidratos rompiendo la estructura de la lignina (Fan *et al.*, 1980; Sun y Cheng, 2002). Este método no es recomendable para materiales con un contenido de lignina superior al 26 %, aunque en materiales con más de un 20 % de lignina disminuye su efecto (Sun y Cheng, 2002).

1.7. Hidrólisis enzimática

Debido a los inconvenientes de la hidrólisis ácida, durante los últimos años se le ha dedicado especial atención a la hidrólisis enzimática, la cual se lleva a cabo utilizando celulasas, fundamentalmente de hongos del género *Trichoderma* (Taherzadeh y Karimi, 2008). La producción de las enzimas es una etapa crucial del proceso de conversión de la lignocelulosa en etanol, ya que el costo de estas representa hasta el 23% del costo de producción del etanol (Nguyen, 1993). La

hidrólisis enzimática de la celulosa consiste en la adsorción de la celulasa sobre la superficie de la celulosa, la biodegradación de la celulosa en azúcares fermentables y la desorción de la celulasa (Tahezadeh y Karimi, 2008). El pH y la temperatura son factores que influyen en el proceso de hidrólisis enzimática, parámetros controlables con la adición de un buffer adecuado en el primer caso y la utilización de incubadoras para controlar la temperatura (Tengborg, 2000). La alta concentración de sustrato disminuye la velocidad de conversión, afectando el mezclado y la transferencia de masa (Sun y Cheng, 2002). La adición de enzimas debe estar en el rango entre 5 y 35 %. La hidrólisis enzimática presenta una serie de ventajas sobre la hidrólisis ácida, es un método selectivo, con un mayor rendimiento y sin el inconveniente de la formación de productos colaterales. Además, el consumo de energía es menor (Galbe, 1994), las principales limitaciones de la hidrólisis enzimática son el alto costo de las enzimas y el requerimiento de grandes reactores debido a la lentitud de la reacción (Tahezadeh y Karimi, 2008).

1.8. Características del árbol de *Dischostachys cinerea* (marabú)

Dischostachys cinerea es un arbusto o árbol pequeño que alcanza por lo común alturas máximas de 4 a 5 m y excepcionalmente en suelos propicios y húmedos alcanza hasta 10 m de altura y hasta 18 cm de diámetro. Sus troncos son bastante tortuosos, con numerosas ramificaciones gruesas y finas, muy espinosas que suelen formar entramados impenetrables. La corteza es gris, pardo grisácea o blanquecina y las espinas solitarias, gruesas y punzantes, de 1 a 2,5 cm de largo. Las ramas jóvenes hirsuto tomentosas. Hojas bipinnadas de 8 a 12 cm de largo, hasta 10 pares de raquis secundarios, cada uno con 12-30 pares de folíolos, verde oscuros, de 4-6 mm de largo. Inflorescencias en capítulos pendulosos de 4-5 cm, dos tercios de las flores, en la base, son masculinas rosadas, y el resto, en el ápice, hermafroditas amarillas. Las legumbres pardo oscuras, coriáceas, lampiñas, retorcidas, lineal comprimidas, indehiscentes o imperfectamente dehiscentes,

interiormente continuas, de 3 a 5 cm de largo y de 0,5 a 1 cm de ancho, aparecen en racimos compactos. Semillas obovales comprimidas, de 6 a 10 por legumbre. Floración en Cuba en los meses de abril a septiembre. Los frutos maduran hasta el invierno en que secan, permaneciendo sin caer por algún tiempo. Es un material con un alto contenido de lignina y celulosa y cantidades considerables de hemicelulosas, además de sustancias extractivas y minerales (Soudham *et al.*, 2011).

A partir de la lignina del marabú pueden obtenerse plásticos verdes, materiales adhesivos, dispersantes y emulsificantes. La lignina puede ser utilizada para la producción de compuestos aromáticos importantes y de alta demanda como son el fenol y sus derivados, el benceno, tolueno y xileno (Bozell *et al.*, 2007).

La identificación de los componentes del marabú permite establecer estrategias para su posible aplicación, la cual una de ella sería que fuese utilizado para la producción de biocombustibles.

1.8.1. Usos de *Dichrostachys cinerea*

Estudios previos realizados en la Universidad de Matanzas sobre composición química de disímiles materiales lignocelulósicos han esclarecido el potencial de muchos de ellos para ser procesados en biorrefinerías para la producción de etanol y otros productos (Martín *et al.*, 2006a; b). Recientemente se demostró que el marabú presenta altos contenidos de celulosa y lignina, y cantidades considerables de hemicelulosas, además de sustancias extractivas y minerales (Soudham *et al.*, 2011, Rodríguez, 2011, Triana, 2011), genera cantidades de biomasa que constituyen una materia prima no despreciable si es mirada desde el punto de vista del concepto de biorrefinería.

Todos los componentes de la *Dischostachys cinerea* pueden ser aislados y utilizados en diferentes aplicaciones. Las hemicelulosas pueden ser convertidas en furfural, ácido láctico y etanol hemicelulósico, entre otros productos. La celulosa puede ser convertida en derivados como acetatos, nitratos, viscosa, celofán, así

como en papel, etanol celulósico, sorbitol, ácido láctico, hidroximetilfurfural (HMF), ácido levulínico u otros compuestos (Roig, 1974).

La lignina puede ser utilizada como una fuente de “energía verde” para suplir las necesidades energéticas de la biorrefinería y producir electricidad, por su alto valor calórico (Ragauskas *et al.*, 2006). A partir de la lignina del marabú pueden obtenerse plásticos verdes, materiales adhesivos, dispersantes y emulsificantes. La lignina puede ser utilizada para la producción de compuestos aromáticos importantes y de alta demanda como son el fenol y sus derivados, el benceno, tolueno y xileno (Bozell *et al.*, 2007).

Además el marabú a pesar de su enorme impacto ambiental negativo en Cuba, protege grandes áreas de suelos desprovistos de vegetación natural contra la erosión, sobre todo en las franjas hidrorreguladoras de las cuencas fluviales. Es fuente de alimento proteico para el ganado, especialmente el ovino-caprino. Su madera es muy dura, inmune al ataque de hongos e insectos, es utilizada para cercas, construcciones rústicas y ebanistería. Es muy buena para fabricar carbón, por lo que el marabú se utiliza como leña, además tiene buena combustión (Roig, 1974).

Roig (1974) informa el uso en Camagüey, Cuba, de corteza y frutos como antiséptico, y que toda la planta es rica en taninos por lo que debe ser buen astringente. Dalziold (1948) dice que en Sierra Leona es usada su corteza para tratar la elefantiasis, la sífilis, la gonorrea y la lepra, y que también es usada como vermífugo.

1.9. Evaluación económica del proceso acetosolv de la biomasa de *Dischostachys cinérea*

Para que este método sea económicamente factible es necesario reciclar el disolvente utilizado y recobrar los subproductos disueltos en estos. Cada año crece la producción de lignina a partir de los procesos de pulpeo a partir de madera y de otros materiales lignocelulósicos. Mediante los procesos comerciales

de pulpeo como el Kraft y el sulfito se obtienen pulpas de alta calidad pero entre el 50-55% de la masa seca de la madera u otros materiales lignocelulósicos se pierde como desecho o es utilizado en aplicaciones de bajo valor añadido (Vila, 2003; Xu, 2006). Han sido probados experimentalmente diversos sistemas organosolv en los últimos años, sin embargo sólo un pequeño grupo de ellos ha mostrado una alta selectividad y eficiencia. Los procesos organosolv que utilizan ácido acético y ácido fórmico como disolventes han mostrado buenos resultados en la deslignificación de los materiales lignocelulósicos. Cuando se utiliza ácido acético como agente deslignificante catalizado con ácido clorhídrico el proceso se llama acetosolv; si se utiliza ácido fórmico en un medio catalizado se le denomina proceso formacell y sin catalizador acetocell. Estos tres procesos parecen ser los más prometedores para alcanzar una completa utilización de los materiales lignocelulósicos con un impacto ambiental mínimo. Con la utilización de estos procesos en condiciones suaves se puede remover la lignina y las hemicelulosas con una degradación no significativa de la celulosa (Ligero *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2006). El método acetosolv ha sido aplicado exitosamente en maderas duras, blandas y en otros materiales lignocelulósicos (Ligero *et al.*, 2005; Ligero *et al.*, 2007). En el proceso acetosolv los materiales lignocelulósicos de cualquier procedencia pueden ser fraccionados en pulpa, lignina y hemicelulosas o productos de degradación de estos, siendo posible su utilización en la obtención de productos de alto valor agregado (Xu *et al.*, 2006).

El proceso acetosolv presenta ventajas respecto a otras tecnologías utilizadas en la deslignificación de los materiales lignocelulósicos, ya que bajo condiciones suaves de operación se pueden alcanzar altos rendimientos de lignina y hemicelulosas removidas en un proceso de un solo paso y la pulpa obtenida presenta buenas características. La celulosa puede ser recobrada en la pulpa, mientras que parte de las hemicelulosas son hidrolizadas y simultáneamente los grupos acetilos se combinan para formar ácido acético, facilitando la recuperación del disolvente. Este es un factor importante en el análisis económico del proceso acetosolv. La fracción de hemicelulosas es convertida en productos comerciables

como azúcares y furfural, en proporciones que dependen de la severidad del proceso. En condiciones drásticas el furfural (intermediario químico utilizado en la síntesis de los polímeros alcohol furfurílico y tetrahidrofurano) es el subproducto principal derivado de las hemicelulosas. La pulpa puede ser usada en la producción de derivados de la celulosa, tales como carboximetilcelulosa, celofán, acetato de celulosa, papel y combustibles. La fracción de lignina disuelta puede ser fácilmente precipitada de los licores de acetosolv mediante la adición de agua, separándola por filtración de las hemicelulosas. La lignina puede ser convertida en productos de alto valor agregado tales como fibra de carbón, carbón activado, adhesivos y plásticos. Las desventajas del proceso acetosolv están dadas por la corrosión causada por el ácido clorhídrico contenido en el medio y la esterificación de la celulosa con ácido acético, obteniéndose una pulpa con alto contenido de grupos saponificables (Ligero *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2006).

1.10. Conclusiones parciales

- ❖ Los materiales lignocelulósicos constituyen una materia prima abundante con un alto contenido de carbohidratos, que permite la obtención de productos de alto valor agregado y menos contaminante del medio ambiente.
- ❖ El marabú (*Dichrostachys cinerea*), es un material lignocelulósico que por su abundancia en Cuba, permite establecer estrategias para su posible aplicación a nivel industrial.
- ❖ Con la aplicación del proceso acetosolv los materiales lignocelulósicos pueden ser fraccionados en pulpa, lignina y hemicelulosas o productos de degradación de éstos, siendo posible su utilización en la obtención de productos de alto valor agregado, entre los que se encuentran los biocombustibles.

Capítulo 2: Materiales y Métodos

2.1. Etapas de la Investigación

El trabajo experimental fue realizado en el laboratorio del Grupo de Tecnología de Biorrecursos, del Departamento de Química e Ingeniería Química de la Universidad de Matanzas.

La investigación estuvo conformada por varias etapas: la primera etapa comprendió la caracterización físico-química de la materia prima (*Marabú*). Todas las determinaciones de esta caracterización fueron realizadas teniendo en cuenta los Métodos estándar para el Análisis de Biomasa lignocelulósica, perteneciente a los Laboratorios Nacionales de Energía Renovable de los *EEUU* (NREL).

La segunda etapa consistió en el pretratamiento del *Marabú* con ácido acético (método acetosolv), prefijando los valores de temperatura, tiempo de reacción y la concentración del disolvente, resultados obtenidos en investigaciones anteriores (Rodríguez, inédito; Soudham, 2011), así como la caracterización físico-química del material pretratado.

La tercera etapa del trabajo experimental consistió en la deslignificación adicional del *marabú* pretratado con hidróxido de sodio, para lo cual se aplicó un diseño de experimento de superficie de respuesta compuesto central, con tres factores y a tres niveles, modelado por el software *STATGRAPHICS Plus versión 5.0* y la caracterización físico-química de cada fracción.

2.2. Materia prima

Las muestras de tallos de *marabú* (*Dichrostachys cinerea*), recolectadas en zonas agrícolas de la provincia de Matanzas, fueron cortadas, molidas, secadas al aire durante una semana y en estufa a 40⁰C durante 48 h. Posteriormente, el material seco fue tamizado para separar una fracción con un tamaño de partícula de 1 mm, la cual fue utilizada para el análisis de la composición química, y otra fracción de 2 mm, que fue utilizada en los pretratamientos. Ambas fracciones fueron homogenizadas para garantizar una composición idéntica en todas las alícuotas del material, y conservadas en bolsas plásticas con el objetivo de mantener una humedad constante.

2.2.1. Caracterización de la materia prima

Los análisis realizados para la determinación de la composición química de la materia prima fueron: Humedad, Cenizas, Hidrólisis ácida analítica (HAA), Extractivos y lignina de Klason. El contenido de humedad, cenizas, extractivos y lignina de Klason fueron determinados acorde con los protocolos de los Laboratorios Nacionales de Energía Renovable de los *EEUU* (NREL) (Sluiter *et al.*, 1998a-d). Las determinaciones se auxiliaron de los análisis espectrofotométrico y cromatográfico de azúcares. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

2.2.2. Determinación de la humedad

La determinación de la humedad fue efectuada aplicando el “*Método estándar para la determinación de sólidos totales en la biomasa*” de los NREL. Procedimiento analítico de laboratorio 001 (Sluiter *et al.*, 2008a).

El fundamento de dicho procedimiento experimental se expone a continuación: porciones de biomasa de *Dichrostachys cinerea* fueron secadas en una estufa capaz de mantener $105 \pm 3^\circ\text{C}$ (AISET® YLD-6000 P\G2007ba, R.P. China), de esta forma se elimina únicamente el agua del material lignocelulósico, permitiendo su cuantificación, se pesa periódicamente hasta obtener un peso constante. A continuación se enfría en un desecador con silicagel y se pesa en una balanza analítica digital (Sartorius BS 124 S. Max 120g, con una precisión de 0.1mg, China). El porcentaje de humedad (en gramos de agua por cada gramo de material lignocelulósico húmedo) se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$H = \frac{PRMH - PRMS}{PRMH - PRS} \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

Donde:

H: humedad.

PRMH: peso en gramos del recipiente seco con la muestra húmeda.

PRS: peso en gramos del recipiente seco.

PRMS: peso en gramos del recipiente con la muestra seca.

2.2.3. Determinación de cenizas

Los materiales lignocelulósicos contienen cenizas que se determinan mediante incineración a temperaturas entre 500 y 600°C, calcinándose así la materia orgánica. Se siguió el siguiente procedimiento experimental: en un crisol de porcelana de peso conocido se introducen muestras del material (1g), seguidamente se lleva al horno mufla (YUP XIN® SX2, R.P. China) a una temperatura de 575 ± 25°C hasta alcanzar peso constante (normalmente 4-6 h), para evitar que se produzca pérdida del material no se introduce el material en el horno a 575°C, debe introducirse a baja temperatura, e ir subiendo a intervalos de 50°C, para conseguir de la siguiente manera una combustión lenta y controlada. Posteriormente se enfría en una desecadora y se pesa con exactitud de 0,1mg. El contenido de cenizas (CC) se calculó usando la siguiente ecuación:

$$CC = \frac{PRC - PRS}{(PRMH - PRS) * (1 - H)} * 100 \quad (\text{Ecuación 2.2})$$

Donde:

CC: contenido de cenizas.

H: humedad de la muestra.

PRMH: peso del recipiente con la muestra húmeda.

PRS: peso del recipiente seco.

PRC: peso del recipiente con las cenizas.

2.2.4. Determinación de extractivos

Los materiales lignocelulósicos contienen ciertos tipo de compuestos (ceras, grasas, resinas, restos de fluidos biológicos, etc.) que pueden separarse mediante extracción al no estar formando parte de la estructura de la pared celular. Para efectuar la extracción se trabajó según el siguiente procedimiento experimental: se pesan muestras del material (4 g) y se colocan en los dedales de extracción, dejando espacio entre la muestra y el tope para evitar pérdidas, posteriormente se colocan en un aparato Soxhlet y se adicionan 150 mL de etanol al 95% en

volumen como disolvente. Se lleva a cabo la extracción a reflujo durante 24 h en baño termostatado (Midingen / Sitz Freital, Alemania), para dar de 4 a 5 ciclos por hora, en las que se produjeron aproximadamente 120 descargas. Finalizada la extracción, se retiró el dedal y se lavó la muestra con etanol al 95 % en volumen. El balón, conteniendo el etanol y los extractos, se llevó a un rotavaporador (IKA RV 05 Basic. Baño de agua, IKA HB4 Basic, Alemania), recuperándose el etanol por evaporación a vacío, a $45 \pm 5^\circ\text{C}$. El balón se introduce en una estufa (AISET® YLD-6000 P\G2007ba, R.P. China), a 80°C durante 24h. Se enfría en un desecador con silicagel y se pesa en balanza analítica digital (Sartorius BS 124 S. Max 120g, con una precisión de 0.1 mg, China). El contenido de extractos se determina a través de la siguiente expresión:

$$CE = \frac{PRMS - PRS}{PMH * (1 - H)} * 100 \quad (\text{Ecuación 2.3})$$

Donde:

CE: contenido de extractos.

H: humedad de la muestra.

PMH: peso del recipiente con la muestra húmeda.

PRMS: peso del recipiente con la muestra.

PRS: peso del recipiente seco.

2.2.5. Hidrólisis ácida analítica (HAA) y determinación de la lignina de Klason

La lignina de Klason se determina como el residuo de la hidrólisis ácida analítica a las muestras de biomasa. Muestras de 0,5 g de biomasa libre de extractivos se mezclaron en un tubo de ensayo con 5 mL de ácido sulfúrico al 72 %, y se hidrolizaron por una hora en baño de agua a 30°C . A continuación, la mezcla se transfirió a un frasco roscado de 250 mL y la concentración de ácido sulfúrico se diluyó hasta 4 % mediante la adición de agua destilada. Los frascos con las mezclas se colocaron en un autoclave (Advantage AL02-03-100, China) a

121±3°C por una hora. Posteriormente, el contenido de los frascos se filtró a vacío a través de filtros-crisoles y el filtrado fue colectado y guardado a 4°C para la posterior determinación de los carbohidratos. Los crisoles con el residuo fueron secados a 105±3°C durante 24 h, enfriados en una desecadora, y pesados en balanza analítica (Sartorius BS 124 S. Max 120g, con una precisión de 0.1mg, China). El contenido de lignina de Klason se calculó por la siguiente ecuación:

$$CLK = \frac{PRMS - PRS}{PMH * (1 - H)} * (100 - CE) \quad (\text{Ecuación 2.4})$$

Donde:

CLK: contenido de lignina de Klason.

CE: contenido en extractos.

H: humedad de la muestra.

PMH: peso del recipiente con la muestra húmeda.

PRMS: peso del recipiente con la muestra seca.

PRS: peso del recipiente seco.

2.2.6. Determinación de azúcares reductores totales (ART)

Los azúcares reductores totales fueron determinados según lo planteado por *Miller, 1959*; por el método del ácido dinitrosalicílico, el cual se basa en un análisis colorimétrico. El procedimiento fue el siguiente: la determinación se efectúa usando ácido 3,5-dinitrosalicílico como desarrollador de color. Se prepararon patrones de glucosa a diferentes concentraciones para la obtención de una curva de calibración, se ejecutaron lecturas de absorbancia a 546 nm de longitud de onda en un espectrofotómetro (Zuzi UV-4200, España). El contenido de ART fue determinado contra la curva patrón y los resultados fueron expresados en g/L. A partir de la dilución apropiada para el hidrolizado objeto de análisis, se extrajeron de la misma 0,5 mL y se adicionaron a un tubo de ensayo, posteriormente se le añaden 0,5 mL del reactivo desarrollador de color (ácido 3,5-dinitrosalicílico) y se

coloca en baño de agua termostataado (Midingen / Sitz Freital, Alemania) por 10 min a 100°C. Seguidamente se deja en reposo hasta que la disolución alcance la temperatura ambiente y se le agregan 1,2 mL de agua destilada, a continuación se lee en el espectrofotómetro (Zuzi UV-4200, España) a una longitud de onda de 546 nm. Los valores alcanzados se ajustaron por mínimos cuadrados, lográndose la ecuación mejor ajustada a los valores experimentales, mediante la cual se calculan las concentraciones de las muestras problemas. La ecuación para el cálculo de los ART se presenta a continuación:

$$c(\text{ART}) = \frac{(\text{Absorbancia})}{m} * D \quad (\text{Ecuación 2.5})$$

Donde:

c (ART): contenido de ART.

m: pendiente de la curva patrón.

D: disolución.

2.2.7. 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.*, 1998c). 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±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 interface para realizar los análisis, obtener los resultados y controlar todo el sistema.

2.3. Pretratamiento acetosolv

Como método de deslignificación se utilizó un pretratamiento acetosolv, utilizando ácido acético como disolvente orgánico. El pretratamiento acetosolv se realizó a 121°C empleando como agente deslignificante una disolución acuosa de ácido acético al 95% en masa y 0,2 % de ácido clorhídrico como catalizador con una relación líquido-sólido de 9:1(Rodríguez, inédito). Este tratamiento tuvo lugar en un frasco roscado de 500 mL donde se utilizaron 30 g de la materia prima en 300 g de la disolución de ácido acético previamente preparada de acuerdo a la concentración prevista, los frascos se mantuvieron en un autoclave durante 1 h. Al concluir ese tiempo, se deja enfriar el autoclave hasta 70°C, se retiran los frascos, y su contenido fue filtrado a vacío. El residuo sólido fue lavado primero con dos volúmenes de la disolución de ácido acético utilizada en el proceso y luego con agua destilada, hasta alcanzar un pH neutro. Los sólidos lavados fueron secados a temperatura ambiente por 4-5 h, y posteriormente a 80°C durante 24h. Finalmente, fueron pesados los sólidos para determinar el rendimiento de pulpa y fue realizada la siguiente caracterización: por ciento de humedad, cenizas, hidrólisis ácida analítica y contenido de lignina. El licor del primer lavado fue mezclado con el filtrado obtenido anteriormente y guardado a 4°C, posteriormente a esta fracción líquida, se le determinó el volumen obtenido, el pH y el contenido de ART, además fue analizado mediante HPLC para determinar los azúcares. También fue determinado el porcentaje de lignina y hemicelulosas solubilizadas.

2.3.1. Parámetros de caracterización físico-química para las pulpas sólidas obtenidas en el pretratamiento acetosolv

En la caracterización físico-química de las pulpas sólidas obtenidas en el pretratamiento acetosolv se tuvo en cuenta el por ciento de humedad, el rendimiento de sólidos alcanzados y los principales componentes de los materiales lignocelulósicos: la celulosa, hemicelulosas, lignina, extractivos y cenizas. Todos éstos materiales y métodos fueron descritos en el epígrafe 2.2.

2.3.2. Parámetros de caracterización físico-química para los licores producidos en el pretratamiento acetosolv

En la caracterización de los licores producidos por el pretratamiento acetosolv se tuvo en cuenta medir el pH y el contenido de azúcares reductores totales (ART), descrito en 2.2.6.

2.4. Diseño estadístico en la etapa de deslignificación adicional con hidróxido de sodio

La deslignificación adicional con hidróxido de sodio al material obtenido del pretratamiento con ácido acético al 95 % fue realizada aplicando un diseño de experimentos de superficie de respuesta compuesto central, de tres factores y tres niveles. Los factores con sus niveles corresponden a la temperatura (80, 100 y 120⁰C), un tiempo de (60, 90 y 120 min) y una concentración de hidróxido de sodio de (0,5; 1,25 y 2%). Las variables de respuestas que se utilizaron fueron los contenidos de lignina, de hemicelulosas y de celulosa (Tabla 2.1, Anexos).

Todos los experimentos fueron realizados por triplicado. Los resultados experimentales fueron procesados estadísticamente usando los programas *Microsoft Excel 2007* y *STATGRAPHICS Plus versión 5.0 para Windows*. Para cada resultado se calculó la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación. Se comprobó la significación de las diferencias observadas entre distintos parámetros.

2.4.1. Parámetros de caracterización físico-química para las pulpas sólidas obtenidas en pretratamiento adicional con hidróxido de sodio

Para la caracterización de las pulpas sólidas fue determinado el por ciento de humedad, el rendimiento de sólidos alcanzados y los principales componentes de los materiales lignocelulósicos: la lignina mediante lignina de Klason, descrito en el epígrafe 2.2.5, la celulosa y las hemicelulosas mediante cromatografía líquida de alta precisión (HPLC), este método fue descrito en el epígrafe 2.2.7.

2.4.2. Parámetros de caracterización físico-química para los licores producidos en el pretratamiento adicional con hidróxido de sodio

En la caracterización de los licores producidos por el pretratamiento adicional con hidróxido de sodio se tuvo en cuenta medir el pH y el contenido de azúcares reductores totales (ART), descrito en el epígrafe 2.2.6.

2.4.3. Hidrólisis enzimática

Con el objetivo de estudiar la susceptibilidad de los materiales sólidos al ataque de las enzimas y el efecto que el pretratamiento tuvo sobre estos, se realiza la fase de hidrólisis enzimática. En la misma las muestras sólidas obtenidas de cada tratamiento, así como a la materia prima sin someter a tratamiento, son sometidas a la hidrólisis enzimática.

La hidrólisis enzimática se lleva a cabo utilizando enzimas celulasas, las enzimas empleadas fueron la Celluclast 1.5 L con una actividad enzimática de 80 FPU/mL y Novozym 188.

La hidrólisis enzimática se llevó a cabo en tubos de Eppendorf de 1,5 mL de capacidad, a los cuales se le adicionó 0,03 g de muestra en 940 μ L de disolución tampón de citrato 0,1 mol.L⁻¹ para garantizar un pH de 4,8, se introdujo en una incubadora con agitación Vortemp 56 (Woodbridge, NJ, USA) a una temperatura de 50°C durante 10 minutos para garantizar una temperatura adecuada para las enzimas, se le adicionó 8 μ L de Celluclast 1.5 L y 32 μ L de Novozym 188 y se incubó a 50°C y 150 rpm durante 72 h. Al concluir el tiempo de reacción, se sacaron los tubos de la incubadora y dejándolos reposar durante 1h a temperatura ambiente, se tomaron 100 μ L del líquido sobrenadante, del cual se tomó una porción para determinar la concentración de azúcares reductores totales y el resto fue filtrado a vacío para determinar el por ciento de rendimiento de sólido. La ecuación para el cálculo de la convertibilidad enzimática se presenta a continuación:

$$CH = conc.(ART) * 0.9 \quad \text{(Ecuación 2.6)}$$

$$CE = \frac{CH}{CB} * 100 \quad (\text{Ecuación 2.7})$$

Donde:

CH: celulosa hidrolizada.

CE: convertibilidad enzimática.

CB: celulosa en biomasa.

2.5. Descripción de la metodología de cálculo empleada para el diseño del reactor

La construcción de los aparatos debe tener en cuenta que la alta calidad se expresa en alta eficacia del proceso tecnológico y en el rendimiento de éste; en larga vida de servicio, en economía, en seguridad, solidés, comodidad y sencillez del mantenimiento durante la explotación que depende tanto de la calidad de construcción, como de la de fabricación y en la forma constructiva del aparato, que debe satisfacer los requisitos de la estética técnica.

Para lograr el máximo nivel en todos los medidores antes expuestos, es preciso apoyarse en la metodología de cálculo para el diseño de reactores. Analizar la misma, es el objetivo de este epígrafe.

2.5.1. Parámetros principales para el cálculo

Los parámetros principales de cálculo que se usan para elegir el material de construcción y calcular la resistencia de los elementos del aparato son la temperatura y la presión durante el proceso de servicio (Laschinski, 1988).

2.5.2. Presión

Las presiones se dividen en: la de servicio (P) y la de cálculo (P_{cal}).

La presión de servicio es la excesiva máxima del medio en el aparato cuando el proceso ocurre normalmente sin tener en cuenta la elevación admisible de la presión por un breve tiempo cuando actúa el órgano de seguridad (válvula).

La presión de cálculo es la de servicio máxima admisible, para la cual se calculan la resistencia y la estabilidad de los elementos del aparato con su temperatura máxima.

2.5.3. Temperatura

La temperatura se divide en: la de servicio y la de cálculo.

La temperatura de servicio es la del medio contenido o labrado dentro del aparato, cuando el proceso tecnológico se desarrolla normalmente.

La temperatura de cálculo es la que sirve para determinar las características físico-mecánicas del material de construcción y sus tensiones admisibles. Esta se determina a base de un cálculo térmico o de los resultados de ensayos. En caso que sea imposible realizar el cálculo térmico, o cuando la temperatura de uno de los elementos del aparato puede elevarse en el proceso de la explotación hasta la del medio de contacto, la temperatura de cálculo se aceptará igual a la de servicio, pero no menor de 20°C.

2.5.4. Material de construcción

Al elegir el material de construcción, como criterio básico se toma, su resistencia química y a la corrosión en un medio dado. Habitualmente se elige un material de resistencia absoluta o suficiente en un medio que contenga sus parámetros de servicio, agregándose a los espesores de cálculo para la corrosión sobreespesores correspondientes según el plazo de servicio del aparato.

Otro criterio, a base del cual se elige el material, es la temperatura de cálculo de las paredes del aparato, en caso de que ésta resulte positiva para los aparatos instalados al descubierto.

Mientras tanto, se debe tener en cuenta que las propiedades de resistencia de todos los metales y aleaciones se reducen, como regla, con el aumento de la temperatura, elevándose con su rebaja (Laschinski, 1988).

2.5.5. Tensiones admisibles de los aceros

La tensión admisible con las cargas estáticas para el estado de trabajo (Mijalev, 1987) es:

$$[\sigma] = N * \sigma^* \quad \text{(Ecuación 2.8)}$$

Siendo:

σ^* : La tensión normativa admisible para la temperatura de trabajo;

N: el coeficiente de corrección que tiene en cuenta la forma de pieza bruta;

2.5.6. Módulo de elasticidad longitudinal

Los valores de cálculo del módulo de elasticidad longitudinal (E) se seleccionan en función de la temperatura para los aceros aleados y al carbono (Laschinski, 1988).

2.5.7. Coeficiente de resistencia de las uniones soldadas

El coeficiente de resistencia de las uniones soldadas (φ) caracteriza la resistencia de unión en comparación con la resistencia del metal base.

Los valores de φ se seleccionan en función de la estructura y procedimientos de unión, para los aparatos fabricados de acero, aluminio, cobre y titanio (Mijalev, 1987).

2.5.8. Cálculo de los sobreespesores.

No se puede perder de vista la adición de los sobreespesores para los espesores calculados, debido a que es necesario que el reactor sea un equipo confiable en un período de 20 años, período este que estará sometido a la influencia de un medio altamente agresivo, si de corrosión se trata.

Este espesor se adiciona por la fórmula que se muestra a continuación (Mijalev, 1987).

$$C = C_1 + C_2 + C_3 \quad \text{(Ecuación 2.9)}$$

Donde:

C₁: es la adición para compensar la corrosión y erosión;

C₂: es la adición para compensar la tolerancia negativa;

C₃: es la adición tecnológica.

Nota: C₂ y C₃ no se considerarán debidos a sus valores tan pequeños, que serán compensadas al normalizar los espesores de las láminas.

$$C_1 = v_c * T_{ser.} + C_{er.} \quad (\text{Ecuación 2.10})$$

Donde:

C_{er}: adición para compensar la erosión;

T_{ser}: plazo de servicio del aparato;

v_c: velocidad de corrosión.

2.5.9. Cálculo de los tambores cilíndricos cargados con la presión interior.

El espesor de la pared se determina por las fórmulas:

$$Scal = \frac{Pcal * D}{2 * [\sigma] * \varphi - Pcal} \quad (\text{Ecuación 2.11})$$

$$S \geq Scal + C$$

Donde:

φ : Coeficiente de resistencia de las uniones soldadas;

Para comprobar la resistencia es preciso que se cumpla la condición siguiente:

$$Pcal \leq [P]$$

Donde:

$$[P] = \frac{2 * [\sigma] * \varphi * (S - C)}{D + (S - C)} \quad (\text{Ecuación 2.12})$$

2.5.10. Selección de bridas.

En los aparatos químicos para las conexiones desmontables de sus cuerpos combinados y de sus partes aisladas se usan las uniones de brida preponderantemente de forma redonda. Con bridas se acoplan a los aparatos los tubos, sus accesorios, etc. Las uniones embridadas han de ser sólidas, rígidas, herméticas y accesibles para armar, desarmar e inspeccionarlas. Ellas están estandarizadas para los tubos y sus accesorios y aparte para los aparatos. Su construcción se admite según los parámetros de servicio del aparato (Laschinski, 1988).

Las construcciones de las bridas de acero estandarizadas para los aparatos tienen límites en su aplicación según la temperatura de cálculo y del material (Laschinski, 1988).

2.5.11. Mezclado y Agitación.

Se entiende por agitación la operación por medio de la cual se inducen movimientos violentos en el seno de un fluido o de cualquier masa que presente cierta fluidez. La agitación de un medio líquido generalmente tiene el fin de homogenizar el sistema con respecto a una propiedad dada (concentración, temperatura) por medio del mezclado de los diferentes componentes o zonas del mismo. Por tanto, el efecto de la agitación eficiente es siempre el mezclado de dos o más sustancias, fases o zonas del sistema, a menos que se trate de la agitación de un medio homogéneo.

Hasta ahora, la mayoría de las operaciones de mezclado se llevan a cabo por medio de la agitación mecánica del medio, mediante el uso de propelas, turbinas o paletas, o por medio del burbujeo de gases.

2.5.12. Selección de la paleta.

El tipo de agitador (paleta) a emplear se selecciona siguiendo recomendaciones (Réshetov, 1982).

Deben tenerse en cuenta la viscosidad del fluido (μ) y el número de revoluciones (n) a la que se desea que rote la paleta; así como la relación entre la altura (H) del líquido en el recipiente y su diámetro (D).

También en este caso se tendrá en cuenta los tabiques verticales (Rosabal, 2006) que se halla con el número de Froude:

$$Fr = \frac{d \cdot n^2}{g} \quad \text{(Ecuación 2.13)}$$

n : velocidad de rotación del agitador

g : aceleración de la gravedad

d : diámetro del agitador.

En las recomendaciones como es lógico no se tiene en cuenta el espesor de la paleta. Esta depende de la resistencia que oponga el medio al movimiento y del material que se utilice para su fabricación.

Para determinar el espesor se emplea el criterio de resistencia de la paleta a la flexión:

$$h \geq \sqrt{\frac{6 \cdot A \cdot d}{b \cdot [\sigma]}} \quad (\text{Ecuación 2.14})$$

Donde:

$[\sigma]$: Tensión admisible por el material

A: Fuerza de arrastre que provoca el fluido en sentido opuesto al movimiento (Streeter, *et al*; 2008)

b = ancho de la paleta

La fuerza de arrastre se determina:

$$A = C_D \cdot A_p \cdot \rho \cdot \frac{V^2}{2} \quad (\text{Ecuación 2.15})$$

Siendo:

C_D : Coeficiente de arrastre.

A_p : Área de proyección del cuerpo en un plano perpendicular al flujo.

ρ : Densidad de la mezcla

V: Velocidad

$$V = \frac{d}{2} \cdot w \quad (\text{Ecuación 2.16})$$

w: velocidad angular.

2.5.13. Cálculo de la potencia necesaria para mover el fluido.

Para encontrar la potencia se necesita el valor de K_n donde $K_n = f(Re_m)$ (Rosabal, 2006).

$$Re_m = \frac{n \cdot d^2}{\gamma} \quad (\text{Ecuación 2.17})$$

Donde:

γ : Viscosidad

Se ve afectado K_n por el valor $\left(\frac{H}{D}\right)^{0.5}$ porque $H \neq D$ y H es la altura del fluido en el aparato.

$$K_n = \frac{N}{\rho \cdot n^3 \cdot d^5} \quad (\text{Ecuación 2.18})$$

Donde:

N: Potencia

Despejando en la ecuación de K_n obtenemos el valor de la potencia necesaria para mover el fluido.

2.5.14. Soportes del aparato.

Los aparatos químicos se instalan sobre cimientos o construcciones sustentadoras especiales, en la mayoría de los casos con ayuda de soportes.

Los soportes se dividen según la posición de servicio en los aparatos verticales y los horizontales.

Los aparatos verticales suelen instalarse en montantes, si los disponen en la parte interior del local y en patas suspendidas, si el aparato se ubica entre los pisos del edificio.

Los aparatos con la correlación entre su altura y diámetro $H/D > 5$ que se ponen en un área abierta se instalan sobre los así llamados soportes de faldas.

Todos los soportes para los aparatos soldados de acero están estandarizados (Mijalev, 1987).

Los soportes propiamente dichos no se comprueban por el cálculo, sino que se eligen normales para una carga requerida. Debe calcularse el tambor del aparato cilíndrico que experimenta las cargas locales provocadas por las patas de apoyo.

2.5.15. Cálculo del aislante térmico

La transmisión de calor a partir de un líquido caliente hacia uno frío a través de la pared que los separa, se llama proceso de termo transferencia. En el presente epígrafe se examina que haya un mínimo de pérdida de energía al medio cuando

ocurre este fenómeno. Para esto se utilizará un aislante térmico, donde determinar su espesor será el principal objetivo a alcanzar.

Consideremos el problema de la transmisión de calor a través de una pared plana homogénea, o compuesta, que separa dos fluidos en movimiento.

Esto será así, si se cumple la condición que plantea que el diámetro interior sea mayor que la mitad del exterior ($d_{int} > 0,5 * d_{ext}$) (Pavlov *et al.*, 1981).

Este proceso implica un flujo de calor desde el fluido a mayor temperatura hacia la pared, la conducción del calor a través de éstas y el transporte desde la pared al fluido más frío.

Sean unas paredes planas y homogéneas de espesor δ de la que se conocen los datos siguientes:

λ : Conductividad térmica de las paredes.

t_{f1} y t_{f2} : Temperatura de los fluidos.

α_1 y α_2 : Coeficientes locales de transmisión superficial de calor.

Suponiendo, además, que t_{f1}, t_{f2}, α_1 y α_2 son constantes para toda la superficie; esto permite suponer que la temperatura de los fluidos y de la pared solo varían en dirección normal a ésta.

Para las condiciones dadas es necesario encontrar la cantidad de calor que emana desde el fluido caliente al frío y las temperaturas de las superficies de la pared.

La densidad de flujo de calor (q) que pasa del fluido caliente a la pared se determina con la ecuación:

$$q = \alpha_1 * (t_{f1} - t_{w1}) \quad \text{(Ecuación 2.19)}$$

Siendo t_{w1} la temperatura de la pared que ésta en contacto con el fluido caliente.

En régimen estacionario, esta misma cantidad de calor se transmitirá por conducción a través de las paredes:

$$q = \frac{\lambda_1}{\delta_1} * (t_{w1} - t_{w2}) \quad \text{(Ecuación 2.20)}$$

$$q = \frac{\lambda_2}{\delta_2} * (t_{w2} - t_{w3}) \quad \text{(Ecuación 2.21)}$$

Donde:

t_{w2} : Temperatura que aparece en el punto de contacto entre las dos paredes.

t_{w3} : Temperatura de la pared que está en contacto con el medio ambiente.

La misma cantidad de calor se trasmite desde la superficie de la pared al fluido frío.

$$q = \alpha_2 * (t_{w3} - t_{f2}) \quad (\text{Ecuación 2.22})$$

Despejando el espesor en la ecuación 2.21 se obtiene la dimensión del aislante que se estaba buscando (Kasatkin, 1981):

$$\delta_2 = \frac{\lambda_2}{q} * (t_{w2} - t_{w3}) \quad (\text{Ecuación 2.23})$$

También es preciso conocer que en la emisión calorífica durante la condensación pelicular del vapor por una superficie plana o cilíndrica vertical de (h) de altura, siendo laminar la corriente de la película de condensado, la fórmula teórica de Nusselt con corrección en la formación de ondas en la película (siendo $\rho_{liq} \gg \rho_v$)

es:

$$\alpha_1 = 1,15 * \sqrt[4]{\frac{\lambda_{liq}^3 * \rho_{liq}^2 * r * g}{\mu * \Delta t * h}} \quad (\text{Ecuación 2.24})$$

Donde:

$$\Delta t = t_{cond} - t_{pared} \quad (\text{Ecuación 2.25})$$

g : Aceleración de la gravedad.

λ_{liq} : Conductividad térmica de la película de condensado.

ρ_{liq} : Densidad de la película de condensado.

μ : Coeficiente dinámico de viscosidad de la película de condensado.

r : Calor de vaporización.

Estos valores de las constantes físico-químicas del líquido se determinan con suficiente exactitud para los cálculos técnicos en cualquier tabla de propiedades del agua, entrando con la temperatura del condensado (Pavlov *et al.*, 1981).

Atendiendo a recomendaciones de valores aproximados de los coeficientes de transmisión de calor, se asume que $\alpha_2 = 8 W/m^2 * ^\circ C$. (Krasnoschiokov, 1986).

Capítulo 3: Análisis de los Resultados

3.1. Composición de la materia prima.

En el análisis químico realizado a la biomasa de marabú se muestra que es un material con una composición apropiada para distintos aprovechamientos, siendo posible su utilización en la obtención de productos de alto valor agregado. El contenido de carbohidratos representa alrededor de 60 % en masa, siendo la celulosa el componente que constituye casi un 44 % de la masa seca (Tabla 3.1), siendo potencialmente el marabú una materia prima a tener en cuenta para las biorrefinerías, con el fin de obtener etanol celulósico, ácido láctico y otros productos derivados de la celulosa y las hemicelulosas, tales como el papel, acetato de celulosa, ácido levulínico, reactivos químicos y nylon (Figura 3.1, Anexos).

Los resultados obtenidos del contenido de carbohidratos a través de estos análisis fueron confrontados con trabajos científicos realizados en años anteriores con este material (Rodríguez, 2011; Soudham *et al.*, 2011; Triana, 2011), señalando así que no corresponde en su totalidad en el contenido de celulosa y hemicelulosas, exhibiendo esta muestra mayor contenido de celulosa y menor de hemicelulosas, resultados que han sido reportados en otras fuentes consultadas plantean que la composición de los materiales lignocelulósicos depende de la edad, la estación del año, el terreno y otros factores externos (Obolenskaja, 1986).

Tabla 3.1. Composición química de la biomasa de marabú.

Componentes	Contenido (% en masa)
Celulosa	43,73
Hemicelulosa	17,93
Lignina	29,07
Extractivos	5,37
Cenizas	2,76
Desconocido	1,14

La lignina es el segundo componente de mayor importancia, ya que reportó el análisis un contenido de 29,07 % dentro de la biomasa del marabú. Este resultado es comparable con bibliografías consultadas (Rodríguez, 2011; Soudham *et al.*, 2011; Triana, 2011) y con el contenido de este componente en muchas especies de maderas blandas y superior a la mayoría de las maderas duras (Fengel y Wegener, 1989). El componente de mayor poder calórico de los materiales lignocelulósicos es la lignina, por su alto contenido, esto explica el uso energético del marabú. Ese elevado contenido de lignina justifica el empleo de métodos deslignificantes, como el tratamiento acetosolv, en la refinación del marabú, trabajo ya iniciado en la Universidad de Matanzas (Rodríguez *et al.*, inédito; Rodríguez, 2011; Soudham *et al.*, 2011; Triana, 2012).

Las hemicelulosas, presentando un 17,93%, resultaron ser el tercer componente más abundante en el marabú (Figura 3.2, Anexos), están compuestas por un conjunto heterogéneo de monosacáridos, en este caso se destacan la xilosa y la galactosa.

El contenido de sustancias extractivas y componentes minerales encontrados es comparable con el de otros muchos materiales lignocelulósicos comunes y con los determinados anteriormente en la Universidad de Matanzas (Rodríguez *et al.*, inédito; Rodríguez, 2011; Soudham *et al.*, 2011; Triana, 2011). La caracterización fraccional de las sustancias extractivas es otra línea de interés para futuras investigaciones.

Una fracción sólida de la materia prima, fue sometida a una etapa de hidrólisis ácida analítica, con el objetivo de cuantificar los azúcares presentes en ella, haciendo uso de la cromatografía líquida de alta precisión (HPLC), descrita anteriormente (epígrafe 2.2.7). Como resultado se obtuvo que el 48,58 % es glucosa, 15,09 % es xilosa y 2,83 % es galactosa, para un total de 66,50 % de monosacáridos en esta fracción, de igual manera se determinó el contenido de los polisacáridos presentes en el material, como son: glucanos, xilanos y galactanos, reportando valores de 43,72 %, 13,28 % y 2,55 % respectivamente, se puede

observar gráficamente el contenido de los azúcares presentes en la biomasa de marabú en la (Figura 3.3, Anexos).

3.2. Pretratamiento acetosolv.

La primera etapa del proceso de deslignificación de la biomasa de marabú consistió en tratar la materia prima con ácido acético al 95 %, catalizado con ácido clorhídrico, según se describe previamente (epígrafe 2.3). El sólido obtenido (pulpa) se caracterizó para conocer su composición y valorar la efectividad del pretratamiento, los resultados de la caracterización de la pulpa se muestran gráficamente en la Figura 3.4.

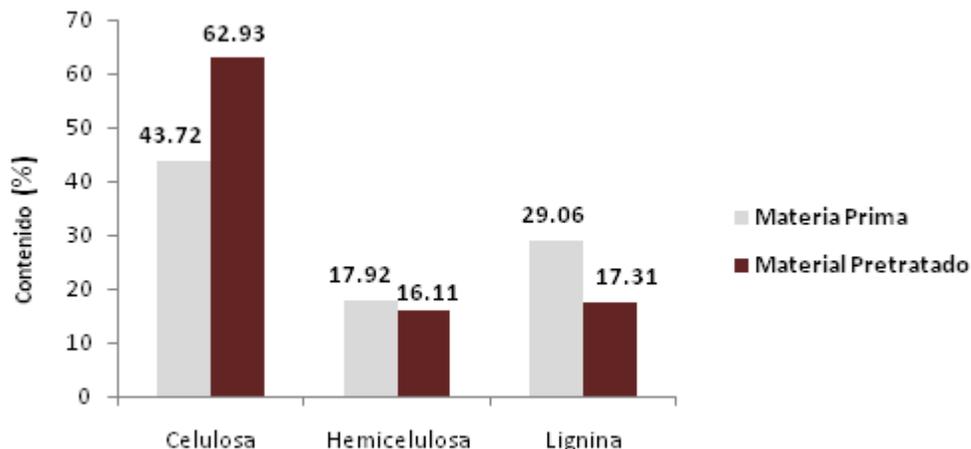


Figura 3.4. Caracterización de la biomasa y pulpa de marabú.

Para facilitar el análisis de los carbohidratos en los sólidos tratados se utilizó un procedimiento para determinar la celulosa y las hemicelulosas haciendo uso de la cromatografía líquida de alta precisión (HPLC).

En el pretratamiento acetosolv una porción del material se solubilizó obteniéndose un 88,55 % de rendimiento de sólidos. Los componentes solubilizados fueron una fracción considerable de lignina y una pequeña porción de las hemicelulosas, reportándose además los valores que representan los azúcares presentes en la torta como glucanos con un contenido de 56,64 % y xilanos con un 14,18 %, que se pueden apreciar en la (Figura 3.5, Anexos).

Como consecuencia de la solubilización de la lignina y las hemicelulosas se

incrementó el contenido de celulosa en la torta, obteniéndose un material con un 62 % de celulosa (Figura 3.4), muy superior al de la materia prima; aspecto importante a enfatizar, si se pretende aplicar una hidrólisis enzimática.

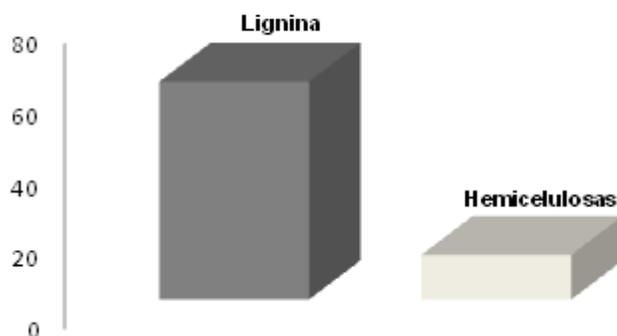


Figura 3.6. Solubilización de la lignina y las hemicelulosas en el pretratamiento acetosolv.

En la Figura 3.6 se puede apreciar que el ácido acético al 95 % en masa, a la temperatura de 121°C y con un tiempo de reacción de 1h, catalizado con ácido clorhídrico logra solubilizar un 61,23 % de la lignina contenida en la biomasa de marabú, siendo un método de deslignificación apropiado para esta materia prima, alcanzándose pulpas ricas en celulosa.

Al comparar los valores de solubilización de la lignina obtenidos a raíz del pretratamiento de la materia prima utilizada en el presente trabajo con los alcanzados por Triana; (2011), mediante la deslignificación con Glicerol, se aprecia un resultado mayor que los alcanzados por el mencionado autor, señalando que el pretratamiento acetosolv presenta mayor efectividad (Tabla 3.2, Anexos).

3.3. Deslignificación adicional con hidróxido de sodio.

La deslignificación adicional con hidróxido de sodio a la pulpa obtenida mediante el pretratamiento acetosolv fue realizada aplicando un diseño de experimentos de superficie de respuesta compuesto central, con tres factores y a tres niveles como se describe previamente en el epígrafe 2.4. La pulpa obtenida del pretratamiento acetosolv presenta un contenido de lignina de 17,31 % por lo que según la

bibliografía consultada es aplicable la hidrólisis alcalina para reducir el contenido de lignina en el material (Sun y Cheng, 2002).

El rendimiento de sólidos obtenidos de la deslignificación adicional con hidróxido de sodio se refleja en la Figura 3.7.

Como puede observarse los rendimientos más bajos se lograron en los experimentos 7 y 10 con valores de 50,1 y 58,0 % respectivamente, donde el experimento 7 consta de un tiempo máximo de 140 min y a su vez el experimento 10 tiene de igual modo un valor máximo de temperatura (130°C), por lo que la acción hidrolítica del hidróxido de sodio en estas condiciones es marcada, también se puede apreciar que el mayor rendimiento es alcanzado en el experimento 3 (99,35 %), ya que el mismo corresponde a un punto estrella con una concentración de hidróxido de sodio igual a 0%, afectando el contenido de celulosa (Tabla 3.3, Anexos), por lo que no son recomendables.

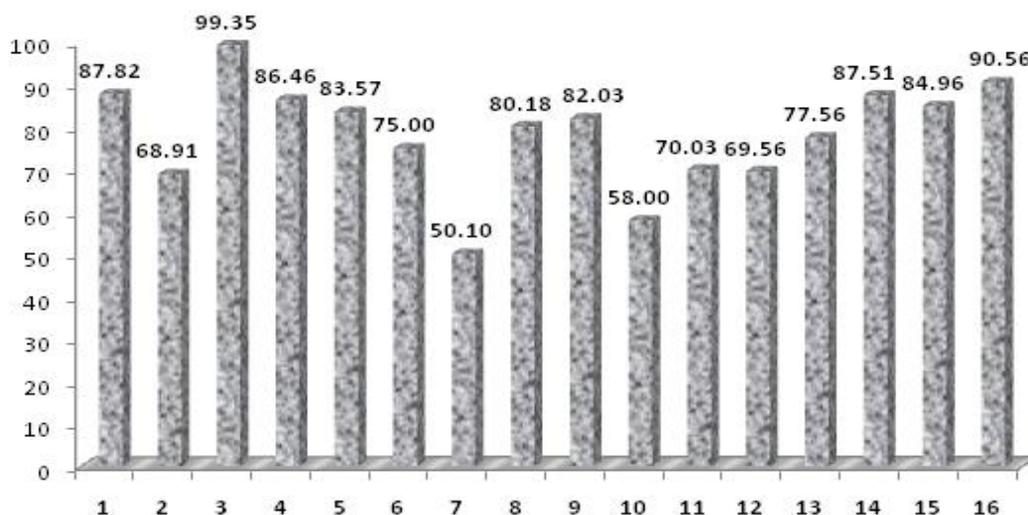


Figura 3.7. Rendimiento de pulpa en la deslignificación adicional (%).

Los sólidos obtenidos de la deslignificación adicional fueron caracterizados químicamente para determinar el contenido de celulosa, hemicelulosas y lignina en los mismos, para esto se sometieron a análisis químico, los resultados se examinaron haciendo uso de la cromatografía líquida de alta precisión (HPLC), brindando el contenido de los azúcares en las muestras, reportados como glucanos, xilanos y galactanos que se muestran en la (Figura 3.8, Anexos),

permitiendo compararlos entre sí y con el contenido de los azúcares en la materia prima y en el material pretratado con ácido acético.

Puede apreciarse fundamentalmente, que el experimento 2 presenta el mayor contenido de glucanos, de igual manera se observa que el experimento 3 presenta el contenido más bajo de los mismos, debido a la ausencia de hidróxido de sodio en el tratamiento, destacando que la deslignificación adicional reportó excelentes resultados.

Los resultados experimentales del pretratamiento adicional con hidróxido de sodio se muestran en la Tabla 3.3, donde se expresa el menor contenido de lignina (4,49 %) en el experimento 2, que corresponde a un punto estrella, que consta con la mayor concentración de hidróxido de sodio (2,5 %), una temperatura de 100°C y un tiempo de 90 min., por otro lado puede apreciarse que con una disminución de la concentración de hidróxido de sodio incrementa gradualmente el contenido de lignina en las muestras analizadas, reportándose valores del contenido de lignina entre 5,13 y 6,41 % cuando el por ciento de hidróxido de sodio es 2 % (experimentos 8, 9, 11 y 12), con 1,25 % de hidróxido de sodio (experimentos 5, 6, 7, 10, 13 y 16), el contenido de lignina se comporta entre 7,69 y 11,54 %, y cuando el por ciento de hidróxido de sodio es de 0,5 % (experimentos 1, 4, 14 y 15), el contenido de lignina está entre 13,47 y 15,39 %, lo que evidencia que la concentración de hidróxido de sodio y la deslignificación de la pulpa, se encuentran directamente proporcional, lo que significa que con un incremento de la concentración de hidróxido de sodio, la deslignificación de la pulpa aumenta.

Con la aplicación en una primera etapa de un pretratamiento con ácido acético al 95 % se puede apreciar la solubilización considerable de la lignina (ver Figura 3.6) en el disolvente, la segunda etapa de deslignificación alcalina disminuyó en gran medida el contenido de lignina en la biomasa de marabú. El análisis de significación reveló que el efecto lineal de la concentración de hidróxido de sodio y de la temperatura influyen de manera significativa sobre el contenido de lignina en el material pretratado. El análisis de varianza muestra que los valores del *p-value* son menores que 0.05, para un 95 % de confianza, ver (Figura 3.9, Anexos).

A partir de los resultados experimentales se obtuvo un modelo matemático que correlaciona el porcentaje de lignina con la concentración de hidróxido de sodio y la temperatura (Ecuación 3.1). El modelo permite predecir un contenido mínimo (4,31 %) de lignina. El comportamiento descrito por la variable lignina en el diagrama de superficie de respuesta se puede apreciar en la (Figura 3.10, Anexos).

$$Lignina = 21.0125 - 0.0400345 * Temp. - 5.33924 * Conc. \quad \text{(Ecuación 3.1)}$$

En el experimento 2, en el cual se muestran las condiciones óptimas (Tabla 3.3) de concentración de hidróxido de sodio, temperatura y tiempo, se alcanza una elevada solubilización de la lignina (74,06 %) en el material anteriormente tratado con ácido acético al 95 % (Figura 3.11), recalcando la eficiencia de la etapa de deslignificación adicional.

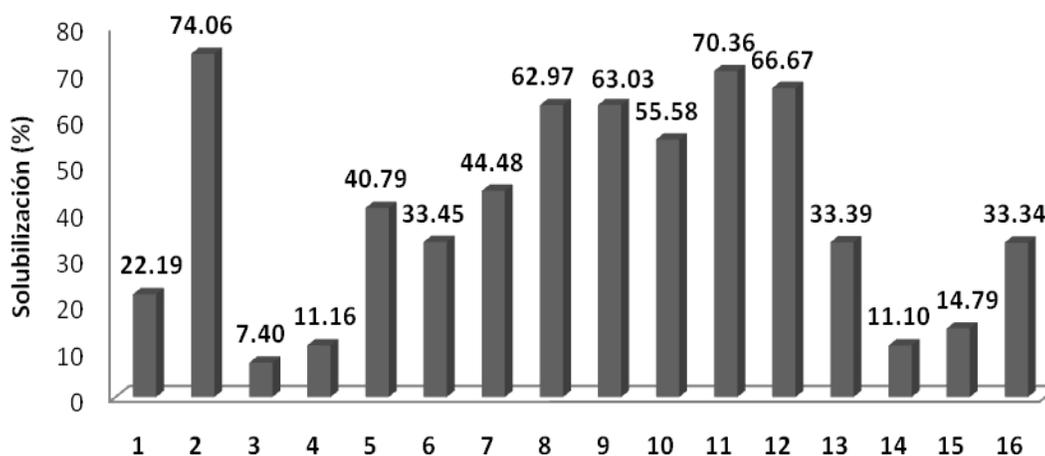


Figura 3.11. Solubilización de la lignina en la deslignificación adicional.

El resultado obtenido es comparable con otros pretratamientos de deslignificación combinados aplicados a la biomasa de marabú en trabajos preliminares, donde se logró una solubilización de la lignina entre 46,6 y 84,8 %, según las condiciones aplicadas (Rodríguez, 2011; Soudham *et al.*, 2011; Triana, 2011).

El contenido de hemicelulosas en el material deslignificado con hidróxido de sodio se observa en la Figura 3.12.

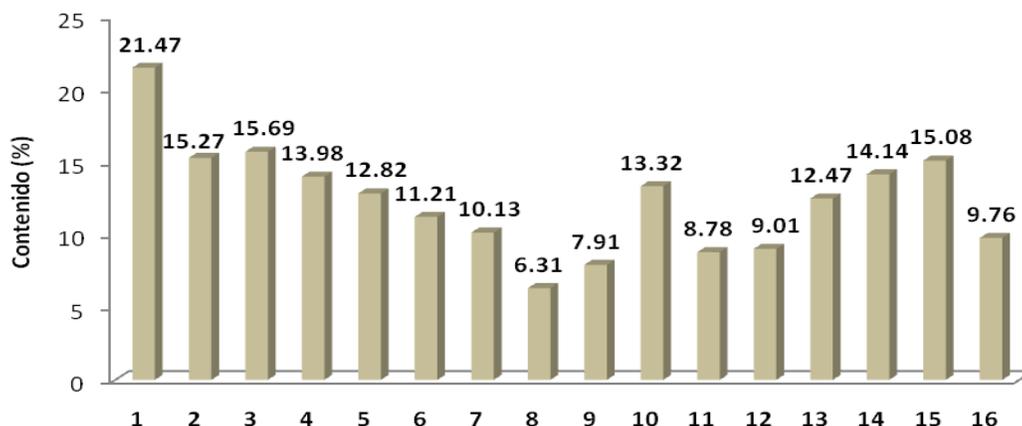


Figura 3.12. Contenido de hemicelulosas en la deslignificación adicional.

En el diagrama de Pareto (Figura 3.13, Anexos), se observa el análisis de significación donde se muestra que el factor que ejerce mayor influencia sobre la solubilización de las hemicelulosas, es la concentración de hidróxido de sodio.

El diagrama de superficie de respuesta que refleja el comportamiento descrito por la variable hemicelulosa se puede apreciar en la (Figura 3.14, Anexos). Se alcanzó un modelo (Ecuación 3.2) que permitió predecir el contenido máximo de PFH en dependencia de las condiciones operacionales. El análisis de varianza muestra que los valores del *p-value* son menores que 0,05, para un 95 % de confianza.

$$\text{Hemicelulosa} = 16.4064 - 3.2576 * \text{Conc} \quad (\text{Ecuación 3.2})$$

El incremento del contenido de celulosa en el material tratado (Tabla 3.3), es el resultado de la solubilización de las hemicelulosas y la lignina (Figura 3.11), como consecuencia de una eficiente etapa de deslignificación adicional.

A través de la figura 3.15 se puede comparar el contenido de celulosa proveniente de la biomasa de marabú. Se aprecia el enriquecimiento en celulosa a medida que es sometido el material a los diferentes pretratamientos, alcanzando un resultado de 80,23 % en el experimento 2 de la deslignificación adicional, arrojando el mismo el mejor resultado, para unas condiciones óptimas de trabajo de 100°C, 90 min y una concentración de hidróxido de sodio de 2,5 %.

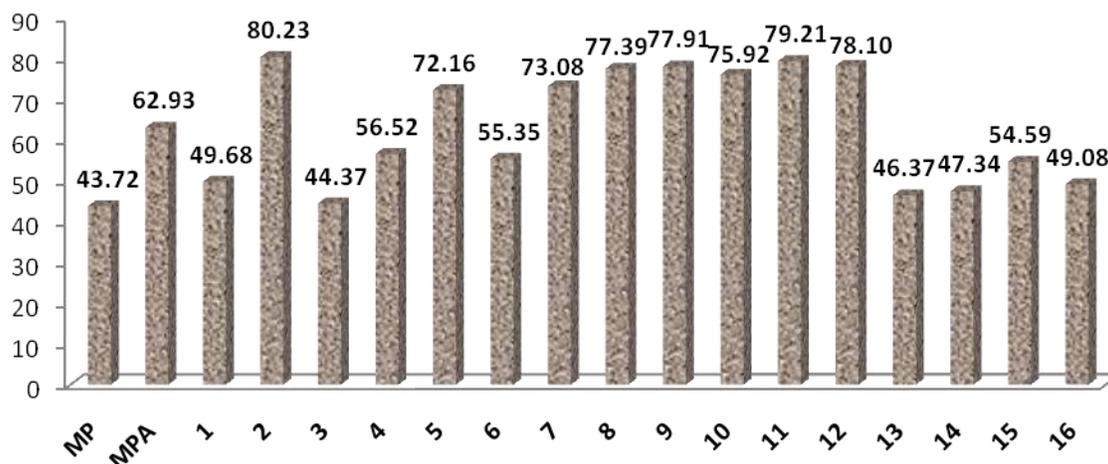


Figura 3.15. Contenido de celulosa.

El análisis del diagrama de Pareto indica que el efecto lineal de la concentración de hidróxido de sodio influye significativamente sobre el contenido de celulosa (Figura 3.16, Anexos). El análisis de varianza muestra que los valores del *p-value* son menores que 0.05, para un 95 % de confianza.

Los resultados experimentales ofrecieron un modelo matemático que muestra la correlación entre el contenido de celulosa y el factor concentración (Ecuación 3.3). El modelo permitió predecir con precisión, un valor máximo de celulosa de 81,01 %, el mismo es de gran importancia no solo para la obtención de alcohol celulósico, sino también para la producción de otros derivados de alto valor agregado. El análisis de varianza muestra que los valores del *p-value* son menores que 0.05, para un 95 % de confianza.

$$Celulosa = 32.472 + 21.90741 * Conc. \quad (\text{Ecuación 3.3})$$

En el diagrama de superficie de respuesta estimada para el contenido de celulosa (Figura 3.17, Anexos), pudo obtenerse el contenido de celulosa máximo en las pulpas en las condiciones óptimas de experimentación.

3.4. Caracterización de los licores obtenidos después de los pretratamientos de deslignificación acetosolv y deslignificación adicional

Los licores obtenidos después de los pretratamientos de deslignificación con ácido acético con una concentración de 95% en masa, a 121°C y un tiempo de reacción

de 1h, catalizado con ácido clorhídrico y los alcanzados posteriores con la deslignificación adicional, fueron sometidos a análisis químico para determinar la concentración de Azúcares Reductores Totales (Figura 3.18), para esto se obtuvo una curva patrón de glucosa.

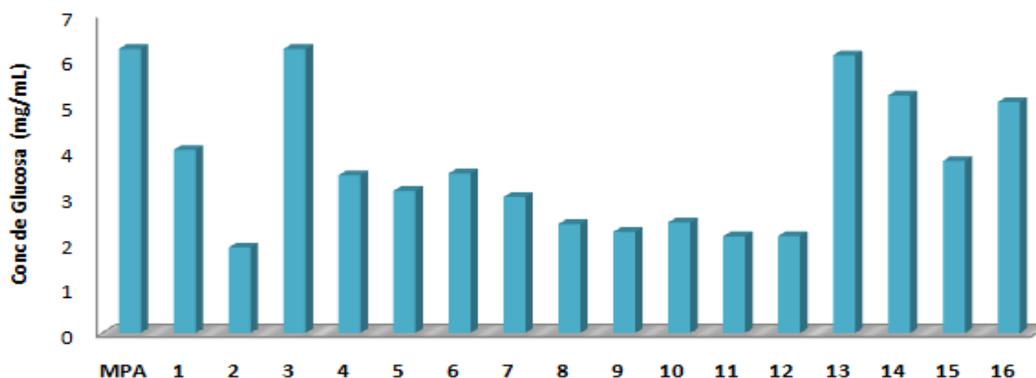


Figura 3.18. Concentración de Azúcares Reductores Totales.

Se puede observar que después de la deslignificación adicional disminuyó la concentración de Azúcares Reductores Totales con respecto al resultado brindado por la deslignificación acetosolv, reportando como el menor valor de concentración de azúcares al experimento 2, debido a que como se pudo apreciar en la Figura 3.11. fue donde se logró el mayor por ciento de solubilización de la lignina, reflejando un comportamiento inversamente proporcional con el mayor contenido de celulosa (Figura 3.15.). A su vez el experimento 3 muestra la mayor concentración de Azúcares Reductores Totales, a raíz de que correspondió a una concentración de hidróxido de sodio de 0%, brindando la menor solubilización de lignina.

3.5. Hidrólisis enzimática

La determinación de la convertibilidad enzimática se realizó según el procedimiento descrito en el epígrafe 2.4.3, a través del esquema (Figura 3.19, Anexos) se puede apreciar los pasos que se tuvieron en cuenta.

Se alcanzó una convertibilidad enzimática relativamente alta en comparación con resultados obtenidos con las pulpas acetosolv y con glicerol (Rodríguez, 2011, inédito, Triana, 2011), en la figura 3.20 se puede apreciar el comportamiento

detallado de la misma. Como se puede observar, en ambos pretratamientos la conversión enzimática de la celulosa en todas las muestras pretratadas fue mayor que en la materia prima, indicando que los pretratamientos fueron efectivos para aumentar la susceptibilidad de la celulosa a la hidrólisis enzimática. Los mayores valores de conversión fueron alcanzados después de la deslignificación adicional, siendo el pretratamiento a concentraciones de hidróxido de sodio de 2,5 % y tiempo de 90 minutos, el que reportara el mayor valor de conversión (85,87 %), constituyendo un resultado importante en el proceso de producción de etanol celulósico.

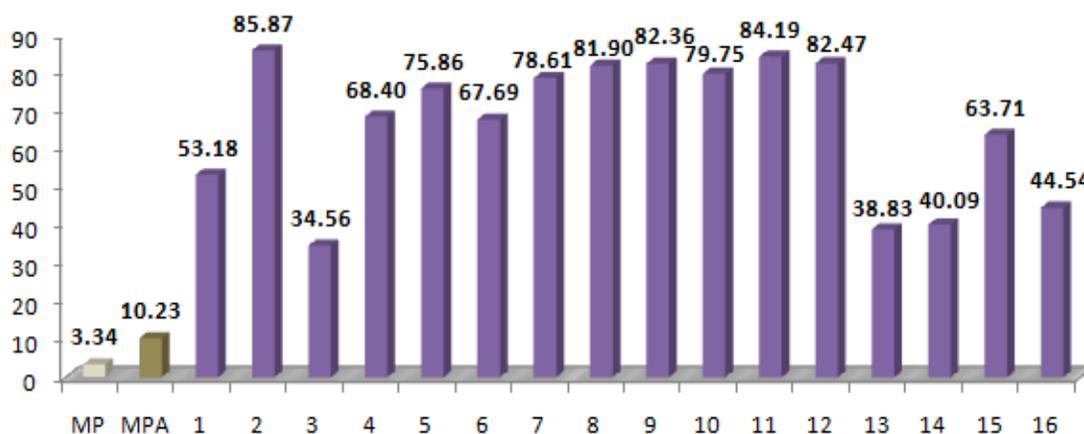


Figura 3.20. Convertibilidad enzimática de la biomasa de marabú pretratado y deslignificado.

3.6. Diseño mecánico de un reactor para la deslignificación acetosolv de la biomasa de marabú

3.6.1. Cálculo de las dimensiones del reactor

Para determinar las dimensiones que tendrá el reactor se tuvo en cuenta un volumen de 0.005 m^3 (Figura 3.21, Anexos).

Para aparatos cilíndricos de acero, cuyos cuerpos se hacen de chapas laminadas se toma como básico el diámetro interior en mm (Laschinski, 1988). Donde se escogió para el cuerpo del reactor $D=150 \text{ mm}$.

Dicho esto solo queda por calcular las alturas del cilindro (L_1) y el volumen de la semiesfera del fondo (V_2).

Para el cuerpo 1:

$$V=Ab*H$$

$$Ab = \frac{\pi * D^2}{4}$$

- V: volumen del cilindro;
- Ab: área de la base;
- H: altura del cilindro (L_1)

$$V_1 = \frac{\pi * D^2}{4} * L_1$$

Despejando la altura se tiene que:

$$L_1 = \frac{4 * V_1}{\pi * D^2}$$

$$\text{Donde } V_1=V_T=0,005\text{m}^3$$

$$L_1=280\text{mm}$$

Para el cuerpo 2:

El volumen de la semiesfera se determina:

$$V_2 = \frac{2}{3} * \pi * \left(\frac{D}{2}\right)^3$$

$$V_2= 0,001\text{m}^3$$

$$L_2=75\text{mm}$$

$$A_{\text{sem}} = \frac{\pi}{2} * D^2$$

$$A_{\text{sem}} = 0,035\text{m}^2$$

3.6.2. Parámetros principales para el cálculo

En el capítulo dos se pudo concluir con que los parámetros principales que se usan para elegir el material de construcción y calcular la resistencia de los elementos del aparato son la temperatura y la presión.

3.6.3. Determinación de las temperaturas y presiones calculadas

$$T_{Cal} = \text{máx. } \{T_{Máx}; 20^{\circ} \text{C}\}$$

$$P_{cal} = P + P_h$$

$$P_h = \rho * g * H$$

$$P_h = 1832 \text{ Pa}$$

$$P_h = 1832 * 10^{-6} \text{ MPa}$$

Analizando la condición: si $\left(\frac{P_h}{P}\right) * 100\% \leq 5\%$

$$0.09\% \ll 5\%$$

Se cumple la condición, como muestra la comparación. Lo que hace concluir que:

$$P_{cal} = P$$

Las presiones hidrodinámicas tanto para el interior del aparato como para la camisa no se tendrán en cuenta, ya que su valor es despreciable en comparación con los valores de las presiones de trabajo.

3.6.4. Selección del material

Se escoge el acero 30X18H11 según la norma GOST equivalente en la AISI al acero 316L. Este acero está dentro de los que cumplen los requisitos necesarios de trabajo que debe tener el aparato una vez fabricado, posee buena soldabilidad y características correspondientes de resistencia y plasticidad, admite mecanizado en frío y en caliente además de poseer buena resistencia a la corrosión.

3.6.5. Determinación de la tensión admisible

A través de la ecuación 2.8 se obtuvieron los siguientes resultados de las tensiones admisibles:

Para chapas laminadas $n=1$

$$[\sigma]_{20} = 240 \text{MPa}$$

$$[\sigma]_{200} = 193 \text{MPa}$$

$$[\sigma]_{pr} = \frac{\sigma_{20}}{1,1}$$

$$[\sigma]_{pr} = 181,82 \text{MPa}$$

3.6.6. Módulo de elasticidad longitudinal del acero

El módulo de elasticidad longitudinal para los aceros al cromo, resistentes al calor y a la corrosión es:

$$E = 1,98 \cdot 10^5 \text{MPa}$$

3.6.7. Determinación de las presiones de prueba

Para cuerpos donde $P_{cal.} > 0,5 \text{MPa}$.

$$P_{pr} = \text{máx.} \left\{ \begin{array}{l} 1,25 P_{excal} \cdot [\sigma]_{20} / [\sigma] = 3,10 \text{MPa} \\ P_{cal} + 0,3 = 2,3 \text{MPa} \end{array} \right.$$

$$P_{pr.} = 2,3 \text{MPa}$$

3.6.8. Coeficiente de resistencia de las uniones soldadas

Atendiendo a la estructura y procedimiento de unión que se prevé para el reactor, se tiene que el coeficiente de resistencia de las uniones soldadas es:

$$\varphi = 0,95$$

3.6.9. Cálculo del sobreespesor

Es preciso adicionar un sobreespesor (C) a los espesores calculados debido a que es necesario que el reactor sea un equipo confiable en un período de 20 años, período este que estará sometido a la influencia de un medio altamente agresivo,

si de corrosión se trata. Mediante las ecuaciones 2.9 y 2.10 se alcanzaron los siguientes resultados:

$C_{er} = 0\text{mm}$, por no haber grandes flujos de fluidos.

La operación arrojó un valor de:

$C = 1,2\text{mm}$

$C_2 = 0$

$C_3 = 0$

$C_{er} = 0\text{mm}$, por no haber grandes flujos de fluidos.

$T_{ser.} = 20$ años.

$v_c = 0,06\text{mm/año}$ → Según (Perry, 2008) utilizado frente a pH ácidos.

$C_1 = 1,2\text{mm}$

3.7. Cálculo de los fundamentales cuerpos del aparato

3.7.1. Cálculo del tambor cilíndrico cargado con la presión interior

Utilizando la ecuación 2.11 se obtuvo el siguiente resultado del espesor de la pared:

$$S_{cal} = 0,00082m$$

luego

$$S = S_{cal} + C$$

$$S = 0,0021m$$

$$S = 2,1\text{mm}$$

Este espesor, aunque no se ha comprobado con la condición de resistencia, parece ser muy pequeño para estar sometido a las exigencias del proceso productivo.

Por lo tanto, siguiendo recomendaciones de (Laschinski, 1988), para normalizar estos cilindros sometidos a la presión interior se decide que el espesor a utilizar sea:

$$S = 6\text{mm}.$$

Para comprobar la resistencia es preciso que se cumpla la condición propuesta:

$$P_{cal} \leq [P]$$

Donde mediante la ecuación 2.12 se alcanza una presión admisible de:

$$[P] = 11.37 \text{ MPa}$$

Como queda demostrado ($2 < 11,37$) se cumple la condición de resistencia y la camisa puede ser conformada por laminas mayores e iguales a 6mm.

3.7.2. Cálculo de la Tapa y Fondo

Fondos y tapas semiesféricas a presión Interior.

$$P > 1 \text{ MPa} \quad T = 300 \text{ °C} \quad P = 2,5 \text{ MPa}$$

✓ Cálculos de las tensiones admisibles del material

$$[\sigma]_{20} = 240 \text{ MPa}$$

$$[\sigma]_{cal} = 167 \text{ MPa}$$

$$[\sigma]_{pr} = 181,82 \text{ MPa}$$

✓ Determinación de la presión de prueba

Para cuerpos donde $P_{cal.} > 0,5 \text{ MPa}$.

$$P_{Pr} = \text{máx.} \left\{ \begin{array}{l} 1,25 P_{excal} \cdot [\sigma]_{20} / [\sigma] = 4.49 \text{ MPa} \\ P_{cal} + 0,3 = 2.8 \text{ MPa} \end{array} \right.$$

$$P_{Pr.} = 4.49 \text{ MPa}$$

✓ A presión interior $P_t = 2.5 \text{ MPa}$

El espesor calculado reflejó un valor de:

$$S_{cal} = 0,0063 \text{ m}$$

$$S_{cal} = 6,3 \text{ mm}$$

$$S = S_{cal} + C$$

$$S = 6,3 + 1.2$$

$$S = 7,5 \text{ mm}$$

$$S = 8 \text{ mm}$$

✓ **Cálculos de la presión admisible**

$$[P] = 2.7 \text{ MPa}$$

$$[P]_{pr} = 2.9 \text{ MPa}$$

✓ **Condición de resistencia**

$$P \leq [P]$$

$$2.5 \text{ MPa} \leq 2.7 \text{ MPa}$$

$$P_{pr} \leq [P]_{pr}$$

$$2.8 \text{ MPa} \leq 2.9 \text{ MPa}$$

Se cumple la condición de resistencia, lo que indica que la tapa puede realizarse con espesores de 8mm o mayores.

Parámetro a los que estará expuesta la tapa durante su explotación:

$$T_{Cal.} = 300^\circ \text{ C}; P_{Cal.} = 2.5 \text{ MPa}; P_{Pr.} = 2.8 \text{ MPa}; [\sigma] = 167 \text{ MPa}; [\sigma]_{Pr.} = 181.82 \text{ MPa};$$

$$[\sigma]_{20} = 240 \text{ MPa}$$

Según tabla 7.8, (Laschinski, 1988):

$$S_f = 8 \text{ mm}; H_f = 75 \text{ mm ver (Figura 3.22, Anexos)}$$

3.8. Selección de Bridas

Para el aparato, se seleccionó una brida plana de acero soldada con lengüeta de unión (Laschinski, 1988).

3.9. Mezclado y Agitación.

Atendiendo a recomendaciones (Rosabal, 2006), se toma un agitador de paletas, ya que se usan ampliamente en la industria química cuando el grado de agitación necesario es pequeño. Este tiene como velocidad máxima recomendada 150rev/min.

3.9.1. Selección de la paleta.

Con los despejes de las respectivas relaciones (Tabla 3.4, Anexos) se encuentra el diámetro (d) y el ancho (b) del agitador.

$$d = 99\text{mm}$$

$$b = 15\text{mm}$$

Para determinar el espesor (h) se emplea el criterio de resistencia de la paleta a la flexión (ecuación 2.14).

Donde se determinó la fuerza de arrastre (A) mediante la ecuación 2.15 y la velocidad (V) a través de la ecuación 2.16.

$$V = 8.03\text{m/s}$$

El coeficiente de arrastre (Streeter, *et al*; 2008) es:

$$C_D = 1,2$$

$$\rho = 826.27 \text{ kg/m}^3$$

$$A_p = 0,0208 \text{ m}^2$$

$$[\sigma] = 167 \text{ N/mm}^2$$

Si se tienen los valores de todas las variables de la ecuación se está en condiciones de determinar el arrastre y luego el espesor de la paleta:

$$A = 0.66 \text{ KN}$$

$$h > 0.19\text{mm}$$

Normalizando:

$$h = 2\text{mm}$$

3.9.2. Cálculo de la potencia necesaria para mover el fluido

$$K_n = f(Re_m)$$

El valor de Re_m se calculó mediante la ecuación 2.17 donde se obtuvo que:

$$Re_m = 6 \cdot 10^3$$

Donde:

$$n = 150 \text{ rev/min} = 2.5 \text{ rev/s}$$

$$\gamma = 0.4 \text{ cP}$$

El resultado de Kn se alcanzó a través de la ecuación 2.18 arrojando un valor igual a:

$$Kn = 0.25$$

K_n se ve afectado por el valor $\left(\frac{H}{D}\right)^{0.5}$ porque $H \neq D$ y H es la altura del fluido en el aparato.

$$H = 226 \text{ mm}$$

$$D = 150 \text{ mm}$$

$$Kn = 0.30$$

Donde:

$$\rho = 0.82627 \text{ g/cm}^3$$

Despejando en la ecuación de K_n obtenemos el valor de la potencia necesaria para mover el fluido.

$$N = 950 \text{ W} = 0.95 \text{ kW}$$

3.10. Cálculo de la manta de calentamiento

3.10.1. Cálculo del tambor cilíndrico cargado con la presión atmosférica

El cilindro tendrá una altura (L_c) y un diámetro (D_c) (Figura 3.23, Anexos) de:

$$L_c = L_1$$

$$L_c = 280 \text{ mm}$$

$$D_c = D_1 + 10 \text{ mm}$$

$$D_c = 160 \text{ mm}$$

✓ **A presión atmosférica**

$$S_{cal} = \frac{P_{cal} \times D}{2 \times [\sigma] \times \varphi}$$

$$S_{cal} = \frac{0.01 \times 0.160}{2 \times 167 \times 0,95}$$

$$S_{cal} = 0.0025m$$

S normalizado = 3mm

3.10.2. Cálculo del fondo semiesférico a presión atmosférica

El fondo semiesférico tendrá una altura (Ls) y un diámetro (Ds) de:

$$Ls = L2$$

$$Ls = 75mm$$

$$Ds = Dc$$

$$Ds = 160mm$$

✓ **Determinación del espesor**

$$S_{cal} = \max \left\{ \begin{array}{l} \frac{0.72 * P_{cal} * R}{[\sigma] * \varphi} \\ \frac{0.72 * P_{pr} * R}{[\sigma]_{pr} * \varphi} \end{array} \right.$$

$$S_{cal} = 0.009m$$

$$S_{cal} = 9mm$$

S normalizado = 10mm

✓ **Cálculo de la Presión admisible**

$$[P] = \frac{1.78 * (S - C) * [\sigma] * \varphi}{R} \quad ; \quad [P]_{pr} = \frac{1.78 * (S - C) * [\sigma]_{pr} * \varphi}{R}$$

$$[P] = 3.1MPa$$

$$[P]_{pr} = 5.2MPa$$

✓ **Condición de resistencia**

$$P \leq [P] \ ; \ P_{pr} \leq [P]_{pr}$$

$$2.5 MPa \leq 3.1MPa$$

$$2.8 MPa \leq 5.2MPa$$

Se cumple la condición de resistencia, lo que indica que el fondo puede realizarse con espesores de 10mm o mayores.

3.11. Selección y cálculo de los soportes.

Las reacciones provocadas por los soportes del aparato están condicionadas por el peso del reactor. En este caso cuando se realiza el análisis de fuerzas sobre los soportes, se concluye en que P es igual al peso total del equipo.

$$P = (m_{aparato} + m_{fluido}) * g$$

Donde:

g: Aceleración de la gravedad.

m: Masa del elemento.

$$m = V * \rho$$

V: Volumen.

ρ : Densidad del elemento.

$$V_{tapa} = 0.001m^3$$

$$V_{Bridas.Aparato} = 0.001m^3$$

$$V_{cilindro} = 0.005m^3$$

$$V_{FondaCónico} = 0.001m^3$$

$$V_{Camisa} = 0.007m^3$$

$$V_{T.Acero.} = V_{tapa} + V_{Bridas.Aparato} + V_{cilindro} + V_{fondo semiesf.} + V_{Camisa}$$

$$V_{T.Acero.} = 0.015m^3$$

Densidad del acero: $\rho_{Acero.} = 7800\text{kg/m}^3$.

$$m_{T.Acero.} = V_{T.Acero.} * \rho_{Acero.}$$

$$m_{T.Acero.} = 117\text{kg}$$

Para el caso del fluido:

$$V = 0,003\text{m}^3$$

La densidad de este aparece en epígrafes anteriores. Por tanto la masa será:

$$m_{fluido} = 2.48\text{kg}$$

El cálculo del peso total del equipo arrojó que:

$$P = 1.17\text{kN}$$

El soporte seleccionado es cementación, que abarcará todo el fondo (Mijalev, 1987).

3.12. Cálculo del espesor necesario para el aislamiento térmico

Como $\frac{d_{int}}{d_{ext}} = 0,98 > 0,5$ la superficie cilíndrica se comporta como una pared plana de capas múltiples.

d_{int} : Diámetro interior de la camisa.

d_{ext} : Diámetro exterior de la camisa.

El material que se propone como aislante es el amianto, el cual presenta un valor bastante bajo de conductividad térmica ($\lambda_2 = 0,04\text{ W/m}^\circ\text{C}$). Otra característica que se tomó en cuenta para su selección fue su abundancia en el mercado cubano, y ya con mencionar eso se deduce su bajo costo con respecto a otros materiales que se utilizan con el mismo fin.

El cálculo se comienza determinando la densidad de flujo de calor mediante la ecuación 2.22:

Arrojando como resultado:

$$q = 120\text{ W/m}^2$$

Le sigue el coeficiente de transmisión superficial de calor (α_1) para el cual se utilizó la ecuación 2.24.

Donde:

$$\lambda_{liq} = 3,07 * 10^{-2} \text{ W/m}^{\circ}\text{C}$$

$$\rho_{liq} = 3,69 \text{ kg/m}^3$$

$$r = 2066,05 \text{ kJ/kg}$$

$$\mu = 14,15 * 10^{-6} \text{ Pa s}$$

Se asume que la temperatura de la pared es de 300°C por tanto $\Delta t = 5^{\circ}\text{C}$.

$$h=0.226\text{m}$$

Realizando la operación matemática encontramos que:

$$\alpha_1 = 20,1 \text{ W/m}^2\text{}^{\circ}\text{C}$$

Para determinar la temperatura t_{w2} :

$$t_{w2} = t_{w1} - q * \frac{\delta_1}{\lambda_1}$$

$$\text{Siendo } \lambda_1 = 53,75 \text{ W/m}^{\circ}\text{C}$$

Efectuando la ecuación:

$$t_{w2} = 297.99^{\circ}\text{C}$$

Con la temperatura t_{w2} se está en condiciones de determinar el espesor que tendrá la pared de aislante térmico (δ_2), el cual se obtuvo mediante la ecuación 2.23 dando como resultado que:

$$\delta_2 = 0.028\text{m}$$

El espesor del aislante debe ser mayor o igual 0,028m.

Conclusiones

- El proceso de deslignificación adicional con disoluciones de hidróxido de sodio permitió la solubilización de la lignina entre un 50 y un 70 % en los casos de mayor concentración del disolvente alcalino, reduciendo el contenido de lignina en las pulpas acetosolv y de esta forma confirmando la validez de la hipótesis planteada.
- El alto contenido de celulosa (43,73 %) en la biomasa de marabú justifica su aprovechamiento en biorrefinerías para la producción de etanol celulósico o de otros productos de alto valor agregado.
- El tratamiento acetosolv directo a 121°C utilizando ácido acético al 95 % es efectivo en la deslignificación de la biomasa de marabú y permite obtener una pulpa con un alto contenido de celulosa.
- El diseño de experimentos aplicado a la deslignificación alcalina adicional con hidróxido de sodio reveló como factor que influye significativamente en la solubilización de la lignina a la concentración, resultando los valores de 2,5 % de hidróxido de sodio a la temperatura de 100°C y un tiempo de 90 minutos los óptimos para obtener un mínimo de lignina en la pulpa (4,49 %).
- La hidrólisis enzimática de las pulpas de marabú deslignificadas con hidróxido de sodio reveló valores de convertibilidad enzimática superiores al 50 %, calificando de aceptable su convertibilidad enzimática.
- El diseño mecánico del reactor para la deslignificación acetosolv de la biomasa de marabú se realizó para un volumen de 5L y una presión de trabajo de 20 atm, resultando ser de acero 316L con tapa y fondo semiesférico.

Recomendaciones

1. Escalar paulatinamente el proceso de deslignificación alcalina adicional, basado en los resultados obtenidos en los experimentos.
2. Para valorizar la lignina obtenida en el proceso acetosolv es necesario investigar su conversión en productos de alto valor agregado como resinas bakelita de nuevo tipo.
3. Para incrementar la convertibilidad enzimática de las pulpas obtenidas por tratamiento acetosolv y deslignificación adicional con hidróxido de sodio se recomienda detoxificar el material pretratado.

Referencias bibliográficas

- 1- Agarwal, A.K. (2007) Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines. *Prog. Energy Comb. Sc* 33, 233–271.
- 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. (2009) Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. *Applied Energy* 86, 2273-2282.
- 6- Balat, M., Balat, H., Öz, C. (2008) *Progress in bioethanol processing. Progress in Energy and Combustion Science* 34, 551–573.
- 7- Basso, L.C., Amorim, H. (2001) Industrial ethanol in Brazil: technological advances. *Memorias del III Taller Internacional de Producción de Alcohol*. Varadero, Cuba. ISBN 959-160095X.
- 8- Beardmore, D. H., Fan, L. T. and Lee, Y-H. (1980) Gamma-ray irradiation as a pretreatment for the enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnol. Lett.* 2, 435-438.
- 9- Berg, C. (1998). Towards a world ethanol market? *F.O.Licht Commodity Analysis*, Germany.
- 10-Bjerre, A.B., Olesen, A.B., Fernqvist, T., Plöger, A., Schmidt, A.S. (1996) Pretreatment of wheat straw using combined wet oxidation and alkaline hydrolysis resulting in convertible cellulose and hemicellulose. *Biores. Technol.*, 49, 568-577.

- 11-Bozell, J.J., Holladay, J.E., Johnson, D., White, J.F. (2007) Top value added chemicals from biomass. Volume II: Results of screening for potential candidates from biorrefinery lignin. U.S. *Department of energy, Report PNNL-16983*, Washinton DC.
- 12-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.
- 13-Budny, D. y Sotero, P. (2007). Brazil Institute Special Report: The Global Dynamics of Biofuels Brazil Institute of the Woodrow Wilson Center. Consultado el 03-05-2008.
- 14-Bueno, G. (2008). Situación mundial sobre tecnologías de etanol celulósicos. Memoria del I Taller Nacional de Etanol celulósico. pp. 29-44 ISBN 97 8-959-7 165-22-4.
- 15-Caldwell, W. (2006) "Subcritical Water and Chemical Pretreatments of cotton stalk for the Production of Ethanol". Faculty of North Carolina State University. p.103.
- 16-Carpintero, Oscar (2006). Biocombustibles y uso energético de la biomasa: un análisis crítico. *El ecologista* (49). ISSN 1575-2712.
- 17-Chang, V., Holtzapple, M. (2000). Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 84–86, 5–37
- 18-Chum, L.H, Douglas, J.L., Fernberg, A. D. (1985). "Evaluation of Pretreatments of Biomass for Enzymatic Hydrolysis of Cellulose". Solar Energy Research Institute. Colorado State University. No. DE-ACO2-83CH10093. p. 77.
- 19-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. *Biotechnol. Bioeng.* 96,219-231.
- 20-Conner, A. H., Lorenz, L. F. (1986) Kinetic modelling of hardwood prehydrolysis. Part III. Water and dilute acetic acid prehydrolysis of souththern red oak. *Wood Fiber Sci.* 18, 248-263.

- 21-Cuzens, J. C., Miller, J. R. (1996). Acid hydrolysis of bagasse for ethanol production. *Renewable Energy*, 10, 285-290.
- 22-Dale, B.E., Moreira, M.J.A. (1982) A freeze-explosion technique for increasing cellulose hydrolysis. *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 12, 31-43.
- 23-Dalziel, J. M. (1948). The useful plants of West Tropical Africa. The Crown Agents for the Colonies, Westminster, Londres. 612 pp.
- 24-Dekker R.F.H., Wallis, A.F.A. (1983) Enzymatic saccharification of sugarcane bagasse pretreated by autohydrolysis steam explosion. *Biotechnol. Bioeng*, 25, 3027-3048.
- 25-Demirbas, A. (2007) Progress and recent trends in biofuels. *Progress in Energy and Combustion Science* 33, 1-18.
- 26-Duarte, L., Silva-Fernandes, T., Carneiro, F., Gírio, F. (2009) Dilute acid hydrolysis of wheat straw oligosaccharides. *Appl Biochem Biotechnol*. 153, 116–126.
- 27-Eggeman, T., Elander, R. T. (2005) Process and economic analysis of pretreatment technologies. *Bioresource Technol.*, 96, 2019-2025.
- 28-Erickson, J. (1992). *El Efecto Invernadero. El desastre de mañana, hoy*, Madrid: Mcgraw-Hill/Interamericana de España S.A. ISBN 84-7615-789-4.
- 29-Estevan, A. (2008). Biocombustibles: la agricultura al servicio del automóvil. *El ecologista* (56). ISSN 1575-2712.
- 30-Fengel, D., Wegener, G. (1989) *Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. Walter de Gruyter, Berlin, 274-276.
- 31-Galbe, M. (1994) Ethanol from wood: An experimental study of pretreatment and hydrolysis process simulation. PhD Thesis. Department of Chemical Engineering I, Lund University, Sweden.
- 32-Galbe, M., Zacchi, G. (2002). A review of the production of ethanol from softwood. *Appl*.
- 33-Goettemoeller, J., Goettemoeller, A. (2007), *Sustainable Ethanol: Biofuels, Biorefineries, Cellulosic Biomass, Flex-Fuel Vehicles, and Sustainable*

- Farming for Energy Independence*, Praire Oak Publishing, Maryville, Missouri, pp. 42, ISBN 978-0-9786293-0-4
- 34-Haberl, H., Beringer, T., Bhattacharya, S., Karl-Heinz Erb, K-H, Hoogwijk, M. (2010) The global technical potential of bio-energy in 2050 considering sustainability constraints. *Environmental Sustainability*, 2:394–403.
- 35-Grogg, P., (2007). *Caña de azúcar: la primera fuente renovable*, Inter Press Service News Agency, Septiembre 8, Cuba.
- 36-Haggström, C. (2008) *Media requirements for aerobic cultivation of a yeast strain related to saccharomyces cerevisiae TMB3400 on soft wood Hydrolyzates*. Department of Chemical Engineering and Geosciences. Luleå University of Technology. 154 CIV-ISSN: 1402-1617-ISRN: LTU-EX-08/154-SE.
- 37-Hendricks, A. y Zeeman, G. (2009) Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 100, 10–18.
- 38-Hernández, M.T., Sais, T., Sánchez, O. (1986) *Microbiología de la Producción Azucarera. Producciones Microbianas Derivadas*. Universidad Central de Las Villas, Santa Clara, Cuba..
- 39-Hörmeyer, H. F., Schwald, W., Bonn, G. and Bobleter, O. (1988) Hydrothermolysis of birch wood as pretreatment for crystalline cellulose. *J. ferment. Technol.* 63, 529-536.
- 40-Hubbe, M.A. (2008) Are lignocellulosics too valuable to be burnt? *BioResources* 3, 295-296.
- 41-Ingledew, W.M. (1995) The Biochemistry of alcohol production. En *The Alcohol Textbook* (Eds. Lyons, T., Kelsall, D., Murtagh, J.). Nottingham University Press, pp. 76-87.
- 42-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* 53, 449 – 453.
- 43-Kasatkin, A. G. (1981). *Operaciones básicas y aparatos en la tecnología química*. Tomo I. URSS.

- 44-Kim, S., Bruch, E. (2004) Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. *Biomass and Bioenergy* 26, 361 – 375.
- 45-Klinke, H.B., Ahring, B.K., Schmidt, A.S., Thomsen, A.B. (2002) Characterization of degradation products from alkaline wet oxidation of wheat straw. *Bioresource Technol.*, 82, 15-26.
- 46-Krasnoschiokov A. E.; Sukomiel S. A.: *Problemas de termotransferencia*. Editorial Mir Moscú. La URSS, 1986.
- 47-Lambert, R. J. and Stratford, M. (1999) Weak-acid preservatives: modeling microbial inhibition and response. *J. Appl. Microbiol.* 86, 175-164.
- 48-Laschinski, A. A. (1988). *Construcción de aparatos químicos soldados* Manual del ingeniero. Primera parte. Editorial Pueblo y Educación
- 49-Laschinski, A. A. (1988). *Construcción de aparatos químicos soldados*. Manual del ingeniero. Segunda parte. Editorial Pueblo y Educación, 1988.
- 50- 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.
- 51-Ligero, P., Vega, A., Bao, M. (2005) Acetosolv delignification of *Miscanthus sinensis* barks Influence of process variables. *Industrial Crops and Products* 21, 235–240.
- 52-Ligero, P., Villaverde, J.J., Vega, A., Bao, M. (2008) Delignification of *Eucalyptus globulus* saplings in two organosolv systems (formic and acetic acid)-Preliminary analysis of dissolved lignins. *Industrial crops and products* 27, 110–117.
- 53-Ligero, P., Villaverde, J.J., Vega, A., Baob, M. (2007) Acetosolv delignification of depithed cardoon (*Cynara cardunculus*) stalks. *Industrial Crops and Products* 25, 294–300.
- 54-Lynas, M. (2004) Marea alta. Noticia de un mundo que se calienta y cómo nos afectan los cambios climáticos. Barcelona: RBA Libros S. A.

- 55-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.
- 56-Macedo, I.C., Leal, M.R.L.V., da Silva, J. (2004) Balanço das emissões de gases do efeito estufa na produção e no uso do etanol no Brasil. Reporte. Secretaria do Meio Ambiente, Governo de São Paulo.
- 57-Martín, A., Martín, C. (2008) Un enfoque ético a la polémica sobre los biocombustibles. *Memorias del X Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados de la Caña- Diversificación'2008*. ISBN 97 8-959-7 165-16-3.
- 58-Martín, C. (2002). "Estudio de la inhibición de la fermentación de hidrolizados de bagazo de caña de azúcar para la producción de etanol". p. 149.
- 59-Martín, C., Carrillo, E., Torres, M., García, L., Marcet, M., Thomsen, A.B. (2006a) Determination of the chemical composition of tropical cellulosic materials using the detergent sequential system. *Cellulose Chemistry and Technology* 40, 399-403.
- 60-Martín, C., Klinke, H., Thomsen, A.B. (2007) Wet oxidation as a pretreatment method for enhancing the enzymatic convertibility of sugarcane bagasse. *Enzyme Microb. Technol.* 40, 426-432.
- 61-Martín, C., López, Y., Plasencia, Y., Hernández, E. (2006b) Characterisation of agricultural and agro-industrial residues as raw materials for ethanol production. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* 20, 443-446.
- 62-Martin. F., Tatsuya, N. (2004). Wet oxidation pretreatment for the increase in anaerobic biodegradability of newspaper waste. *Bioresource Technology* 91, 273–281.
- 63-Martínez, E y Díaz, Y. (2004). *Contaminación atmosférica*. Universidad de Castilla-La Mancha. ISBN8484273245, 9788484273240 pág. 13.
- 64-Martínez, M.J; Granado, J.M. (1995) "Fractionation of residual Lignocellulosics by dilute-acid prehydrolysis and alkaline extraction:

- application to almond shells". *Bioresource Technology* 52, 59-67. Elsevier Science Limited.
- 65- McKendry, P. (2002). Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresour. Technol.* 83, 37–46.
- 66-Méndez, I., Ramos, A. (2004). El marabú: ¿plaga o recurso natural?. *Energía y tú* 27:11-17. Número 27. Julio - Septiembre de 2004 *Energía y tú. Microbiol. Biot.*, 59, 618-628.
- 67-Mijalev, M. (1987). *Cálculo y diseño de máquinas y aparatos de la Industria Química*. Primera parte. Editorial Pueblo y Educación.
- 68-Mijalev, M. (1987). *Cálculo y diseño de máquinas y aparatos de la Industria Química*. Segunda parte. Editorial Pueblo y Educación.
- 69-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.
- 70-Mosier, N., Hendrickson, R., Brewer, M., Ho, N., Sedlak, M., Dreshel, R., Welch, G., Dien, B.S., Aden, A.M., Ladisch, M.R. (2005a) Industrial scale-up of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn fiber for fuel ethanol production. *Appl. Biochem. Biotech.*, 125, 77-97.
- 71-Mosier, N., Hendrickson, R., Ho, N., Sedlak, M.A., Ladisch, M.R. (2005b) Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover. *Bioresource technol.*, 96(18), 1986-1993.
- 72-Moyroud, R. (2000) Exotic weeds that threaten the Caribbean: a brief overview and early alarm call. *Wildland Weeds*. Spring issue, pp. 4-8.
- 73-Obolenskaja, A.V. (1986) *Laboratornye raboty po Khimii Drevesiny*. Leningradskaja Lesotekhnicheskaja Akademija. Leningrad. 72 pp.
- 74-Parajó, J.C.; Alonso, J. L.; Vázquez, D. (1993) On the Behavior of lignin and hemicelluloses during the acetosolv processing of wood. *Bioresource Technology* 46, 233-240.

- 75-Pavlov, K. F; Romantor, P. G; Noskov, A.A (1981). *Problemas y ejemplos para el curso de operaciones básicas y aparatos en tecnología química*. Editorial Mir Moscú; la URSS.
- 76-Perry R.H. (2008) *Perry's Chemical Engineers Handbook* (7th Ed.), McGraw-Hill, Inc., New York (USA). Disponible *online*: [http://: qmlib.umcc.cu](http://qmlib.umcc.cu).
- 77-Puri, V.P., Pearce, G.R. (1985) Alkali-explosion pretreatment of straw and bagasse for enzymic hydrolysis. *Biotechnol. Bioeng.*, 28, 480-485.
- 78-Purwadi, R., Niklasson, C., Taherzadeh, M.J. (2006) Kinetic study of detoxification of dilute-acid hydrolyzates by $\text{Ca}(\text{OH})_2$. *Journal of Biotechnology* 114, 187.
- 79-Ragauskas, A.J., Williams, C K., Davinson, H.H., Britovsek, G., Cairney, J., Eckert, C. A., Frederic Jr, W.J., Hallett, J.P., Leak, D.J., Liotta, C.L., Mielenz, J.R., Murphy, R., Templer, R., Tschaplinski, T. (2006) The path forward for biofuels and biomaterials. *Science* 311, 484-489.
- 80-Réshetov, D. N. (1982). *Atlas de diseño de elementos de máquinas*. Primera parte. Editorial pueblo y educación. La Habana.
- 81-Réshetov, D. N. (1982). *Atlas de diseño de elementos de máquinas*. Segunda parte. Editorial pueblo y educación. La Habana.
- 82-Rivero, A (2000). *El cambio climático: el calentamiento de la Tierra*, Barcelona: Editorial Debate S.A. ISBN 84-8306-272-0.
- 83-Rocha, G.J.M., Martín, C., Soares, I.B., Souto-Maior, A.M., Baudel, H., Abreu, C.A.M. (2011) Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production. *Biomass and Bioenergy* 35, 663-670.
- 84-Rodríguez, D. (2011) Fraccionamiento de la biomasa de marabú (*Dichrostachys cinerea*) mediante el proceso acetosolv para la producción de etanol. Tesis de Maestría. UMCC. Matanzas.
- 85-Roig, J.T. (1974). *Plantas medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba*. Editorial Ciencia y Técnica, La Habana. 952 pp.
- 86-Rosabal, J.M; Valle Matos, M. (2006). *Hidrodinámica y separaciones mecánicas*. Editorial Félix Varela. La Habana.

- 87-Rowell. M.R. (2005). "Handbook of Wood Chemistry and Wood composites". Editorial CRC Press. New York Washington, D.C. ISBN 0-8493-1588-3. Capítulo 2 Pág. 27 y Capítulo 14, Pág. 47.
- 88-Sánchez, G., Pilcher, L. (2004) Dilute-acid hydrolysis for fermentation of the Bolivian straw material Paja Brava. *Bioresour Technol.* 93, 249-256.
- 89-Sánchez, O.J., Cardona, C.A. (2007) Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feed stocks. *Bioresour Technol.* 99, 5270–5295.
- 90-Schneider, D. (1997) La subida de los mares. Investigación y Ciencia. Barcelona: Prensa Científica.
- 91-Schulman, D.E., Allen, S., Lichwa, J., Antal, M.J., Laser, M., Lynd, L. (1999) Comparison of steam and hot liquid water pretreatments for the bioconversion of lignocellulosics to ethanol. Prepr. Symp. Am. Chem. Soc., Div. Fuel Chem., 44, 219-223.
- 92-Sarkanen, K.V., Ludwig, C.H. (1971) Lignin: Occurrence, Formation, Structure and Reactions. *Wiley-Interscience*, New York. pp. 433–485.
- 93-Sjöström, E. (1993) Wood Chemistry: Fundamentals and applications. 2nd edition. Academic Press, San Diego.
- 94-Sluite, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluite, J., Templeton, D., Crocker, D. (1998c) Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP). Technical Report NREL/TP-510-42618. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado.
- 95-Sluite, A., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluite, J., Templeton, D. (1998d) Determination of extractives in biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP). Technical Report NREL/TP-510-42619. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado.
- 96-Sluite, A., Hames, B., Hyman, D., Payne, C., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluite, J., Templeton, D., Wolfe, J. (1998a) Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples. Laboratory Analytical

- Procedure (LAP). Technical Report NREL/TP-510-42621. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado.
- 97- Smil, V. (2003). *Energy at the crossroads* MIT Press. pp. 100- 160 ISBN 0-262-19492-9
- 98-Streeter, V. L; Wylie, K. W; Bedford, K. W. (2008). *Mecánica de los fluidos*. Tomo I. Editorial Felix Varela. La Habana.
- 99- 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.
- 100-Sun, Y., Cheng, J. (2002) Hydrolysis of the lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technol.*, 83(1), 1-11.
- 101-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.
- 102- Taylor, G. (2008) Biofuels and the biorefinery concept. *Energy Policy* 36, 4406–4409.
- 103-Tengborg, C. (2000). Ethanol from biomass: optimisation of pretreatment and hydrolysis. PhD Thesis. Department of Chemical Engineering I, Lund University, Sweden.
- 104-Tester, J.W. *et al.* (2005). *Sustainable Energy: Choosing Among Options*. The MIT Press. pp. 120- 200 ISBN 0-262-20153-4
- 105-Triana, R. (2011). Deslignificación alcalina de marabú pretratado con Glicerol. Tesis en opción al título de Ingeniero Químico. UMCC. Matanzas.
- 106-Vila, C.S., Parajó, J.C. (2003) Simulation of an Organosolv Pulping Process: Generalized Material Balances and Design Calculations. *Ind. Eng. Chem. Res.* 42, 349-356.
- 107-Vilches, A., Gil, D. (2003) Construyamos un futuro sostenible. *Diálogos de supervivencia*. Madrid: Cambridge University Press. Capítulo 4.

- 108- von Blottnitz, H., Curran, M.A. (2007). A review of assessment conducted on bioethanol as a transportation fuel from a net energy, greenhouse gas and environmental life cycle perspective. *J. Cleaner Prod.* 15, 607-619.
- 109-Wakeling, L., Bond, W.J. (2007) Disturbance and the frequency of root suckering in an invasive savanna shrub, *Dichrostachys cinerea*. *African J. Range Forage Sc* 24: 73–76.
- 110-Wheals, A.E., Basso, L.C., Alves, D.M.G., Amorim, H.V. (1999) Fuel ethanol after 25 years. *Trends Biotechnol.*, 17, 482-487.
- 111-Wheeler, K., Janshekar, H., Sakuma (1991) Ethyl alcohol, en *Chemical Economics Handbook*. SRI International, USA..
- 112-Wyman, C.E. (1994) Ethanol from lignocellulosic biomass: Technology, Economics, and Opportunities. *Bioresource Technology* 50, 3–16.
- 113-Wyman C.E. (2008) Cellulosic ethanol: a unique sustainable liquid transportation fuel. *MRS Bulletin* 33, 381-383.
- 114-Xu, F., Sun, J-X., Sun, R., Fowler, P., Baird, M. (2006). Comparative study of organosolv lignins from wheat straw. *Industrial Crops and Products* 23, 180–193.
- 115-Yúfera, P. E. (2002). —Química Orgánica básica y aplicada. Editorial Reverte. S.A. Universidad
- 116-Zohreh, A. (2008) Ethanol and glucose tolerance of *M.indicus* in aerobic and anaerobic conditions. University essay from Högskolan i Borås/Ingenjörshögskolan (IH). 2008-08-27T09:47:23Z.

Anexos

Tablas de Datos Capítulo 1

Tabla 1.1. Producción anual de etanol (2009-2011). Tomado de Goettemoeller y Goettemoeller (2007).

Producción anual de etanol por país (2009-2011)				
Quince mayores países productores				
(millones de galones internacionales, todos los grados de etanol)				
Clasificación Mundial	País	2006	2010	2009
1	Estados Unidos	4,855	4,264	3,535
2	Brasil	4,491	4,227	3,989
3	China	1,017	1,004	964
4	India	502	449	462
5	Francia	251	240	219
6	Alemania	202	114	71
7	Rusia	171	198	198
8	Canadá	153	61	61
9	España	122	93	79
10	Sudáfrica	102	103	110
11	Tailandia	93	79	74
12	Reino Unido	74	92	106
13	Ucrania	71	65	66
14	Polonia	66	58	53
15	Arabia Saudita	52	32	79
	Producción mundial total	13,489	12,150	10,770

Tabla 1.2. Rendimiento de cultivos energéticos. Tomado de Bueno (2008).

Cultivo	Rendimiento (L/ha/año)	Tipo
Palma	5500	Biodiésel
Cocotero	4200	Biodiésel
Higuerilla	2600	Biodiésel
Aguacate	2460	Biodiésel
Jatropha	1559	Biodiésel
Colza	1100	Biodiésel
Soja	840	Biodiésel
Caña de azúcar	9000	Bioetanol
Remolacha	5000	Bioetanol
Yuca	4500	Bioetanol
Sorgo dulce	4400	Bioetanol
Maíz	3200	Bioetanol

Tablas de Datos Capítulo 2

Tabla 2.1. Sumario de las condiciones experimentales usadas para la deslignificación adicional con hidróxido de sodio.

No	Concentración (%)	Tiempo (min)	Temperatura (°C)
1	0.5	120	120
2	2.5	90	100
3	0	90	100
4	0.5	60	80
5	1.25	39	100
6	1.25	90	100
7	1.25	140	100
8	2	60	80
9	2	120	80
10	1.25	90	133
11	2	60	120
12	2	120	120
13	1.25	90	100
14	0.5	120	80
15	0.5	60	120
16	1.25	90	66

Tablas de Datos Capítulo 3*Tabla 3.1. Caracterización de la pulpa acetosolv de marabú.*

Componentes	Materia Prima (% másico)	Material Pretratado (% másico)
Celulosa	43.72	62.93
Hemicelulosa	17.92	16.11
Lignina	29.06	17.31

Tabla 3.2. Comparación de los resultados obtenidos por Triana (2011) y los obtenidos en el presente trabajo.

	Triana (2011)	Resultados obtenidos en este trabajo
Solubilización de la Lignina	45,45 %	61,23 %

Tabla 3.3. Resultados experimentales de la deslignificación adicional con hidróxido de sodio.

No	Conc. (%)	Tiempo (min)	Temp. (°C)	Lignina (%)	Hemicelulosa (%)	Celulosa (%)
1	0.5	120	120	13.47	21.47	49.68
2	2.5	90	100	4.49	15.27	80.23
3	0	90	100	16.03	15.69	44.37
4	0.5	60	80	15.38	13.98	56.52
5	1.25	39	100	10.25	12.82	72.16
6	1.25	90	100	11.52	11.21	55.35
7	1.25	140	100	9.61	10.13	73.08
8	2	60	80	6.41	6.31	77.39
9	2	120	80	6.40	7.91	77.91
10	1.25	90	133	7.69	13.32	75.92
11	2	60	120	5.13	8.78	79.21
12	2	120	120	5.77	9.01	78.10
13	1.25	90	100	11.53	12.47	46.37
14	0.5	120	80	15.39	14.14	47.74
15	0.5	60	120	14.75	15.08	54.59
16	1.25	90	66	11.54	9.76	49.08

Tabla 3.4. Norma para el agitador de paleta tomado de (Rosabal, 2006).

d/D	n	b/D	α
0.66	2	0.1	90 ⁰

Figuras del Capítulo 1

Figura 1.1. Proceso de obtención de bioetanol. Tomado de Estevan (2008).

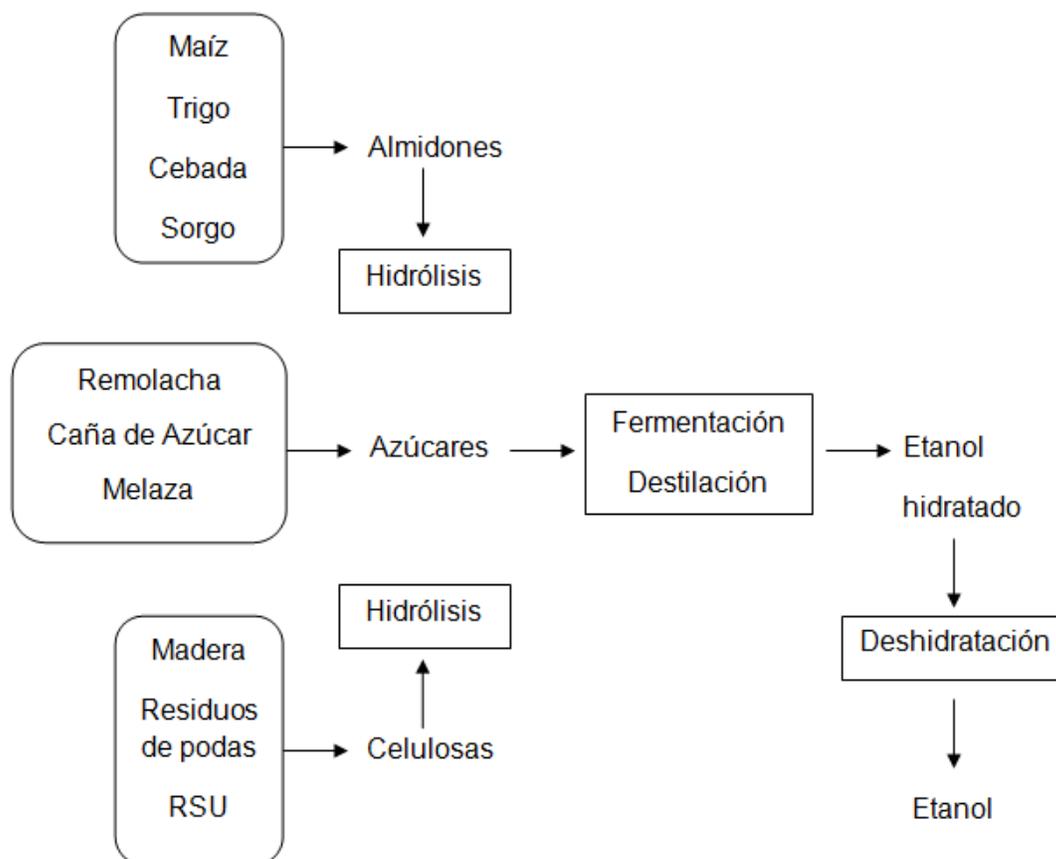
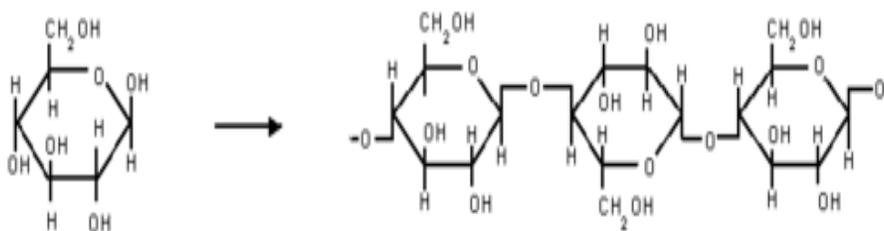
Figura 1.2. Estructura de la celulosa; a la izquierda, β -glucosa; a la derecha, varias β -glucosa unidas.

Figura 1.3. Xilano de maderas duras (Glucoronoxilano).

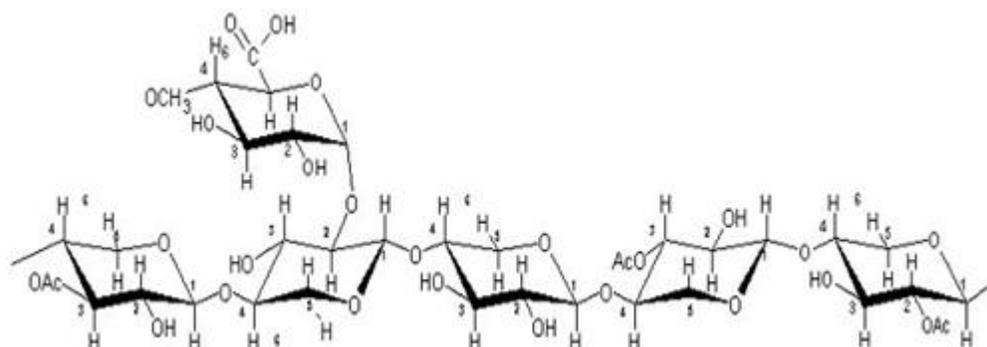


Figura 1.4. Xilano de maderas blandas (Arabinofuranosa Glucoronoxilano Galactoglucomanano (Mayoritario)).

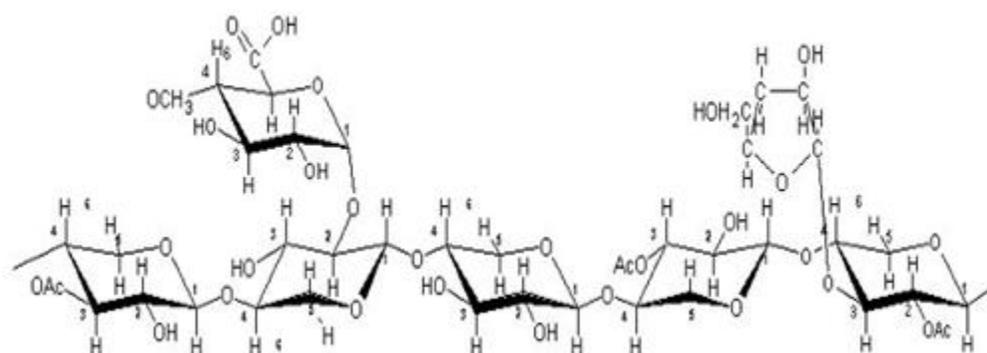


Figura 1.5. Fórmula estructural de la lignina (Modelo de Adler).

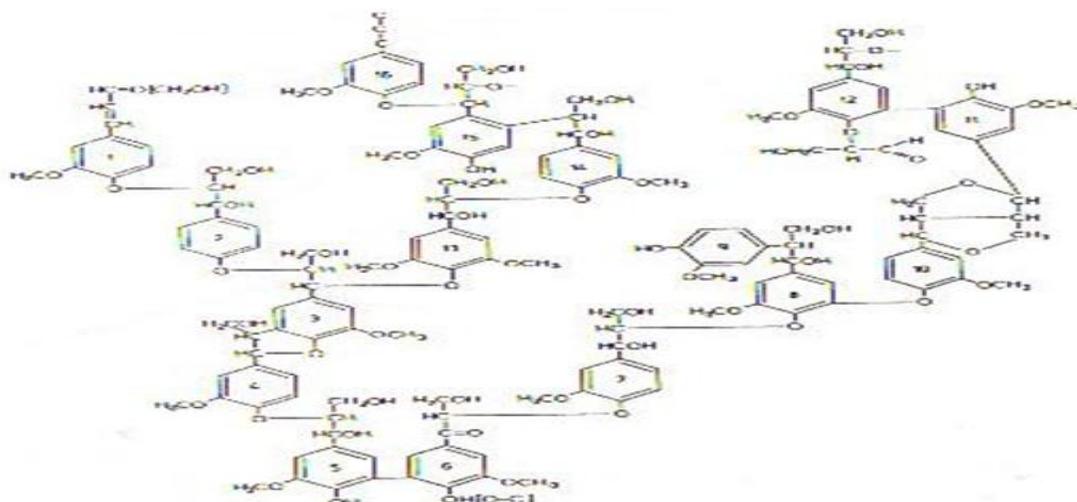
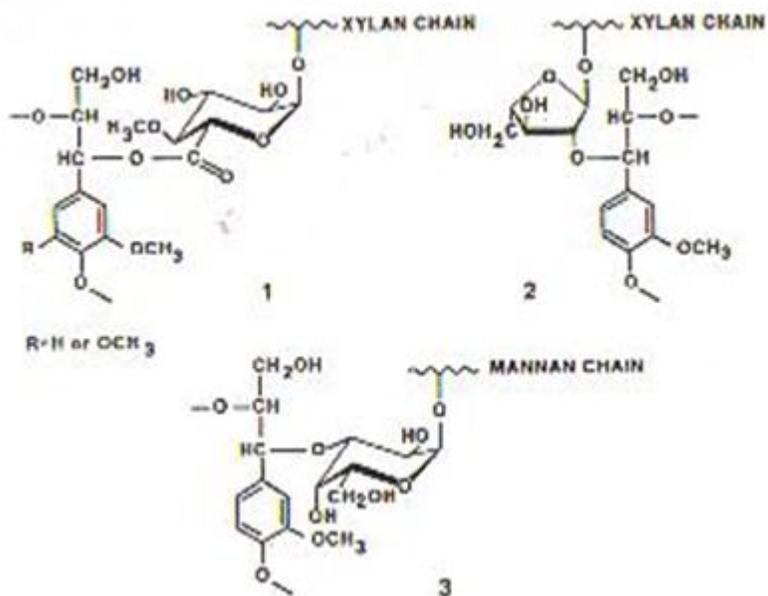


Figura 1.6. Enlaces químicos que presenta la lignina (Rowell, 2005).



Figuras del Capítulo 3

Figura 3.1. Esquema simplificado de una biorrefinería lignocelulósica. Tomado de Kamm y Kamm (2004).

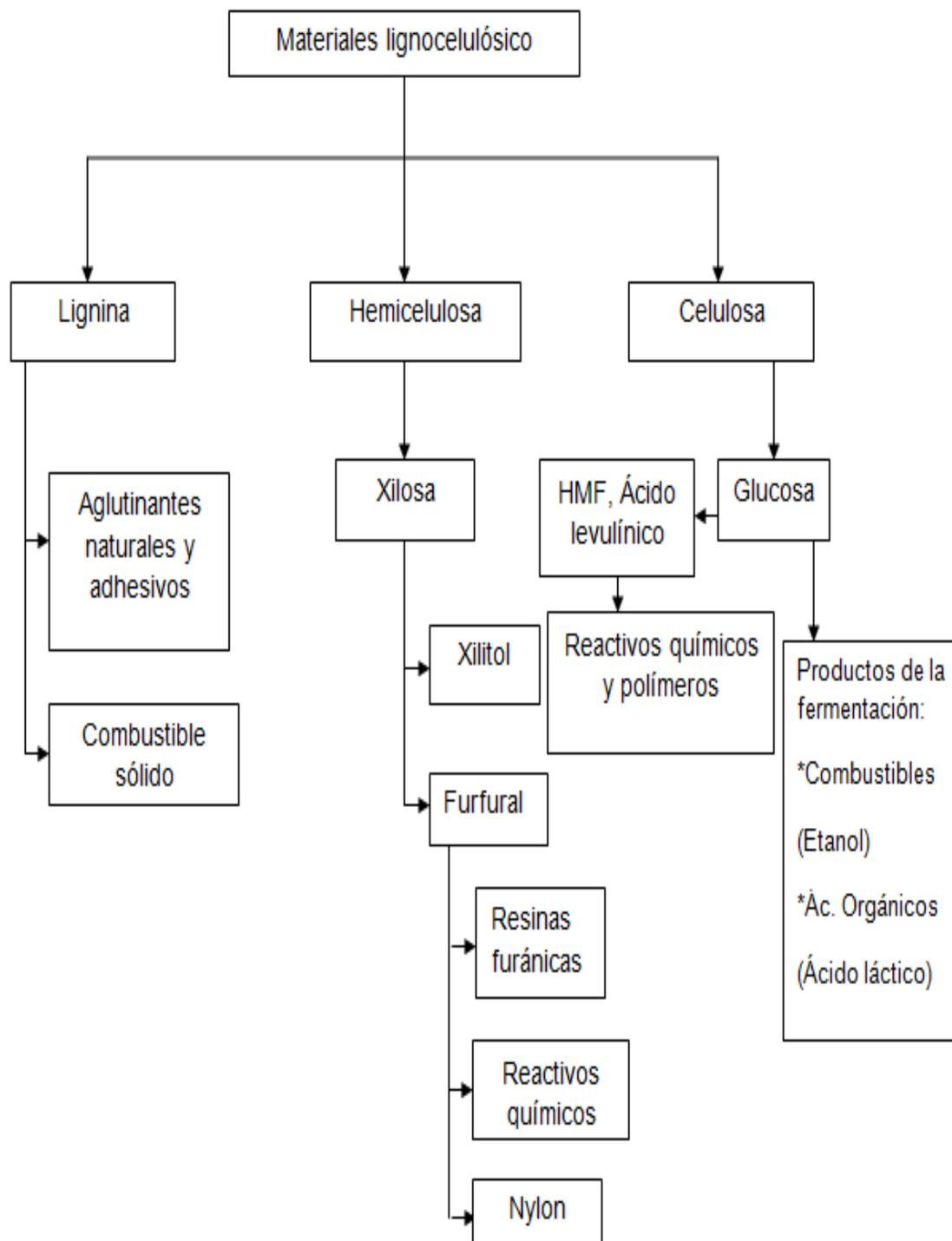


Figura 3.2. Composición de la materia prima, %.

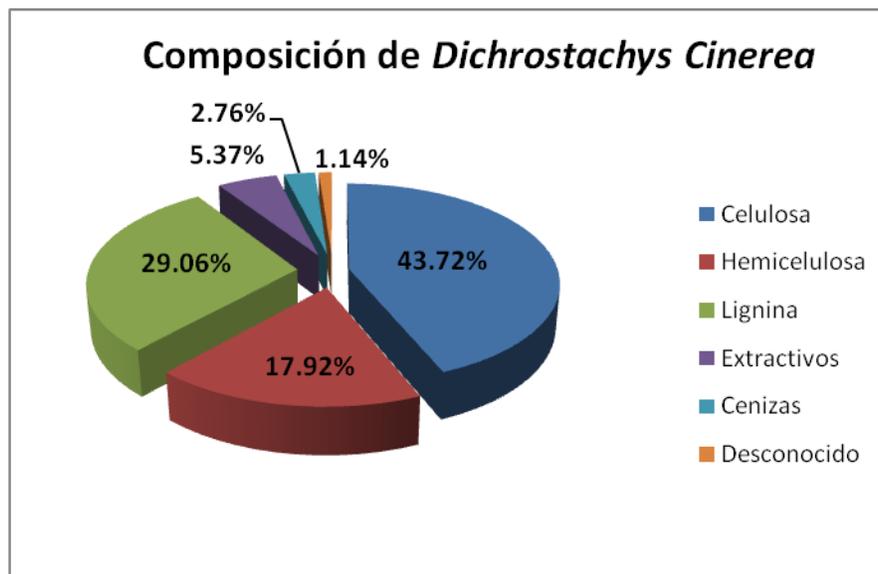


Figura 3.3. Contenido de azúcares en la biomasa de marabú.

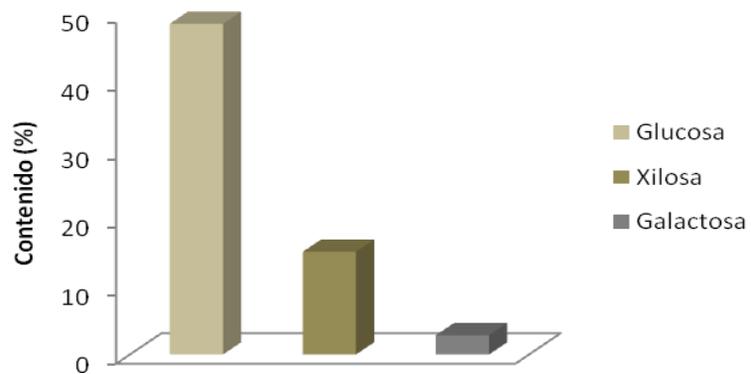


Figura 3.5. Contenido de azúcares en el marabú después del pretratamiento acetosolv.

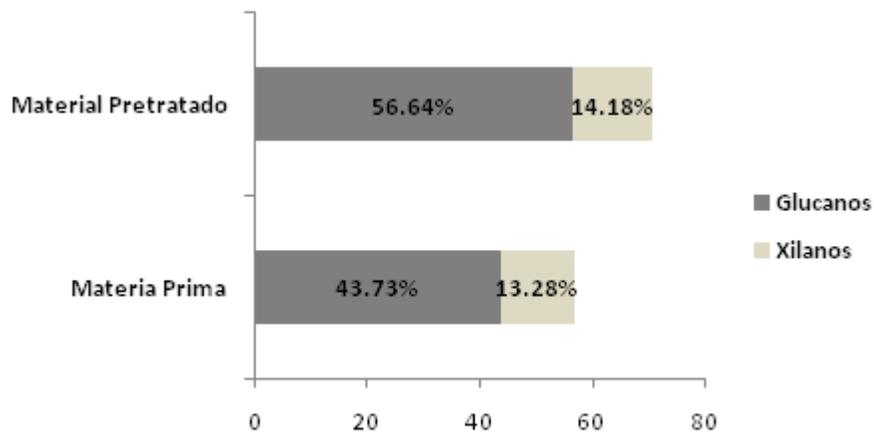


Figura 3.8. Composición de las pulpas después de la deslignificación adicional.

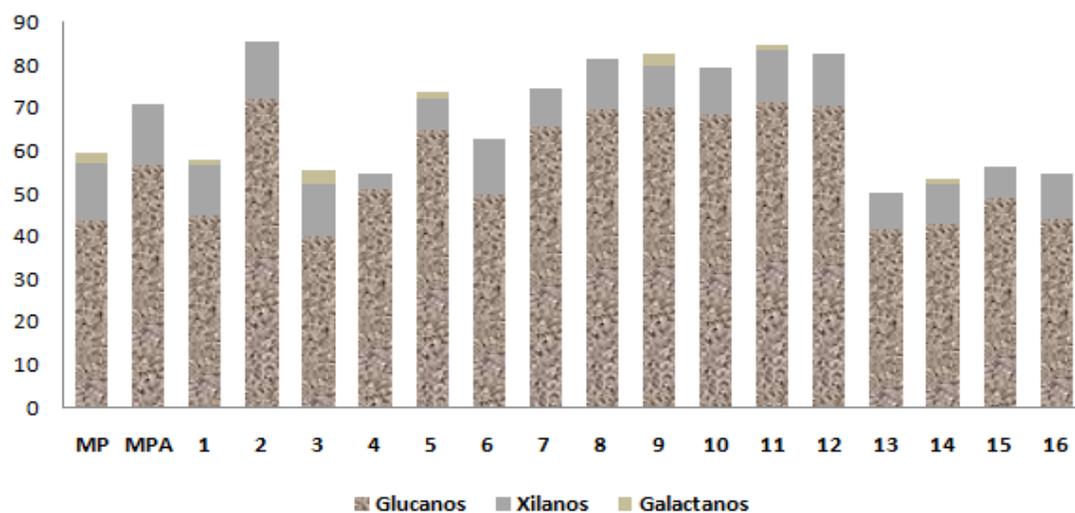


Figura 3.9. Diagrama de Pareto para la variable contenido de lignina.

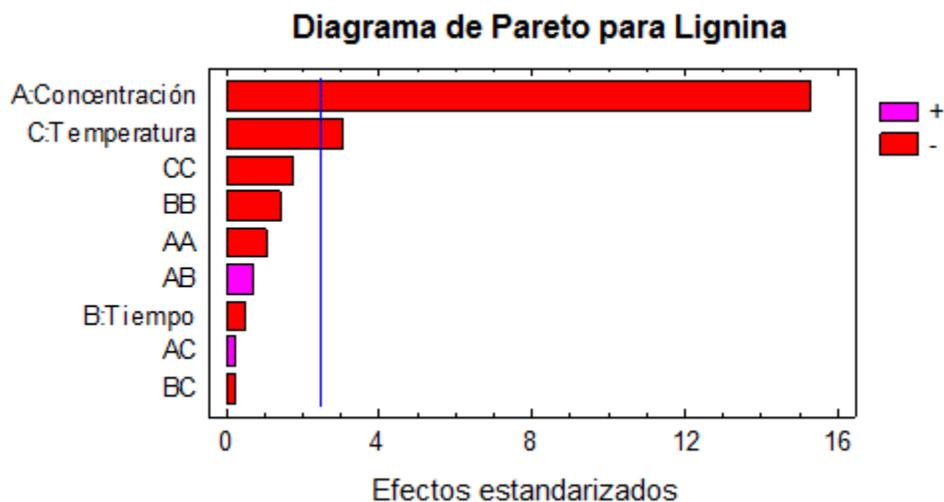


Figura 3.10. Estimación de superficie respuesta para lignina.

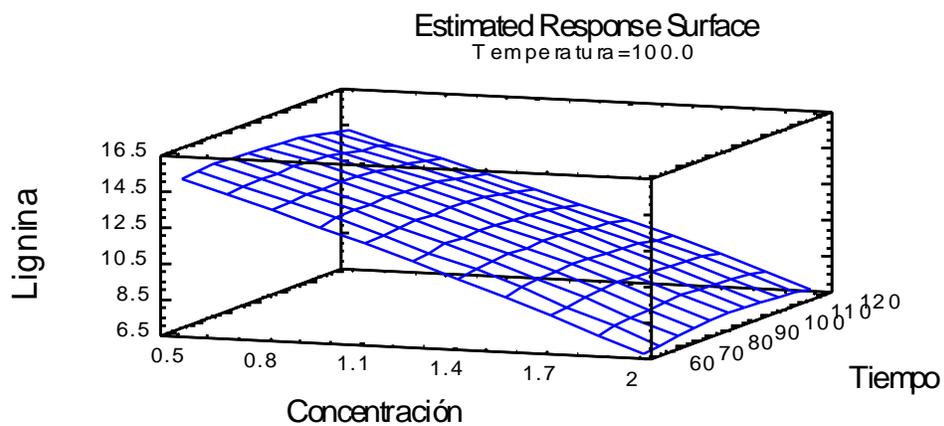


Figura 3.13. Diagrama de Pareto para la variable contenido de hemicelulosas.

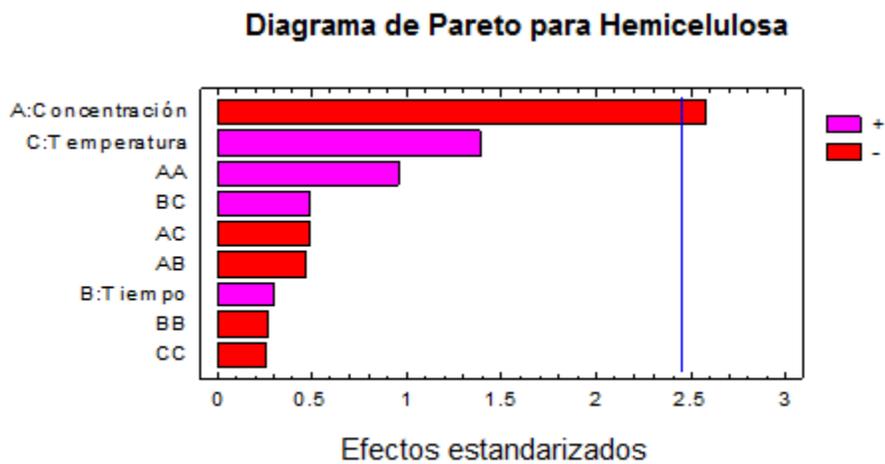


Figura 3.14. Estimación de superficie respuesta para hemicelulosas.

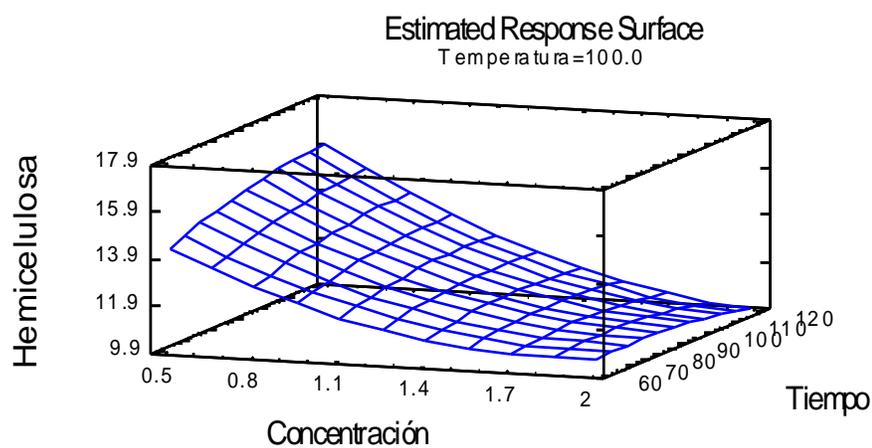


Figura 3.16. Diagrama de Pareto para la variable contenido de celulosa.

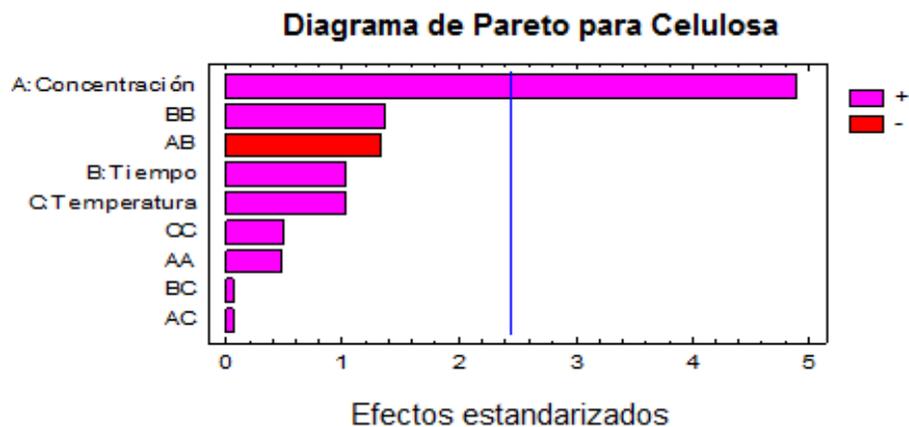


Figura 3.17. Estimación de superficie respuesta para celulosa.

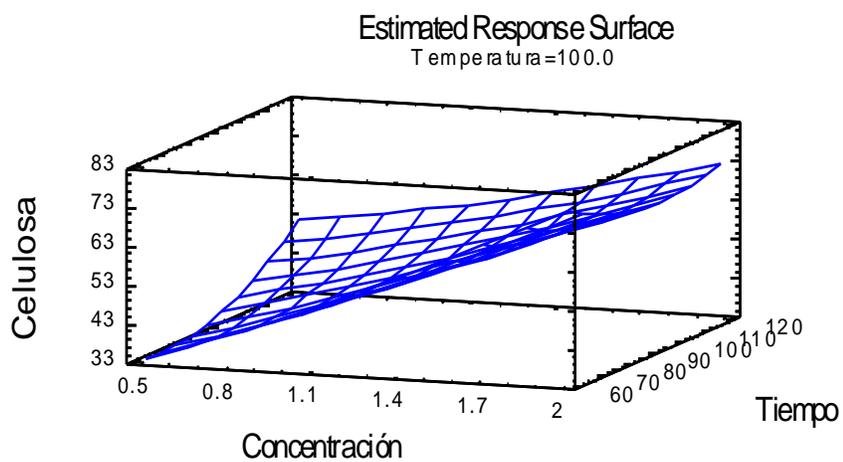


Figura 3.19. Esquema para la realización de la Hidrólisis Enzimática.

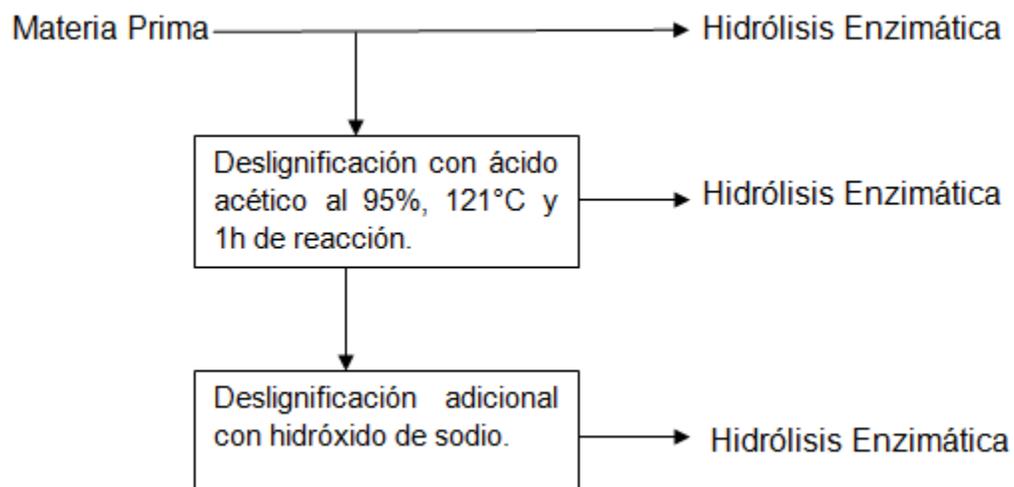


Figura 3.21. Esquema del cuerpo del reactor.

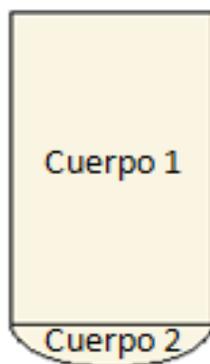


Figura 3.22. Principales dimensiones de la tapa semiesférica.

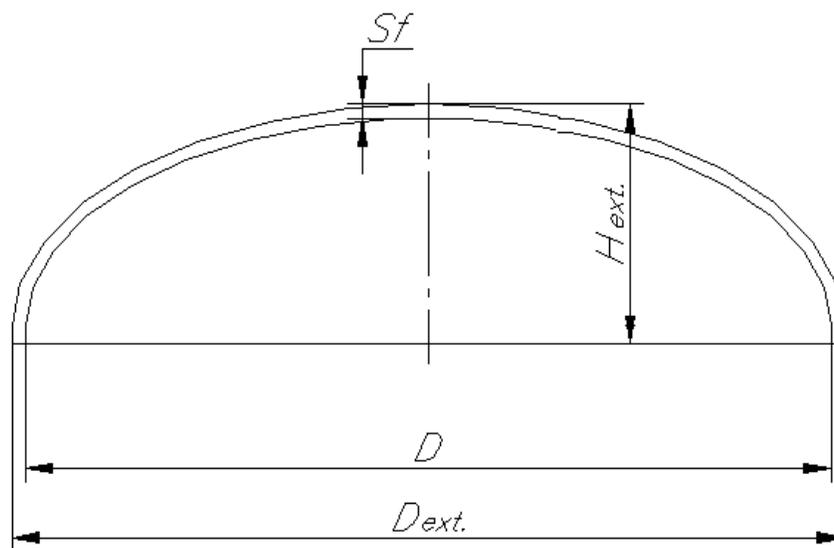


Figura 3.23. Dimensiones del cuerpo de la manta de calentamiento.

