

Universidad de Matanzas

“Camilo Cienfuegos”

Facultad de Ingenierías Química y Mecánica

Departamento de Química e Ingeniería Química



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

**“Diseño preliminar de un reactor de pretratamiento
utilizando como materia prima la vaina residual de la
Moringa oleífera, a través de la técnica de escalado”**

Autor: Ermenegilda Fariña Suárez.

Tutor: Ing. Michael Yusniel López Infante.

Matanzas, Junio 2010

Página de Aceptación

Nota de aceptación.

Nombre y Apellidos

Firma

Nombre y Apellidos

Firma

Nombre y Apellidos

Firma

Declaración de Autoridad

Declaro ser el único autor de este trabajo de diploma que lleva como título: “Diseño preliminar de un reactor para el pretratamiento utilizando como materia prima la vaina residual de la Moringa oleífera, a través de la técnica de escalado” y autorizo a la Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos a hacer uso del mismo con la finalidad que estime conveniente.

Firma

Pensamiento

“Educar es depositar en cada hombre toda la obra humana que le ha antecedido; es hacer de cada hombre resumen del mundo viviente; hasta el día en que vive: es ponerlo a nivel de su tiempo, para que flote sobre él y no dejarlo debajo de su tiempo, con lo que no podrá salir a flote; es preparar al hombre para la vida”.

José Martí.

Dedicatoria

Dedico mi trabajo de diploma a mis padres que con mucho esmero han sabido apoyarme en todo lo que he necesitado, a mi hijo y esposo por tantas y tantas horas de sacrificio a mi disposición.

Agradecimientos

- ❖ *A mi tutor: Michael Yusniel López Infante por su gran aporte de conocimientos y apoyo incondicional.*
- ❖ *A mis padres por su dedicación hacia mí, siempre apoyando mis decisiones hacia una futura profesión.*
- ❖ *A mi hijo: Julián Santiago Velázquez Fariña que a pesar de su temprana edad supo ayudarme en mis comienzos de experimentación.*
- ❖ *A mi esposo, por tener tanta paciencia conmigo y ser tremendísimo ser humano.*
- ❖ *A mi Primo Lázaro Venereo Suárez por haberme brindado su cuenta de Internet para mi búsqueda bibliográfica.*
- ❖ *A mis compañeros de aula por haber pasado estos seis años maravillosos y haber establecido una linda amistad.*
- ❖ *A todos mis profesores por haber contribuido a desarrollarme como profesional.*
- ❖ *Al profesor Mayito por brindarnos conocimientos de escalado para el desarrollo de mi tesis.*
- ❖ *A mi vecina Ernestina por prestarme donde moler el residual; la vaina.*
- ❖ *A todas las personas que de una forma u otra me apoyaron cuando lo necesite.*

Resumen

La vaina obtenida del árbol *Moringa oleífera (M.O)* presenta en su interior un fruto que está compuesto por: almendra y cáscara. La almendra es rica en aceite, el cual puede ser convertido en biodiesel. La vaina es un residual lignocelulósico que posee un contenido de hemicelulosas (13.7 %) y celulosa (19.5 %), los cuales podrían ser convertidos a bioetanol. Es conocido que los materiales lignocelulósicos deben ser sometidos a pretratamientos, siendo la hidrólisis ácida diluida uno de los métodos más utilizados, a pesar de producirse durante el proceso productos inhibidores de la fermentación. En el presente trabajo de diploma se realiza el pretratamiento a una concentración de ácido sulfúrico del 1 %, durante un tiempo de pretratamiento de 10 min., con una relación líquido/sólido (10:1) y a una temperatura de 130⁰C. Se realiza la técnica de escalado desde escala laboratorio hasta escala banco con la necesidad de elevar el volumen de pretratamiento de la vaina residual de la (*M.O*), por su importancia para la obtención de bioetanol, manteniendo una conversión de 4.75 g/L de ART expresados como xilosa y las condiciones de trabajo a esta nueva escala. Las dimensiones del reactor, obtenidas mediante la técnica del escalado que garantiza dicha conversión en un volumen de 50 litros y bajo las mismas condiciones son: altura 74cm y diámetro 29.4cm.

Abstract

The obtained shell of the *Moringa oleifera* tree (M.O) presents in your inside a fruit that this composed for: almond and hull. The almond is rich in oiling, which can be converted in biodiesel. The shell is a residual lignocellulosic that possesses a content of hemicelluloses (13.7 %) and cellulose (19.5 %), those which can be converted to bioethanol. It is known that the materials lignocellulosic must be subdued to pretreatment, being the diluted sour hydrolysis one of the methods more used, in spite of producing during the inhibitor products process of the fermentation. At present thesis carries out to him the pretreatment to a concentration of sulfuric acid of 1%, during a time of pretreatment of 10 min., with a liquid/solid report (10:1) and to a temperature of 130⁰C. It carries out to him the technique of escalated from climbs laboratory until climbs bench with the need to raise the volume of pretreatment of the residual sheath of the (M.O), for your importance for the obtaining of bioethanol, by keeping a conversion of 4.75 g/L of total reducing sugar expressed as xylose and the conditions of work to this new scale. The dimensions of the reactor, obtained by means of the technique of the split that guarantees conversion happiness in a volume of 50 liters and below the same conditions are: 74cm height and 29.4cm diameter.

Índice

| <u>Contenido</u> | <u>Página</u> |
|---|---------------|
| Introducción | 1 |
| Capítulo 1. Análisis Bibliográfico | 4 |
| 1.1 Características del árbol <i>Moringa oleífera</i> | 4 |
| 1.1.1 Hábitat de la <i>Moringa oleífera</i> | 4 |
| 1.1.2 Clima donde se cultiva la <i>Moringa oleífera</i> | 5 |
| 1.1.3 Usos de la <i>Moringa oleífera</i> | 5 |
| 1.2 ¿Qué se estudia cómo biomasa? | 6 |
| 1.2.1 La biomasa como materia prima y fuente renovable de energía | 8 |
| 1.2.2 Materiales lignocelulósicos (MLC). | 8 |
| 1.2.3 El bioetanol. | 9 |
| 1.2.4 El bioetanol como combustible único. | 9 |
| 1.2.5 Ventajas del bioetanol. | 10 |
| 1.2.5.1 Otras ventajas medio ambientales. | 10 |
| 1.2.6 El etanol y su producción. | 11 |
| 1.2.7 Etanol principalmente usado como combustible. | 12 |
| 1.2.8 Materia prima para la producción de etanol. | 12 |
| 1.2.9 Producción del bioetanol a partir de biomasa. | 13 |
| 1.2.10 ¿Es el etanol de celulosa sustentable? | 14 |
| 1.2.11 Estado actual en el mundo sobre la producción de etanol a partir de biomasa. | 15 |
| 1.3 Pretratamientos utilizados en los MLC. | 16 |
| 1.3.1 Pretratamiento de ácido diluido. | 16 |
| 1.3.2 Formación de compuestos no deseados en el pretratamiento ácido diluido. | 17 |
| 1.4 Aspectos generales de reactores utilizados en el pretratamiento. | 17 |
| 1.5 Técnica de escalado | 18 |
| 1.5.1 Características del escalado. | 19 |
| 1.5.2 Tipos de escalado | 19 |
| 1.5.3 Etapas de escalado. | 20 |
| 1.6 Conclusiones parciales. | 20 |
| Capítulo 2. Materiales y Métodos. | 21 |
| 2.1 Muestreo, preparación y conservación de la materia prima. | 21 |
| 2.2 Caracterización físico - química de la materia prima | 22 |
| 2.2.1 Caracterización física de la materia prima. | 22 |
| 2.2.2 Composición química de la materia prima. | 22 |
| 2.2.2.1 Determinación de humedad. | 22 |

| | | |
|--|--|-----------|
| 2.2.2.2 | Determinación de cenizas. | 23 |
| 2.2.2.3 | Determinación de extractivos. | 24 |
| 2.2.2.4 | Determinación de los polisacáridos fácilmente hidrolizables (PFH). | 25 |
| 2.2.2.5 | Determinación de los polisacáridos difícilmente hidrolizables (PDH). | 25 |
| 2.2.2.6 | Determinación de lignina Klason. | 26 |
| 2.2.3 | Pretratamiento con ácido sulfúrico diluido. | 27 |
| 2.2.4 | Determinación de los azúcares reductores totales (ART) | 27 |
| 2.3 | Escalado del pretratamiento ácido diluido de la vaina M.O | 27 |
| 2.3.1 | Cálculo para desarrollar la técnica del escalado | 28 |
| 2.4 | Conclusiones parciales | 28 |
| Capítulo 3. Resultados y discusión. | | 29 |
| 3.1 | Composición de la materia prima. | 29 |
| 3.2 | Composición física del fruto del árbol de <i>M. oleífera</i> . | 29 |
| 3.3 | Caracterización química de la vaina de <i>M. oleífera</i> | 31 |
| 3.3.1 | Humedad. | 31 |
| 3.3.2 | Cenizas. | 31 |
| 3.3.3 | Extractivos. | 31 |
| 3.3.4 | Polisacáridos fácilmente hidrolizables (PFH). | 31 |
| 3.3.5 | Polisacáridos difícilmente hidrolizables (PDH). | 32 |
| 3.3.6 | Lignina Klason | 32 |
| 3.4 | Pretratamiento ácido diluido. | 33 |
| 3.5 | Diseño preliminar del reactor a través de la técnica de escalado | 34 |
| 3.6 | Conclusiones Parciales. | 37 |
| Conclusiones Generales | | 38 |
| Recomendaciones | | 39 |
| Bibliografía | | 40 |
| Anexos | | 44 |

Introducción

La industria alimenticia genera grandes cantidades de residuales, anteriormente estos residuos eran derramados en el campo o usados directamente como alimento animal o como fertilizante sin que interviniese tratamiento alguno. La sociedad moderna se caracteriza por los costos crecientes de los productos, la decreciente disponibilidad de materias primas y la preocupación por la contaminación ambiental, por eso se incrementa más el interés por el reciclaje, recuperación y mejoramiento de los residuales **(Laufenberg et al., 2003)**. La contaminación es la acumulación de sustancias nocivas en el agua, aire y tierra **(Månsson et al., 1998)**.

Durante los últimos años, debido a razones económicas y medioambientales han sido introducidos nuevos métodos y políticas de manipulación y tratamiento de residuales del procesamiento de alimentos encaminados a la recuperación, bioconversión y utilización de los constituyentes valiosos que los mismos poseen **(Laufenberg et al., 2003)**.

El uso del etanol como combustible automotor puede ayudar a disminuir la emisión del CO₂ a la atmósfera y a su vez consumido en el proceso de fotosíntesis en las plantas del cual es obtenido. Esto induce a un ciclo donde se reduce la acumulación neta de CO₂ **(Galbe, 1994; Macedo, 1998)**. Asimismo el etanol o bioetanol como también es distinguido, puede ser una alternativa para sustituir las importaciones de combustibles, en la mayoría de países no petroleros **(Martin, 2002)**. Habitualmente el etanol se ha producido por fermentación de materias primas azucaradas y amiláceas. No obstante, esas materias primas constituyen importantes fuentes de alimentos y su disponibilidad no es suficiente para cubrir la demanda potencial de etanol combustible **(Pimentel, 2001)**. Para producir etanol a bajo precio será posible solamente si se emplean materiales lignocelulósicos, también conocidos como recursos de biomasa, cuya abundancia y bajo costo son reconocidos **(Wheals et al., 1999; Di Pardo, 2000)**. Los recursos de biomasa a ser considerados son fundamentalmente desechos agrícolas, agroindustriales y forestales, por lo que su transformación en etanol sería ventajoso, pues se produciría un combustible beneficioso al medio ambiente **(Grohman et al., 1998)**.

Toda tecnología para la producción de etanol a partir de biomasa debe contener una etapa de hidrólisis de los polisacáridos contenidos en su estructura, de manera que se logren azúcares simples que puedan ser convertidos en etanol por fermentación **(Cuzens y Miller,**

1996). Esta hidrólisis puede ser efectuada por ácidos o por enzimas. La hidrólisis enzimática no degrada los azúcares, pero como desventaja tiene su lentitud y el alto costo de las enzimas, mientras que la hidrólisis ácida diluida posee un bajo consumo de ácido, aunque provoca corrosión debido a las altas temperaturas (**Di Pardo, 2000**). La primera etapa del proceso para la obtención de etanol celulósico, es el pretratamiento, el cual puede ser: químico, físico o combinación de ambos. El pretratamiento ácido diluido el cual entra en los químicos, es el estudiado por (**Hernández et al.,2010**) donde las condiciones más adecuadas con respecto a la conversión de polisacáridos, la baja formación de furfural e hidroximetilfurfural además de las condiciones de trabajo en los laboratorios de la Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos fueron: concentración de ácido sulfúrico 1 %, tiempo de pretratamiento 10 minutos y temperatura 130 °C. Para poder llevar estos resultados de laboratorio a escala mayor manteniendo las condiciones de trabajo, debido a la importancia de elevar la producción para obtener etanol celulósico, es preciso disponer de la ecuación de diseño y la ecuación de la velocidad de reacción para el diseño del reactor. Al no tener los datos necesarios para formular la ecuación de la velocidad de reacción, podemos aplicar la técnica del escalado manteniendo todas las condiciones de trabajo y obteniendo similares conversiones en mayores volúmenes de pretratamiento.

Teniendo en cuenta los aspectos anteriores se formula el siguiente **problema** científico:

¿Qué características preliminares de diseño tendría un reactor de pretratamiento ácido diluido para la vaina residual de la *Moringa oleífera*?

Como vía para solucionar este problema se formula la siguiente **hipótesis**:

Si se aplica la técnica de escalado es posible determinar las características preliminares de diseño de un reactor de pretratamiento ácido diluido para la vaina residual de la *Moringa oleífera*.

Teniendo en cuenta lo anterior, se propone como **objetivo general**:

Realizar un diseño preliminar del reactor a través de la técnica de escalado.

Para dar cumplimiento al objetivo general deberán ser acometidas las siguientes **tareas**:

- 1. Caracterizar las características físico-química de la materia prima (vaina del fruto de la Moringa oleífera).***
- 2. Llevar a cabo en la fracción líquida los azúcares reductores totales para los diferentes volúmenes de estudio.***
- 3. Realizar el diseño preliminar del reactor de pretratamiento utilizando los cálculos y comparaciones necesarias con vista al escalado.***
- 4. Informe final del trabajo de diploma.***

Capítulo 1.

Búsqueda bibliográfica

En el siguiente capítulo se realiza un análisis de la información existente relacionada con el tema del trabajo de Diploma. El análisis bibliográfico está dirigido hacia la revisión del estado actual de la producción de etanol combustible a partir de biomasa.

Se hizo énfasis en las características de los residuos de cosecha cuyo contenido de carbohidratos, hace posible su bioconversión a etanol combustible. El material estudiado es el residuo (**vaina**) de la ***Moringa oleífera (M.O)***, después de extraer las semillas para la obtención de biodiesel.

1.1 Características del árbol *Moringa oleífera (M.O)*.

Es una planta tropical, su nombre científico es *Moringa oleífera Lam*, familia botánica: *Moringaceae*. Es originaria del noroeste de la India, pero crece muy bien en la América tropical. Donde es conocida, entre otros nombres, como: Terebinto, Teberinto, Arango, Marango, Narango, árbol de las perlas, perla de la India o rábano picante, entre otros. En Brasil es conocida como Quiabo de quina y Lirio blanco. Otros nombres comunes: Palo jeringa, Ben, Acacia y Jazmín francés. Es cultivado en Cuba, generalmente en zonas rurales y a veces como ornamental en zonas urbanas. Es sub.-espontánea después del cultivo. Es una planta de rápido crecimiento, entre 7 – 12 metros de altura, de corteza áspera y correosa y con las ramas jóvenes pulverulentas. Teniendo hojas alternas de 2 o 3 pinnadas, caducas, de 30 a 60cm de longitud tiene foliolos numerosos, opuestos, de 1 a 2cm de largo. Con flores fragantes y agrupadas en grandes espigas asilares; 5 pétalos, desiguales y blancos (**Ver Anexo 1, fig. 1 a**). Fruto capsular, lineal, 3-angular, pendular, de hasta 40cm de largo y 1 o 2cm de ancho. Sus semillas son haladas. Es cultivado en regiones tropicales de todo el mundo. (**Ver Anexo 1, fig. 1 b**). (**Vecilla, 2009**)

1.1.1 Hábitat de la *Moringa oleífera*.

Área de Distribución Natural y de Naturalización: el resedá es nativo al sur de Asia, en donde crece al pie de los Himalayas desde el noreste de Paquistán hasta el norte de Bengala del Oeste (la India). Ha sido introducido y se ha naturalizado en otras partes de la India,

Paquistán, Afganistán, Bangladesh, Sri Lanka, el sudeste de Asia, Asia Occidental, la península Arábiga, África del este y oeste, el sur de la Florida, todas las Indias Occidentales, y desde México a Perú, Paraguay y Brasil. En Puerto Rico se cultiva más que nada como una planta ornamental y como setos a lo largo de cercos. Se ha naturalizado al lado de caminos y carreteras en los llanos costeros y en los cerros bajos al pie de las montañas. **(Vecilla, 2009)**

1.1.2 Clima donde se cultiva la *Moringa oleífera*.

En su hábitat natural, las fluctuaciones anuales de temperatura tienden a ser muy marcadas, con temperaturas a la sombra mínimas y máximas oscilando desde entre -1 a 3 °C hasta entre 38 a 48°C durante los meses más fríos y los más calientes, respectivamente. La **M.O** es muy resistente a la sequía y se cultiva en regiones áridas y semiáridas de la India, Paquistán, Afganistán, Arabia Saudita y África del este, a pesar de que dichos sitios son probablemente irrigados y se caracterizan por poseer un nivel alto de agua subterránea.

1.1.3 Usos de la *Moringa oleífera*.

Sus hojas y semillas, con un alto contenido de proteínas y bajo contenido en toxinas, se usan como alimento animal y humano en varios países de África. Se estima que cada árbol puede producir anualmente hasta 25,000 semillas, con un peso promedio de 0.3g por semilla. Las semillas también se utilizan en la industria alimenticia, en cosméticos y en medicamentos en forma de cápsulas. **(Ver Anexo 2, fig 1 a)**

Las semillas son un floculante natural. Este floculante actúa capturando partículas en suspensión en el agua y provocando que estas se agreguen entre sí y se precipiten al fondo. Modo de empleo (artesanal), simplemente moler semillas maduras y envolverlas en algún tipo de tejido que impida que se disgreguen al introducirlas en el agua a purificar. **(Vecilla, 2009)**

La hoja de Moringa es la más nutritiva parte del árbol. Por miles de años los indios usaron la hoja de Moringa en su alimentación para tener una dieta nutritiva. Tiene un alto contenido de

minerales y multi-vitaminas y los profesionales de la salud en África la utilizan para reducir la mala nutrición y los niveles de azúcar en la sangre. (Mossa, 1985)

La vaina de la Moringa es la parte más deliciosa de la planta. Son ricos aminoácidos y provee todos los 8 aminoácidos que el cuerpo requiere. Una dosis regular de la vaina y la flor de la Moringa ayuda a aumentar la cantidad de espermatozoides. La vaina y la flor cuando se consume en la combinación con la miel y las hojas en polvo, ayudan a aumentar el apetito sexual. Vitalmor es la suma de todos ellos. Es un suplemento muy conocido, descubierto hace más de 3.000 años por la humanidad. A Moringa se le dio el nombre del "Árbol de la vida" por qué todas las partes del dicho árbol son usadas como alimento y medicina. Moringa puede curar más de 300 enfermedades.

Las hojas son procesadas a través de estrictos controles de calidad utilizando este tipo de proceso a fin de preservar los nutrientes esenciales. Hemos logrado un amplio reconocimiento por la fabricación de té Moringa que está enriquecido con vitamina C, vitamina A, proteína, calcio, potasio, etc. (Mossa, 1985) Se hace de la planicie de las hojas secas del árbol de Moringa. Tiene el sabor original de las hojas de Moringa. Sin embargo, además del sabor original, ofrecemos el té de Moringa en varios sabores como Limón, Jengibre, Menta, Fresa, Canela y Manzana, té verde y Granada (Ver anexo 2, fig. 1 b). Nuestra fruta y el sabor de los tés de Moringa, no sólo son nutritivos, sino que también sirven para el paladar. Esto hace que el Moringa té, se consuma como copa por la noche.

El aceite de moringa o ben se usa frecuentemente en el tratamiento de la gota y el reumatismo agudo. Un Árbol con enormes potencialidades, una parte del aceite es comestible y es una parte importante en nuestra dieta, puesto que es una fuente concentrada de energía nutritiva. Pero la mayoría del aceite comestible es caro y producido por compañías comerciales. Entre otros usos (Singh et al., 1983).

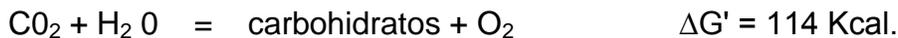
1.2 ¿Qué se estudia cómo biomasa?

La biomasa, puede definirse como el conjunto de materiales con un origen biológico próximo que son susceptibles de ser utilizados para otros fines distintos a los alimentarios. En el sentido de esta definición, quedan excluidos del término "biomasa" todos los productos agrícolas que sirvan para alimentación del hombre o los animales, así como los

combustibles fósiles, estos últimos por derivar de materiales biológicos pero a través de transformaciones que han alterado muy profundamente su naturaleza. **(Bridgewater y Grassi, G. 1990)**

Los materiales biomásicos y, por tanto los productos de ellos derivados son de carácter renovable ya que constituyen una fase del ciclo biológico de los elementos que los integran, fundamentalmente carbono, oxígeno, hidrógeno y nitrógeno. Bajo un punto de vista energético, la energía que puede obtenerse de la biomasa no es sino una forma de la energía solar que, mediante el proceso de la fotosíntesis desarrollado por las plantas verdes, ha sido captada y transformada en energía química de enlace y, posteriormente, pasa de animales a plantas a través de las cadenas tróficas de los ecosistemas acumulándose en los compuestos de reserva, poliazúcares y grasas, de los seres vivos. La ecuación global del proceso de fotosíntesis es la siguiente:

Luz



La anterior ecuación indica que por cada mol de CO_2 atmosférico fijado por las plantas verdes, 114 Kcal. de energía solar contenida en las radiaciones fotosintéticamente activas (400-700 nm) se transforma en energía de enlace químico de los productos de la fotosíntesis. **(Grassi, 1991)**

Existen portadores energéticos a partir de la biomasa, que se pueden aprovechar racionalmente y en muchas variantes y estados físicos, ya sean sólidos, líquidos y gaseosos. Entre esos portadores energéticos derivados de la biomasa se encuentran el biogás, el carbón vegetal y el etanol. **(Domínguez et al., 1996)**

El término biomasa celulósica es usualmente aplicado a tejidos leñosos y lignificados, los cuales son corrientemente subutilizados y subvalorados. No es duda que estos residuos leñosos y de cosecha representan granos de gran reservorio de biomasa lignocelulosa necesaria para suministrar grandes mercados de combustibles **(Ashgari et al., 1996)**. Son diversos los métodos que se han desarrollado en el mundo para degradar y transformar los materiales lignocelulósicos en productos que puedan servir como sustrato de

fermentación y obtener proteínas de consumo humano o animal, etanol u otros productos como glucosa, xilosa, furfural, 5-hidroximetilfurfural, derivados de lignina, etc.

1.2.1 La biomasa como materia prima y fuente renovable de energía.

Los residuos de materia orgánica procedente de las actividades agrícolas, ganaderas y forestales, así como los subproductos de las industrias agroalimentarias y de transformación de la madera, pueden utilizarse para la producción de calor, electricidad y de biocombustibles para vehículos. **(Wan - Ho et. al., 2006)**

¿Sabías que la biomasa...?

No contamina porque:

- El carbono es captado por los elementos vegetales (restos forestales, agrícolas...) que liberan oxígeno a la atmósfera.
- La central eléctrica quema la biomasa, devolviendo a la atmósfera el CO₂ que captaron las plantas al inicio del proceso de fotosíntesis.

Por tanto, el resultado neto de las emisiones de CO₂ a la atmósfera resulta nulo.

- Favorece la limpieza de los bosques, al eliminar astillas, ramas secas, etc., con lo que se reduce el riesgo de incendios.
- Las instalaciones necesarias no tienen apenas impacto ambiental.

1.2.2 Materiales lignocelulósicos (MLC).

Los materiales lignocelulósicos son la más abundante fuente renovable en la superficie de la tierra, lo cual lo hace una materia prima atractiva de gran uso para la producción de bioetanol. Sin embargo, la lignocelulosa ofrece una gran resistencia al ataque biológico, debido precisamente a su alta complejidad en su composición química **(Schurz, 1997)**. Los materiales lignocelulósicos están formados por tres componentes principales: celulosa, hemicelulosas y lignina. Entre las principales materias primas lignocelulósicas se encuentran los cultivos energéticos, el papel reciclado, los residuos forestales y los desechos agrícolas y de la industria alimenticia, así como los residuos sólidos municipales **(Martín, 2002)**. Sin embargo, solamente entre el 3 y el 4 % de esos materiales

son utilizados económicamente en el mundo occidental, fundamentalmente como alimentos, en la producción de pulpa y papel, y en la generación de energía **(Galbe, 1994)**

1.2.3 El bioetanol.

Biocombustible líquido, producido a partir de la fermentación de productos renovables como: maíz, caña de azúcar, remolacha, etc. **(Ávila, 2007)**

El proceso químico de producción de bioetanol se basa simplemente en una fermentación, que es un cambio químico en las sustancias de naturaleza orgánica llevado a cabo por la acción de enzimas. Lo que ocurre en una fermentación es que las sustancias orgánicas complejas se transforman en otras simples.

1.2.4 El bioetanol como combustible único.

Históricamente, el primer vehículo que se diseñó para el uso de etanol fue una variante del Modelo T de Henry Ford, que estaba pensado para ser utilizado en las granjas, de forma que sus propios dueños pudieran producir el alcohol a partir de la fermentación del maíz. Posteriormente se desarrolló el Modelo A, que también podía usar tanto etanol como gasolina. Actualmente, para que los vehículos de explosión puedan funcionar con etanol es necesaria una serie de modificaciones, En los últimos años se han desarrollado una serie de vehículos capaces de funcionar tanto con gasolina como con etanol o una mezcla de ambos. Se denominan Flexible Fuel Vehicles (FFV).

El etanol, como combustible único, es utilizado principalmente en Brasil y Argentina. Su uso a temperaturas inferiores a 15°C puede incendiarse con gran facilidad, para que esto no ocurra el método más común de solucionarlo es añadirle una pequeña parte de gasolina. La mezcla más utilizada es la E-85 que está compuesto de un 85 % de etanol y un 15 % de gasolina. Desafortunadamente el etanol contiene menos energía por litro que la gasolina, por lo que su rendimiento puede llegar hasta un 30% menos, principalmente en modelos antiguos.

Saab [SAAB] produce el modelo 95 turbo alimentado que asegura una mayor economía que los motores de gasolina, ofreciendo rendimientos semejantes a sus equivalentes con combustibles convencionales.

El etanol presenta un octanaje mucho mayor que la gasolina entorno a 110 lo que hace que no se quemara de forma tan eficiente en los motores convencionales. El uso continuado de combustibles con una alta proporción de etanol, como el E-85, produce corrosiones en el metal y en las piezas de goma.

1.2.5 Ventajas del bioetanol.

- Es una fuente de combustible renovable y doméstico.
- Los biocarburantes emiten de un 40-80 % menos de gases invernaderos que los combustibles fósiles.
- Reduce dependencia del petróleo en el extranjero.
- Una fuente más limpia de combustible.
- Aumenta el octano del combustible con un costo pequeño.
- Virtualmente utilizable en todos los vehículos.
- Fácil de producir y almacenar.
- El bioetanol es superior medioambientalmente al resto de los carburantes más importantes.

1.2.5.1 Otras ventajas medioambientales.

- Reducción de la lluvia ácida. **(Pérez, 2007)**
- Mejora de la calidad del aire en zonas urbanas.
- No contamina el agua.
- Reducción de residuos.

1.2.6 El etanol y su producción.

El Etanol o alcohol etílico es un compuesto líquido, incoloro, volátil, inflamable y soluble en agua cuyas moléculas se componen de carbono, hidrógeno e hidroxilos ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$). El Etanol se produce a partir de 3 principales materias primas:

- **Sacarosas**, que se encuentran en la caña de azúcar, la melaza, el sorgo dulce, etc.

La caña de azúcar es una de las materias primas más atractivas para la elaboración de etanol, debido a que los azúcares se encuentran en una forma simple de carbohidratos fermentables.

Se estima que de una tonelada de melaza se produce 230 litros de alcohol.

Además, con una tonelada de caña de azúcar se produce entre 30 y 40kg de melaza, que a su vez generaría entre 6,9 y 9,2 litros de alcohol.

- **Almidones**, que se encuentran en cereales (maíz, trigo, cebada, etc. y tubérculos (yuca, camote, papa, etc.). Los almidones contienen carbohidratos de mayor complejidad molecular que necesitan ser transformados en azúcares más simples mediante un proceso de conversión (sacarificación), introduciendo un paso adicional en la producción de etanol, con lo que se incrementan los costos de capital y de operación.

No obstante, existen algunos cultivos amiláceos como la yuca, que pueden ser desarrollados con una mínima cantidad de insumos y en tierras marginales donde generalmente no se desarrollan otras especies.

- **Celulosa**, que se encuentra en la madera, residuos agrícolas y forestales. Las materias primas ricas en celulosa son las más abundantes, sin embargo la complejidad de sus azúcares hacen que la conversión a carbohidratos fermentables sea difícil y costosa.

El etanol proveniente de la celulosa puede ser producido de una gran variedad de residuos agrícolas (maíz, cereal, caña de azúcar, etc.), los residuos vegetales de los procesos industriales (pulpa de papel, aserrín) y de cultivos energéticos como “switch grass”.

1.2.7 Etanol Principalmente Usado como Combustible.

A nivel mundial el etanol es usado principalmente como:

- Combustibles: ya sea para mezclar o reemplazar el petróleo y derivados. El 65,4% de producción mundial de etanol se usa como combustibles.
- Insumo en la industria procesadora: dado que el 21% de la producción mundial se destina a las industrias de cosméticos, farmacéutica, química, entre otras.
- Insumo en la elaboración de bebidas: que utiliza alrededor del 13% de la producción mundial.

Cabe destacar que, la producción mundial de alcohol destinada al uso de combustibles se encuentra mayormente subsidiada.

1.2.8 Materia prima para la producción de etanol.

La materia prima esencial en la producción de etanol está constituida por la fuente de carbono, la que proporciona la energía requerida para la formación del mismo. Las melazas de caña y remolacha, los jugos de caña y los jugos de frutas son materiales que pueden ser fermentados directamente por los microorganismos productores. En Cuba, al igual que en la mayoría de los países tropicales, las melazas de caña son la materia prima más utilizada en la producción de etanol **(Martín, 2002)**.

Las materias amiláceas presentan almidón, el cual no es fermentable claramente, por lo que requiere ser hidrolizado primeramente por vía química o enzimática con el fin de obtener azúcares que puedan ser fermentados por las levaduras. Entre estas materias primas se encuentran cereales, tubérculos y raíces. En los países de clima templado las materias primas amiláceas son las preferidas para la producción de etanol **(Inglelew, 1995)**. Los carbohidratos contenidos en los materiales lignocelulósicos son la celulosa y las hemicelulosas, polisacáridos que pueden ser hidrolizados a azúcares simples, muchos de los cuales a su vez pueden ser fermentadas a etanol por las levaduras. La producción de azúcares con altos rendimientos y bajo costo a partir de lignocelulosa es más difícil que producir azúcares a partir de materiales azucarados o amiláceos, lo que encarece significativamente esa alternativa. Las materias primas azucaradas y amiláceas son relativamente más caras, pero más fáciles de convertir en etanol. Por eso, a pesar de que el

costo de la biomasa lignocelulósica es mucho más bajo que el costo de otras materias primas, el costo de obtener azúcares a partir de lignocelulosa ha sido históricamente demasiado alto como para atraer el interés para su uso industrial, materias dignas de considerar para la producción de etanol combustible son: yuca, caña de azúcar, remolacha forrajera, sorgo azucarado y diversos granos en regiones secas. Sin embargo, otros autores afirman que la producción industrial de etanol combustible a bajo costo sólo será posible si se utilizan materias primas lignocelulósicas **(Galbe, 1994; Wheals et al., 1999)**.

1.2.9 Producción de bioetanol a partir de biomasa.

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 del 5% de agua, que tras ser deshidratado se puede utilizar como combustible.

Principalmente se utilizan tres familias de productos para la obtención del alcohol: Azúcares, procedentes de la caña o la remolacha, por ejemplo:

- Cereales, mediante la fermentación de los azúcares del almidón.
- Biomasa, por la fermentación de los azúcares contenidos en la celulosa y hemicelulosa. **(García, 2006)**

Los materiales lignocelulósicos son los que ofrecen un mayor potencial para la producción de bioetanol. Una gran parte de los materiales con alto contenido en celulosa, susceptibles de ser utilizados para estos fines, se generan como residuos en los procesos productivos de los sectores agrícola, forestal e industrial. Los residuos agrícolas proceden de cultivos leñosos y herbáceos y, entre otros, hay que destacar los producidos en los cultivos de cereal. Por su parte, los residuos de origen forestal proceden de los tratamientos silvícola y de mejora o mantenimiento de los montes y masas forestales. 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 **(Cabrera, 2008)**

Los residuos de biomasa contienen mezclas complejas de carbohidratos, llamados celulosa, hemicelulosa y lignina. Para obtener los azúcares de la biomasa, esta es tratada con ácidos o enzimas que facilitan su obtención. La celulosa y hemicelulosa son hidrolizadas por enzimas o diluidas por ácidos para obtener sacarosa, que es entonces fermentada. Tres son los principales métodos para extraer estos azúcares: la hidrólisis con ácidos concentrados, la hidrólisis con ácidos diluidos y la hidrólisis enzimática. En el **(anexo 3)** se encuentra un esquema simplificado del proceso de obtención de etanol a partir de materiales lignocelulósicos.

1.2.10 ¿Es el etanol de celulosa sustentable?

Un estudio preliminar del ciclo de vida del etanol de celulosa mostró que se reduce en un 89% las emisiones de gases invernaderos sobre el uso de petróleo. En contraste etanol fermentado de azúcar reduce gases invernaderos en un promedio de 13%. **(Wan – Ho et al., 2006)**

Una propuesta estima que para producir 50 billones de galones de etanol por año de biomasa de celulosa, el flujo de residuos solo proporcionaría el 40 o 50% de la materia prima, el resto tendría que venir de cultivos energéticos como es el maíz y *switch grass*, que causaría grandes impactos al sistema agrícola.

Niveles mayores a esto producirían impactos en el costo de tierras agrícolas y competencia con la producción alimenticia.

Los Estados Unidos ha fijado la meta en el consumo de gasolina para carros y camiones para el año 2050 en 290 billones de galones.

Una idea para producir biocombustibles, económica y eficiente, es desarrollar bio-refinerías, análogas a las refinerías de petróleo, donde el crudo es convertido en combustibles y productos secundarios como fertilizantes y plásticos. En el caso de las bio-refinerías, la biomasa de la planta produciría una diversidad de productos como comida para animal, combustibles, químicos, polímeros, lubricantes, pegamentos, fertilizantes y energía.

1.2.11 Estado actual en el mundo sobre la producción de etanol celulósico a partir de biomasa.

Etanol celulosa el “Oro Verde”

La principal limitación de obtener etanol de materia vegetal es que la mayoría de los azúcares, con excepción de almidón de la mazorca, no son viables para la fermentación con bacterias u otros microbios. Los azúcares están encerrados en la celulosa, el material fibroso que representa el 75 o 85% de la planta, el resto es lignina, el material de la madera.

(Placeres, 2006)

Sin embargo un cóctel de enzimas llamadas células se pueden descomponer la celulosa en sus unidades de azúcares, que sí pueden ser fermentadas por microbios convirtiendo los azúcares en etanol. Eso significa que la hierba, la paja y otros residuos de los cultivos agrícolas pueden ser convertidos en etanol. Esto se ha denominado como el “oro verde” que podría reemplazar el “oro negro” crudo, importado y que se ve como un potencial para reducir sustentablemente el consumo de combustibles fósiles.

“Por lo menos es tan factible como el uso de Hidrógeno como una fuente de energía para el sector de transporte sustentable”, dijo el Consejo de Defensa para los Recursos Nacionales (NRDC) por sus siglas en inglés) y la Unión de Científicos Preocupados (UCC).

Shell Oil predijo que el mercado global de biocombustibles como ‘etanol celulosa’ crecería por encima de los \$10 billones para el 2012.

Un estudio financiado por la Fundación de Energía y la Comisión Nacional para Políticas Energéticas concluyó que “los biocombustibles junto con vehículos de mayor eficiencia y crecimiento inteligente podría reducir la dependencia del sector transportista en petróleo en dos tercios para el 2050 de forma sustentable”. ‘Crecimiento inteligente’ es un término de planificación que significa el crecimiento que maximiza el desarrollo sustentable de ciudades en relación a transporte y otras formas de reducir el uso de energía.

1.3 Pretratamientos utilizados en los MLC

Existen diferentes tipos de pretratamientos, los cuales pueden agruparse dentro de cuatro categorías: físicos, químicos, biológicos y combinados. Los físicos (vapor, radiación, vibración), no incluyen la aplicación de sustancias químicas (**Azuma et al., 1985, Beardmore et al., 1980**). En los químicos participan sustancias, tales como dióxido de azufre (SO₂), ácido acético, solventes (**Varshney y Patel, 1988**), amoníaco (**Holtzapple et al., 1992**), álcalis (**Playne, 1984**) y ácidos. Los biológicos, en los cuales participan microorganismos degradadores de lignina, tienen el inconveniente de ser muy lentos (**Lee, 1997**). Entre los combinados tenemos la explosión por vapor, en la cual se pueden combinar SO₂ y vapor (**Dekker y Wallis, 1983; Hörmeyer et al., 1988; Lambert y Stratford 1999**). La oxidación húmeda, en el cual la biomasa es tratada con agua y aire u oxígeno a temperaturas por encima de 100⁰C, es otro de los tenidos en cuenta para tratar la biomasa (**Mc Ginnis, et al. 1983 a, b**). A nivel industrial, solo los pretratamientos ácidos (diluido y concentrado), han sido utilizados.

1.3.1 Pretratamiento ácido diluido.

El pretratamiento ácido diluido, como su nombre lo indica es el uso de ácidos tanto concentrados como diluidos para destruir la coraza de lignina y hemicelulosa, encontrada en la pared celular en los materiales lignocelulósicos. Los tratamientos con ácidos calientes rompen los enlaces de estos polisacáridos y despolimerizan y solubilizan la hemicelulosa dando xilosa, manosa, arabinosa, galactosa y glucosa (**Grohmann et al., 1994**). En el pretratamiento se utilizan ácidos fuertes como, el clorhídrico, sulfúrico y el fluorhídrico a bajas temperaturas, donde el principal inconveniente es el requerimiento de equipos de acero inoxidable, lo cual incrementa considerablemente el costo (**Wyamn, 1999**). Otro inconveniente, es la formación de productos de degradación de varios azúcares y pérdidas de material debido al tiempo en que se mantienen bajo estas condiciones las que no son las adecuadas. Cuando se usa ácido diluido, se aplica altas temperaturas (alrededor de 200⁰C) y considerable cantidad de productos de degradación de azúcar y lignina son formados (**Bashir y Lee, 1994**), lo que, por supuesto, es un factor negativo en estos pretratamientos.

Ejemplo de estos puede ser: ácido diluido (4 %) a 100°C durante 60 min. y otro ácido concentrado (85 %) a 100°C durante 10 min. **(Szengyel, 2000). (Ver anexo 5)**

1.3.2 Formación de compuestos no deseados en el pretratamiento ácido diluido.

Durante el pretratamiento de la biomasa se pueden formar compuestos tóxicos que inhiben la hidrólisis enzimática y la fermentación alcohólica, Los cuales pueden dividirse dentro de tres grupos principales de acuerdo a su naturaleza química. El primer grupo consiste en derivados furánicos, ejemplos: el furfural y el 5-hidroximetilfurfural (HMF), los cuales se forman por la deshidratación de las pentosas y hexosas, respectivamente, por la acción de ácidos y temperaturas altas. El segundo grupo de compuestos inhibidores son ácidos alifáticos de cadenas cortas. Típicamente los hidrolizados lignocelulósicos contienen varias cantidades de ácido acético, ácido fórmico y ácido levulínico. El ácido acético se forma por la desacetilación de las hemicelulosas. El ácido fórmico y el levulínico son productos de degradación del HMF y el furfural. El tercer grupo de inhibidores comprende varios compuestos fenólicos liberados de la degradación parcial de la lignina **(Mes-Hartree, y Saddler, 1983, Palmqvist et al., 1996)**

1.4 Aspectos generales acerca de reactores utilizados en el pretratamiento.

El medio físico donde ocurre la reacción correspondiente al proceso de pretratamiento se conoce como reactor. Entre los estudiados por la literatura encontramos:

1. Reactor batch o discontinuo.
2. Reactor semibatch.
3. Reactor backmix (continuo de tanque agitado).
4. Reactor tubular de cama fija y móvil.
5. Reactor diferencial con recirculación.

Los reactores tubulares de cama fija y móvil presentan dificultades de evaluación de las constantes específicas de la reacción, pues las concentraciones son funciones de la longitud del reactor y del tiempo para el de cama fija y funciones del largo para el de cama móvil. En el reactor de cama móvil se presenta, también, la dificultad de mantener fija la relación de

sólido – líquido. En el reactor diferencial con recirculación cambia la concentración de celulosa o hemicelulosa del material celulósico colocado entre las dos mallas que lo sujeta dentro del equipo, a través de los cuales pasaría la disolución ácida, lo que hace imposible utilizarlo. Además, habría que utilizar relaciones de reciclo muy altas y una bomba resistente a la temperatura y al ácido. El reactor backmix presenta dificultades prácticas, pues sería necesario bombear una suspensión de material celulósico con ácido, manteniendo el hidromódulo constante, y controlar cuidadosamente el flujo. El reactor semibatch es de más difícil construcción que el batch. En éste el material celulósico se encuentra perfectamente agitado, pero retenido por una malla. La disolución de ácido penetra por la parte superior del equipo, mezclándose con el material celulósico, y sale a través de la malla después de reaccionar. **(Nápoles y López, 1984).**

Un reactor discontinuo es simplemente un recipiente en el que están contenidas las sustancias mientras reaccionan; lo que hemos de determinar es la extensión de la reacción para diversos tiempos, que puede seguirse por varios caminos, por ejemplo:

1. Siguiendo la marcha de la concentración de un determinado componente.
2. Siguiendo la variación de alguna propiedad física del fluido, tal como la conductividad eléctrica o el índice de refracción.
3. Siguiendo la variación de la presión total, en un sistema a volumen constante.
4. Siguiendo la variación del volumen, en un sistema a presión constante.

Estos reactores suele operar isotérmicamente y a volumen constante, debido a la fácil interpretación de los resultados experimentales, es relativamente sencillo, necesita sólo de pequeños aparatos o instrumentos auxiliares, es el dispositivo preferido en sistemas homogéneos en ecuaciones irreversibles y consecutivas donde casi siempre el producto intermedio el deseado **(Levenspiel, 1974).**

1.5 Técnica de escalado.

El método más antiguo es el de escalado. Este método se basa en el desarrollo de una secuencia de trabajos experimentales en los que el sistema reaccionante se somete a estudio en aparatos de dimensiones cada vez mayores, cuando en dos etapas sucesivas se

reproducen resultados satisfactorios, se considera que se puede proceder al diseño del reactor a escala industrial sin mayores riesgos, siempre que el cambio de escala se encuentre dentro de los límites tolerables.

El diseño por escalado es de suma importancia que el cambio de escala sea la mayor posible, ya que el costo de los experimentos es directamente proporcional al tamaño de los aparatos. El factor escala a utilizar depende en gran medida de la naturaleza del sistema reaccionante y del conocimiento que se tenga del mismo. En realidad en el campo de los reactores cualquier información basada solamente en el tipo de reactor. Se puede considerar que los cambios de una instalación experimental a otra de cinco a diez veces mayor, se encuentra en los límites utilizados en la práctica de ingeniería química.

Existe otro método de diseño que consiste en determinar a escala de laboratorio o de planta piloto el efecto aislado de las variables más importante en todo el intervalo de trabajo. **(Viera, 1991)**

1.5.1 Características de escalado.

- Los resultados obtenidos en equipos de laboratorio o planta piloto se transportan a una operación industrial de mayor tamaño.
- La viabilidad técnica y económica que se comprobó se debe cumplir también en la escala mayor (industrial).
- Los procedimientos de escalado de procesos biológicos son similares a los de procesos químicos.
- Las diferentes operaciones involucradas en el proceso también deberán ser tratadas con atención a escala mayor.

1.5.2 Tipos de escalado.

- Desde una escala menor a otra mayor o denominada también scale-up
- Desde una escala mayor a otra menor o scale-down.

1.5.3 Etapas del escalado.

- Reactores de escala de laboratorio (50 – 1000 mL).
- Reactores de escala banco (5 –20 L).
- Reactores de escala piloto (50 – 5000L).
- Reactores de producción (25000L).

En la escala de laboratorio es donde se buscan las condiciones de trabajo como:

- Temperatura.
- Concentración de ácido.
- Tiempo de reacción.
- Conversión de una sustancia deseada.

En la escala banco se busca la forma que va a tener el reactor manteniendo todas las condiciones de trabajo obtenidas en la escala de laboratorio.

1.6 Conclusiones parciales.

- ✓ La biomasa se define como: el conjunto de materiales que puede ser utilizada con otros fines distintos a los alimentos.
- ✓ Los materiales lignocelulósicos son la fuente renovable más abundante en la tierra y están formados por celulosa, hemicelulosas y lignina principalmente, sin embargo entre el 3 y el 4 % son utilizados económicamente en el mundo occidental.
- ✓ Los residuos agrícolas, como la vaina del fruto de la M.O, debido a su composición química es utilizada para la obtención de bioetanol.
- ✓ El escalado es una forma de llevar investigaciones de laboratorio a escala industrial.

Capítulo 2.

Materiales y Métodos

- En este capítulo se aborda las técnicas utilizadas en la tesis para determinar la composición química de la materia prima utilizada (**vainas de *Moringa oleífera***), la cual fue obtenida en una plantación experimental situada en la estación experimental de Pastos y Forrajes: “Indio Hatuey”, Matanzas, Cuba. También se desarrolla la técnica de escalado, desde una escala menor a otra mayor o denominada también scale-up), aplicada para el diseño preliminar del reactor. Para esto se realizaron las siguientes tareas:

1. *Muestrear, conservar y preparar la materia prima.*
2. *Caracterizar las características físico-química del residual (vaina) de la *Moringa oleífera*.*
3. *Analizar los azúcares reductores totales en la fracción líquida para los diferentes volúmenes de estudio.*
4. *Calcular los parámetros necesarios para el diseño preliminar del reactor a través de la técnica de escalado.*
5. *Elaboración del informe final de la tesis.*

El trabajo experimental se desarrolló en el laboratorio de Química, del Departamento de Química e Ingeniería Química de la Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”.

2.1 Muestreo, preparación y conservación de la materia prima.

Primeramente, se expone la materia prima al sol por tres días, después en el laboratorio se divide principalmente en cuatro capas sucesivas de aproximadamente igual espesor. Cada capa es dividida en ocho porciones iguales sobre una superficie rectangular y de estas se toman dos porciones opuestas entre sí y el resto se desecha, para garantizar que la muestra sea lo más real y representativa posible (**Hernández, 1995**). Las porciones finales de las muestras preparadas previamente, son secadas a 40⁰C en estufa (Estufa - incubadora

digital AISET YLD-6000 Alemana, con control térmico, de 0,1°C de sensibilidad) por espacio de 24 h. Posteriormente la muestra es tamizada (1mm) donde se obtienen fracciones útiles para cada experimento a seguir. La misma fue conservada en bolsas de polietileno a temperatura ambiente.

2.2. Caracterización físico-química de la materia prima.

Esta etapa de la investigación comprende la caracterización físico-química del residual sólido de la vaina de *M.O.*, la misma se realiza siguiendo las técnicas operatorias regidas por los Métodos Standard para el Análisis de Biomasa, perteneciente a los Laboratorios Nacionales de energía renovable (NREL) de Estados Unidos. Los análisis realizados para la determinación de la composición química del material son: Humedad, Cenizas, Hidrólisis ácida analítica, Polisacáridos fácilmente y difícilmente hidrolizables y Extractivos.

2.2.1. Caracterización física de la materia prima.

Para la determinación física de la materia prima se tomaron once frutos determinándose: peso total del fruto, peso de la almendra, peso de las cáscaras. Se realiza además el cálculo del por ciento del peso de las partes integrantes del fruto con respecto al peso total del mismo. Se reporta la desviación estándar y el coeficiente de desviación correspondiente a los datos analizados.

2.2.2 Composición química de la materia prima.

2.2.2.1 Determinación de humedad.

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

calcio anhídrido y silicagel) y después pesando la muestra anhidra. El procedimiento anterior se repite hasta alcanzar peso constante (dos pesadas consecutivas deben diferenciarse en 0,2 mg o menos). El resultado es aceptado cuando muestra y réplicas tengan una desviación estándar igual o inferior a 0,19% y un coeficiente de variación igual o inferior a 0,20%. Las ecuaciones utilizadas son:

$$\% \text{ Sólido totales} = \frac{\text{Peso}_{\text{crisol + muestra}} - \text{Peso}_{\text{crisol}}}{\text{Peso}_{\text{muestra}}} * 100$$

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \% \text{ sólido totales}$$

2.2.2.2. Determinación de cenizas.

La determinación de cenizas es realizada según: “*Standard Method for Ash in Biomass*”. Procedimiento analítico de laboratorio LAP 005. El análisis se basa en la gravimetría por volatilización. Se pesan exactamente y por duplicado en crisoles de porcelana con su tapa (previamente preparados en el horno mufla a la temperatura de 550 ± 25 °C por una hora) 1,0000g de muestra, la muestra se coloca en el horno mufla a temperatura de 550 ± 25 °C por tres horas; se ponen en desecadora por espacio de 15 a 30 minutos, se pesa y se repiten las operaciones antes mencionadas, hasta obtener peso constante (dos pesadas consecutivas deben diferenciarse en 0,2mg ó menos). El cumplimiento de este procedimiento se acepta cuando muestra y réplicas cumplan con una desviación estándar igual o inferior a 0,05% y un coeficiente de variación igual o inferior a 3,88%.El cálculo se realiza mediante la ecuación siguiente:

$$\% \text{ Cenizas} = \left(\frac{(\text{Peso}_{\text{crisol + ceniza}} - \text{Peso}_{\text{crisol}})}{\text{Peso}_{\text{muestra}} * \% \text{ sólido totales}} * 100 \right) * 100$$

2.2.2.3 Determinación de extractivos.

La determinación de extractivos es realizada según: “*Standard Method for the Determination of Extractives in Biomass*”. Procedimiento analítico de laboratorio LAP 010. El análisis se basa en la gravimetría por extracción sólido-líquido. Se pesan aproximadamente de 2 a 10 g de muestra tamizada en (balanza analítica), se agrega la muestra cuantitativamente al dedal y se pesa, colocando el mismo en un aparato Soxhlet de 75 mL, se adiciona de 160-195 mL de etanol al 95 % en un balón previamente pesado en balanza analítica. Se calienta a reflujo por 24 h (baño de María), se requieren de 100 a 120 descargas durante el tiempo de reflujo, posteriormente se extrae el dedal y se lava con etanol al 95 % dejándolo al aire por dos días y (en estufa a 40°C 24 h). El lavado y el líquido que queda en el Soxhlet, se vierten en el balón el cual se coloca en el retro-evaporador (analógico IKA RV 05 Basic, baño de agua IKA HB4 Basic a 45 ± 5°C), después de haber eliminado todo el solvente visible haciendo uso de la bomba de vacío (Telstar) y sus respectivas trampas de vacío, se coloca el balón en (estufa por 24 h a una temperatura 40 ± 1°C), transcurrido este tiempo se coloca el balón en (desecadora hasta alcanzar temperatura ambiente), luego se pesa hasta peso constante. El análisis de determinación por extractivo es aceptado cuando muestra y replicas cumplen con una desviación estándar en contenido de extractos igual o inferior a 0,15% y un coeficiente de variación igual o inferior a 7,6%. Las ecuaciones utilizadas para determinar los diferentes por ciento de extractivos son:

$$ODW = \text{Peso}_{\text{muestra}} * \frac{\% \text{ sólidos totales}}{100}$$

$$\% \text{ extracto totales} = \left(\frac{(ODW - (\text{Peso}_{\text{dedal+muestra}} - \text{Peso}_{\text{dedal}}))}{ODW} \right) * 100$$

2.2.2.4 Determinación de los polisacáridos fácilmente hidrolizables (PFH).

La determinación de los PFH se realiza según **(Leonovich y Obolenskaia, 1988)**. Este método se basa en el análisis gravimétrico. Se pesa 2,0000g de biomasa libre de extractos en (balanza analítica); muestra y replica. La cual se adiciona a un balón esmerilado de 100 ml con fondo redondo. Se añade 20 mL de HCl al 5 % y se agita cuidadosamente esporádicamente por espacio de 30 minutos. Calentar a reflujo durante tres horas en (baño de María a temperatura de 100°C). Transcurrido este tiempo se deja refrescar y se procede a filtrar al vacío. El residuo sólido o torta se seca por un día a temperatura ambiente y luego a (105°C durante 24 h en estufa), pasado este tiempo se coloca en (desecadora hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesa hasta lograr peso constante. La determinación de PFH se utiliza la ecuación siguiente:

$$\% PFH = \frac{Peso_{muestra} - Peso_{final\ muestra}}{Peso_{muestra}} * 100$$

2.2.2.5 Determinación de los polisacáridos difícilmente hidrolizables (PDH).

La determinación de los PDH se realiza según **(Leonovich y Obolenskaia, 1988)**. Este método se basa en el análisis gravimétrico del residuo, se pesa todo el residuo obtenido en la determinación de PFH en un beacker de 100 mL en la (balanza analítica); muestra y replica. La cual se adiciona 15 mL de H₂SO₄ al 72 % y se agita cada 20 minutos por dos horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se transfieren lo más cuantitativamente posible a un balón esmerilado de 500mL con fondo redondo. Se agrega a la mezcla 135 mL de agua destilada y se calienta a reflujo durante dos horas en (baños de María a temperatura de 100°C). Posteriormente se deja refrescar y se procede a filtrar al vacío. El residuo sólido o torta es secado por espacio de un día a temperatura ambiente y luego a (105 °C durante veinticuatro horas en estufa), finalizado este tiempo se coloca en

(desecadora hasta temperatura ambiente) y pesado hasta peso constante. La ecuación utilizada para determinar los PDH es:

$$\% PDH = \frac{\text{Peso}_{\text{final muestra PFH}} - \text{Peso}_{\text{final muestra}}}{\text{Peso}_{\text{muestra}}} * 100$$

2.2.2.6 Determinación de Lignina Klason.

La determinación de la HAA fue realizada según: “*Standard Method for the Determination of Carbohydrate in Biomasa by HPLC*”. Procedimiento analítico de laboratorio LAP 002. Y haciendo uso de modificaciones técnicas adaptadas a nuestras condiciones de análisis. El mismo se basa en el análisis gravimétrico para la determinación de la lignina y la extracción sólido-líquido para la determinación de los azúcares. En pomos de 250 mL se pesan (0,3g de muestra en balanza analítica), se añade el volumen equivalente a 4,92g de H₂SO₄ (72 %). A continuación se introducen en (baño de María a 30°C), durante una hora con agitación (75 rpm), asegurándose que la muestra quede empapada por el líquido. Luego se añade 84 mL de agua destilada para detener la reacción (equivalente a una concentración de H₂SO₄ del 4 %). Seguidamente, se introduce en autoclave durante 1 h a 121°C y 1,02 atm de sobrepresión. Finalizada esta segunda etapa de hidrólisis, se enfría en baño de agua y se reponen las posibles pérdidas con agua. Tras la hidrólisis se obtiene una suspensión en la que el hidrolizado (fracción líquida) contiene los productos de hidrólisis de los polisacáridos y el precipitado corresponde a la lignina Klason, la cual se seca a (105°C durante 24 horas en estufa). Al hidrolizado se le determinan los azúcares disueltos mediante técnicas analíticas como son HPLC y azúcares reductores totales por el método de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Se utiliza para determinar el por ciento de lignina la ecuación:

$$\% Lignina = \frac{\text{Peso}_{\text{final muestra}}}{\text{Peso}_{\text{muestra}}} * 100$$

2.2.3 Pretratamiento con ácido sulfúrico diluido.

El pretratamiento ácido diluido se realizó en autoclave a 1.02 atm., en un frasco se adiciona las cantidades correspondientes de materia prima y ácido sulfúrico para una relación sólido – líquido (RSL=10), se empleó un tiempo de reacción de 10 minutos y temperatura de hidrólisis de 130°C. Los extractos líquidos obtenidos de los hidrolizados del residuo de vaina de *M.O.* se analizaron para determinar la concentración de azúcares simples.

2.2.4 Determinación de los azúcares reductores totales.

El contenido de azúcares reductores en los hidrolizados se determinó utilizando el método de ácido 3,5- dinitrosalicílico (DNS), mencionado por **(Miller, G.L. 1959)**.

Teniendo en cuenta la dilución apropiada para el hidrolizado objeto de análisis, se toman 0,5 mL de la misma y se sitúan en un tubo de ensayo, seguidamente se le adiciona 0,5 mL del reactivo desarrollador de color (ácido 3,5- dinitrosalicílico), y se pone en baño de María a 100°C por 10 min. A continuación se deja que la solución alcance la temperatura ambiente y se le adicionan 1,2 mL de agua destilada, posteriormente leer en espectrofotómetro UV-Visible a una longitud de onda de 546 nm .

2.3 Escalado del pretratamiento ácido diluido de la vaina *M.O.*

La técnica de escalado scale up se utiliza para realizar el diseño preliminar del reactor de pretratamiento, realizando trabajos experimentales. Para diseñar el reactor, se tiene que probar experimentalmente antes, dando resultados similares a su escala anterior manteniendo parámetros constantes, tanto operacionales como características del reactor, la relación entre la altura y el diámetro y, las condiciones de trabajo es lo que se mantuvo a la hora del escalado. Este método permite detectar efectos que escapan a predicciones teóricas. Se puede considerar que los cambios de una instalación experimental a otra es de cinco a diez veces mayor y que se encuentren dentro de los límites utilizados en la práctica de la Ingeniería química. **(Viera, 1991)**

Para la ejecución del mismo se determinan los azúcares reductores totales en las diferentes condiciones. Se calculan los valores de altura y diámetro variables que denotamos como (H) y (D) respectivamente estableciéndose una relación (H/D), calculando además el volumen del cilindro; variable que denotamos como (V), ya teniendo este resultado le realizamos la técnica de escalado.

2.3.1 Cálculos para desarrollar la técnica de escalado.

Para realizar la técnica de escalado partimos de las dimensiones del recipiente utilizado en la escala de laboratorio, altura (H) y diámetro (D), se plantea la relación **(H/D)**. **(Viera, 1991)**, Para realizar el cálculo del volumen del cilindro se utiliza la siguiente ecuación:

$$V = \frac{\pi * (D^2)}{4} * H$$

Con estos datos establecemos una relación entre el recipiente de 1 L y el de 5 L y determinar las dimensiones de este último, el cual debe cumplir con la relación que existe entre la altura y el diámetro del recipiente de 1L.

Después se realiza el mismo procedimiento para el reactor de 50 L.

2.4 Conclusiones parciales.

- ✓ Se determina la composición de la materia prima según el *“Standard Method for the Determination of Extractives in Biomass”*.
- ✓ Se define los parámetros constantes del diseño preliminar del reactor mediante la técnica de escalado scale up.

Capítulo 3.

Resultados y discusión

El pretratamiento con ácido diluido es un método prometedor para la conversión de los carbohidratos contenidos en la biomasa en azúcares fermentables de aquí la gran importancia de llevar estos resultados a una mayor escala. En la primera parte de este capítulo se analiza la composición físico-química de la materia prima a utilizar. Posteriormente realizamos el pretratamiento en un frasco de un litro donde la fracción líquida es analizada con vistas a determinar los azúcares reductores totales (ART). Después se realizan los cálculos de escalado de un litro a cinco litros y a continuación se realiza el pretratamiento a esta escala y por último el escalado final del reactor de cincuenta litros y su diseño preliminar.

Los experimentos fueron realizados en los laboratorios del Departamento de Química e Ingeniería Química de la Universidad de Matanzas.

3.1. Composición de la materia prima.

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

3.2. Composición física del fruto del árbol *M. oleífera*.

Para la realización del presente estudio se toman 11 frutos y se pesan las diferentes partes del mismo, los resultados son mostrados a continuación.

Tabla 3.1 Composición física del fruto.

| Muestra | Peso total del fruto (g) | Longitud del fruto (cm) | Cantidad de semilla/vaina (u) | Peso de la vaina sin semilla (g) |
|------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 14,06 | 24,50 | 17,00 | 10,34 |
| 2 | 12,10 | 24,40 | 20,00 | 7,55 |
| 3 | 9,45 | 16,00 | 14,00 | 5,55 |
| 4 | 12,13 | 24,70 | 15,00 | 8,60 |
| 5 | 8,91 | 21,60 | 10,00 | 7,98 |
| 6 | 9,76 | 20,50 | 15,00 | 6,10 |
| 7 | 10,59 | 25,80 | 15,00 | 6,49 |
| 8 | 9,42 | 21,00 | 15,00 | 6,09 |
| 9 | 12,11 | 19,20 | 18,00 | 7,22 |
| 10 | 9,18 | 24,70 | 14,00 | 6,36 |
| 11 | 10,96 | 24,40 | 12,00 | 6,89 |
| Media | 10,79 | 22,44 | 15,00 | 7,20 |
| Desv. Estándar | 1,64 | 3,03 | 2,72 | 1,38 |
| Coef. Variación | 15,20 | 13,51 | 18,14 | 19,17 |

Como se observa en la tabla el promedio del peso del fruto oscila sobre los 10.79g lo cual se corresponde con el valor de 10g reportado en la literatura (**Nautiyal y Venhataraman, 1987**).

Es importante destacar como es posible disponer del 66.73 % del peso del fruto total para la obtención de etanol celulósico, este residuo, contaminante del medio ambiente, anteriormente era desechado por la industria y a partir de esta investigación se le puede dar otro uso que disminuya su influencia en la contaminación ambiental. El valor antes mencionado, es superior a otras especies de semillas oleaginosas como la *Jatropha curcas* que presenta un 46,29 % de cáscara (**Sotolongo et al 2007**).

En cuanto a los valores de los diferentes coeficientes de variación vemos que son mayores que 12%, por lo que las muestra presentan dispersión, es decir, la media no es representativa de los datos, esto se debe a la gran diversidad entre los frutos.

3.3 Caracterización química de la vaina de *la M. oleífera*.

En el análisis de los resultados de la composición química de la vaina de *M. oleífera* se tuvo un interés especial. Entre los principales constituyentes se destacan los PFH, PDH y la lignina klason. Durante el presente capítulo se realiza un análisis exhaustivo de la literatura especializada realizándose una comparación con los resultados obtenidos en el trabajo de diploma. Todos los análisis fueron realizados por duplicado (muestra y réplica). Se reporta junto a los datos experimentales los valores del coeficiente de variación (CV) y desviación estándar (s). Para realizar el cálculo de los mismos se utiliza el software Statgraphics Plus 5.0.

3.3.1 Humedad.

La materia prima presenta, según el análisis realizado un 9.04 % de humedad, lo cual reporta un 90.96 % de materia seca. Los valores de: $s=0,013$ % y $CV=0.18$ % correspondientes a los datos experimentales muestran validez de los mismos al encontrarse por debajo de los mínimos permisibles ($s=0,19$ y $CV=0,20$).

3.3.2 Cenizas.

El valor promedio del por ciento de cenizas, según muestra y replica, es igual a un 5.6 %. La desviación estándar y el coeficiente de variación para las muestras analizadas es de 0,03 % y 1.56 % respectivamente, los mismos cumplen con lo establecido en el protocolo correspondiente ($s=0,05$, $CV=3,88$), demostrando la validez de los resultados.

3.3.3 Extractivos.

El valor promedio de extractivos totales es de 12.8 %. Los extractivos incluyen componentes no estructurales de las muestras de biomasa las cuales pudieran interferir en el análisis y deben ser removidos antes del mismo.

3.3.4 Polisacáridos fácilmente hidrolizables (PFH).

EL resultado obtenido de PFH promedio es de 13.7 % ($s=0,48\%$, $CV=1,74\%$). Este resultado nos dice que por cada gramo de muestra, 0.137g de los polisacáridos fácilmente hidrolizados, están presentes en la solución en forma de oligómeros, y en mayor cantidad

como monómeros. Este valor está en correspondencia con el total de polisacáridos determinados por la hidrólisis ácida analítica y el método del ácido 3,5-DNS.

3.3.5 Polisacáridos difícilmente hidrolizables (PDH).

En la determinación de PDH promedio se obtuvo un 19.5 %. Los valores obtenidos de desviación estándar y coeficientes de variación entre muestra y réplicas son de 0.71 % y 2.08 % respectivamente. Mostrando que el valor promedio presenta poca dispersión pues $C_v < 4$.

3.3.6 Lignina Klason.

Es posible conocer la cantidad de azúcares presentes en la fracción líquida y llevando a peso constante la fracción sólida determinar entonces, su contenido en lignina, la cual es nombrada como lignina de klason. El trabajo experimental sobre este tipo de residuo reporta una lignina promedio de 30.2 % ($s=0.23$, $CV=0,66\%$). Otro aspecto importante a tener en cuenta es que el protocolo plantea, que la determinación de los azúcares debe ser realizada haciendo uso de técnicas de determinación analíticas como es el HPLC, la cual permite conocer las cantidades de cada azúcar por separado.

Tabla 3.2 Composición química de las vainas de *Moringa oleífera*.

| Análisis realizados | % |
|----------------------------|----------|
| Humedad | 9.04 |
| Materia seca | 90.96 |
| Cenizas | 5.6 |
| Extractivos totales | 12.8 |
| PFH | 13.7 |
| PDH | 19.5 |
| Lignina de klason | 30.2 |

- Análisis de los resultados de la composición química.

Como se observa en la Tabla 3.2 la materia prima está compuesta esencialmente por PFH que es principalmente la hemicelulosa, PDH que hace referencia a la celulosa y lignina que contiene la materia por lo que podemos afirmar que estamos en presencia de un material lignocelulósico, estando en correspondencia con otros MLC como el neem (**Martín, 2008**). También en la tabla 3.2 al sumar las composiciones determinadas da 81.5 % es decir menor que el 100 %, esto se debe a que pueden haber otros compuestos los cuales no se han determinados.

3.4 Pretratamiento ácido diluido.

El pretratamiento ácido diluido a escala de laboratorio se realizó en autoclave a 1.02 atm., se pesó 100g de muestra y se adiciona H_2SO_4 de concentración igual a 1 % hasta un peso total de muestra de 1000g para una relación sólido líquido igual 10 (RSL=10), se empleó un tiempo de reacción de 10 minutos y temperatura de hidrólisis de 130°C. Los extractos líquidos obtenidos de los hidrolizados del residuo (Vaina de M.O) se analizaron para determinar la concentración de azúcares simples, de acuerdo a la metodología propuesta por Farore y Cuzens (1998) donde la determinación de ART, reportados como xilosa, se llevó a cabo por el método de ácido 3,5-dinitro-salicílico (3.5-DNS), con xilosa como solución patrón, en la tabla 3.3 se encuentra la absorbancia a diferentes concentraciones de xilosa, para poder realizar la curva de estandarización (**anexo 4**), donde con el ajuste de la curva se obtiene una ecuación que relaciona absorbancia y concentración de ART expresados como xilosa. Al hidrolizado se le mide la absorbancia en espectrofotómetro UV-Visible a 546nm. Esto se repite, pero en el recipiente con las dimensiones obtenidas en el escalado de laboratorio a escala banco y se realiza el mismo procedimiento teniendo en cuenta el nuevo volumen. En el (**Anexo 5**) se muestran los resultados de los pretratamientos a ambos volúmenes, los mismos están expresados en g/L de xilosa.

Para determinar si los factores volumen y muestra influyen significativamente en ART se realiza un Análisis de Varianza Bifactorial. En la tabla ANOVA (**Anexo 6**) se puede observar que no existen diferencias significativas para un 95 % de confianza entre los niveles del volumen (1 – 5L) y de las muestras (3), debido a que los valores de p-value son mayores que 0.05.

TABLA 3.3 Valores de la curva de xilosa (patrón estándar)

| Concentración | Absorbancia |
|---------------|-------------|
| 0 | 0,073 |
| 0.1 | 0,195 |
| 0.25 | 0,601 |
| 0.4 | 1,216 |
| 0.6 | 1,301 |
| 0.7 | 1,740 |
| 1 | 1.104 |

3.5 Diseño preliminar del reactor a través de la técnica del escalado.

Escalado de laboratorio a escala banco (1L a 5L).

Partiendo de las dimensiones del recipiente de un litro buscamos la relación entre la altura y el diámetro, manteniendo la misma y utilizando la ecuación del volumen de un cilindro podemos calcular la altura y el diámetro del recipiente de cinco litros.

Recipiente de 1 L

Altura (H_1)= 0.2 m

Diámetro (D_1)= 0.08m

Volumen (V_1)= $1 \times 10^{-3} \text{ m}^3$

Recipiente de 5 L

Altura (H_2)= ?

Diámetro (D_2)= ?

Volumen (V_2)= $5 \times 10^{-3} \text{ m}^3$

$$\left(\frac{H_1}{D_1} \right)_1 = \frac{20}{8}$$

$$\left(\frac{H_2}{D_2} \right)_2 = 2.5$$

$$\left(\frac{H_1}{D_1} \right)_1 = 2.5$$

$$H_2 = 2.5 * D_2$$

Volumen del cilindro

$$V = \frac{\pi * (D^2)}{4} * H$$

$$V_2 = \frac{\pi * (D_2^2)}{4} * H_2$$

Poniendo la ecuación en función del diámetro y despejando el mismo tenemos:

$$D_2 = \sqrt[3]{\frac{V_2 * 4}{\pi * 2.5}}$$

$$D_2 = \sqrt[3]{\frac{5 * 10^{-3} * 4}{\pi * 2.5}}$$

$$D_2 = 0.1366m$$

$$H_2 = 2.5 * D_2$$

$$H_2 = 0.3415m$$

- Escalado de banco a escala piloto (5L a 50L).

Recipiente de 5L

Altura (H_2)= 0.2m

Diámetro (D_2)= 0.08m

Volumen (V_2)= $5 \times 10^{-3} m^3$

Recipiente de 50L

Altura (H_3)= ?

Diámetro (D_3)= ?

Volumen (V_3)= $50 \times 10^{-3} m^3$

$$\left(\frac{H_2}{D_2}\right)_2 = \frac{0.3415}{0.1366}$$

$$\left(\frac{H_3}{D_3}\right)_3 = 2.5$$

$$\left(\frac{H_2}{D_2}\right)_2 = 2.5$$

$$H_3 = 2.5 * D_3$$

Volumen del cilindro

$$V = \frac{\pi * (D^2)}{4} * H$$

$$V_3 = \frac{\pi * (D_3^2)}{4} * H_3$$

Poniendo la ecuación en función del diámetro y despejando el mismo tenemos:

$$D_3 = \sqrt[3]{\frac{V_3 * 4}{\pi * 2.5}}$$

$$D_3 = \sqrt[3]{\frac{50 * 10^{-3} * 4}{\pi * 2.5}}$$

$$D_3 = 0.294m$$

$$H_2 = 2.5 * D_2$$

$$H_2 = 0.74m$$

En la tabla 3.4 se encuentran las características del recipiente en las diferentes etapas del escalado desde escala laboratorio hasta escala piloto

Tabla 3.4 Dimensiones de los recipientes en las distintas escalas.

| Escala | Volumen | Altura(cm) | Diámetro(cm) |
|-------------|---------|------------|--------------|
| Laboratorio | 1L | 20 | 8 |
| Banco | 5L | 34.15 | 13.66 |
| Piloto | 50L | 74 | 29.4 |

- Diseño preliminar del reactor para el pretratamiento ácido diluido para la vaina de la M.O.

Después de realizar todos los cálculos necesarios, análisis correspondientes y teniendo en cuenta las condiciones de trabajo a la que operará el reactor, en la tabla 3.5 están las características preliminares del diseño del reactor.

Tabla 3.4 Características preliminares del diseño del reactor.

| | |
|-------------|------------------|
| Altura | 74cm. |
| Diámetro | 29.4cm |
| Volumen | 50L |
| Material | Acero inoxidable |
| Presión | 1.02 atm |
| Temperatura | 130°C |

3.6 Conclusiones parciales

- √ Los residuos del fruto de la *M. oleifera* (**vaina**) poseen contenidos altos de polisacáridos y lignina.
- √ No existen diferencias significativas entre los niveles de volumen y muestra
- √ La concentración de azúcares reductores totales expresados como xilosa son similares a diferentes volúmenes de pretratamiento.

Conclusiones Generales

- ✓ Las características del diseño preliminar del reactor (altura y el diámetro) obtenidas a través de la técnica de escalado (scale –up), son 74 cm y 29.4 cm respectivamente.
- ✓ Los materiales lignocelulósicos son la fuente renovable más abundante en la tierra y están formados por celulosa, hemicelulosas y lignina principalmente.
- ✓ La vaina residual de la *Moringa oleífera* representa un 66.73 % del peso total del fruto.
- ✓ No existen diferencias significativas entre los niveles de volumen (1 – 5L) y muestras (3).

Recomendaciones

- ✓ Se recomienda realizar el pretratamiento ácido diluido estudiado, en el reactor diseñado, para una escala mayor (Industrial).
- ✓ Realizar este pretratamiento a mezclas de materiales lignocelulósicos con composición similar en el reactor propuesto en el trabajo de diploma.

Bibliografía.

1. Ashgari A, Bothast RJ, Doran JB, Ingram LO. (1996) Ethanol production from hemicellulosic hydrolysates of agricultural residues using genetically engineered *Escherichia coli* strain KO11. *J. Ind. Microbiol.*, **16**, 42-47.
2. Ávila Baray Héctor Luis. 2007 Introducción a la metodología de la investigación. (Disponible en: <http://www.eumed.net/libros/2006c/203/2f.htm>)
3. 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.
4. Bashir, S. and Lee, S. (1994) Fuel ethanol production from agricultural, lignocellulosic feedstocks. A review. *Fuel Science Technol. Int'l.* **12**, 1427-1473.
5. Bridgewater, A.V. y Grassi, G. (1990). Biomass for Energy, Industry and the Environment. A Strategy for the Future. Esagono Pub. Publication EUR/2S97EN~ de la Comisión de las comunidades Europeas. Luxemburgo.
6. Cabrera Pérez Ángel 2008 El bioetanol. [Disponible en: <http://www.wikipedia.org/wiki/>]
7. Cuzens, J. C., Miller, J. R. (1996). Acid hydrolysis of bagasse for ethanol production. *Renewable Energy*, **10**, 285-290.
8. Dekker R.F.H., Wallis, A.F.A. (1983) enzymatic saccharification of sugarcane bagasse pretreated by autohydrolysis steam explosion. *Biotechnol. Bioeng*, **25**, 3027-3048.
9. Di Pardo, J. (2000) Outlook for biomass ethanol production and demand. [Disponible en: <http://www.eia.doe.gov/oiaf/analysispaper/biomass.html>].
10. Dominguez, J.M., Gong, C.S., Tsao, G.T. (1996) Pretreatment of sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for xylitol production by yeast. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **57/58**, 49-56.
11. 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.
12. García Camas J. Manuel. 2006 VT Informe de vigilancia tecnológica. [Disponible en: <http://www.madrimasd.org/>]
13. Grassi, G. (1991). Biomass for Energy, Industry, Rural Development and environment. Informe Interno CEE. Abril 1991. 18 pp.

14. Grohmann, K., Baldwin, E.A., Buslig, B.S. (1994) Production of ethanol from enzymatically hydrolyzed orange peel by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. **45/46**. 315-327.
15. Grohmann, K., Manthey, J.A., Cameron, R.G., Buslig, B.S. (1998) Fermentation of galacturonic acid and pectin rich materials to ethanol by genetically modified strains of *Erwinia*. *Bioresourse Letters*. **20**. 195-200.
16. Hernández, Monzón Aldo. 1995. "Análisis Químico Cuantitativo". Editorial Félix Várela. La Habana. Tomo I. p. 356.
17. Hernández E., García A., López M., Puls J., Parajó J.C, Martín C.(2010). Dilute acid pretreatment and enzymatic saccharification of Moringa oleífera pods for ethanol production (En prensa).
18. Holtzapple, M. T. Lundeen, J., Sturgis, R., Lewis, J. E. and Dale, B. E. (1992) Pretreatment of lignocellulosic municipal solid waste by the ammonia fiber explosion (AFEX). *Appl. Biochem. Biotechnol.* **34/35**, 5-21.
19. 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.
20. Laufenberg, G., Kunz, B., Nystroem, M. (2003) Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. *Bioresourse Technol.*, **87**, 167-198.
21. Lee, J. (1997) Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *J. biotechnol.* **56**, 1-24.
22. Leonovich, A.I.; Obolenskaia A.V., 1988. Khimija drevesiny y polimerov. Lesnaja Promyshlennost. Leningrod.
23. Levenspiel, O. 1974. Ingeniería de las Reacciones Químicas. Departamento de Ingeniería Química de la Universidad del Estado de Oregón. Editorial Pueblo y Educación. p. 45-195
[Disponible en: <http://www.twinside.org.sg/title2/par/whichEnergy.pdf>]
24. 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.
25. Martin, C. (2002) Tesis Doctoral, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química Mecánica, Universidad de Matanzas, Matanzas, Cuba.

26. Martín C. (2008). Evaluation of residues of biodiesel production from NET and moringa as feedstocks for ethanol production.
27. Månsson, T., Foo, E.L.J. (1998) Swedish efforts in integrating bio-fuels as alternative fuels for transportation in buses, lorries and cars. En *Proceedings of the Internet Conference on Integrated Biosystems*. (Foo E.L., Senta T.D., eds)
28. Mc Ginnis, G.D., Wilson, W.W., Mullen, C.E. (1983a). Biomass pretreated with water and high pressure oxygen. The WO process. *Ind Eng Chem Prod Res Dev.* **22**, 352-357
29. Mes-Hartree, M., Saddler, J. N. (1983) The nature of inhibitory materials present in pretreated lignocellulosic substrates which inhibit the enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnol. Lett.* **5**, 531-536.
30. Miller, G.L., 1959 Use of Dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31, 420-428.
31. Mossa, J.S. 1985 A study on the crude antidiabetic drugs used in Arabian folk medicine. *International Journal of Crude Drug Research.* 23(3): 137-145.
32. Nápoles, A.I.; López, R., 1984. Hidrólisis y tratamientos químicos a los materiales celulósicos. Instituto cubano de investigaciones sobre los derivados de la caña de azúcar. Editorial Científico-Técnica. Ciudad de la habana. Cuba. 36-39.
33. Pérez Días Hernán. 2007 Bioetanol, producción y medio ambiente. [Disponible en: <http://www.bioetanol.net/libros/2007>
34. Pimentel, D. (2001) Ethanol fuels: Energy, economics and environmental impact. *Int. Sugar J.*, **103**, 491-494.
35. Placeres Carmín Isis. 2006 Monografías.com. [Disponible en: <http://www.eco.portal.net/>]
36. Playne, M. J. (1984) Increased digestibility of bagasse by pretreatment with alkalis and steam explosion. *Biotechnol. Bioeng.* **26**, 426-433
37. Schurz, J. (1997) How to make native lignocellulosic materials accessible to chemical and microbial attack. *Proc. Bioconversion. Symp. IIT Delphi*, 37-58.
38. Singh, Umrao; Wadhvani, A.M.; Johri, B.M. 1983. Dictionary of economic plants in India. 2^a ed. New Delhi: Indian Council of Agricultural Research. 288 p.

39. Sotolongo, J.A. et al (2007) "Potencialidades energéticas y medioambientales del árbol *Jatropha curcas* en las condiciones edafoclimáticas de la región semiárida de la provincia de Guantánamo,". *Tecnología Química*. XXVII, 2.
40. Szengyel, Z. 2000. Ethanol from wood: cellulase enzyme production. PhD Thesis. Department of Chemical Engineering I, Lund University, Sweden.
41. Varshney, A. K. and Patel, D. P. (1988) Biomass delignification – Organosolv approach. *J. Sci. Ind. Research*. **47**, 315-319.
42. Vecilla Blanco J. Manuel 2009. Árbol milagroso.
[Disponible en:<http://www.calcio.es/>]
43. Vecilla Blanco J. Manuel 2009 Moringa “El árbol de la vida” energía 100% natural.
[Disponible en: (<http://www.moringa.es/>)]
44. Viera Bertrán René Soler Pérez Santiago 1991. Diseño y análisis de reactores químicos.
45. Wan - Ho Mae, Peter Bunyard, Peter Saunders, Elizabeth Bravo y Rhea Gala 2006. publicación: “Which Energy?” Informe sobre Energía del Institute of Science in Society.
46. Wheals, A.E., Basso, L.C., Alves, D.M.G., Amorim, H.V. (1999) Fuel ethanol after 25 years. *Trends Biotechnol*, **17**, 482-487.
47. Wyamn, C.E. (1999) Ethanol from lignocellulosic biomass: Technology, economics, and opportunities. *Bioresourse. Technol*. 50 3-16.

Anexos

Anexo 1



Figura. 1 a Flores de la planta Moringa oleífera.



Figura. 1 b Árbol de la Moringa oleífera.

Anexo 2.



Figura. 1 a Cápsulas de Moringa oleífera



Figura 1 b. Té de Moringa.

Anexo 3

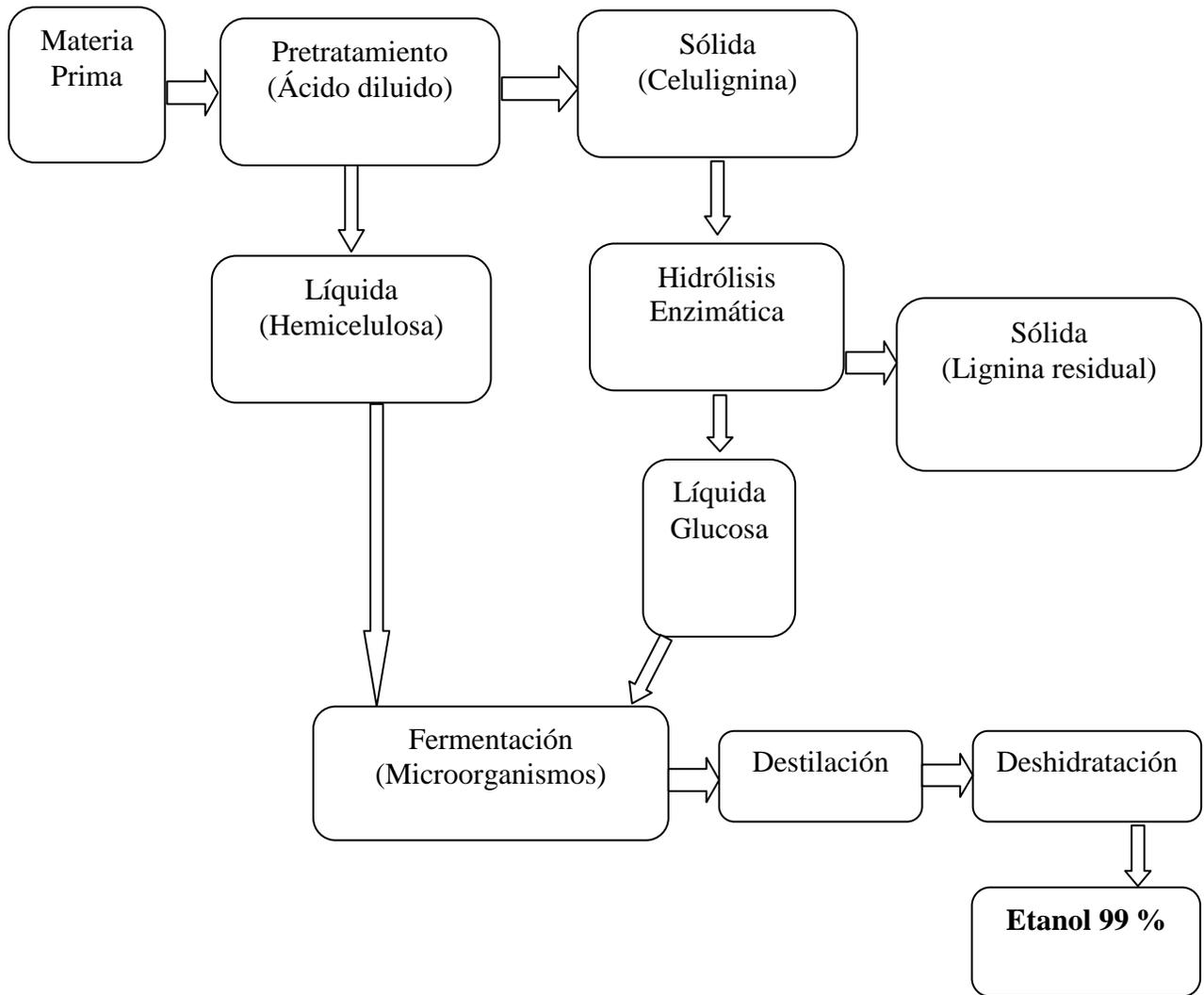


Figura 1. Esquema simplificado del proceso de obtención de etanol a partir de la vaina de *M. oleífera*.

Anexo 4

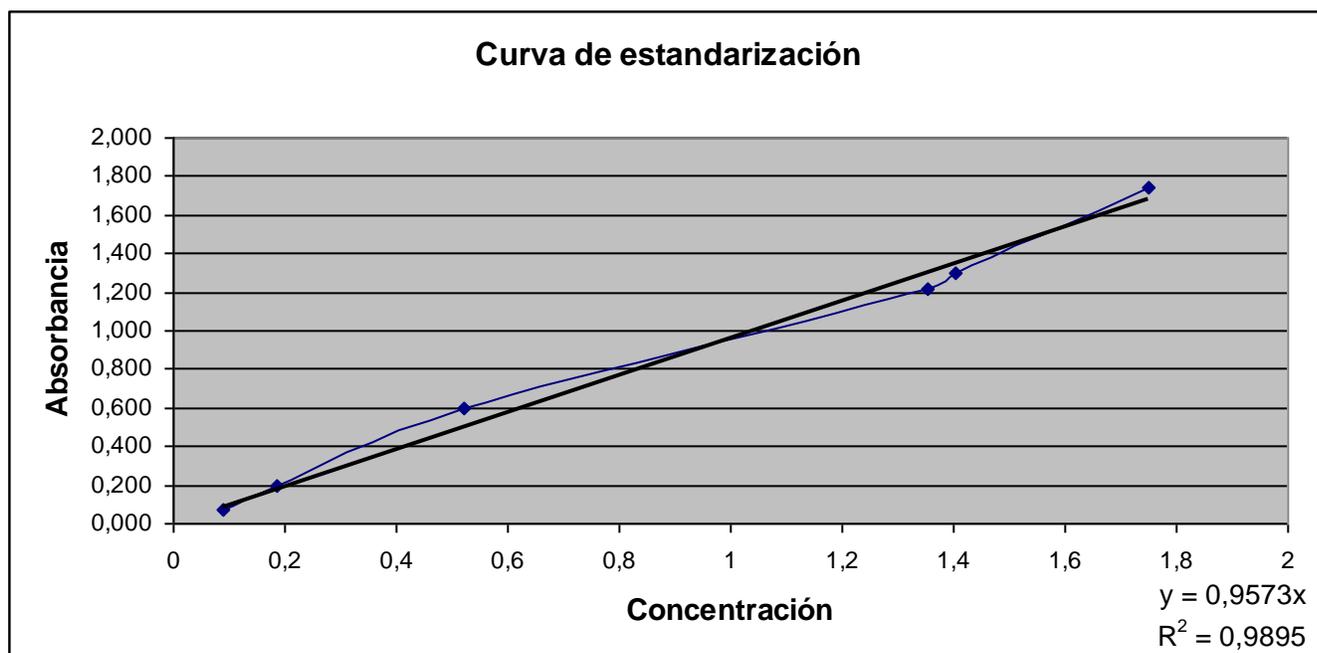


Figura 1 Curva de estandarización de xilosa

Anexo 5

Tabla 1 Resultados de los pretratamientos

| Volumen | Muestra | | | Media | Desviación estándar | Coeficiente de variación (%) |
|------------------------------|---------|------|------|-------|---------------------|------------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | | | |
| 1L | 4,98 | 4,66 | 5,03 | 4,79 | 0,22 | 4,63 |
| | 4,78 | 4,43 | 4,56 | | | |
| | 5,02 | 4,97 | 4,67 | | | |
| Media | 4,93 | 4,69 | 4,75 | | | |
| Desviación estándar | 0,13 | 0,27 | 0,25 | | | |
| Coeficiente de variación (%) | 2,61 | 5,78 | 5,17 | | | |
| 5 L | 4,88 | 4,57 | 4,21 | 4,77 | 0,25 | 5,23 |
| | 4,79 | 4,89 | 4,89 | | | |
| | 5,03 | 4,95 | 4,71 | | | |
| Media | 4,90 | 4,80 | 4,60 | | | |
| Desviación estándar | 0,12 | 0,20 | 0,35 | | | |
| Coeficiente de variación (%) | 2,47 | 4,25 | 7,65 | | | |

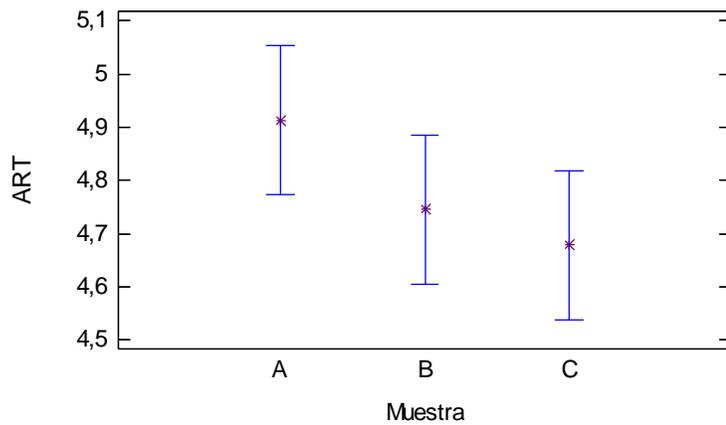
Nota: los valores están expresados como g/L de xilosa

Anexo 6

Análisis de la Varianza para ART

| Fuente | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado Medio | Fisher | P-Value |
|-------------------|-------------------|----|----------------|--------|---------|
| A: Muestra | 0,1760 | 2 | 0,0880 | 1,72 | 0,2144 |
| B: Volumen | 0,0018 | 1 | 0,0018 | 0,04 | 0,8538 |
| Residuos | 0,7154 | 14 | 0,0511 | | |
| Total (corregido) | 0,893178 | 17 | | | |

Interválos de las medias para un 95 % de confianza (LSD)



Interválos de las medias para un 95 % de confianza (LSD)

