

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.**

**“Análisis preliminar para el pretratamiento
ácido diluído de la cáscara residual del fruto
del árbol *Jatropha curcas*”.**

Autor: Darialys Martínez Betancourt

Tutor: MSc. Ariel García Cruz

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 la única autora de este trabajo de diploma que lleva como título: “**Análisis preliminar para el pretratamiento ácido diluído de la cáscara residual del fruto del árbol *Jatropha curcas***”.Y autorizo a la Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos a hacer uso del mismo con la finalidad que estime conveniente.

Firma

Pensamiento

"El problema del Hombre no está en la bomba atómica sino en su corazón "

Albert Einstein.

Dedicatoria

Dedicatoria

Dedico este trabajo de Diploma a la personita más especial de mi vida, mi hija Sisleidis y a mi querida familia por su gran apoyo.

Agradecimientos

- A mi tutor, MSc. Ariel García Cruz, por su paciencia, dedicación y su infinita ayuda en la elaboración de este trabajo de Diploma.
- A mi madre, a mi padre, a mi esposo y a toda la familia en general que siempre estuvieron conmigo ayudándome en todo lo que tuviera que ver con la superación en mi vida profesional.
- Quisiera agradecerles a todas aquellas personas que de una forma u otra me apoyaron a lo largo de mi carrera como estudiante.
- A todos mis compañeros de aula, por tener que sobrellevarme en estos años de carrera., en especial a Norelys Martínez, por su gran ayuda.
- A Horacio Fraguela, por la ayuda que me ofrecieron en la realización de algunos experimentos.
- A José Luis Laucericca y a Michael López por su gran ayuda, apoyo y a todos mis compañeros de trabajo que de una forma u otra me ayudaron en la realización de mi tesis.
- A Carlos Sánchez y a Santiago Suárez que ante todo son grandes amigos.
- A Magalys Domínguez González y Sorangel Gonzáles que siempre estuvieron apoyándome en todo lo que estaban a su alcance.
- A Carlos Martín, Teresa Fernández, Dani Rodríguez, Irina Pedroso, Ena Hernández, Luis García, Mario Yll y Milagros Beatón por brindarme su ayuda y experiencia siempre que la necesité.
- A Silvia Betancourt que a pesar de todo es una inmensa profesora y amiga.
- A todos los profesores que de una forma u otra tuvieron que ver con mi formación como ingeniero, y en la realización de este trabajo de diploma.

Resumen:

Jatropha curcas es una planta tropical con muchos atributos y un potencial considerable, prospera en zonas sub-tropicales y con clima templado. Esta planta puede cultivarse en zonas de alta precipitación donde es utilizada para evitar la degradación de los suelos. Por lo tanto, puede aportar empleos, mejorar el medio ambiente y la calidad de la vida rural.

Del árbol se obtienen diversos productos de gran utilidad, especialmente de las semillas. Esta planta es sembrada en muchas zonas de todo el mundo, produce una gran cantidad de semillas. Estas cifras son difíciles de predecir, a pesar de ello, se tomó de la bibliografía algunos resultados. Se encontró información con referencia acerca del pretratamiento ácido diluido, la hidrólisis enzimática y fermentación de la producción de etanol a partir de Jatropha. Este último podría ser bueno, porque de la producción de Bioetanol a partir de desechos de la Jatropha, después de la extracción de petróleo, puede ser una nueva solicitud de esta planta, teniendo en cuenta que la Jatropha tiene una apreciable cantidad de hidratos de carbono. Es muy importante continuar la búsqueda en otras bases de datos y enriquecer este trabajo debido a la Jatropha está empezando a ganar en importancia y todos los usos de la misma deben ser explotados.

Summary:

Jatropha curcas is a tropical plant with many attributes and a considerable potential, it prospers –tropical sub areas and with temperate climate. This plant can be cultivated in areas of high precipitation and it can be used to recover the earth, like a covering and / or as a commercial cultivation. The refore, it can contribute the employment, to improve the environment and the quality of the rural life.

Of the tree diverse products of great utility are obtained, especially of the seeds. This plant is sowed from all over the world in many areas, it produces a great quantity of seeds. These figures are difficult to predict. In spite of it, he/she took of the bibliography some results. The diluted sour pretratamiento, the enzymatic hidrólisis and fermentation of the information with reference to the production of ethanol starting from Jatropha have been. This last one could be good, because of the production of Bioetanol starting from waste of the Jatropha, after the extraction of petroleum; it can be a new application of this plant, keeping in mind that the Jatropha has an appreciable quantity of hydrates of carbon. It is very important to continue the search in other databases and to enrich this work due to the Jatropha is beginning to win in importance and all the uses of the same one should be exploited.

Índice

Contenidos	Páginas
Introducción	1
Capítulo 1: Análisis Bibliográfico.	4
1.1 ¿Qué es la Biomasa?	4
1.1.1 Los Materiales Lignocelulósicos.	5
1.2 El Bioetanol.	6
1.2.1 El etanol como combustible automotor.	7
1.2.2 Ventajas ecológicas del bioetanol.	7
1.2.3 Ventajas económicas del bioetanol.	8
1.2.4 Producción de etanol.	9
1.2.5 Materias Primas para la producción de etanol.	10
1.3 Producción de Bioetanol a partir de a partir de materiales lignocelulósicos.	12
1.3.1 Alternativas tecnológicas.	13
1.4 Pretratamiento utilizados en los Materiales Lignocelulósicos	14
1.4.1 Pretratamiento ácido diluido.	15
1.4.2 Formación de compuestos no deseados en el pretratamiento ácido diluido.	16
1.5 Estado actual y perspectivas de la producción de etanol celulósico a partir de biomasa en el mundo.	16
1.6 La biomasa como materia prima y fuente renovable de energía.	18
1.7 Características de la planta <i>Jatropha curcas</i> .	18
1.7.1 Hábitat de la planta <i>Jatropha curcas</i> .	19
1.7.2 Condiciones, características del cultivo y crecimiento de la <i>Jatropha curcas</i> .	19
1.8 Usos de la <i>Jatropha curcas</i> .	21
1.9 Distribución geográfica de la <i>Jatropha</i> .	23
1.10 Diseño de Experimentos	24
1.11 Conclusiones parciales	25
Capítulo 2: Materiales y Métodos.	26
2.1 Muestreo, conservación y preparación de la muestra.	26
2.2 Características Físico – Química de la materia prima.	26
2.2.1 Características Físico de la materia prima.	27
2.2.2 Características Química de la materia prima.	27
2.2.2.1 Determinación de Humedad.	27
2.2.2.2 Determinación de Cenizas.	28
2.2.2.3 Determinación de Extractivos.	29
2.2.2.4 Determinación de Polisacáridos Fácilmente Hidrolizables (PFH)	31
2.2.2.5 Determinación de Polisacáridos Difícilmente Hidrolizables (PDH)	32
2.2.2.6 Hidrólisis Ácida Analítica (HAA) y Lignina Klason.	33

2.2.2.7 Determinación de Azúcares reductores totales.	35
2.2.2.8 Pretratamiento ácido diluido.	36
2.3 Conclusiones parciales	39
Capítulo 3: Resultados y Discusión.	40
3.1 Composición Química – Física de la materia prima.	40
3.1.1 Composición Física de la materia prima.	40
3.1.2 Composición Química de la materia prima.	41
3.2 Prehidrólisis ácida diluida.	42
3.3 Conclusiones parciales	47
Conclusiones.	48
Recomendaciones	49
Bibliografía	50

Introducción:

La humanidad se basa en una amplia gama de especies cultivadas. Alrededor de 6000 de estas especies se utilizan para una variedad de propósitos, empleándose solo unos pocos cultivos básicos en la producción de alimentos, pero la importante contribución de muchas especies menores no debe subestimarse. La investigación agrícola se ha centrado tradicionalmente en determinadas especies de plantas, mientras que relativamente poca atención se ha prestado a cultivos menores (o subutilizados) por los gobiernos en los diferentes países. Estos cultivos atraen significativamente la atención de la comunidad científica con vistas a la elaboración de productos útiles para la humanidad. A diferencia de la mayoría de las especies, muchas de ellas olvidadas, se adaptan a diversas condiciones de cultivo marginales, como son la comunidad andina y Altos del Himalaya, las zonas áridas, suelos salinos, etc. La limitada información disponible sobre aspectos importantes acerca de ellos obstaculiza su desarrollo sostenible y su conservación. (Heller J. 1996). La *Jatropha curcas*, arbusto oleaginoso, es sembrado en diferentes partes del mundo con vista a la elaboración de biodiesel, que se obtiene mediante reacción de trans-esterificación del aceite que es extraído de la almendra encontrado en su fruto. Actualmente en el mundo se producen miles de litros de biodiesel el cual encuentra múltiples usos, siendo su utilización como combustible automotor el principal de ellos. En el procesamiento del biodiesel se obtienen residuales como son: la corteza exterior e interior y la torta de la almendra que queda después de ser extraído el aceite. Esta última, ha recibido un especial interés por parte de la comunidad científica, debido a su composición química. Este residual, es rico en proteína, el cual pudiera ser utilizado en la alimentación del ganado, si anteriormente es extraída una toxina llamada curcin. Por el alto contenido de nitrógeno, la torta de prensado pudiera ser usada además, para la fijación de nitrógeno en la planta de *Jatropha curcas*, la cual por sí sola no es capaz de hacerlo, y de esta forma se evitaría el uso de fertilizantes nitrogenados y el consiguiente gasto. La torta, sirve además, para la fabricación de antibióticos y biopesticidas (Ramachandran, S. et. al., 2007), debido a la presencia de phorbol-ésteres encontrados en su composición.

Ahora como es sabido, 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. Es por eso, que se incrementa cada año que pasa, el interés por la recuperación, reciclado y mejoramiento de los residuales (**Laufenberg et al., 2003**). Por estar en concordancia con esta última idea, se hace necesario buscarle una utilidad al residual generado en forma de cáscara. El mismo, actualmente solo encuentra aplicación en la generación de energía mediante su quemado directo ó como sustrato para la producción de gas metano. El procesamiento de los frutos de *J. curcas* es una industria que genera grandes cantidades de estas cáscaras, pudiendo ser vertidos en el campo el excedente sin que mediase tratamiento alguno y provocar por ende afectación al medio ambiente, ya que contaminación es la acumulación de sustancias nocivas en el aire, agua y tierra, que traen como consecuencia la ruptura del equilibrio en la naturaleza e impide el bienestar de la sociedad (**Månsson et al., 1998**). Durante los últimos años, debido a razones económicas y medioambientales han sido introducido 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, para la elaboración de productos de alto valor agregado (**Laufenberg et al., 2003**).

Teniendo en cuenta los aspectos anteriores se formula el siguiente **problema** científico:
¿Sería posible el aprovechamiento del residual sólido de cáscaras de semilla de *Jatropha curcas* en la elaboración de un producto de alto valor agregado?

Como vía para solucionar este problema se puede formular la siguiente **hipótesis**.
Con la caracterización del residual sólido de cáscaras de semilla de *Jatropha curcas* es posible su uso para la obtención de Bioetanol.

Teniendo en cuenta lo anterior, se propone como **objetivo general**:
Determinar a través de un análisis estadístico de experimentos la posibilidad de su utilización para la obtención de Bioetanol para su máximo rendimiento.

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

- 1. Realizar el muestreo, conservación y preparación de la materia prima.***
- 2. Caracterizar de forma físico química del residual.***
- 3. Pretratar la materia prima a diferentes condiciones de temperatura y tiempo.***
- 4. Elaborar del informe final de la tesis.***

La tesis consta de 59 páginas, distribuidas en 3 capítulos, 7 páginas de bibliografía y 3 Anexos, en los mismos encontramos 1 tabla y 4 figuras.

Capítulo 1. Análisis Bibliográfico

En el presente capítulo se realiza un análisis de la información existente relacionada con el tema de la tesis. El análisis bibliográfico muestra una panorámica en la cual se habla acerca de la planta *Jatropha curcas*, sus características, así como su utilización en la fabricación de diferentes productos de valor agregado. En otros tópicos se ofrece una panorámica de la producción de etanol combustible a partir de biomasa, así como la importancia que para la humanidad representa la sustitución de combustibles fósiles por materias primas que puedan ser regeneradas y brinden la energía necesaria que la humanidad necesita. La información existente en la bibliografía sobre los diferentes métodos de pretratamiento a que puede ser sometida la materia prima con vista a convertirla en accesible al ataque de las enzimas en el proceso de hidrólisis enzimática.

1.1 ¿Qué se conoce como Biomasa?

La biomasa, en sentido estricto, 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 domésticos, 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 como compuestos de reserva (carbohidratos 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 transforman 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 etanol (**Domínguez, 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 lignocelulósica necesaria para suministrar grandes mercados de combustibles (**Ashgari, 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.

1.1.1 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 productos de valor agregado. 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 El Bioetanol

La conversión de biomasa a combustible líquido, tal como etanol, ha sido el foco de mucho interés a finales del siglo XX.

El bioetanol fue producido a gran escala durante las dos guerras mundiales, usando hidrólisis ácida, pero después de los años 1940 fue desestimado (**de Armas, 2000**). Solamente en la Unión Soviética la producción de etanol basada en la hidrólisis ácida de la madera continuó ininterrumpidamente (**Khol'kin et al., 1999**). Sin embargo, debido a los bajos rendimientos en los pasos de la hidrólisis y a problemas de corrosión causada por el ácido usado, los procesos no fueron competitivos con los derivados del petróleo (**Chang, et al. 1981**).

A partir de 1973, cuando los precios del crudo se cuadruplicaron debido a la reducción de la extracción por parte de los países miembros de la OPEP, la autosuficiencia energética pasó a ser un objetivo estratégico de muchos países y los combustibles alternativos volvieron a jugar un papel importante y creció el interés por el etanol carburante (**revisado por Martín, 2002**). Sin embargo, a partir de 1982 ocurrió una disminución de los precios del crudo, lo que provocó una disminución del interés por el etanol combustible (**Galbe, 1994**).

Las nuevas exigencias hacia la protección del medio ambiente emanadas de la Cumbre de la Tierra (1992) y la incertidumbre sobre un suministro estable de petróleo crudo condujeron a que en la década de los 1990 se incrementase el interés por el etanol combustible. La principal motivación por el etanol esta vez ha sido la preocupación por disminuir el impacto del efecto invernadero sobre el clima de la tierra. Lo atractivo del bioetanol como sustrato potencial para reemplazar los combustibles fósiles estriba en la menor cantidad de dióxido de carbono liberada durante la combustión (**Costales, 2000**). El CO₂ generado por la combustión del etanol es utilizado en el proceso de

fotosíntesis de las plantas de las cuales es obtenido, por lo que se produce un ciclo cerrado (Lynd, 1990)

1.2.1 El etanol como combustible automotor

El uso del etanol como combustible automotor tiene una historia tan larga como la del propio automóvil. El motor de combustión interna inventado por Nikolaus Otto en 1887 fue diseñado originalmente para ser propulsado con etanol (Tengborg, 2000).

Sin embargo, durante la mayor parte del siglo XX el bioetanol solamente resultó atractivo en tiempos de guerra. Hoy todos los carros pueden trabajar con gasolina sin necesidad de hacer modificaciones en el motor (Berg, 1998). También 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 mezcla que han sido empleados con diversos nombres como Mafuco, (Cuba), Alcoholina (Brasil), Gasohol (USA) requieren de la utilización de alcohol deshidratado (99,2 %), ya que una mezcla que contenga más de 0,3 % de agua se puede separar en dos fases y causar serias fallas en el motor (ICIDCA, 1987).

1.2.2 Ventajas ecológicas del bioetanol

El principal impacto social del uso del bioetanol está relacionado con la protección del medio ambiente. El empleo de bioetanol como combustible automotor contribuirá notablemente a la disminución de la contaminación ambiental, ya que este es un combustible biológico, por lo que, como se explicó anteriormente, no aporta dióxido de carbono al efecto invernadero. Ejemplo de esto tenemos que el uso masivo del etanol combustible en Brasil provocó una reducción de la emisión de 46.7 millones t CO₂/año entre 1985 y 1995 (Macedo, 1998). Podemos mencionar además de que su combustión es más completa que la de la gasolina, por lo que sus emisiones de monóxido de carbono e hidrocarburos son mucho menores. (Cordovés, 2001). Por otro lado, las emisiones producidas durante la combustión de la gasolina y del combustible diesel

contienen compuestos aromáticos, muchos de los cuales son cancerígenos, así como otras impurezas, tales como azufre, cloro, compuestos aromáticos y órgano metálicos, hidrocarburos sin combustionar, óxidos de nitrógeno y compuestos orgánicos volátiles **(Bailey, 1996)**. En caso de que el etanol sea producido a partir de materiales lignocelulósicos, tales como desechos agrícolas y forestales, residuos de la industria de procesamiento de alimentos o residuos sólidos municipales se producirá la disminución del vertimiento y la acumulación de muchos residuales potencialmente tóxicos y contaminantes del entorno. En opinión del autor, esto representará un beneficio medioambiental adicional del uso del etanol combustible.

1.2.3. Ventajas económicas del uso del bioetanol

La sustitución de la gasolina por el etanol permitiría reducir los volúmenes de petróleo que actualmente son importados por los países dependientes del mercado mundial de hidrocarburos, lo que conduciría a una mejora de la balanza comercial de esos países **(Glasser, 1998)**.

En Cuba, se debe tener en cuenta que la proporción del sector del transporte en el consumo energético nacional se hace cada vez más significativa. Debido a que desde la primavera del año en curso prácticamente la totalidad de la generación eléctrica se realiza a partir de petróleo crudo y gas acompañante de origen nacional y a que el número de vehículos ha aumentado considerablemente a partir del inicio de la reanimación de la economía cubana, el peso del sector automotor en el consumo de combustible se ha elevado y continuará elevándose en un futuro inmediato. El uso del etanol carburante, producido a partir de recursos renovables de origen nacional, permitiría al país disminuir la importación de petróleo, lo que significaría un ahorro en divisas, algo muy importante para la oxigenación de nuestra economía **(Martín, 2002)**.

Por otro lado, teniendo en cuenta la gran disponibilidad de materias primas para su producción, el bioetanol es un combustible renovable que Cuba puede producir en grandes cantidades, lo que, en opinión del autor, permitirá que el beneficio económico sea continuado y no quede remitido a un lapso de tiempo breve. Un ejemplo de las

ventajas económicas del etanol combustible se puede apreciar en Brasil, donde desde que se generalizó el uso del etanol en transportación, se han ahorrado 100 mil millones de dólares por concepto de petróleo que se ha dejado de importar (**Basso y Amorim, 2001**).

1.2.4. Producción de etanol

El etanol puede ser producido por dos vías, química y bioquímica. La vía química consiste en la hidratación del etileno en presencia de un catalizador. La vía bioquímica se basa en la fermentación de materiales ricos en glúcidos por la acción de microorganismos. Aproximadamente el 91% del etanol producido en el mundo es obtenido por fermentación, mientras que sólo el 9% es producido sintéticamente (**Wheeler et al., 1991**).

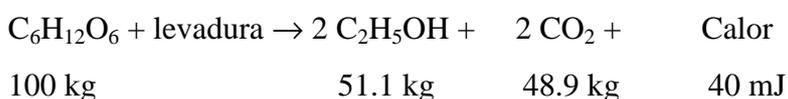
Los organismos más usados en la obtención de etanol por fermentación son las levaduras del género *Saccharomyces* (**Hernández et al., 1986 y Ingledew, 1995**).

En la producción de etanol por fermentación se emplean materias primas azucaradas, amiláceas y lignocelulósicas. Las materias primas azucaradas tienen la ventaja de que sus carbohidratos componentes están en forma de monosacáridos y oligosacáridos, por lo que el sustrato puede ser fermentado directamente por los microorganismos productores.

El proceso para hacer etanol a partir de la celulosa, se basa en una primera etapa donde la materia prima es pretratada con vistas a romper la matriz celulosa-hemicelulosa-lignina, seguido de la hidrólisis de la celulosa y otros oligómeros a glucosa, fermentación posterior de los azúcares contenidos en el prehidrolizado, produciéndose un líquido que contiene entre un 8-12 % de etanol. Finalmente el licor es destilado mediante destilación fraccionada con vistas a refinarlo hasta su azeótropo (96 wt% en etanol). Con vista a ser utilizado como combustible automotor se hace necesario deshidratarlo mediante un sistema de tamices moleculares.

Llevando a cabo una tecnología factible económicamente se podría reducir la dependencia del petróleo crudo (**Brizuela, 2000**).

Durante la fermentación alcohólica ocurren transformaciones enzimáticas que conducen a la liberación de energía. La ecuación general de la fermentación alcohólica se puede escribir de la siguiente manera (**Ingledeew, 1995; Kelsall, 1995**).



En la misma intervienen diferentes enzimas entre las que encontramos la enzima carboxilasa, la cual cataliza la descarboxilación del ácido pirúvico para formar acetaldehído y dióxido de carbono y la alcohol-deshidrogenasa, la cual cataliza la reducción del acetaldehído a etanol (**Brizuela, 2000**).

Los productos principales de la fermentación alcohólica son el etanol (51.1%) y el dióxido de carbono (48,9%), así como varios productos colaterales como glicerol, acetaldehído, alcoholes superiores, ésteres, éteres, ácidos, cetonas y otros compuestos. También ocurre la formación de biomasa celular (**Ingledeew, 1995; Kelsall, 1995**).

El etanol producido mediante vía fermentativa, además de ser utilizado como combustible, puede ser utilizado también, en diferentes industrias, especialmente en la química-farmacéutica y la alimentaria. De sus usos se destacan fabricación de perfumen, solvente, combustible, algunos productos farmacéuticos, bebidas y licores.

1.2.5 Materias primas 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 materias primas azucaradas tienen la ventaja de que sus carbohidratos componentes están en forma de monosacáridos y oligosacáridos, por lo que el sustrato puede ser fermentado directamente por los microorganismos productores. Las melazas de caña y remolacha, los jugos de caña y los jugos de frutas son materiales que pertenecen a este grupo. 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 contienen almidón, el cual no es fermentable directamente, por lo que requiere ser hidrolizado previamente 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 (**Ingledeew, 1995**).

Los carbohidratos contenidos en las materias lignocelulósicas son la celulosa y las hemicelulosas, polisacáridos que pueden ser hidrolizados a azúcares simples, muchos de los cuales a su vez pueden ser fermentados a etanol por las levaduras.

Producir 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 por el momento (**Tengborg, 2000**). Esta situación posee una tendencia a cambiar, según el desarrollo de nuevas tecnologías donde la materia lignocelulosa es bioconvertida en etanol a costos más bajos. En octubre del 2009, la compañía sueca SEKAB desarrolló un proceso industrial para la producción de etanol a partir de biomasa como materia prima, incluyendo las virutas de madera y el bagazo perteneciente un nuevo proyecto de biorefinerías. En febrero del 2009 la Verenium firmó con la British Petroleum la formación de una nueva compañía mixta, Vercipia Biofuels, a fin de desarrollar a nivel comercial una planta de etanol celulósico a partir de materias primas no alimenticias. La empresa está enfocada a la realización de dos proyectos en la región costera del Golfo, el primero de ellos será ejecutado en Highlands country, Fla, en el 2012.

Según Gálvez (2000), los productos vegetales dignos de considerar para la producción de etanol combustible son: yuca y caña de azúcar en zonas tropicales, remolacha forrajera en áreas templadas y 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). En opinión del autor, el desarrollo de tecnologías eficientes para la hidrólisis de la celulosa, que incluya enzimas más eficientes y producidas a menor costo, será un factor clave para lograr que los materiales lignocelulósicos puedan ser usados industrialmente para la producción de etanol. Una comparación aproximada entre el peso y el rendimiento alcohólico de diversos cultivos se muestra en la tabla 1, Anexo 1.

1.3 Producción de Bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos:(MLC)

La celulosa es un polímero lineal constituido por unidades de glucosa. La hemicelulosa, polímero ramificado constituido principalmente de unidades de xilosa, interconecta las moléculas de celulosa y lignina de la pared celular. La lignina que actúa como adherente, es un complejo aromático que resulta de la unión unidades de fenilpropano. En la tabla 1 se reporta la composición química en base seca de algunos materiales lignocelulosicos (Shleser, 1994). Puede apreciarse la presencia de los 3 componentes básicos.

Tabla 1 Composición química materiales lignocelulósicos.

<i>Fuente</i>	<i>Celulosa (%)</i>	<i>Hemicelulosa (%)</i>	<i>Lignina (%)</i>	<i>Otros (%)</i>
Bagazo de caña	38	27	20	15
Hojas de caña	36	21	16	27
Pastos	32	20	9	39
Periódico	62	16	21	1
Residuos sólidos municipales	33	9	17	41

***Tomado Saucedo – Luna et al., 2008**

1.3.1 Alternativas tecnológicas:

Una gran cantidad de variantes tecnológicas han sido reportadas en la literatura y se pueden resumir en las siguientes: i) Sacarificación y fermentación simultánea, ii) Hidrólisis ácida concentrada, neutralización y fermentación, iii) Ruptura con amonio, hidrólisis y fermentación iv) Ruptura con vapor, hidrólisis y fermentación, v) Hidrólisis ácida y fermentación con microorganismos transgénicos, vi) Hidrólisis ácida concentrada, recirculación y fermentación y vii) Extracción con acetona acidificado, hidrólisis y fermentación. A estas tecnologías habría que agregar la etapa de deshidratación del bioetanol para obtenerlo anhidro, por lo que se puede generalizar que el proceso consiste en 4 etapas:

1. **Pretratamiento:** La materia prima se somete a una etapa de molienda para reducir su tamaño, posteriormente es sometida a un proceso de pretratamiento cuyo objetivo es romper la matriz polimérica en que se hallan los glucanos y xilanos que más tarde serán convertidos en los azúcares necesarios es para alcanzar los mejores resultados en las etapas siguientes (hidrólisis y fermentación). Desde el punto de vista económico en esta etapa estaría gran parte del costo total del proceso.
2. **Hidrólisis:** La hidrólisis de los polisacáridos contenidos en los MLC es la base para la obtención de etanol, ácido láctico, xilitol, furfural, levadura forrajera entre otros productos de extraordinaria importancia económica y social. La hidrólisis consiste en la ruptura de los enlaces glicosídicos de polisacáridos con formación de los monosacáridos componentes. (Martín, 2002) Concluido el pretratamiento se obtienen dos fracciones, una líquida rica en hemicelulosas, y otra sólida, enriquecida en celulosa y lignina. La hidrólisis de la fracción sólida se puede llevar a cabo por medio de ácidos concentrados, diluidos y/o mediante hidrólisis enzimática, donde la levadura contiene un complejo enzimático encargado de llevar a cabo el proceso de hidrólisis dando como resultado dos nuevas fracciones, una líquida, rica en glucosa y la sólida constituida por la lignina residual.

3. **Fermentación:** La fermentación alcohólica es proceso anaeróbico realizado por las levaduras, donde se obtienen un gran número de productos, entre ellos alcohol. La fracción líquida obtenida en la etapa anterior es fermentada con organismos fermentadores de xilosas como *Saccharomyces cerevisiae* y la *Pichia stipitis*, organismo fermentador de pentosas.
4. **Destilación:** La destilación es la operación de separar, mediante calor, los diferentes componentes líquidos de una mezcla. Una forma de destilación, conocida desde la antigüedad, es la obtención de alcohol aplicando calor a una mezcla fermentada. El alcohol producido por fermentación contiene una parte significativa de agua, que debe ser eliminada para su uso como combustible. Para ello se utiliza un proceso de destilación, la solución alcohólica obtenida (8-12%v/v en etanol), el cual es extraído mediante destilación fraccionada obteniéndose finalmente el azeótropo a 96%v/v en etanol, la mezcla se calienta hasta que el alcohol se evapore y se pueda separar por condensación de éste.
5. **Deshidratación:** Es la reducción del contenido en agua mediante un tamizado con zeolitas, sustancias que captan las moléculas de agua. El producto final obtenido debe ser deshidratado con vista a ser usado como combustible automotor, para ello en el caso del etanol es pasado por tamices moleculares. (Fig. 1 Anexo 1). (Shleser, 1994).

1.4 Pretratamiento utilizados en los Materiales Lignocelulósicos

Aunque existen distintos tipos de pretratamientos, podemos agruparlos en cuatro categorías diferentes: físico, químico, biológico y la combinaciones de ellos. Los físicos (vapor, radiación, vibración) no incluyen la aplicación de sustancias (Azuma et. al, 1985, Beardmore et.al, 1980). En los químicos participan sustancias tales como dióxido de azufre (SO₂), ácido acético (CH₃COOH), solventes (Varshney y Patel, 1998), amoníaco (NH₃) (Holtzapple et al., 1992), álcalis (Playme, 1984), y ácidos. Los biológicos, en los cuales participan microorganismos degradables de lignina, tienen el

inconveniente de ser muy lentos (**Lee, 1997**). Entre los físicos encontramos: la explosión por vapor en el cual se combina SO_2 y vapor (**Dekker y Walis, 1983; Homeyer et al., 1998; Lambert y Stratford, 1999**), y la oxidación húmeda, donde la biomasa es tratada con agua y aire u oxígeno a temperaturas de 100°C (**Mc Ginnis, et al. 1983, a, b**). A nivel industrial, solo los pretratamientos ácido diluidos y concentrados, han sido utilizados.

1.4.1 Pretratamiento ácido diluido

El pretratamiento ácido, como su nombre lo indica es el uso de ácidos minerales concentrados y diluidos para destruir la coraza de lignina y hemicelulosa encontrada en la pared celular de los materiales lignocelulósicos. Los tratamientos con ácidos diluidos a altas temperaturas rompen los enlaces de estos polisacáridos al despolimerizar y solubilizar las hemicelulosas dando xilosa, arabinosa, manosa, galactosa y glucosa (**Grohmann et al., 1995**). Otros pretratamientos ácidos usan el clorhídrico, sulfúrico concentrado a bajas temperaturas, donde el principal inconveniente es el requerimiento de equipos de acero inoxidable, lo cual incrementa el costo (**Waym, 1995**). Estos tratamientos con ácidos concentrados han quedado en desuso debido a los problemas antes planteados. Cuando se usa ácido diluido, se aplica altas temperaturas (200°C) y considerable cantidad de productos de degradación de azúcares (hidroximetilfurfural y furfural) y lignina (fenoles) son formados (**Bashir y Lee, 1994**), lo cual representa un factor negativo en estos tratamientos si el objetivo es obtener etanol combustible, ácido láctico u otro producto donde se requieran azúcares como materia prima. Por el contrario si la producción de hidroximetilfurfural, furfural y fenoles es lo deseado esta pudiera ser una vía para la obtención de los mismos a gran escala. Entre ejemplos de pretratamientos ácidos tenemos muchos, algunos de ellos son: tratamiento con ácido sulfúrico al 4% a 100°C durante 60 minutos y tratamiento con ácido sulfúrico concentrado al 85% a 100°C durante 10 minutos (**Scengyel, 2000**).

1.4.2 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 se dividen en tres grupos 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, bajo la acción de ácidos a altas temperaturas. El segundo grupo de compuestos inhibidores son ácidos alifáticos de cadenas cortas. Típicamente los hidrolizados lignocelulósicos contienen grandes cantidades ácido acético, ácido fórmico y ácido levulínico, los cuales a su vez, son productos de la degradación del 5 – hidroximetilfurfural 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**).

1.5 Estado actual y perspectivas de la producción de etanol celulósico a partir de biomasa en el mundo.

En los últimos años, el uso del etanol combustible y la preocupación por desvincular su producción de materias primas que compitan con la alimentación humana ha elevado considerablemente el interés en la producción de etanol celulósico. Esto ha llevado a la propuesta de diversos procesos tecnológicos, basados en la hidrólisis ácida o hidrólisis enzimática. Nuevas tecnologías son evaluadas en plantas pilotos o demostrativas en países como Suecia, EE.UU., España, Canadá, Dinamarca, Japón y China. Varias de esas tecnologías ya se encuentran en estados iniciales de planificación y para el futuro inmediato se percibe una considerable expansión de la producción de etanol a partir de materiales lignocelulósicos (**Bueno, 2008**). Ejemplo de ello tenemos que para satisfacer la inmensa demanda de biocombustibles, Europa ha apostado por el etanol y se espera que dentro de un período breve decenas de plantas estén produciendo etanol a partir de biomasa en el Viejo Continente (**Holm Christensen, 2003**). Entre las compañías que comercializan nuevas tecnologías basadas en hidrólisis ácida se encuentran: BC Internacional (EE.UU.) y la SEKAB (Suecia), las cuales han desarrollado procesos

basados en los más recientes avances en la hidrólisis ácida en dos etapas. SEKAB posee una planta piloto al norte de Suecia, con capacidad de 500 L día⁻¹ de etanol, que trabaja con gran flexibilidad y puede variar entre la hidrólisis ácida en dos etapas y la hidrólisis enzimática (**Taherzadeh y Karimi, 2007 a, b**).

La tecnología Arkenol, (EE.UU.), está siendo empleada por la compañía BlueFire en la construcción de una planta comercial de etanol celulósico con capacidad de 67 millones L año⁻¹ a partir de residuos forestales en California (**Taherzadeh y Karimi, 2007, b**).

Otra importante planta piloto en el Laboratorio Nacional de Energía Renovable (NREL), en EE.UU. la cual procesa 900kg día⁻¹ de biomasa, es ideal para estudios a pequeña escala y desde 1994 ha sido utilizada en numerosos proyectos. (**Taherzadeh y Karimi, 2007, b**).

Otros países del continente americano donde se están dando pasos importantes son Canadá y Brasil. En Canadá se está concluyendo la primera planta comercial para producir etanol por hidrólisis enzimática de lignocelulosa. La planta producirá 1 millón de galones de etanol al año a partir de vainas de avena, paja de trigo, hierba y tucas de maíz (**Bioenergy Update, 1999**).

En la actualidad se ejecutan cuatro proyectos que utilizan esa energía (i) China Resourcer Alcohol Corporation (CRAC), desde el año 2006 y produce etanol a partir de hojas y tallos de maíz, (ii) Abengoa, España que utiliza la paja de trigo desde 2007, (iii) Celunol, que está siendo construida en Lousiana para producir etanol a partir de madera y bagazo de caña de azúcar entre otros residuos lignocelulósicos, y (iv) GreenFiel Ethanol Inc., que es el mayor productor de etanol en Canadá (**Taherzadeh y Karimi, 2007, b**).

En los próximos años se espera que en Norteamérica entre en producción plantas de etanol celulósico (**Taherzadeh y Karimi, 2007 a, b; Bueno, 2008**). Entre las compañías involucradas en esos proyectos se encuentran: Blue-Fire Ethanol, Alico, Abengoa Bioenergy, Iogen Biorefinery y Range Fuels, las cuales utilizan como materias primas residuos agrícolas y forestales, así como cultivos energéticos (**Waltz, 2008**).

1.6 La biomasa como materia prima y fuente renovable de energía

Teniendo en cuenta la definición dada de biomasa, los materiales biomásicos pueden tener los diferentes orígenes: Natural: es la biomasa que se produce en los bosques naturales y, en general, en los ecosistemas naturales. La explotación de este tipo de biomasa por el hombre no es interesante por razones de mantenimiento del equilibrio ecológico natural. Actualmente, constituye la principal fuente energética de pueblos y países en vía de desarrollo. Residual: entre las biomásas de origen residual, resultantes de la actividad humana podemos encontrar: residuos forestales y los originados por la industria de la madera. Residuos agrícolas, residuos sólidos urbanos (fracciones de papel, cartón y materia orgánica), aguas residuales y lodos de depuradoras, residuos ganaderos, residuos agroindustriales (industrias lácteas, papeleras, destilerías, almazaras, conserveras, etc.)

Los residuos en su mayoría son depositados en los campos causando contaminación o quemados. Los mismos por su composición química pueden ser utilizados por su bioconversión a etanol. Entre los residuos agrícolas que constituyen un potencial para ser utilizados en la producción bioetanol, tenemos: el bagazo de caña de azúcar, paja de arroz, los tallos de yuca, tucas de maíz y las cáscaras de diferentes frutos como la *Moringa oleífera*. Muchas cáscaras de frutos poseen una cantidad apreciable de carbohidratos en su composición química que los hace un sustrato promisorio para ser utilizados en la producción de bioetanol combustible.

1.7 Características de la planta *Jatropha curcas*

La palabra *Jatropha* se deriva del griego jatrós (médico), trophé (alimentos), lo que implica usos medicinales. Es un arbusto perteneciente a la familia de las Euphorbiaceae, comprende aproximadamente 8000 especies, pertenecientes a 321 géneros. La cual pertenece a la tribu Joannesieae de Crotonoideae en la familia Euphorbiaceae y contiene aproximadamente 170 especies conocidas. (Dehgan B., L. y G. Webster 1979). (fig.1 Anexo 2). Presenta muchos atributos y usos múltiples, teniendo por lo tanto un potencial considerable. La planta puede ser utilizada para prevenir y/o controlar la erosión de los suelos, como cerca natural para contener o excluir a los animales de

granja, además de ser plantada como cultivo comercial para la producción de sustancias de valor agregado entre la que se destaca la producción de biodiesel. Sus hojas y tallos son tóxicos para los animales. Por otra parte la torta residual de la producción de biodiesel es rica en proteína, pero también posee toxinas que deben ser eliminadas antes de utilizarse la misma como alimento animal.

1.7.1 Hábitat de la planta *Jatropha curcas*

Se cree que la planta es nativa de América tropical, pero ahora prospera en muchas partes de los trópicos y sub-trópicos en África y Asia. Es atacada por pocas plagas y enfermedades y crece en una amplia gama de regímenes de precipitaciones, desde 200 a más de 1500 mm por año. La *Jatropha* es fácil de establecer, crece con relativa rapidez y es resistente, siendo tolerante a la sequía. Esta planta contribuye a la mejora del medio ambiente a través de la recuperación de tierras, control de la erosión, fertilidad de los suelos, la reducción del consumo de leña y por lo tanto disminución de la tasa de deforestación (**Heller J. 1996**).

1.7.2 Condiciones, características del cultivo y crecimiento de la planta

La *Jatropha curcas* puede crecer casi en cualquier tipo de suelo, incluso sobre la arena y suelos salinos. Así como prosperar en los suelos pedregosos y crecer en la formación de grietas de las rocas. La productividad de la *Jatropha* es de 0,8-1 Kg. de semillas por metro de cerca natural. La obtención de semillas es de alrededor de 3,5 tn/ha (oscila entre alrededor de 0,4 toneladas por hectárea en el primer año y a más de 5 toneladas por hectárea después de 3 años).

Los frutos son de unos 2 cm de diámetro; cada uno contiene de 2-3 semillas. En el cultivo de *Jatropha* se estima que la producción es de 3500 kg/ha, (**Sotolongo, J.A. et al 2007a**). El fruto está constituido por tres partes (fig.2 Anexo 2) La parte externa es de color marrón, de consistencia semiblanda y apariencia fibrosa. A continuación, se encuentra la nuez, cuya cáscara es de color negro, de gran dureza y sirve de protección directa a la almendra que encontramos en su interior, esta última es de color blanco a beige y posee alta concentración de ácidos grasos los cuales por reacción con metanol o

etanol en presencia de catalizadores ácidos o básicos pueden ser convertidos en biodiesel.

La separación de la cáscara de la nuez de la almendra se puede hacer manualmente o con una máquina. La cáscara puede ser utilizada como fertilizante orgánico debido a su contenido en nitrógeno proteico, además, en la producción de combustible al ser quemada directamente, debido a que su valor calórico es de 11.1 MJ/Kg. (teniendo un 15% de humedad) y para la producción de biogás en un biodigestor.

Después de procesada la almendra para la extracción de los ácidos grasos que posee, queda un residual sólido llamado torta, el cual es rico en proteínas, pero con un porcentaje de curcuma, una proteína tóxica para los animales. Si estas toxinas son extraídas, la torta se convierte en un alimento de alta calidad para el ganado. La torta que contiene hidratos de carbono, fibras y restos de aceite es útil como abono orgánico, debido a su alto contenido de nitrógeno (6%) y de otros elementos como: fósforo (3%), potasio (1%), así como trazas de calcio y magnesio (**Sotolongo, J.A. et al. 2007a**).

La *Jatropha* no es una planta fijadora de nitrógeno (**N. Jones, JH y Miller 1992**), por lo que requiere de un suelo rico en dicho elemento; para incrementar la producción de semillas. El uso de este residual en plantaciones de *Jatropha*, ahorraría dinero a productores por concepto del no uso de fertilizantes químicos. Una tonelada de torta de semillas al suelo es equivalente a la aplicación de 0,15 toneladas de fertilizantes minerales (NPK 40:20:10). Si no se aplica el nitrógeno, las flores pueden abortar y la producción de semillas disminuir (**Singh G., Seetharaman SP, y Chockshi SN 1996**).

La torta de semilla puede ser utilizada, además, como materia prima en diferentes bioprocesos para la producción de productos químicos tales como: aminoácidos, enzimas, vitaminas, antibióticos y biopesticidas (**Butista J., J. Parrado, y Machado, A. 1990**). Sin embargo, estos usos están restringidos a las tortas de aceites comestibles, principalmente de soja, debido a la presencia de las sustancias tóxicas antes mencionadas. Las tortas de semillas de plantas no comestibles han sido menos investigadas y sus usos están limitados a los abonos orgánicos y la producción de biogás (**Ramachandran S., et al. 2007**).

1.8 Usos de la *Jatropha*

Diversas partes de la planta son de valor medicinal, su corteza contiene taninos, las flores atraen a las abejas, lo cual contribuye al incremento de la producción de miel. Su madera y fruta son utilizadas para numerosos fines, entre ellos la producción de combustible, utilizados en motores móviles o estacionarios para el bombeo de agua (riego), la molienda de grano, el transporte, la generación eléctrica, la cocción de alimentos, iluminación y calefacción. Se puede producir 20 000 Kg. de biomasa, en un período de 6 años, en 1 ha de plantación de *Jatropha* (considerando 20 Kg. /árbol y 40 árboles/ha). La madera producida durante la poda y el corte de la plantación tiene un valor calorífico de 15,5 MJ / Kg. (15% de humedad). **(Sotolongo, J.A. et al. 2007a)**. Además, ella de por si impacta positivamente en la sociedad reduciendo la pobreza en zonas rurales mediante el fomento de las actividades económicas debido a la construcción de industrias para la fabricación de jabón, medicamentos, lubricantes, productos químicos, fertilizantes e insecticidas. Económicamente la siembra de este arbusto reduce el consumo de combustibles importados para la vida rural, incidiendo indirecta y positivamente en la elevación del producto interno bruto (PIB). Desde el punto de vista agronómico uno de los residuales generados en la extracción de biodiesel, la torta de prensado, pudiera ser utilizada en la fijación de nitrógeno en el suelo y con ello otras plantas sembradas por el hombre que así lo necesiten, lo cual disminuye los gastos por concepto del uso de los fertilizantes químicos. **(Heller J. 1996)**.

En la producción de biodiesel es posible obtener además como subproducto glicerol (64,3 litros de glicerol/ha de *Jatropha*). Otra alternativa para desarrollarse en el futuro debe ser teniendo en cuenta que el valor calórico de la glicerina es 17,28 MJ / kg. La glicerina tiene varios usos. Las aplicaciones más importantes están relacionadas con la industria farmacéutica, industria alimentaria, así como la industria cosmética.

En la producción de aceite se utiliza la semilla que contiene alrededor de 38% en peso de aceite y su rendimiento de granos es de alrededor del 50%. Mecánicamente puede ser extraído entre el 27% y el 32% del aceite de la semilla usando una prensa de tornillo. **(Sotolongo, JA et al. 2007b)**. El diesel es un hidrocarburo con 8-10 átomos de carbono por molécula, pero en el aceite de *Jatropha* es de 16-18. Así pues, el núcleo del aceite es

mucho más viscoso que la gasolina, la viscosidad del aceite de *Jatropha* en bruto es de aproximadamente 48,956 cS (a 38,1⁰ C), mientras que el diesel de petróleo es 4,438 cS y tiene una menor calidad de ignición (el número de cetano). Por esta razón, utilizando el aceite directamente no ha sido probado durante mucho tiempo. Esto reduce su viscosidad y aumenta su número de cetano. Sin embargo, esto requiere una inversión considerable y en la actualidad no es rentable. El aceite de *Jatropha* ahora es tres veces más caro que los combustibles de hidrocarburo. (**Openshaw, K. 2000**). Los principales ácidos de la *Jatropha* son el oleico y linoleico, combinan su contenido alrededor de 72%. La *Jatropha* de Cuba tiene un contenido de ácido linoleico superior al ácido oleico. Especies mexicanas tienen el mismo contenido de ácidos oleico y linoleico. (**Martínez-Herrera J., et al. 2006**). El resto de cuestiones, generados al descascarar las semillas para la obtención de los granos, por lo general son de escaso valor económico, y son principalmente eliminados o quemados. En algunos casos, los cascotes se usan como combustible sólido o como materias primas para la producción de carbón activado (**Samaniego R., AI y de León 1940**). La utilización integral, según el concepto de biorefinería, de todas las fracciones generadas en la producción de biodiesel es requisito para la economía y la sostenibilidad del proceso, y para la explotación racional de las materias primas. Para aclarar posibles usos no comestibles de las tortas de aceite y las cáscaras es necesario investigar su composición química. En este último hay algunas discrepancias, lo que podría ser explicada por el suelo y condiciones climáticas en que las semillas fueron recolectadas y por las diferencias en los protocolos analíticos utilizados (**Turmuzi M., et al. 2004**).

Algunos autores estiman que 1 hectárea de plantación de *jatropha* con 4400 plantas por hectárea bajo condiciones de secano pueden producir cerca de 1.500 litros de aceite (**Ramesh, D. et al.**). En este último hay algunas discrepancias, lo que podría ser explicada por el suelo y condiciones climáticas en que las semillas fueron recolectadas, y por las diferencias en los protocolos analíticos utilizados (**Turmuzi M., et al. 2004**). Existen algunos estimados de la producción de aceite de *jatropha*/ha y otros aceites. Los valores óptimos son: el aceite de palma (5 t/ha), *jatropha* (1,6 t/ha), girasol (0,8 t/ha) y pongamia (0,8 t/ha) (**Bharadwaj A., et al.2007**).

La torta residual no se puede utilizar directamente como alimento animal debido a las toxinas que posee, pero las mismas pueden ser utilizadas como insecticidas y

bactericidas naturales. Otros compuestos químicos con propiedades medicinales son extraídos de diferentes partes de la planta (Staubmann, R. et al. 1999), así como aminoácidos, y otros. (Figura 1 anexo 3)

1.9 Distribución geográfica de la *Jatropha*

La *Jatropha* puede cultivarse en todos los países comprendidos en tropicales, subtropicales y en algunas zonas de los países de clima templado; también en algunas zonas de áridos. Crece además en la selva húmeda ecuatorial, el cinturón caliente tropical y perfectamente en la región de sabana.

El continente africano encontramos entre los países cultivadores de *Jatropha* a Argelia, Angola, Egipto; en Asia a China, India, Indonesia, Laos, Malasia; en América a países como: Argentina, Cuba, Bolivia, Brasil, Chile, Venezuela, y en el continente australiano. De los países mencionados con anterioridad podemos resaltar la labor de la India, donde se han dado pasos importantes hacia la producción a gran escala de biodiesel, se prevé que queden sembradas aproximadamente 11,2 millones de hectáreas de tierras, lo que podría sustituir a diesel fósil en una medida de hasta un 20% en 2011-2012. Otros autores han sugerido que, dado un estimado de 60 millones de hectáreas de tierras baldías, existe margen suficiente para crecer *Jatropha* en al menos 30 millones de hectáreas. (Bharadwaj A., et al.2007). China por su parte, realizó un plan de desarrollo previsto de 10 millones de plantaciones de *Jatropha* en cada una de las tres provincias del suroeste, sembrando un total de 15,4 millones de hectáreas de *Jatropha curcas*.

Zimbabwe: Se cree que la superficie total de tierras en Zimbabwe, en virtud de *Jatropha* es un poco menos de 2000 hectáreas. (Makkar et al. 2001). El número de árboles plantados en el distrito aumentó de menos de cien a más de 10.000 árboles entre 1996 y 1998. Por otra parte, en 2002 el gobierno puso en marcha un ambicioso proyecto denominado Árbol de África con el objetivo de promover la plantación de más de un millón de árboles al año durante cinco años, quedando la *Jatropha* como el cultivo centro en las comunidades, de las Cataratas Victoria, Mashonaland central; comenzando así a crecer más árboles de *Jatropha* en Banarbas y Mawire.

Malí: La *Jatropha curcas* es generalmente conocida entre la población de Malí debido a que actualmente dicho país tiene unos 10.000 Km². de *Jatropha*, con una tasa de crecimiento de 2000 Km²/año.

América: La *Jatropha* es sembrada principalmente en México y Nicaragua. Como se mencionó anteriormente, sólo 9 hectáreas han sido cultivadas en Cuba en la región de Guantánamo y Granma. En nuestra provincia se prevé sembrar alrededor de 200 ha cubriendo zonas áridas de los municipios de Perico y Martí. La planta es posible también encontrarla como planta silvestre a lo largo de la isla.

1.10 Diseño de Experimental

Desde la primera publicación en 1935 del libro de R.A. Fisher "The Design of Experiments", un gran número de libros y artículos sobre el tema han aparecido y el diseño de experimentos ha sido utilizado ampliamente en las ciencias, facilitando la elaboración y análisis estadístico de los resultados experimentales. Es una forma de planificar el sets de experimentos a realizar de manera que los datos obtenidos sean representativos del sistema investigativo, reproducibles, y procesables estadísticamente. Una vez procesada adecuadamente la información recopilada, se logra la solución del problema planteado mediante un análisis objetivo de los resultados del estudio experimental.

El proceso de investigación ya sea a escala de laboratorio, banco, piloto e industrial se desarrolla en diferentes etapas: Familiarización, Tamizado de variables, y Optimización. En todo el proceso anterior, comenzando por el Tamizado de variables, resulta imprescindible el Diseño de Experimentos. Por esa causa no se debe comenzar ningún trabajo experimental sin hacer previamente algún tipo de diseño. Es común sin embargo, que esto no se haga alegándose un conocimiento amplio del sistema.

No aplicar el Diseño de Experimentos desde el principio provoca realizar un gran número de experiencias preliminares antes de poder obtener una información orientadora. Es precisamente en el estudio de un sistema nuevo cuando más recomendable es, iniciar la investigación aplicando las técnicas de Diseño Estadísticos de Experimentos. (Lowry, R., 2004)

1.11 Conclusiones Parciales:

- La biomasa puede definirse como el conjunto de materiales que pueden ser utilizados 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.
- La semilla de la *Jatropha curcas* es utilizada actualmente para la producción de biodiesel. De la planta es posible extraer otros productos de valor agregado.
- Debido a la posible presencia de carbohidratos en los residuales sólidos de las semillas generados después de la extracción del aceite, será posible realizar la bioconversión de los mismos a bioetanol.
- La realización de un diseño experimental nos facilitará la mejor elaboración del plan experimental, así como la comprensión estadística de los resultados experimentales.

Capítulo 2. Materiales y Métodos

Con vistas a darle uso al residual sólido del fruto de la *Jatropha curcas*, se estudia la potencialidad del mismo como sustrato para su bioconversión a etanol mediante pretratamiento ácido diluido, llevándose a cabo las siguientes tareas:

1. Realizar el muestreo, conservación y preparación de la materia prima.
2. Caracterizar de forma físico química del residual.
3. Pretratar la materia prima a diferentes condiciones de temperatura y tiempo.
- 3.4. Elaborar el informe final de la tesis.

2.1 Muestreo, conservación y preparación de la muestra

Las muestras de cáscaras de *Jatropha* fueron generosamente donadas por la estación experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey” de Matanzas.

La materia prima es secada al sol durante dos días. Pasado este tiempo se seca a 40°C durante 24 h en una estufa-incubadora digital AISET YLD- alemana, con control térmico, de 0,1 °C de sensibilidad. La muestra es triturada en un molino eléctrico doméstico, seguidamente se tamiza (1mm) y se obtienen fracciones útiles para cada experimento a seguir. Se procede a realizar los procesos de muestreo y homogenización, para lo cual la muestra se divide 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, garantizando que la muestra sea lo más real y representativa posible (**Hernández, 1995**).

2.2 Caracterización Físico – Química de la materia prima

La caracterización de la materia prima es realizada siguiendo los Métodos Standard para el Análisis de Biomasa, elaborados por los Laboratorios de energía renovable (NREL) USA. Los análisis realizados son: Humedad (%), determinación de polisacáridos constituyentes de la pared celular entre los cuales tenemos la celulosa, las

hemicelulosas, lignina, así como sustancias misceláneas determinadas como extractivos, las cantidades de minerales son cuantificadas como cenizas. Por la importancia que como material de consulta reviste una tesis, además de estar en idioma inglés los protocolos analíticos, se cree prudente explicar los mismos.

2.2.1 Caracterización física de la materia prima

Para la caracterización física de la materia prima se tomaron seis frutos determinándose: peso total del fruto, peso de la almendra y 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 Caracterización química de la materia prima

2.2.2.1 Determinación de humedad

La determinación se realizó según lo planteado por el: "*Standard Method for Determination of Total Solids in Biomass*". Procedimiento analítico LAP001. El mismo se basa en el análisis gravimétrico por volatilización.

Aparatos utensilios y medios de medición:

- Balanza analítica Sartorius BS 124 S. máx. 120 g Sartorius, con una precisión de 0,1mg.
- Estufa -incubadora digital AISET YLD- 6000, alemana, con control térmico, de 0,1 °C de sensibilidad.
- Desecadora de cristal con carbonato de calcio anhidro y silicagel.
- Cinco crisoles de porcelana de una capacidad de 50 ml con sus tapas.
- Cucharilla.
- Pinza para crisol

Procedimiento

Se toma un crisol y se pesa previamente secado en la estufa a la temperatura de 105°C por espacio de una hora para enfriarlo. Se coloca en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente. Se pesa exactamente 1.0000g de la muestra en la balanza analítica, muestra y réplicas, poniéndolo en la estufa a temperatura de 105°C por espacio de 3 h, posteriormente los crisoles se colocan en la desecadora durante 30 min., se deja enfriar, se pesa y se repite la operación hasta obtener peso constante (dos pesadas consecutivas deben diferenciarse en no más de 0,2 mg). El cumplimiento de este procedimiento se acepta cuando muestra y réplicas cumpla con una desviación estándar igual o inferior a 0,19% y un coeficiente de variación igual o inferior a 0,20%. Los cálculos pertinentes son realizados haciendo uso de las ecuaciones siguientes:

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

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

2.2.2.2 Determinación de cenizas

La determinación se realizó siguiendo el protocolo:" *Standard Method for Determination of Total Solids in Biomass*". Procedimiento analítico LAP005. Este análisis también se basa en la gravimetría por volatilización.

Aparatos utensilios y medios de medición:

- Balanza analítica Sartorius BS 124 S. máx. 120 g Sartorius, con una precisión de 0,1mg.
- Horno mufla. Carbolite con temperatura máxima de 1200°C. Tipo LMF 12/7. Inglaterra.
- Desecadora de cristal con carbonato de calcio anhidro y silicagel.
- Crisoles de porcelana de una capacidad de 50 ml con sus tapas.
- Cucharilla.
- Pinza para crisol

Procedimiento

Se pesan exactamente y por duplicado en crisoles de porcelana con su tapa (previamente tratados en el horno mufla a temperatura de $550 \pm 25^\circ\text{C}$ durante 1h.) 1,000 g de muestra. Colocándose posteriormente en el horno mufla a temperatura de $550 \pm 25^\circ\text{C}$ durante 3 h, se ponen en desecadora por espacio de 30 min., hasta enfriar, se pesan repitiéndose la operación 1h más, hasta obtener peso constante (dos pesadas consecutivas deben diferenciarse 0,2 mg o menos). El cumplimiento de este procedimiento se acepta cuando muestra y réplicas cumpla con una desviación estándar igual o inferior a 0,05% y un coeficiente de variación igual o inferior a 3,88%. Los cálculos pertinentes son realizados haciendo uso de las ecuaciones siguientes:

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

2.2.2.3 Determinación de Extractivos

Se realiza según: "*Standard Method for Determination of Extractives in Biomass*". *Procedimiento analítico LAP010*. Se basa en la gravimetría por extracción sólido-líquido.

Aparatos utensilios y medios de medición:

- Balanza analítica Sartorius BS 124 S. máx. 120 g Sartorius, con una precisión de 0,1mg.
- Desecadora de cristal con carbonato de calcio anhidro y silicagel.
- Estufa -incubadora digital AISET YLD – 6000, alemana, con control térmico, de 0,1 °C de sensibilidad.
- Dedales de extracción de 3cm de diámetro y 7,5 cm. de altura.
- Baño de María, marca Midingen /Sitz Freital, Alemania.
- Aparato de extracción Soxhlet de 75 mL de capacidad.

- Retro – evaporador analógico IKARV 05 Basic, baño de agua marca IKARHB4 Basic, y trampas de vacío y bombas de vacío marca Telstar.

Procedimiento

Se pesan aproximadamente de 2 a 10 g de muestra tamizadas en balanza analítica, se agrega cuidadosamente al dedal para la extracción. El dedal fue previamente secado a 105°C, posteriormente enfriado y pesado hasta obtener peso constante. No se debe sobrellenar el dedal, dejando un espacio de 1cm por lo menos entre la muestra y la cima del dedal. Pesar el dedal lleno y colocarle un tapón de algodón encima de la muestra para prevenir la pérdida de la muestra durante la extracción. Coloque el mismo en un aparato Soxhlet de 75 mL, adicionar 160–195 mL de etanol al 95% en balón previamente pesado. Calentar a reflujo durante 24 h, posteriormente se extrae el dedal y se lava con etanol al 95% secándolo al aire durante 2 días y en estufa 24 h a 40 °C. El lavado del líquido que queda en el Soxhlet se vierte en el balón, el cual se coloca en el Retroevaporador. Después de llevar a sequedad se coloca el balón en estufa por 24 h a 40±1 °C, pasado este tiempo, se coloca el balón en desecadora y se repite el procedimiento de secado-desecadora hasta lograr peso constante. El análisis de la determinación por extractivos se acepta cuando muestra y réplicas cumpla 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%. Los cálculos pertinentes son realizados haciendo uso de las ecuaciones siguientes:

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

$$\% \text{ extracto no volátiles} = \left(\frac{\text{Peso}_{\text{balón+extractos}} - \text{Peso}_{\text{balón}}}{ODW} \right) * 100$$

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

$\% \text{ extracto volátiles} = \% \text{ extracto totales} - \% \text{ extracto no volátiles}$

2.2.2.4 Determinación de Polisacáridos Fácilmente Hidrolizables (PFH)

Este protocolo es realizado según lo planteado por Leononzh, A. I; Obolenskaia, A. V.1998. "*Khimija Dreveysiny y polimerov. Lesnaja Promyshlemnost*". Editorial Leningrad.

Aparatos utensilios y medios de medición:

- Balanza analítica Sartorius BS 124 S. máx. 120 g Sartorius, con una precisión de 0,1mg.
- Desecadora de cristal con carbonato de calcio anhidro y silicagel.
- Estufa -incubadora digital AASET YLD-6000, alemana, con control térmico, de 0,1 °C de sensibilidad.
- Baño de María, marca Midingen /Sitz Freital, Alemana.
- Equipo de reflujo.
- Equipo de filtración a vacío con sus respectivas bombas, marca Telstar.
- Balón de boca esmerilada de 100mL.
- Agitador de vidrio.

Reactivos químicos

- Solución de ácido clorhídrico al 5%.

Procedimiento

Se pesan exactamente de 2,0000 g (muestra y réplica) de biomasa libre de extractos en balanza analítica. La cual se adiciona a un balón de boca esmerilada de 100 mL. Se añade la muestra de biomasa y 20ml de HCl (5%), se agita cuidadosamente con un agitador de vidrio esporádicamente por espacio de 30 minutos. Calentar a reflujo durante 3h en baño de María a 100°C. Trascorrido este tiempo se deja refrescar y se procede a filtrar al vacío. El residuo sólido o torta se seca por espacio de un día al aire y luego a 105°C durante 24 h. Pasado este tiempo se deja enfriar en la desecadora por espacio de 30 minutos y se pesa en balanza analítica. Los cálculos pertinentes son realizados haciendo uso de la ecuación siguiente:

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

2.2.2.5 Determinación de Polisacáridos Difícilmente Hidrolizables (PDH)

Este protocolo es realizado según Leononzh, A. I; Obolenskaia, A. V.1998."*Khimiya Dreveysiny y polimerov. Lesnaja Promyshlennost*". Editorial Leningrad. Este método se basa en el análisis gravimétrico por solubilización de la celulosa.

Aparatos utensilios y medios de medición:

- Balanza analítica Sartorius BS 124 S. máx. 120 g Sartorius, con una precisión de 0,1mg.
- Beaker de 100ml.
- Desecadora de cristal con carbonato de calcio anhidro y silicagel.
- Estufa -incubadora digital AASET YLD-6000, alemana, con control térmico, de 0,1 °C de sensibilidad.
- Baño de María, marca Midingen /Sitz Freital, Alemania.
- Equipo de reflujo.
- Equipo de filtración de vacío con sus respectivas bombas, marca Telstar.
- Balón esmerilado con fondo redondo de 500mL de capacidad

Reactivos químicos

- Disolución de ácido sulfúrico al 72%

Procedimiento

Se pesan con exactitud los residuos obtenidos en la determinación de PFH en balanza analítica (muestra y réplica) haciendo uso de un beaker de 100mL. Adicionamos 15mL de ácido sulfúrico y agitamos cada 20 min durante 2 h a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se transfieren cuantitativamente a un balón de boca esmerilada, se agrega a la muestra 135 mL de agua destilada y se calienta a reflujo durante 2 h en baño de María a 100°C. Transcurrido este tiempo se deja refrescar y se procede a filtrar a vacío. El residuo sólido se seca por espacio de un día al aire y luego a 105°C. Pasado este tiempo se deja enfriar en la desecadora por espacio de 30 minutos y se repite el procedimiento de secado hasta lograr peso constante. Los cálculos pertinentes son realizados haciendo uso de la ecuación siguiente:

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

2.2.2.6 Hidrólisis Ácida Analítica (HAA) y Lignina Klason

La determinación de la HAA es realizada siguiendo el protocolo: "*Standard Method for Determination of Carbohydrate in Biomass by HPLC*". Procedimiento analítico LAP002 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 extracción sólido-líquido para la determinación de los azúcares.

Aparatos utensilios y medios de medición:

- Balanza analítica Sartorius BS 124 S. máx. 120 g Sartorius, con una precisión de 0,1mg.
- Tubos de ensayo de 2 cm. de diámetro.
- Baño termostático, marca Midingen /Sitz Freital, Alemana.
- Frascos roscados de 250mL de capacidad.
- Estufa -incubadora digital AISET YLD-6000, alemana, con control térmico, de 0,1 °C de sensibilidad.
- Autoclave, marca Auto Koch, internacional S.p.A Italiana.

- Desecadora de cristal con carbonato de calcio anhidro y silicagel.
- Cromatógrafo HPLC.
- Equipo de filtración de vacío con sus respectivas bombas, marca Telstar.

Reactivos químicos

- Disolución de ácido sulfúrico al 72%

Procedimiento

Se pesan 0,5g de muestra libre de extractos en frascos de 250 mL y se añaden 5mL de ácido sulfúrico al 72 %. Se introduce el frasco en baño de agua a 30°C y se mantiene durante 1h agitación esporádica, asegurándose que la muestra quede embebida. A continuación se añade agua destilada a cada tubo para detener la reacción. Seguidamente se vierte el contenido en un frasco roscado. Se arrastra con agua destilada el residuo adherido al tubo de ensayo y le añade agua adicional hasta obtener un peso total de disolución de 148,67g (equivale a una concentración de ácido sulfúrico al 4%). Se tapa el frasco y se introduce en una autoclave a una hora a 1,02 atm de sobrepresión. Finalizada esta segunda etapa de hidrólisis se retira el recipiente de la autoclave, 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 contiene los productos de hidrólisis de los polisacáridos y el precipitado corresponde a la lignina Klason. Se filtra la suspensión, la lignina se seca a 105°C durante 24 horas. Pasado este tiempo se deja enfriar en la desecadora por espacio de 15 a 30 min y se pesa. El hidrolizado se inyecta al cromatógrafo para la determinación de glucosa, xilosa, arabinosa y ácido acético. A partir de la concentración de los azúcares se calcula el contenido de glucanos, xilanos, arabanos y grupos acetilo en la muestra.

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

2.2.2.7 Determinación de azúcares reductores totales

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

Aparatos utensilios y medios de medición:

- Tubos de ensayo
- Gradilla metálicas
- Micropipetas
- Baño de María, marca Midingen /Sitz Freital, Alemana
- Espectrofotómetro Hitachi – U 1100.

Reactivos químicos

- Acido 3,5 dinitrosalicílico(reactivo desarrollador de color)

Procedimiento

Teniendo en cuenta la dilución preparada 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, y se pone en Baño de María a 100°C por 10 minutos. A continuación se deja que la solución alcance la temperatura ambiente y se adiciona 1,2 mL de agua destilada para posteriormente leer en el espectrofotómetro a una longitud de ondas de 546 nm. Los valores obtenidos se ajustan por mínimos cuadrados y se obtiene la ecuación ajustada:

$$Y = 1.48x - 0.0061 \quad R^2 = 0.9912$$

2.2.2.8 Pretratamiento ácido diluido.

Esta etapa consiste en la elaboración de un diseño estadístico del pretratamiento ácido sulfúrico diluido de las cáscaras de jatropha a diferentes concentraciones de ácido y tiempo de pretratamiento.

- **Pretratamiento con ácido sulfúrico diluido**

Muestras de 10 g del material se suspendieron en 100 mL de solución de ácido sulfúrico utilizando para ello un frasco de vidrio de 250 mL. El frasco con la suspensión se colocó en la autoclave y se mantuvo a 121⁰C (1.02 atm) durante los tiempos seleccionados. Al terminar el pretratamiento los frascos son extraídos de la autoclave y enfriados hasta alcanzar temperatura ambiente, a continuación el material es filtrado a vacío para separar el prehidrolizado hemicelulósico de la celolignina. La fracción líquida es analizada con vistas a determinar la cantidad de azúcares reductores presente mediante el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico antes explicado.

- **Diseño Estadístico de los Experimentos**

Se realiza un diseño factorial completo 3³ (las corridas experimentales totalizan 27 de ellas), seleccionándose como variables independientes: la concentración de ácido sulfúrico, la relación sólido/líquido y el tiempo de pretratamiento (Tabla 2.). La variable respuesta utilizada es la conversión hidrolítica de xilanos, calculados según la

expresión:
$$CHX = \frac{c(ART)}{m} * 53,422$$

Donde:

c (ART): concentración de azúcares reductores totales (g/L)

m: masa de muestra utilizada (g), 53,422: constante que incluye la fracción de xilanos en la materia prima (0,1642), el volumen de pretratamiento (100mL) y el factor de conversión xilano/xilosa (1,14).

Los resultados experimentales son analizados haciendo uso del programa estadístico Statgraphics Plus 5.0 for Windows.

Tabla 2. Condiciones experimentales usadas en el diseño estadístico de la prehidrólisis ácida diluida de cáscaras de *J. curcas* a 121°C.

No.	C(H ₂ SO ₄), % (m/m)	C(sólidos), % (m/m)	Tiempo, (min)	No.	C(H ₂ SO ₄), % (m/m)	C(sólidos), % (m/m)	Tiempo, (min)
1	0	12	180	15	8	12	105
2	0	9	30	16	8	12	30
3	4	9	30	17	4	12	105
4	4	12	180	18	4	6	105
5	8	9	30	19	4	9	105
6	8	9	105	20	0	6	30
7	4	6	180	21	8	6	30
8	0	9	105	22	8	6	180
9	0	6	180	23	8	6	105
10	0	12	105	24	0	12	30
11	4	9	180	25	0	9	180
12	8	12	180	26	0	6	105
13	8	9	180	27	4	12	30
14	4	6	30				

- Factor de Severidad.

Para evaluar adecuadamente el efecto combinado de la temperatura y el tiempo de pretratamiento se utilizó el factor de severidad (Ro), el cual se calcula según la siguiente ecuación:

$$Ro = t \cdot \exp\left[\frac{T - 100}{14.75}\right]$$

Donde: t es el tiempo de reacción (min.), y T es la temperatura (°C). Este factor ha sido usado con propósitos similares en la industria petrolera (**Abatzoglou et al., 1992**) y de la pulpa y papel (**Chum et al., 1990; Montané et al., 1994a**). El factor de severidad proporciona una vía fácil de comparar experimentos llevados a cabo bajo diferentes condiciones de temperatura y tiempo y su efecto en el sustrato (**Parajó, JC., et. al. 1999**).

2.3 Conclusiones Parciales

- La determinación de Humedad se realiza según lo planteado por el: "*Standard Method for Determination of Total Solids in Biomass*". Procedimiento analítico LAP001.
- La determinación de Cenizas se realiza siguiendo el protocolo: "*Standard Method for Determination of Total Solids in Biomass*". Procedimiento analítico LAP005.
- La determinación de Extractivos se realiza según: "*Standard Method for Determination of Extractives in Biomass*". Procedimiento analítico LAP010.
- La determinación de Polisacáridos Fácilmente Hidrolizables es realizada según lo planteado por Leonozh, A. I; Obolenskaia, A. V.1998."*Khimija Dreveysiny y polimerov. Lesnaja Promyshlemnost*". Editorial Leningrad.
- La determinación de Polisacáridos Difícilmente Hidrolizables es realizada según Leonozh, A. I; Obolenskaia, A. V.1998."*Khimija Dreveysiny y polimerov. Lesnaja Promyshlemnost*". Editorial Leningrad.
- La determinación de la Hidrólisis Ácida Analítica y Lignina Klason es realizada siguiendo el protocolo: "*Standard Method for Determination of Carbohydrate in Biomass by HPLC*".
- La determinación de azúcares reductores totales se determinó utilizando el método de ácido 3,5 –dinitrosalicílico.
- Se realiza un diseño factorial completo 3^3 .

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. En la primera parte de este capítulo se analiza la composición física-química de la materia prima a utilizar. Posteriormente la fracción líquida es analizada con vistas a determinar la zona donde es posible encontrar la máxima conversión de polisacáridos a diferentes condiciones de pretratamiento para ello se hace uso de un diseño de superficie respuesta 3^3 . Durante el presente capítulo se muestran los resultados obtenidos y se comparan los mismos con los encontrados en la literatura especializada. Todos los análisis fueron realizados por duplicado (muestra y réplica). Para realizar el cálculo de los mismos se utiliza el software Statgraphics Plus 5.0.

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

3.1 Composición Química-física de la materia prima.

3.1.1 Caracterización Física de la materia prima.

La caracterización física de la materia prima es mostrada en la siguiente tabla:

Tabla 3 Caracterización física de la material prima.

Análisis realizados	Peso seco (g)
Peso del fruto	2.6898 (0.03)
Peso de la cáscara del fruto	0.8621 (0.03)
Peso de la nuez	0.6475 (0.08)
Peso de la cáscara de la nuez	0.2511 (0.05)
Peso de la almendra	0.3964 (0.03)

Como se puede observar en la tabla 3, la cáscara del fruto y la cáscara de la nuez representan el 41,4% del peso total del fruto, parte importante que debido a su contenido de carbohidratos constituye una materia prima promisoría para su bioconversión a productos de valor agregado, siendo actualmente desechada.

3.1.2 Composición química de la materia prima.

Para poder evaluar el potencial de los residuos de *J. curcas* como sustrato para su bioconversión a etanol u otros productos fermentativos es necesario investigar su composición química.

Tabla 4 Caracterización química de la material prima.

Análisis realizados	Contenido (% w/w Peso seco)
Humedad	10.39
Sólidos Totales	89.61
Cenizas	12.75
Extractivos	5.78
Glucanos (celulosa)	32.78
Xilanos (Hemicelulosas)	16.42
Lignina	25.08

Los resultados del análisis de caracterización muestran que los residuos sólidos del fruto de *J. curcas* están formados en casi un 50% de su masa por glucanos y xilanos, los cuales son polisacáridos que pueden ser aprovechables para la producción de etanol (Tabla 4). Ese contenido de polisacáridos es superior al 43,5% reportado previamente para otras muestras de residuos de fruto de *J. curcas* (Singh *et al.*, 2008). La diferencia se debe fundamentalmente al mayor contenido de xilanos encontrado en este trabajo (16,42 vs 9,7%), pues el contenido de glucanos fue aproximadamente similar en ambos estudios (32,78 vs 33,75%). Por otra parte, el contenido de xilanos detectado fue comparable al reportado para cascarillas de *J. curcas*, mientras que el de glucanos duplicó al contenido de celulosa en ese material (Martín *et al.*, 2010). Los contenidos de humedad, cenizas y extractivos concuerdan con los valores encontrados en la literatura. El contenido de lignina reportado en el presente trabajo es mayor que el valor reportado por Singh *et al.* (2008), pero es menor que el de las cascarillas (Martín *et al.*, 2010).

3.2 Prehidrólisis ácida diluida:

Los polisacáridos contenidos en el material requieren de su hidrólisis para obtener azúcares fermentables. La prehidrólisis ácida diluida permite hidrolizar las hemicelulosas y activa la celulosa para la hidrólisis enzimática, siendo un método de pretratamiento reconocido (**Martín et al., 2007; Kumar et al., 2009**). La xilosa producida por hidrólisis del xilano, principal componente de las hemicelulosas, puede ser utilizada para la producción de xilitol, furfural, ácido láctico y etanol, entre otros productos.

Los resultados obtenidos del diseño muestran que la concentración de xilosa en los hidrolizados varían considerablemente en dependencia de las condiciones de pretratamiento, lo que indica que las hemicelulosas fueron hidrolizadas en distinto grado. La mayor conversión hidrolítica tuvo lugar en el experimento 11, el cual fue realizado con una alta concentración de ácido sulfúrico (Tabla 5). Conversiones relativamente altas fueron obtenidas también en los experimentos 4, 12, 13 y 17. Se pudo apreciar que altas concentraciones de ácido y tiempos prolongados favorecen la hidrólisis. Es importante estar cauteloso al trabajar a altas temperaturas pues con ello pudieran producirse reacciones colaterales de degradación de los azúcares formados. Como resultado, disminuye la concentración de xilosa y glucosa y aumenta el contenido de furfural, hidroximetilfurfural y ácidos alifáticos, lo que afecta los bioprocesos posteriores, pues esos compuestos son inhibidores de la fermentación (**Taherzadeh et al., 2007**). Lo anterior también es válido para cuando se utiliza tiempos prolongados de pretratamiento al permanecer los azúcares monoméricos un tiempo excesivo en un medio ácido agresivo. La no presencia del catalizador ácido (autohidrólisis) desfavorece la conversión de xilanos (experimentos 1, 2, 8, 9, 10, 20, 24, 25 y 26), este aspecto pudiera resultar negativo si el proceso de bioconversión tiene como objetivo producir azúcares monoméricos, si la obtención de oligómeros es lo deseado, entonces la autohidrólisis sería la recomendada a ser usada.

Tabla 5 Conversión de los xilanos obtenida para diferentes condiciones de pretratamiento.

No.	C(H2SO4) % (m/m)	C(sólidos) % (m/m)	Tiempo, (min)	%XH	No.	C(H2SO4) % (m/m)	C(sólidos), % (m/m)	Tiempo, (min)	%XH
1	0	12	180	23.00	15	8	12	105	31.82
2	0	9	30	22.52	16	8	12	30	29.20
3	4	9	30	30.32	17	4	12	105	37.64
4	4	12	180	38.10	18	4	6	105	37.00
5	8	9	30	27.00	19	4	9	105	35.00
6	8	9	105	31.05	20	0	6	30	18.77
7	4	6	180	28.35	21	8	6	30	27.30
8	0	9	105	24.07	22	8	6	180	35.00
9	0	6	180	28.15	23	8	6	105	33.39
10	0	12	105	23.30	24	0	12	30	26.78
11	4	9	180	39.20	25	0	9	180	28.00
12	8	12	180	37.00	26	0	6	105	24.56
13	8	9	180	38.20	27	4	12	30	22.12
14	4	6	30	27.22					

El análisis estadístico del diseño revela que en las condiciones investigadas las variables: ácido, tiempo y la interacción de la variable ácido consigo misma (ác^2) resultaron estadísticamente significativas, lo cual es mostrado en el diagrama de Pareto (Figura 1). El efecto de las dos primeras variables (ácido y tiempo) sobre la variable respuesta, es positivo para un 95 % de confianza ($p\text{-value} < 0.05$), aumentando esta última al usar un ácido de mayor concentración durante un mayor tiempo de pretratamiento, no siendo positivo el efecto de la interacción ác^2 , la cual causa una disminución de la conversión al aumentar su valor. El modelo ajustado para este diseño experimental queda de la siguiente forma:

$$\%XH = 8,176 + 2,73 * \text{ác} - 0,085 * t + \dots + 0,28 * \text{ác}^2 + 4,3 * 10^{-3} * \text{ác} * t$$

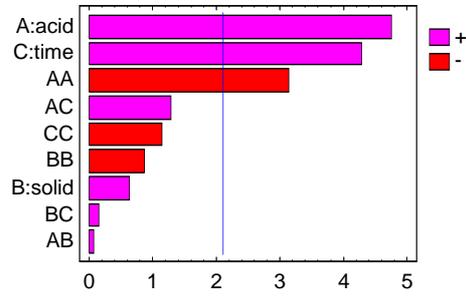


Figura 1 Diagrama de Pareto.

En la Figura 2 (Diagrama de superficie respuesta), se muestra que el valor óptimo (38,2% XH) se logra a los 180 min., para un 6,34 % de ácido y 9,85 % de sólidos.

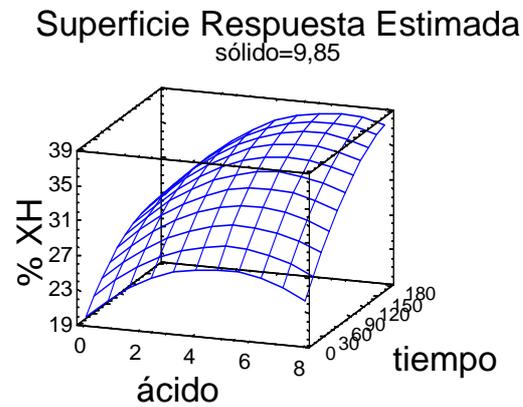


Figura 2 Diagrama de Superficie Respuesta.

Debe señalarse, no obstante, que las conversiones obtenidas en estos experimentos están en el rango de medias a bajas, lo que puede atribuirse a la baja temperatura empleada (121^oC). No obstante trabajar a bajas temperaturas evitaría degradaciones posteriores de los azúcares en el medio ácido con la no deseada formación de hidroximetilfurfural, furfural y ácidos carboxílicos en el medio.

Pese a lo antes mencionado, resulta pertinente evaluar el efecto de valores elevados de temperatura en la hidrólisis de las hemicelulosas, para lo cual utilizamos el factor de severidad.

Como se menciona anteriormente, es posible evaluar adecuadamente el efecto combinado de la temperatura y el tiempo de pretratamiento utilizando el factor de

severidad (Ro), calculado por la ecuación: $Ro = t \bullet \exp\left[\frac{T - 100}{14.75}\right]$.

Los resultados en la tabla 6, la cual se muestra a continuación:

Tabla 6 Condiciones experimentales usadas en la prehidrólisis ácida diluida de cáscaras de *J. curcas* a 180-200^oC.

No.	C(H ₂ SO ₄), %	Temperatura, ^o C	Tiempo, min	Log Ro
1	2.0	180	10	3.40
2	2.0	200	15	4.17
3	2.0	220	20	4.90
4	4.0	180	10	3.40
5	4.0	200	15	4.17
6	4.0	220	20	4.90

Para ambas concentraciones de ácido sulfúrico las mayores concentraciones de xilosa se obtuvieron en los experimentos realizados a 180^oC y un tiempo de reacción de 10 min, los cuales tienen un coeficiente de severidad de 3,40 (Fig. 3). El valor máximo (11.6 g/L) se alcanzó en la prehidrólisis catalizada por una concentración de ácido sulfúrico de 4% (Fig. 3-B). Esa concentración de xilosa equivale a una conversión hidrolítica de las hemicelulosas de un 62%. Sin embargo, la fracción de las hemicelulosas que

realmente se hidrolizó fue muy superior a ese valor, lo que se puede inferir de la alta concentración de furfural (4,4 g/L) obtenida en esas condiciones. El furfural se forma por degradación de las pentosas cuando son expuestos a altas temperaturas en presencia de ácidos (Larsson *et al.*, 1999).

A una concentración de ácido sulfúrico de 2% el efecto de la severidad fue menos marcado. A un valor de $\log R_o = 3,40$ la concentración de furfural fue de apenas 1,6 g/L (Fig. 3-A). Sin embargo, la hidrólisis de las hemicelulosas fue menos completa que concentración de ácido sulfúrico del 4%, lo que se evidencia del relativamente bajo nivel de xilosa en el prehidrolizado.

Con el aumento de la severidad se observó una disminución de la concentración de xilosa como consecuencia de su degradación. La disminución fue más brusca cuando se trabajó con 4% de ácido sulfúrico (Fig. 3-B), lo que es una consecuencia directa del aumento de la degradación de los azúcares a mayores concentraciones de ácido.

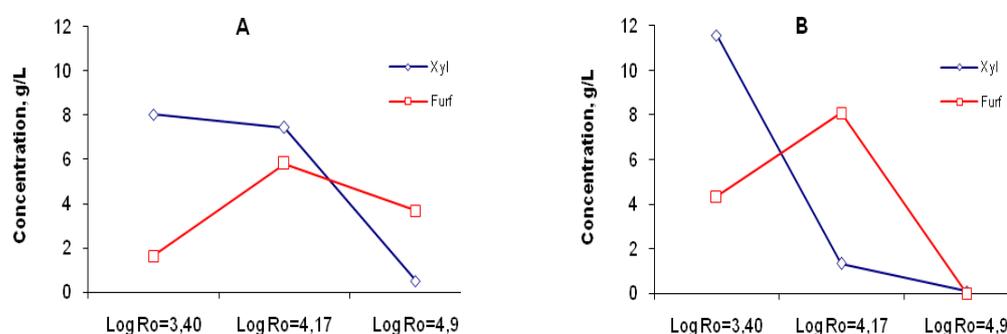


Figura 3. Efecto del factor de severidad sobre la formación de xilosa y furfural.
Concentración de H₂SO₄: A, 2%; B, 4%.

Los valores más altos de $\log R_o$ (4.9) no resultaron apropiados para la hidrólisis de las hemicelulosas, pues prácticamente ocurrió la degradación total de la xilosa. Debe destacarse que en esas condiciones ocurrió también la degradación del furfural, algo que coincide con resultados obtenidos previamente por este grupo en pretratamiento de bagazo de caña de azúcar por explosión con vapor asistida por ácido sulfúrico (Martín *et al.*, 2002). La degradación de furfural fue mayor cuando la concentración de ácido sulfúrico fue 4% (Fig. 3.-B).

3.3 Conclusiones Parciales:

1. La composición química de las cáscaras del fruto de la *Jatropha curcas* L. justifica su posible uso como materia prima para la producción de etanol.
2. El tiempo de pretratamiento y la concentración de ácido son variables significativas ($p\text{-value} < 0.05$), influyendo significativamente en la variable respuesta.
3. La interacción de la variable ácido consigo misma resulta ser también significativa, e influye negativamente en la variable respuesta.
4. El valor óptimo (38,2 % XH) se logra a los 180 min, usando 6% de sólidos suspendidos en ácido sulfúrico al 6.34%.
5. Altos valores de factor de severidad se corresponden con las menores concentraciones de xilosa y furfural.

Conclusiones Generales

1. Los residuos de la cáscara del fruto de la *Jatropha curcas* por tener un alto contenido de carbohidratos constituyen una materia prima con gran potencial para producir bioetanol.
2. El tiempo de pretratamiento y la concentración de ácido son variables significativas ($p\text{-value} < 0.05$), influyendo significativamente en la variable respuesta.
3. Los resultados obtenidos del diseño muestran que la concentración de xilosa en los hidrolizados varían considerablemente en dependencia de las condiciones de pretratamiento.
4. El análisis estadístico del diseño revela que en las condiciones investigadas las variables: ácido, tiempo y la interacción de la variable ácido consigo misma (ác^2) resultaron estadísticamente significativas.
5. Los altos valores de factor de severidad obtenidos se corresponden con las menores concentraciones de xilosa y furfural.

Recomendaciones

- Se recomienda realizar otros pretratamientos a la cáscara de la *Jatropha curcas*, para comparar la efectividad de estos con el realizado en el trabajo.
- Profundizar el estudio de las diferentes etapas del proceso tecnológico para la obtención del Bioetanol a través de la cáscara de la *Jatropha curcas*.
- Estudiar el pretratamiento ácido diluido de la cáscara de la *Jatropha curcas* a escalas mayores para comparar los resultados obtenidos en laboratorio.

Bibliografía

1. Abatzoglou N, Koeberle PG, Chornet E, Overend RP, Koukios EG (1990) An application to medium consistency suspensions of hardwoods using a plug flow reactor. *Can. J. Chem. Eng.* 68: 627–638
2. 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.
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. 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.
5. Bashir, S. and Lee, S. (1994) Fuel ethanol production from agricultural, lignocellulosic feedstocks. A review. *Fuel Science Technol. Int'l.*12, 1427-1473.
6. Berg, C. (1998) Towards a world ethanol market? *F.O.Licht Commodity Analysis*, Germany.
7. Bharadwaj A., et al. (2007) "El ámbito de las opciones tecnológicas para la seguridad de petróleo de la India": Parte II - Carbón para los líquidos y el bio-diesel," *Current Science*. 92, 9, 10.
8. Bioenergy Update, 2003 Vol. 5, No. 19. Bajado de Internet en Noviembre 2000.[Disponible en: <http://www.bioenergyupdate.com/Newsletter/Security/NL1199/NL1199.ht>]
9. 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.

10. Brizuela, M.A., González, P., La Serna, G., Santiesteben, C. (2000) Enzima celulosa. En *Manual de los derivados de la caña de azúcar* (Ed. L.O. Gálvez). Tercera Edición. La Habana, Cuba.
11. Bueno, 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.
12. Butista J., J. Parrado, y Machado, A. (1990) "*Composición y fraccionamiento de la harina de girasol: uso de la fracción lignocelulósica como sustrato de fermentación en estado sólido*", de residuos biológicos. 32:225-233.
13. Cordovés, M. (2001) Consideraciones ambientales sobre el uso del etanol carburante. *Memorias del III Taller Internacional de Producción de Alcohol*. Varadero, Cuba. ISBN 959-160095X.
14. Costales, R., Namer, I. (2000) Residuos de cosecha procesados. En *Manual de los derivados de la caña de azúcar* (Ed. L.O. Gálvez). Tercera Edición. La Habana, Cuba.
15. Chang, M.M., Chou, T.Y.C. and Tsao, G.T. (1981) structure, pretreatment and hydrolysis of cellulose. *Adv. Biochem.Eng.* 14, 15-43
16. Chum HL, Johnson DK, Black SK, Overend RP (1990) Pretreatment-catalyst effects and the combined severity parameter. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 24/25, 1-14.
17. de Armas, C. (2000) Energía en la producción de azúcar de caña, sus requerimientos y reservas. En *Manual de los derivados de la caña de azúcar* (Ed. L.O. Gálvez). Tercera Edición. La Habana, Cuba.
18. Dehgan B., L. y G. Webster. (1979). "*Morfología y relaciones infrageneric del género*", University of California Press. ISBN 05-200-95855.
19. Dekker R.F.H., Wallis, A.F.A. (1983) Enzymatic saccharification of sugarcane bagasse pretreated by autohydrolysis steam explosion. *Biotechnol. Bioeng.* 25, 3027-3048.

20. 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.
21. 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.
22. Gálvez L.O. (2000) La producción diversificada de la agroindustria de la caña de azúcar. En *Manual de los derivados de la caña de azúcar* (Ed. L.O. Gálvez). Tercera Edición. La Habana, Cuba. pp. 3-17.
23. Glasser W. G., Wright, R. S. (1998) Steam-assisted biomass fractionation. II. Fractionation behavior of various biomass resources. *Biomass and Bioenergy*, 14, 219-235.
24. Grassi, G. (1991). Biomass for Energy, Industry, Rural Development and environment. Informe Interno CEE. Abril 1991.18 pp.
25. Grohmann, K., Cameron, R.G., Buslig, B.S. (1995) Fermentation of sugars in Orange peel Hydrolysates to Ethanol by Recombinant Escherichia coli K011. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 51. 423-435.
26. Heller, J. (1996). Piñoncillo. *Jatropha curcas* L. Promoción de la conservación y la utilización de cultivos infrautilizados y olvidadas. Instituto de Genética Vegetal y Plantas de Investigación, Gatersleben / Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia. 44 pp.
27. Hernández, Monzón Aldo. 1995. "Análisis Químico Cuantitativo". Editorial Félix Várela. La Habana. Tomo I. p. 356.
28. Holm Christensen, B. (2003) Integrated utilisation of biomass for the production of ethanol, energy and animal feed. IV Taller Internacional de Producción de Alcohol. Varadero, Cuba.
29. 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.
30. ICIDCA. (1987) La industria de los derivados de la caña de azúcar. Editorial Científico-Técnica. La Habana.

31. 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. Jones, N., y Miller J.H. (1992). "Jatropha curcas: una especie multipropósito para sitios problemáticos", la serie de Recursos de Tierras (Banco Mundial)
32. Kelsall, D.R. (1995) The management of fermentation in the production of alcohol. En *The Alcohol Textbook* (Eds. Lyons, T., Kelsall, D., Murtagh, J.). Nottingham University Press, pp. 89-101.
33. Khol'kin, Y. I., Makarov, V.L., Vyglazov, V.V., Elkin, V.A., Mettee, H.D. (1999) Technological and ecological aspects of ethanol production from wood. *Proc. Biomass Conf. Am.*, 4th. (Overend, R.P., Chornet, E., eds.) 1, 881-885.
34. 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.
35. Larsson, S., Palmqvist, E., Hahn-Hägerdal, B., Tengborg, C., Stenberg, K., Zacchi, G., Nilvebrant, N.-O. (1999) The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood. *Enzyme and Microbial Technology*, 24, 151-159
36. Lee, J. (1997) Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *J. biotechnol.* 56, 1-24.
37. LORRY, R. [*Concepts and Applications of Inferential Statistics*](#). New York: Vassar Collage Publications, 2004.
38. Lynd, L.R. (1990) Large-scale fuel ethanol from lignocellulosic. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 24/25, 695-719.
39. 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.
40. 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.

41. Makkar, el HPS, Becker, K y B. Schmook (2001). *Comestibles de procedencias de Jatropha curcas Quintna Roo Estado de México y el efecto de la torrefacción en factores antinutricionales y tóxicos en las semillas para el Instituto de Producción Animal en los trópicos y subtrópicos, de la Universidad de Hohenheim, D-70593 Stuttgart, Alemania*
42. 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.)
43. Martín, C. (2002) Tesis Doctoral, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química Mecánica, Universidad de Matanzas, Matanzas, Cuba.
44. Martín, C., Moure, A., Martín, G., Carrillo, E., Domínguez, H., Parajó, J.C. (2010) Fractional characterisation of *Jatropha curcas*, *Azadirachta indica*, *Moringa oleífera*, *Aleurites trisperma*, *Ricinus comuniza* and *Aleurites moluccana* seeds-potential feedstocks for biodiesel production in Cuba. *Biomass and Bioenergy*. In press.
45. Martín, C., Alriksson, B., Nilvebrant, N.-O., Sjöde, A., Jönsson, L.J. (2007) Dilute-sulfuric acid pretreatment of agricultural and agro-industrial residues for ethanol production. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 136/140, 339-352.
46. Martín, C., Galbe, M., Nilvebrant, N.-O., Jönsson, L.J. (2002) *Comparison of the fermentability of enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse pretreated by steam explosion using different impregnating agents*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 98/100, 699-716.
47. Martínez-Herrera J., et al. (2006). "*Composición química, tóxico / antimetabólico mandantes, y los efectos de distintos tratamientos, sobre sus niveles, de cuatro procedencias de Jatropha curcas L. de México*", *Food Chemistry*. 96:80-89.
48. Miller, G.L., 1959 Use of Dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31, 420-428.

49. Mc Ginnis, G.D., Wilson, W.W., Prince, S.E., Chen, Ch.Ch. (1983b). Conversion of biomass into chemicals by high-temperature wet oxidation. *Ind Eng Chem Prod Res Dev.* 22, 633-636.
50. 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.
51. Openshaw, K. (2000). "Un examen de *Jatropha curcas*: un aceite vegetal promesa incumplida", la biomasa y bioenergía. 19, 1-15.
52. Parajó, J., Garrote, G., Dominguez, H., (1999) Hydrothermal processing of lignocellulosic materials. *Holz als Roh- und Werkstoff* 57, 191–202.
53. Playne, M. J. (1984) Increased digestibility of bagasse by pretreatment with alkalis and steam explosion. *Biotechnol. Bioeng.* 26, 426-433.
54. Ramesh, D. et al. "Las tecnologías de energías renovables para la generación de energía a partir de *Jatropha curcas*."
55. Saucedo- Luna, J, Castro- Montoya, A. J., Rico, J. L. And Campos-García, J., 2008a, Optimization of acid hydrolysis of bagasse from agave tequilana weber. En revisión por Biothecnology Resource.
56. Shleser, R, 1994, ETHANOL PRODUCTION IN HAWAII, Processes, Feedstocks, and Current Economic Feasibility of Fuel Grade Ethanol Production in Hawaii, State of Hawaii Department of Business, Economic Development & Tourism.
57. Sing, R,N., D.K.,Srivastava, N.,S., L., Narra, M (2008) SEPRERI experience on holistic approach to utilize all parts of *Jatropha curcas* fruit for energy. *Renewable Energy* 33, 1868- 1873.
58. Schurz, J. (1997) How to make native lignocellulosic materials accessible to chemical and microbial attack. *Proc. Bioconversion.* Symp.IIT Delphi, 37-58.
59. Singh G., Seetharaman PM, y Chockshi S.N. (1996) "*Jatropha curcas L.: un prometedor no comestibles de semillas oleaginosas,*" Indian Institute of Management Ahmedabad, la investigación y el Departamento de publicación. número de serie: 1124.

60. 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.
61. S. Ramachandran, Singh SK, Larroche C., Soccol CR, Pandey y A. (2007). "Tortas de aceite y sus aplicaciones biotecnológicas, una revisión", Bioresource Technology. 98:2000-2009.
62. Staubmann, R. et al. (1999). "*Un complejo de 5-hidroxipirrolidin-2-y una pirimidina-2 ,4-diona aisladas a partir de *Jatropha curcas*,*" Phytochemistry 50,337±338.
63. Taherzadeh, MM., Karimi 2007 b. Enzyme –based hydrolysis processes for ethanol from lignocelulosic materials: a review. BioResources, 2, 707-738.
64. Taherzadeh, M.J., Karimi, K. (2007). Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocelulosic materials: review. *BioResources* 2(3), 472-499.
65. Tengborg, C. 2000. Ethanol from biomass: optimisation of pretreatment and hydrolysis. PhD Thesis. Department of Chemical Engineering I, Lund University, Sweden.
66. Turmuzi M., et al. (2004). "La producción de carbón activado del depósito de CO₂ por la activación," de carbono. 42:453-455.
67. Varshney, A. K. and Patel, D. P. (1988) Biomass delignification – Organosolv approach. *J. Sci. Ind. Research.* 47, 315-319.
68. Wyman, C. E. (1995) Ethanol production from lignocelulosic biomass. *Solar Eng.* 1, 359- 366.

Anexos

Anexo 1

TABLA 1: Rendimientos de alcohol de algunos cultivos.

CULTIVOS	Rendimiento del alcohol (L/t)	Rendimiento del Cultivo (t/ha)	Productividad de alcohol (L/ha)
Caña	70	70	4900
Yuca	180	20	3600
Sorgo azucarado	86	35.8	3010
Trigo	340	1.5	510
Trigo ***	350	3	1050
Maíz	370	6	2220
Cebada	250	2.5	625
Papas	110	25	2750
Arroz	430	2.5	1075
Uvas	130	25	3250
Boniato	125	15	1875

Trigo ***, trigo de alto rendimiento

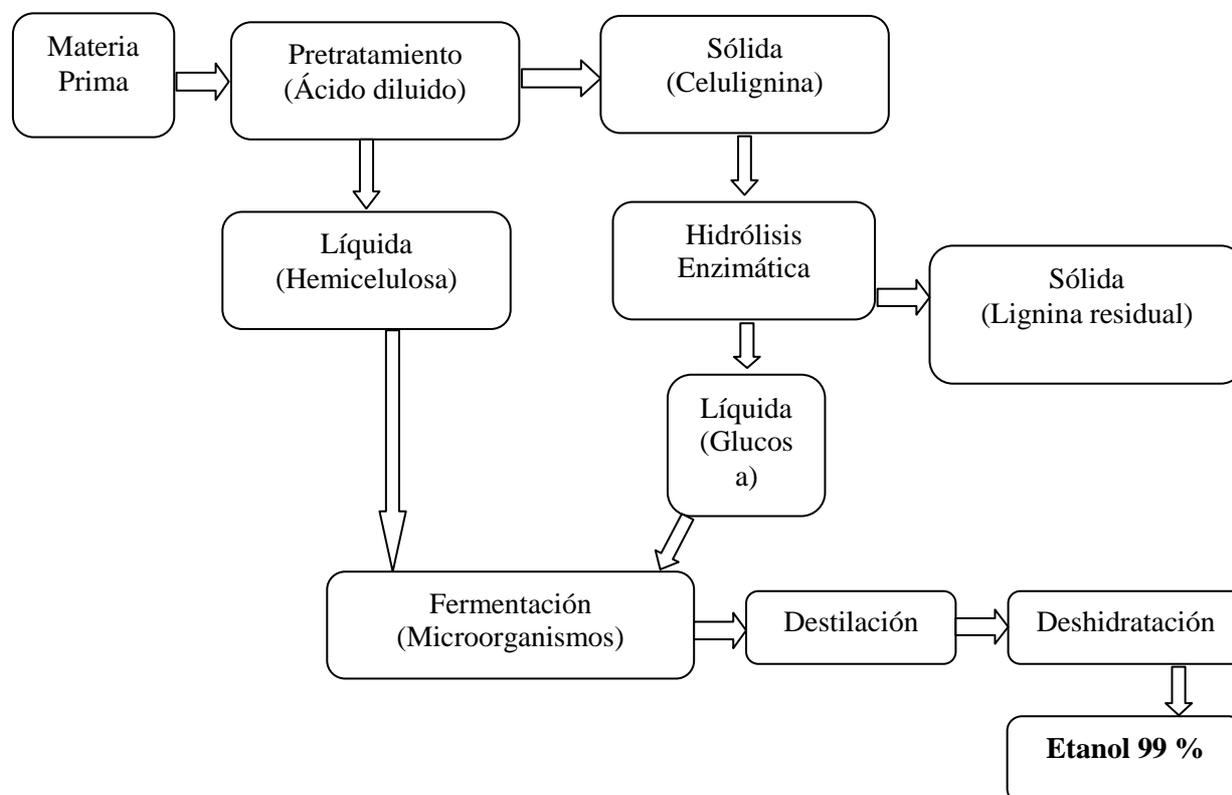


FIGURA 1. Esquema simplificado del proceso de obtención de etanol a partir del residuo de cáscara de *Jatropha Curcas*.

Anexo 2



FIGURA 1. Árbol *Jatropha curcas*.

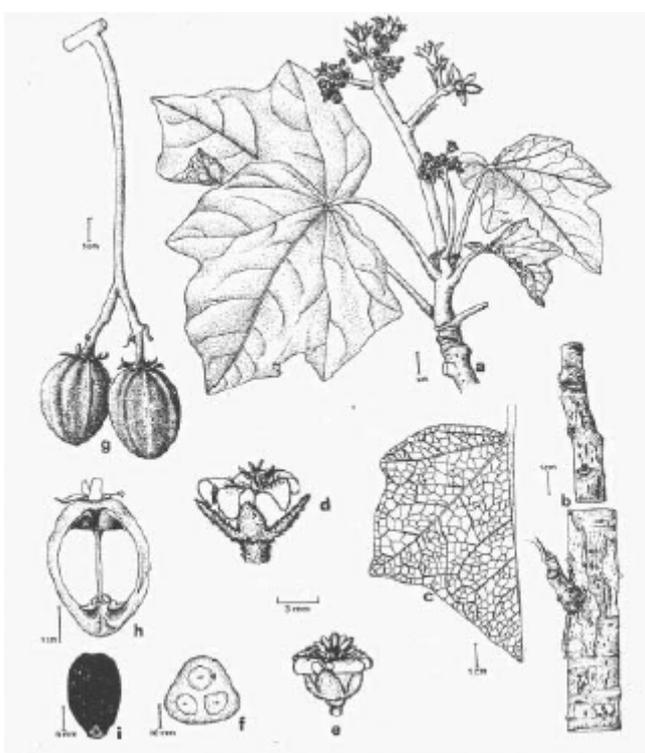


Figura 2 Partes importantes de *J.curcas*: a) ramas florecidas; b) corteza; c) venas de la hoja; d) flores con pistilos; e) flor con estambres; f) corte transversal de un fruto inmaduro; g) frutos; h) corte longitudinal de un fruto; i) semilla.

Anexo 3

Usos de la *Jatropha curcas*

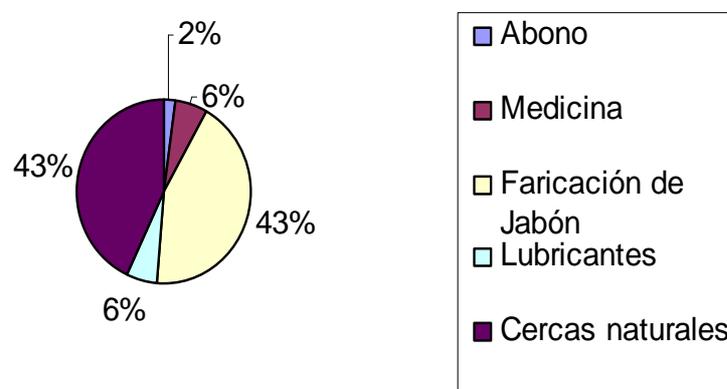


Figura 1 Usos de la *J. curcas*