

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**

“ Cinética del pretratamiento ácido diluido
de la cáscara residual del fruto del árbol
Moringa oleifera para el cálculo de los
parámetros de un reactor”.

Autor: Michael Yusniel López Infante

Tutores: MSc. Ariel García Cruz
Dr.C. Mario Yll Lavín

Matanzas, Junio, 2009.

Página de Aceptación

Nota de aceptación.

NOMBRE Y APELLIDOS.

FIRMA.

NOMBRE Y APELLIDOS.

FIRMA.

NOMBRE Y APELLIDOS.

FIRMA.

Declaración de Autoridad.

Declaro ser el único autor de este trabajo de diploma que lleva como título: “**Cinética del pretratamiento ácido diluido de la cáscara residual del fruto del árbol *Moringa oleifera* para el cálculo de los parámetros de un reactor**”. y autorizo a la Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos a hacer uso del mismo con la finalidad que estime conveniente.

Firma

Pensamiento

“El mejor pueblo es aquel que tiene educados a sus hijos en la instrucción de sus pensamientos y en la dirección de sus sentimientos”.

José Martí

Dedicatoria

Dedico este trabajo de Diploma a tres personas muy importante en mi vida, a mi madre Enedina Infante Zaldívar, a mi padre Ramiro López Vega y a mi segundo padre José A. Rovirosa Florido.

Agradecimientos

- A mis tutores, MSc. Ariel García Cruz y Dr.C. Mario Yll Lavín, por su paciencia, dedicación y su infinita ayuda en la elaboración de este trabajo de Diploma.
- A mi madre y a mi padre que a pesar de las dificultades que pasaron en mi niñez con mis problemas de salud, nunca me impidió nada que tuviera que ver con la superación en mi vida profesional.
- A mi segundo papá, porque es así como lo veo ya que es uno de las personas con que he podido contar en toda mi vida como estudiante además siempre quiere que dé lo mejor de mí en todo lo que realice.
- Quisiera agradecerles a todas aquellas personas que de una forma u otra me apoyaran a lo largo de mi carrera como estudiante.
- A todos mis compañeros de aula, por tener que soportarme en estos años de carrera. y en especial a Noraylis, Yunisaira, Yurien, Reinier (El pichi) y Zadiel que gracias a ellos pude superar mi segundo año cuando fui operado de la vista.
- A Darialys y Horacio, por la ayuda que me ofrecieron en la realización de algunos experimentos.
- A Yeni. que a pesar de conocerla hace muy poco tiempo me ayudó siempre en lo que pudo.
- Al profesor Ingeniero José Luis Laucerica por enseñarme todos sus conocimientos tanto en química orgánica como de técnico que ojalá que algún día la Universidad cuente con técnicos tan dedicados como lo fue él.
- A Carlos Sánchez que ante todo es un gran amigo.
- A Carlos Martín, Teresa Fernández, Dani Rodríguez por brindarme su ayuda y experiencia siempre que la necesite.
- A Silvia que a pesar de todo es tremenda 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

La almendra del interior del fruto del árbol de la *Moringa oleifera*, es rica en aceite, el cual puede ser convertido en biodiesel por transesterificación. Después de extraer las almendras, queda un residual lignocelulósico que posee un alto contenido en carbohidratos (glucanos: 21,3 y xilanos: 17,23), los cuales podrían ser convertidos a bioetanol. Es conocido que los materiales lignocelulósicos deben ser sometidos a pretratamiento para lo cual la hidrólisis ácida diluida es uno de los métodos más utilizados, a pesar de producirse durante el proceso productos inhibidores de la fermentación. En el presente trabajo es estudiada la cinética del pretratamiento a dos concentraciones de ácido sulfúrico (2-4 %), durante un tiempo de pretratamiento de (0 a 240 min.), relación líquido/sólido (10:1) y a una temperatura de 121 °C en autoclave. La concentración máxima de polisacáridos hidrolizados (0,2380 gPH/g muestra), el tiempo correspondiente a la concentración máxima igual a 65.49 min y una concentración de ácido de 4 % reportan conversiones tan altas como un 90 % (teniendo en cuenta: 0,2889 gPTotales/ g de muestra). El estudio cinético permitió calcular las constantes de velocidad $k_1=0,0204 \text{ min}^{-1}$ y $k_2=0,00134 \text{ min}^{-1}$, parámetros utilizados en la propuesta del reactor de pretratamiento.

Abstract

Kernels inside the fruit of the tree *Moringa oleifera*, is rich in oil, which can be converted into biodiesel by transesterification. After removing the kernel, a residual lignocellulosic material is remained that has a high content of carbohydrates (glucans: 21.3 and xylans: 17.23), which could be converted to bioethanol. It is known that lignocellulosic materials should be subjected to pretreatment for which the dilute acid hydrolysis is one of the most widely used method, although some by-products produced during the process are inhibitors of fermentation step. In the present work is studied the kinetics of pre-treatment at two sulphuric acid concentrations (2-4%), from 0 to 240 min, liquid/solid of 10:1 and temperature of 121 °C. All of these experiments were made in autoclave. The maximum concentration of polysaccharide hydrolysed (0.2380 gPH / g sample), the time corresponding to the maximum concentration equal to 65.49 min and an acid concentration of 4% reported conversions as high as 90 % (taking into account: 0.2889 gPTotales / g sample). The kinetic study allows estimate the rate constants $k_1=0.0204 \text{ min}^{-1}$ and $k_2 = 0.00134 \text{ min}^{-1}$, these are the parameters used in the calculation of the pretreatment reactor.

Índice

<u>Contenido</u>	<u>Página</u>
Introducción	1
Capítulo 1. Análisis Bibliográfico	4
1.1. ¿Qué se conoce como biomasa?	4
1.1.1 Materiales lignocelulósicos.	5
1.2 El bioetanol.	5
1.2.1 El bioetanol como combustible automotor.	6
1.2.2 Ventajas ecológicas del bioetanol.	6
1.2.3 Ventajas económicas del bioetanol.	7
1.2.4 Producción de etanol.	7
1.2.5 Materias primas para la producción de etanol.	8
1.3 Producción de bioetanol a partir de biomasa.	9
1.4 Pretratamientos utilizados en los materiales lignocelulósicos.	9
1.4.1 Pretratamiento ácido diluido.	10
1.4.2 Formación de compuestos no deseados en el pretratamiento ácido diluido.	10
1.5 Estado actual en el mundo sobre la producción de bioetanol celulósico a partir de biomasa.	11
1.6 La biomasa como materia prima y fuente renovable de energía.	12
1.7 Características del árbol <i>Moringa oleífera</i> .	13
1.7.1 Hábitat del árbol <i>Moringa oleífera</i> .	13
1.7.2 Clima donde se cultiva <i>Moringa oleífera</i> .	14
1.7.3 Condiciones y características del cultivo y crecimiento.	14
1.8 Usos de la planta <i>Moringa oleífera</i> .	15
1.9 Estudio cinético del pretratamiento ácido sulfúrico diluido.	16
1.9.1 Modelos de formación de xilosa.	18
1.10 Aspectos generales acerca de los reactores utilizados en el pretratamiento.	19
1.11 Conclusiones parciales.	20

Capítulo 2. Materiales y Métodos.	21
2.1 Muestreo, preparación y conservación de la materia prima.	21
2.2 Caracterización físico-química de la materia prima	22
2.2.1 Caracterización física de la materia prima.	22
2.2.2 Composición química de la materia prima.	22
2.2.2.1 Humedad.	22
2.2.2.2 Cenizas.	23
2.2.2.3 Extractivos.	23
2.2.2.4 Polisacáridos Fácilmente Hidrolizables (PFH).	24
2.2.2.5 Polisacáridos Difícilmente Hidrolizables (PDH).	25
2.2.2.6 Lignina Klason.	25
2.2.3 Pretratamiento con ácido sulfúrico diluido.	26
2.2.4 Determinación de los azúcares reductores totales (ART)	26
2.2.5 Cinética del pretratamiento ácido diluido.	27
2.2.6 Cálculo de las constantes de velocidad.	28
2.2.7 Metodología para la propuesta del reactor.	28
Capítulo 3. Resultados y Discusión.	29
3.1 Composición de la materia prima.	29
3.2 Composición física del fruto del árbol de <i>M. oleifera</i> .	29
3.3 Composición química de la cáscara de <i>M. oleifera</i>	30
3.3.1 Humedad.	30
3.3.2 Cenizas.	31
3.3.3 Extractivos.	31
3.3.4 Polisacáridos Fácilmente Hidrolizables (PFH).	31
3.3.5 Polisacáridos Difícilmente Hidrolizables (PDH).	31
3.3.6 Hidrólisis ácida analítica y Lignina Klason-	32
3.4 Cinética del pretratamiento ácido diluido.	33
3.5 Propuesta del reactor discontinuo para el pretratamiento.	37
3.6 Conclusiones Parciales.	39
Conclusiones Generales	40
Recomendaciones	41

Bibliografía	42
Anexos	50

Introducción

El procesamiento de alimentos es una industria que genera grandes cantidades de residuales. Anteriormente, esos residuales eran generalmente vertidos en el campo o usados directamente como alimento animal o como fertilizante sin que mediase tratamiento alguno. La sociedad moderna se caracteriza por los costos crecientes de los productos, la decreciente disponibilidad de materias primas y la preocupación por la contaminación ambiental. Por eso se incrementa más el interés por el reciclaje, recuperación y mejoramiento de los residuales (**Laufenberg et al., 2003**). La contaminación es la acumulación de sustancias nocivas en el agua, aire y tierra, que traen como consecuencia la ruptura del equilibrio en la naturaleza e impide el bienestar de la sociedad (**Månsson et al., 1998**).

Uno de los problemas actuales relacionados con el uso de los combustibles de origen fósil es la gran cantidad de dióxido de carbono (CO₂) liberado en la combustión, la cual contribuye al llamado efecto invernadero y al calentamiento global de la Tierra (**Yang et al., 1997**).

Durante los últimos años, debido a razones económicas y medioambientales han sido introducido nuevos métodos y políticas de manipulación y tratamiento de residuales del procesamiento de alimentos encaminados a la recuperación, bioconversión y utilización de los constituyentes valiosos que los mismos poseen, pues esos residuales, además de los aspectos dañinos y contaminantes, pueden tener potencial para ser usados como materias primas para la elaboración de productos de alto valor agregado (**Laufenberg et al., 2003**).

El uso del etanol como combustible automotor puede ayudar a disminuir la emisión del CO₂ a la atmósfera y a su vez utilizado en el proceso de fotosíntesis en las plantas del cual es obtenido. Esto induce a un ciclo donde se reduce la acumulación neta de CO₂ y por lo tanto se atenúa el efecto invernadero (**Galbe, 1994; Macedo, 1998**). Asimismo el etanol o bioetanol como también es conocido, puede ser una alternativa para sustituir las importaciones de combustibles, en la mayoría de países no petroleros (**Wheals et al., 1999, Basso y Amorim, 2001; Martin, 2002**). Habitualmente el etanol se ha producido por fermentación de materias primas azucaradas y amiláceas. No obstante, esas materias primas constituyen importantes fuentes de alimentos y su disponibilidad no es suficiente para cubrir la demanda potencial de etanol combustible (**Claassen et al., 1999; Pimentel, 2001**). Para producir etanol a bajo costo será posible solamente si se emplean materiales lignocelulósicos, también conocidos como recursos de biomasa, cuya

abundancia y bajo costo son reconocidos (**Wheals et al., 1999; Di Pardo, 2000; Tengborg, 2000**). Los recursos de biomasa a ser considerados son fundamentalmente desechos agrícolas, agroindustriales y forestales, por lo que su transformación en etanol sería ventajoso, pues se produciría un combustible beneficioso al medio ambiente y se eliminarían residuos que de otra manera constituyen problemas de disposición (**Grohman et al., 1994; Grohman et al., 1998**).

Toda tecnología para la producción de etanol a partir de biomasa debe contener una etapa de hidrólisis de los polisacáridos contenidos en su estructura, de manera que se logren azúcares simples que puedan ser convertidos en etanol por fermentación (**Galbe, 1994; Cuzens y Miller, 1996**). Esta hidrólisis puede ser efectuada por ácidos o por enzimas (**Tengborg, 2000**). La hidrólisis enzimática no degrada los azúcares pero como desventaja tiene, su lentitud y el alto costo de las enzimas, mientras que la hidrólisis ácida diluida posee un bajo consumo de ácido, aunque provoca corrosión debido a las altas temperaturas (**Nguyen, 1993; Di Pardo, 2000, Martín, 2002**). Existen diferentes tipos de pretratamiento, entre los cuales se encuentran métodos químicos, físicos, biológicos o combinaciones de estos (**Bjerre et al., 1996a**).

Durante el proceso de las frutas oleaginosas para la producción de aceite se genera gran cantidad de residuos de cáscaras. Generalmente estos residuos son vertidos, causando severos problemas de contaminación ambiental. Sin embargo, el alto contenido de carbohidratos en estos residuales los hace aptos para ser transformados en combustibles líquidos y otros productos.

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

*No se encuentran tabulados los valores de las constantes de velocidad k_1 y k_2 del pretratamiento ácido diluido en cáscaras de fruto de *Moringa oleífera* con vista a ser utilizado para la propuesta de un reactor.*

Como vía para solucionar este problema se puede formular la siguiente **hipótesis**.

1. ¿Si se hiciera el estudio cinético a diferentes concentraciones de ácido sulfúrico y tiempo de hidrólisis, sería posible obtener los valores de las constantes k_1 y k_2 y de esta forma realizar la propuesta del reactor?

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

Calcular los parámetros cinéticos necesarios haciendo uso de los valores de conversión de polisacáridos después del pretratamiento ácido diluido a diferentes tiempos.

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

- 1. Caracterización físico-química de los residuos de cáscara de *M. oleifera* que se utiliza como materia prima.*
- 2. Pretratamiento ácido diluido de los residuos de cáscara de *M. oleifera* en autoclave a 121 °C a diferentes tiempos y concentraciones de ácidos.*
- 3. Determinación analítica de los pre-hidrolizados.*
- 4. Realizar los cálculos y gráficos adecuados con vista a proponer un reactor de pretratamiento.*

Capítulo 1. Análisis Bibliográfico.

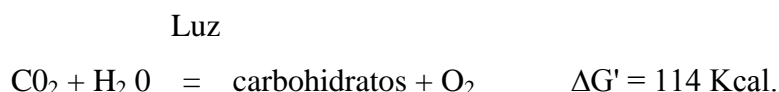
En el siguiente capítulo se realiza un análisis de la información existente relacionada con el tema del trabajo de Diploma. El análisis bibliográfico está dirigido hacia la revisión del estado actual de la producción de etanol combustible a partir de biomasa. Se hizo énfasis en las características de los residuos de cosecha cuyo contenido de carbohidratos, hace posible su bioconversión a etanol combustible. El material estudiado es el residuo generado después de descascarar las semillas de *Moringa oleifera* (*M. oleifera*) para la obtención de biodiesel. La información existente sobre los distintos procesos de hidrólisis de la celulosa contenida en los recursos de biomasa analizada.

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

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

La ecuación global del proceso de fotosíntesis es la siguiente:



La anterior ecuación indica que por cada mol de CO₂ atmosférico fijado por las plantas verdes, 114 Kcal. de energía solar contenida en las radiaciones fotosintéticamente

activas (400-700 nm) se transforma en energía de enlace químico de los productos de la fotosíntesis (**Grassi, 1991**).

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

El término biomasa celulósica es usualmente aplicado a tejidos leñosos y lignificados, los cuales son corrientemente subutilizados y subvalorados. No es duda que estos residuos leñosos y de cosecha representan granos de gran reservorio de biomasa lignocelulósica necesaria para suministrar grandes mercados de combustibles (**Ashgari et al., 1996**). Son diversos los métodos que se han desarrollado en el mundo para degradar y transformar los materiales lignocelulósicos en productos que puedan servir como sustrato de fermentación y obtener proteínas de consumo humano o animal, etanol u otros productos como glucosa, Xilosa, furfural, 5-hidroximetilfurfural, derivados de lignina, etc.

1.1.1. 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 bioetanol. Sin embargo, la lignocelulosa ofrece una gran resistencia al ataque biológico, debido precisamente a su alta complejidad en su composición química (**Schurz, 1997**). Los materiales lignocelulósicos están formados por tres componentes principales: celulosa, hemicelulosas y lignina. Entre las principales materias primas lignocelulósicas se encuentran los cultivos energéticos, el papel reciclado, los residuos forestales y los desechos agrícolas y de la industria alimenticia, así como los residuos sólidos municipales (**Martín, 2002**). Sin embargo, solamente entre el 3 y el 4 % de esos materiales son utilizados económicamente en el mundo occidental, fundamentalmente como alimentos, en la producción de pulpa y papel, y en la generación de energía (**Galbe, 1994**).

1.2. El bioetanol.

La transformación de biomasa a combustible líquido, tal como etanol ha sido de gran interés a finales del siglo XX. El bioetanol fue producido a gran escala durante las dos

guerras mundiales, usando hidrólisis ácida, pero después del año 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). 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 bioetanol (Costales y Namer 2000).

1.2.1. El bioetanol como combustible automotor

La historia del uso del etanol como combustible es tan larga como la propia del automóvil (revisado por Martín, 2002). 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 mezclas de 3-22% de etanol 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 uso del bioetanol está relacionado con la protección del medio ambiente lo cual a ocasionado gran interés en la sociedad. El bioetanol como combustible automotor contribuirá considerablemente a la rebaja de la contaminación ambiental, ya que es un combustible biológico, por lo que 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). También por el alto contenido de oxígeno en el etanol, su combustión es más completa que la de la gasolina, por lo que emite menos monóxido de carbono e hidrocarburos (Cordovés, 2001). Por otro lado, la combustión de la gasolina y el diesel emiten compuestos aromáticos, muchos de los cuales son cancerígenos, así como otras

impurezas, tales como azufre, cloro, compuestos aromáticos y órgano metálicos, hidrocarburos sin combustionar, óxidos de nitrógeno y compuestos orgánicos volátiles (Bailey, 1996).

1.2.3. Ventajas económicas del uso del bioetanol.

La sustitución de la gasolina por el etanol permitiría reducir los volúmenes de petróleo destinados a este fin, lo cual es muy beneficioso para aquellos países dependientes del mercado mundial de hidrocarburos, lo que conduciría a una mejora de la balanza comercial de esos países (Glasser y Wright, 1998). En Cuba, se debe tener en cuenta que el sector del transporte en el consumo energético nacional se hace cada vez más significativo. Debido, que prácticamente la totalidad de la generación eléctrica se realiza a partir de petróleo crudo y gas acompañante de origen nacional y que el número de vehículos aumenta considerablemente con la reanimación de la economía cubana, el peso del sector automotor en el consumo de combustible se ha elevado y continuará elevándose en un futuro inmediato. El uso del etanol carburante, producido a partir de recursos renovables de origen nacional, permitiría al país disminuir la importación de petróleo, lo que significaría un ahorro en divisas, algo muy importante para la oxigenación de nuestra economía (Martín, 2002). Por otro lado, teniendo en cuenta la gran disponibilidad de materias primas para su producción, el bioetanol es un combustible renovable que Cuba puede producir en grandes cantidades, lo que, en opinión del autor, permitirá que el beneficio económico sea continuado y no quede remitido a un lapso de tiempo breve.

1.2.4 Producción de etanol

El etanol puede ser producido por dos vías, química, que no es más que la hidratación del etileno en presencia de un catalizador y bioquímica, la cual se basa en la fermentación de materiales ricos en glúcidos por la acción de microorganismos. Cerca del 91% del etanol producido en el mundo es logrado por fermentación, mientras que sólo el 9% es producido sintéticamente (Wheeler *et al.*, 1991).

En la producción de etanol a través de la fermentación los organismos más usados son las levaduras del género *Saccharomyces* (Hernández *et al.*, 1986 y Ingledew, 1995). La elaboración de etanol por fermentación las materias primas utilizadas son azucaradas, amiláceas y lignocelulósicas. Las azucaradas poseen la ventaja de que sus carbohidratos componentes están en forma de monosacáridos y oligosacáridos, por lo

que el sustrato logra ser fermentado claramente por los microorganismos productores. El proceso para la realización de etanol a partir de la celulosa, en principio es muy sencillo, una hidrólisis de la celulosa a glucosa con una posterior fermentación, con la consiguiente destilación para obtener el bioetanol hasta un 95 wt % y deshidratación para obtener alcohol absoluto (99 %), por destilación con mezclas de benceno, agua y alcohol o por tamices moleculares. Llevando a cabo una tecnología factible económicamente se podría reducir la dependencia del petróleo crudo (**Brizuela et al., 2000**). Los productos principales de la fermentación alcohólica son el etanol y el dióxido de carbono, así como varios productos colaterales como glicerol, acetaldehído, alcoholes superiores, ésteres, éteres, ácidos, cetonas y otros compuestos. También ocurre la formación de biomasa celular (**Ingledeew, 1995; Kelsall, 1995**).

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 melazas de caña y remolacha, los jugos de caña y los jugos de frutas son materiales que pueden ser fermentados directamente por los microorganismos productores. En Cuba, al igual que en la mayoría de los países tropicales, las melazas de caña son la materia prima más utilizada en la producción de etanol (**Martín, 2002**).

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

(Tengborg, 2000). Según (Gálvez 2000), otras materias dignas de considerar para la producción de etanol combustible son: yuca, caña de azúcar, remolacha forrajera, sorgo azucarado y diversos granos en regiones secas. Sin embargo, otros autores afirman que la producción industrial de etanol combustible a bajo costo sólo será posible si se utilizan materias primas lignocelulósicas (Galbe, 1994; Wheals et al., 1999). 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 biomasa.

El proceso de obtención de etanol a partir de biomasa consta de varias etapas. Primeramente la materia prima es sometida a un proceso de pretratamiento con vistas a romper la matriz polimérica en que se hallan los glucanos y xilanos que posteriormente serán convertidos en los azúcares necesarios para la fermentación. Procedente de este proceso se obtiene dos fracciones, una líquida, rica en hemicelulosas, y otra sólida, enriquecida en celulosa y lignina. Posteriormente la fracción líquida es fermentada con organismos fermentadores de pentosas. La fracción sólida es sometida a una hidrólisis enzimática donde se obtienen dos nuevas fracciones, una líquida rica en glucosa procedente de la hidrólisis de la celulosa y la sólida constituida por la lignina residual. Este líquido es fermentado con *Saccharomyces cerevisiae* produciendo etanol y dióxido de carbono. La solución alcohólica obtenida posee de 5-7 %v/v en etanol, el cual es extraído mediante una destilación fraccionada, obteniéndose el azeótropo a 96 %v/v en etanol. El producto obtenido debe ser deshidratado con vista a ser usado como combustible automotor, para ello es destilado nuevamente, pero esta vez con benceno ó usando una técnica que ha estado ganando espacio en la obtención de etanol absoluto, los tamices moleculares (Ver Fig. 1 Anexo 1).

1.4. Pretratamientos utilizados en los MLC.

Existen diferentes tipos de pretratamientos, los cuales pueden agruparse dentro de cuatro categorías: físicos, químicos, biológicos y combinados. Los físicos (vapor, radiación, vibración), no incluyen la aplicación de sustancias químicas (Azuma et al., 1985, Beardmore et al., 1980). En los químicos participan sustancias, tales como dióxido de azufre (SO₂), ácido acético, solventes (Varshney y Patel, 1988), amoníaco (Holtzapple et al., 1992), álcalis (Playne, 1984) y ácidos. Los biológicos, en los cuales participan microorganismos degradadores de lignina, tienen el inconveniente de ser muy

lentos (Lee, 1997). Entre los combinados tenemos la explosión por vapor, en la cual se pueden combinar SO₂ y vapor (Dekker y Wallis, 1983; Hörmeyer et al., 1988; Lambert y Stratford 1999). La oxidación húmeda, en el cual la biomasa es tratada con agua y aire u oxígeno a temperaturas por encima de 100 °C, es otro de los tenidos en cuenta para tratar la biomasa (Mc Ginnis, et al. 1983 a, b). A nivel industrial, solo los pretratamientos ácidos (diluido y concentrado), han sido utilizados.

1.4.1. Pretratamiento ácido diluido.

El pretratamiento ácido diluido, como su nombre lo indica es el uso de ácidos tanto concentrados como diluidos para destruir la coraza de lignina y hemicelulosa, encontrada en la pared celular en los materiales lignocelulósicos. Los tratamientos con ácidos calientes rompen los enlaces de estos polisacáridos y despolimerizan y solubilizan la hemicelulosa dando Xilosa, manosa, arabinosa, galactosa y glucosa (Grohmann et al., 1995). En el pretratamiento se utilizan ácidos fuertes como, el clorhídrico, sulfúrico y el fluorhídrico a bajas temperaturas, donde el principal inconveniente es el requerimiento de equipos de acero inoxidable, lo cual incrementa considerablemente el costo (Wyman, 1999). Otro inconveniente, es la formación de productos de degradación de varios azúcares y pérdidas de material debido al tiempo en que se mantienen bajo estas condiciones las que no son las adecuadas. Cuando se usa ácido diluido, se aplica altas temperaturas (alrededor de 200 °C) y considerable cantidad de productos de degradación de azúcar y lignina son formados (Bashir y Lee, 1994), lo que, por supuesto, es un factor negativo en estos pretratamientos. Ejemplo de estos puede ser: ácido diluido (4 %) a 100 °C durante 60 min. y otro ácido concentrado (85 %) a 100 °C durante 10 min. (Szengyel, 2000).

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 pueden dividirse dentro de tres grupos principales de acuerdo a su naturaleza química. El primer grupo consiste en derivados furánicos, ejemplos el furfural y el 5-hidroximetilfurfural (HMF), los cuales se forman por la deshidratación de las pentosas y hexosas, respectivamente, por la acción de ácidos y temperaturas altas. El segundo grupo de compuestos inhibidores son ácidos alifáticos de cadenas cortas. Típicamente los hidrolizados lignocelulósicos contienen varias cantidades de ácido acético, ácido

fórmico y ácido levulínico. El ácido acético se forma por la desacetilación de las hemicelulosas. El ácido fórmico y el levulínico son productos de degradación del HMF y el furfural. El tercer grupo de inhibidores comprende varios compuestos fenólicos liberados de la degradación parcial de la lignina (**Mes-Hartree, y Saddler, 1983, Palmqvist et al., 1996**)

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

En los últimos años, el crecimiento del uso del etanol combustible en el mundo 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, tanto basadas en la hidrólisis ácida como en la enzimática. Las nuevas tecnologías son evaluadas en plantas piloto y demostrativas, entre las cuales las más importantes están en Suecia, EE.UU., España, Canadá, Dinamarca, Japón y China (**Bueno, 2008**). 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. Desde 2006 en Salamanca, España, opera una planta de etanol celulósico a escala semicomercial, la cual fue construida por Abengoa Bioenergy y la misma tiene un volumen de 5 millones de litros de etanol al año a partir de paja de trigo (**Abril, 2008**).

Entre las compañías que comercializan nuevas tecnologías basadas en la hidrólisis ácida se encuentran BC Internacional (EE.UU.) y 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 en el 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, 2007a, b**).

La tecnología Arkenol (EE.UU.), está siendo empleada por la compañía BlueFire en la construcción de una planta comercial con capacidad de 67 millones de litros de etanol por año a partir de residuos forestales en California (**Abril, 2008; Bueno, 2008**). La planta debe entrar en acción en los próximos 2-3 años (**Taherzadeh y Karimi, 2007b**).

Otra importante planta piloto está localizada en el Laboratorio Nacional de Energía Renovable (NREL), en EE.UU, la cual procesa 900 kg día⁻¹ de biomasa, es ideal para

estudios a pequeña escala y desde 1994 ha sido utilizada en numerosos proyectos, **(Tahezadeh y Karimi, 2007b)**.

Por otra parte, la tecnología SunOpta utiliza la hidrólisis enzimática con pretratamiento por explosión con vapor **(Abril, 2008)**. En la actualidad se ejecutan cuatro proyectos que utilizan esa tecnología: (i) China Resources 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 el 2007, (iii) Celunol, que está siendo construida en Louisiana para producir etanol a partir de madera y bagazo de caña de azúcar entre otros residuos lignocelulósicos, y (iv) GreenField Ethanol Inc., que es el mayor productor de etanol en Canadá **(Tahezadeh y Karimi, 2007b)**.

En los próximos 2-5 años se espera que en Norteamérica entren en operación varias plantas de etanol celulósico **(Tahezadeh y Karimi, 2007b; 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 siguientes orígenes:

a) 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 si bien, incluso hoy en día, constituye la principal fuente energética de pueblos y países en vías de desarrollo.

b) Residual: Entre las biomásas de origen residual, resultantes de la actividad humana, pueden citarse:

- Residuos forestales y los originados de las industrias de la madera.
- Residuos agrícolas.
- Residuos sólidos urbanos (fracciones de papel, cartón y materia orgánica).
- Aguas residuales urbanas y lodos de depuradoras.
- Residuos ganaderos.
- Residuos agroindustriales (industrias lácteas, papeleras, destilerías, almazaras, conserveras, etc.).

Los residuos agrícolas en su mayoría son depositados en los campos causando problemas de contaminación o quemados. Los mismos por su composición química pueden ser utilizados en su bioconversión a etanol. Entre los residuos agrícolas que constituyen un potencial para ser utilizados en la producción de bioetanol, tenemos: el bagazo de caña de azúcar, la paja de arroz, los tallos de yuca, tucas de maíz y las cáscaras de diferentes frutos como la *Jatropha curcas*. Muchas de las 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 etanol combustible. En el trabajo se estudia el residuo sólido del fruto producido por el árbol *Moringa oleífera* que queda después de haber extraído la almendra para la producción de biodiesel y otros usos.

1.7. Características del árbol *Moringa oleífera*.

Moringa oleífera Lam., conocida comúnmente como resedá, árbol de rábano (horseradish tree), árbol de bequeta (drumstick tree), ángela, árbol de los espárragos, árbol de las perlas, árbol “ben” y muchos otros nombres (**Morton, 1991**), es un árbol siempre verde y crecimiento acelerado que normalmente alcanza de 10 a 12 m de alto. Tiene una copa abierta y esparcida de ramas frágiles e inclinadas, un follaje plumoso de hojas pinadas en tres, y una corteza gruesa, blanquecina y de aspecto corchozo (fig.1 Anexo 2). Se valora principalmente por sus frutas, hojas, flores, raíces, todas comestibles y por el aceite (también comestible) obtenido de las semillas. Se usa extensamente en la medicina tradicional en las áreas en donde es nativo y en donde ha sido introducido (**Booth y Wickens, 1988**).

1.7.1. Hábitat de la *Moringa oleífera*.

El resedá o *Moringa Oleífera* es nativo al sur de Asia, en donde crece al pie de los Himalayas desde el noreste de Paquistán hasta el norte de Bengala del Oeste (la India) (**Ramachandran et al., 1980**). (fig.2 Anexo 2). Ha sido introducido y se ha naturalizado en otras partes de La India, Paquistán, Afganistán, Bangladesh, Sri Lanka, el sudeste de Asia, Asia occidental, la península Arábiga, África del este y oeste, el sur de la Florida, todas las islas Occidentales, en centro América (México), Perú, Paraguay y Brasil en el Sur de América (**Vivien, 1990**).

1.7.2 Clima donde se cultiva la *Moringa oleifera*.

En su hábitat natural, las fluctuaciones anuales de temperatura tienden a ser muy marcadas, con temperaturas, mínimas (1 a 3 °C) y máximas (38 a 48°C) durante los meses más fríos y los más calientes, respectivamente. La precipitación anual en esta región oscila entre 750 y 2200 mm (**Nautiyal y Venhataraman, 1987**). El resedá es muy resistente a la sequía y se cultiva en regiones áridas y semiáridas de la India, Pakistán, Afganistán, Arabia Saudita y África del este, en donde la precipitación puede ser de 300 mm (**Ramachandran, et al., 1980**), lo que es bajo, a pesar de que dichos sitios son probablemente irrigados y se caracterizan por poseer un nivel alto de agua subterránea. En Puerto Rico, el resedá se ha naturalizado hasta cierto punto en lugares con una precipitación anual de entre 1000 y 1800 mm (**Francis y Liogier, 1991**)

1.7.3. Condiciones y características del cultivo y crecimiento de la *M. oleifera*.

La *M.O.* o reseda requiere de suelos francos-francos arcillosos, no tolera suelos arcillosos o vertisoles, ni suelos con mal drenaje (**Foild, 1995**). En la India existen varias especies de insectos (Ver Fig. 1 Anexo 3) que son dañinos en el cultivo de la *M. oleifera* (**Morton, 1991**). En el sur de la India, han sido reportadas varias enfermedades, pudrición de las raíces (**Ramachandran et al., 1980**) y de la fruta (**Kshirsagar y D'Sonza, 1989**). La *M.O.* crece en altitudes de hasta aproximadamente 1400 m (**FAO, 1982**). En Puerto Rico crece a poca altitud y en suelos con pH de entre 5.5 y 5.7 (**Francis y Liogier, 1991**). Con respecto a la reproducción y crecimiento de las flores y frutos, se conoce que existen grandes variaciones en la fenología del florecimiento de acuerdo a la variedad y el sitio en donde crece Las semillas del resedá son de color pardo oscuro, globulares y de aproximadamente 1cm de diámetro, con tres alas con una consistencia papirácea (**Ramachandran et al., 1980**), (Ver Fig.2 Anexo 3). Los polinizadores principales son las abejas, otros insectos y varias aves (**Morton, 1991**). Las frutas son unas cápsulas de color pardo, de tres lados, lineales y pendientes (**Palanisamy et al., 1985**). Aparentemente existen variaciones en los pesos de las semillas, desde 3,000 a 9,000 semillas por kilogramo (**Nautiyal y Venhataraman, 1987**). En la *M.O.*, el crecimiento de las plántulas es rápido alcanzando entre los 20 a 30 cm de alto seis semanas después de sembradas, (**Morton, 1991**). La *M.O.* rebrota vigorosamente después de cortado, produciendo de cuatro a ocho renuevos por tocón (**Nautiyal y Venhataraman, 1987**).

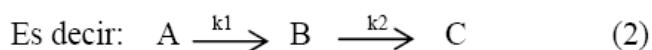
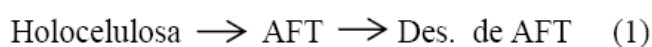
1.8. Usos de la *Moringa oleifera*

La madera blanda de la *M.O.* en el (Sur de Asia), se utiliza como combustible (**Vivien, 1990**). En la India, se usa en forma limitada para lanzaderas y otros instrumentos de la industria textil, y es adecuada para la producción de pulpa para hacer papel periódico, papel celofán y textiles (**Nautiyal y Venhataraman, 1987**). Las vainas tiernas y comestibles con sabor similar al espárrago se comen como vegetales nutritivos, ya sea cocidas o curtidadas. Las vainas verdes se cortan en secciones y se enlatan para exportación a Europa y América. Las hojas tiernas tienen sabor a berro, y se comen junto con las flores ya sea cocida o cruda. Son muy ricas en proteína aproximadamente un 27 %, minerales, beta-caroteno, tiamina, riboflavina y otras vitaminas, particularmente las vitaminas A y C (**Gupta et al., 1989**), según (**Gopalan et al. 1994**) el contenido de vitaminas A y C y de proteínas en las hojas del árbol de *M.O.* son más elevados que los otros alimentos mostrados en la (tabla 1 Anexo 4) puede ver la comparación de estas con otros alimentos en cuanto al contenido nutritivo. Las raíces, que tienen el sabor picante del rábano rústico (*Armoracia rusticana* Gaertn.), se usan como condimento o aderezo después de peladas, secadas y mezcladas con vinagre (**Martín y Ruberté, 1979**). La corteza de las raíces deberá ser removida totalmente, ya que es rica en alcaloides, especialmente moringina, una sustancia tóxica en el mismo grupo que la efedrina (**Morton, 1991**). Las semillas de la *M.O.* contienen entre 19 y 47 por ciento de aceite similar al aceite de oliva y es rico en ácidos palmítico, esteárico, béhmico y oleico, conocido comercialmente como “aceite de ben”, se usa para consumo humano, iluminación, y en cosméticos y jabones (**Nautiyal y Venhataraman, 1987**), por relojeros como lubricante (**Ramachandran et al., 1980**). La costra del aceite se usa como abono (**Dastur, 1964**). Las semillas, machacadas, se usan como un método efectivo y de bajo costo para tratar el agua y reducir su turbidez y contaminación bacteriana en Sudán, Malawi e Indonesia (**Jahn et al., 1986**). Se ha demostrado que extractos de las hojas ayudan a incrementar la nodulación de las raíces, (**Bandana et al., 1987**). La corteza en forma de corcho produce una fibra tosca, que se utiliza para hacer esteras, papel y cordaje. El tallo exuda una goma mucilaginoso que se usa para curtir cuero y para el estampado de calicó o indiana (**Nautiyal y Venhataraman, 1987**). En muchas partes dentro de su área de distribución, las hojas y ramitas se usan como forraje para cabras, camellos, y ganado vacuno y ovino. (**Mahatab y Asaduzzaman, 1987**). Las flores son una buena fuente de polen para las abejas (**Booth y Wickens, 1988**). La *M.O.* tiene muchos usos medicinales que han sido apreciados por varios siglos en

muchas partes en donde es nativo o introducido por el hombre (Mossa, 1985), El extracto de las hojas tiene propiedades anti-bacterianas y contra la n antibiótico que es muy efectivo en el tratamiento del cólera (Lizzy et al., 1968). Varios compuestos químicos de valor medicinal confirmado han sido aislados en las raíces, la corteza de la raíz, la corteza del tallo y semillas (Booth y Wickens, 1988). El aceite de ben se usa frecuentemente en el tratamiento de la gota y el reumatismo agudo (Singh et al., 1983). Para intercalar con otros cultivos – los árboles son leguminosos y añaden nitrógeno al suelo. Como floculante natural, energético, fuente de materia prima de celulosa y de hormonas reguladoras de crecimiento vegetal (Foild et al., 1995). (Ver fig.1 anexo 4).

1.9. Estudio cinético del pretratamiento ácido sulfúrico diluido.

El modelo y los datos cinéticos son claves en el diseño, desarrollo, operación y evaluación de los procesos de conversión de los carbohidratos de los materiales lignocelulósicos a azúcares reductores. El grado de hidrólisis y la velocidad del proceso dependen de muchos factores, entre otros del pH, de la temperatura, de la concentración de biomasa hidrolítica, del tipo de materia orgánica y del tamaño de partícula. Los principales productos de la hidrólisis, en un medio ácido, partiendo de la celulosa son celobiosa y glucosa y xilosa para la hemicelulosas, las reacciones generadas en la hidrólisis ácida son muy complejas; el sustrato está en fase sólida y el catalizador en fase líquida. El modelo utilizado en la tesis queda representado según el esquema (Esquema 1), el mismo considera las reacciones como de pseudo primer orden, irreversibles y homogéneas en el cual la constante de velocidad de la reacción está en función de la concentración de ácido, tiempo de hidrólisis y temperatura. El mismo ha sido utilizado por Aguilar y col. 2002. Estos autores asumen que al pretratar la materia prima se producen azúcares en su mayoría xilosa proveniente de las hemicelulosas, arabinosa y pequeñas cantidades de glucosa, los mismos a su vez, se descomponen en productos como furfural, hidroximetilfurfural HMF, ácidos orgánicos y otros. Este modelo fue propuesto originalmente por Saeman (1945) donde la representación de las reacciones de pseudo primer orden para la hidrólisis ácida queda representado por:



Para determinar de qué modo dependen del tiempo las concentraciones de los compuestos generados en un mecanismo de este tipo, es posible utilizar las siguientes ecuaciones:

$$C_A = C_{A0} e^{-k_1 t}$$

$$C_B = \frac{k_1 C_{A0}}{k_2 - k_1} [\exp(-k_1 t) - \exp(-k_2 t)]$$

$$C_C = C_{A0} (1 - \exp(-k_2 t))$$

Donde C_A , C_B y C_C son las concentraciones de azúcares reductores totales expresados en g/L.

La resolución de estas ecuaciones va encaminada a la búsqueda del valor de las constantes k_1 y k_2 . Entre los métodos utilizados están: 1-El método de las pendientes iniciales., 2-Determinación de las pendientes en otros puntos de la curva de formación de reductores., 3-Determinación del pendiente del gráfico de $\log C_A$ vs t ., 4-Métodos utilizando cálculos matemáticos como es la regresión no lineal y otros., 5-Análisis del máximo de concentración del producto intermedio. Este último no es recomendable para el cálculo de las constantes pues se utiliza un solo valor experimental, el correspondiente al máximo de la curva del producto intermedio, además que la forma aplastada de la curva introduce errores de cálculo. En el cuerpo de la tesis este método solo fue usado para calcular la concentración máxima de polisacáridos hidrolizados y el tiempo utilizado para ello. Otros autores, como Carrasco (1992) mencionan que debido a la complejidad en modelar y encontrar un mecanismo estricto para el proceso de hidrólisis de materiales lignocelulósicos es recomendable usar modelos empíricos o simplificados para determinar la cinética. El autor propone que los datos experimentales obtenidos de la hidrólisis ácida se emplean para el desarrollo del modelo cinético de reacción, y de esta forma se calculen las constantes (k_1 , k_2) y la energía de activación (E_1 y E_2) mediante el método de mínimos cuadrados. Para determinar el orden de reacción (m y n) se utiliza el método de vida media que implica la medición de la velocidad de una reacción varias veces a la misma temperatura, variando la concentración inicial de los reactivos. Para simplificar el tratamiento matemático todos los reactivos utilizados se preparan inicialmente a la misma concentración a fin de aplicar las leyes de velocidad de reacción. A partir de los resultados experimentales, se

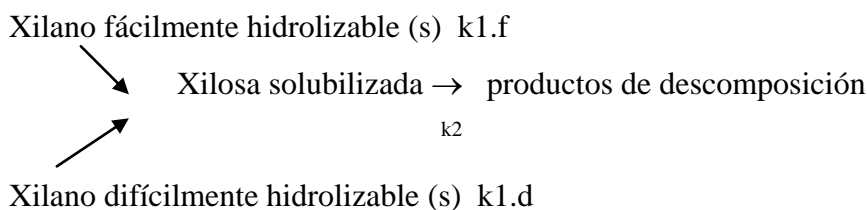
traza una gráfica del porcentaje de avance de la reacción en función del tiempo y por interpolación el tiempo necesario para alcanzar el 50% de avance de la reacción vida media o semireacción.

1.9.1 Modelos de Formación de Xilosa

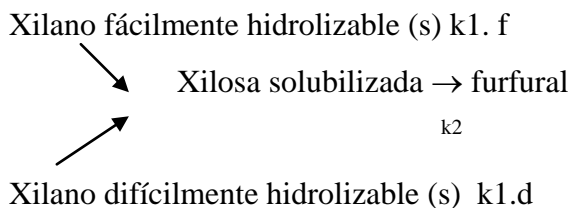
Una variedad de modelos con vista a explicar la hidrólisis ácida de las hemicelulosas son postulados en la literatura (**Marton et al., 1989**). Los modelos más simples involucran una serie de reacciones irreversibles desde los xilanos sólidos hasta xilosa en la fracción líquida y entonces, hacia los productos de descomposición. (Esquema 1). Este esquema ha sido considerado a menudo deficiente, ya que hace consideraciones no válidas, como es la descomposición de xilano a xilosa en un solo paso del proceso (**Conner y Wood, 1984**). Más bien, la cadena de xilano se descompone primero en oligosacáridos de xilosa, y entonces la descomposición procede al rendimiento de los monómeros de la xilosa (**Kamiyama y Sakai, 1979**). Las xilosas se descomponen en furfural y a partir de aquí en resinas furánicas y otros productos. Con el propósito del cálculo práctico, la descomposición de xilano ha sido modelada como la suma de dos reacciones en paralelo de primer orden, una reacción de la hidrólisis rápida y una reacción de la hidrólisis lenta. (Esquema 2). Por consiguiente, el xilano se ha clasificado en dos fracciones una de ellas, fácil de hidrolizar y la otra difícil de hidrolizar (**Trickett, 1984; Koukios y Sidoras, 1995**). El modelo representado por el esquema 2 se ha refinado teniendo en cuenta la posibilidad de productos de descomposición múltiples (**Marton, 1987**). Por consiguiente, un mecanismo diferente (esquema 3) se ha propuesto (**Marton et al., 1989**). En este esquema el furfural es el producto mayoritario (**Root et al., 1959**). En todos los esquemas se asume que la proporción de la reacción es de primer orden con respecto a los reactantes en cada paso de la reacción.



Esquema 1.



Esquema 2.



Esquema 3.

1.10 Aspectos generales acerca de reactores utilizados en el pretratamiento.

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

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

Los reactores tubulares de cama fija y móvil presentan dificultades de evaluación de las constantes específicas de la reacción, pues las concentraciones son funciones de la longitud del reactor y del tiempo para el de cama fija y funciones del largo para el de cama móvil. En el reactor de cama móvil se presenta, también, la dificultad de mantener fija la relación de sólido – líquido. En el reactor diferencial con recirculación cambia la concentración de celulosa o hemicelulosa del material celulósico colocado entre las dos mallas que lo sujeta dentro del equipo, a través de los cuales pasaría la disolución ácida, lo que hace imposible utilizarlo. Además, habría que utilizar relaciones de reciclo muy altas y una bomba resistente a la temperatura y al ácido. El reactor backmix presenta dificultades prácticas, pues sería necesario bombear una suspensión de material celulósico con ácido, manteniendo el hidromódulo constante, y controlar

cuidadosamente el flujo. El reactor semibatch es de más difícil construcción que el batch. En éste el material celulósico se encuentra perfectamente agitado, pero retenido por una malla. La disolución de ácido penetra por la parte superior del equipo, mezclándose con el material celulósico, y sale a través de la malla después de reaccionar. (Nápoles y López, 1984).

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

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

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

1.11 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.
- Los residuos agrícolas, como las cáscaras del fruto de la M.O., debido a su composición química pueden ser utilizados para la obtención de bioetanol.
- En la literatura existen modelos que permiten explicar el pretratamiento ácido diluido de MLC.
- Los reactores Batch o discontinuo agitado y semibatch pueden ser utilizados en el pretratamiento de la biomasa.

Capítulo 2. Materiales y Métodos.

Con vistas a darle uso a un residual obteniendo un subproducto de alto valor agregado, se estudia la potencialidad del residuo de la cáscara del fruto de *M. oleifera* como sustrato para la conversión a etanol mediante pretratamiento ácido diluido, llevándose a cabo las siguientes tareas.

1. *Muestreo, conservación y preparación de la materia prima.*
2. *Caracterización físico-química del residual de **M. oleifera**.*
3. *Estudio cinético del pretratamiento ácido sulfúrico diluido, utilizando como variable respuesta los gramos de polisacáridos hidrolizados después del pretratamiento por gramo de muestra utilizada.*
4. *Obtención de las constantes cinéticas y elaboración de la propuesta de diseño del reactor.*
5. *Elaboración del informe final de la tesis.*

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

2.1 Muestreo, preparación y conservación de la materia prima.

Primeramente la materia prima expone al sol por varios días, después en el laboratorio se divide principalmente en cuatro capas sucesivas de aproximadamente igual espesor. Cada capa es dividida en ocho porciones iguales sobre una superficie rectangular y de estas se toman dos porciones opuestas entre sí y el resto se desecha, para garantizar que la muestra sea lo más real y representativa posible (Hernández, 1995). Las porciones finales de las muestras preparadas previamente, son secadas a 40 °C en estufa (Estufa - incubadora digital AASET YLD-6000 Alemana, con control térmico, de 0,1 °C de sensibilidad) por espacio de 24 hs. Posteriormente la muestra es tamizada (1mm) donde se obtienen fracciones útiles para cada experimento a seguir. La misma fue conservada en bolsas de polietileno a temperatura ambiente.

2.2. Caracterización físico-química de la materia prima.

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

2.2.1. Caracterización Física de la materia prima

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

2.2.2 Composición química de la materia prima.

2.2.2.1 Humedad.

La determinación de humedad es realizada según “*Standard Method for Determination of Total Solids in Biomass*”. Procedimiento analítico de laboratorio LAP 001. Este Método Standard para el Análisis de Biomasa se basa en el análisis gravimétrico por volatilización y en el mismo un crisol con su tapa es llevado a peso constante. Un gramo de muestra, es pesado en balanza analítica, (Balanza analítica digital Sartorius BS 124 S. Máx. 120g Sartorius, con una precisión de 0,1 mg), poniéndolo en la estufa a la temperatura de 105°C por espacio de 24 h; llevándolo a la desecadora (previamente preparada con carbonato de calcio anhídrido y silicagel) y después pesando la muestra anhidra. El procedimiento anterior se repite hasta alcanzar peso constante (dos pesadas consecutivas deben diferenciarse en 0,2 mg o menos). El resultado es aceptado cuando muestra y replicas tengan una desviación estándar igual o inferior a 0,19% y un coeficiente de variación igual o inferior a 0,20%. Las ecuaciones utilizadas son:

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

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

2.2.2.2. Cenizas.

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

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

2.2.2.3 Extractivos.

La determinación de extractivos es realizada según: “*Standard Method for the Determination of Extractives in Biomass*”. Procedimiento analítico de laboratorio LAP 010. El análisis se basa en la gravimetría por extracción sólido-líquido. Se pesan aproximadamente de 2 a 10 g de muestra tamizada en (balanza analítica), se agrega la muestra cuantitativamente al dedal y se pesa, colocando el mismo en un aparato Soxhlet de 75 ml, se adiciona de 160-195 ml de etanol al 95 % en un balón previamente pesado en balanza analítica. Se calienta a reflujo por 24 h (baño de María), se requieren de 100 a 120 descargas durante el tiempo de reflujo, posteriormente se extrae el dedal y se lava

con etanol al 95 % dejándolo al aire por dos días y (en estufa a 40 °C 24 h). El lavado y el líquido que queda en el Soxhlet, se vierten en el balón el cual se coloca en el (Retro-evaporador analógico IKA RV 05 Basic, baño de agua IKA HB4 Basic a 45 ± 5 °C), después de haber eliminado todo el solvente visible haciendo uso de la (bomba de vacío Telstar) y sus respectivas trampas de vacío, se coloca el balón en (estufa por 24 h a una temperatura 40 ± 1°C), transcurrido este tiempo se coloca el balón en (desecadora hasta alcanzar temperatura ambiente), luego se pesa hasta peso constante. El análisis de determinación por extractivo es aceptado cuando muestra y replicas cumplen con una desviación estándar en contenido de extractos igual o inferior a 0,15% y un coeficiente de variación igual o inferior a 7,6%. Las ecuaciones utilizadas para determinar los diferentes por ciento de extractivos son:

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

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

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

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

2.2.2.4 Polisacáridos fácilmente hidrolizables (PFH).

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

coloca en (desecadora hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesa hasta lograr peso constante. La determinación de PFH se utiliza la ecuación siguiente:

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

2.2.2.5 Polisacáridos difícilmente hidrolizables (PDH).

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

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

2.2.2.6 Lignina Klason.

La determinación de la HAA fue realizada según: “Standard Method for the Determination of Carbohydrate in Biomasa by HPLC”. Procedimiento analítico de laboratorio LAP 002. y haciendo uso de modificaciones técnicas adaptadas a nuestras condiciones de análisis. El mismo se basa en el análisis gravimétrico para la determinación de la lignina y la extracción sólido-líquido para la determinación de los azúcares. En pomos de 250 ml se pesan (0,3 g de muestra en balanza analítica), se añade el volumen equivalente a 4,92 g de H₂SO₄ (72 %). A continuación se introducen en

(baño de María a 30 °C), durante una hora con agitación (75 rpm), asegurándose que la muestra quede empapada por el líquido. Luego se añade 84 ml de agua destilada para detener la reacción (equivalente a una concentración de H₂SO₄ del 4 %). Seguidamente, se introduce en autoclave durante 1 h a 121°C y 1,02 atm de sobrepresión. Finalizada esta segunda etapa de hidrólisis, se enfría en baño de agua y se reponen las posibles pérdidas con agua. Tras la hidrólisis se obtiene una suspensión en la que el hidrolizado (fracción líquida) contiene los productos de hidrólisis de los polisacáridos y el precipitado corresponde a la lignina Klason, la cual se seca a (105°C durante 24 horas en estufa). Al hidrolizado se le determinan los azúcares disueltos mediante técnicas analíticas como son HPLC y Azúcares reductores totales por el método de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Se utiliza para determinar el por ciento de lignina la ecuación:

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

2.2.3 Pretratamiento con ácido sulfúrico diluido.

Para determinar la máxima conversión de hemicelulosas o carbohidratos del residuo lignocelulósico de la cáscara de *M.O.* hacia azúcares reductores totales (ART), de acuerdo a las variables de la hidrólisis ácida; se realizaron una serie de experimentos en autoclave a 1.02 atm., se peso 10 g de muestra y adicionando H₂SO₄ hasta un peso total de muestra de 100 g para una relación sólido líquido igual 10 (RSL=10), se empleó un tiempo de reacción de 0 a 240 minutos y temperatura de hidrólisis de 121 °C. Los extractos líquidos obtenidos de los hidrolizados del residuo de cáscara de M.O. se analizaron para determinar la concentración de azúcares simples, de acuerdo a la metodología propuesta por Farore y Cuzens (1998) donde la determinación de ART, reportados como xilosa, se llevo a cabo por el método de ácido 3,5-dinitro-salicílico (DNS), con xilosa como solución patrón (Ver anexo 3 fig.2)y midiendo la absorbancia de ART en espectrofotómetro UV-Visible a 546 nm y se reportaron como porcentaje (%) y como concentración (g/LAFT) de carbohidratos hidrolizados del residuo lignocelulósico original.

2.2.4 Determinación de azúcares reductores totales.

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

Teniendo en cuenta la dilución apropiada para el hidrolizado objeto de análisis, se toman 0,5 mL de la misma y se sitúan en un tubo de ensayo, seguidamente se le adiciona 0,5 mL del reactivo desarrollador de color (ácido 3,5- dinitrosalicílico), y se pone en baño de María a 100 °C por 10 min. A continuación se deja que la solución alcance la temperatura ambiente y se le adicionan 1,2 ml de agua destilada, para posteriormente leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 546 nm. Los valores obtenidos se ajustan por mínimos cuadrados y se obtiene la ecuación mejor ajustada a los valores experimentales mediante la cual obtengo las concentraciones de las muestras problemas.

2.2.5 Cinética del pretratamiento ácido diluido.

Teniendo en cuenta todos los modelos propuestos en el capítulo de análisis bibliográfico, en la tesis es utilizado el modelo primario, que a pesar de presentar inconvenientes como la consideración de la transformación de xilanos a xilosa en un proceso simple (**Conner, 1984**) y la no consideración de formación de oligosacáridos de xilosa en una primera etapa, bajo nuestras condiciones experimentales es el que mejor se ajusta a los datos obtenidos. Además, se reporta en la literatura que utilizando el presente modelo se obtuvieron valores de energía de activación para la hidrólisis de xilanos a xilosa determinada en muestras de bagazo (82,8-107,2 kJ/mol) en el mismo rango del que ha sido reportado para materiales lignocelulósicos (53-142 kJ/mol) (**Conner, 1984a; Szokonya et al., 1989**). Por lo antes dicho es de considerar el uso del modelo para nuestro trabajo experimental.

Para la ejecución del mismo se determinan los polisacáridos hidrolizados (PH)/g de muestra en el tiempo haciendo uso del protocolo del 3,5-DNS determinándose los azúcares reductores totales. Se calculan los valores de concentración máxima de PH valor que denotamos como C_{Bmax} y el tiempo ($t_{máx.}$) correspondiente a este máximo de concentración. Estos valores son obtenidos a partir del ajuste de los datos experimentales a un polinomio de orden 2. Al polinomio se le determina la primera derivada y se iguala al valor de 0, se prueba si el mismo es un punto de máximo mediante la determinación de la segunda derivada comprobando que la misma tenga un valor negativo.

2.2.6 Cálculo de las constantes de velocidad.

Para realizar el cálculo de las constantes cinéticas k_1 y k_2 se utiliza el método referenciado por (Nápoles y López, 1984), donde se calcula k_1 dividiendo la pendiente inicial de concentración de PH entre la concentración inicial de PT.

$$k_1 = \frac{(dC_{A_0} / dt)}{C_{A_0}}$$

C_{A_0} representa los gramos de polisacáridos totales por gramo de muestra. Este valor es obtenido como resultado de una hidrólisis ácida analítica.

El valor de la pendiente (dC_{A_0}/dt) es obtenida al graficar gPH/gmuestra vs tiempo, es calculado haciendo uso de la primera derivada del polinomio evaluada en cero.

El valor de k_2 es entonces hallado por iteración haciendo uso de la ecuación:

$$\frac{C_{B_{\max}}}{C_{A_0}} = \left(\frac{k_1}{k_2}\right)^{k_2/(k_2-k_1)}$$

2.2.7 Metodología para la propuesta del reactor.

Después de obtener los valores de k_1 , k_2 , $C_{B_{\max}}$, t_{\max} , se procede a graficar las siguientes relaciones:

- 1- (C_B/C_{A_0}) vs (k_1*t)
- 2- (C_A/C_{A_0}) vs (k_1*t) .
- 3- (C_B/C_{A_0}) vs X_A

Donde X_A es la conversión fraccional para un tiempo t . La misma puede ser calculada como $(1 - C_A/C_{A_0})$. Los gráficos anteriormente mencionados, son hechos con el objetivo de comprobar que los datos experimentales se ajustan a los modelos teóricos de un reactor discontinuo. El volumen del reactor discontinuo donde ocurren reacciones consecutivas e irreversibles es dependiente de las variables tiempo y cantidad de muestra a pretratar para una conversión del 90%. Teniendo en cuenta los datos anteriormente mencionados, es posible calcular el volumen necesario que pudiera tener el reactor propuesto. Otros parámetros necesarios son: la temperatura, presión y características del material utilizado en la fabricación del reactor.

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 los gramos de polisacáridos hidrolizados a diferentes tiempos. Esta cinética es realizada con el objetivo de obtener los datos necesarios para calcular los parámetros cinéticos útiles en la propuesta del reactor de pretratamiento anteriormente mencionado.

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

3.1. Composición de la materia prima.

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

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

Para la realización del presente estudio se toman 6 frutos y se pesan las diferentes partes del mismo, los resultados son mostrados a continuación.

	Fruto (g)	Almendra (g)	Cáscara Residuo (g)
1	0,3136	0,2254	0,0921
2	0,4001	0,2719	0,0876
3	0,2883	0,261	0,0901
4	0,3443	0,2999	0,0877
5	0,3697	0,2147	0,0811
6	0,3433	0,2544	0,0932
Promedio	0,3433	0,2546	0,0886
Desv. Estándar	0,0362	0,0282	0,0039
CV (%)	10,53	11,15	4,46

Tabla 3.1 Composición física del fruto.

Como se observa en la tabla el promedio de peso de fruto oscila sobre los 0,34 g lo cual se corresponde con el valor de 0,3 g reportado en la literatura (Nautiyal y Venhataraman, 1987).

Los valores de peso promedio de almendras, dados en gramos por cada 100 semillas y el por ciento de cáscaras en relación a la semilla entera son mostrados en la tabla siguiente:

	A	B	C	D
Peso promedio de las almendras (g/100 semillas)	21,2	22,5	21,85	25,46
% w/w de cáscaras con relación a la semilla entera	27,5	25,5	26,5	25,81

Tabla 3.2 Composición física del fruto. (A-Ferrao and Ferrao (1970), B-Proyecto Biomasa (1996), C-Promedio de las columnas A y B, D-Valores obtenidos en la tesis).

La tabla nos muestra como la especie de moringa salvaje utilizada para los estudios realizados en el cuerpo de la tesis presenta pesos semejantes a otras especies estudiadas por otros investigadores. Es importante destacar como es posible disponer del 25,8% del peso del fruto para otros usos como el propuesto por la tesis, la producción de etanol combustible. El valor anteriormente mencionado, aunque inferior a otras especies de semillas oleaginosas como la *Jatropha curcas* que presenta un 46,29 % de cáscara (Sotolongo et al 2007), es significativamente importante si se desea obtener un subproducto de alto valor agregado

3.3 Caracterización química de la cáscara de *M. oleifera*.

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

3.3.1 Humedad:

La materia prima presenta, según el análisis realizado un 9,27% de humedad, lo cual reporta un 90.73% de sólido totales. Los valores de $s=0,015$ % y $CV=0.16$ %

correspondientes a los datos experimentales muestran validez de los mismos al encontrarse por debajo de los mínimos permisibles ($s=0,19$ y $CV=0,20$).

3.3.2 Cenizas:

El valor promedio de por ciento de cenizas, según muestra y replica, es igual a un 3,08. La desviación estándar y el coeficientes de variación para las muestras analizadas es de 0,04 % y 1.35 % respectivamente, los mismos cumple con lo establecido con el protocolo correspondiente ($s=0,05$, $CV=3,88$), demostrando la validez de los resultados.

3.3.3 Extractivos.

La determinación de extractivos es definida como aquella fracción de muestra de biomasa soluble en etanol y que es dejada como residuo después de una extracción Soxhlet. Los extractivos incluyen componentes no estructurales de las muestras de biomasa las cuales pudieran interferir en el análisis y deben ser removidos antes del análisis composicional. En la presente tesis se obtuvieron los siguientes resultados: por ciento de extracto no volátil 5.16%, por ciento de extracto volátil 3.55% y por ciento de extractos totales 8.71%.

3.3.4 Polisacáridos fácilmente hidrolizables (PFH).

EL resultado obtenido de PFH promedio es de 25.37 % ($s=0,50\%$, $CV=1,76\%$). Este resultado nos dice que por cada gramo de muestra, 0.2537 g de los polisacáridos fácilmente hidrolizados, están presentes en la solución en forma de oligómeros, y en mayor cantidad como monómeros. Este valor está en correspondencia con el total de polisacáridos determinados por la hidrólisis ácida analítica y el método del ácido 3,5-DNS.

3.3.5 Polisacáridos difícilmente hidrolizables (PDH).

En la determinación de PDH promedio se obtuvo un 31.02 %. Los valores obtenidos de desviación estándar y coeficientes de variación entre muestra y replicas mediante el software Statgraphics son de 0.73 % y 2.10 %. Mostrando que el valor promedio presenta poca dispersión pues $C_V < 4$.

3.3.6 Hidrólisis ácida analítica (HAA) y Lignina Klason.

Es posible conocer la cantidad de azúcares presente en la fracción líquida y llevando a peso constante la fracción sólida determinar entonces, su contenido en lignina, la cual es nombrada como lignina de klason. El trabajo experimental sobre este tipo de residuo reporta una lignina promedio de 29.48% ($s=0.21$, $CV=0,64\%$). Otro aspecto importante a tener en cuenta es que el protocolo plantea, que la determinación de los azúcares debe ser realizada haciendo uso de técnicas de determinación analíticas como es el HPLC, la cual permite conocer las cantidades de cada azúcar por separado, debido la no existencia en nuestro laboratorio del equipo en cuestión y la necesidad de obtener el valor inicial de polisacáridos que podrían ser hidrolizados, se determinan los azúcares por el método del ácido 3,5-DNS, el cual cuantifica como se ha mencionado con anterioridad, todos los azúcares reductores que están presentes en la fase líquida. Con este valor y teniendo en cuenta determinadas conversiones, obtenemos entonces el valor de C_{A0} ($C_{A0}= 0,2886$ g Polisacáridos Totales/g de muestra), el cual es utilizado en los cálculos.

Análisis realizados	%
Humedad	9.27
% de sólidos totales	90.73
Cenizas	3.08
Extractos no volátiles.	5.16
Extractos volátiles.	3.55
Extractos totales	8.71
PFH	25.37
PDH	31.02
Lignina de klason	29.48
g iniciales de PT/g muestra	0.2886 g/g

Tabla 3.3 .6.1 Composición química de las cáscaras de M. oleífera.

3.4 Cinética del pretratamiento ácido diluido.

Con vistas a determinar la zona donde es posible encontrar la mayor cantidad de polisacáridos hidrolizados y el tiempo al cual se obtiene este valor se realiza la cinética desde 0 a 240 min, determinándose los azúcares reductores totales en el tiempo. Con el objetivo de calcular los valores de las constantes k_1 y k_2 , primeramente es seleccionada la mejor concentración de ácido que en este caso es 4%, la selección se basa en que se obtiene un mayor valor de polisacáridos hidrolizados en un menor tiempo de hidrólisis, además en la curva correspondiente a la concentración de ácido al 2%, la zona donde radica el máximo no está bien definido. Después de seleccionar el ácido, se pasa entonces a ajustar los valores experimentales a un modelo con el objetivo de derivar el mismo con respecto al tiempo e igualar la primera derivada al valor de 0, obteniéndose de esta forma el valor del máximo el cual se corresponde con la mayor cantidad de gramos de polisacáridos hidrolizados por gramo de muestra, y el tiempo al cual se logra esta cantidad. El resultado experimental es mostrado en la (tabla 1 del anexo 5 y en la fig. 1 Anexo 7.)

Para la determinación de los polisacáridos hidrolizados se uso el método del ácido 3,5 DNS para el cual se realizó una curva con el patrón estándar (Xilosa) con los datos mostrados en la tabla 3.3.1 y representada en el gráfico de la figura 3.3.1

TABLA 3.4.1 Valores de la curva de xilosa (patrón estándar)

Concentración	Absorbancia
0	0
0.1	0.098
0.25	0.274
0.4	0.45
0.6	0.674
0.7	0.865
1	1.104

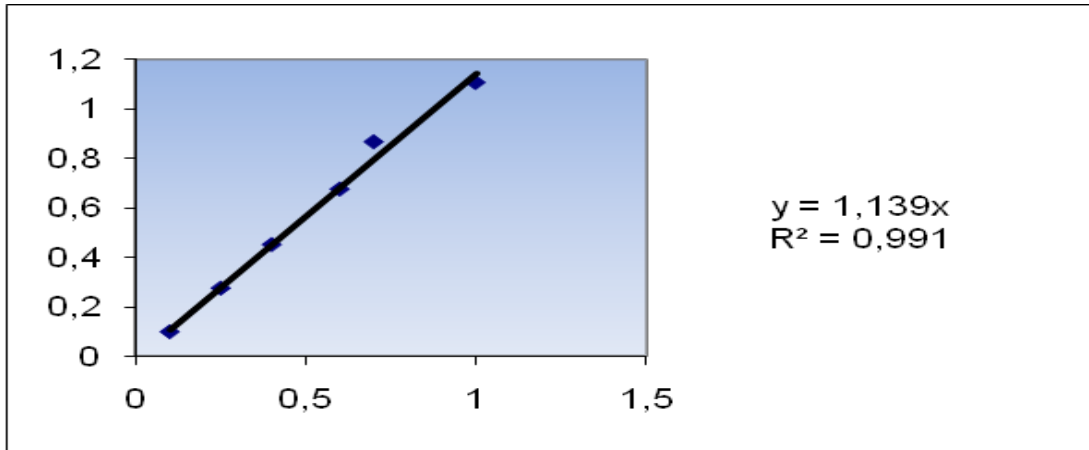


FIGURA 3.4.1 Gráfico de la curva del patrón estándar.

Ajuste del modelo

Los valores experimentales son ajustados a un modelo de orden 2, el cual es mostrado a continuación:

$$\text{gPH/gmuestra} = 0.0452 + 0.0059\text{time} - 0.000045\text{time}^2$$

Ya que el p-value del modelo es menor que 0.01 (Ver tabla 2) existe relación estadística entre la variable dependiente e independiente para un 99% de confianza. Por su parte la R^2 - estadística muestra que el modelo explica el 88.3 % de la variable gPH/gmuestra. Con vista a determinar si el orden de la polinomial es apropiada, es posible observar que el p-value del término de mayor orden es menor que 0.01, por lo que el mismo es estadísticamente significativo por un 99 % de confianza.(Ver tabla 1)

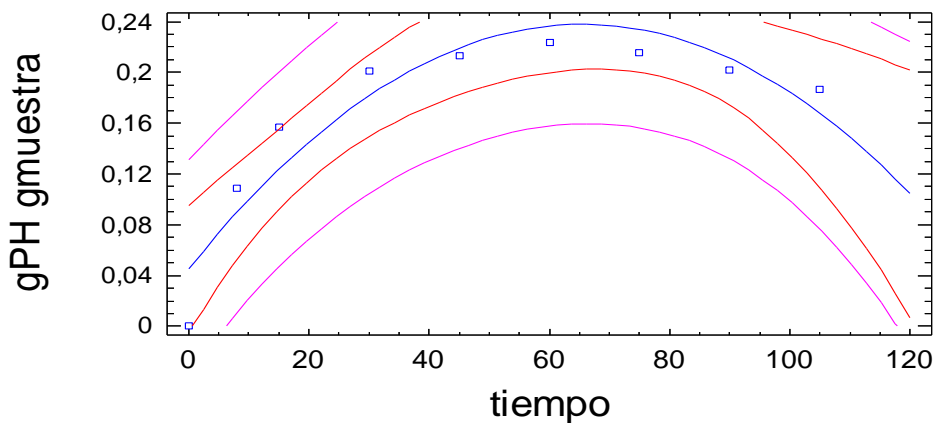


FIGURA 3.4.2 Curva del modelo orden 2

TABLA 3.4.2 Análisis de Regresión Polinomial

Análisis de Regresión Polinomial	
Variable dependiente: gPH * gmuestra	
Parámetro	P-Value
Constante	0.07
tiempo	0.0011
tiempo2	0.0033

Tabla 3.4.3 Análisis de Varianza.

Análisis de Varianza	
Source	P-Value
Modelo	0.0016

Después de haber obtenido el modelo se calculan los valores de concentración máxima de PH valor que denotamos como $C_{Bm\acute{a}x}$. y el tiempo ($t_{m\acute{a}x}$) correspondiente a este máximo de concentración determinándole la primera derivada e igualándola a cero, comprobando después si es un máximo o un mínimo para esto se obtiene la segunda derivada y comprobar si es mayor, menor o igual a cero, en este caso la segunda derivada es menor que cero por lo que estamos en presencia de un máximo. Posteriormente de haber realizado todos estos pasos se obtuvo los valores de $C_{Bm\acute{a}x} = 0.2380$ gPH/g muestra y $t_{m\acute{a}x} = 65.49$ min. Consecutivamente a estos cálculos se determinan los valores de k_1 y k_2 haciendo uso del método de las pendientes iniciales explicado anteriormente en el **epígrafe 2.2.6**

$$k_1 = 0,0204 \text{ min}^{-1}$$

$$k_2 = 0,00134 \text{ min}^{-1}$$

-Otra forma de hallar las constantes es haciendo uso de métodos matemáticos donde se parte de las ecuaciones:

$$t_{m\acute{a}x} = \frac{\ln k_2 / k_1}{k_2 - k_1} \quad C_{Bm\acute{a}x} = C_{Ao} \left(\frac{k_1}{k_2} \right)^{\frac{k_2}{k_2 - k_1}}$$

Realizando arreglos matemáticos llegamos a las ecuaciones donde podemos hallar k1 y k2 ,si $C_{B\ m\acute{a}x} < C_{Ao}$ y $\frac{C_{B\ m\acute{a}x}}{C_{Ao}} \neq 1/e$, entonces k1 y k2 se calculan por las ecuaciones

$$k_1 = -\frac{a \ln \frac{C_{Ao}}{C_{Bm\acute{a}x}}}{t_{m\acute{a}x}} \quad k_2 = \frac{\ln \frac{C_{Ao}}{C_{Bm\acute{a}x}}}{t_{m\acute{a}x}}$$

donde *a* es la solución de la ecuación.

TABLA 3.4.4 Comparación de las constantes.

Metodología	Constantes	
	k1 min-1	k2 min-1
Méto de las Pendientes Iniciales	0.0204	0.00134
Método Matemático	0.036	0.0033

Podemos ver que las constantes calculadas por ambas vías presentan en el mismos en ambos casos la k1 es un tanto mayor que k2, esto siendo semejante con lo encontrado en la literatura en **(Parajó y col 1994)**.

La conversión obtenida (90 %) en un tiempo de 65,49 min., en el estudio cinético comparada con el de la cascarilla de cebada a 120 °C y un tiempo semejante, es mayor, esto pudo ser debido a que en el estudio de este trabajo la concentración de ácido es mayor que el utilizado en el propuesto por **(Aguilar y Canizales-Leal, 2004)**. Esta utilización de concentración se debe a que la materia prima utilizada presenta una gran cantidad de lignina por lo que es necesario el pretratamiento a condiciones más rigurosas.

El contenido de g PH./g muestra obtenido está en el rango 192-323 mg/g de muestra encontrado en **(Paturau, 1989)**, este rango fue obtenido para el bagazo de caña de azúcar.

3.5 Propuesta del reactor discontinuo para el pretratamiento.

Con los datos y parámetros obtenidos experimentalmente en el pretratamiento ácido diluido se utiliza para la propuesta del reactor discontinuo. Realizando los gráficos propuestos en el capítulo 2 epígrafe 2.2.7 se puede ver el cumplimiento con lo reflejado en la literatura (Levenspiel, 1974), para reactores discontinuos. A continuación se observa los gráficos antes mencionados:

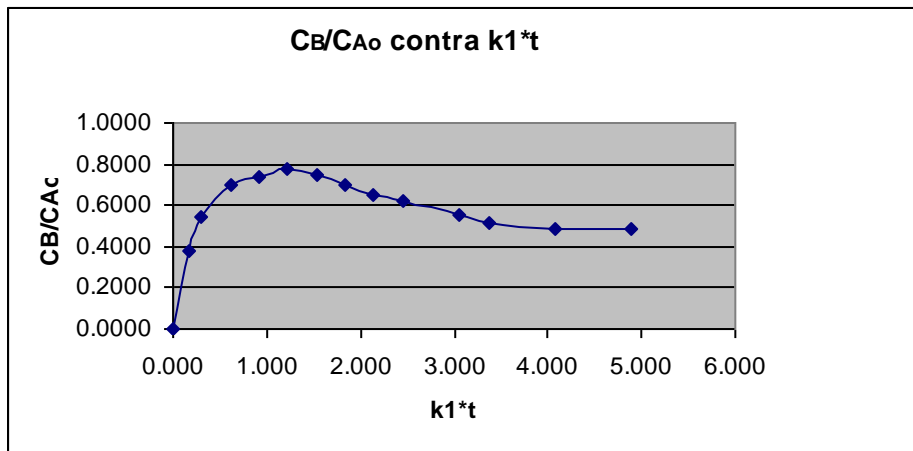


FIGURA 3.5.1 Curva (C_B/C_{A_0}) vs ($k_1 \cdot t$)

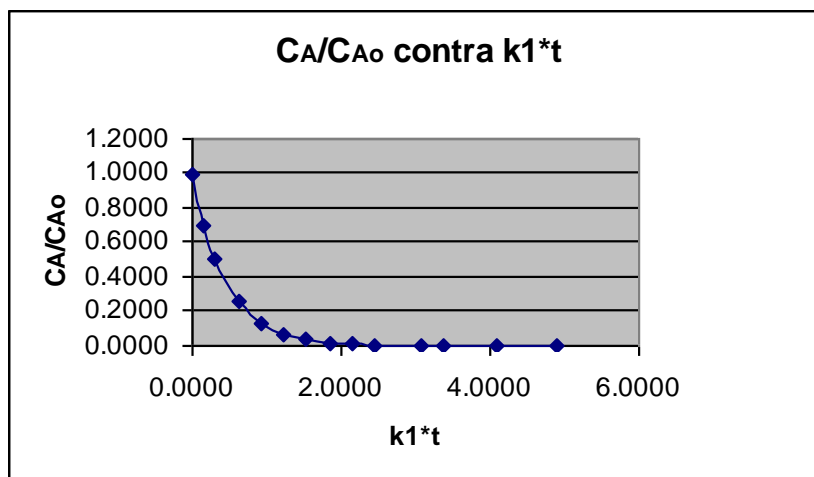


FIGURA 3.5.2 Curva (C_A/C_{A_0}) vs ($k_1 \cdot t$).

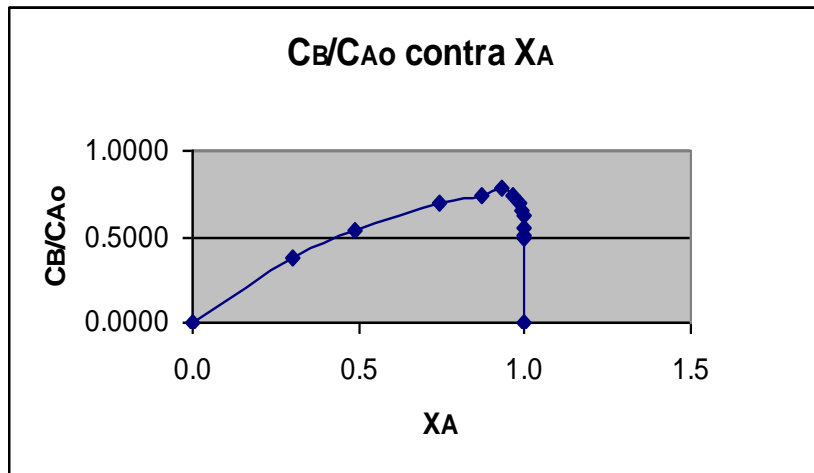


FIGURA 3.5.3 Curva (C_B/C_{A_0}) vs X_A

Nota: los valores con los que se realizaron los gráficos están en la tabla a continuación.

Tabla 3.5.1 Datos utilizados en la obtención de las gráficas anteriores.

K1*tiempo	C_B/C_{A_0}	C_A/C_{A_0}	X_A	C_A
0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.2886
0.1632	0.3777	0.6971	0.3029	0.2012
0.3060	0.5430	0.5084	0.4916	0.1467
0.6120	0.6961	0.2585	0.7415	0.0746
0.9180	0.7397	0.1314	0.8686	0.0379
1.2240	0.7755	0.0668	0.9332	0.0193
1.5300	0.7463	0.0340	0.9660	0.0098
1.8360	0.6997	0.0173	0.9827	0.0050
2.1420	0.6473	0.0088	0.9912	0.0025
2.4480	0.6196	0.0045	0.9955	0.0013
3.0600	0.5569	0.0012	0.9988	0.0003
3.3660	0.5132	0.0006	0.9994	0.0002
4.0800	0.4899	0.0001	0.9999	0.0000
4.8960	0.4897	0.0000	1.0000	0.0000

Propuesta del reactor

Se propone un reactor discontinuo ya que es poca la masa a pretratar; donde en este tipo de reactor su parámetro de diseño es el tiempo de residencia, que no es más que el tiempo en que deben permanecer los reactantes dentro del mismo para que se obtenga la conversión deseada; por lo que durante el desarrollo de este trabajo fueron determinados los mismos y para 10 kg. de materia prima se proponen los siguientes parámetros de trabajo:

- Tiempo de pretratamiento : 65.49 min

- Conversión : 90 %
- Masa a pretratar : 10 kg.
- Material del reactor: Acero Inoxidable
- Capacidad : 100 L
- Temperatura : 121°C
- Presión: 1.5 atm.

3.6 Conclusiones parciales.

- Los residuos del fruto de la *M. oleifera* poseen contenidos altos de polisacáridos y lignina, en comparación con otros recursos de biomasa
- La conversión obtenida en este pretratamiento, es mayor que la reportada en otros residuos utilizando el mismo pretratamiento.
- El método, usado para determinar el contenido de polisacáridos está en concordancia con la literatura reportada.
- Los datos obtenidos experimentalmente se ajustan con la literatura reportada para el uso de un reactor discontinuo.

Conclusiones Generales.

1. Los residuos de la cáscara del fruto de la *M. oleifera* por tener un alto contenido de carbohidratos constituyen una materia prima con gran potencial para producir bioetanol.
2. Se realizó el pretratamiento ácido diluido, donde se llegó, a un tiempo de 60 min. y una concentración de ácido de 4 % se obtuvo la máxima conversión de polisacáridos.
3. Mediante el estudio cinético del pretratamiento ácido diluido de la cáscara del fruto de la *M. oleifera* se determinó los valores de las constantes de velocidad k_1 y k_2 para así ser utilizadas en la propuesta del reactor.
4. Se calcula los parámetros cinéticos necesarios, haciendo uso de los valores obtenidos de conversión de polisacáridos, después del pretratamiento ácido diluido.
5. Se realiza los cálculos y gráficos correspondientes con vista a proponer un reactor de pretratamiento-

Recomendaciones

- Se recomienda realizar otros pretratamientos a la cáscara de la *M. oleifera* , para comparar la efectividad de estos con el realizado en el trabajo.
- Estudiar mezclas de la materia prima utilizada en el trabajo con otras para así comparar los resultados obtenidos.
- Estudiar el pretratamiento ácido diluido de la cáscara *M. oleifera* a escalas mayores para comparar los resultados obtenidos en laboratorio.

Bibliografía.

1. Abril, A. 2008 Etanol a partir de biomasa lignocelulósica. Memoria del I Taller Nacional de Etanol celulósico. pp. 231- 311 ISBN 97 8-959-7 165-22-4.
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. Bandana, Bose; Srivastava, R.C.; Mathur, S.N. 1987. Nodulation and nitrogenase activity in *Vigna mungo* in response to seed-soaking and root-dressing treatments of *Moringa* leaf extracts. *Indian Journal of Plant Physiology*. 30(4): 362-367.
6. Bashir, S. and Lee, S. (1994) Fuel ethanol production from agricultural, lignocellulosic feedstocks. A review. *Fuel Science Technol. Int'l.* **12**, 1427-1473.
7. Basso, L.C., Amorim, H. (2001) Industrial ethanol in Brazil: technological advances. *Memorias del III Taller Internacional de Producción de Alcohol*. Varadero, Cuba. ISBN 959-160095X.
8. Beardmore, D. H., Fan, L. T. and Lee, Y-H. (1980) Gamma-ray irradiation as a pretreatment for the enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnol. Lett.* **2**, 435-438.
9. Berg, C. (1998) Towards a world ethanol market? *F.O.Licht Commodity Analysis*, Germany.
10. Bjerre, A.B., Olesen, A.B., Fernqvist, T., Plöger, A., Schmidt, A.S. (1996a) Pretreatment of wheat straw using combined wet oxidation and alkaline hydrolysis resulting in convertible cellulose and hemicellulose. *Biores. Technol.*, **49**, 568-577.
11. Booth, F.E.M.; Wickens, G.E. 1988. Non-timber uses of selected arid zone trees and shrubs in Africa. *FAO Conservation Guide 19*. Rome: Food and Agriculture Organization. 176 p.

12. 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.
13. Brizuela, M.A., González, P., La Serna, G., Santiesteben, C. (2000) Enzima celulasa. En *Manual de los derivados de la caña de azúcar* (Ed. L.O. Gálvez). Tercera Edición. La Habana, Cuba.
14. 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.
15. Claassen, P.A., Sijtsma, L., Stams, A.J.M., De Vries, S.S., Weusthuis, R.A. (1999) Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **52**, 741-745.
16. Conner, A. 1984. Wood Fibre Science. 16 (2) 268.
17. Conner, A. 1984a Kinetic modelling of hardwood prehydrolysis. Part I xylan removal by water prehydrolysis. *Wood and Fibre Science*;16; (2): 268-77
18. 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.
19. 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.
20. Cuzens, J. C., Miller, J. R. (1996). Acid hydrolysis of bagasse for ethanol production. *Renewable Energy*, **10**, 285-290.
21. Dastur, J.F. 1964. Useful plants of India and Pakistan. Bombay: D.B. Taraporevala Sons and Co. 185 p.
22. 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.
23. Dekker R.F.H., Wallis, A.F.A. (1983) Enzymatic saccharification of sugarcane bagasse pretreated by autohydrolysis steam explosion. *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 3027-3048.
24. Di Pardo, J. (2000) Outlook for biomass ethanol production and demand. [Disponible en: <http://www.eia.doe.gov/oiaf/analysispaper/biomass.html>].

25. Domínguez, 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.
26. Foild, Siles, Sánchez. Marango, Moringa Oleifera Lam. Moringaceae. 1995. Especies para reforestación en Nicaragua. Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales. Servicio Forestal Nacional. (88)
27. Food and Agriculture Organization. 1982. Fruit-bearing forest trees: technical notes. FAO For. Pap. 34. Rome: Food and Agriculture Organization. 177 p
28. Francis, John K.; Liogier, Henri A. 1991. Naturalized exotic tree species in Puerto Rico. Gen. Tech. Rep. SO-82. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 12 p.
29. 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.
30. 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.
31. Geoff Folkard y John Sutherland. 1994 Moringa oleifera un árbol de mil usos (Disponible en: <http://tilz.tearfund.org/Espanol/Paso+a+Paso+11>)
32. Glasser W. G., Wright, R. S. (1998) Steam-assisted biomass fractionation. II. Fractionation behavior of various biomass resources. *Biomass and Bioenergy*, **14**, 219-235.
33. Gopalan C. et al. (1994), Nutritive Value of Indian Foods, Instituto Nacional de Nutrición, India.
34. Grassi, G. (1991). Biomass for Energy, Industry, Rural Development and environment. Informe Interno CEE. Abril 1991. 18 pp.
35. Grohmann, K., Baldwin, E.A., Buslig, B.S. (1994) Production of ethanol from enzymatically hydrolyzed orange peel by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. **45/46**. 315-327.
36. 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.

37. Grohmann, K., Manthey, J.A., Cameron, R.G., Buslig, B.S. (1998) Fermentation of galacturonic acid and pectin rich materials to ethanol by genetically modified strains of *Erwinia*. *Bioresource Letters*. **20**. 195-200.
38. Gupta, K.; Barat, G.K.; Wagle, D.S.; Chawla, H.K. 1989. Nutrient contents and antinutritional factors in conventional and non-conventional leafy vegetables. *Food Chemistry*. 31 (2): 105-116.
39. Hernández, M.T., Sais, T., Sánchez, O. (1986) *Microbiología de la Producción Azucarera. Producciones Microbianas Derivadas*. Universidad Central de Las Villas, Santa Clara, Cuba..
40. Hernández, Monzón Aldo. 1995. "Análisis Químico Cuantitativo". Editorial Félix Várela. La Habana. Tomo I. p. 356.
41. Holtzapfle, 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.
42. Hörmeyer, H. F., Schwald, W., Bonn, G. and Bobleter, O. (1988) Hydrothermolysis of birch wood as pretreatment for crystalline cellulose. *J. ferment. Technol.* **63**, 529-536.
43. ICIDCA. (1987) *La industria de los derivados de la caña de azúcar*. Editorial Científico-Técnica. La Habana.
44. Ingledeew, 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.
45. Jama, Bashir; Fair, P.K.R.; Kurira, P.W. 1989. Comparative growth performance of some multipurpose trees and shrubs grown at Machakos. Kenya. *Agroforestry Systems*. 9(1): 17-27.
46. Jahn, Samia Al Azharia; Musnad, Hassan A.; Burgstaller, Heinz. 1986. The tree that purifies water: cultivating multipurpose Moringaceae in the Sudan. *Unasyuva*. 38(2): 23-28 (**23**)
47. Kamiyama, Y.; Sakai, Y. 1979. *Carbohydrate Res.* 73, 151.
48. 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.

49. 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.
50. Koukious, E. ; Sidiras, D. 1995. *Cellulose Chem. Technol.* 29.
51. Kshirsagar, C.R.; D'Sonza, T.F. 1989. A new disease of drumstick. *Journal of Maharashtra Agricultural Universities.* 14(2): 241-242. **(30)**.
52. Lambert, R. J. and Stratford, M. (1999) Weak-acid preservatives: modeling microbial inhibition and response. *J. Appl. Microbiol.* **86**, 175-164.
53. 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.
54. Lee, J. (1997) Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *J. biotechnol.* 56, 1-24.
55. Leonovich, A.I.; Obolenskaia A.V., 1988. *Khimija drevesiny y polimerov. Lesnaja Promyshlennost.* Leningrod.
56. Levenspiel, O. 1974. *Ingeniería de las Reacciones Químicas.* Departamento de Ingeniería Química de la Universidad del Estado de Oregón. Editorial Pueblo y Educación. p. 45-195
57. Lizzy, K.S.; Narashima Rao, P.L.; Puttaswamy, T.L. 1968. Chemotherapy of bacterial infections. Part 4: Potential anticholera agents. *Indian Journal of Experimental Biology.* 6(3): 168-169. **(33)**
58. 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.
59. Mahatab, S.N.; Ali, A.; Asaduzzaman, A.H.M. 1987. Nutritional potential of sajna leaves in goats. *Livestock Advisor.* 12 (12): 9-12. **(35)**
60. 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.)
61. Martin, Franklin W.; Ruberté, Ruth M. 1979. *Edible leaves of the Tropics.* 2a ed. Mayaguëz, PR: U.S. Department of Agriculture, Science and Education Administration, Agricultural Research, Southern Region. 234 p. **(36)**.
62. Martin, C. (2002) Tesis Doctoral, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química Mecánica, Universidad de Matanzas, Matanzas, Cuba.

63. Marton, G. 1987. Furfurologyártó reaktorok optimális kinetikai tervezése (Optimal kinetic design of furfural reactors), D.Sc. Thesis, University of Veszprém
64. Marton, G.; Dencs, J.; Szokonya, L. 1989 in : Handbook of Heat and Mass Transfer, Gulf Publishing, Houston, TX, p.609.
65. 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.
66. 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.
67. 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.
68. Miller, G.L., 1959 Use of Dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, **31**, 420-428.
69. Morton, Julia F. (1991). The horseradish tree, *Moringa pterygosper* (Moringaceae)—A boon to arid lands? *Economic Botany.* **45**(3): 318-333.
70. Mossa, J.S. 1985. A study on the crude antidiabetic drugs used in Arabian folk medicine. *International Journal of Crude Drug Research.* **23**(3): 137-145.
71. Nápoles, A.I.; López, R., 1984. Hidrólisis y tratamientos químicos a los materiales celulósicos. Instituto cubano de investigaciones sobre los derivados de la caña de azúcar. Editorial Científico-Técnica. Ciudad de la habana. Cuba. 36-39.
72. Nautiyal, B.P.; Venhataraman, K.G. 1987. Moringa (drumstick) —an ideal tree for social forestry. 1: Growing conditions and uses. *Myforest.* **23**(1): 53-58.
73. Nguyen, Q. A. (1993) Economic analyses of integrating a biomass-to-ethanol plant into a pulp/saw mill. In: *Bioconversion of forest and agricultural residues.* (J. N. Saddler, ed.), CAB International, Wallingford, pp. 321-340.
74. Palmqvist, E., Hahn- Hägerdal, B., Galbe, M. and Zacchi, G. (1996) The effect of water- soluble inhibitors from steam- pretreated willow on the enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. *Enzyme Micro. Technol.* **19**, 470- 479
75. Palanisamy, V.; Kumaresan, K.; Jayabharathi, M.; Karivaratharaju, T.V. 1985. Studies on seed development and maturation in annual *Moringa*. *Vegetable Science.* **12**(2): 74-78.

76. Parajó; J.C.; Vázquez, D.; Alonso, J.L.; Santos, V.; Domínguez, H. 1994 Prehydrolysis of Eucalyptus wood with dilute sulphuric: operation in autoclave.
77. Pimentel, D. (2001) Ethanol fuels: Energy, economics and environmental impact. *Int. Sugar J.*, **103**, 491-494.
78. Playne, M. J. (1984) Increased digestibility of bagasse by pretreatment with alkalis and steam explosion. *Biotechnol. Bioeng.* **26**, 426-433
79. Ramachandran, C.; Peter, K.V.; Gopalakrishnan, P.K. 1980. Drumstick (*Moringa oleifera*): a multipurpose Indian vegetable. *Economic Botany.* 34(3): 276-283. **(47)**
80. Root, D.; Saeman, J.; Harris, J.; Neill, W.; 1959. *For. Pro. J.* 9 (5) (1959) 158.
81. Schurz, J. (1997) How to make native lignocellulosic materials accessible to chemical and microbial attack. *Proc. Bioconversion. Symp. IIT Delphi*, 37-58.
82. Sharma, G.K.; Raina, V. 1982. Propagation techniques of *Moringa oleifera* Lam. En: Khosla, P.K., ed. Improvement of forest biomass: Proceedings of a symposium; Noviembre de 1980 20-21; Solan, India. Solan, India: Indian Society of Tree Scientists: 175-181. **(48)**
83. Singh, Umrao; Wadhwani, A.M.; Johri, B.M. 1983. Dictionary of economic plants in India. 2^a ed. New Delhi: Indian Council of Agricultural Research. 288 p.
84. 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.
85. Szengyel, Z. 2000. Ethanol from wood: cellulase enzyme production. PhD Thesis. Department of Chemical Engineering I, Lund University, Sweden.
86. Szokonya, L.; Kovacs, G.; Marton, G.; Havas-Dencs, J. 1989. Chemical processing of biomass II- Production of levulinic acid by acid hydrolysis of plant materials. *Hungarian Journal of Industrial chemistry* ; 17:477-90
87. Szolnoki, T.W. 1985. Food and fruit trees of the Gambia. Hamburg, Germany: Bundesforschungsanstalt für Forstund Holzwirtschaft. 132 p.
88. Taherzadeh, M.J., Karimi 2007 a. Acid –based hydrolysis processes for ethanol from lignocelulosic materials: a review. *BioResources*, 2, 472-499.
89. Taherzadeh, M.J., Karimi 2007 b. Enzyme –based hydrolysis processes for ethanol from lignocelulosic materials: a review. *BioResources*, 2, 707-738.

-
90. Tengborg, C. 2000. Ethanol from biomass: optimisation of pretreatment and hydrolysis. PhD Thesis. Department of Chemical Engineering I, Lund University, Sweden.
 91. Trickett, R. 1984. Utilisation of bagasse for the production of C5- and C6-sugar, Masters Thesis, University of Natal, Durban, South Africa.
 92. Varshney, A. K. and Patel, D. P. (1988) Biomass delignification – Organosolv approach. *J. Sci. Ind. Research.* **47**, 315-319.
 93. Vivien, J. 1990. Wild fruit trees of Cameroon. *Fruits (Paris)*. 45(2):149-160.
 94. Waltz, E 2008. Cellulosic ethanol booms despite unproven business models. *Nature Biotechnology*, 26, 8-9.
 95. Wheals, A.E., Basso, L.C., Alves, D.M.G., Amorim, H.V. (1999) Fuel ethanol after 25 years. *Trends Biotechnol.*, **17**, 482-487.
 96. Wheeler, K., Janshekar, H., Sakuma (1991) Ethyl alcohol, en *Chemical Economics Handbook*. SRI International, USA..
 97. Wyamn, C.E. (1999) Ethanol from lignocellulosic biomass: Technology, economics, and opportunities. *Bioresourse. Technol.* 50 3-16.
 98. Yang, B., Lu, Y., Gao, K., Deng, Z. (1997). Study on the hydrolysate of sugarcane bagasse to ethanol by fermentation. *Chin. J. Biotechnol.*, **13**, 253-261.

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.

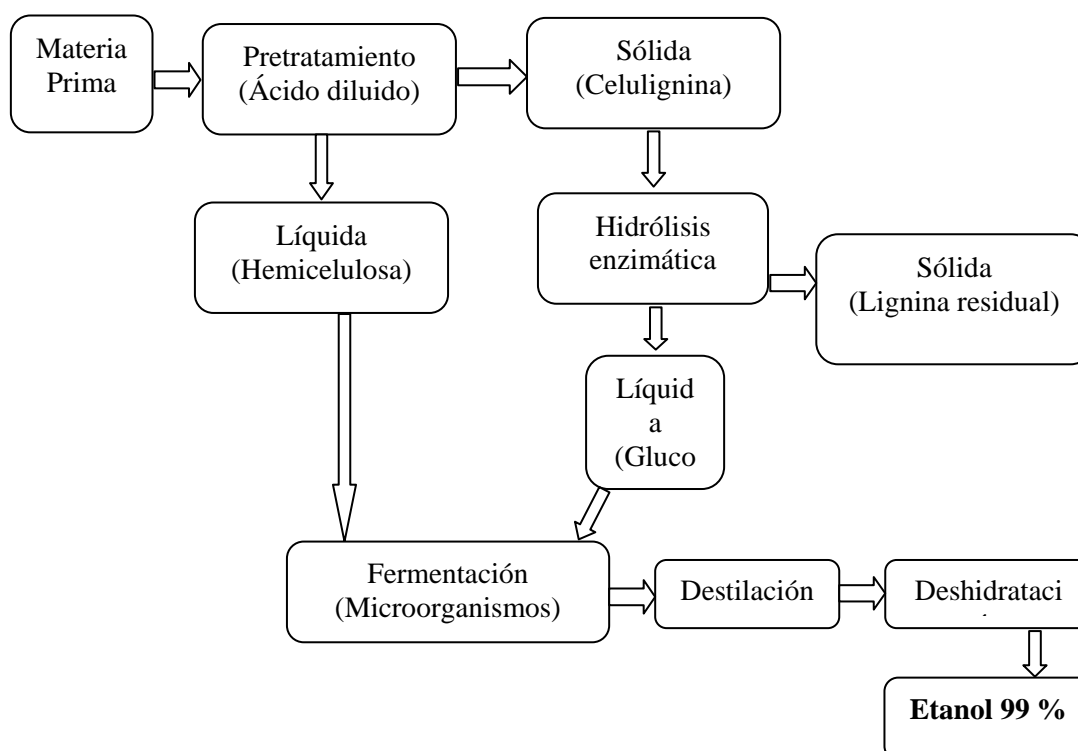


FIGURA 1. Esquema simplificado del proceso de obtención de etanol a partir del residuo de cáscara de *M. oleifera*.

Anexo 2



FIGURA 1. Árbol Moringa oleifera.

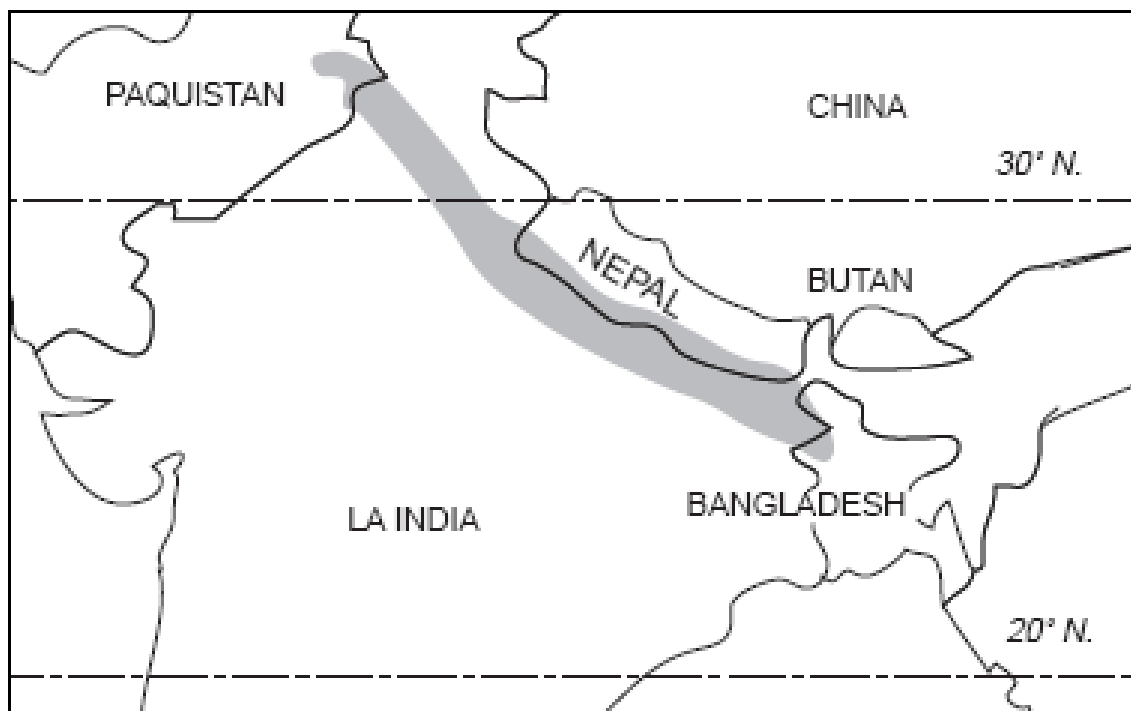


FIGURA 2. La distribución natural del árbol M. oleífera se encuentra sombreada

Anexo 3



FIGURA 1 Plagas en el cultivo de *Moringa oleifera*.

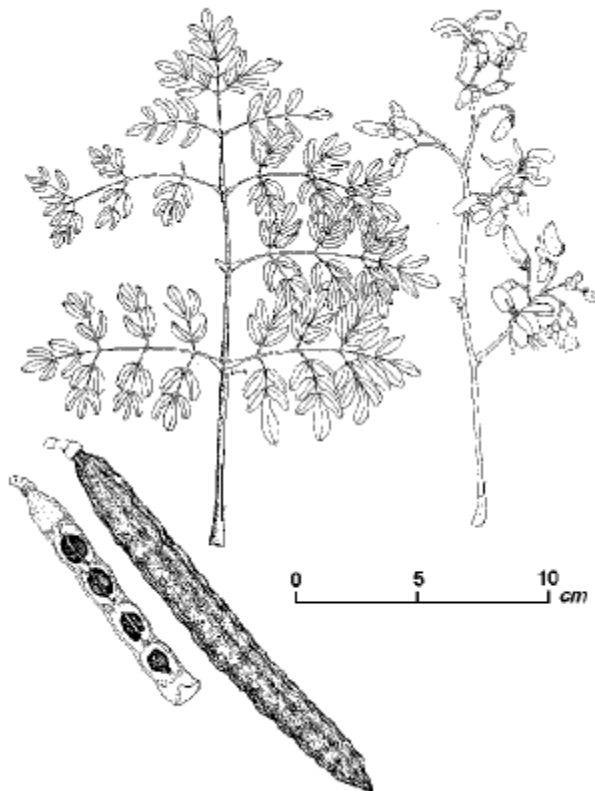


FIGURA 2. Follaje, flores y fruto del *Moringa oleifera*.

Anexo 4

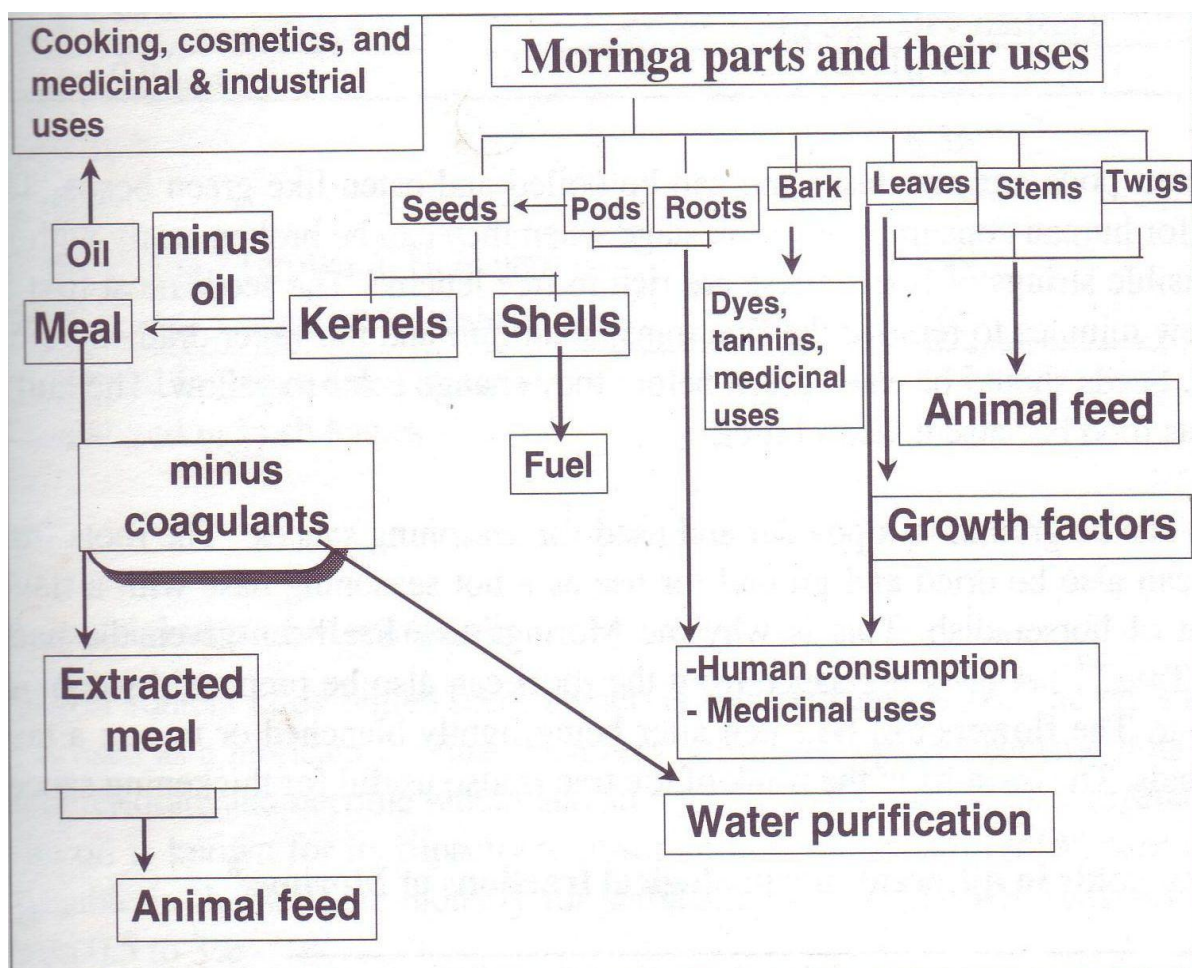


FIGURA 1. Diferentes usos del árbol *Moringa oleifera*.

TABLA 1: Tabla comparativa del contenido nutritivo de las hojas de *Moringa oleifera* con otros alimentos (por cada 100 gramos de parte comestible).

Nutriente	Moringa	Otros alimentos
Vitamina A (mcg)	1,130	Zanahorias: 315
Vitamina C (mg)	220	Naranjas: 30
Calcio (mg)	440	Leche de vaca: 120
Potasio(mg)	259	Plátanos: 88
Proteínas(mg)	6,700	Leche de vaca: 3,200

Anexo 5

TABLA 1. Datos del estudio cinético a 2 % de ácido sulfúrico.

Tabla Final								
Ácido	Sólido	Tiempo	Absorbancia	Concentración (mg/mL)	Masa Xilano (mg/ml)	g PS hidroliz./g muestra	g PS hidroliza/g PS totales	Conversión %
2	10	0	0	0	0	0	0	0
		8	0,195	10,9484	9,6038	0,1057	0,3872	38,72
		15	0,217	12,1461	10,6545	0,1173	0,4296	42,96
		30	0,23	12,8539	11,2753	0,1241	0,4546	45,46
		45	0,298	16,5560	14,5228	0,1599	0,5855	58,55
		60	0,356	19,7136	17,2927	0,1903	0,6972	69,72
		75	0,367	20,3125	17,8180	0,1961	0,7184	71,84
		90	0,378	20,9114	18,3433	0,2019	0,7396	73,96
		105	0,39	21,5647	18,9164	0,2082	0,7627	76,27
		120	0,408	22,5446	19,7760	0,2177	0,7974	79,74
		135	0,409	22,5991	19,8238	0,2182	0,7993	79,93
		150	0,406	22,4358	19,6805	0,2166	0,7935	79,35
		165	0,37	20,4758	17,9613	0,1977	0,7242	72,42
		200	0,33	18,2981	16,0510	0,1767	0,6472	64,72
240	0,29	16,1204	14,1407	0,1556	0,5701	57,01		

Continua

Anexo 6

Tabla Final								
Ácido	Sólido	Tiempo	Absorbancia	Concentración (mg/mL)	Masa Xilano (mg/ml)	g PS hidroliz./g muestra	g PS hidroliza/g PS totales	Conversión %
4	10	0	0	0	0	0	0	0
		8	0,201	11,2750	9,8904	0,1089	0,3988	39,88
		15	0,292	16,2293	14,2362	0,1567	0,5740	57,40
		30	0,376	20,8025	18,2478	0,2009	0,7357	73,57
		45	0,4	22,1091	19,3939	0,2135	0,7819	78,19
		60	0,26	23,1794	20,3328	0,2238	0,8198	81,98
		75	0,25	22,3084	19,5687	0,2154	0,7890	78,90
		90	0,234	20,9146	18,3462	0,2019	0,7397	73,97
		105	0,216	19,3467	16,9708	0,1868	0,6842	68,42
		120	0,2065	18,5192	16,2449	0,1788	0,6550	65,50
		135	0,19	17,0819	14,9841	0,1649	0,6041	60,41
		150	0,185	16,6463	14,6021	0,1607	0,5887	58,87
		165	0,17	15,3397	13,4559	0,1481	0,5425	54,25
		200	0,16	14,6429	12,8446	0,1414	0,5179	51,79
		240	0,666	14,6363	12,8389	0,1413	0,5177	51,77

Anexo 7

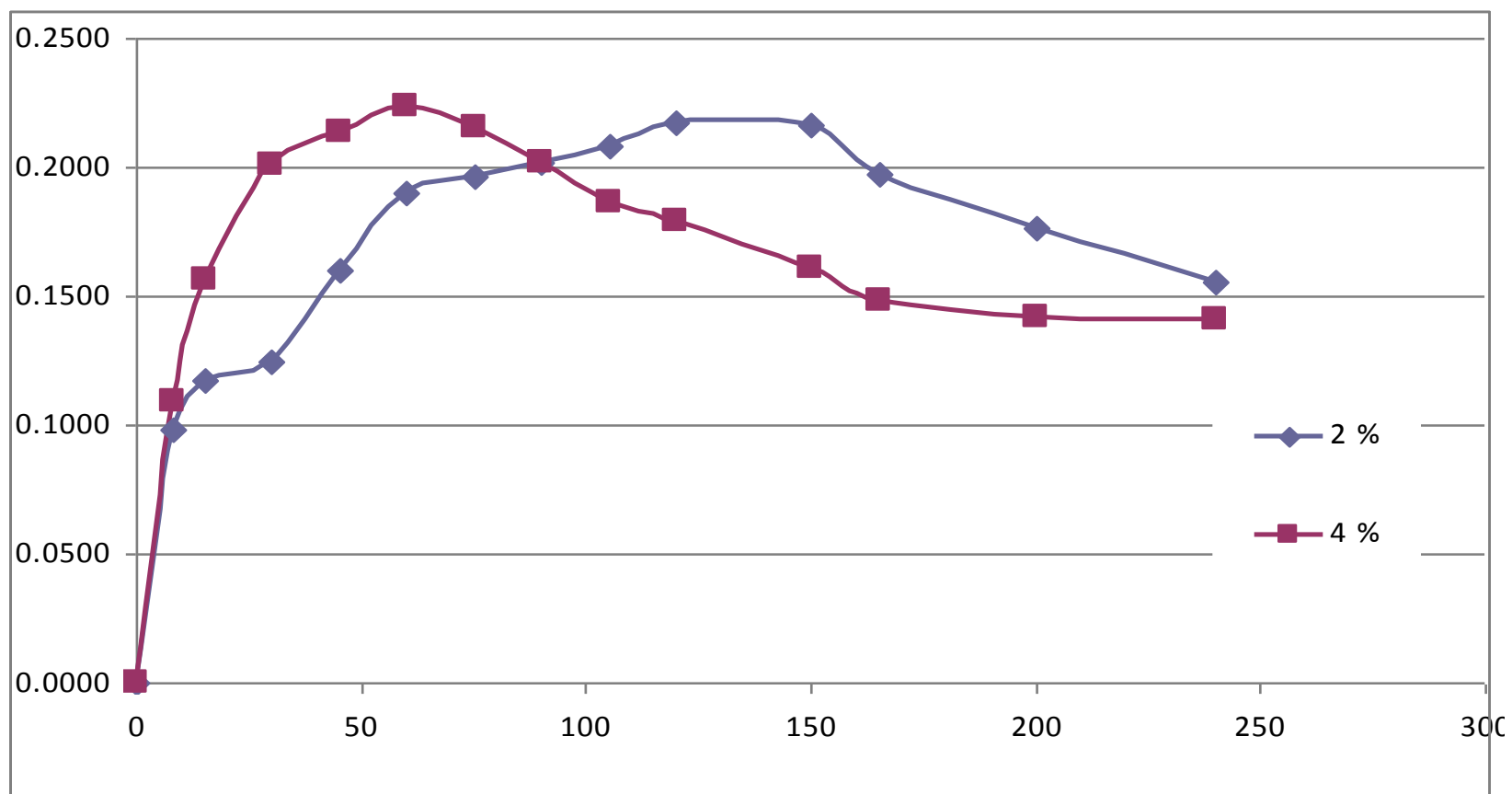


FIGURA 1. Cinética del pretratamiento ácido diluido de cáscaras de *M. oleifera*.

Anexo 8

K1*tiempo	C_B/C_{A0}	C_A/C_{A0}	X_A	C_A
0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.2886
0.1632	0.3777	0.6971	0.3029	0.2012
0.3060	0.5430	0.5084	0.4916	0.1467
0.6120	0.6961	0.2585	0.7415	0.0746
0.9180	0.7397	0.1314	0.8686	0.0379
1.2240	0.7755	0.0668	0.9332	0.0193
1.5300	0.7463	0.0340	0.9660	0.0098
1.8360	0.6997	0.0173	0.9827	0.0050
2.1420	0.6473	0.0088	0.9912	0.0025
2.4480	0.6196	0.0045	0.9955	0.0013
3.0600	0.5569	0.0012	0.9988	0.0003
3.3660	0.5132	0.0006	0.9994	0.0002
4.0800	0.4899	0.0001	0.9999	0.0000
4.8960	0.4897	0.0000	1.0000	0.0000