

**CAPÍTULO I**  
**MARCO TEÓRICO**

## MARCO TEÓRICO

### 1.1 Bioetanol

El alcohol etílico o etanol, es un producto químico obtenido a partir de la fermentación de los azúcares que se encuentran en los productos vegetales, tales como cereales, remolacha, caña de azúcar, sorgo, etc. Estos azúcares están combinados en forma de sacarosa, almidón, hemicelulosa y celulosa. Las plantas crecen gracias al proceso de fotosíntesis, en el que la luz del sol, el dióxido de carbono de la atmósfera, el agua y los nutrientes de la tierra forman moléculas orgánicas complejas como el azúcar, los hidratos de carbono y la celulosa, que se concentra en la parte fibrosa de la planta. (ecologiaverde.com, 2019).

#### 1.1.1 Materia prima para la producción de bioetanol

Desde la antigüedad el etanol se obtiene por medio de la fermentación anaeróbica de azúcares con levaduras en solución acuosa y posterior a una breve destilación. La aplicación principal tradicional ha sido la producción de bebidas alcohólicas.

Hoy en día se utilizan varios tipos de materia prima para la producción a gran escala de etanol de origen biológico (bioetanol), para ello principalmente tenemos:

- Sustancias con alto contenido de sacarosa como: (Caña de azúcar, Remolacha, Melazas, Sorgo dulce).
- Sustancias con alto contenido de almidón como: (Maíz, Patata, Yuca).
- Sustancias con alto contenido de materia lignocelulosa como: (Madera, Residuos agrícolas, pasto).

#### 1.1.2 Clasificación de acuerdo al tipo de materia prima

El Bioetanol se clasifica en primera y segunda generación, se representa por las siglas (1G, 2G), el primero es obtenido a partir de materias primas que poseen alto contenido de azúcares simples y fermentables, como la glucosa, fructosa, galactosa y remolacha. Mientras que el bioetanol de segunda generación (2G) es el producido a partir de biomasa lignocelulósica.

El efecto, el uso del bioetanol 2G ha tenido creciente interés global por muchos factores, uno de los principales es el aprovechamiento de la materia prima residual, entre otros que lo diferencia del 1G. (Balat, 2014)

### 1.1.3 Características fisicoquímicas del bioetanol

Por sus propiedades fisicoquímicas, el bioetanol se considera un sustituto de la gasolina en los motores de ciclo Otto, en la tabla I-1 que se observa a continuación, se muestran las características fisicoquímicas que hacen posible la utilización del bioetanol. (Masiero, 2011).

**Tabla I-1** Parámetros fisicoquímicos del Bioetanol.

Parámetros	Unidades	Etanol
Fórmula	-	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -OH
Peso molecular	kg/mol	46.07
Estado de agregación	-	Líquido
Oxígeno	% en peso	34.80
Densidad	kg/m <sup>3</sup>	789
Solubilidad en agua	%	100
Calor latente de vaporización	kJ/kg	850
Temp. de ebullición	°C	78
Temp. de fusión	°C	-114
Poder calorífico inferior	kJ/kg	28. 225
Relación aire/combustible estequiometria	-	9.0
Presión de vapor	kPa	15 – 17
Temp. de ignición	°C	420
Acidez	pKa	15.9
Punto de inflamación	°C	13

**Fuente:** Perspectivas de un programa de Biocombustibles en América Central, Convenio CEPAL/ República federal de Alemania, Luis Augusto Horta Nogueira marzo 2004.

## 1.2 Biocombustibles

Un biocombustible es un tipo de combustible cuya producción se desarrolla mediante un tratamiento químico o físico de desechos orgánicos o de plantas (biomasa). Cabe recordar que un combustible, por otra parte, es un material que, al arder, libera energía.

Los biocombustibles suelen ser una combinación de sustancias orgánicas que se emplea en motores de combustión interna. La soja, el pino y el maíz están entre las materias primas de los biocombustibles.

Varios países han establecido leyes para que los proveedores tengan la obligación de mezclar combustibles fósiles con biocombustibles, ya que estos biocombustibles ayudan a reducir el dióxido de carbono y son renovables.

Uno de los biocombustibles más populares es el biodiesel, obtenido de lípidos de origen natural. Los aceites vegetales, de soja, colza u otras especies, son el principal recurso para la fabricación de biodiesel.

El bioetanol es otro biocombustible de uso extendido. Su producción se realiza mediante la fermentación alcohólica del azúcar proveniente de la remolacha o de la caña de azúcar y de material lignocelulósico de las plantas.

De la misma manera, no podemos pasar por alto la existencia de otro biocombustible que responde al nombre de biogás. Este se genera a partir de lo que es la biodegradación de materia orgánica. Se puede utilizar para calderas, hornos, estufas, etc.

La fabricación y el uso de biocombustibles tienen puntos positivos pero también aspectos negativos. Entre las ventajas, suele mencionarse que son combustibles sostenibles (su materia prima puede renovarse) y menos contaminantes que los combustibles procedentes del petróleo o el carbón. De la misma manera, se resalta que ofrecen un gran rendimiento y que incluso pueden llegar a producirse en laboratorios.

Como desventaja, la generación de biocombustibles puede llevar a la deforestación y a generar un incremento en el precio de la comida (ya que las plantas, en lugar de

destinarse a la alimentación, se usan para producir el biocombustible; al caer la oferta de alimentos, sube su precio). (J. Pérez y M. Merino, 2016).

### 1.3 Características del Maíz (*Zea mays*)

El maíz, llamado (*Zea mays*), es originario de la América (Bolivia, Perú y México), desarrollando en zonas de clima templado y tropical, especialmente por los valles de Cochabamba, Chuquisaca y Tarija.

Es una planta herbácea, de 2 a 3 metros de alto, anual (vive medio año); raíz fibrosa (suele tener raíces adventicias); tallo blando, cilíndrico, nudoso; hojas envainadoras, alternas, lanceoladas y rectinerviadas; flores apétalas, fruto distribuido en varias hileras de granos en mazorca alrededor del marlo (olote) y envuelto en tusas llamadas chala o carampo; las semillas son los mismos granos que tienen forma aplastada y angulosa de 1 a 2 centímetros de largo y que, según las variedades, pesan hasta un gramo. (Wikipedia, 2018).

Dentro de la variedad del maíz existen varios, siendo las principales los siguientes:

**Tabla I-2** Tipos de maíz en Bolivia.

N°	Tipos de maíz	% Producción
1	Amarillo duro	29.0
2	Blanco duro	19.5
3	Blanco dentado	24.0
4	Amarillo dentado	14.5
5	Harinoso y Morocho	5.6
6	Reventón, dulce y ceroso	3.8
7	Otros tipos	Muy limitado (3.6)

**Fuente:** CMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y el Trigo), 2002, 2012.

### **1.3.1 División del maíz (*Zea mays*)**

El fruto o mazorca está constituido por 4 partes que son:

#### **1.3.1.1 Pedúnculo**

Es lo restante del órgano de adhesión del grano de maíz con el olote, constituye aproximadamente el 1% en peso seco del grano. Está compuesto de células en forma de estrellas, arregladas en una estructura esponjosa bien adaptada para una rápida absorción de humedad. Entre la punta y la base del germen hay un tejido conocido como hilar que aparentemente funciona como mecanismo de sellado cuando el grano llega a su madurez fisiológica. (Watson, 1988; Fussell, 1992).

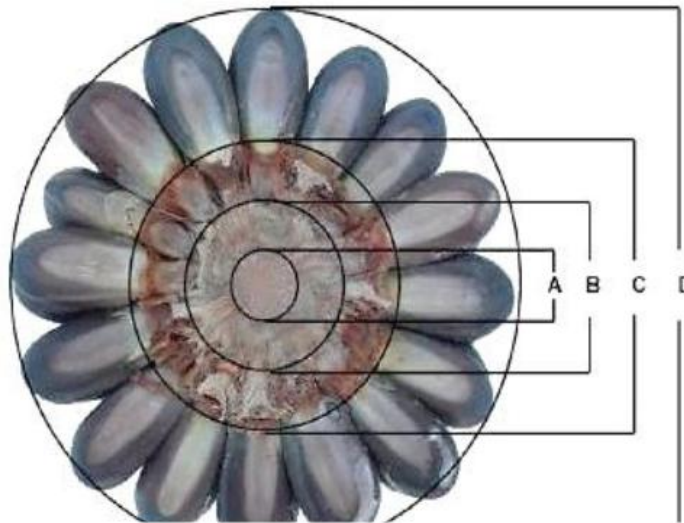
#### **1.3.1.2 Brácteas**

Es la envoltura del fruto, de color amarillento y consistencia fibrosa, la mazorca de maíz contiene hasta 50 unidades de brácteas, que miden 12 cm de ancho, 22 cm de largo y 0.1 mm de diámetro, esto favorece el grano y al olote de la pudrición por el exceso de agua. (Watson, 1988; Fussell, 1992).

#### **1.3.1.3 Marlo (Olote)**

Es el centro de la mazorca, también conocida como olote, como podemos ver en la (figura I.1). Está formado por la médula (A) de color blanco, su consistencia no es tan rígida y es rica en azúcares, el rabís (B) está después de la médula su consistencia es rígida y fibrosa, el color normalmente blanquecino, contiene celulosa, hemicelulosa y lignina, (C) es el olote a la que se suma (A) y (B), luego está (D) que es toda la mazorca. (Watson, 1988; Fussell, 1992).

**Figura I-1** Estructura del marlo (olote) de maíz.



**Fuente:** Watson, 1988; Fussell, 1992.

#### **1.3.1.4 Granos o carióspsides**

Se encuentra a razón de 600 – 1000 unidades por mazorca, dispuestos en hileras en el marlo (olote), pueden ser dentados o semidentados. Están constituidos por cuatro partes principales que son el endospermo, pericarpio (cáscara), germen y piloriza. (Watson, 1988; Fussell, 1992).

#### **1.4 Composición del maíz (*Zea mays*)**

En el maíz se encuentran componentes muy nutritivos (energía, macro y micronutrientes), luego de su cosecha el maíz tiene un promedio de 80% agua y 20% materia seca, cuando se lo deshidrata tiene un promedio de 87% materia seca y 13% de agua o humedad.

**Tabla I-3** Composición fisicoquímica del maíz.

N°	Parámetros	Por 100 gramos de parte comestible	Unidades
1	Energía	355	kcal
2	Proteína	6.70	g
3	Grasa total	4.80	g
4	Glúcidos	63.60	g
5	Fibra	3.80	g
6	Calcio	6	mg
7	Hierro	1.92	mg
8	Vitamina A	0	mg
9	Vitamina C	0.70	mg

**Fuente:** Edith Agama-Acevedo. 15 de febrero del 2013.

La composición se puede modificar por factores tales como la variedad, la localidad donde se produce, el tipo de suelo, el clima y las condiciones de cultivo.

Las enfermedades y plagas, la duración de los ciclos productivos también afectan. De igual manera la composición se modifica con la preparación a nivel casero y con su procedimiento a nivel industrial (Pertuz, S. 2014).

### **1.5 Componentes del material lignocelulósico del marlo (olote) del maíz**

Los componentes de los materiales lignocelulósicos se clasifican en componentes estructurales y componentes secundarios. (Bidlack, Malonge, Benson, 2000).

#### **1.5.1 Componentes estructurales**

Estos forman tres polímeros, la celulosa, la lignina y la hemicelulosa. Del total de compuestos que forman los materiales lignocelulósicos casi la mitad son celulosa y un 20 % lignina. (Bidlack, Malonge, Benson, 2000).



### **1.5.1.1 Celulosa**

Es un homopolímero lineal de elevado peso molecular y grado de polimerización entre 200 y hasta 10 000 unidades en estado nativo de  $\beta$ -D-glucopiranosas unidas por enlaces glicosídicos o de tipo éter entre el carbono 1 y 4 (1-4). Así mismo la celulosa es el componente principal de las paredes celulares de los vegetales y el polímero mayoritario del planeta, tiene una estructura fibrosa, es blanda, muy estable y resistente al ataque químico, también a la tracción mecánica. (Bidlack, Malonge, Benson, 2000).

### **1.5.1.2 Hemicelulosa**

Forma cadenas ramificadas de menor grado de polimerización que la celulosa, por lo tanto no tienen zonas cristalinas. Además los puentes de hidrógeno son menos eficaces haciendo de la hemicelulosa polisacáridos más accesibles al ataque de reactivos químicos. Los monómeros que constituyen la hemicelulosa son principalmente monosacáridos y derivados de las osas como los ácidos úricos. (Bidlack, Malonge, Benson, 2000).

### **1.5.1.3 Lignina**

Es un polímero aromático de estructura tridimensional bastante compleja, muy ramificada y amorfa, formada por la condensación de precursores fenólicos unidos por diferentes enlaces, dicho polímero presenta las siguientes funciones (Bidlack, Malonge, Benson, 2000).

- Proteger a la celulosa del ataque microbiano
- Conferir resistencia e impermeabilidad al material
- Mantener unidas las fibras celulósicas

## **1.5.2 Componentes secundarios**

Son componentes generalmente en menor proporción que son:

### 1.5.2.1 Terpenos

Se considera polímeros del isopreno y están relacionados con los alcoholes terpenicos y algunas cetonas.

### 1.5.2.2 Resinas

Amplia variedad de componentes no volátiles como grasas, ácidos grasos, alcoholes, resinas ácidas, Fito esteroides y otros compuestos neutros.

### 1.5.2.3 Fenoles

Como los taninos que son poli fenoles derivados de ácido gálico y de la catequina.

**Otros:** entre los que se encuentran hidratos de carbono de bajo peso molecular, alcaloides y lignina soluble.

**Tabla I-4** Características fisicoquímicas del marlo (olote) del maíz.

N°	Parametros	Valor promedio
1	% Humedad	0.2020
2	% Cenizas	1.9560
3	pH	5.5660
4	% Extractivos totales	0.3627
5	% Celulosa	36.7052
6	% Lignina	19.7272
7	% Hemicelulosa	43.5676

**Fuente:** Negret & Cheng, 2010.

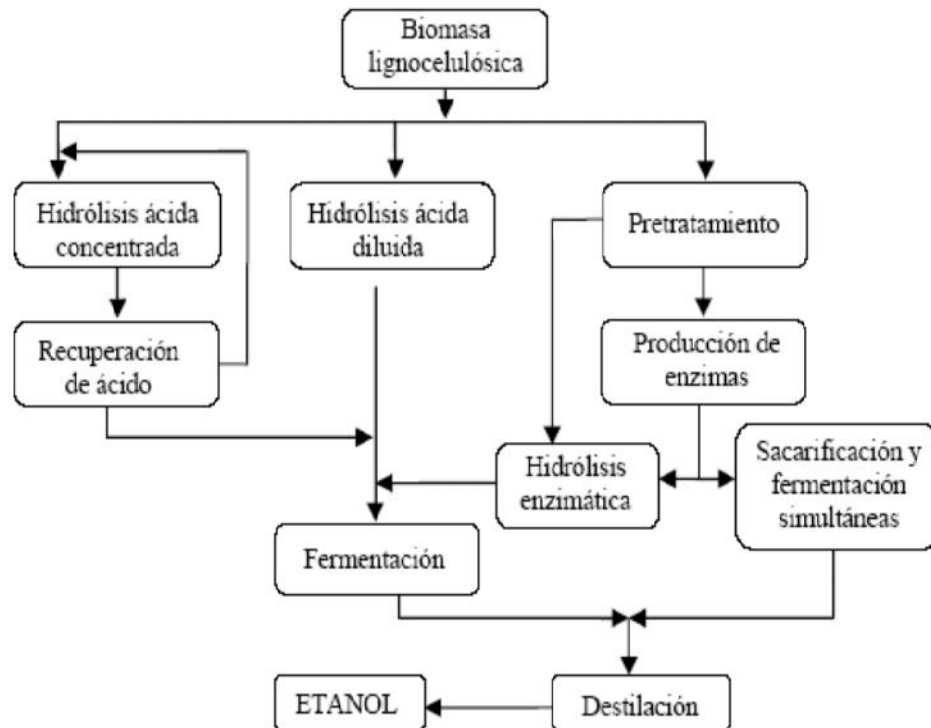
## 1.6 Obtención de etanol a partir de residuos lignocelulósicos

La obtención de azúcares monoméricos a partir de biomasa lignocelulósica con buenos rendimientos es un proceso más complejo que a partir de materias primas ricas en almidón o en azúcar, como el maíz o la caña de azúcar. La razón fundamental es la diferente forma en que se encuentran los azúcares en los distintos tipos de biomasa, a

medida que aumenta la complejidad de la estructura de la materia prima de partida se incrementa también la del proceso de obtención de etanol. Por tanto, aunque la materia prima de partida sea mucho más económica, el proceso de obtención de los azúcares sencillos es más complejo.

La producción de etanol a partir de residuos lignocelulósicos puede realizarse por distintas vías, Galbe y Zacchi (2002), que difieren básicamente en la generación de los azúcares monoméricos a partir de la celulosa y hemicelulosa de la materia prima: hidrólisis ácida, concentrada o diluida, o hidrólisis enzimática. (Negret & Cheng, 2010.)

**Figura I-2** Obtención de etanol a partir de residuos lignocelulósicos.



**Fuente:** Galbe y Zacchi 2002.

Independientemente de la vía seguida, los siguientes factores resultan claves, Hahn Hägerdal et al. (2006):

- eficiente de polimerización de celulosa y hemicelulosa hasta azúcares solubles

- eficiente fermentación de los hidrolizados, que contienen una mezcla de hexosas, pentosas y compuestos inhibidores de la fermentación
- una adecuada integración de las etapas del proceso, que permita minimizar la demanda energética
- aprovechamiento de la lignina

Todos los procesos incluyen la hidrólisis de celulosa y hemicelulosa, fermentación de los azúcares y la recuperación del producto.

### **1.7 Proceso para la obtención de etanol**

Por lo que se refiere al proceso de obtención de bioetanol de segunda generación, mantiene la consecución de las siguientes etapas: Pretratamiento, hidrólisis de celulosa y hemicelulosa, fermentación, recuperación y purificación del bioetanol. Estas etapas pueden llevarse a cabo mediante distintas configuraciones de proceso y dentro de cada una de ellas existen múltiples alternativas (Benito, 2013).

#### **1.7.1 Pretratamiento**

El Pretratamiento es una etapa crucial en el proceso de obtención de bioetanol, debido a la compleja estructura de la biomasa lignocelulósica. La finalidad es mejorar la digestibilidad de los materiales lignocelulósicos. Las propiedades fisicoquímicas y el comportamiento de cada materia prima son diferente, por lo que es necesario aplicar el pretratamiento adecuado, dependiendo del tipo de biomasa. (Hendriks, 2009).

Un tratamiento considerado bueno y efectivo debe cumplir con los siguientes objetivos:

- Provocar la solubilización o redistribución de la lignina
- Disociar el revestimiento que la lignina y la hemicelulosa forman alrededor de la celulosa con el fin de aumentar la accesibilidad del ácido.
- Alterar las características estructurales de la celulosa como la cristalinidad y el grado de polimerización
- Ser efectivo para una variedad de materias primas

- Asegurar la recuperación de los componentes de la biomasa lignocelulósica: celulosa, hemicelulosa y lignina
- Evitar la formación de productos de degradación y compuestos potencialmente inhibitorios
- Evitar la degradación de azúcares
- Evitar la necesidad de pasos previos de preparación de la materia prima
- Ser efectivo para grandes cargas de sólido

Tener un coste moderado, tanto en la inversión como en la operación, ya que se ha estimado que el pretratamiento representa aproximadamente el 33 % del coste total del proceso. (Alvira, 2010).

Así mismo, se han propuesto y desarrollado variedad de tecnologías de pretratamiento de biomasa lignocelulósica que pueden ser clasificadas en cuatro grupos:

Pretratamiento mecánico, térmico, físico-químicos, químicos y biológicos.

### **1.7.1.1 Pretratamiento mecánico**

#### **1.7.1.1.1 Trituración mecánica**

Molienda para reducción de partícula del tamaño de malla inferior a 40mm, tiene un efecto mínimo en los rendimientos de la hidrólisis, así como la tasa de hidrólisis de la biomasa.

#### **1.7.1.1.2 Ultrasonido**

Es una técnica empleada para extraer lignina y hemicelulosa, en estudios realizados, emplearon este método a 25°C y diferentes períodos de tiempo entre 10 a 60 min, donde el mejor tiempo de residencia fue de 30 min, sin embargo, el efecto sobre la biomasa es muy superficial comparado con métodos como el pretratamiento con peróxido de hidrógeno

### **1.7.1.2 Pretratamiento térmico**

En este tipo de pretratamiento, la materia prima es calentada en un rango de 150 – 180 °C, donde la hemicelulosa y la lignina son solubilizadas (Bobleter, 2000). Temperaturas superiores a 180 °C solubiliza la hemicelulosa. Durante los procesos térmicos una parte de la hemicelulosa es hidrolizada y forma ácidos, estos son asumidos como catalizadores para hidrolizar la hemicelulosa

Las clasificaciones para este pretratamiento son la explosión por vapor y agua líquida a alta temperatura

#### **1.7.1.2.1 Explosión por vapor**

La materia prima se somete a temperaturas entre 160 - 260°C, mediante la inyección directa de vapor saturado por un intervalo de tiempo entre 1 y 10 minutos, seguidamente se lleva el producto a una rápida descompresión hasta presión atmosférica, como resultado se obtiene biomasa con alteraciones físicas (de segregación y ruptura de las fibras) químicas (despolimerización y rotura de enlaces) y una celulosa más accesible a la hidrólisis. Las variables a controlar en este tipo de procedimiento son la temperatura, el tiempo de residencia, el tamaño de partícula y la humedad (Duff S. 2004)

#### **1.7.1.2.2 Agua líquida a alta temperatura (LHW)**

En este proceso se somete la biomasa al efecto de agua caliente a una temperatura entre 170-230°C por un tiempo de 46 min. El objetivo de este pretratamiento es solubilizar la hemicelulosa de la celulosa para hacerla más accesible y evitar la formación de inhibidores, el pH debe mantenerse entre 4 y 7 para minimizar la formación de monosacáridos y productos de degradación que pueden seguir catalizando la hidrólisis del material celulósico durante el pretratamiento (Kohlmann, 2004).

### **1.7.1.3 Pretratamiento fisicoquímicos**

#### **1.7.1.3.1 Proceso de explosión de fibra con amoníaco (AFEX)**

El pretratamiento con amoníaco se realiza con cargas de amoníaco en torno a 1:1 (amoníaco kg/kg peso de biomasa seca) a temperaturas que van desde la temperatura ambiente con una duración de 10 a 60 días, hasta temperaturas de 120 °C, con una duración de varios minutos. (Alizadeh, 2005).

#### **1.7.1.3.2 Explosión con CO<sub>2</sub>**

Se lleva a cabo con alta presión y altas temperaturas de hasta 200 °C, con duración de varios minutos. Este pretratamiento produce líquidos que pueden ser ácidos, los cuales hidrolizan especialmente la hemicelulosa. El CO<sub>2</sub> también se aplica como CO<sub>2</sub> supercrítico (35 °C, 73 bares), este incrementa el rendimiento de glucosa en 50- 70% para el bagazo de caña de azúcar. (Alizadeh, 2005).

### **1.7.1.4 Pretratamiento químico**

#### **1.7.1.4.1 Oxidación húmeda**

Un pretratamiento oxidativo consiste en la adición de un compuesto oxidante, como el peróxido de hidrógeno o ácido per acético a la biomasa que está sumergida en el agua. Durante el pretratamiento oxidativo puede tener lugar reacciones como sustitución electrofílica, el desplazamiento de cadenas laterales, rompimientos de vínculos de alquil, aril, éter o de núcleos aromáticos. (Hon, 2001).

#### **1.7.1.4.2 Tratamientos con ozono**

El ozono ha sido utilizado para degradar la lignina y la hemicelulosa. Se lleva a cabo a condiciones de presión y temperatura ambiente. La degradación es esencialmente limitada a atacar la lignina y hemicelulosa aunque la celulosa también es afectada. (Sun y Cheng, 2002).

#### **1.7.1.4.3 Pre hidrólisis con álcalis**

Se lleva a cabo con NaOH diluido donde se sumerge el material lignocelulósico a 60°C por 24 horas, en esta etapa tienen lugar reacciones como solvatación y saponificación, esto provoca un estado de inflamación de la biomasa, lo que la hace más accesible para enzimas y bacterias. Disoluciones de álcalis fuertes dan lugar a hidrólisis alcalina, degradación y descomposición de polisacáridos y rompimiento de radicales finales.

Es importante señalar que la pérdida de polisacáridos es causada principalmente por el rompimiento de radicales finales y reacciones hidrolíticas (Fengel, 2000).

#### **1.7.1.4.4 Tratamiento con solventes orgánicos**

En el proceso, un compuesto orgánico o acuoso se mezcla con un ácido inorgánico que pueden ser HCl o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, este se utiliza para romper el interior de la lignina y puentes de hemicelulosa. Se emplean disolventes orgánicos como metanol, etanol, acetona, etilenglicol, trietilenglicol y alcohol tetrahidrofurfúrico, así también ácidos orgánicos como oxálico, acetilsalicílico y salicílico puede ser utilizados como catalizadores en el proceso. Cabe mencionar que a temperaturas altas por encima de 185 °C, el uso de catalizadores es innecesario para la deslignificación. (Sánchez O. C., 2005).

#### **1.7.1.5 Pre tratamientos biológicos**

En este tratamiento el material lignocelulósico se somete a la acción de determinadas enzimas o microorganismos, como los hongos de la podredumbre blanca, marrón o blanda. El objetivo es degradar la lignina y la hemicelulosa, eliminando las barreras que protegen la celulosa, haciéndola más accesible al posterior ataque enzimático, por lo que generalmente se hace necesario hacer primero un tratamiento con hongos y posteriormente con las enzimas. (Sánchez O. C., 2005).



#### **1.7.1.5.1 Tratamiento con hongos**

Utiliza microorganismos como hongos de podredumbre marrón, blanca y suave para degradar lignina y hemicelulosa en los materiales de desecho. La podredumbre marrón ataca la celulosa, mientras que la podredumbre blanca y suave ataca tanto la celulosa como la lignina. Hongos de pudrición blanca (basidiomicetos) son los más eficaces para el pretratamiento biológico de materiales lignocelulósicos. (Fan L.T., 2000).

#### **1.7.1.5.2 Tratamiento con biosolventes orgánicos**

Emplea solventes orgánicos y hongos, el primero para permitir la acción de hidrólisis en la hemicelulosa y el segundo para la descomposición de la red de lignina. Se han realizado estudios con etanol como solvente y podredumbre blanca para la degradación de lignina en madera, los hongos usados fueron *Ceriporiopsis subvermispora*, *Dichomitus squalens* y *Coriolus versicolor*. Así pues el pretratamiento biológico puede ahorrar el 15% de la electricidad necesaria en la hidrólisis, el etanol puede ser reutilizado y es amigable con el medio ambiente. (Itoh, 2003).

### **1.7.2 Hidrólisis**

#### **1.7.2.1 Hidrólisis ácida diluida**

Proceso químico útil para la conversión del material hemicelulósico en azúcares reductores, en estas condiciones de temperatura son altas y el tiempo en el que se da la reacción es en un rango de 1 a 4 horas lo que facilita el proceso continuo. Se emplea una solución de ácido mineral que puede ser  $H_2SO_4$  o  $HCl$  con concentraciones de 1-10% y una relación m/v 1:10 -1:30 y temperaturas de aproximadamente 50 -215 °C. (Balat, 2010).

La hidrólisis ácida diluida ocurre en dos fases con el fin de aprovechar las diferencias entre la celulosa y la hemicelulosa. La primera fase se realiza a bajas temperaturas para aumentar al máximo el rendimiento de la hemicelulosa, en la segunda fase se incrementa la temperatura para lograr la hidrólisis de la celulosa, los rendimientos experimentales actuales para estas dos son de 89% para la manosa, 82% para el

galactosa y tan solo el 50% para la glucosa cuando el rendimiento teórico máximo es de 90% en la conversión a bioetanol. (Jorgensen, K. 2007).

El desafío consiste en proponer métodos de hidrólisis ácida que incremente el porcentaje de rendimiento de la glucosa a por lo menos un 70%. Para permitir una adecuada penetración del ácido en los procesos continuos rápidos, deben reducirse el tamaño de la partícula de la materia prima en rango de 2-6 milímetros. (Jorgensen, K. 2007).

**Tabla I-5** Porcentajes de composición de coronta del maíz.

<b>Porcentaje (%)</b>			
<b>Componente</b>	<b>(Da Silva, Chaves, &amp; Cunha, 1013)</b>	<b>(Cordoba, Salcedo, Rodrigues, &amp; Delgado, 2013)</b>	<b>(Dongen &amp; Delgado, 2010)</b>
<b>Glucosa</b>	47.1	41	34
<b>Xilosa</b>	28.0	35	28
<b>Arabinosa</b>	5.4	No reporta	2.4
<b>Galactosa</b>	2.2	No reporta	0.8
<b>Manosa</b>	0.2	No reporta	0.1

**Fuente:** Recopilado de autores.

### 1.7.2.2 Hidrólisis ácida concentrada

Este proceso emplea H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado en el rango de 10-30% en el pretratamiento, para liberar la hemicelulosa, en la fase subsecuente la biomasa se seca empleando ácido sulfúrico concentrado (70-90%). Los tiempos de la reacción son generalmente más largos que los de la hidrolización ácida diluida. (Taherzadeh, 2007).

Este proceso proporciona una conversión completa y rápida de la celulosa y la hemicelulosa, los factores que hacen viable este proceso consisten en perfeccionar la recuperación de los azúcares y los ácidos empleados. Comparado con el método de hidrólisis ácida diluida la degradación de la glucosa ofrece un porcentaje de rendimiento cercano al 100%; este proceso ofrece más potencial para reducir costos,

sin embargo, el ambiente, problemas de corrosión y el alto de consumo ácido son las principales desventajas del método. (Taherzadeh K., 2007).

Cabe señalar que la hidrólisis ácida es uno de los métodos más empleados en la industria de producción de bioetanol, porque tiene la ventaja de separar los azúcares manométricos de la hemicelulosa, pero tiene la desventaja de generar algunos compuestos inhibidores, por lo que se hace necesario someter el hidrolizado a un proceso posterior de detoxificación para eliminar todas las sustancias que pudieran formarse por las concentraciones del ácido y altas temperaturas, de igual manera se busca como evitar la formación de otras sustancias durante el proceso de fermentación que afecte el proceso de producción de etanol.

Existen distintas clasificaciones que agrupan este tipo de sustancias inhibidoras: productos de la degradación de azúcares, productos de la degradación de la lignina, componentes derivados de la estructura lignocelulosa y por último iones de metales pesados. (Cantarella, G. 2004).

Por otro lado (Oliva, 2014) los clasifica en tres grupos: derivados del furano (generados a partir de la hidrólisis de hemicelulosa), ácidos alifáticos de bajo peso molecular (degradación de furanos) y derivados fenólicos (provenientes de la degradación de la lignina). Cualquiera de estas clasificaciones es válida, ya que reúnen todos los compuestos tóxicos conocidos en este tipo de proceso.

Es importante señalar que el más reconocidos es el furfural, formado a partir de la degradación de las pentosas (xilosa y arabinosa) y el hidroximetil furfural (HMF), formado como consecuencia de la degradación de las hexosas (glucosa, manosa y galactosa). (Oliva, 2014).

### **1.7.3 Neutralización**

Una reacción ácido-base o reacción de neutralización es una reacción química que ocurre entre un ácido y una base produciendo una sal y agua. La palabra "sal" describe cualquier compuesto iónico cuyo catión provenga de una base y cuyo anión provenga de un ácido. Las reacciones de neutralización son generalmente exotérmicas, lo que

significa que desprenden energía en forma de calor. Se les suele llamar de neutralización porque al finalizar la reacción la solución queda neutra. Existen varios conceptos que proporcionan definiciones alternativas para los mecanismos de reacción involucrados en estas reacciones, y su aplicación en problemas en disolución relacionados con ellas. A pesar de las diferencias en las definiciones, su importancia se pone de manifiesto en los diferentes métodos de análisis, cuando se aplica a reacciones ácido-base de especies gaseosas o líquidas, o cuando el carácter ácido o básico puede ser algo menos evidente. (Antoine Lavoisier, 1776).

Obtener un pH óptimo del macerado (5,2 - 5,6) es fundamental de cara a conseguir los mejores resultados en nuestras y mejorar el rendimiento del proceso. En ocasiones, el agua disponible tiene un carácter demasiado alcalino o acida, pudiendo dejar un pH de macerado por encima o debajo de lo deseable, y por tanto, afectando negativamente a la calidad del macerado. La neutralización es una de las estrategias que se puede elegir para adecuar la solución al estilo que desea abordar. Unas recomendaciones de dosificación de diferentes ácidos o bases, todos ellos en concentración 1 N, lo que simplifica mucho su utilización y reduce los riesgos de manipular sustancias corrosivas. Estas recomendaciones se centran en conseguir una suficiente reducción de la Alcalinidad o acidez, para alcanzar un adecuado pH de macerado, en aquellas recetas de estilos como Bitter, Pale Ale, IPA, y en general recetas donde no se vayan a utilizar altos porcentajes de macerado. En primer lugar, deberemos conocer la Alcalinidad o acidez de la solución acuosa de partida, y de ahí continuar con su neutralización al punto ideal requerido. (Neutralización pdf, 2019).

#### **1.7.4 Fermentación**

La fermentación consiste en transformar los azúcares liberados en la etapa de hidrólisis ácida en etanol y dióxido de carbono, por medio de microorganismos adecuados, principalmente levaduras. Estos microorganismos pueden ser cepas naturales que metabolizan azúcares de seis carbonos, cepas naturales que consumen tanto azúcares de seis como de cinco carbonos. En esta etapa se consideran tres factores importantes

que garantizan la obtención de los rendimientos de producto y estos son: el sustrato, las condiciones de operación y el microorganismo fermentador.

Así pues el sustrato se describe como el resultado de un pretratamiento que se efectúa sobre la materia prima original. En esta etapa, una alta cantidad de azúcares asimilables son liberados de los componentes principales de la materia prima convirtiéndose en el sustrato que ha de consumir el microorganismo fermentador. Para materiales lignocelulósicos, este hidrolizado está compuesto principalmente por pentosas (en mayor medida xilosa) y por hexosas (en mayor medida glucosa).

Las condiciones de operación son de mucha importancia para que aseguran la reproducción del microorganismo de forma más eficiente. Los factores importantes en esta parte del proceso son la temperatura, el medio de fermentación, el pH y la velocidad de agitación. A pesar que en muchos casos las condiciones de operación y de crecimiento microbiano son parecidas entre varias cepas, algunos microorganismos como los genéticamente modificados pueden tolerar condiciones más extremas que las cepas convencionales haciéndose estos casos excepcionales y mucho más difíciles de adquirir.

Cabe señalar que la fermentación puede llevarse a cabo de dos maneras: simultánea a la sacarificación de los materiales celulósicos. (Pejo M. E., 2010).

#### **1.7.4.1 Sacarificación y Fermentación Simultánea (SFS)**

Uno de los avances más importantes relacionados con el proceso global de producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósico ha sido la implementación y desarrollo del proceso conocido como sacarificación y fermentación simultáneas (SFS), en la que la hidrólisis y la fermentación tienen lugar simultáneamente en un mismo reactor.

En el proceso de SFS la glucosa liberada durante la hidrólisis etanol por las levaduras. Esta continua eliminación de la glucosa del medio minimiza la inhibición por producto final sobre la actividad de las celulosas (Ballesteros, 2006) lo que se refleja en rendimientos de hidrólisis más altos, necesidad de menores dosis de enzimas o ácidos, reducción del tiempo total de proceso y productividades de etanol más altas (Alfani,

2000). Así pues, el proceso de SFS se presenta como un método viable y eficiente para la producción de etanol celulósico ya que puede ser empleado con gran variedad de materias primas y con diferentes tecnologías de pretratamiento. No obstante también muestra algunos inconvenientes, puesto que las condiciones óptimas de pH y temperatura en las etapas de hidrólisis y fermentación son diferentes, se deben fijar unas condiciones de compromiso entre ambas. Es importante señalar, que el pH óptimo para la hidrólisis se encuentra alrededor de 1 -4. En cambio, el pH para la fermentación, dependiendo del microorganismo suele ser 5 o superior. En cuanto a la temperatura óptima, la de la hidrólisis se encuentra alrededor de 50 °C, mientras que la mayoría de microorganismos fermentadores tiene su óptimo de temperatura entre los 30-37 °C. En este contexto, el empleo de levaduras termo tolerantes como *Kluyveromyces marxianus* capaces de crecer y fermentara temperaturas superiores a 40 °C, más cercanas a la temperatura óptima de la hidrólisis, aparece como una alternativa muy prometedora. (Pejo M. E., 2010).

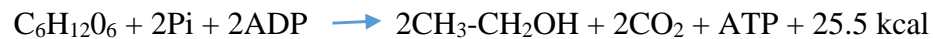
#### **1.7.4.2 Hidrólisis y Fermentación Separada (HFS)**

La configuración comúnmente empleada en el proceso de producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica implica un proceso secuencial en el que la hidrólisis de la celulosa y la fermentación de la glucosa se realizan en dos reactores diferentes. En este proceso, denominado hidrólisis y fermentación separadas (HFS), la fracción rica en celulosa es primeramente hidrolizada a glucosa. Una vez completada la hidrólisis y separado el residuo de lignina, la glucosa resultante es fermentada y convertida a etanol. La utilización de un medio líquido rico en glucosa hace posible la recirculación de los microorganismos tras la fermentación. Por lo tanto, la principal ventaja en este tipo de procesos es que cada etapa puede ser llevada a cabo en sus condiciones óptimas de pH y temperatura. Esto permite realizar la hidrólisis a temperaturas alrededor de 50 °C, posteriormente se realiza la fermentación a temperaturas entre 30-37 °C, donde se encuentra el óptimo para la mayoría de microorganismos etanologénicos. (Kristensen, 2007).

La principal desventaja en la HFS se debe a que la acumulación de la glucosa y celobiosa en la etapa de hidrólisis inhibe a las celulosas implicadas en el proceso, obteniéndose, por lo tanto, bajos rendimientos de sacarificación cuando es un proceso hidrolítico enzimático. (Bollók, 2000).

### 1.7.4.3 Mecanismo de fermentación

La glucólisis es la primera etapa de la fermentación, lo mismo que en la respiración celular y al igual que esta necesita de enzimas para su completo funcionamiento. A pesar de la complejidad de los procesos bioquímicos una forma esquemática de la reacción química de la fermentación alcohólica puede describirse como una glicólisis de tal forma que se ve como participa inicialmente una molécula de hexosa:

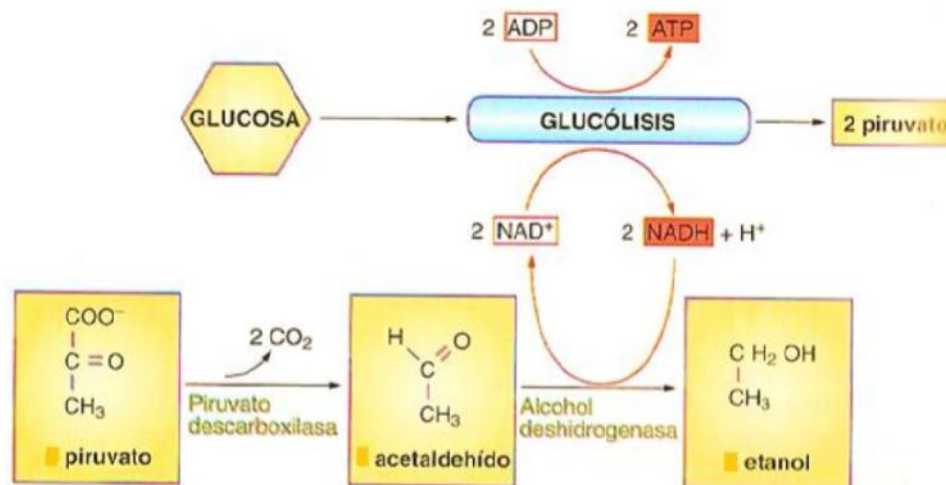


La fermentación alcohólica, desde el punto de vista energético, es una reacción exotérmica, libera cierta cantidad de energía y produce gran cantidad de  $\text{CO}_2$ . El producto es un piruvato según la siguiente reacción.



La reacción química se describe como la reducción de dos moléculas de Nicotinamida Adenina Dinucleotido ( $\text{NAD}^+$ ) de  $\text{NADH}$  (forma reducida del  $\text{NAD}^+$ ) con un balance final de dos moléculas de  $\text{ADP}$ , que se convierten en  $\text{ATP}$  (adenosin trifosfato). También se encuentran en trazas el ácido succínico, el glicerol y el ácido fumárico

**Figura I-3** fermentación alcohólica.



**Fuente:** Bollók, 2000.

En primer lugar el piruvato se descarboxila mediante la acción de la piruvato descarboxilasa para dar como producto final acetaldehído, liberando por ello dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) a partir de iones del hidrógeno (H<sup>+</sup>) y electrones del NADH. Tras esta operación el NADH sintetizado en la reacción bioquímica catalizada por el GADHP se vuelve a oxidar por el alcohol deshidrogenasa, regenerando NAD<sup>+</sup> para la continuación de la glucólisis y síntesis al mismo tiempo de etanol. Además se considera que el etanol va aumentando de concentración durante el proceso de fermentación y debido a que es un compuesto tóxico, cuando su concentración alcanza aproximadamente un 12% de volumen, las levaduras tienden a morir. (C.F, 2010).

Microrganismos relacionados con la producción de bioetanol

En muchos procesos de fermentación, la oxidación de azúcares simples bajo condiciones anaerobias involucra dos fases: la oxidación de la glucosa y el metabolismo de piruvato. El metabolismo de la glucosa ocurre de la misma manera en la respiración aeróbica y anaeróbica, sin embargo, si el oxígeno no está disponible para su uso como aceptor externo de electrones (como ocurre en la aerobiosis) o el microorganismo no tiene la capacidad de utilizar componentes inorgánicos, la molécula



portadora de electrones  $\text{NAD}^+$  debe ser regenerada donando electrones hacia componentes orgánicos intermediarios.

Teniendo en cuenta las diferentes alternativas bioquímicas para la fermentación de los azúcares, se presenta a continuación una descripción de la ruta de biosíntesis de producción de etanol mediante dos tipos de levaduras. (Bai, 2008).

#### **1.7.4.4 Levaduras**

Las levaduras son cuerpos unicelulares, generalmente de forma esférica, con tamaño entre los 2 a 4  $\mu\text{m}$ . La principal vía metabólica de este tipo de microorganismo en la producción de etanol es la glucólisis o vía EMP, a través de la cual una molécula de glucosa es metabolizada y dos moléculas de piruvato, son producidas bajo condiciones anaerobias, el piruvato es posteriormente reducido a etanol con emisiones de  $\text{CO}_2$  obteniéndose un rendimiento estequiométrico teórico de 0.511g de etanol y 0.489 g de  $\text{CO}_2$  por 1g de glucosa metabolizada. (Kosaric, 2001)

En la glucólisis se producen dos moléculas de ATP, los cuales son empleados para llevar a cabo la biosíntesis de las células de la levadura, lo cual involucra una variedad de bioreacciones que requieren energía. Además, la producción de etanol está estrechamente ligada al crecimiento celular del microorganismo, lo que significa que la biomasa se obtiene como un subproducto. (Chandraraj, 2004).

Es importante mencionar que sin el consumo continuo de ATP por parte del microorganismo que está en crecimiento, el metabolismo glucolítico se vería interrumpido inmediatamente, debido a la acumulación intracelular de ATP, causando una inhibición a la fosfofructoquinasa (PFK), una de las enzimas de regulación más importantes en la glucólisis.

El microorganismo tradicional más usado para la fermentación alcohólica es la *Saccharomyces cerevisiae*. Cabe señalar que además del etanol y  $\text{CO}_2$  se producen también varios derivados durante la fermentación, produciendo glicerol a un nivel aproximado de 1 % (p/v), también se producen otros derivados como ácidos orgánicos y alcoholes pesados a bajos niveles. La producción de estos derivados así como el

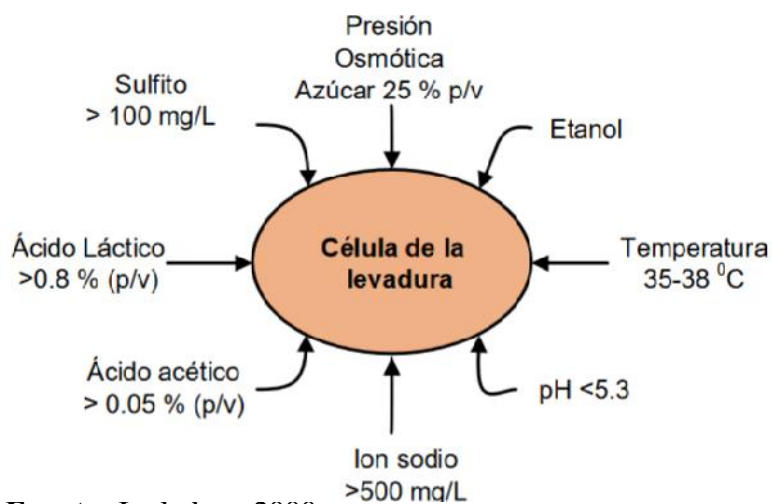
crecimiento de células de levadura, junto con la inevitable generación de algunos intermedios glicolíticos en las rutas metabólicas correspondientes, disminuyen el rendimiento de etanol en alguna magnitud.

En la industria, el rendimiento del etanol es calculado respecto al total del azúcar en el sistema de fermentación sin la deducción del azúcar residual, puede ser tan alto como su valor teórico (90-93%).

Por consiguiente, el azúcar residual debe controlarse a niveles muy bajos; por ejemplo, no más de 2 a 5 g/l son empleados para reducir el azúcar residual y el azúcar total, respectivamente, en la producción de etanol de materiales lignocelulósicos. Durante la fermentación del etanol, las células de levadura padecen varias tensiones. Algunas son medioambientales como la deficiencia de nutrientes, temperatura alta y contaminación, mientras los otros son del metabolismo celular de la levadura como la acumulación de etanol y su inhibición correspondiente al crecimiento celular y producción de etanol en la levadura. (Ingledeew, 2000).

La figura que se muestra a continuación resume algunas de estas tensiones.

**Figura I-4** Tensiones medioambientales potenciales en la *S. cerevisiae* durante la fermentación para producción de etanol.



**Fuente:** Ingledeew, 2000.

#### **1.7.4.4.1 *Saccharomyces cerevisiae***

Es el microorganismo usado frecuentemente para fermentar azúcares a bioetanol en los procesos industriales, ha demostrado ser robusta en la fermentación de los hidrolizados lignocelulósicos (Galbe, 2002)

La *S. cerevisiae* puede fermentar hexosas fácilmente, pero apenas la xilosa en el hidrolizado de la lignocelulosa, porque a la *S. cerevisiae* le faltan enzimas que convierten la xilosa a xilulosa.

Es importante mencionar que la masa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* necesaria para optimizar el proceso fermentativo, corresponde a un rango de 12-14% del 100 % de azúcares reductores presentes en el sustrato, de acuerdo a lo indicado por (Hidalgo, 2010), no puede haber un exceso ni carencia de la misma, porque incurre en costos para el primer caso y bajos rendimientos para el segundo. Así mismo el tiempo de fermentación es de 5 a 15 días de acuerdo a la cantidad de sustrato presente en la muestra. (Tian, 2008).

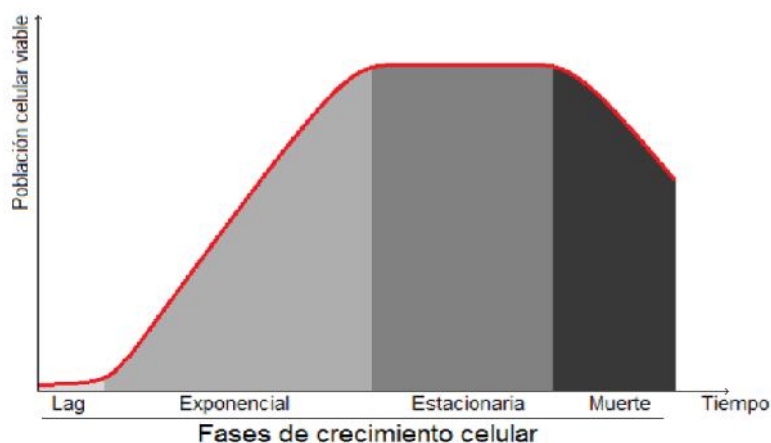
#### **1.7.4.4.2 *Pichia stipitis***

Contrariamente a la *S. cerevisiae*, la *Pichia. Stipitis* puede utilizar L-arabinosa y D-xilosa naturalmente y fermentar eficazmente la xilosa a etanol, ha sido considerada para la fermentación de los hidrolizados de hemicelulosa a etanol. Se han desarrollado varios mutantes con las capacidades de fermentación más altas y la utilización de xilosa mejorada. Sin embargo la *pichia stipitis* es incapaz de crecer en condiciones anaeróbicas y es más sensible al etanol e inhibidores que la *S. cerivisiae*. (Galbe, 2006).

### **1.8 Cinética de crecimiento celular**

El desarrollo de todo microorganismo está caracterizado por fases o etapas de adaptación, crecimiento, estabilidad y muerte, las cuales ocurren en función del tiempo (Figura 1-5).

**Figura I-5** Fases del crecimiento celular de microorganismos.



**Fuente:** Ingledew, 2000.

La fase de adaptación, fase de latencia o fase Lag, corresponde a la etapa durante la cual los microorganismos se adaptan a las condiciones del medio antes de reiniciar el ciclo celular. Normalmente esta etapa puede tardar entre 12–24 horas, periodo durante el cual las células se encuentran en un proceso de ajuste metabólico y reparación celular y por tanto no están en capacidad de reproducirse. Por este motivo, la población permanece constante. La duración de esta etapa puede variar dependiendo del estado de salud y metabólico de las células, del tamaño del inóculo y de la diferencia entre el medio del inóculo y el medio de fermentación. Durante la fase exponencial o fase Log, las células del microorganismo, ya adaptado a las condiciones del medio de fermentación, se duplican de manera continua y a ritmo constante, de modo que por cada período de tiempo la población crece exponencialmente a medida que se consumen los nutrientes del medio.

Esta fase corresponde a la de mayor reproducción celular y su duración depende de la concentración inicial del sustrato limitante (en la mayoría de los casos, glucosa), de la temperatura y de características genéticas del organismo que determinan por ejemplo su habilidad para adaptarse a los nutrientes disponibles.

Una vez el sustrato empieza a escasear, el microorganismo empieza a disminuir su velocidad de crecimiento y se propaga menos en el medio, hasta alcanzar la fase estacionaria en la que el número de células del microorganismo no incrementa ni

disminuye, pues la tasa de reproducción se equilibra con la tasa de muerte, por tanto la velocidad de crecimiento de la población es cero. Esta limitación en el crecimiento ocurre debido a dos situaciones: el agotamiento de nutrientes esenciales en el medio y la acumulación de sustancias de desecho, las cuales son tóxicas para las células en la mayoría de los casos. A pesar de esto, las células viables aún presentan actividad celular y metabólica. Finalmente, el ciclo de crecimiento entra en una fase de muerte o declive caracterizada por una mayor tasa de muerte debido al agotamiento de nutrientes y de reservas de energía, como consecuencia la población celular disminuye (Freshney, 2006; Madigan, Martinko, Stahl, & Clark, 2010).

### **1.9 Cinética de la fermentación alcohólica**

Los modelos cinéticos consisten en expresiones matemáticas que relacionan el comportamiento de una o más variables de respuesta de interés a lo largo del tiempo a partir de datos experimentales. Estas relaciones vienen dadas por la estequiometría particular del proceso en estudio y por tanto, si ésta varía en función de las condiciones de operación, el modelo cinético no será válido. Un enfoque para el establecimiento de estos modelos cinéticos consiste en el análisis en estado estable del sistema, según el cual no existe acumulación de materias primas y por tanto todo el sustrato consumido es transformado en metabolitos y biomasa.

El empleo de estos modelos matemáticos para modelamiento cinético de la fermentación alcohólica es de utilidad para el diagnóstico de procesos lentos o atascados, así como para la evaluación y selección de mejores condiciones de operación y el estudio del impacto de la genómica de la levadura sobre este proceso (Assar et al., 2012).

Cuando se trata de procesos de fermentación alcohólica, algunas de las variables de mayor interés son las velocidades de producción de metabolitos (como alcohol, glicerol, ácidos orgánicos), de consumo de sustratos (como azúcares, nitrógeno, oxígeno) y de crecimiento del microorganismo en el bioreactor, así como el rendimiento y la productividad. En este caso, un modelo cinético puede ser, por

ejemplo, la correlación de la velocidad de consumo de nitrógeno asimilable por la levadura a lo largo del tiempo de fermentación.

El establecimiento de modelos cinéticos para la fermentación alcohólica exige un absoluto control sobre las condiciones de operación en los experimentos realizados, principalmente escala de laboratorio. Es de mucha importancia minimizar las variaciones en la temperatura, en las condiciones fisicoquímicas y microbiológicas iniciales del medio fermentativo, los protocolos para la inoculación del bioreactor o en la naturaleza u origen de las materias primas. De lo contrario, estas perturbaciones pueden desencadenar una serie de cambios en la expresión de ciertos genes en las células del microorganismo, pueden generar modificaciones graves en su metabolismo con efectos observables a nivel macroscópico (Villadsen et al., 2011). En procesos de fermentación alcohólica esto se ve reflejado en menores rendimientos y productividades, velocidades de consumo de sustrato más bajas, producción de metabolitos indeseados o modificación de las proporciones o concentraciones de los metabolitos de interés, por ejemplo.

Cuando se realizan análisis cinéticos de la fermentación alcohólica, se deben revisar dos conceptos de suma importancia: la productividad y el rendimiento. La primera se define como la velocidad de producción de un compuesto o de crecimiento celular por unidad de volumen del reactor (Villadsen et al., 2011).

$$q_{i,x} = \left[ \frac{\text{masa de compuesto o células}}{(\text{unidad de volumen})(\text{unidad de tiempo})} \right]$$

La productividad también puede expresarse por unidad de masa de células, definida como la velocidad específica de consumo o producción de un compuesto (Villadsen et al., 2011).

$$r_i = \frac{q_i}{X} = \left[ \frac{\text{masa de compuesto } i}{(\text{masa de células})(\text{unidad de tiempo})} \right]$$

Donde, X es la concentración celular en el medio.

De igual manera se obtiene la productividad celular por unidad de masa de células ( $r_x$ ), que se define como la velocidad específica de crecimiento celular.

$$r_x = \frac{q_x}{X} = \left[ \frac{\text{masa de células}}{(\text{masa de células})(\text{unidad de tiempo})} \right]$$

Las velocidades de consumo de sustratos se definen negativas y las de producción de metabolitos y crecimiento celular positivas.

El rendimiento de una fermentación alcohólica se define como la relación entre las velocidades volumétricas de consumo de sustrato o de producción de metabolitos (Villadsen et al., 2011).

$$Y_{ji} = Y_{i/j} = \left| \frac{q_i}{q_j} \right| = \left| \frac{r_i}{r_j} \right|$$

Por ejemplo, el rendimiento etanol/glucosa se calcula como el cociente entre las velocidades de producción de etanol y de consumo de glucosa.

$$\frac{Y_{eta}}{glu} = \left| \frac{q_{eta}}{q_{glu}} \right| \left[ \frac{g_{eta}}{g_{glu}} \right]$$

En un reactor por lotes la velocidad volumétrica de consumo o producción de un compuesto se calcula mediante la estimación del cambio de la concentración del sustrato (S) o del producto (P) con respecto al tiempo (Villadsen et al., 2011).

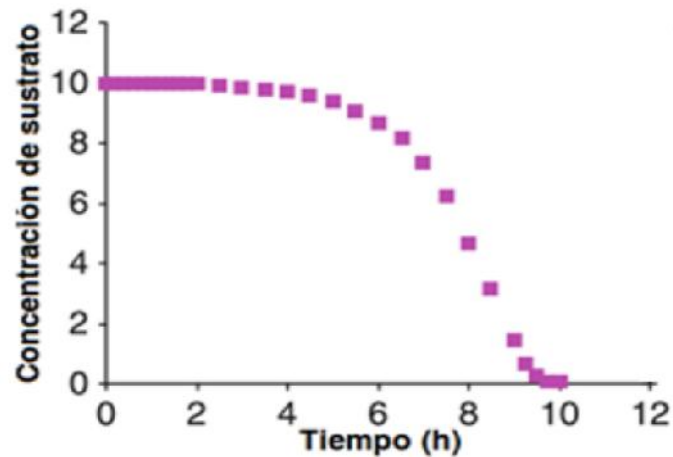
$$q_i = \frac{dS_i}{dt} \text{ o } \frac{dP_i}{dt}$$

En procesos por lotes se observa que durante un proceso de fermentación alcohólica, la concentración de sustrato disminuye a lo largo del tiempo como consecuencia del crecimiento de los microorganismos. Luego de la fase de adaptación del microorganismo (Figura 1-6), el sustrato es consumido a una mayor velocidad. Esto depende de las condiciones de estrés en el medio (baja disponibilidad de nutrientes, pH, temperatura, etc.) y del estado de salud de las células. Durante esta fase las células

se dedican a realizar procesos de mantenimiento, de reparación celular, de síntesis de proteínas y de producción de energía para sobrevivir a estas condiciones. Estos procesos implican un consumo de sustrato sin crecimiento celular, cambios en la composición de la biomasa y un incremento de la velocidad específica de crecimiento al final de esta fase.

Posterior a la fase lag, la concentración celular empieza a incrementar con el tiempo durante la fase de crecimiento exponencial. Esta fase transcurre hasta que casi todo el sustrato se ha consumido; cuando esto ocurre el crecimiento se detiene rápidamente y, si se mantiene esta condición dentro del reactor, las células del microorganismo perderán su viabilidad hasta que empiecen a morir y la concentración de biomasa a disminuir como se observa en la Figura 1-5. (Villadsen et al., 2011).

**Figura I-6** Perfil de consumo de sustrato en una fermentación alcohólica por lotes.



**Fuente:** Villadsen et al., 2011.

### 1.10 Destilación

La destilación es un método comúnmente utilizado para la purificación de líquidos y la separación de mezclas con el fin de obtener sus componentes individuales, es una técnica de separación de sustancias que permite separar los distintos componentes de una mezcla. Esta técnica se basa fundamentalmente en los puntos de ebullición de cada uno de los componentes de la mezcla. Cuanto mayor sea la diferencia entre los puntos



de ebullición de las sustancias de la mezcla, más eficaz será la separación de sus componentes; es decir, los componentes se obtendrán con un mayor grado de pureza.

La técnica consiste en calentar la mezcla hasta que ésta entra en ebullición. A medida que la mezcla se calienta, la temperatura aumenta hasta que alcanza la temperatura de la sustancia con punto de ebullición más bajo mientras que los otros componentes de la mezcla permanecen en su estado original. A continuación los vapores se dirigen hacia un condensador que los enfría y los pasa a estado líquido. El líquido destilado tendrá la misma composición que los vapores y; por lo tanto, con esta sencilla operación habremos conseguido enriquecer el líquido destilado en el componente más volátil (el de menor punto de ebullición). Por consiguiente, la mezcla sin destilar se habrá enriquecido con el componente menos volátil (el de mayor punto de ebullición). (TP-Laboratorios Químicos, 2019).

#### **1.10.1 Destilación simple**

La destilación simple se utiliza cuando la mezcla de productos líquidos a destilar contiene únicamente una sustancia volátil, o bien, cuando ésta contiene más de una sustancia volátil, pero el punto de ebullición del líquido más volátil difiere del punto de ebullición de los otros componentes en, al menos, 80 °C.

El resultado final es la destilación de un solo producto, ya sea: porque en la mezcla inicial sólo había un componente, o porque en la mezcla inicial uno de los componentes era mucho más volátil que el resto. (TP-Laboratorios Químicos, 2019).

#### **1.10.2 Destilación simple a presión atmosférica**

La destilación a presión atmosférica es aquella que se realiza a presión ambiental, Se utiliza fundamentalmente cuando la temperatura del punto de ebullición se encuentra por debajo de la temperatura de descomposición química del producto. (TP-Laboratorios Químicos, 2019).

### **1.10.3 Destilación simple a presión reducida**

La destilación a presión reducida o al vacío consiste en disminuir la presión en el montaje de destilación con la finalidad de provocar una disminución del punto de ebullición del componente que se pretende destilar. Se utiliza fundamentalmente cuando el punto de ebullición del compuesto a destilar es superior a la temperatura de descomposición química del producto.

Para llevar a cabo este tipo de destilación es necesario un sistema de vacío y un adaptador de vacío. (TP-Laboratorios Químicos, 2019).

### **1.10.4 Destilación fraccionada**

La destilación fraccionada se utiliza cuando la mezcla de productos líquidos que se pretende destilar contiene sustancias volátiles de diferentes puntos de ebullición con una diferencia entre ellos menor a 80 °C.

Al calentar una mezcla de líquidos de diferentes presiones de vapor, el vapor se enriquece en el componente más volátil y esta propiedad se aprovecha para separar los diferentes compuestos líquidos mediante este tipo de destilación.

El rasgo más característico de este tipo de destilación es que necesita una columna de fraccionamiento.

La destilación fraccionada se puede realizar a presión atmosférica o a presión reducida, tal como se ha comentado para la destilación simple en el apartado anterior. (TP-Laboratorios Químicos, 2019).

### 1.11 Granulometría

La granulometría es la medición de los granos de una formación sedimentaria y el cálculo de la abundancia de los correspondientes a cada uno de los tamaños previstos por una escala granulométrica con fines de análisis tanto de su origen como de sus propiedades mecánicas.

El método de determinación granulométrico más sencillo es obtener las partículas por una serie de mallas de distintos anchos de entramado, que actúen como filtros de los granos que se llama comúnmente columna de tamices. Pero para una medición más exacta se utiliza un granulómetro láser, cuyo rayo difracta en las partículas para poder determinar su tamaño.

Para su realización, se utiliza una serie de tamices con diferentes diámetros que son ensamblados en una columna. Los siete tamices estándar ASTM C 33 tiene aberturas que varían desde la malla No. 100(150 micras) hasta 9.52 mm. En la parte superior, donde se encuentra el tamiz de mayor diámetro, se agrega el material original (suelo o sedimento mezclado) y la columna de tamices se somete a vibración y movimientos rotatorios intensos en una máquina especial. Luego de algunos minutos, se retiran los tamices y se desensamblan, tomando por separado los pesos de material retenido en cada uno de ellos y que, en su suma, deben corresponder al peso total del material que inicialmente se colocó en la columna de tamices (Conservación de la Masa).

Tomando en cuenta el que en varias funciones el tamaño es muy importante para su tratamiento, de esta manera mientras la partícula sea más pequeña el contacto que se efectuó en la solución será mayor, de tal manera el trabajo que realiza tendrá un mayor rendimiento en la función a desempeñar. (EcuRed, 2009).

## **1.12 Factores que afectan el desempeño de los microorganismos en la producción de bioetanol**

Los procesos fermentativos, requieren de condiciones de operación que garanticen el buen desempeño de los microorganismos. El manejo de estos presenta ciertas dificultades, específicamente en las condiciones de medios de cultivos y del proceso de fermentación a nivel industrial. Así mismo los factores más importantes que afectan el desempeño de una cepa en un proceso de fermentación y la manera como a partir de estos fenómenos se generan criterios en la selección de microorganismos que optimicen la producción de etanol, son: inhibición por producto, temperatura y aireación. (Sridhar, 2004).

### **1.12.1 Inhibición por producto**

A raíz del interés generado en la producción de etanol a altas concentraciones, se ha visto como este factor afecta el desempeño de los microorganismos fermentadores causando inhibición en el crecimiento microbiano y la reducción en el rendimiento producto/sustrato. En general, una concentración de etanol mayor al 6% (p/v) tiene un efecto inhibitorio sobre todos los microorganismos. La mayoría de las cepas toleran una concentración de 5.5% de etanol en el medio de cultivo. (Sridhar, 2004).

### **1.12.2 Temperatura**

La composición y la estructura de la membrana plasmática y la concentración de fosfolípidos se obstruyen cuando la bacteria alcanza una temperatura de 40 °C, lo cual con lleva a una pérdida de la integridad de la membrana. Posteriormente, la elevada temperatura resulta en la acumulación de etanol dentro de la célula, lo cual tiene un significativo efecto en la viabilidad de las células.

En el caso de levaduras como las especies del género *Saccharomyces* la velocidad de producción de alcohol incrementa de forma estable hasta los 30 °C y de forma suave hasta los 36 °C, pero disminuye a temperaturas superiores a los 37 °C. Algunas cepas son capaces de crecer a temperaturas por encima de los 37 °C y son comúnmente

nombradas como termofílicas, mientras que otras tienen una temperatura máxima superior a los 45 °C y son comúnmente llamadas termotolerantes. (Sridhar, 2004).

### **1.12.3 Condiciones de aireación**

Muchos microorganismos, tanto levaduras como bacterias, crecen en condiciones anaeróbicas y el oxígeno en exceso tiene un efecto negativo sobre la producción de etanol porque inhibe el consumo de sustrato y el crecimiento microbiano. A bajas concentraciones de sustrato, las velocidades de crecimiento y el rendimiento de biomasa son independientes de la presencia de oxígeno, de forma opuesta, a altas concentraciones de sustrato, decrecen los parámetros de crecimiento. (Chandraraj, 2004).

### **1.12.4 pH**

La concentración de iones hidrógeno es un factor muy importante que afecta en velocidad de crecimiento de células. En un intervalo de pH entre 4 a 6 las levaduras, tanto la velocidad de crecimiento, como también el rendimiento, se ven óptimamente favorecidas. Un cambio de pH del medio puede afectar la composición y la naturaleza de la superficie microbiana al disociarse ácidos y bases. (Fajardo y Sarmiento, 2007).

## **1.13 Selección apropiada del proceso para la planta de etanol a partir del maíz**

Dentro de las opciones para seleccionar el proceso adecuado, tenemos una breve explicación en el punto 1.6 figura I-2, por medio del cual se obtiene la opción adecuada a emplear en la parte experimental.

De acuerdo a los factores para realizar la matriz de decisión se seleccionará el proceso adecuado.

**Tabla I-6** Factores a evaluar para selección del proceso.

<b>Factor evaluado</b>	<b>Comentario</b>	<b>Ponderación</b>
Costos	Precio del proceso a emplear.	<b>20%</b>
Rendimientos	Mayores a un 40%.	<b>20%</b>
Consumo de energía	Dentro del proceso.	<b>15%</b>
Disponibilidad	Si se tienen los equipos necesarios en el LOU para la realización de la parte experimental.	<b>15%</b>
Operación	Se refiere al conocimiento en el uso de los equipos.	<b>10%</b>
Tiempo	El tiempo que se lleva en la obtención del producto final	<b>10%</b>
Tipo de materia prima	De acuerdo al tamaño de la materia prima	<b>10%</b>
<b>Total</b>		<b>100%</b>
<b>Puntaje Asignado</b>		
<b>Deficiente</b>	<b>Bueno</b>	<b>Excelente</b>
1	5	10

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

Tabla I-7 Matriz de selección de proceso.

Factor evaluado	Método hidrólisis con ácido concentrado			Método hidrólisis con ácido diluido			Método con un pretratamiento anticipado		
	Descripción	calificación	Ponderación	Descripción	calificación	ponderación	Descripción	calificación	ponderación
Costos	Deficiente	1	0.2	Bueno	5	1	bueno	5	1
Rendimientos	Mayor a 40%	10	2	Mayor a 40%	10	2	Mayor a 40%	10	2
Consumo de energía	Bueno	5	0.75	Al ser directo el proceso menor gasto de energía	10	1.5	Bueno	5	0.75
Disponibilidad	Deficiente	1	0.15	Excelente	10	1.5	Excelente	10	1.5
Operación	Difícil en su operación costo mayor	1	0.1	Fácil operación y costo regular	5	0.5	Fácil operación y costo regular	5	0.5
Tiempo	Tiempo de obtención mayor a 30 días	1	0.1	Tiempo de obtención mayor a 12 días	10	1	Tiempo de obtención mayor a 20 días	5	0.5
Tipo de materia prima	Excelente	10	1	Excelente	10	1	Excelente	10	1
<b>TOTAL</b>			<b>4.3</b>			<b>8.5</b>			<b>7.25</b>

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

De acuerdo a las diferencias entre los procesos, se optó por elegir el proceso del método de hidrólisis ácida diluida.

## **CAPÍTULO II**

### **PARTE EXPERIMENTAL**



## PARTE EXPERIMENTAL

El presente trabajo de investigación aplicada fue desarrollado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias (LOU), dependiente del Departamento de Procesos Industriales Biotecnológicos y Ambientales (DPIBA), carrera de Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias y Tecnología.

### 2.1 Descripción y análisis de materia prima

El maíz, llamado (*Zea mays*), es originario de América (Bolivia, Perú y México), desarrollando en zonas de clima templado y tropical, en Bolivia especialmente por los valles de Cochabamba, Chuquisaca y Tarija.

La situación de la producción maicera en Bolivia, al igual que la de otros rubros extensivos, es favorable y tiene una evolución positiva. En la Figura II-1 se observa que su valor prácticamente se triplicó en estas dos últimas décadas: pasó de un poco menos de 400 mil a más de 1 millón de toneladas. Esto representa un ritmo de crecimiento de 5% anuales, pese a los altibajos de algunos años, provocados en especial por fenómenos climáticos adversos como fenómeno del niño y la niña. (Ministerio de asuntos campesinos y agropecuarios MACA, 2005).

**Figura II-1** Evolución de la producción de maíz en Bolivia (2001-2016).



**Fuente:** INE, disponible en [www.ine.gov.bo](http://www.ine.gov.bo), para 2000-2015.

Dentro de la cosecha de la mazorca de maíz, se tiene que el porcentaje de grano de desgrane es de un 81% y el resto 19% es el olote o marlo. Donde éste es un porcentaje considerable para el aprovechamiento en nuestra investigación, ya que comúnmente se lo utiliza como tipo de combustible (leña), como abono y escasos lugares se lo muele como alimento de ganado porcino. (University of Saskatchewan agricultura food, 1993).

### 2.1.2 Recolección de la muestra

El marlo de maíz se recolectara de forma aleatoria de las zonas productoras de abastecimiento de nuestra ciudad, utilizándose como criterios de exclusión:

- Pudrición del marlo por Nigrospora, Stenocarpella maydis, Micoplasma helicoidal o Spiroplasma.
- Marlo de maíz con perforaciones provocadas por gusano cogollero (Spodoptera frugiperda).
- Muestras que presentaban suciedad y materia extraña

### 2.1.3 Análisis fisicoquímica de la materia prima

Para la caracterización de la materia prima se llevó unas muestras del marlo triturado al CEANID, esto para que sean analizados de acuerdo a los parámetros a determinar.

**Tabla II-1** Composición de la materia prima.

<b>Parámetros</b>	<b>Composición %</b>
Humedad	2.40
Fibra	29.60
pH	5.4
Cenizas	2.10
Celulosa y hemicelulosa	76.3
Lignina	23.7
Azúcares totales	10.35

**Fuente:** CEANID, 2019.

## **2.2 Descripción del método de investigación**

El método que se emplea en el presente trabajo es por hidrólisis ácida diluida, donde el proceso sigue los siguientes pasos: pretratamiento mecánico, hidrólisis ácida, neutralización, fermentación-desgasificación y destilación.

### **2.2.1 Pretratamiento mecánico**

En este pretratamiento la biomasa pasa por un lavado inicial para la eliminación de impurezas y partículas extrañas, para luego realizar un secado en un secador a tiro forzado y deshidratar la humedad a una temperatura de 70°C por un tiempo aproximado de 2 horas. Pasado el tiempo de secado pasa por una trituradora de disco donde el tamaño más adecuado para que la biomasa tenga un buen rendimiento no tiene que pasar de 3 mm. Como se nos indica en el punto 1.9 granulometría. (Hendriks, 2009), (EcuRed, 2009).

### **Materiales y equipos**

- Bañera mediana de 10 litros
- Agua destilada
- Horno mufla
- Charola metálica
- Molino de discos
- Tamiz
- Termómetro

### **2.2.2 Hidrólisis ácida**

Una vez realizado el pretratamiento pasa a un proceso químico útil para la conversión del material hemicelulósico en azúcares reductores, en este las condiciones de temperatura son altas y el tiempo en el que se da la reacción es en un rango de 1 a 4 horas lo que facilita el proceso continuo. Se emplea una solución de ácido mineral que puede ser  $\text{H}_2\text{SO}_4$  o  $\text{HCl}$  con concentraciones de 1-10% con una relación m/v 1:10 - 1:30 y temperaturas de aproximadamente 50 - 215 °C (Balat, 2010).

## **Materiales y equipos**

- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 4 y 7%
- Agua destilada
- Vasos de precipitación de 1 litro
- Balanza analítica
- Sistema de calentamiento eléctrico
- Varilla de vidrio
- Espátula metálica
- Embudo
- Papel filtro
- Probeta de 250 ml
- Termómetro
- Peachímetro (Rango: 0 – 14)
- Recipientes de 4 litros
- Papel aluminio
- Soporte universal
- Tripo d

### **2.2.3 Neutralización**

Las muestras hidrolizadas se neutralizan con solución de hidróxido de sodio 6 M para regular el pH a un nivel 5.3 y luego iniciar el proceso fermentativo, esto favorece el metabolismo celular de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, de igual modo la producción de etanol.

En esta etapa se finaliza el proceso de hidrólisis, por lo tanto se tomarán las muestras del hidrolizado para realizar los análisis de azúcares reductores y totales, mediante el método espectrofotométrico de Miller Ácido 3.5 – dinitrosalicílico (DNS). Como se puede apreciar en el punto 1.7.3 neutralización. (Antoine Lavoisier, 1776), (Neutralización pdf, 2019).



### **Materiales y equipos**

- NaOH al 4 y 7%
- Agua destilada
- Vasos de precipitación de 1 litro
- Pipeta
- Varilla de vidrio
- Probeta de 100 ml
- Refractómetro
- Peachímetro (Rango: 0 – 14)

### **2.2.4 Fermentación y desgasificación**

La fermentación se efectúa separada de la hidrólisis, para esto será necesario prepara un cultivo de levadura patata Dextrosa (YPD) al 12 y 14 % del peso total de los azúcares reductores cuantificados en cada muestra. El medio se prepara con levadura *Saccharomyces cerevisiae* (microorganismo capaz de metabolizar la glucosa de alcohol) y como medio nutritivo peptona y glucosa, todos disueltos en agua destilada, la reacción masa de levadura, peptona, glucosa será de (1:2:2), luego las muestras se esterilizarán en el autoclave a 121°C por 15 minutos, en seguida se colocarán en una levadura patata Dextrosa a 220 rpm por 6 horas. (Correa y Mendoza, 2015).

El hidrolizado se someterá a fermentación anaerobio tomando en cuenta condiciones operacionales en el proceso como: porcentaje de inóculo de levadura 12 y 14%, tiempo de fermentación 6 y 8 días de acuerdo a los niveles postulados en el diseño experimental, así mismo las muestras se agitarán cuatro veces al día durante 10 minutos para liberar el dióxido de carbono, el fermentativo se realizará a temperatura de 30 a 37°C. (Correa y Mendoza, 2015).

Uno de los productos en la reacción de fermentación es el dióxido de carbono, teóricamente 100 gramos de glucosa produce aproximadamente 50.4 g de bioetanol y

48.8 g de dióxido de carbono (Kosaric, 2001), el cual tiene que ser separado del sistema en el proceso fermentativo y aprovecharlo para otros fines. Para los cual se coloca una manguera en la parte superior del montaje de fermentación, el dióxido de carbono se deposita en un Becker con agua. (Correa y Mendoza, 2015).

### **Materiales y equipos**

- Levadura *Saccharomyces cerevisiae*
- Peptona
- Glucosa
- Fermentador casero
- Equipo casero para mantener la temperatura del fermento
- Termómetro
- Varilla de vidrio
- Autoclave
- Focos
- Manguera de goma
- Tapones de goma

### **2.2.5 Destilación**

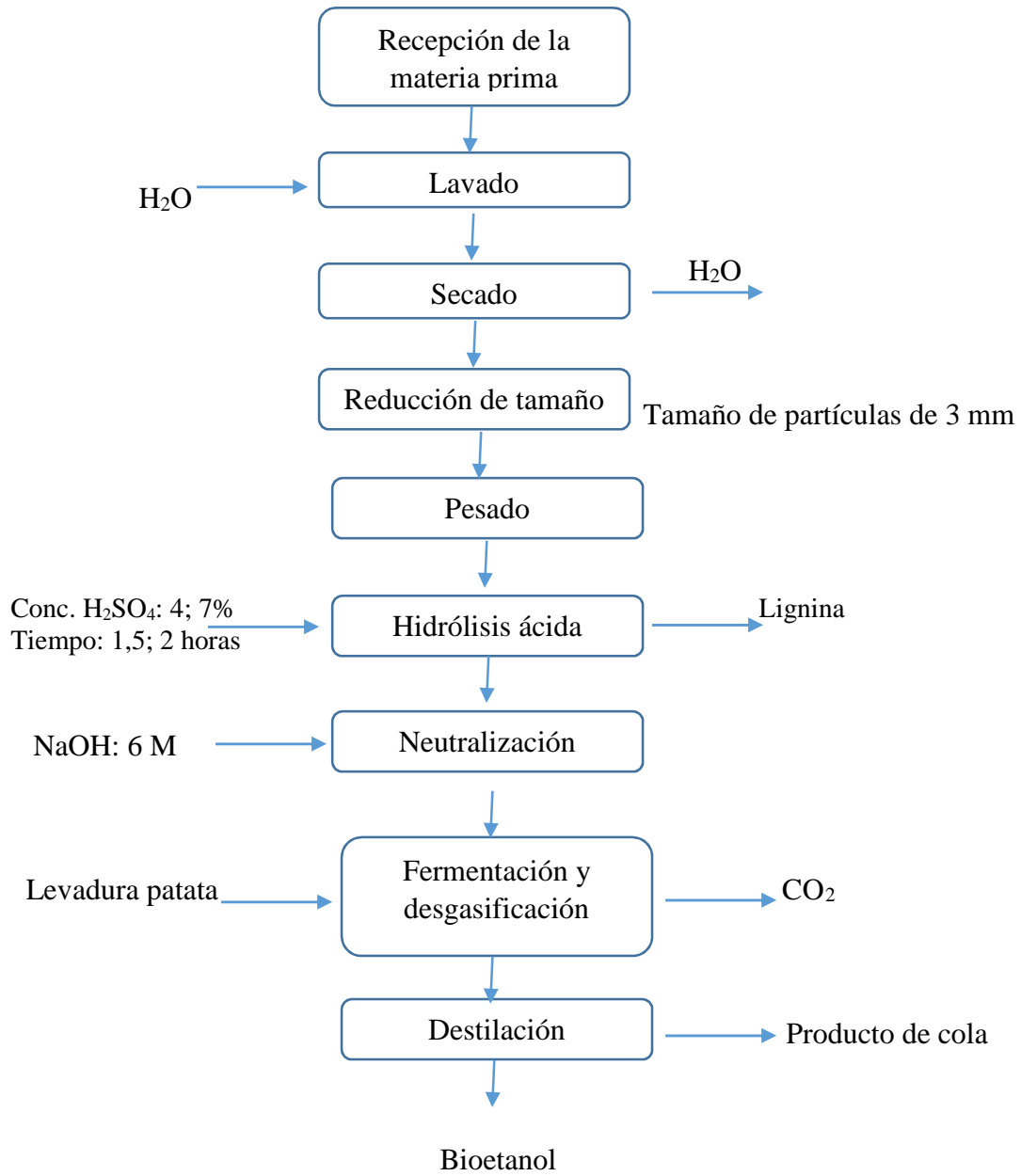
Pasados los 6 y 8 días se para el proceso de fermentación, luego mediante destilación simple se procede a separar el bioetanol producto del material hidrolizado que no reacciono, en esta operación se controla cuidadosamente la temperatura teniendo en cuenta el punto de ebullición del bioetanol (78°C). Como podemos apreciar en el punto 1.8 destilación. (TP-Laboratorios Químicos, 2019).

### **Materiales y equipos**

- Rota vapor
- Probeta de 100 ml
- Probeta 250 ml
- Alcoholímetro Gay Lussac

- Frascos de vidrio de 1 litro con tapa

**Figura II-2** Proceso de obtención de bioetanol a partir de marlo de maíz.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

### 2.3 Diseño experimental

Para determinar las variables en el presente trabajo experimental se plantea el diseño experimental de dos niveles y dos variables o parámetros.

En base a lo expuesto y descrito en el marco teórico, se considera para las concentraciones diluidas (4 y 7% v/v) y tiempo de residencia para el proceso de hidrólisis (1.5 y 2 horas). La temperatura no será variable ya que mantendrá una sola de 90°C para todo el proceso.

**Tabla II-2** Factores y dominios experimentales.

Factores	Dominio experimental	
	Nivel (-)	Nivel (+)
Concentración (%)	4	7
Tiempo (horas)	1.5	2

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

Para poder determinar las variables significativas en este trabajo experimental, se considera un diseño factorial de dos niveles y dos variables o parámetros.

Nº de variables: 2

Niveles: 2

Nº de experimentos:  $K^n = 2^2 = 4 \cdot 2 = 8$

Considerando las combinaciones de estas variables y niveles se determinará cuál de ellas es la más significativa.

**-1** = Es el valor bajo con el que se trabaja

**+1** = Es el valor alto con el que se trabaja



**Tabla II-3** Matriz de experimentos.

Pruebas	Conc. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%v/v) X <sub>1</sub>	Tiempo (h) X <sub>2</sub>	% rendimiento
1	-1	-1	Y <sub>1</sub>
2	+1	-1	Y <sub>2</sub>
3	-1	+1	Y <sub>3</sub>
4	+1	+1	Y <sub>4</sub>
5	-1	-1	Y <sub>6</sub>
6	+1	-1	Y <sub>7</sub>
7	-1	+1	Y <sub>8</sub>
8	+1	+1	Y <sub>9</sub>

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

En la Tabla II-3 Se muestran las cuatro pruebas con las dos variables independientes con sus valores bajos y altos, además de la variable respuesta (% rendimiento).

**Tabla II-4** Plan de experimentos.

Pruebas	Conc. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%v/v) X <sub>1</sub>	Tiempo (h) X <sub>2</sub>	% rendimiento
1	4	1,5	Y <sub>1</sub>
2	7	1,5	Y <sub>2</sub>
3	4	2	Y <sub>3</sub>
4	7	2	Y <sub>4</sub>
5	4	1,5	Y <sub>6</sub>
6	7	1,5	Y <sub>7</sub>
7	4	2	Y <sub>8</sub>
8	7	2	Y <sub>9</sub>

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

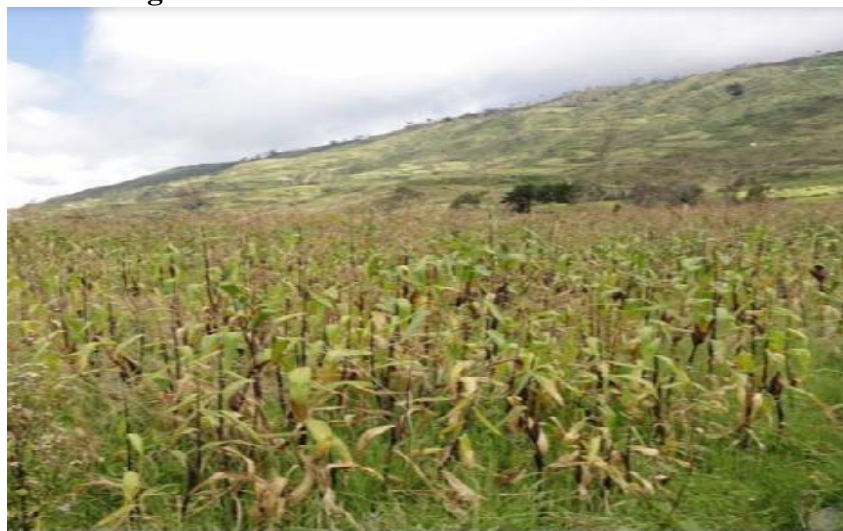
En la Tabla II-4 se muestran las variables con sus respectivos datos concretos para el diseño factorial en el proceso.

## 2.4 Procedimiento empleado para la obtención de bioetanol

### 2.4.1 Selección y recolección de materia prima

Las muestras de marlo u olote se lo realizó en el departamento de Tarija, municipio de Cercado, comunidad de Junacas teniendo en cuenta que no se encuentren en proceso de putrefacción, el marlo con gusanos o perforaciones y que no presente suciedad ni materia extraña, esto con el objetivo que la materia prima sea lo más representativa posible para la obtención de bioetanol.

**FiguraII-3** Plantaciones de maíz en la zona.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

### 2.4.2 Lavado de materia prima

Una vez que se recolecto la materia prima se procedió al lavado con agua destilada, esto con el objetivo de eliminar impurezas y materiales extraños en el residuo del maíz (marlo u olote).

**Figura II-4** Marlo u olote de la mazorca.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

### 2.4.3 Secado

Luego de realizar el lavado de las muestras se procedió a eliminar el exceso de humedad presente que no se perdió con el secado natural, para ello se utilizó un secador a tiro forzado, en el cual sólo se llegó a deshidratar el agua que se añadió en su lavado. Este proceso se realizó a una temperatura de 70°C por un lapso de tiempo de 2 horas aproximadamente, al ser un secador de tiro forzado la extracción de la húmedas en la muestra se realiza de una manera más rápida.

**Figura II-5** Secado de la materia prima.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

#### 2.4.4 Reducción de tamaño

El marlo de maíz lavado y secado se trituro en un molino de discos hasta un tamaño de partículas de 3 mm, con el fin de aumentar la superficie de contacto favoreciendo los rendimientos en la hidrólisis, porcentaje de azúcares reductores y producto terminado, como un porcentaje del triturado no cumplía con el tamaño recomendado se procedió al tamizado.

**Figura II-6** Triturado de la materia prima.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

#### 2.4.5 Pesado

Como punto de control se pesó la cantidad promedio de 80 gramos y 1 litro de solución para la relación 1:12,5 en relación (p/v), haciendo uso de balanza analítica y una probeta para las mediciones adecuadas. Los datos de las muestras sirven como referencia para la determinación de porcentajes de rendimiento y conversión.

**Figura II-7** Pesado de la materia prima.

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

#### 2.4.6 Hidrólisis ácida

Los factores analizados mediante la aplicación del diseño de experimentos en el proceso de hidrólisis ácida diluida fueron: masa del marlo o coronta, la concentración de ácido sulfúrico, la temperatura y el tiempo de hidrólisis, para esto la variable respuesta de estos factores es el porcentaje de azúcares reductores como se muestra en la tabla II-5

**Tabla II-5** Relación del sustrato y la solución.

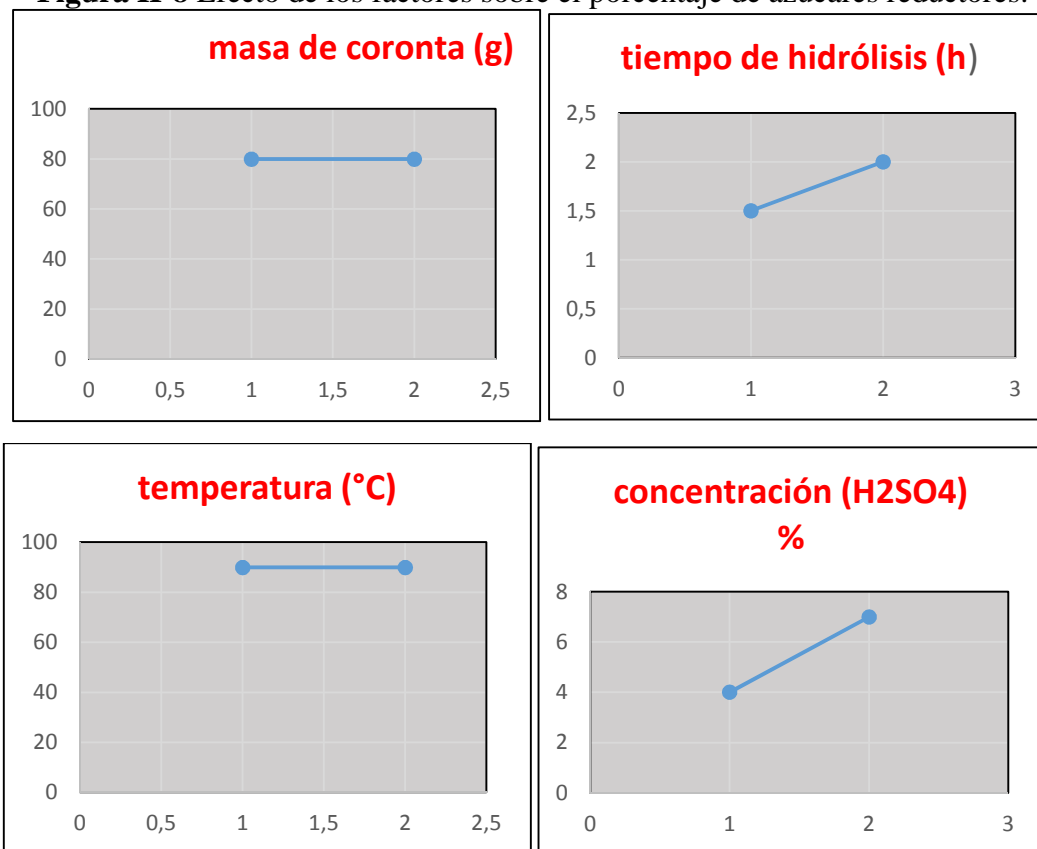
<b>Muestra</b>	<b>Sustrato seco (g)</b>	<b>Solución ácida (ml)</b>	<b>azúcares reductores (%)</b>
<b>1</b>	80.03	1000	1.82
<b>2</b>	80.01	1000	1.45
<b>3</b>	80.05	1000	1.91

<b>4</b>	80.02	1000	1.78
<b>5</b>	80.46	1000	1.80
<b>6</b>	80.07	1000	1.49
<b>7</b>	80.13	1000	1.87
<b>8</b>	80.08	1000	1.77
Promedio			1.74

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

El % promedio de azúcares reductores es 1.74 por cada 100 ml de solución hidrolizada, dentro de proceso de hidrólisis los principales factores que trabajan en el proceso son la concentración y el tiempo. Éstos al ser variables con un máximo y un mínimo mientras que la masa de coronta y la temperatura son constantes como podemos apreciar en la figura II-8

**Figura II-8** Efecto de los factores sobre el porcentaje de azúcares reductores.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

Como podemos apreciar en la figura II- la masa de coronta o marlo y temperatura son constantes teniendo un impacto que no varía en la hidrólisis mientras que la concentración de ácido y el tiempo de hidrólisis varían mostrando una inclinación y por lo tanto teniendo mayor impacto en la variable respuesta % azúcares reductores, de manera resumida se explica más abajo el proceso.

Una vez que se realizó el pretratamiento mecánico explicados en los puntos anteriores se procedió a pesar las muestras de acuerdo a la relación que se emplea que es 1:12,5 (p/v), luego se hidrolizó con ácido sulfúrico al 4 y 7% según el nivel de trabajo en relación al diseño de experimento, esto se sometió a una temperatura de 90 °C durante 1.5 y 2 horas.

De acuerdo a nuestro diseño experimental se preparó 4 muestras en el cual se hidrolizó en el equipo eléctrico tipo baño María.

**Figura II-9** Hidrolización de la solución con relación 1:12.5 (p/v).



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

**Figura II-10** Solución hidrolizada.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

#### 2.4.7 Neutralización

Luego del hidrolizado se realizó la separación por medio de un filtrado para el separado de la solución hidrolizada del sólido. Ya separada la solución se midió la acidez lo cual se encontraba con una acidez 1.2 siendo está muy ácido, para esto se realizó la neutralización con una solución de hidróxido de sodio 6 M para regular el pH a un nivel 5.3, una vez neutralizado se tomó muestras para llevar a ser análisis de azúcares reductores y totales.

**Figura II-11** Muestras para llevar al CEANID



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.



#### 2.4.8 Fermentación y desgasificación

Una vez realizado la neutralización se prepara una levadura patata Dextrosa (YPD). El medio se preparó con levadura *Saccharomyces cerevisiae* 2,1 g y como medio nutritivo peptona 4,2 g y glucosa 4,2 g, todos disueltos en 50 ml de agua destilada a una temperatura de 30°C. Después de unos 2 minutos aproximadamente, la levadura se activó observando por la presencia de burbujas de CO<sub>2</sub> y el aumento de volumen de la misma.

Posteriormente las muestras de la solución se esterilizaron en la autoclave a 121°C por 15 minutos, donde en seguida se mezcló con la levadura patata Dextrosa a 220 rpm por 6 horas.

El hidrolizado se procedió a someter a fermentación anaerobio tomando en cuenta tiempo de fermentación de 6 días. Se considera que la fermentación llega a su punto culminante cuando el °Brix se mantiene constante.

La temperatura que se ha empleado para la fermentación fue de 32 a 34 °C, a medida que la fermentación avanza, el pH se va reduciendo.

Para realizar la desgasificación, las muestras se agitaron 3 veces al día durante 10 minutos para liberar el dióxido de carbono.

**Figura II-12** Proceso de fermentación.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

**Figura II-13** Fermentador casero.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

#### **2.4.9 Destilación**

Después de terminar el proceso de fermentación, por medio del rota vapor se procede a separar el bioetanol del material hidrolizado que no reaccionó, para ello se vierte una medida de 500 ml de la solución fermentada en el balón que se sumerge al agua caliente y se da arranque al equipo, en esta operación se controla cuidadosamente la temperatura teniendo en cuenta el punto de ebullición del bioetanol ( $78^{\circ}\text{C}$ ). Una vez separado la solución se realizó la lectura del grado alcohólico y se almacenó el etanol en un frasco de vidrio.

**Figura II-14** Destilación del bioetanol.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

**CAPÍTULO III**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dentro de los cálculos que se realizarán para llenar cuadros de acuerdo a los datos se lo realizará sólo para la primera muestra y para las demás sólo se anotarán los datos ya calculados.

### 3.1 Resultados del lavado y secado

#### 3.1.1 Cálculo del % de humedad de la materia prima

Para realizar el cálculo del porcentaje de humedad se tiene que pesar la materia prima antes y después del secado para posterior aplicar la ecuación adecuada.

**Tabla III-1** % de humedad de la materia prima.

<b>Muestra</b>	<b>Masa inicial (g)</b>	<b>Masa final (g)</b>	<b>% Humedad</b>
<b>1</b>	100.45	80.03	20.33
<b>2</b>	100.30	80.01	20.23
<b>3</b>	100.02	80.05	19.96
<b>4</b>	100.21	80.02	20.15
<b>5</b>	100.10	80.46	19.62
<b>6</b>	100.05	80.07	19.97
<b>7</b>	100.37	80.13	20.17
<b>8</b>	100.25	80.08	20.12
<b>promedio</b>	<b>100.22</b>	<b>80.10</b>	<b>20.07</b>

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(P_i - P_f)}{P_i} * 100 = \quad (\text{Ec. 3-1})$$

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(100.45 - 80.03)}{100.45} * 100 = 20.33 \%$$

En la tabla III-1 podemos apreciar el porcentaje de humedad, dando como dato un promedio de 20.17%. Aclarando que el marlo u olote se lo recolectó con un tiempo de cosecha de 2 meses antes de llevar al secado en el laboratorio.

### 3.2 Resultados de la hidrólisis ácida diluida

#### 3.2.1 °Brix obtenidos en la hidrólisis ácida diluida

Posterior del hidrolizado y filtrado, la siguiente tabla nos muestra medición del °Brix obtenidos en las muestras.

**Tabla III-2** °Brix obtenidos en la hidrólisis ácida.

<b>Pruebas</b>	<b>Conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (%v/v).</b>	<b>Tiempo (h)</b>	<b>°Brix</b>
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1.5</b>	10.6
<b>2</b>	<b>7</b>	<b>1.5</b>	16.1
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	12.9
<b>4</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	17.4
<b>5</b>	<b>4</b>	<b>1.5</b>	11.3
<b>6</b>	<b>7</b>	<b>1.5</b>	16.7
<b>7</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	13.1
<b>8</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	18.3

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

### 3.3 Resultado de la neutralización

Después del realizar la hidrolización, la solución se lo neutraliza a un pH menor igual a 5,3. La siguiente tabla nos muestra el cambio de pH que se realizó a la solución ácida con una solución de hidróxido de sodio 6 M.

**Tabla III-3** Neutralización de la solución ácida.

<b>Pruebas</b>	<b>pH solución ácida inicial</b>	<b>pH solución neutralizada</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>5.2</b>
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>5.1</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>5.3</b>
<b>4</b>	<b>1</b>	<b>5.1</b>
<b>5</b>	<b>1</b>	<b>5.3</b>
<b>6</b>	<b>1</b>	<b>5.1</b>
<b>7</b>	<b>1</b>	<b>5.2</b>
<b>8</b>	<b>1</b>	<b>5.2</b>

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

### 3.4 Resultado de los azúcares reductores y azúcares totales

Luego que la solución hidrolizada se neutralizó con NaOH, posteriormente fue llevada al CEANID para la determinación de sus azúcares reductores y totales.

**Tabla III-4** % de azúcares reductores y totales obtenidos en la hidrólisis.

<b>Muestra</b>	<b>% azúcares reductores</b>	<b>% azúcares totales</b>
<b>1</b>	1.82	1.98
<b>2</b>	1.45	1.70
<b>3</b>	1.91	2.09
<b>4</b>	1.78	1.93
<b>5</b>	1.80	1.91
<b>6</b>	1.49	1.68
<b>7</b>	1.87	2.01
<b>8</b>	1.77	1.90
<b>Promedio</b>	1.74	1.90

**Fuente:** CEANID, 2019.

En la tabla III-4 nos indica la cantidad de azúcares totales que hay en 100 ml de solución azucarada, en este caso podemos decir para la muestra 1 se tiene 1.98 g de azúcares totales en 100 ml y en 1 litro habría 19.8 g de azúcares totales.

### 3.5 Resultado de la fermentación

Pasado los 13 días de fermentación se fue apreciando como a medida que pasaban las horas tanto el pH como el ° Brix se disminuían de manera considerable hasta permanecer constantes como podemos apreciar en la tabla III-7. En la tabla III-6 podemos ver las características modelo para la fermentación para la muestra 1.

**Tabla III-5** Parámetros medidos de la fermentación.

Volumen	975 ml
°Brix	10.6
pH	5.2
Temperatura	30 °C
Tiempo	13 días
Densidad	1.082

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

En el tiempo de fermentación se realizó la medición del °Brix y pH para observar la evolución del °Brix y pH durante la fermentación.

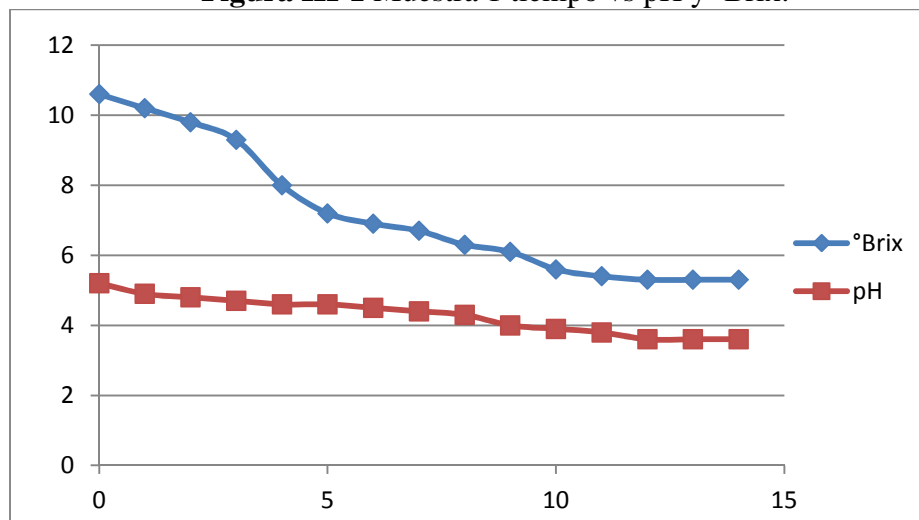
**Tabla III-6** Evolución del °Brix y pH durante la fermentación para las 4 muestras.

	<b>Muestra 1</b>		<b>Muestra 2</b>		<b>Muestra 3</b>		<b>Muestra 4</b>	
<b>días</b>	<b>°Brix</b>	<b>pH</b>	<b>°Brix</b>	<b>pH</b>	<b>°Brix</b>	<b>pH</b>	<b>°Brix</b>	<b>pH</b>
0	1.6	5.2	16.1	5.1	12.9	5.3	17.4	5.1
1	10.2	4.9	15.8	5	12.6	5	17.1	4.9
2	9.8	4.8	15.5	4.8	12.2	4.9	16.5	4.7

3	9.3	4.7	15.2	4.7	11.7	4.7	16.2	4.5
4	8	4.6	14.7	4.5	11.6	4.5	15.8	4.3
5	7.2	4.6	14.3	4.2	11.3	4.4	15.6	3.9
6	6.9	4.5	14	4	10.9	4.1	15.4	3.8
7	6.7	4.4	13.6	3.9	10.8	4	15.1	3.5
8	6.3	4.3	13.1	3.6	10.5	3.8	14.3	3.2
9	6.1	4.0	12.8	3.4	10.1	3.7	13.9	3.2
10	5.6	3.9	12.3	3.3	9.8	3.3	13.7	3
11	5.4	3.8	11.1	3.1	9.4	3.1	13.1	2.9
12	5.3	3.6	10.4	2.8	9.1	2.9	12.4	2.6
13	5.3	3.6	10	2.7	8.8	2.9	11.8	2.5
14	-	-	9.8	2.5	8.8	2.9	11.7	2.3
15	-	-	9.8	2.5	-	-	11.7	2.3

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

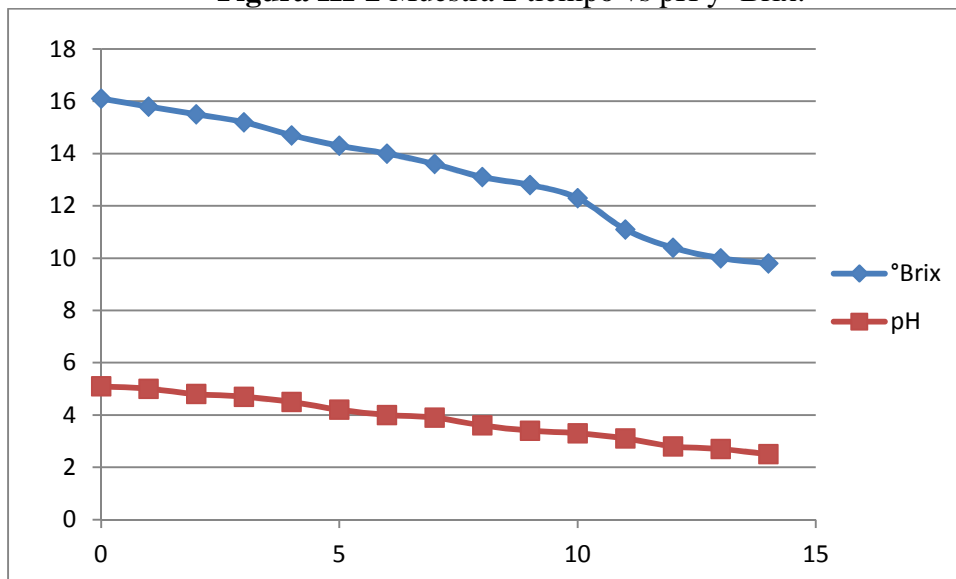
**Figura III-1** Muestra 1 tiempo vs pH y °Brix.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

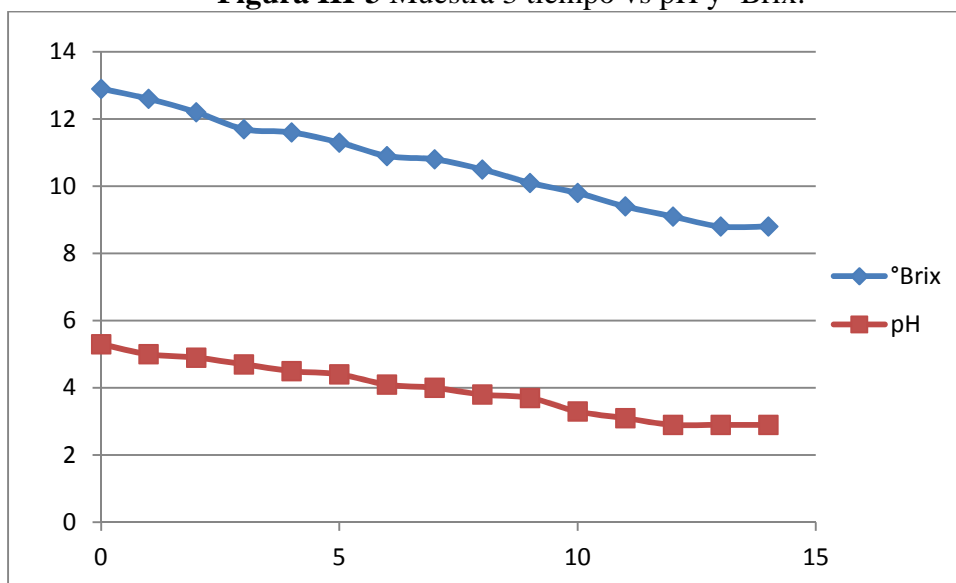


**Figura III-2** Muestra 2 tiempo vs pH y °Brix.

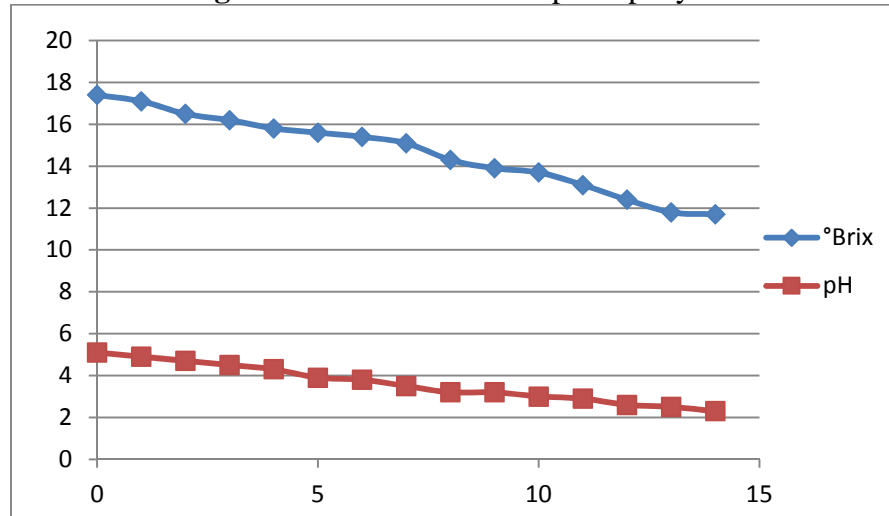


**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

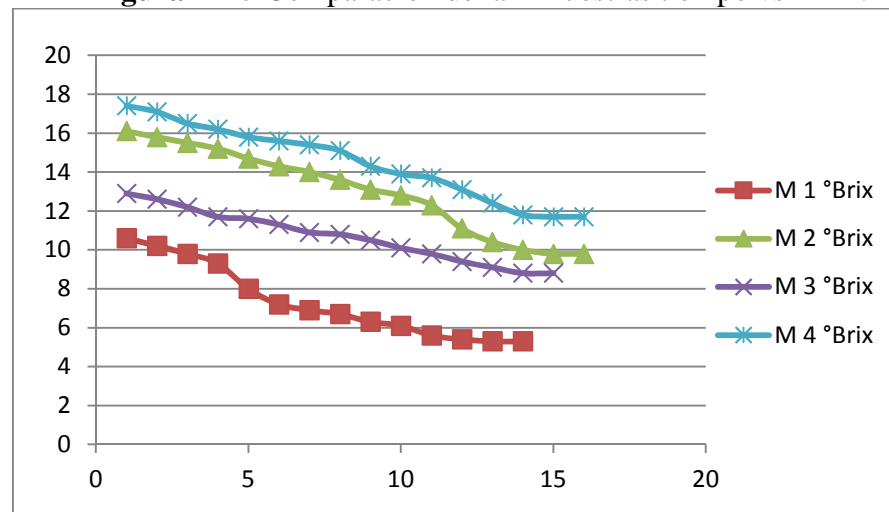
**Figura III-3** Muestra 3 tiempo vs pH y °Brix.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

**Figura III-4** Muestra 4 tiempo vs pH y °Brix.

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

**Figura III-5** Comparación de la 4 muestras tiempo vs °Brix.

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

En la tabla III-6 y figuras III-5 podemos ver que con el transcurso del tiempo de fermentación se observa que tanto los °Brix como el pH van disminuyendo hasta llegar a mantenerse constantes.

### 3.6 Resultados de la destilación

La destilación se lleva a cabo en destilación al vacío a una temperatura aproximada de 78 °C.

**Tabla III-7** Producto obtenido para diferentes muestras.

<b>Muestra</b>	<b>Volumen Fermentado (ml)</b>	<b>Volumen destilado producto de cabeza (ml)</b>	<b>Grado alcohólico producto de cabeza (°GL)</b>	<b>Volumen de alcohol obtenido (ml)</b>
<b>1</b>	975	354	14	49.56
<b>2</b>	965	372	11	40.92
<b>3</b>	995	360	13	46.8
<b>4</b>	925	383	12	45.96

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

### 3.7 Diseño factorial

Para valorar los resultados de nuestro diseño factorial se usan los datos respectivos del rendimiento y el programa de análisis estadístico SPSS 17.0.

#### 3.7.1 Análisis estadístico del diseño factorial en el proceso de destilación

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS 17.0 (Statistical package for the Social Sciences), el mismo que permite un tratamiento integrado de todas las fases del análisis de datos obtenidos y resultados más representativos y confiables.

Con el sistema de varianza ANOVA se determina la influencia de los factores concentración de ácido, tiempo y su respectiva interacción sobre la variable respuesta (rendimiento).

**Tabla III-8** Datos para el análisis de varianza.

Pruebas	Conc. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%v/v) X <sub>1</sub>	Tiempo (h) X <sub>2</sub>	% Rendimiento
1	-1	-1	65.86
2	+1	-1	69.21
3	-1	+1	66.74
4	+1	+1	74.08
5	-1	-1	64.31
6	+1	-1	69.37
7	-1	+1	64.45
8	+1	+1	70.96

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

Para hacer correr el programa de SPSS 17.0 se introdujo los datos más las repeticiones. De acuerdo al diseño factorial planteado, cada factor tiene un nivel superior (+1) y un nivel inferior (-1).

**Tabla III-9** Datos para el análisis de varianza.

	N
Conc. Ac. -1,00	4
1,00	4
Tiempo -1,00	4
1,00	4

**Fuente:** SPSS 17.0.

### 3.7.2 Variable respuesta del rendimiento

En la tala III- se puede observar el análisis de varianza para la variable dependiente o variable respuesta, tomando en cuenta los factores de concentración de ácido, tiempo y la interacción.

temp: temperatura a la que se llevó la hidrólisis

conc: concentración del ácido para la hidrólisis

**Tabla III-10** Análisis de varianza ANOVA (Rendimiento).

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	95,615 <sup>a</sup>	3	31,872	40,482	,002
Intersección	47649,389	1	47649,389	60521,570	,000
Conc. Ac	73,145	1	73,145	92,904	,001
Tiempo	17,494	1	17,494	22,219	,009
Conc .Ac * Tiempo	4,977	1	4,977	6,322	,066
Error	3,149	4	,787		
Total	47748,153	8			
Total corregida	98,764	7			

a. R cuadrado = .968 (R cuadrado corregida = .944)

**Fuente:** SPSS 17.0.

A partir del análisis de varianza, señala que las variables significativas con un nivel de confianza de 90%, o que es lo mismo cuando los valores de significación son menores

a 0,10. Para el caso, las variables significativas están constituidas por la concentración de ácido con un valor de significancia de 0,001, el tiempo 0,009 y la interacción de concentración y tiempo de 0,066.

### 3.7.3 Análisis de regresión lineal

El modelo de regresión establece el modelo matemático que relaciona las variables más significativas con la variable respuesta. Para el análisis de regresión, se introdujo al SPSS las variables concentración y tiempo.

**Tabla III-11** Variables introducidas/eliminadas.

Modelo	Variables introducidas	Variables eliminadas	Método
1	Tiempo conc. ac <sup>a</sup>	.	Introducir

a. Todas las variables solicitadas introducidas

**Fuente:** SPSS 17.0.

**Tabla III-12** Resumen del modelo<sup>b</sup>.

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación	Durbin-Watson
1	,958 <sup>a</sup>	,918	,885	1,27485	2,090

a. Variables predictoras: (constante), tiempo, conc.ac

b. Variable dependiente: rendimiento

**Fuente:** SPSS 17.0.

**Tabla III-13** Coeficientes ANOVA<sup>b</sup>.

Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1 Regresión	90,638	2	45,319	27,884	,002 <sup>a</sup>
Residual	8,126	5	1,625		
Total	98,764	7			

a. Variables predictoras: (Constante), TIEMPO, CONC.AC

b. Variable dependiente: RENDIMIENTO

**Fuente:** SPSS 17.0.

**Tabla III-14** Coeficientes ANOVA<sup>a</sup>.

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.
	B	Error típ.	Beta		
1 (Constante)	77,176	,451		171,225	,000
Conc. Ac	-3,024	,451	-,861	-6,709	,001
Tiempo	-1,479	,451	-,421	-3,281	,022

a. Variable dependiente: RENDIMIENTO

**Fuente:** SPSS 17.0.

### 3.8 Cálculo del volumen de alcohol

Para realizar el cálculo del volumen de alcohol de cada destilado usamos la siguiente ecuación.

$$^{\circ}\text{GL} = 14 \%$$

$$V_{\text{destilado}} = 354 \text{ ml}$$

$$V_d * ^{\circ}\text{GL} = V_{\text{alcohol}} \quad (\text{Ec. 3-2})$$

$$V_{\text{Alcohol}} = \frac{14}{100} * 354 = 49.56 \text{ ml}$$

### 3.9 Cálculo de masa real de etanol

$$\rho_{\text{alcohol}} = 0.79 \text{ g/ml}$$

$$V_{\text{destilado}} = 354 \text{ ml}$$

$$\rho_{\text{Alcohol}} = \frac{m_{\text{Alcohol}}}{V_{\text{Alcohol}}} = \quad (\text{Ec. 3-3})$$

$$m_{\text{real etanol}} = \frac{0,79 \text{ g}}{\text{ml}} * 354 \text{ ml} = 279.66 \text{ g}$$

### 3.10 Cálculo del rendimiento

Finalmente se obtiene el rendimiento:

$$\text{Rendimineto \%} = \frac{\text{masareal}}{\text{masa teorica}} * 100 = \quad (\text{Ec. 3-4})$$

$$\text{Rendimineto \%} = \frac{279.66}{424.61} * 100 = 65.86 \%$$



**Tabla III-15** Rendimiento de alcohol (%).

Muestra	Rendimiento de alcohol (%)
1	65.86
2	69.21
3	66.74
4	74.08
5	64.31
6	69.37
7	64.45
8	70.96
Media	68.12

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

### 3.11 Cálculo del modelo cinético de la fermentación alcohólica

El modelo de la cinética de crecimiento celular mostrada en la Figura I-5, se realizó mediante la variación de 4 parámetros. Se llevó a cabo mediante el método de los tres puntos para la determinación del modelo cinético en función del tiempo y el ° Brix de fermentación a partir de los resultados experimentales.

Para lo cual se usó las siguientes ecuaciones:

$$Y_0 = \frac{-3Y_0 + 4Y_1 - Y_2}{2h} \quad (\text{Ec. 3-5})$$

$$Y_1 = \frac{-Y_0 + Y_2}{2h} \quad (\text{Ec. 3-6})$$

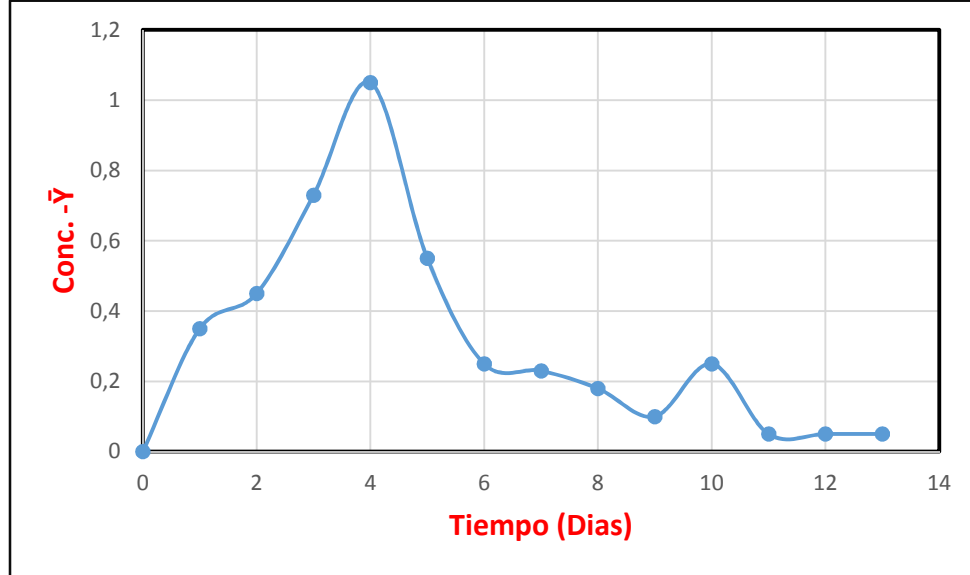
$$Y_2 = \frac{Y_0 - 4Y_1 + 3Y_2}{2h} \quad (\text{Ec. 3-7})$$

**Tabla III-16** Estadísticas del método de tres puntos.

Tiempo	°Brix	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Yx	ln(-d°Brix/dt)	ln°Brix
0	10,6	0												0	0	2,36
1	10,2	0	-0,35											0,35	-1,05	2,32
2	9,8	0	-0,45	-0,1										0,45	-0,79	2,28
3	9,3		-0,55	-0,9	-1,55									0,73	-0,31	2,23
4	8			-2,1	-1,05	-1,05								1,05	0,05	2,08
5	7,2				-0,55	-0,55	-0,35							0,55	-0,59	1,97
6	6,9					-0,05	-0,25	-0,1						0,25	-1,39	1,93
7	6,7						-0,15	-0,3	-0,5					0,23	-1,47	1,9
8	6,3							-0,5	-0,3	-0,05				0,18	-1,71	1,84
9	6,1								-0,1	-0,35	-0,65			0,1	-2,3	1,8
10	5,6									-0,65	-0,35	-0,25		0,25	-1,39	1,72
11	5,4										-0,05	-0,15	-0,15	0,05	-2,9	1,69
12	5,3											-0,05	-0,05	0,05	-2,9	1,66
13	5,3												-0,05	0,05	-2,9	1,66

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

**Figura III-6** Resultados experimentales de la fermentación en función del tiempo.



**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

Linealización:

$$\ln - \frac{dCa}{dt} = \ln k + n \ln Ca$$

$$Y = A + Bx$$

Por medio de la ecuación de la fermentación obtenemos la velocidad de reacción

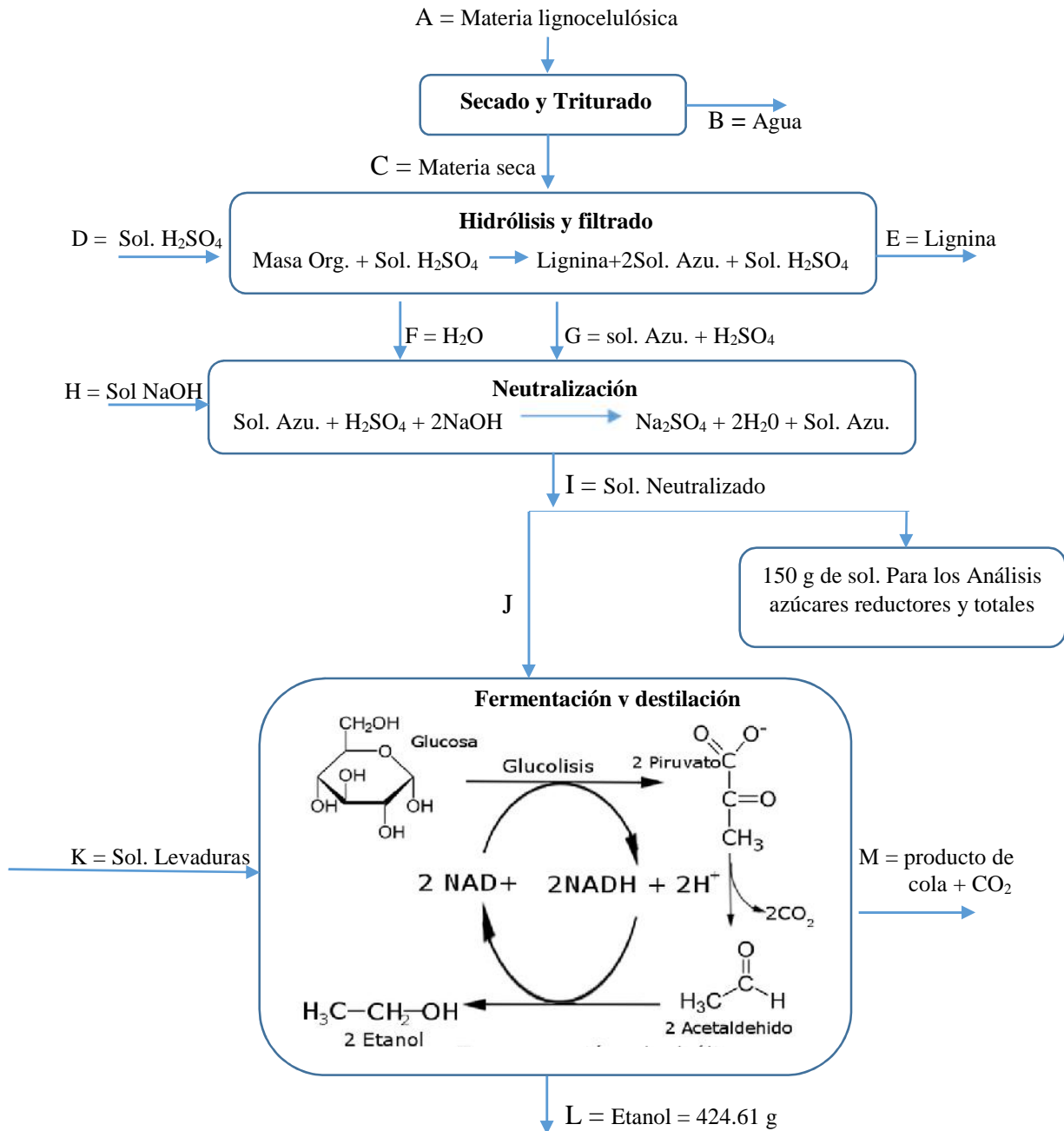


$$V_r = - \frac{1}{1} \frac{\Delta C_6H_{12}O_6}{\Delta t} = \frac{1}{2} \frac{\Delta C_2H_5OH}{\Delta t} = \frac{1}{2} \frac{\Delta CO_2}{\Delta t} =$$

$$V_r = - \frac{1}{1} \frac{5.3 - 10.6}{13}$$

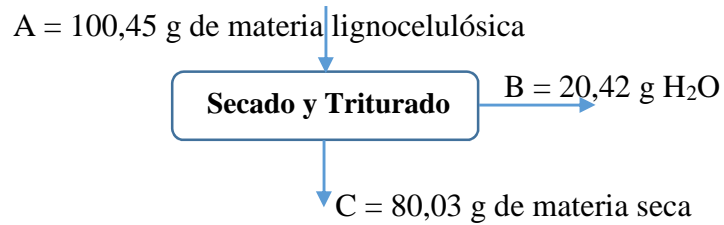
$$V_r = 0.4077 \text{ M/t}$$

### 3.12 Balance de materia con reacción química en el proceso de obtención de bioetanol a partir de materia lignocelulósica



### 3.12.1 Balance de Materia en el proceso de secado y triturado

Flujo	Cantidad	Unidades
A	100.45	g
B	20.42	g
C	80.03	g



$$A = B + C \quad (\text{Ec. 3.6})$$

$$B = A - C = (100,45 - 80,03) \text{ g}$$

$$B = 20,42 \text{ g}$$

### 3.12.2 Balance de Materia en el proceso de Hidrolizado y filtrado

Flujo	Cantidad	Unidades
C	80.03	g
D	1030	g
E	25.98	g
F	953.38	g
G	80.52	g
Vapor de H <sub>2</sub> O	59.16	g

Para la solución ácida:

$$4\% \text{ H}_2\text{SO}_4 = 1.03 \text{ g/ml}$$

$$V = 1000 \text{ ml}$$

$$\rho = \frac{m}{v}$$

$$m = \rho * v = 1.03 \frac{\text{g}}{\text{ml}} * 1000 \text{ ml}$$

$$m_{4\% \text{ H}_2\text{SO}_4} = 1030 \text{ g}$$

Para la solución hidrolizada:

$$4\% \text{ H}_2\text{SO}_4 = 1.03 \text{ g/ml}$$

$$V = 926 \text{ ml}$$

$$\rho = \frac{m}{v}$$

$$m = \rho * v = 1.03 \frac{\text{g}}{\text{ml}} * 926 \text{ ml}$$

$$m_{4\% \text{ H}_2\text{SO}_4} = 953.38 \text{ g}$$

Determinación de la masa molar (M):

$$M_{\text{lignina}} = (M_{\text{Carbonos}} * N^{\circ} \text{Carbonos}) + (M_{\text{Hidrógenos}} * N^{\circ} \text{Hidrógenos}) \\ + (M_{\text{Oxígenos}} * N^{\circ} \text{Oxígenos})$$

$$M_{\text{lignina}} = (12 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * 6) + (1 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * 10) + (16 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * 5)$$

$$M_{\text{lignina}} = 162 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$M_{\text{Celulosa}} = (M_{\text{Carbonos}} * N^{\circ} \text{Carbonos}) + (M_{\text{Hidrógenos}} * N^{\circ} \text{Hidrógenos}) \\ + (M_{\text{Oxígenos}} * N^{\circ} \text{Oxígenos})$$

$$M_{\text{Celulosa}} = (12 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * 5) + (1 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * 10) + (16 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * 5)$$

$$M_{\text{Celulosa}} = 150 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$M_{\text{lignocelulosa}} = (M_{\text{Carbonos}} * N^{\circ} \text{Carbonos}) + (M_{\text{Hidrógenos}} * N^{\circ} \text{Hidrógenos}) \\ + (M_{\text{Oxígenos}} * N^{\circ} \text{Oxígenos})$$

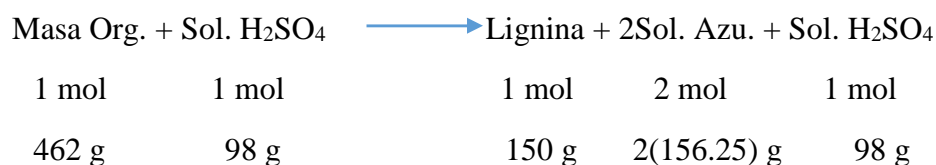
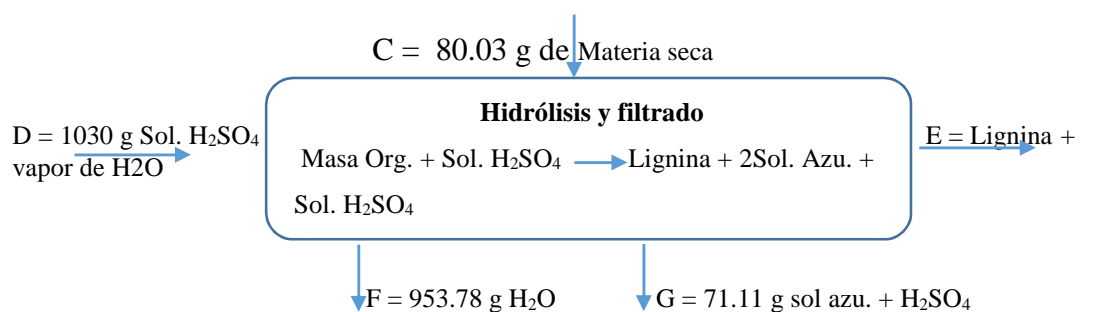
$$M_{\text{lignocelulosa}} = (9 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * 6) + (1 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * 10) + (16 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * 2)$$

$$M_{\text{lignocelulosa}} = 96 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

**Tabla III- 17** Composición masa molar de la materia lignocelulósica.

Compuesto	Formula	Masa molar (g/mol)
Celulosa	$(C_6H_{10}O_5)_n$	162
Hemicelulosa	$(C_5H_{10}O_5)_n$	150
Lignina	$(C_9H_{10}O_2)_n$	150
Total	-	462

Fuente: Elaboración propia, 2019.



$$m_{\text{lignina}} =$$

$$80.03 \text{ g de marlo} * \frac{1 \text{ mol de marlo}}{462 \text{ g de marlo}} * \frac{1 \text{ mol lignina}}{1 \text{ mol de marlo}} * \frac{150 \text{ g de lignina}}{1 \text{ mol de lignina}}$$

$$m_{\text{lignina}} = 25.98 \text{ g de lignina}$$

$$m_{\text{sol. H}_2\text{SO}_4} =$$

$$80.03 \text{ g de marlo} * \frac{1 \text{ mol de marlo}}{462 \text{ g de marlo}} * \frac{1 \text{ mol sol. H}_2\text{SO}_4}{1 \text{ mol de marlo}} * \frac{98 \text{ g de sol. H}_2\text{SO}_4}{1 \text{ mol de sol. H}_2\text{SO}_4}$$

$$m_{\text{sol.H}_2\text{SO}_4} = 16.98 \text{ g de sol. H}_2\text{SO}_4$$

$$m_{\text{sol. azu.}} =$$

$$80.03 \text{ g de marlo} * \frac{1 \text{ mol de marlo}}{462 \text{ g de marlo}} * \frac{2 \text{ mol sol. azu.}}{1 \text{ mol de marlo}} * \frac{156.25 \text{ g de sol. azu.}}{1 \text{ mol de sol. azu.}}$$

$$m_{\text{sol.H}_2\text{SO}_4} = 54.13 \text{ g de sol. azu.}$$

$$C + D = F + G + E + \text{Vapor de H}_2\text{O}$$

$$\text{Vapor de H}_2\text{O} = C + D - F - G - E$$

$$\text{Vapor de H}_2\text{O} = 80.03 \text{ g} + 1030 \text{ g} - 953.78 \text{ g} - 71.11 \text{ g} - 25.98 \text{ g}$$

$$\text{Vapor de H}_2\text{O} = 59.16 \text{ g}$$

### 3.12.3 Balance de Materia en el proceso de neutralización

Flujo	Cantidad	Unidades
F	953.38	g
G	71.11	g
H	49.2	g
I	964.62	g

Para la solución básica:

$$6\text{M NaOH} = 1.2 \text{ g/ml}$$

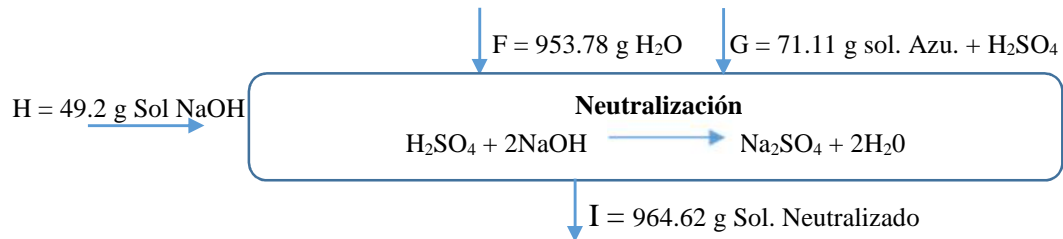
$$V = 41 \text{ ml}$$

$$\rho = \frac{m}{v}$$

$$m = 1.2 \frac{\text{g}}{\text{ml}} * 41 \text{ ml}$$

$$m_{\text{NaOH}} = 49.2 \text{ g}$$





$$m_{\text{NaOH}} =$$

$$49.2 \text{ g de NaOH} * \frac{1 \text{ mol de NaOH}}{40 \text{ g de NaOH}} * \frac{1 \text{ mol Na}_2\text{SO}_4}{2 \text{ mol de NaOH}} * \frac{142 \text{ g de Na}_2\text{SO}_4}{1 \text{ mol de Na}_2\text{SO}_4}$$

$$m_{\text{NaOH}} = 87.33 \text{ g de Na}_2\text{SO}_4$$

$$m_{\text{H}_2\text{O}} =$$

$$49.2 \text{ g de NaOH} * \frac{1 \text{ mol de NaOH}}{40 \text{ g de NaOH}} * \frac{2 \text{ mol H}_2\text{O}}{2 \text{ mol de NaOH}} * \frac{18 \text{ g de H}_2\text{O}}{1 \text{ mol de H}_2\text{O}}$$

$$m_{\text{H}_2\text{O}} = 22.14 \text{ g de H}_2\text{O}$$

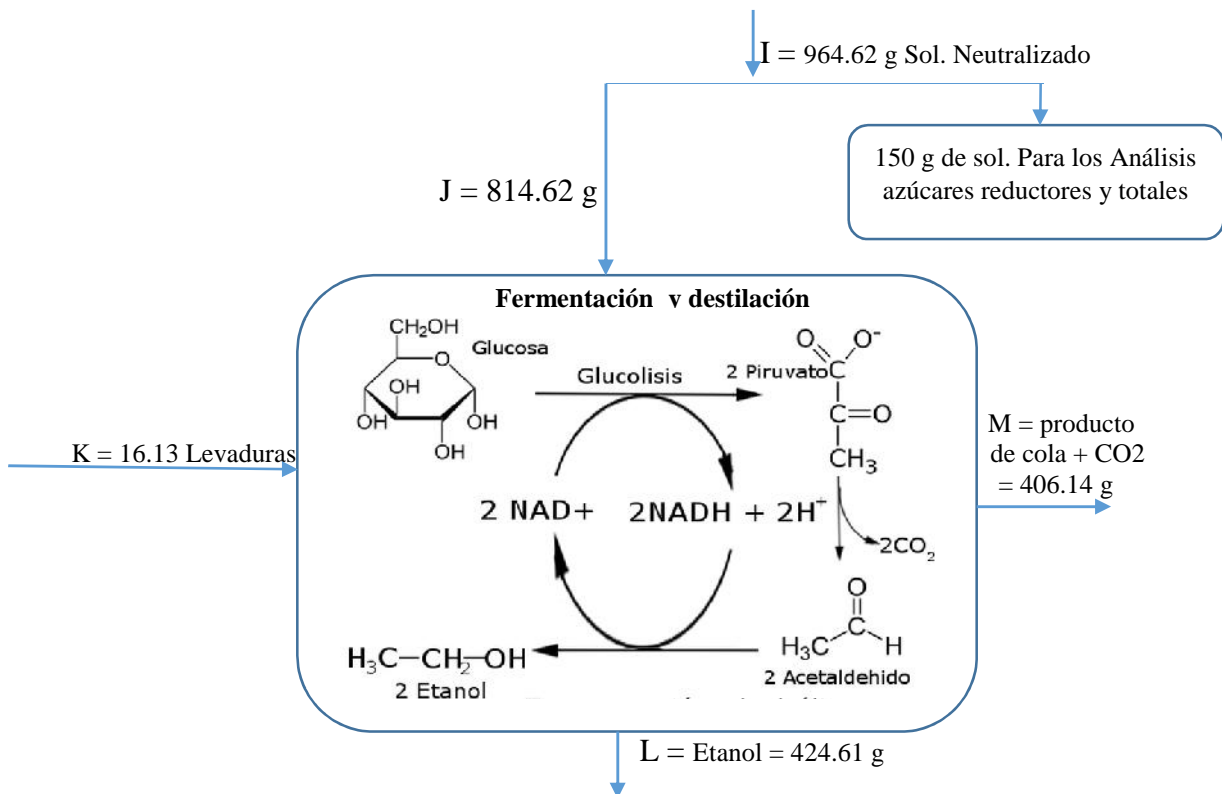
$$I = F + G + H - m_{\text{NaOH}} - m_{\text{H}_2\text{O}}$$

$$I = 953.78 \text{ g} + 71.11 \text{ g} + 49.2 \text{ g} - 87.33 \text{ g} - 22.14 \text{ g}$$

$$I = 964.62 \text{ g Sol. Neutralizado}$$

### 3.12.4 Balance de Materia en el proceso de fermentación

Flujo	Cantidad	Unidades
I	964.62	g
J	814.62	g
K	16.13	g
Etanol	424.61	g
M	406.14	g

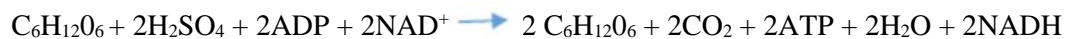


$$J = I - 150 \text{ g de sol. Para análisis}$$

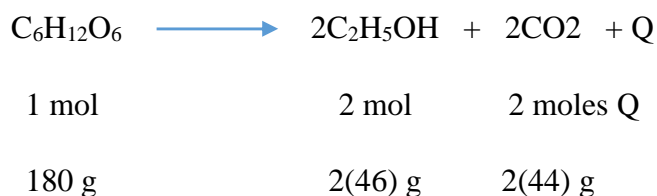
$$J = 964.62 \text{ g} - 150 \text{ g}$$

$$J = 814.62 \text{ g sol neutralizada}$$

La fermentación alcohólica se describe globalmente mediante la siguiente reacción:



La cual puede simplificar para obtener la siguiente expresión,



% azúcares totales expresados en glucosa = 1,98 (1,98 g cada 100 ml de solución azucarada). Como la fermentación fue 814.62 ml, entonces este valor multiplicaremos por 8.1462. Entonces tendremos:

$$1.98 * 8.1462 = 16.13 \text{ g de } \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \text{ en la solución neutralizada}$$

$$\begin{aligned}
 m_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH teóric}} &= 830.75 \text{ g de } \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 * \frac{1 \text{ mol de } \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6}{180 \text{ g de } \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6} * \frac{2 \text{ mol } \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}{1 \text{ mol de } \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6} \\
 &* \frac{46 \text{ g de } \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}{1 \text{ mol de } \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}
 \end{aligned}$$

$$m_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH teóric}} = 424.61 \text{ g de } \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$$

$$\begin{aligned}
 m_{\text{CO}_2} &= 830.75 \text{ g de } \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 * \frac{1 \text{ mol de } \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6}{180 \text{ g de } \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6} * \frac{2 \text{ mol } \text{CO}_2}{1 \text{ mol de } \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6} \\
 &* \frac{44 \text{ g de } \text{CO}_2}{1 \text{ mol de } \text{CO}_2}
 \end{aligned}$$

$$m_{\text{CO}_2} = 406.14 \text{ g de } \text{CO}_2$$

### 3.13 Balance parcial de energía en el proceso de obtención de bioetanol a partir de materia lignocelulósica

### 3.13.1 Balance de energía en el proceso de fermentación

$P_{\text{bombilla}}$ : potencia de la bombilla (w)

t: tiempo de fermentación (s)

$$P = \frac{Q}{t} \quad (\text{Ec. 3.7})$$

$$Q = 150 \frac{\text{J}}{\text{s}} * 312 \text{ h} * 3600 \frac{\text{s}}{1\text{h}}$$

$$Q = 168480 \text{ kJ}$$

### 3.13.2 Balance de energía en el proceso de destilación

Los datos del  $C_p$  del agua, son datos que se obtuvieron de bibliografías. Para los datos de la temperatura de entrada como de salida, masa del agua que se emplea son datos que se obtuvieron en la parte experimental.

- Calor sensible:

$$Q_{\text{sensible}} = m_{\text{agua}} * C_p * (t_2 - t_1) \quad (\text{Ec. 3.8})$$

Donde:

$Q_{\text{sens}}$ : Calor sensible

$m_{\text{agua}}$ : Masa de agua que se suministra en el recipiente del rota vapor

$C_p$ : Calor específico del agua ( $\text{j/g}^\circ\text{C}$ )

$t_2$ : Temperatura a la cual se llevó la destilación ( $^\circ\text{C}$ )

$t_1$ : Temperatura del agua al inicio del proceso ( $^\circ\text{C}$ )

$$Q_{\text{sensible}} = 4500 \text{ g} * 4,182 \frac{\text{j}}{\text{g}^\circ\text{C}} * (75 - 20) ^\circ\text{C}$$

$$Q_{\text{sensible}} = 1035,05 \text{ kJ}$$

$$P = \frac{Q}{t}$$

$$P = \frac{1035,05 \text{ kJ}}{15 \text{ min}} * \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ s}}$$

$$P = 1,150 \frac{\text{kJ}}{\text{s}}$$

- Calor latente que toma destilar:

$$Q_{\text{latente}} = P * t_{\text{destilado}} \quad (\text{Ec. 3.9})$$

$$Q_{\text{latente}} = 1,150 \frac{\text{kJ}}{\text{s}} * 55 \text{ min} * \frac{60 \text{ s}}{1 \text{ min}}$$

$$Q_{\text{latente}} = 3795 \text{ kJ}$$

- Calor absorbido por el condensador:

$$Q_{\text{condensador}} = m_{\text{agua}} * C_p * (t_2 - t_1) \quad (\text{Ec. 3.10})$$

Donde:

$Q_{\text{cond}}$ : Calor que absorbe el condensador

$m_{\text{agua}}$ : Masa de agua que paso por el condensador

$C_p$ : Calor especifico del agua (j/g°C)

$t_2$ : Temperatura de salida del condensador (°C)

$t_1$ : Temperatura de entrada del condensador (°C)

$$Q_{\text{condensador}} = 235000 \text{ g} * 4,182 \frac{\text{j}}{\text{g}^\circ\text{C}} * (27 - 20) ^\circ\text{C}$$

$$Q_{\text{condensador}} = 6879,39 \text{ kJ}$$

Calor total empleado en la destilación:

$$Q_{\text{total}} = Q_{\text{condensador}} + Q_{\text{sensible}} + Q_{\text{latente}} \quad (\text{Ec. 3.11})$$

$$Q_{\text{total}} = (6879,39 + 1035,05 + 3795) \text{ kJ}$$

$$Q_{\text{total}} = 11709,44 \text{ kJ}$$

# **CAPÍTULO IV**

## **COSTOS**

#### 4.1 Costos de materiales

A continuación en las siguientes tablas se dar a conocer los costos en cuanto material de laboratorio, materia prima e insumos para la elaboración del bioetanol y otros materiales más que se requieran para la elaboración del bioetanol.

##### 4.1.2 Costos de los materiales de laboratorio y equipos

En la tabla IV-1, se detallan los costos de los materiales de laboratorio necesarios para realizar los controles de calidad y pruebas requeridas para obtener bioetanol a partir del marlo de maíz.

**Tabla IV-1** Costos de material de laboratorio y equipos.

<b>N°</b>	<b>Detalle</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo (Bs)</b>
1	Vaso de presipitacion 1000 ml	2	90
2	Embudo mediano	1	35
3	Termometro	1	32
4	pH-metro	1	350
5	Varilla de vidrio	1	12
6	Papel aluminio	2	10
7	vacelina	1	5
8	Fermentador casero	1	550
9	Frascos fermentadores	4	40
10	Mangueras conectoras	2 m	6
11	Probeta 250 ml	1	23
12	Pipeta 10 ml	1	15
13	Papel filtro	1	20
14	Otros	-----	100
<b>Total costo</b>			<b>1288</b>

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

#### 4.1.2 Costos de la materia prima e insumos

De acuerdo a la tabla IV-2, se tiene que los costos de la materia prima e insumos estarán en función de la cantidad de materia prima a procesar y así como también de la cantidad de insumos requeridos para la elaboración del bioetanol a partir del marlo de maíz.

**Tabla IV-2** Costos de la materia prima e insumos.

<b>Características</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo (Bs)</b>
Marlo del maiz	25 kg	80
Acido sulfurico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	2 l	84
Agua destilada	20 l	160
Levadura Saccharomyces cerevisiae	250 g	150
Hidroxido de sodio (NaOH)	500 g	20
Peptona	100 g	54
Glucosa	100 g	7
Analisis fisicoquimico	7	330
Mano de obra	21 dias	1050
<b>Total costo</b>		<b>1935</b>

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.

#### 4.1.3 Costos totales del proyecto

Para saber el costo total del proyecto se realiza la suma del costo de material de laboratorio y equipos más el costo de la materia prima e insumos.

**Tabla IV-3** Costos totales del proyecto.

<b>Características</b>	<b>Costo (Bs)</b>
Costos de material de laboratorio y equipos	1288
Costos de la materia prima e insumos	1935
<b>Costo total del proyecto (Bs)</b>	<b>3223</b>

**Fuente:** Elaboración propia, 2019.



Calculo del precio en bolivianos por cada unidad de producción

$$100 \text{ g marlo} * \frac{3.2\text{bs}}{1000\text{g}} = 0.32 \text{ Bs}$$

$$1000 \text{ sol ml H}_2\text{SO}_4 = 1.93 \text{ Bs}$$

$$49.2 \text{ g NaOH} * \frac{20\text{bs}}{500\text{g}} = 1.97 \text{ Bs}$$

$$16.13 \text{ g levaduras} * \frac{221\text{bs}}{450\text{g}} = 7.92 \text{ Bs}$$

Costo para producir 354 ml de bioetanol = 17.14

El costo para la producción de 1 litro era:

$$1 \text{ l} * \frac{17.14 \text{ bs}}{0.354 \text{ l}} = 48.4 \text{ Bs}$$

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1 Conclusiones

- El proceso para la obtención de bioetanol a partir de materia lignocelulósica es una alternativa frente a otras fuentes de energía, pero así también su obtención es más compleja a diferencia de otras materias primas como la caña de azúcar, remolacha que son capaces de liberar con más facilidad los azúcares reductores y poder fermentarlos, en lo contrario la materia lignocelulósica tiene que pasar por diversas etapas para lograr generar sus azúcares reductores.
- Debido al aumento mundial de los requerimientos energéticos, se tiene que ir en búsqueda de nuevas fuentes de energía que sean lo más amigables posible con nuestro medio; para ello se ven las energías verdes y la materia lignocelulósica es una de ellas, fuera de su forma compleja de obtención de bioetanol una base es que no afectaría en él la producción alimenticia para las personas y su obtención es más barata.
- Este trabajo presentado en este proyecto, dirige hacia una mejor comprensión de la posibilidad que se tiene acerca de la producción de bioetanol a partir de material lignocelulósico con medios de tratamientos químicos, en vez de tratamientos biológicos. Se cumplieron con los planes de investigación que se propusieron al comienzo de este trabajo, llegando las mismas a un final expectante. Al ser éste un trabajo de investigación del que escasamente se encuentran trabajos previos, las distintas etapas para la producción de bioetanol de materia lignocelulósica, fueron sorteadas con alguna dificultad. La etapa más crítica fue la hidrólisis debido a que en esta etapa el proceso genera la glucosa para tener la fermentación requerida con el rompimiento de la materia lignocelulósica y la separación de celulosa con la lignina. En el caso del rendimiento se puede apreciar que se tiene un buen rendimiento en cuanto a la materia prima tomando en cuenta que mejora cuando se lo tiene con mayor tiempo de hidrólisis y menor concentración de ácido.

## 4.2 Recomendaciones

- En el proceso de pretratamiento físico es fundamental tener el sustrato del menor tamaño posible, esto con la razón que en el momento de la hidrólisis la solución pueda penetrar con mayor facilidad a la materia lignocelulósica y tener un mejor resultado en la formación de celulosa.
- Para realizar en secado se tiene que tomar en cuenta el control de la ñufla y controlar dos variables fundamentales como el tiempo de secado y la temperatura, éstos pueden hacer que la materia lignocelulósica pierda la celulosa.
- En la hidrólisis ácida no es necesario tener una alta concentración, sólo se estima un tiempo prudente de hidrolizada para tener un mejor rendimiento.
- Para la fermentación es muy importante controlar su pH, ésta a medida que pasa el tiempo la solución se vuelve más ácida, si la solución no cumple el tiempo de fermentación y su pH baja se tiene que neutralizar nuevamente con hidróxido de sodio.
- Se recomienda realizar un estudio económico, para poder conocer cuál es el costo real para implementar una planta para la producción de bioetanol. Saber si es factible económicamente la fabricación de etanol en Bolivia.
- Se recomienda que se realice un estudio de mercado, la aplicación del producto en el uso de motores por ejemplo, para que la aplicación de este trabajo sea plasmado en el ámbito industrial.