

**CAPÍTULO I**  
**INTRODUCCIÓN**

## 1.1. ANTECEDENTES

Los cítricos como las naranjas, mandarinas, limones, toronjas y demás son considerados frutas universales de mayor producción en más de 100 países a nivel mundial; donde su cultivo está por encima de la mayoría de las frutas haciendo que esta tenga una importancia industrial que contribuye enormemente a la economía mundial. (Salcedo, 2016)

En cuanto a la situación de los cítricos a nivel mundial: la producción en 2021 se elevó hasta los 158.50 millones de toneladas, siendo Asia la principal región productora, con el 51% del volumen. Le sigue Sudamérica y el Caribe con el 18%, la Cuenta Mediterránea con el 15% y Sudáfrica con el 13%. (WCO, 2022).

Según el Instituto Nacional de Estadísticas, en 2021 la producción de cítricos en el país alcanza a 455445 toneladas métricas, en específico para Tarija la producción más grande de cítricos se encuentra en el chaco, con una producción de 11046 toneladas métricas. En cuanto al consumo per capita en Bolivia es de 24,56 kg/persona/año. El 95 % de la producción a nivel nacional es destinada al consumo interno para garantizar la seguridad alimentaria de la población. El 5% de la producción es destinada a la exportación de fruta fresca, por ejemplo: limón por la Empresa Total Citrus de Santa Cruz a países como de Rusia y Reino.

La acumulación de los residuos cítricos de los sembradíos, mercados y de la industria de los jugos constituyen una problemática para el medio ambiente. diversos países incluyendo Bolivia no existen gestiones que se apliquen al manejo y aprovechamiento de estos residuos, los cuales representan aproximadamente más del 50 % del total de la fruta, por ello es necesaria una gestión integrada de estos residuos de acuerdo al concepto de "reducir, reutilizar y reciclar". (Salcedo, 2016).

Hoy en día, varios son los usos alternativos que se dan a este tipo de residuo, entre ellos algunas involucran procesos biotecnológicos para obtener diferentes compuestos biológicos, tales como el bioetanol de segunda generación como biocombustible, pellets cítricos con destino a la alimentación animal por su alto valor

nutricional, obtención de D-limoneno un aceite esencial con amplio uso en industria farmacéutica, alimentaria e insecticida, producción de agua purificada por procesos de evaporación y condensación, fertilizantes orgánicos, biogás, etc. (Benítez, 2016)

Haciendo un análisis más exhaustivo, en específico sobre el bioetanol hasta el 2019, se ve reflejado el incremento en un 4,6 % en la producción. Los países que lideran la producción son: Estados Unidos 15 800 millones de galones y Brasil con 8 620 millones de galones anuales en 2019, siendo la materia prima cáscara de maíz y caña de azúcar respectivamente. (Garside, 2019).

El presente trabajo, pretende demostrar una alternativa para la reutilización de los residuos cítricos, obteniendo etanol (bioetanol). Estos residuos son recolectados del municipio de Cercado: en la zona del relleno sanitario, en los diferentes mercados de la ciudad y en industrias que se dedican a la producción de jugos a partir de cítricos. Se tomará en cuenta la posibilidad de recolectar cítricos que poseen tanto cascará como también pulpa.

Los métodos para la obtención de etanol son diversos, en este caso se abordará la obtención de etanol que consta de un pretratamiento hidrotérmico alcalino, la extracción de aceites esenciales.

Al usar el pretratamiento alcalino se espera: aumentar el área superficial y de cierta manera quebrar o modificar la estructura de la celulosa y hemicelulosa además de reducir lignina y por último reduce la cristalinidad de la celulosa. Mientras que cuanto se presentan tratamientos con altas temperaturas y presiones presentan compuestos inhibidores.

La hidrólisis ácida transforma la celulosa, hemicelulosa a azúcares reductores y totales, los cuales, por fermentación, son reducidos a alcoholes y un último paso que nos lleva a la purificación del alcohol obtenido mediante la destilación.

## **1.2.OBJETIVOS**

### **1.2.1. Objetivo general**

Determinar el proceso óptimo de tratamiento para el material lignocelulósicos (pretratamiento, hidrólisis, fermentación y destilación) de los residuos cítricos en la generación de etanol del municipio de Cercado.

### **1.2.2. Objetivos específicos**

- Analizar la cantidad de holocelulosa presente en los cítricos y azúcares reductoras iniciales de la materia prima.
- Seleccionar el proceso experimental optimo en cuanto a las fases pretratamiento, hidrólisis y fermentación para la obtención de etanol.
- Ejecutar la fase experimental del proceso de obtención de etanol.
- Examinar la cantidad de azúcares reductores de los sustratos obtenidos en la etapa de hidrólisis, como también los obtenidos previo a la etapa de fermentación.
- Determinar el rendimiento del proceso tecnológico de obtención experimental de etanol en la etapa de hidrólisis.
- Determinar el rendimiento del proceso tecnológico de obtención experimental de etanol en la etapa de fermentación.
- Analizar y caracterizar la calidad de alcohol obtenido.

## **1.3. JUSTIFICACIÓN**

### **1.3.1. Justificación Social**

La cantidad de residuos orgánicos vegetales y frutales que se genera en el municipio se ha convertido en un problema enorme que afrontar en los últimos años; debido al aumento poblacional, el consumo que este genera y lo más importante por la disminución de la capacidad del relleno sanitario del municipio.

Estas condiciones dan paso a la proliferación de microorganismos que producen diferentes enfermedades a la población de la ciudad, cercano a los mercados y a la zona de del botadero municipal.

Por una parte, el presente trabajo pretende contribuir al estudio científico de las alternativas para la obtención de etanol usando residuos que contengan material lignocelulósico y aplicando hidrólisis a bajas concentraciones de ácidos, de esta manera reducir los desechos que van directo a las zonas externas a la ciudad y crean las condiciones ya descritas.

### **1.3.2. Justificación Tecnológica**

Con el proyecto de investigación se pretende contribuir a la optimización del proceso de obtención de etanol común para los residuos lignocelulósicos, proponiendo un pretratamiento que en primera fase está constituida por extracción de aceites esenciales; ya que son elementos perjudiciales para la síntesis de etanol, en especial aquellos que llevan el uso de los residuos cítricos, de esta manera mejorar la calidad y cantidad de etanol (bioetanol) a obtener. Los aceites esenciales son un subproducto que tiene un alto valor agregado. Este proceso fue planteado por diversos autores, presentes en este proyecto de grado, que describen una mejora sustancial en la síntesis de etanol.

Como segunda fase el uso de una base para su deslignificación que permite reducir la concentración de los ácidos a utilizar. Reduciendo la contaminación que este provoca. Además de la selección de un proceso de hidrólisis y fermentación que evita el proceso de separación de ácidos del mosto y que produce pérdidas de azúcares reductores y aumenta la cantidad de inhibidores durante el proceso.

Considerando también la posibilidad de implementar el proceso en la industria de jugos naturales u otros que generan residuos cítricos o lignocelulósicos e introducir un nuevo producto al mercado en base al uso y aprovechamiento total de los mismos.

### **1.3.3. Justificación Medioambiental**

Debido a la alta demanda de productos cítricos y la formación de residuos a partir de esta, se ha visto necesario reducir la contaminación ambiental que se genera en la ciudad en especial en los mercados, vertederos y zonas alejadas de la mancha urbana que son una fuente de proliferación de microorganismos, o

en caso de las industrias pues genera una gran cantidad de desechos, efluentes y subproductos que llegan a causar problemas de contaminación en zonas aledañas.

Es importante mencionar que la sociedad actual posee una gran exigencia en cuanto a recuperar, reciclar y aprovechar los residuos que se generan por las actividades del hombre.

Como se mencionaba, los procesos que se llevan a cabo pretenden reducir la contaminación por los residuos de los cítricos además que con el proceso tecnológico a plantear se pretende reducir el uso de ácidos en alta concentración y su impacto que tienen con el medio ambiente.

También mencionar que durante el proceso se pueden obtener como subproductos aceites esenciales, que son de alto valor agregado.

#### **1.3.4. Justificación Económica**

Con el desarrollo óptimo de todas las fases en el pretratamiento se pretende reducir el costo de obtención de etanol (bioetanol) que por métodos normales se lo considera de alto costo al utilizar ácidos fuertes.

Además, que los subproductos pueden generar un apoyo en la industria cítrica en el uso eficiente de la materia prima en su totalidad ya que estos contienen un gran potencial de comercialización.

Apoyar a la economía de la población al implementar una opción más para el cuidado y desinfección de los materiales con el uso de un alcohol etílico generado de recursos renovables o el uso del producto como combustible cuando se mezcla con gasolina.

#### **1.3.5. Justificación personal**

Con la investigación se pretende demostrar lo aprendido en los años de formación en la casa superior de estudios en la carrera de Ingeniería Química. Aportando conocimientos que ayuden a la comunidad universitaria y a la sociedad boliviana.

**CAPÍTULO II**  
**MARCO TEÓRICO**

## **2.1. ASPECTOS TÉCNICOS Y OTRAS CONSIDERACIONES**

Obtener etanol, bioetanol, depende de la materia prima para la selección del proceso eficaz, por ejemplo, cuando se pretende partir de material que contiene almidón el proceso de pretratamiento, e hidrólisis son diferentes a los que contiene celulosa.

A nivel económico, el utilizar material lignocelulósico significa la posibilidad de obtener bioetanol, etanol, a un precio más asequible. Los residuos son considerados materia prima económica, sostenible; y el proceso es amigable con el medio ambiente. En este capítulo se abordará los conceptos necesarios para desarrollar el proyecto de grado. Pues los residuos de cítricos son materiales tanto lignocelulósicos por parte de la cáscara y material azucarado pues la pulpa es rica en carbohidratos.

## **2.2. MATERIA PRIMA**

### **2.2.1. Residuos cítricos**

Los alimentos pasan por diferentes etapas dentro de la cadena alimentaria. A lo largo de este proceso se produce una reducción de la cantidad de alimentos aprovechables, aunque no siempre se consideran un desperdicio de alimentos “por ejemplo, durante los procesos de transformación y preparación se desechan partes no comestibles de los alimentos como huesos, espinas, cáscaras...”(Itziar, 2016).

En Bolivia la producción de cítricos alcanzó el año 2019, según datos del Instituto Nacional de Estadísticas (INE), una producción de 581302 toneladas métricas de cítricos. En el departamento de Tarija para el año 2019 se tiene una producción de 30142 toneladas métricas de cítricos, los cuales tienen diferentes fines tanto industrialización y para el consumo en fresco, enviando los productos a las capitales de las provincias.

Tarija genera alrededor de 175 toneladas de basura diaria, si se toma en cuenta el mercado Campesino, este genera alrededor de 5 toneladas de basura al día. Como la mayoría son productores agropecuarios, el 60 a 70 por ciento es basura orgánica. No se llega a profundizar en cuanto al porcentaje de residuos cítricos en el mercado

campesino como tampoco en el del relleno sanitario de la zona de Pampa Galana. (Patiño, 2020)

A Partir del 2018 la alcaldía del municipio de Cercado implemento un “Plan de Gestión de Residuos Sólidos para los mercados CRAMA y CERCAT que componen un sector del mercado Campesino. El objetivo general de este proyecto es implementar la recolección diferenciada de residuos sólidos en los mercados CRAMA y CERCAT, a través de la separación en origen y la recolección diferenciada, a fin de disminuir la cantidad de residuos sólidos orgánicos e inorgánicos que son dispuestos en el relleno sanitario Pampa Galana, convirtiéndolos en mercados modelos y saludables. (Tarija, 2018)

Los cítricos son considerados como materias primas para la generación de biocarburantes de segunda generación que genera un beneficio medioambiental y económico.

### **2.2.2. Composición de los residuos cítricos**

Los residuos del fruto que incluyen cáscaras, membranas, vesículas de jugo y semillas son descartados como residuos (Grohmann et al. 1994). En otros casos tanto pulpa como cáscara son desechados, estos también son considerados como residuos.

Los residuos cítricos son materiales orgánicos biodegradables de tipo natural; reutilizables que se pueden transformar en biocombustibles dependiendo de los procesos que estos necesiten.

Los residuos cítricos, según los carbohidratos que contengan, poseen una composición variable. Entre los más importantes para el trabajo de investigación podemos mencionar:

#### **2.2.2.1. Azúcares reductores**

Son carbohidratos, específicamente aldehídos o cetonas que conforman la base de los monosacáridos.

Los carbohidratos pueden dividirse en reductores y no reductores, los reductores son los más comunes y tienen un grupo funcional aldehído o cetona libre o potencialmente libre, en caso de existir en forma cíclica. Por esta razón, estos compuestos tienen la capacidad de actuar como agentes reductores al oxidarse fácilmente a ácido carboxílico (Camacho M. X., 2009)

Los azúcares reductores suelen relacionarse con los azúcares fermentables ya que, con excepción de la celobiosa y la lactosa, todos los azúcares reductores se pueden fermentar.

En la tabla II-1 se muestran la composición química de diferentes cítricos en cuanto a materiales azucarados y agua.

**Tabla II-1. Composición de material azucarado en cítricos en base a 100 g de fruta**

<i>Cítrico</i>	<b>Total, de azúcares</b>	<b>Glucosa</b>	<b>Fructosa</b>	<b>Sacarosa</b>	<b>Agua</b>
<i>Lima</i>	1.90	0.80	0.80	0.30	80.00
<i>Limón</i>	3.16	1.40	1.35	0.41	90.10
<i>Mandarina</i>	9.20	1.54	1.18	6.46	87.00
<i>Naranja</i>	8.90	2.44	2.77	3.67	87.10
<i>Pomelo</i>	7.41	2.38	2.10	2.93	88.40

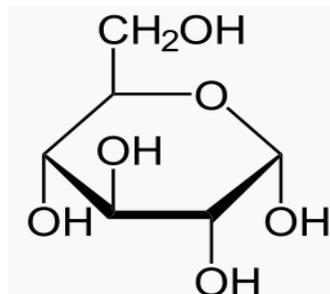
Fuente: (Alimentos, 2018)

Los azúcares más destacados son los siguientes:

**a) Glucosa**

Es un monosacárido que posee la fórmula molecular de  $C_6H_{12}O_6$ . Posee un grupo carbonilo en el extremo de la molécula. A partir de este compuesto es posible sintetizar etanol por el proceso de fermentación. En la figura II-1 se presenta la estructura de la glucosa.

**Figura II-1. Fórmula estructural de la glucosa**

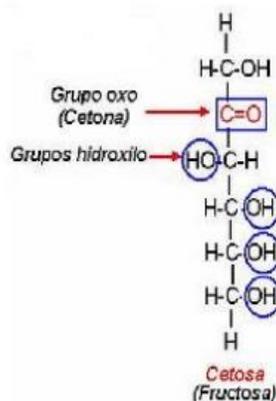


Fuente: (Wikipedia,2020)

**b) Fructosa:**

También llamado levulosa, es un monosacárido de seis carbonos. La molécula de fructosa se caracteriza por poseer un grupo carbonilo en el segundo carbono de una cadena de seis, por lo que se describe como una cetona y hexosa o cetohehexosa. (Zita, 2018). En la figura II-2 se presenta la estructura de la fructosa.

**Figura II-2. Fórmula estructural de la Fructosa**



Fuente: Seminario UNAM

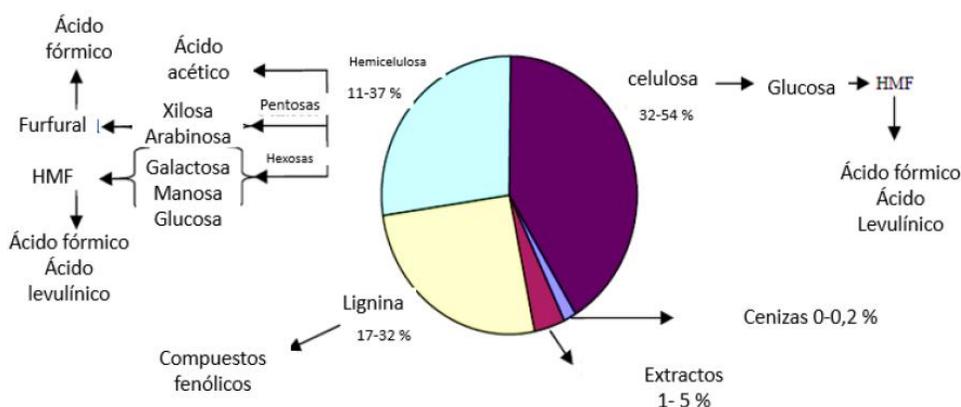
**2.2.2.2. Materiales lignocelulósicos**

Son carbohidratos más complejos que requieren de un pretratamiento para la obtención de azúcares reductores los cuales son más fáciles de reducir a etanol. Como ejemplos

podemos nombrar, los residuos de poda, residuos agroindustriales, forestales, madera, cáscara de frutas, vegetales, etc.

En el caso de los materiales lignocelulósicos están compuestos de celulosa, hemicelulosa y lignina principalmente. Pero se pueden encontrar componentes no estructurales entre estos los terpenos, alcaloides y fenoles, tal como se muestra en la figura II-3.

**Figura II-3. Componentes y composiciones del material lignocelulósico y sus potenciales productos de hidrólisis**



Fuente: (Tahezadeh, 2007)

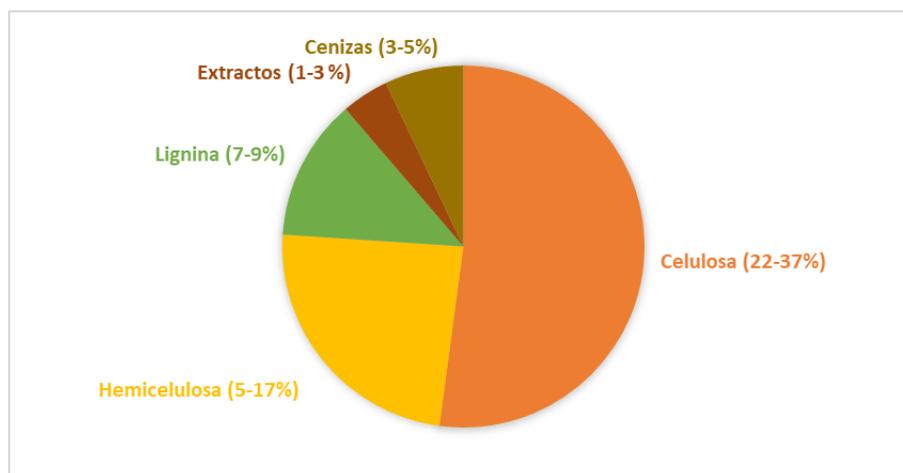
**Tabla II-2. Composición de material lignocelulósico de mandarina y naranja en cáscara**

<i>Cítrico</i>	<b>Hemicelulosa</b> (%Masa Seca)	<b>Celulosa</b> (%Masa Seca)	<b>Lignina</b> (%Masa Seca)
<i>Naranja</i>	11.00	37.10	7.50
<i>Mandarina</i>	6.00	22.50	8.60

Fuente: (Boluda-Aguilar, Garcia-Vidal, & López-Gomez, 2010)

Por tanto, podemos expresar en la figura II-4 la composición de los cítricos en general presentado en la tabla II-2.

**Figura II-4 Gráfica de componentes y composición de la cáscara de cítricos**



Fuente: (Marín, Soler-Rivas, Benavente-Garcia, Castillo, & Pérez-Alvarez, 2007)

#### **a) Celulosa:**

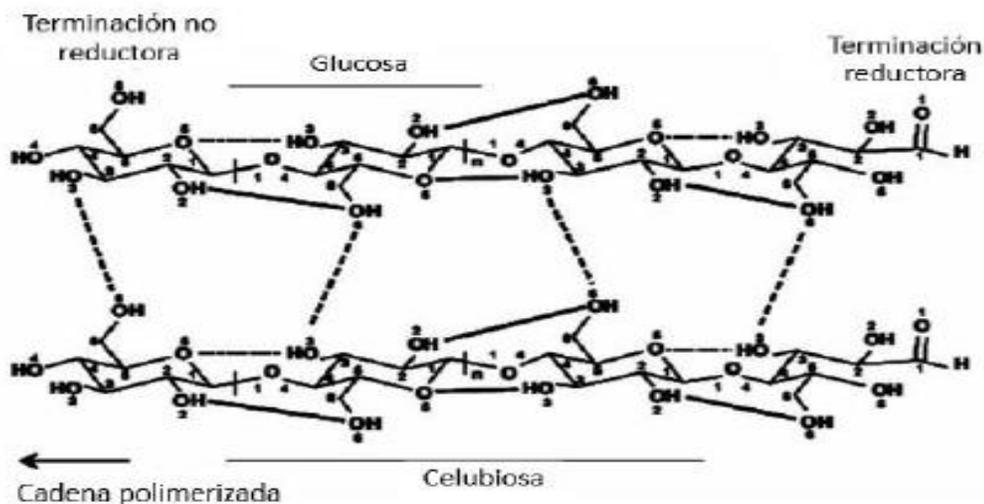
La celulosa es parte de la pared celular. Se forma por la unión de moléculas de  $\beta$ -glucosa mediante enlaces  $\beta$ -1,4-O-glucosídicos. Victoria Cortínez menciona, “A través de la hidrólisis, se origina glucosa. La celulosa es una larga cadena polimérica de peso molecular variable, con fórmula empírica  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , con un valor mínimo de  $n = 200$ .”

Este residuo de glucosa es la unidad monomérica de celulosa y el dímero, celobiosa, es la unidad estructural repetitiva de la cadena. La cadena de celulosa está polarizada, una vez que hay un grupo no reductor en uno de sus extremos y en el extremo opuesto, hay un grupo reductor. (Martins & Lelte, 2011)

La estructura de la celulosa se debe en gran medida a la presencia de enlaces covalentes, enlaces de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals. (Waeonukul, 2013). Los amplios enlaces de hidrógeno entre moléculas conducen a una matriz cristalina y fuerte la cual se empaqueta en microfibrillas generando mayor fuerza y compactibilidad. (Limayem & Ricke, 2013). En soluciones alcalinas se produce una hinchazón extensa de celulosa, así como la disolución de fracciones del polímero ( $DP < 200$ ). (Harmsen, Huijgen, L.M.B, & R.R.C, 2010)

Las regiones amorfas están formadas por cadenas de celulosa con una organización más débil, siendo más accesibles a las enzimas y susceptibles a la hidrólisis. (Martins & Lelte, 2011). Como se aprecia en la siguiente figura.

**Figura II-5. Estructura de la cadena de Celulosa. Líneas Punteadas y solidas: enlaces de hidrogeno inter e intra moleculares**



Fuente: (Martins & Lelte, 2011)

### b) Hemicelulosa:

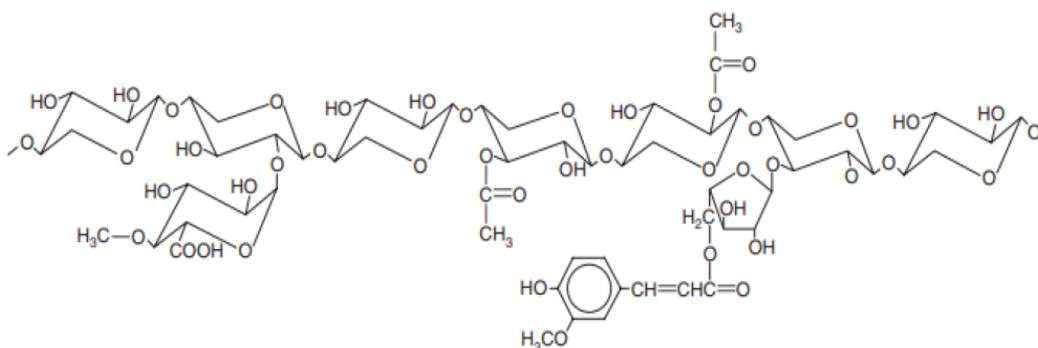
Las hemicelulosas son los segundos polímeros más abundantes de la biomasa vegetal, se encuentran entre el 15 al 35 % de la constitución de las plantas y son químicamente homogéneos. Representan una gran fuente renovable de biopolímeros que pueden contener pentosas ( $\beta$ -xilosa,  $\alpha$ L- arabinosa), hexosas ( $\beta$  D-manosa,  $\beta$  D-glucosa,  $\alpha$ D - galactosa) y / o ácidos urónicos (ácidos  $\alpha$ D-glucurónicos,  $\alpha$ D-4-O-metilgalacturónicos y  $\alpha$ D-galacturónicos). Estas moléculas están unidas por medio de enlaces (1,4) - glicosídicos y ocasionalmente enlaces (1,3) – glicosídicos. (Martins & Lelte, 2011)

Tienen una masa molar más bajo en comparación con la celulosa y las cadenas laterales cortas se hidrolizan fácilmente. La estructura de la hemicelulosa difiere de acuerdo al tipo de biomasa, por ejemplo, la paja y las hierbas se componen principalmente de

xilano (Ver Figura II- 6). Las hemicelulosas de la madera blanda son típicamente glucomanosos (Ver figura II-7). (Limayem & Ricke, 2013).

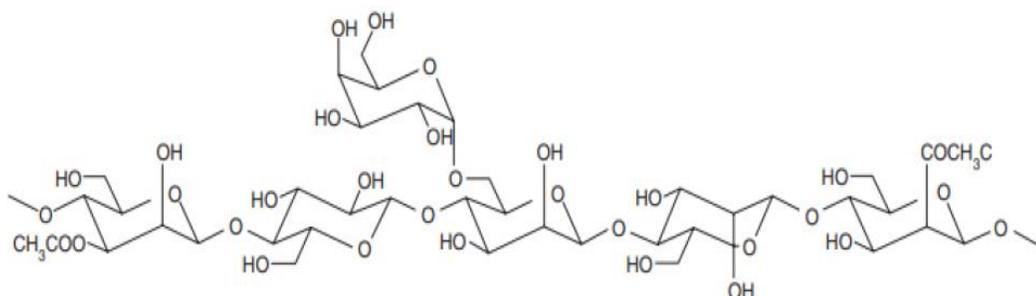
Debido a la diversidad de sus azúcares, la hemicelulosa requiere una amplia gama de enzimas para ser completamente hidrolizada en monómeros libres. (Limayem & Ricke, 2013)

**Figura II-6. Estructura de xilano de plantas herbáceas**



Fuente: (J.S. & Popa, 2008)

**Figura II-7. Estructura de O- acetil-galactoglucomanano de plantas herbáceas.**



Fuente: (J.S. & Popa, 2008)

### c) Lignina

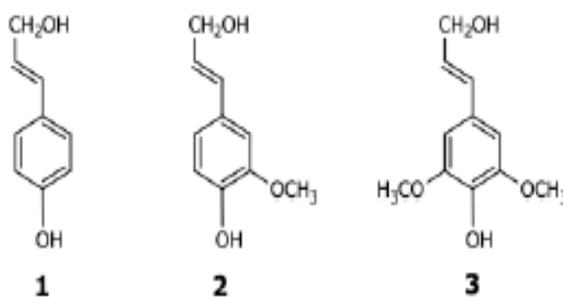
La lignina (del latín lignum: madera) es un polímero polifenólico que se deposita en las paredes celulares secundarias, y a veces primarias, de las células de las plantas. Es

una sustancia hidrofóbica que elimina agua de las paredes celulares, limita la difusión lateral, facilitando el transporte longitudinal y refuerza la resistencia mecánica de los tejidos, además de hacer resistentes a las células frente a ataques bacterianos. (Barros, Serk, Granlundz, & Pesquet)

Esta molécula es muy abundante en las plantas denominadas leñosas y es el segundo biopolímero más abundante en la Tierra, tras la celulosa. Evolutivamente fue un gran avance para las plantas terrestres. Los árboles pueden tener entre un 20 y un 30 % de lignina, mientras que las hierbas por debajo del 20 %. Es el único polímero carbonado de la pared celular que no está formado por monómeros de carbohidratos y por ello es más impermeable al agua. Apareció con las plantas vasculares en el Devónico. (Barros, Serk, Granlundz, & Pesquet)

Conformado principalmente de tres unidades fenil propano monoméricas (monolignoles) básicas: alcohol p-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico. (Martins & Lelte, 2011). Estas unidades se unen mediante enlaces alquilarilo, alquilarquilo y aril-aril-eter, causantes de la baja velocidad de degradación y alta resistencia a ser hidrolizada fácilmente. (V. B. Agbor, 2011). Todo el proceso se resume en la siguiente figura:

**Figura II-8. Unidades de monolignoles constituyentes de la lignina. 1: alcohol p-cumarílico, 2: alcohol coniferílico, 3: alcohol sinapílico.**



Fuente: (Gellerstedt & Henriksson, 2008)

## **2.3. PRETRATAMIENTOS**

Para la extracción de los azúcares tanto reductores como totales que están dentro de los materiales lignocelulósicos, en la cáscara de los cítricos, es necesario romper la estructura. La envoltura molecular compuesta por lignina y hemicelulosa, junto con la cristalinidad de la celulosa, dificultan enormemente la descomposición en glucosa (hidrólisis), por lo que es necesario un tratamiento previo que permita romper parcial o totalmente esta estructura y dejar expuesta la celulosa. (Harris, 2012). Logrando obtener altos rendimientos en la hidrólisis posterior.

Los pretratamientos están clasificados según el principio de acción, con el fin de romper la estructura de los residuos:

### **2.3.1. Pretratamientos mecánicos**

#### **2.3.1.1. Trituración mecánica**

Corresponde al rompimiento del material lignocelulósico por molienda, afectando así el área superficial, lo que aumenta la transferencia de masa y reduce la cristalinidad, mejorando la accesibilidad. El costo energético de este método está asociado al tamaño de partícula que se desee producir. (Brodeur, 2009).

Para reducción de partícula del tamaño de malla inferior a 40, tiene un efecto mínimo en los rendimientos de la hidrólisis, así como la tasa de hidrólisis de la biomasa (Chang & Holtzaple, 2000).

#### **2.3.1.2. Molienda comprimida**

Consiste en una molienda con un dispositivo sometido a una sobrepresión. Se obtiene un material, más homogéneo que con la trituración mecánica y el tiempo es más corto. (Pérez, 2008).

### **2.3.2. Pretratamientos térmicos**

#### **2.3.2.1. Explosión de vapor**

Combina altas temperaturas (180-240°C) y presiones junto con una brusca descompresión posterior, provocando disgregación y ruptura de las fibras, despolimerización y rotura de enlaces. Se obtiene un producto fibroso cuya celulosa es más accesible a la hidrólisis. (Tomas, 2009).

#### **2.3.2.2. 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 principalmente la hemicelulosa de la celulosa para hacerla más accesible y evitar la formación de inhibidores. Para evitar la formación de inhibidores, el pH debe mantenerse entre el 4 y 7 durante el pretratamiento. Mantener el pH entre 4 y 7 minimiza la formación de monosacáridos y, por lo tanto, también la formación de productos de degradación que puede seguir catalizando la hidrólisis del material celulósico durante el pretratamiento. (Kohlmann, Westgate, & Sarikaya, 1995).

### **2.3.3. Pretratamientos químicos**

#### **2.3.3.1. Hidrólisis ácida**

Como pretratamiento emplea catalizadores ácidos para transformar las cadenas de polisacáridos que forman la biomasa en sus monómeros elementales. (Galbe & Zacchi, 2002)

Siendo solamente usados a nivel industrial los ácidos clorhídrico y sulfúrico. Los métodos industriales de hidrólisis ácida se agrupan en dos tipos: los que emplean ácidos concentrados (10-30%), trabajan a bajas temperaturas (170-190°C) y mayor tiempo de residencia; y los que utilizan ácidos diluidos (1-5%), a temperaturas entre 160-240°C, y tiempo de reacción de 6-1 segundos. (Galbe & Zacchi, 2002). De tal manera que se tiene una velocidad de reacción veloz,

Mientras que autores como Andrade, Camacho, Itziar, Aguilar, Boluda, Garcia y demás; mencionan que para determinación en laboratorio es preferente el uso de ácidos entre 1 al 9 % y para observar mejor la velocidad de reacción y los cambios de la materia prima el cambio las temperaturas varían del 50 a 150 °C con un tiempo aun mayor de 4 a 8 horas. Teniendo intervalos suficientes para demostrar la curva de la cinética de la reacción.

La principal reacción que ocurre durante el pretratamiento ácido es la hidrólisis de hemicelulosa, especialmente xilano como galactomanano. La hemicelulosa puede ser sometida a reacciones hidrolíticas produciendo monómeros, como furfural, HMF y otros productos (Fengel y Wegener, 1984).

### **2.3.3.2.Hidrólisis alcalina**

Se lleva a cabo con NaOH diluido donde se sumerge el material lignocelulósico, a 60°C por 24 horas, produciendo un hinchamiento de la biomasa, teniendo 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. La pérdida de polisacáridos es causada principalmente por el rompimiento de radicales finales y reacciones hidrolíticas (Fengel y Wegener, 1984). En este proceso se utiliza hidróxido de sodio o cualquier base, aplicando claro desde temperaturas de 121 °C en autoclave, que pueda ayudar a romper o quebrar la estructura de la celulosa, hemicelulosa y reducir la cantidad de lignina.

La efectividad de este pretratamiento depende del contenido de lignina del material a tratar, que debe ser máximo de 18%. El pretratamiento alcalino causa la solubilización de hemicelulosa y lignina. Existe a menudo una pérdida de productos en la degradación de hemicelulosa y la solubilización de lignina, a menudo tiene un efecto inhibitor. (Sanchez, et al 2009)

#### **2.3.4. Pretratamientos fisicoquímicos**

Son procesos combinados los que presentan: tratamientos físicos como ser explosión de vapor o el pretratamiento con agua caliente con la adición de soluciones ácidas o alcalinas que ayudan a quebrar parcialmente la celulosa y hemicelulosa que puede también disolver la lignina. El más conocido es el:

**Proceso de explosión de fibra con amoníaco AFEX**, se realiza con cargas de amoníaco en torno a 1:1 (amoníaco kg/kg peso biomasa seca) a temperaturas que van desde la temperatura ambiente con una duración de 10 a 60 días, a temperaturas de hasta 120 °C, con una duración de varios minutos (Alizadeh et al., 2005). Con este proceso es posible aumentar el rendimiento de la hidrólisis.

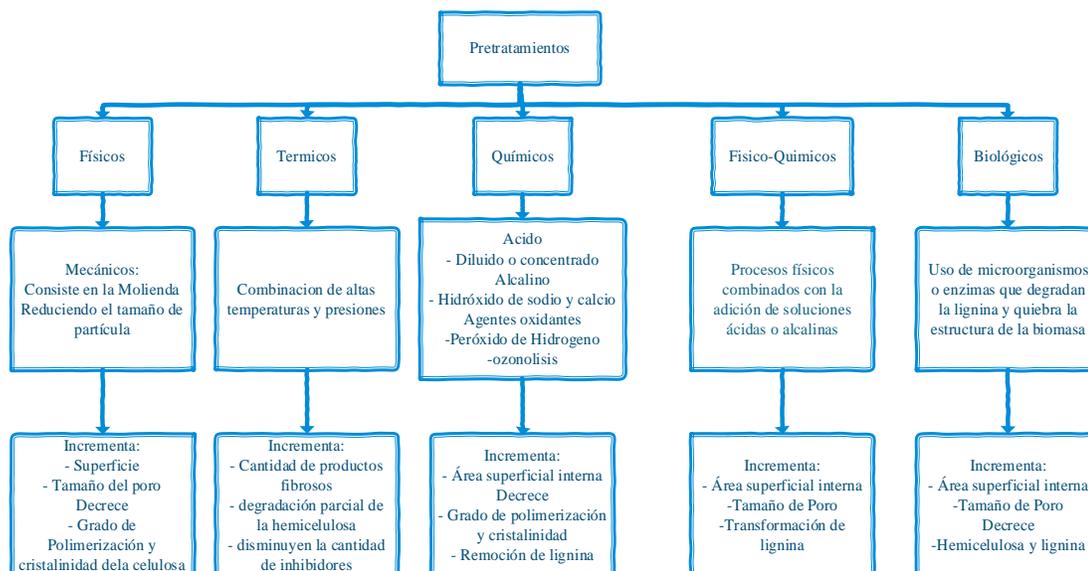
#### **2.3.5. Pretratamientos biológicos**

Este pretratamiento consiste en el uso de microorganismos o enzimas que degradan la lignina y quebrando la estructura para dar paso a la celulosa y hemicelulosa. Preparándola para el posterior tratamiento enzimático y obtener azúcares reductores.

**El Tratamientos con hongos**, Utiliza microorganismos como hongos de podredumbre marrón, blanco y suave se 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 et al., 1987).

En la figura II-9 se señala los diferentes pretratamientos que se utilizan en la masa lignocelulosa.

**Figura II-9. Pretratamientos utilizados en biomasa lignocelulósica**



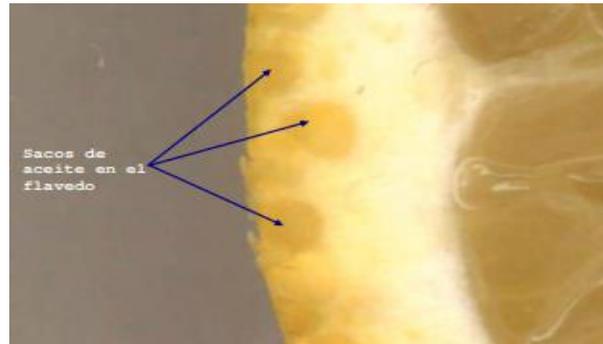
Fuente: Elaboración propia

#### 2.4. EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

El 90 % de los aceites que se encuentran en la cáscara de los cítricos es D-limoneno, un compuesto cuya actividad antimicrobiana impide que los microorganismos realicen el proceso de fermentación necesario para la producción de etanol. (Daza, 2014)

Por una cuidadosa destilación al vacío la gran parte de la fracción terpénica del aceite puede ser separada. Este método de concentración produce los llamados “aceites concentrados”, los cuales son usados principalmente en bebidas debido a su gran estabilidad en almacenamiento. Se localizan en sacos o glándulas de esencia situados en el flavedo (Ruiz & Saavedra, 2007), en una vista microscopía (figura II-10) se puede observar dichos sacos o glándulas.

**Figura II-10. Vista microscópica de la ubicación de los aceites esenciales.**



Fuente: (Ruiz & Saavedra, 2007)

Las esencias de los cítricos son aceites volátiles o esenciales típicos, constituidos por mezclas de terpenos, sesquiterpenos, alcoholes superiores, aldehídos cetonas, ácidos, esterres y alcanfores o ceras. (Ruiz & Saavedra, 2007)

Si bien es común el método de destilación por arrastre de vapor con alcohol etílico de 96°, existen otros métodos de extracción que se deben mencionar: el método de extracción utilizando fluidos supercríticos, prensado en frío y de prensa cónica con fruta entera.

Para realizar el método de extracción por destilación es necesario no sobrepasar la temperatura de 70 °C, esto debido a que es posible evaporar el alcohol si se alcanza dicha temperatura.

El alcohol etílico extraerá principalmente los componentes oxigenados, los cuales son los portadores del sabor y aroma de los aceites esenciales. (Ruiz & Saavedra, 2007)

## **2.5. HIDRÓLISIS**

Es una reacción química en la cual se rompen, destruyen, descomponen o alteran las estructuras de sustancia química dando paso a otros, este procedimiento se realiza con una molécula de agua y una macromolécula de otro componente, pueden ser de tres tipos: hidrólisis enzimática, hidrólisis ácida, hidrólisis básica.

### 2.5.1. Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática de la celulosa implica la acción secuencial de un grupo de enzimas, conocidas como celulasas, que pertenecen a la superfamilia de las glicosil hidrolasas, llamadas así porque catalizan la hidrólisis del enlace glucosídico entre dos o más hidratos de carbono o entre estos y una fracción que no sea un hidrato de carbono.<sup>1</sup>

En este método se emplean catalizadores o enzimas biológicas para romper la estructura de los polisacáridos, este tipo de hidrólisis es lenta, pero asegura su conversión pues las enzimas obtienen los mejores rendimientos, lo que más ayuda es que este método evita la formación de inhibidores.

Las  $\beta$ -glucosidasas son enzimas que poseen actividad hidrolítica transferasa o transglucosidasa. Tienen diversas aplicaciones; en la biosíntesis de oligosacáridos, producción de etanol utilizando residuos agrícolas y en la industria de vinos. La aplicación industrial, sin embargo, requiere estabilidad a temperaturas elevadas, por lo que los microorganismos termófilos tienen gran interés. (Casablanca Alarcón, 2011).

Describimos el proceso en la cual la fibra de celulosa está constituida por la agrupación de cadenas lineales de glucosa (polímero de celulosa). Las celobiohidrolasas (CBHs) degradan la celulosa desde ambos extremos liberando moléculas de celobiosa. Las endoglucanasas (EGs) y las monooxigenasas líticas de polisacáridos (LPMOs) rompen enlaces internos de la cadena de celulosa creando nuevos puntos de actuación para las CBHs. La celobiosa deshidrogenasa (CDH) se encarga de donar los electrones utilizados por las LPMOs. Finalmente, la  $\beta$ -glucosidasa degrada cada molécula de celobiosa en dos unidades de glucosa. (Dimarogona, Topakas, & Christakopoulos, 2012). Se puede apreciar este proceso en la figura II-11.

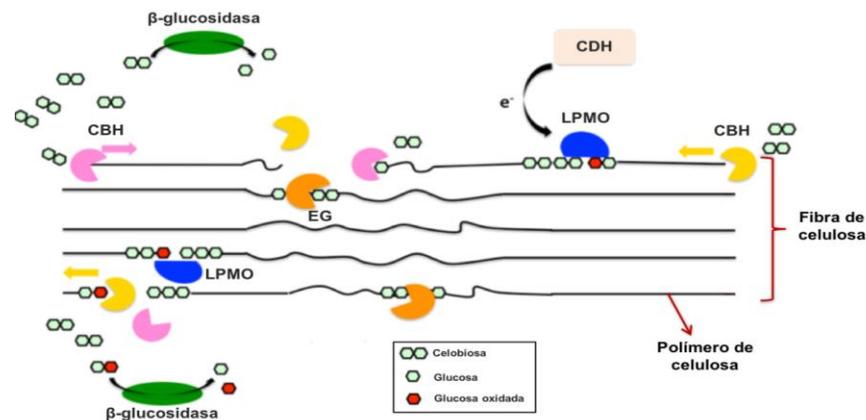
De la misma manera, (Gomez, 2008) y (Sanchez, et al 2010) analizaron la carga enzimática que pueden presentar:

---

<sup>1</sup> (Ivonne Gutiérrez-Rojas, Nubia Moreno-Sarmiento, Dolly Montoya, 2015)

- ✚ Endo  $\beta$ -glucanasas ó 1,4- $\beta$ -glucan glucohydrolasas, que rompen los enlaces  $\beta$ -glucosídicos en forma aleatoria en el interior de las moléculas de celulosa.
- ✚ Exo  $\beta$ -glucanasas ó 1,4- $\beta$ -glucan celobiohidrolasas, que atacan gradualmente las moléculas de celulosa de los terminales no reductores liberando subunidades de celobiosa.

**Figura II-11. Degradación enzimática de la fibra de celulosa**



Fuente: (Moreno, 2018)

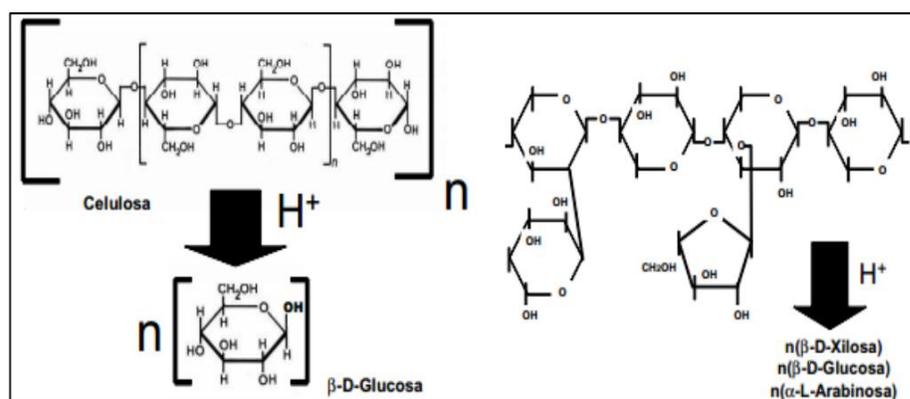
### 2.5.2. Hidrólisis ácida

La hidrólisis de un enlace glucosídico se lleva a cabo mediante la disociación de una molécula de agua del medio. El hidrógeno del agua se une al oxígeno del extremo de una de las moléculas de azúcar; el -OH se une al carbono libre del otro residuo de azúcar. El resultado de esta reacción, es la liberación de un monosacárido y el resto de la molécula. El Ácido Sulfúrico se ha utilizado ampliamente en la obtención de azúcares reductores en el rango de 2,54 al 21% para el bagazo de caña de azúcar sin pre tratamiento, utilizando concentraciones de ácido desde el 2 hasta el 8% con una relación líquido-sólido de 30:1. (Fonseca, 2006)

Para reacciones de hidrólisis ácida se puede trabajar con ácidos que pueden ser: clorhídrico, nítrico, fluorhídrico, y sulfúrico. El grado de hidrólisis y velocidad para el

proceso depende de factores como: pH, concentración de ácido-biomasa, tamaño de partícula y el tipo de biomasa. Para la celulosa los principales productos en medio ácidos son: celobiosa y glucosa, mientras que para la hemicelulosa su principal producto es la xilosa. Son reacciones bien complejas, el sustrato está contenido en la parte sólida mientras que el catalizador (ácido) en la parte líquida, (Aguilar Rivera, 2010). El proceso de hidrólisis ácida se aprecia en la siguiente figura:

**Figura II-12. Proceso de hidrólisis Ácida**



Fuente (Sigüencia, 2017)

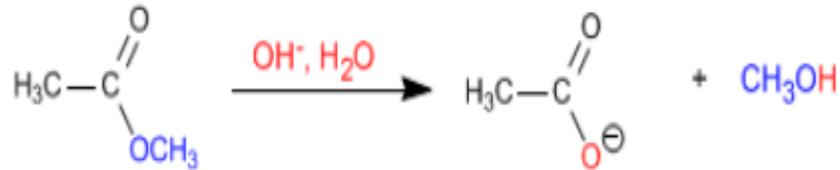
### 2.5.3. Hidrólisis alcalina

La hidrólisis alcalina consiste en utilizar soluciones de NaOH,  $Ca(OH)_2$  o amoníaco con el fin de obtener la liberación de diferentes compuestos por medio de la remoción de la lignina. También se refiere a la saponificación de los enlaces intermoleculares entre la lignina y otros compuestos como la hemicelulosa. Se debe tener en cuenta que este pretratamiento químico, en comparación a otros como la hidrólisis ácida tiene menor posibilidad de solubilización de compuestos tales como la hemicelulosa lo que indica que este proceso tiene mayor efectividad (Taherzadeh, 2007)

Como ejemplo se presenta la hidrólisis básica de un éster en la figura II-13. Se debe tener en cuenta que la hidrólisis alcalina para obtener su mayor eficiencia se debe exponer a temperaturas altas, a tiempos de residencia de horas hasta días y altas concentraciones de las bases a utilizar. Al analizar los diferentes estudios realizados

bajo este tipo de hidrólisis, se demuestra que bajo este tratamiento se muestra mayor eficiencia en la solubilización de hemicelulosa en residuos agroindustriales que en maderas, pero en comparación a otros métodos se obtienen mayores eficiencias en residuos agroindustriales con hidrólisis de tipo ácida (López, 2016)

**Figura II-13. Hidrólisis Básica o alcalina de un Ester**



Fuente: (López, 2016)

#### 2.5.4. Inhibidores:

Los azúcares reductores tienden a reducir su concentración cuando aumenta la concentración del ácido, formando compuestos tóxicos, ya que la hidrólisis continua, hasta generar productos como HMF (Hidroxi Metil Furfural) y furfural, estos compuestos traen alta incidencia en la reducción en el porcentaje de azúcares reductores y sobre los procesos fermentativos, el cual puede inhibir el crecimiento microbiano. (Gerene B, 2013)

##### a) HMF(HIDROXI METIL FURFURAL):

El HMF es un aldehído formado a partir de la degradación de productos azucarados, en particular por deshidratación de la fructosa, siendo considerado uno de los parámetros a tener en cuenta para un eficiente control de calidad. (Ibarz. A. & Miguelsanz, 1989)

La concentración a la cual muestra efectos adversos en la producción de etanol no es clara, pues son muchos los factores que afectan al proceso, de tal manera que en diferentes estudios el valor se encuentra en un rango de 2500 mg/L (Lewis Liu, 2009).

### **b) FURFURAL**

El furfural es un aldehído aromático con una estructura en anillo bencénico. Se obtiene a partir de reacciones de Maillard, que tienen lugar generalmente a elevadas temperaturas o a partir de la descomposición del ácido ascórbico. Dentro de los compuestos furánicos que tienen un efecto inhibitorio sobre la actividad fermentativa de *S. cerevisiae*, el furfural es el que mayor efecto inhibitorio presenta. (Itziar, 2016)

Sin embargo, el modo en el que afecta al metabolismo de las levaduras fermentativas no se conoce completamente, aunque se piensa que actúa interaccionando con los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos de la célula, causando daños a nivel de la pared y membrana celulares, inhibiendo el crecimiento celular, causando daños a nivel del ADN e inhibiendo la síntesis de proteínas y ARN. (Vejarano Mantilla, 2013)

### **c) ÁCIDO ACÉTICO**

El ácido acético es un compuesto que no pertenece a la familia de los compuestos furánicos, como el furfural y el HMF, sin embargo, al igual que esos compuestos, puede provocar la inhibición de la fermentación por parte de las levaduras. (Zheng, 2013) Se forma a partir de las primeras etapas de la hidrólisis de los grupos acetilados de la hemicelulosa, pero es también un producto final de muchas reacciones de oxidación (Hedegaard Thomsen & Thygesen, 2009)

La concentración en la cual inhibe la producción es de 4 g/L, pero este depende de muchos factores en los cuales se encuentra la temperatura, la cantidad de levadura empleada, etc. (Zheng, 2013).

## **2.6. MODELO CINÉTICO DE HIDRÓLISIS ÁCIDA**

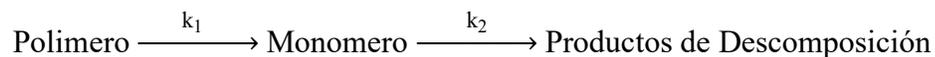
Un modelo cinético es el método que se usa para predecir o explicar lo que sucede durante las reacciones químicas, por lo que el modelo y los parámetros cinéticos son elementos claves en la evaluación y operación de los procesos de hidrólisis ácida para

la obtención de azúcares fermentables para la producción de etanol. En general, una reacción química tiene dos características principales: la posición en equilibrio y la velocidad de reacción. (Camacho M. X., 2009)

La velocidad de reacción ( $-r_A$ ) es la rapidez con la que se alcanza el estado de equilibrio, es decir qué tan rápido los reactivos se transforman en productos, dado por la cantidad de materia prima que se consume o la cantidad de producto que se produce por unidad de tiempo. Otra definición fue descrita por (Fogler H. S., 1999) en la cual menciona a la velocidad de reacción como el número de moles de sustancia que reaccionan (desaparecen) por unidad de Tiempo por unidad de volumen ( $\text{mol}/\text{dm}^3 \cdot \text{s}$ )

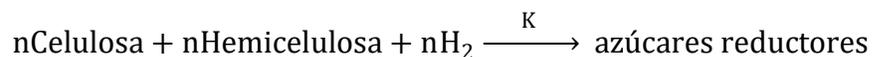
Estas velocidades dependen de la constante de velocidad, que es específica de la reacción, de las concentraciones de los reactivos y del orden de las mismas, que indica la dependencia de la velocidad de reacción a cada reactivo. El valor numérico del orden de reacción con respecto a cada reactivo debe determinarse experimentalmente (Camacho M. X., 2009), se representan en las siguientes ecuaciones:

#### **Ecuación II-1 Representación del modelo**



Fuente: (Camacho M. X., 2009)

#### **Ecuación II-2. Representación de las reacciones de primer orden tanto para celulosa como para hemicelulosa**



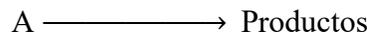
Fuente: (Domínguez & Álvares, 2011)

La ecuación de velocidad para  $r_j$  solo es función de las propiedades de los materiales que reaccionan (p. ej., concentración de las especies, temperatura, presión o tipo de catalizador) en un punto del sistema y es independiente del tipo de sistema en el que se efectúa la reacción (Fogler H. , 1999). Por tanto, la velocidad de reacción química es

una cantidad intensiva, siendo básicamente una ecuación algebraica en la que intervienen las propiedades de los reactantes o productos.

Para determinar de qué modo dependen del tiempo las concentraciones de los compuestos generados en un mecanismo de este tipo, es necesario escribir primeramente las ecuaciones de velocidad para cada componente (Fogler, 1999)

**Ecuación II-3. Ecuación de formación y expresión algebraica lineal en función de la concentración**



$$-r_A = k \cdot C_A \dots \dots \dots (\text{reactivos})$$

$$r_p = k \cdot C_p \dots \dots \dots (\text{Productos})$$

Ecuación de Arrhenius, en la cual expresa la dependencia de la ley de velocidad con la temperatura. Como se observa a continuación:

**Ecuación II-4. Ecuación de Arrhenius**

$$k = A e^{-\left(\frac{E_a}{RT}\right)}$$

Fuente: (Camacho M. X., 2009)

Donde:

k= coeficiente cinético o la constante de velocidad específica

A= factor Pre exponencial, es también una constante para una reacción en particular con las mismas unidades que la constante de velocidad

Ea= es la energía de activación, propia de cada especie

R= es la constante universal de los gases ideales

Según literatura, existen diversos modelos que describen la cinética de hidrólisis ácida para materiales lignocelulósicos que utilizan como principal producto de la hidrólisis de la celulosa, la glucosa.

El modelo cinético busca describir la variación en el tiempo de los productos principales generados en la hidrólisis. Debido a la dificultad de encontrar un mecanismo estricto para las reacciones de hidrólisis es común usar modelos simplificados para determinar la hidrólisis de los materiales lignocelulósicos. (Aguilar, 2002)

### 2.6.1. Método Diferencial de Resolución Van't Hoff

Este tipo de método se fundamenta en el empleo de la concentración de los reactivos o productos y el empleo de la ecuación de rapidez de reacción en su forma diferencial. En la ecuación II-5, se observa el tipo de cinética.

#### **Ecuación II-5 Ecuación general en base a la dependencia de la concentración**

$$r=k(C)^n$$

El método se basa en el uso de la ecuación linealizada aplicando logaritmos en base 10 a la ecuación anterior:

$$\log r_{10} = \log_{10} k + n \log_{10}(C)$$

Graficando el logaritmo de la rapidez en función del logaritmo de la concentración y de acuerdo a la pendiente y ordenada al origen y una regresión lineal se obtiene el orden y la constante de rapidez, teniendo en cuenta:

$$m=n$$

$$b = \log k$$

La obtención de la rapidez de la reacción depende de los datos que se proporcionen en el problema. En caso de tenerse solo la variación de las concentraciones a lo largo de la reacción, la rapidez puede obtenerse a partir de las pendientes a diferentes concentraciones de un gráfico de reactivo o producto en función del tiempo. (Obaya, 2017)

## 2.7. FERMENTACIÓN

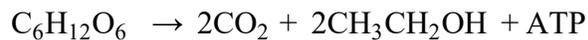
La fermentación es una biorreacción que permite degradar azúcares en alcohol y dióxido de carbono.

La fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno. Para ello disocian las moléculas de sacarosa por ejemplo fructosa y glucosa, y obtienen la energía necesaria para sobrevivir, produciendo el alcohol, dióxido de carbono y moléculas de adenosín trifosfato (ATP). (Wikipedia C. d., s.f.).

Aquí es que tomamos en cuenta la mezcla de los sustratos obtenidos de la hidrólisis con la pulpa de los cítricos.

En 1810, Gay-Lussac, menciona los elementos principales para que se produzca la fermentación alcohólica, como son los materiales azucarados, un fermento (levadura) y oxígeno.

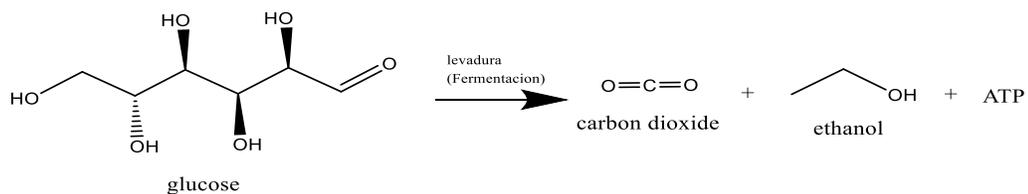
### Ecuación II-6. Ecuación de formación de etanol



Fuente: (Camacho M. X., 2009)

El término fermentación representó el desdoblamiento de azúcar en alcohol y dióxido de carbono. (Restrepo, 2007). Considerando la ecuación II-6. Se aprecia en la figura II-14, lo descrito anteriormente.

**Figura II-14 Esquematización general de la fermentación alcohólica**



Fuente: Elaboración Propia (CHEMDRAW)

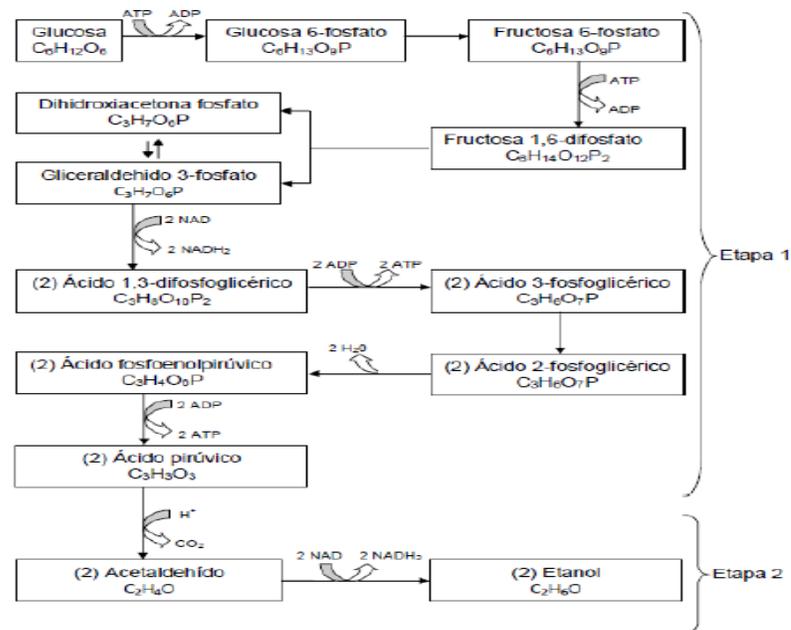
Trabajos posteriores, en específico de Pasteur, demostraron que en la fermentación de 100 partes de sacarosa se originaban primero: 105.40 partes de azúcar invertido, las que, a su vez mediante la fermentación, producen 51.10 partes de alcohol etílico, 49.40 de anhídrido carbónico, 3.20 partes de glicerina, 0.70 partes de ácido succínico y parte de otras sustancias (Silverstein, 1980).

Por el contrario, en un ambiente con ausencia de aire (anaerobio), las levaduras descomponen el azúcar en alcohol, gas carbónico y productos secundarios como glicerol, ácido succínico, ácido acético, ácido láctico, alcoholes superiores entre otros. A la vez las actividades vitales de éstas, se reducen al mínimo (Hernández, 2000), es por ello que las levaduras al utilizar esta vía, deben transformar mucho azúcar en alcohol para así cubrir sus necesidades energéticas (Epifanio, 2005).

### **2.7.1. Glucólisis**

La ruta bioquímica más conocida es la vía Endem-Meyerhof (Glucolisis), la cual comprende todo un conjunto de reacciones que permiten a las células vivas transformar los azúcares de seis átomos de carbono (glucosa y fructosa) en ácido pirúvico, gracias a un importante contenido enzimático elaborado en el citoplasma. Estas reacciones se dan tanto en anaerobiosis (fermentación alcohólica y láctica) como en aerobiosis (respiración). (Oreglia, 1978; Aleixandre y Martínez, 1999; Hidalgo, 2002; Suárez e Iñigo, 2004). Se representan esta ruta en la figura II-15.

**Figura II-15. Ruta metabólica de la formación de alcohol**



Fuente: (Huayta, 2016)

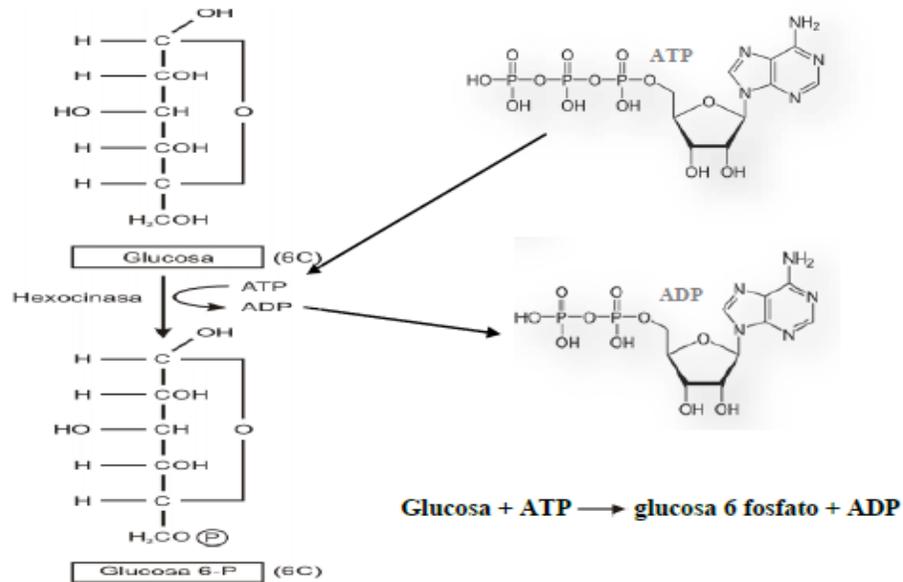
La vía Endem-Meyerof comprende dos etapas, como se vio en la figura. En la primera etapa las levaduras a través de la vía oxidativa y del ciclo de Endem-Meyerhof degradan moléculas de azúcares (glucosa y fructosa) liberando una gran cantidad de energía en cada transformación hasta llegar al ácido pirúvico, esta liberación de energía permite una rápida multiplicación de las levaduras alcanzando una gran biomasa. Esta fase se mantiene hasta agotar el oxígeno disuelto en el mosto. Una vez consumido el oxígeno existente, se inicia a la segunda etapa donde las levaduras comienzan la vía fermentativa o anaerobiosis, actuando sobre el ácido pirúvico, donde este es descarboxilado, y queda como residuo el etanal (acetaldehído), que finalmente es reducido a alcohol (Oreglia, 1978).

Se puede además determinar 9 pasos dentro de las dos etapas de Endem-Meyerof, estas fueron resumidas por Márquez en 2008 y mencionadas por Huayta en 2016: Los mismos que son los siguientes:

## Paso 1

Las reacciones glucolíticas en serie se inician cuando se activa la glucosa. Descrito en la siguiente figura.

**Figura II-16. Ruta Metabólica Primer Paso Activación de la Glucosa**



Fuente: (Huayta, 2016)

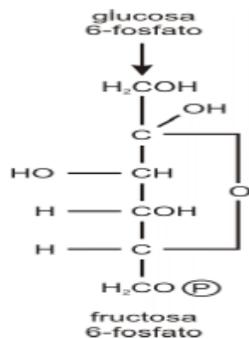
La reacción del ATP con la glucosa para producir glucosa 6-fosfato y ADP es exergónica. Parte de la energía liberada se conserva en el enlace que une al fosfato con la molécula de glucosa que entonces se energiza (Márquez Siguas).

ATP o trifosfato de adenosina es un nucleótido fundamental en la obtención de energía celular. Está formado por una base nitrogenada (adenina) unida al carbono 1 de un azúcar de tipo pentosa, la ribosa, que en su carbono 5 tiene enlazados tres grupos fosfato. Es la principal fuente de energía para la mayoría de las funciones celulares. (Huayta, 2016)

### Paso 2

La glucosa 6-fosfato sufre una reacción de reordenamiento catalizada por una isomerasa, con lo que se forma fructosa 6-fosfato (Márquez, S. 2008). Descrito en la siguiente figura.

**Figura II-17. Ruta Metabólica Segundo Paso Reordenamiento.**

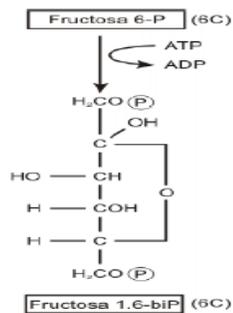


Fuente: (Huayta, 2016)

### Paso 3

La fructosa 6-fosfato acepta un segundo fosfato del ATP, con lo que se genera fructosa 1,6-difosfato; es decir fructosa con fosfatos en las posiciones 1 y 6. La enzima que regula esta reacción es la fosfofructocinasa (Márquez, S. 2008). Hasta ahora se han invertido dos moléculas de ATP y no se ha recuperado energía. Como se observa en la siguiente figura:

**Figura II-18. Ruta Metabólica Tercer Paso: Inversión.**



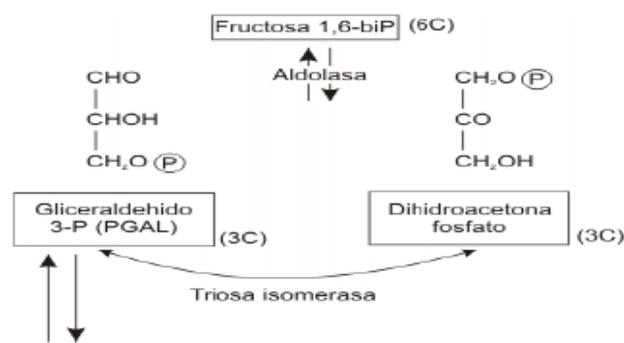
Fuente: (Huayta, 2016)

La fosfofructocinasa o fosfofructoquinasa es la enzima quinasa que fosforila a la fructosa 6-fosfato en la glicólisis. Esta enzima cataliza la transferencia de un grupo fosfato desde el ATP a la fructosa 6-fosfato para formar un derivado bisfosfato (Huayta, 2016)

#### Paso 4

En la figura II-19 se observa como la fructosa 1,6-difosfato se divide en dos azúcares de 3 carbonos, gliceraldehído 3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato. La dihidroxiacetona fosfato es convertida enzimáticamente (isomerasa) en gliceraldehído 3 fósforo. Todos los pasos siguientes deben contarse dos veces para tener en cuenta el destino de una molécula de glucosa. (Márquez, S. 2008).

**Figura II-19. Ruta Metabólica Cuarto Paso: División**



Fuente: (Huayta, 2016)

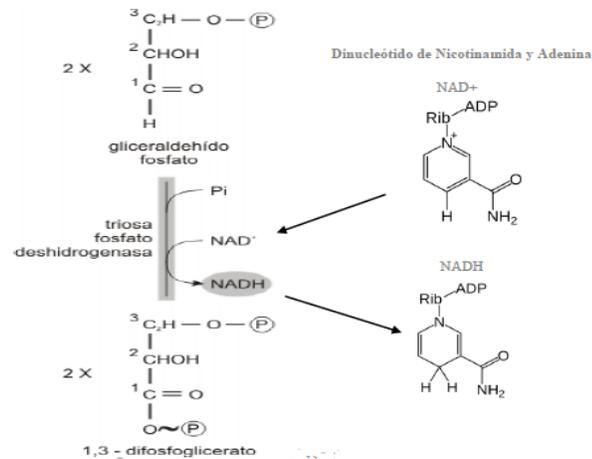
No se obtiene ninguna energía biológicamente útil, en posteriores reacciones, la célula recupera parte de la energía contenida en el PGAL.

#### Paso 5

Las moléculas de PGAL se oxidan, es decir, se eliminan átomos de hidrógeno con sus electrones, y el  $\text{NAD}^+$  se reduce a  $\text{NADH}$ . Esta es la primera reacción de la cual la célula cosecha energía. El producto de esta reacción es el fosfoglicerato. Este compuesto reacciona con un fosfato inorgánico ( $\text{P}_i$ ) para formar 1,3 difosfoglicerato. (Huayta, 2016)

El grupo fosfato recién incorporado se encuentra unido por medio de un enlace de alta energía (Márquez, S. 2008). Como se observa en la figura II-20.

**Figura II-20. Ruta Metabólica Quinto Paso: Oxidación.**

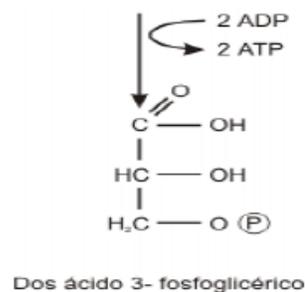


Fuente: (Huayta, 2016)

### Paso 6

El fosfato rico en energía reacciona con el ADP para formar ATP. (En total dos moléculas de ATP por molécula de glucosa). Esa transferencia de energía desde un compuesto con un fosfato, de alta energía se conoce como fosforilación. (Márquez Siguas), como se observa en la figura II-21.

**Figura II-21. Ruta Metabólica Sexto Paso: Fosforilación.**

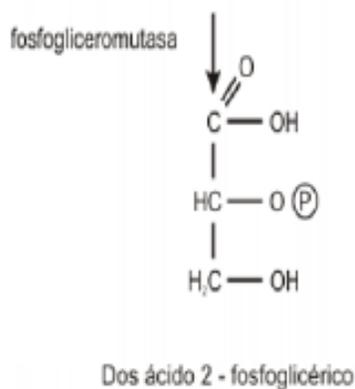


Fuente: (Huayta, 2016)

**Pasó 7**

En la figura II-22, El grupo fosfato remanente se transfiere enzimáticamente de la posición 3 a la posición 2 (ácido 2-fosfoglicérico) (Márquez, S. 2008).

**Figura II-22. Ruta Metabólica Séptimo: Transferencia Enzimática**

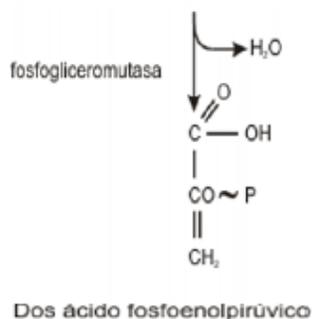


Fuente: (Huayta, 2016)

**Pasó 8**

En este paso, figura II-23, se elimina una molécula de agua del compuesto 3 carbonos. Este reordenamiento interno de la molécula concentra energía en la vecindad del grupo fosfato. El producto es el ácido fosfoenolpirúvico (PEP) (Márquez, S. 2008).

**Figura II-23. Ruta Metabólica Octavo Paso**

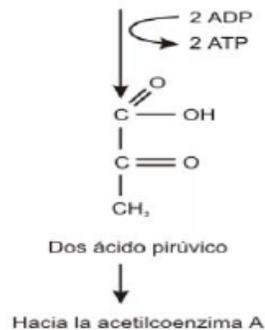


Fuente: (Huayta, 2016)

### Paso 9

El ácido fosfoenolpirúvico tiene la capacidad de transferir su grupo fosfato a una molécula de ADP para formar ATP y ácido pirúvico. (Dos moléculas de ATP y ácido pirúvico por cada molécula de glucosa) (Márquez, S. 2008). Como se observa en la figura II-24.

**Figura II-24. Ruta Metabólica noveno Paso**



Fuente: (Huayta, 2016)

La ecuación II-7 indica la ecuación general que en síntesis describe todos los pasos mencionados anteriormente.

### Ecuación II- 8. Ecuación general: Glucólisis



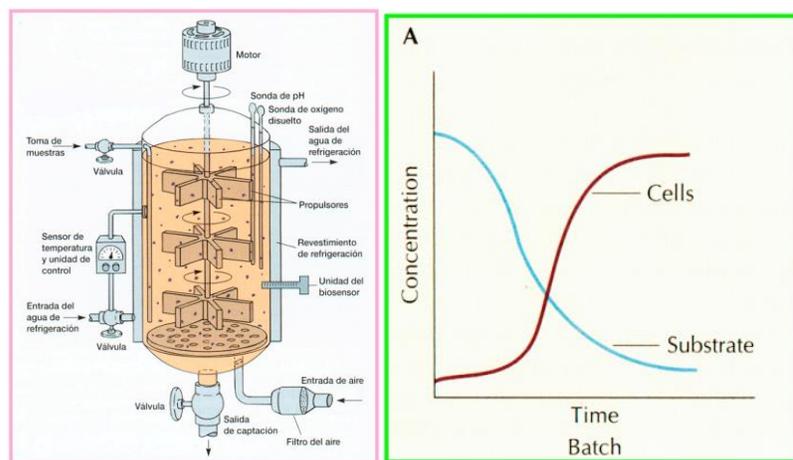
#### 2.7.2. Tipos de fermentación

El medioambiente en donde se realiza la fermentación y las condiciones son los puntos de mayor relevancia a considerar para la experimentación. Los equipos utilizados a nivel industrial cuentan con mecanismos, que permiten agitación, dispersión y aireación y un sistema de control de variables como pH, formación de espuma, temperatura, nivel, etc. que permiten realizar un seguimiento más preciso a la experimentación. En este caso se da a conocer los dos tipos de fermentación:

### a) Fermentación discontinua

Una fermentación discontinua o batch puede ser considerada como un sistema cerrado. Al inicio de la operación se añade la solución esterilizada de nutrientes y se inocula con el microorganismo, permitiendo que se lleve a cabo la incubación en condiciones óptimas de fermentación. A lo largo de toda la fermentación no se añade más nutrientes. En algunas ocasiones se añade un agente antiespumante y ácidos o bases para controlar el pH de la fermentación. (Huayta, 2016). En la figura II-25 se observa tanto el equipo de fermentación discontinua y la concentración de las células y el sustrato durante el proceso.

**Figura II-25. Equipo de Fermentación Discontinua y Gráfica Concentración vs Tiempo de Fermentación.**



Fuente: (Fidalgo, 2017)

### b) Fermentación continua

En la fermentación continua se establece un sistema abierto. La solución nutritiva estéril se añade continuamente al biorreactor y una cantidad equivalente del cultivo, con los microorganismos, se saca simultáneamente del sistema.

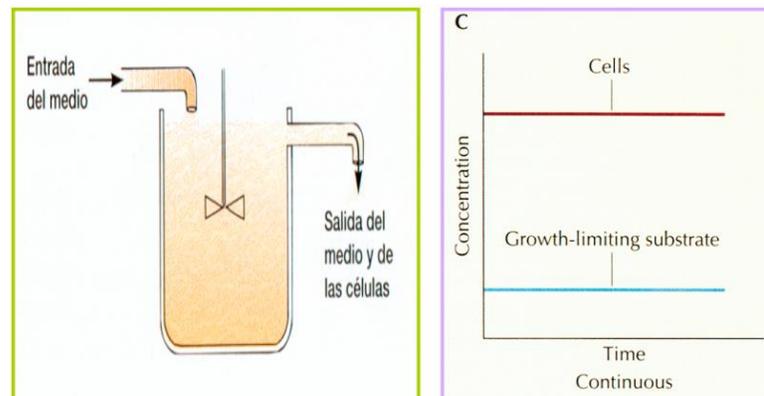
- ✓ Positivo. Proceso continuo que permite una buena utilización de los medios materiales y humanos

- ✓ Negativo. Problemas en el mantenimiento de la estabilidad del sistema. Esterilidad.

Consiste en mantener constante el número de células y la concentración de sustrato así siempre tenemos a las células en la misma fase y en principio este cultivo es eterno en el tiempo. La fase estacionaria se consigue porque dejan de existir los nutrientes o porque el metabolismo de las células produce sustancias tóxicas para ellas y por tanto dejan de crecer, esto se evita con este cultivo.

Vamos eliminando sobrenadante de cultivo o el mismo volumen que eliminamos lo añadimos del medio de cultivo reciente, tenemos la concentración de nutrientes prácticamente constantes y eliminamos los tóxicos. Lo que eliminamos lo vamos procesando para la extracción y purificación del producto interesado, se usa menos que la alimentada ya que este sistema no aguanta mucho ya que hay más posibilidades de que se contamine y de que se rompa la estabilidad del fermentador. (Fidalgo, 2017). La figura II-26, es una representación del equipo de fermentación y como se describe el crecimiento de las células dentro del mismo.

**Figura II-26. Equipo de Fermentación Continua y Gráfica Concentración vs Tiempo de Fermentación.**



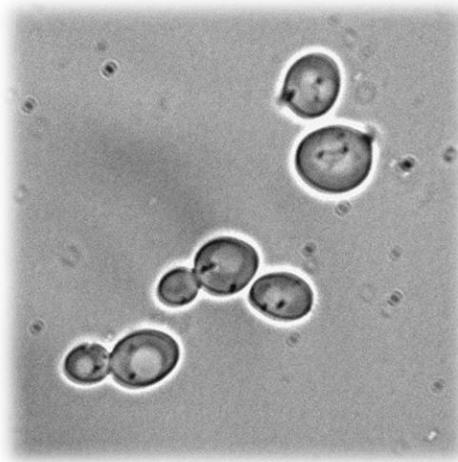
Fuente (Fidalgo, 2017)

## 2.8. LEVADURA

### 2.8.1. *Saccharomyces Cerevisiae*

La levadura *S. cerevisiae* es probablemente el microorganismo más ampliamente utilizado por el hombre a través del tiempo; aunque no se tuviera, en un principio, conciencia plena de la participación del microorganismo en la elaboración de diversos alimentos como el pan o las bebidas alcohólicas. (Suárez-Machin & Garrido Carralero, 2016). Se observa a nivel microscópico en la figura II-27.

**Figura II-27. *S. cerevisiae* en microscopio**



Fuente: Wikipedia, 2019

*Saccharomyces Cerevisiae* es una levadura, un hongo unicelular, de forma más o menos redondeada presenta núcleo diferenciado siendo por lo tanto un organismo eucariota. Pertenece al grupo de los ascomicetos.

Se ha aseverado que la crema de levadura *S. cerevisiae* concentrada, alcanza valores de materia seca (MS) de 18-20 % y un contenido de proteína bruta (PB) de 32-36 %

sobre base seca (Garrido & Santiesteban, 2000). Por otro lado, algunos autores<sup>2</sup> sostienen que la composición promedio de proteína verdadera es de 40.20 %, mientras que otros registraron valores algo inferiores en el entorno de 39 %.<sup>3</sup>

Su crecimiento celular se debe más que nada al pH moderado y a la temperatura a la que se procede, las temperaturas mínimas permisibles son de 0.30 y 0.50 °C y las máximas de 34 y 47 °C el pH es de 3.50 a 5.00.

Las células de la levadura se multiplican rápidamente por gemación: a partir de una célula se origina una protuberancia que va creciendo y acaba dando lugar a otra célula, más pequeña y diferenciada genéticamente de la célula original. Este tipo de reproducción dura unas dos horas y permite la colonización total de los mostos en cuestión de horas o días. (CSIC, sf)

## **2.9. PROCESOS TECNOLÓGICOS DE HIDRÓLISIS Y FERMENTACIÓN:**

La combinación de hidrólisis y fermentación a seguir puede ser vistas de la siguiente manera.

### **2.9.1. Sacarificación y fermentación simultáneas (SSF).**

La estrategia SSF se caracteriza principalmente por realizar las etapas de sacarificación y fermentación en forma simultánea (como lo dice su nombre). La ventaja de esta estrategia es que los rendimientos son mayores que la técnica SHF (sacarificación y fermentación separadas) que era mayormente usada. Este aumento se debe principalmente a que la glucosa es transformada en etanol rápidamente, evitando su efecto inhibitorio sobre las enzimas hidrolíticas, lo que hace que el rendimiento de glucosa aumente y en consecuencia que haya mayor disponibilidad de sustrato para la fermentación alcohólica. (Juri Awad, 2011).

---

<sup>2</sup> (Otero, 1989)

<sup>3</sup> (García, Suarez, Domenech, Blanco, & Santiesteban, 2000)

### **2.9.2. La pre-sacarificación y fermentación (PRESAC)**

Otra alternativa que se ha desarrollado en la denominada pre-sacarificación, en la cual se añaden las levaduras para la fermentación, no al inicio de la hidrólisis enzimática, sino transcurrido un tiempo previamente determinado de hidrólisis enzimática. (Layanis Mesa Garriga & Cara, 2012). Es además una técnica nueva casi no probada por la dificultad de retirar inhibidores y de regular el pH y temperatura de fermentación.

### **2.9.3. Sacarificación-fermentación independientes. (SHF)**

Proceso enzimático en dos etapas: licuefacción y sacarificación; y una tercera etapa fermentativa, mediada por microorganismos. (Castaño P. Hader I., 2008)

## **2.10. DESTILACIÓN**

La destilación es una operación unitaria en la cual se separan componentes de una mezcla líquida por vaporización parcial de la misma de tal manera que la composición de vapor obtenido sea distinta de la composición del líquido de partida, basándose en los puntos de ebullición de los mismos.

Es esencial el conocimiento de las relaciones de equilibrio entre ambas fases para poder resolver analíticamente y poder obtener datos para comparar y medir el rendimiento de estos.

Si los puntos de ebullición de los componentes de una mezcla sólo difieren ligeramente, no se puede conseguir la separación total en una destilación individual.

Un ejemplo importante es la separación de agua, que hierve a 100° C, y alcohol, que hierve a 78.50° C (a nivel del mar). (Mosquera, 2008)

Con el fin de concentrar una disolución que contenga un 10% de alcohol (como la que puede obtenerse por fermentación) para conseguir una disolución que contenga un 50% de alcohol (frecuente en el whisky), el destilado ha de volver a destilarse una o dos veces más, y si se desea alcohol industrial (95%) son necesarias varias destilaciones (José, 2008).

Los distintos métodos para la destilación se pueden clasificar de la siguiente manera:

### **2.10.1. Destilación simple**

Consiste en la evaporización parcial de una mezcla con producto de vapor más rico en componentes más volátiles que la mezcla líquida inicial quedando un residuo líquido más rico en componente menos volátiles; se puede llevar a cabo de diferentes maneras. (Ocon & Tojo, 2005).

### **2.10.2. Destilación diferencial o abierta**

Este método de destilación es el que se efectúa normalmente en los laboratorios cuando se trabaja sin reflujo. llenando continuamente los vapores producidos hasta un condensador. La operación se realiza calentando la mezcla líquida inicial hasta su temperatura de ebullición y retirando continuamente los vapores producidos. A medida que transcurre la operación el líquido se empobrece en componente más volátil elevándose continuamente la temperatura de ebullición de la mezcla; del mismo modo los vapores producidos son cada vez más pobre en componente más volátil y su temperatura de condensación aumenta continuamente. (Ocon & Tojo, 2005).

### **2.10.3. Destilación cerrada o de equilibrio**

En este caso el líquido se lleva a una temperatura intermedia entre la de principio y fin de ebullición, dejando que la fase vapor formada alcance el equilibrio con la fase líquida a aquella temperatura. Por aplicación de un balance de materia aplicado a todo el sistema y al componente más volátil, llegamos a la expresión

$$\frac{L}{V} = (y - x_0) / (x_0 - x)$$

L= líquido residual

V= Vapor

Y=composición de vapor en equilibrio

X<sub>0</sub>=composición inicial del líquido

$X$ =composición de líquido en equilibrio

La ecuación refleja la relación de las cantidades de líquido residual  $L$  y la cantidad de vapor  $V$ , en función de la composición inicial del líquido  $x_0$ , y la composición del líquido y vapor en equilibrio a la temperatura y presión dada,  $x$  e  $y$ .

Sobre el diagrama de ebullición, construido a la presión de la operación, se leen directamente las composiciones del líquido y de vapor en equilibrio, en función de la composición del líquido inicial y de la temperatura de trabajo. (Ocon & Tojo, 2005)

También podemos mencionar otros métodos de destilación simple que son:

- ✓ Condensación parcial.
- ✓ Condensación diferencial o abierta.

#### **2.10.4. Destilación por rectificación**

La operación por rectificación consiste en hacer circular en contracorriente el vapor de una mezcla con el condensado procedente del mismo vapor, en un aparato denominado columna de rectificación. Las partes esenciales de una columna de rectificación son; la columna propiamente dicha, que es donde se verifica el contacto íntimo entre el líquido y el vapor; calderín, situado en la base de la columna en donde se hace hervir la mezcla a separar; y el condensador de reflujo situado en la cúspide de la columna, que se encarga de suministrar el líquido descendiente para su contacto con el vapor. (Ocon & Tojo, 2005)

Para lograr el íntimo contacto entre las fases líquidas y vapor al objeto de establecer el intercambio de materia entre ambas fases interesa que la superficie y el tiempo de contacto sean suficientes; en la práctica este contacto se logra con dos dispositivos diferentes: el de los platos de borboteo que retiene el líquido a treves del cual se va a obligar a pasar el vapor, y el de los cuerpos de relleno, que llenan el interior de la columna verificándose el contacto entre las fase sobre la superficie de estos cuerpos de relleno. (Ocon & Tojo, 2005)

Podemos mencionar los siguientes procesos de destilación por rectificación:

- ✓ Rectificación continúa.
- ✓ Rectificación descontinua.
- ✓ Destilación con arrastre de vapor.

### 2.11. ETANOL

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 o biomasa. Estos azúcares están combinados en forma de sacarosa, almidón, hemicelulosa y celulosa. (RENOVETEC, 2013).

La cáscara de cítricos, en especial de naranja y mandarina fueron utilizados a escala laboratorio para la obtención de bioetanol por diferentes autores, Boluda-Aguilar (2010): Wilkins, Widmer(2007), Cameron y Bulsing (1995) de los cuales se obtienen datos acerca de la cantidad de celulosa, hemicelulosa que estos poseen y la cantidad de etanol que se puede llegar a obtener. Por tanto, en la tabla II-3 se presentas las caracterices generales del etanol y posteriormente en tabla II-4 se observan según autor la cantidad obtenida de etanol obtenido y el proceso utilizado.

**Tabla II-3 Propiedades físicas y químicas del etanol**

	<b>Apariencia</b>	<b>Incoloro</b>
<i>Propiedades Físicas</i>	Densidad	789 kg/m <sup>3</sup> ; 0.78 g/cm <sup>3</sup>
	Masa molar	46.07 g/mol
	Punto de fusión	158.90 K (-114 °C)
	Punto de ebullición	351.60 K (78 °C)
	Temperatura crítica	514 K (241 °C)
	Presión crítica	63 atm
	Estructura cristalina	sistema cristalino monoclinico
	Viscosidad	1074 mPa·s a 20 °C.
	Índice de refracción (nD)	13.61
<i>Propiedades Químicas</i>	pH	7 (en solución acuosa: 10 g / l , 20 °C) al 96%
	Calor de combustión	1336.80 kJ/mol

Poder calorífico	26790 kJ/kg
Estabilidad química	Estable
Alcalinidad	0.001 meq/g
Potencial de ionización	10.47 eV
Constante de disociación	15.90 pKa

Fuente: (PubChem, 2022)

La producción de Etanol (bioetanol) a partir de residuos cítricos, comparado con otra biomasa lignocelulósica, posee dos productos más de valor agregado como ser pectina y D-limoneno. El costo de producción de bioetanol de residuos cítricos puede ser reducidos al recuperar D-limoneno como coproducto, esto fue analizado por Zhou, Widner y Grohmann en 2007.

En la siguiente tabla especifica los autores, el método utilizado para el pretratamiento, hidrólisis y fermentación, además de los resultados obtenidos para cada variedad de cítrico.

El siguiente cuadro servirá de apoyo comparativo, al observar la cantidad de etanol obtenido por diferentes autores y los diferentes procesos que se utilizaron con los resultados que se obtengan de la parte experimental del proceso seleccionado.

**Tabla II-4 Resumen de producción de etanol a partir de cáscaras de variedades de frutas cítricas**

<i>Material</i>	<i>Pretrata.</i>	<i>Hidrólisis</i>	<i>Fermen.</i>	<i>Microorganismo</i>	<i>Etanol</i>	<i>Autor</i>
<i>Mandarina</i>	Explosión de Vapor	Enzimática	SSF	<i>S. Cerevisiae</i>	60L/1000Kg	Boluda-Aguilar et.al 2010
<i>Naranja</i>	Explosión de Vapor	Enzimática	SSF	<i>S. Cerevisiae</i>	38g/L	Wilkins et. al 2007
<i>Limón</i>	Vapor	Enzimática	SHF	<i>S. Cerevisiae</i>	46L/1000Kg	Lopez Gomes (2013)
<i>Lima</i>	Trituración M.	Enzimática	SSF	<i>C. Ibicans</i>	9.30 g/L	Mishra et al 2012

Fuente: (Indulekha, Karuppan, & Appusamy, 2017)

**CAPÍTULO III**  
**PARTE EXPERIMENTAL**

### 3.1. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1.1. Selección del método

Para determinar el mejor método para el todo proceso se dividieron en etapas:

##### a) Pretratamientos

##### - Destilación por arrastre de vapor

La destilación por arrastre con vapor es el método más común para la obtención de aceites esenciales entre sus ventajas y desventajas se cita:

Ventajas:

- ✓ Se puede aislar o purificar diferentes aceites esenciales de fuentes orgánicas naturales.
- ✓ Bajo costo.
- ✓ La temperatura es más baja para este proceso, puesto que la presión total del sistema es igual a la presión de confinamiento.
- ✓ El procedimiento es más sencillo que el empleo de vapores o gases diferentes al agua implica problemas adicionales en la condensación y recuperación del destilado o gas.

Desventajas:

- ✓ Requiere grandes cantidades de calor para evaporar simultáneamente el agua y la materia prima por tanto el consumo de agua es elevado.
- ✓ Las temperaturas altas pueden causar la hidrólisis de los ésteres, y la polimerización y resinificación de los terpenos presentes en el aceite esencial.
- ✓ El tiempo de extracción está limitado por el volumen de agua utilizado.

##### - Deslignificación

Como pretratamiento, deslignificación significa separar la lignina presente de los residuos, por lo tanto, se debe seleccionar un proceso que tome en cuenta los siguientes criterios para su selección:

- ✓ Disponibilidad de materiales y tecnología: Existencia de materiales, equipos y reactivos que son necesarios para su aplicación.
- ✓ Costo: estos deben ser asequibles.
- ✓ Presencia de inhibidores: Nula o baja presencia de inhibidores posterior a la aplicación del método.
- ✓ Tiempo: Tiempos cortos de aplicación.
- ✓ Eficiencia: Eficiencia de eliminar componentes que pueden afectar a procesos posteriores.

De tal manera que se evaluaron tres pretratamientos: Líquidos Iónicos, explosión de vapor e hidrólisis hidrotérmica alcalina; que según bibliografía son los más utilizados y de los cuales en la siguiente tabla se presentan sus ventajas y desventajas:

**Tabla III-1. Ventajas y desventajas de Pretratamientos**

<b>Pretratamiento</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<i>Explosión de vapor</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Transformación de lignina y solubilización hemicelulosa.</li> <li>- Económico.</li> <li>- Mayor rendimiento de la glucosa y la hemicelulosa.</li> <li>-Efectivo para maderas duras y desechos agrícolas. Bajo requerimiento de energía comparado con métodos físicos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Generación de compuestos tóxicos.</li> <li>- Degradación de la hemicelulosa parcial.</li> <li>- Destrucción parcial de xilano, separación incompleta de la lignina y generación de compuestos inhibitorios para la fermentación.</li> </ul>
<i>Hidrólisis hidrotérmica alcalina</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mejora en la separación de la lignina.</li> <li>- Obtención de bajas concentraciones de subproductos inhibidores de la fermentación.</li> <li>- Buen rendimiento del proceso.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Requieren unas condiciones de presión y temperatura muy elevadas.</li> <li>- La efectividad de este pretratamiento depende del contenido de lignina del material a tratar.</li> </ul>

<i>Líquidos iónicos</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aumento del área superficial interna.</li> <li>- Descenso del nivel de cristalización.</li> <li>- Separación de las uniones estructurales entre la lignina y los carbohidratos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- El pretratamiento alcalino causa la solubilización de hemicelulosa y lignina.</li> <li>- Existe a menudo una pérdida de productos en la degradación de hemicelulosa y la solubilización de lignina.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Buen rendimiento en la hidrólisis de celulosa.</li> <li>- Baja toxicidad, baja higroscopicidad bajos costos de producción.</li> <li>- Alta estabilidad térmica.</li> <li>- Reciclable y no inflamable.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Poco biodegradables, alta higroscopicidad.</li> <li>- Altos costos.</li> <li>- Difícil encontrar en Bolivia.</li> <li>- Elimina parcialmente la lignina.</li> <li>- Los que contienen cloruro poseen toxicidades y propiedades corrosivas.</li> <li>- Su recuperación y reciclaje es requerido para su uso en el pretratamiento de la biomasa.</li> </ul>

Fuente: (Vele, 2021), (Itziar, 2016), (Sánchez, 2010)

En base a la tabla III-1, se selecciona el puntaje y el esquema para decidir acerca del método. El cual se representa en la tabla III-2.

**Tabla III-2. Escala de puntaje asignado para la matriz de selección**

<i>Puntaje asignado</i>	<b>Esquema</b>
<i>0.1-0.2</i>	No aplicable
<i>0.3-0.5</i>	Poco aplicable
<i>0.5-0.7</i>	Medianamente aplicable
<i>0.7-1</i>	Aplicable

Fuente: Elaboración Propia

**Tabla III-3. Selección del proceso de pretratamiento**

<i>Criterios de Decisión</i>	<b>Ponderación</b>	<b>Alternativas de Diseño</b>					
		Pret. líquidos iónicos		Pret. hidroalcalino		Pret Explosión de vapor	
		Valor	Puntaje	Valor	Puntaje	Valor	Puntaje
<i>Disponibilidad de materiales y tecnología</i>	20	0.10	2	0.80	16.00	0.60	12.00
<i>Costo</i>	25	0.10	5	0.90	22.50	0.90	22.50
<i>Presencia de inhibidores</i>	25	0.80	20	0.60	15.00	0.90	22.50
<i>Tiempo</i>	10	0.70	7	0.80	8.00	0.70	7.00
<i>Eficiencia en degradación de lignina</i>	20	0.60	12	0.90	18.00	0.70	14.00
<i>Total</i>	100		46.00		79.50		78.00

**Fuente: Elaboración Propia**

Los resultados, en base a la matriz de decisión presentada en tabla III-3, se elige a la Hidrólisis hidrotérmica alcalina. Este procedimiento ayuda a obtener un producto deslignificado gracias al uso de una base, presión y temperatura alta, generando roturas en los enlaces de celulosa y hemicelulosa; mejorando los rendimientos y resultados en comparación a los trabajos presentados en bibliografía.

#### - **Hidrólisis y fermentación**

Para seleccionar el método más eficiente y viable que pueda cumplir con criterios y normas se realizó una matriz de decisión, en la cual se evalúa al proceso según fueron recopilados en la bibliografía. Los criterios tomados en cuenta fueron:

- ✓ Disponibilidad de materiales: Existencia de materiales, reactivos y equipos para aplicar el proceso.
- ✓ Costo y complejidad del método Costos deben ser lo más bajo posible y el método debe ser simple.
- ✓ Producción de azúcares reductores: Alta eficacia de conversión.
- ✓ Presencia de inhibidores: Baja formación de inhibidores para posteriores procesos.
- ✓ Tiempo: Tiempo de residencia debe ser corto.

Los métodos seleccionados son de: Sacarificación y fermentación simultánea (SFS), Sacarificación y fermentación separadas (SHF) presacarificación y fermentación (PRESAC); se describe las ventajas y desventajas de los tres procedimientos mencionados en la siguiente tabla:

**Tabla III-4. Ventajas y desventajas de diferentes procesos de hidrólisis y fermentación**

<b>Tratamiento</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<i>Sacarificación y fermentación simultánea (SFS)</i>	-Amplia disponibilidad de microorganismos eficientes para este tipo de procesos.	- Imposibilidad de reciclaje de las células.

	-Disminución de costes y empleo de menores concentraciones de enzimas. - Se minimiza la inhibición por producto final.	- No hay fermentación de las pentosas.
<i>Presacarificación y fermentación (PRESAC)</i>	- Aprovechamiento de la mayoría de azúcares presentes en la materia prima. -Disminución de costes. - Se minimiza la inhibición por producto final.	-Los microorganismos fermentadores de pentosas no están ampliamente desarrollados. - Las condiciones de proceso deben ser un compromiso entre las condiciones óptimas para hidrólisis y fermentación.
<i>Sacarificación y fermentación separadas (SHF)</i>	- Condiciones óptimas para cada paso. -Posibilidad de reciclaje de las células.	- Proceso en dos pasos con el consiguiente aumento de costes que ello supone. - Inhibición por producto final durante la hidrólisis.

Fuente: (Carbonell, 2016)

**Tabla III-5. Escala de puntaje asignado para la matriz de selección en la etapa entre la hidrólisis y la fermentación**

<i>Puntaje asignado</i>	<b>Esquema</b>
<i>0.1-0.2</i>	No aplicable
<i>0.3-0.5</i>	Poco aplicable
<i>0.5-0.7</i>	Medianamente aplicable
<i>0.7-1</i>	Aplicable

**Fuente: Elaboración Propia**

**Tabla III-6. Selección del proceso entre hidrólisis y fermentación**

<i><b>Criterios de Decisión</b></i>	<b>Ponderación</b>	<b>Alternativas de Diseño</b>					
		Met. (SSF)		Met. (PRESAC)		Met. SHF	
		Valor	Puntaje	Valor	Puntaje	Valor	Puntaje
<i>Disponibilidad de materiales y equipos</i>	25	0.80	20.00	0.80	20.00	0.80	20.00
<i>costo y complejidad del método y análisis</i>	20	0.60	12.00	0.50	10.00	0.80	16.00
<i>Producción de azúcares reductores</i>	25	0.75	18.80	0.75	18.75	0.70	17.50
<i>Presencia de inhibidores</i>	15	0.60	9.00	0.80	12.00	0.50	7.50
<i>Tiempo</i>	15	0.75	11.25	0.70	10.50	0.75	11.25
<i>Total</i>	100		71		71.25		72.25

**Fuente: Elaboración Propia**

Por tanto, en vista de los resultados en tabla III-6, el procedimiento a utilizar para la hidrólisis y fermentación es la de Sacarificación y fermentación separada (SHF). Al cual se modificará un poco, para evitar la presencia de inhibidores, reduciendo el tiempo de reposo entre la etapa de hidrólisis y la de fermentación para poder adecuar el mosto; lo cual ayuda para modificar el pH del sustrato y permite corregir la temperatura para el crecimiento de la levadura.

### **3.2. PROCESO TECNOLÓGICO EXPERIMENTAL**

La parte experimental del proyecto de grado, investigación aplicada, ha sido desarrollado en el Laboratorio de Operaciones Unitarias (LOU) dependiente del departamento de Procesos Industriales Biotecnológicos y Ambientales (DPIBA) de la Facultad de Ciencias y Tecnología.

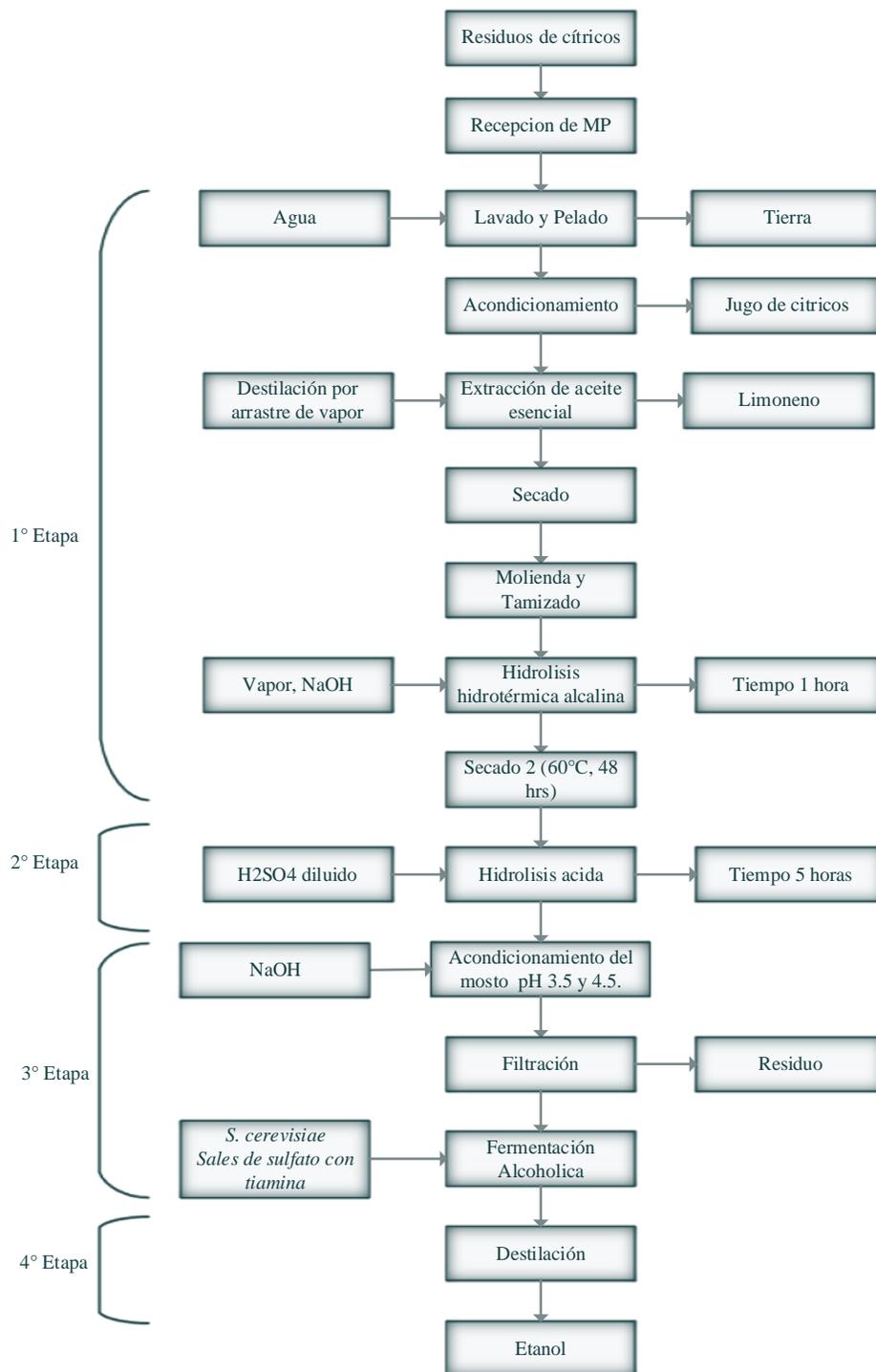
Se presentó cronograma contabilizando los días de uso de los equipos, materiales y los reactivos utilizados, en base a las 2 semanas propuestas por el laboratorio.

#### **3.2.1. Diagrama de flujo de proceso de obtención de etanol**

En función a lo seleccionado en el apartado 3.1., se detalla (Figura III-1.) los procesos a ejecutar en este proyecto para la obtención de etanol; el cual para mayor comprensión se divide en las siguientes etapas:

-  Pretratamientos
-  Hidrólisis ácida
-  Fermentación
-  Destilación

**Figura III-1. Diagrama de Flujo del Proceso de obtención de etanol**



Fuente: Elaboración Propia

### **3.3. DISEÑO ESTADÍSTICO DE EXPERIMENTOS**

Los modelos de diseño de experimentos son modelos estadísticos clásicos cuyo objetivo es averiguar si unos determinados factores influyen en una variable de interés y, si existe influencia de algún factor, cuantificar dicha influencia. Este tipo de experimentos permite, el estudio del efecto de cada factor sobre la variable respuesta, así como el efecto de las interacciones entre factores sobre dicha variable. (Marín Diazaraque, 2020)

El objetivo del diseño de experimentos es estudiar condiciones diferentes de respuesta por parte de las variables; si cuando se utiliza un determinado tratamiento se produce una mejora en el proceso o no. Para ello se debe experimentar aplicando el tratamiento y no aplicándolo. Si la variabilidad experimental es grande, sólo se detectará la influencia del uso del tratamiento cuando éste produzca grandes cambios en relación con el error de observación.

Como se indica en el apartado 3.1 y 3.2.; la etapa de hidrólisis y fermentación es en la cual se realiza el diseño experimental para ambos procesos y según bibliografía: en estas etapas se controlan mejor las variables y ayudan a comparar con trabajos similares. A continuación, presentamos los modelos seleccionados

#### **3.3.1. Diseños factoriales $2^3$ : Etapa de hidrólisis**

Supongamos que se tienen tres factores binarios A, B y C. El número de posibles combinaciones es 8, y con n replicaciones se tiene un total de 8n observaciones. Para calcular los efectos se puede usar la siguiente tabla o matriz de diseño:

**Tabla III-7. Matriz de diseño, combinaciones en diseño factorial  $2^3$**

Efecto Factorial	Combinación de Factores							
	(1)	a	b	ab	c	ac	bc	abc
<i>I</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A</i>	-	+	-	+	-	+	-	+
<i>B</i>	-	-	+	+	-	-	+	+
<i>AB</i>	+	-	-	+	+	-	-	+
<i>C</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>AC</i>	+	-	+	-	-	+	-	+
<i>BC</i>	+	+	-	-	-	-	+	+
<i>ABC</i>	-	+	+	-	+	-	-	+

Fuente: (Marin, 2006)

Para el presente trabajo se decidió realizar un diseño factorial en la etapa de la hidrólisis y de esta manera observar la cantidad de azúcares reductores se obtienen de las diferentes combinaciones de variables. En este caso se toma en cuenta un diseño factorial con dos niveles y 3 variables. Las variables independientes serán:

- ✓ Concentración de ácido (g/mL)
- ✓ Concentración de sustrato
- ✓ Temperatura

$$\text{N}^\circ \text{ variables}=3$$

$$\text{Niveles}=2 \text{ (sup. e inf.)}$$

$$\text{N}^\circ \text{ experimentos}= 2^3=8$$

Con 2 repeticiones:

$$\text{N}^\circ \text{ de experimentos}=8*2=16$$

Citando literatura presentada en el marco teórico, los autores coinciden en la aplicación de la hidrólisis de ácido diluido:, entre 1% a 9% de concentración de ácido diluido con lo cual se evita la contaminación al medio ambiente, temperaturas de 50°C a 150°C, para evitar la generación de vapores tóxicos, y teniendo en cuenta el equipo a utilizar la temperatura máxima según especificaciones es de 120 °C, pero al ser un equipo antiguo y de uso frecuente el mismo solo alcanza temperaturas de 100 °C. (Aguilar,

2002) (Andrade, 2018) (Boluda-Aguilar, Garcia-Vidal, & López-Gomez, 2010) (Camacho M. X., 2009) (Lesly, 2010), (Niño, 2013)

Las concentraciones de sustrato de 2 a 5 g, equilibrado para la concentración de ácido sulfúrico diluido.

Descartando las siguientes variables por necesitar equipos que sean sumergibles, su costo sea elevado y que no se tengan equipos en el laboratorio para medirlos a una buena precisión.

- pH, al ser necesario un equipo constante dentro de las pruebas, eléctrico y de precisión exacta. Del cual el laboratorio de operación unitarias cuenta con uno pero se encuentra obsoleto y no funciona.
- Tamaño e partícula, es necesario tener un equipo que pueda triturar de manera más fina, con más rendimiento. El equipo en el laboratorio por el uso constate calienta en exceso y no tritura finamente, por tanto, se descartó el uso como variable del tamaño de partícula. Sin embargo, si se utilizó para poder observar el tamaño promedio al cual se realizan las pruebas experimentales.
- Concentración de biomasa y concentración ácido biomasa, en este aspecto es necesario conocer la concentración de celulosa. Por tanto, ningún laboratorio en Bolivia y en específico Tarija realiza este tipo de análisis y los laboratorios prestados por la universidad no cuentan con equipos para poder realizar las determinaciones de celulosa.

Por tanto, en base a estos datos teóricos y las características de los equipos en el laboratorio de operaciones unitarias se define los parámetros para realizar la parte experimental del proyecto. Los cuales se presentan en la siguiente tabla:

**Tabla III-8. Parámetros para la conversión de celulosa a azúcares totales**

Nivel	Concen. Acido %(V/V)	Cant. Sustrato g por 100 mL	Temperatura °C.
<b>Inferior</b>	5	2.50	85
<b>Superior</b>	7	3.00	90

Fuente Elaboración Propia

Se determinó que, a partir de la combinación de las variables (tabla III-8), se determinan aquellas que son más significativa con valores considerablemente satisfactorios, siendo la variable respuesta la cantidad de azúcares reductores.

**Tabla III-9. Diseño factorial para el proceso de hidrólisis**

Prueba	Conc. Ácido %v/v	Conc. Sustrato	Temp. °C
<b>1</b>	-	-	-
<b>2</b>	-	+	-
<b>3</b>	+	-	-
<b>4</b>	+	+	-
<b>5</b>	-	-	+
<b>6</b>	-	+	+
<b>7</b>	+	-	+
<b>8</b>	+	+	+

Fuente Elaboración propia

En la siguiente tabla se muestran, ya con datos, los experimentos a realizar.

Tabla III-10. Diseño Factorial en Datos

Prueba	Conc. De Ácido %v/v	Conc. Sustrato (g)	Temp. °C	Azúcares Reductores
1	5	2.5	85	
2	5	3	85	
3	7	2.5	85	
4	7	3	85	
5	5	2.5	90	
6	5	3	90	
7	7	2.5	90	
8	7	3	90	

Fuente Elaboración propia

En este sentido, se establecen las siguientes hipótesis:

Ha: La temperatura, la concentración del ácido y/o la concentración de sustrato de hidrólisis ácida influyen en el rendimiento del proceso de obtención de azúcares reductores.

Por otro lado, se presenta la hipótesis nula:

Ho: Ni la temperatura, ni la concentración del ácido y ni la concentración de sustrato de la hidrólisis ácida influyen en el rendimiento del proceso de obtención de azúcares reductores.

Al ser un diseño factorial con replicación, (Lara, 2015) describe el modelo con tres factores los cuales se muestra en la ecuación III-1.

#### Ecuación III-1. Modelo de Diseño Estadístico de 3 Factores con Replicación

$$y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta)_{ij} + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\tau\beta\gamma)_{ijk} + u_{ijkl}$$

Con:

$$i = 1, 2, \dots, a; \quad j = 1, 2, \dots, b; \quad k = 1, 2, \dots, c; \quad l = 1, 2, \dots, r$$

Donde  $r$  es el número de replicaciones y  $N = abc$  es el número de observaciones.

El número de parámetros de este modelo es, como en el modelo de tres factores sin replicación,  $abc+1$  pero en este caso el número de observaciones es  $abc$ .

El objetivo del análisis de este modelo es realizar los contrastes sobre los efectos principales, las interacciones de orden dos y la interacción de orden tres.

$y_{ijk}$ : Representa la observación correspondiente al nivel (i) del factor A, al nivel (j) del factor B y al nivel (k) del factor C.

$\mu$ : Efecto constante, común a todos los niveles de los factores, denominado media global.

$\tau_i$ : Efecto producido por el nivel i-ésimo del factor A, ( $\sum_i \tau_i = 0$ ).

$\beta_j$ : Efecto producido por el nivel j-ésimo del factor B, ( $\sum_j \beta_j = 0$ ).

$\gamma_k$ : Efecto producido por el nivel k-ésimo del factor C, ( $\sum_k \gamma_k = 0$ ).

$(\tau\beta)_{ij}$ : Efecto producido por la interacción entre A×B, ( $\sum_i (\tau\beta)_{ij} = \sum_j (\tau\beta)_{ij} = 0$ ).

$(\tau\gamma)_{ik}$ : Efecto producido por la interacción entre A×C, ( $\sum_i (\tau\gamma)_{ik} = \sum_k (\tau\gamma)_{ik} = 0$ ).

$(\beta\gamma)_{jk}$ : Efecto producido por la interacción entre B×C, ( $\sum_j (\beta\gamma)_{jk} = \sum_k (\beta\gamma)_{jk} = 0$ ).

$(\tau\beta\gamma)_{ijk}$ : Efecto producido por la interacción entre A×B×C, ( $\sum_i (\tau\beta\gamma)_{ijk} = \sum_j (\tau\beta\gamma)_{ijk} = \sum_k (\tau\beta\gamma)_{ijk} = 0$ ).

$u_{ijkl}$ : varios autores mencionan a este como independientes con distribución  $N(0,\sigma)$

### 3.3.2. Diseños factoriales 2<sup>2</sup>: Etapa de Fermentación

En diseños industriales es frecuente considerar dos niveles para cada uno de los factores que pueden intervenir en el diseño experimental. Un diseño con  $k$  factores que tienen dos niveles requiere un número de replicaciones igual a  $2^k$  observaciones. En este tipo de modelos se asume que los efectos son fijos y la aleatorización completa y se consideran las mismas restricciones que en el caso de los diseños factoriales típicos.

El diseño  $2^2$  Se consideran dos factores A y B con dos niveles: bajo=0 alto=1 Los niveles altos de los factores se representan mediante las letras a y b respectivamente y los niveles bajos se representan por la ausencia de dichas letras. Si ambos niveles son bajos se considera un valor igual a 1.

La bibliografía menciona que las combinaciones entre los valores bajos y altos proporcionan la varianza, desviación estándar y por consiguiente el análisis anova de los resultados. De tal manera que las mismas son representados en la siguiente figura:

**Figura III-2. Combinaciones en diseño factorial  $2^2$**

$(0, 0)$	$\implies$	$(1)$
$(1, 0)$	$\implies$	$a$
$(0, 1)$	$\implies$	$b$
$(1, 1)$	$\implies$	$ab$

Fuente: (Montgomery, 2004)

Las variables independientes serán:

- ✓ Cantidad de levadura
- ✓ pH inicial

$$N^{\circ} \text{ variables} = 2$$

$$\text{Niveles} = 2$$

$$N^{\circ} \text{ de experimentos} = 2^2 = 4$$

$$N^{\circ} \text{ de experimentos} = 4 * 2 = 8 \text{ experimentos}$$

De conformidad con lo que se expresa en bibliografía donde se mencionan las condiciones promedio para una buena fermentación de jarabes glucosados y para productos de hidrólisis. (Gerene B, 2013); (Andrade, 2018) (Daza, 2014) (Huayta, 2016)

El pH tiene una gran influencia en los productos finales del metabolismo anaerobio, por lo tanto, es importante tener un control sobre esta variable del proceso de fermentación puesto que los microorganismos poseen un pH óptimo en el cual tienen mayor velocidad

de crecimiento y rendimiento. Al elegir esta variable, se tomó el control inicial al adecuar el mosto para una mejor fermentación.

El motivo por el cual se descarta como variable a la temperatura es porque aumenta la cantidad de días a fermentar y por problemas con el cronograma y el uso de laboratorio permitido de dos semanas, solo permitieron el uso de 3 días para el equipo, además que existían estudiantes que según cronograma debían utilizar el equipo.

En cuanto a la cantidad de levadura, este es una variable importante ya que son los encargados de fermentar el azúcar presente en la harina, dando como resultado etanol y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), además de ser una variable que puede ser controlada, que nos puede mostrar a que cantidad de levadura es posible obtener los mejores rendimientos en la conversión de azúcares reductores a etanol.

Por tanto, en tabla III-11. se presentan los datos para la fermentación:

**Tabla III-11. Tabla de Variables para la fermentación**

<i>Nivel</i>	Cantidad de Levadura g por litro	pH
<i>Inferior</i>	1.20	4.50
<i>Superior</i>	1.40	5.00

Fuente: Elaboración propia

Dando como variable respuesta el grado alcohólico que se obtiene después de la fermentación y destilación de cada experimento.

Las combinaciones se presentan en la tabla siguiente:

**Tabla III-12. Diseño Experimental etapa de Fermentación**

Prueba	Cantidad de Levadura	Ph	Extracto inicial	Extracto final	Rendimiento
					Alcohol obtenido °GL
1	-	-	Ei1	Ef1	F1
2	+	-	Ei2	Ef2	F2
3	-	+	Ei3	Ef3	F3
4	+	+	Ei4	Ef4	F4
5	-	-	REi1	REf1	RF1
6	+	-	REi2	REf2	RF2
7	-	+	REi3	REf3	RF3
8	+	+	REi4	REf4	RF4

Fuente Elaboración propia

Se establecen las hipótesis para este diseño factorial

Ha: La cantidad de levadura y/o el pH del mosto influyen en el proceso de obtención de etanol

Por otro lado, se presenta la hipótesis nula:

Ho: Ni la cantidad de levadura, ni el pH del mosto influyen en el proceso de obtención de etanol.

En donde el modelo es el siguiente:

**Ecuación III-2. Modelo de diseño factorial**

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

$\mu$  = es el efecto medio global

$\alpha_i$  = es el efecto incremental sobre la media causado por el nivel i del factor de cantidad de levadura.

$\beta_j$  = es el efecto incremental sobre la media causado por el nivel j de pH

$\alpha\beta_{ij}$  = es el efecto incremental sobre la media causado por la interacción del nivel de la cantidad de Levadura y el nivel j del pH.

$\varepsilon_{ij}$  = es el término del error

**Tabla III-13. Diseño experimental etapa de Fermentación combinaciones realizadas**

Prueba	Cantidad de Levadura	pH
1	1,2	4,5
2	1,4	4,5
3	1,2	5
4	1,4	5

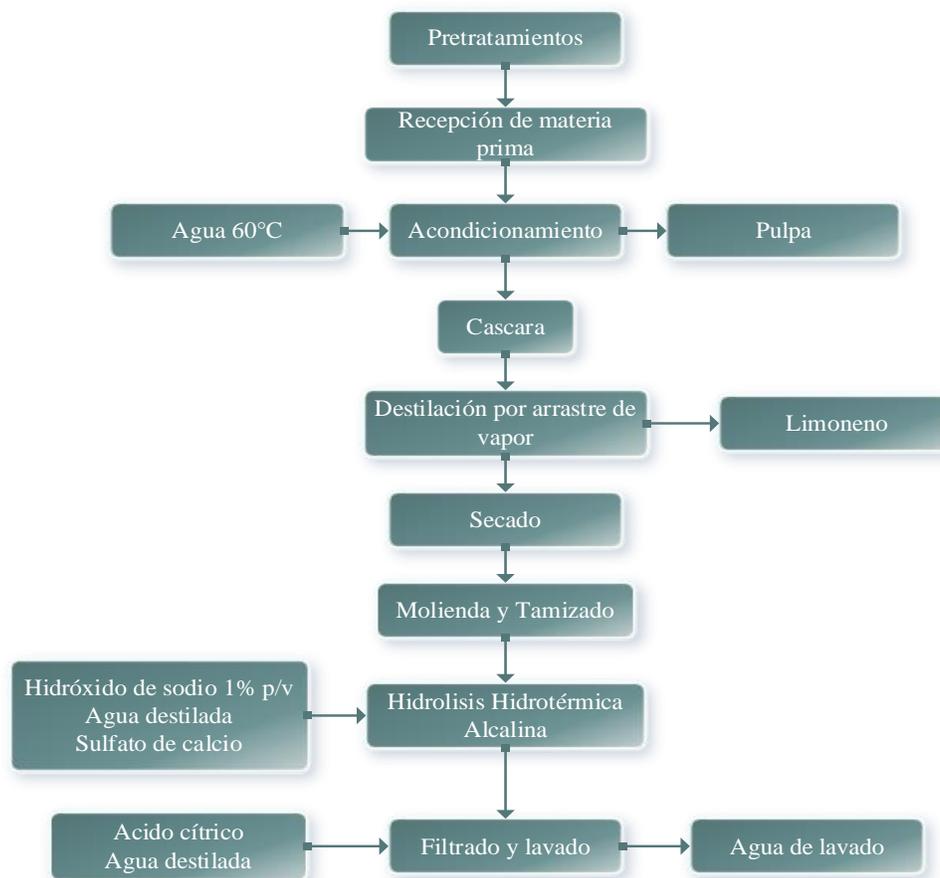
Fuente Elaboración propia

### 3.4. DESARROLLO DEL PROCESO EXPERIMENTAL

#### 3.4.1. 1° etapa: pretratamientos

Esta es la primera etapa, en la cual tenemos procesos que son necesarios para el acondicionamiento de la materia prima previo a la hidrólisis. Es por este motivo y para su mejor comprensión se describe en figura III-3, los procedimientos que se lleva a cabo en esta etapa, para luego desglosarla en posteriores subtítulos.

**Figura III-3. Diagrama de flujo: Pretratamientos realizados**



Fuente: Elaboración propia

### 3.1.1. Recolección y análisis de la materia prima

Para realizar la parte experimental del proyecto; la materia prima constituida por residuos cítricos de pomelo, naranja, mandarina y limón fueron recolectados de lugares estratégicos de la ciudad de Tarija: Mercado Campesino (CERCAT) en el almacén de basura ubicado en medio del sector de venta de frutas. La cantidad recolectada fue alrededor de 6 kilos. Cabe mencionar que la materia prima no tuvo costo alguno. En la siguiente figura se observa el almacén del cual se extrajo la materia prima.

**Figura III-4. recolección de la materia prima**



Fuente: Elaboración Propia

El análisis que se realiza a la materia prima es de azúcares reductores, de la misma forma para los sustratos obtenidos posteriormente de la hidrólisis. los resultados son análisis proximales que se presentaran el capítulo siguiente, los mismos fueron realizados en el laboratorio de la Universidad Juan Misael Saracho CEANID.

Otro análisis que se realiza es para encontrar el calor específico para el balance de energía en la etapa de secado, por lo cual es necesario conocer, la cantidad de fibra, proteínas y carbonatos cuenta los residuos.

Como CEANID no cuenta con análisis de: celulosa, hemicelulosa y lignina. Se realizó un análisis proximal de Holocelulosa para realizar una pequeña comparación con los presentes en otros proyectos de grado similares y observar su contenido de celulosa posible para hidrolizar, el cual se detalla en el anexo C.

Para la recolección y selección de la materia prima, se tiene en cuenta:

- ✚ Fruta completa (pulpa y cáscara), o solamente cáscara.
- ✚ Estado, grado de descomposición en el que se encuentran tanto cáscara como pulpa.
- ✚ La presencia de hongos, bacterias.
- ✚ Color
- ✚ Los análisis realizados a la materia prima en cuanto ingresan al laboratorio

### 3.4.1.1. Acondicionamiento

La materia prima contiene tierra, hojas y residuos líquidos que pueden perjudicar el proceso. Por tanto, y según recomendación en bibliografía aquellos cítricos que pudieron ser encontrados enteros con poca degradación o que sean pedazos grandes son lavados con agua a una temperatura de 60°C. (fig. III-5) (Alban, 2009). Con el fin de eliminar las impurezas que presentan.

**Figura III-5. lavado de la materia prima**



Fuente: Elaboración Propia

Al recolectar materia prima se notó lo siguiente: los cítricos estaban enteros, es decir contenía pulpa y cáscara, presentaban algunas zonas mohosas y algunos con olor a fermentado; para evitar contaminación se separaron de los que presentaban dichos aspectos.

Aquellos que presentaron cáscara y pulpa fueron pelados (Figura III-6.), la cascará será la que se utiliza para obtener etanol. Se realizó el pesaje de la materia prima, tomando una muestra aleatoria de 550 g para realizar los análisis de fisicoquímicos en el laboratorio CEANID.

**Figura III-6. Cáscaras separas de los diferentes cítricos utilizados**



Fuente: Elaboración Propia

La cantidad recolectada fue de seis kilos doscientos treinta gramos, estos se recolectaron de los basureros dispuestos por CERCAT y CRAMA en el Mercado Campesino de la ciudad de Tarija. Cabe añadir que una cantidad de 2 kilos fue utilizada para pruebas previas a la experimentación.

**Tabla III-14. Cantidad de cáscara**

<i>Cáscara</i>	<b>Gramos</b>
<i>Total, recolectado</i>	6230

Fuente: Elaboración Propia

#### **3.4.1.2. Extracción de aceites esenciales (destilación por arrastre de vapor)**

Se realizó cortes a la materia prima con el uso de un cuchillo de acero inoxidable, sin seccionar demasiado los residuos.

El procedimiento a seguir se tomó en cuenta trabajos citados en bibliografía; los cuales señalan las mejores variables para la destilación con el uso del equipo de destilación que tiene el laboratorio de operaciones unitarias. (Benítez, 2016), (Quecaña, 2013)(Castillo, 2016).

Al iniciar la experimentación se colocó agua en el fondo del equipo de destilación hasta que el nivel nos indique 6 litros; en cada bandeja se dispuso de 200 g de residuos, equivalentes en total por cada tratamiento de 600 g. Se toma como dato inicial la

temperatura del ambiente en el fondo del destilador en cuanto se empezaba el burbujeo se iniciaba el conteo del tiempo para la destilación como especifica las condiciones del equipo.

En la siguiente figura III-7 y 8 se observa el pesaje realizado en los recipientes para la destilación y el proceso de destilación al momento de iniciar el proceso.

**Figura III-7. Pesaje de Materia Prima en recipiente para destilación**



Fuente: Elaboración Propia

**Figura III-8. Equipo: Destilador por arrastre de vapor y recolección de Aceite Esencial**



Fuente: Elaboración Propia

Se realizaron 9 extracciones, cada una de 2.50 horas iniciando el conteo del tiempo cuando se produjo el borboteo del agua dentro de la torre suponiendo la llegada a la

temperatura de ebullición y comprobada ya que al finalizar se controló la temperatura de la torre y de condensador. Terminado los procesos se realizará el pesado correspondiente.

Se tomaron en cuenta los siguientes datos para realizar el balance de materia y energía en el destilador durante el proceso:

**Tabla III- 15. Datos que se recolectaron durante el proceso en la torre**

<i>Datos</i>	<i>Unidades</i>
<i>Masa de residuos cargados a la torre</i>	g
<i>Masa de residuos cítricos al final de la extracción</i>	g
<i>Masa de agua no evaporada</i>	g
<i>Temperatura inicial del agua en la torre</i>	°C
<i>Temperatura del vapor en la torre</i>	°C
<i>Masa de agua en la torre</i>	g

Fuente: (Castillo, 2016) (Benítez, 2016) (Quecaña, 2013)

**Tabla III-16. Datos que se recolectaron durante el proceso en el condensador**

<i>Datos</i>	<i>Unidades</i>
<i>Masa de Agua condensada</i>	g
<i>Masa de aceite obtenido</i>	g
<i>Temperatura del condensador</i>	°C
<i>Temperatura de entrada del agua de refrigeración</i>	°C
<i>Temperatura de salida del agua de refrigeración</i>	°C
<i>Tiempo de acondicionamiento</i>	Min
<i>Tiempo de extracción</i>	Min
<i>Flujo masico de agua en refrigeración</i>	g/s

Fuente: (Castillo, 2016) (Benítez, 2016) (Quecaña, 2013)

### 3.4.1.3. PRIMER SECADO

Los residuos son llevados a secado a 105 °C (figura III-9) hasta peso constante, teniendo en cuenta la capacidad de la estufa SELECTA (fig. III-9, y anexo D) se agrupan en cantidades de 200 g peso en seco equivalentes a 282 g de peso como materia húmeda, que son el resultado de la destilación por arrastre de vapor, a lo largo del secado se pesó aproximadamente unas 6 veces, dando como resultado que la duración de secado sea de 6 horas (figura III-9), Tal como se describe en bibliografía.

Se realiza además la curva de secado para determinar el contenido de humedad con 6.50 g en equipo SECADOR INFRARROJO TERMOCONTROL-MA100H (anexo D).

**Figura III-9. Secado de la materia prima**



Fuente: Elaboración propia

### 3.4.1.4. Molienda y tamizado

Tal como menciona en bibliografía, se tritura los residuos de tal manera obtener polvo no tan fino el cual mediante granulometría poder determinar el diámetro promedio, para tal efecto se utilizó tamices de diferente tamaño. (Domínguez & Álvares, 2011) Se realizó el pesaje de los residuos al inicio y conclusión del proceso. Se sigue la nomenclatura para los tamices según la siguiente tabla:

**Tabla III-17. Nomenclatura las mallas según UNE y ASTM**

<i>Nomenclatura UNE (mm)</i>	<b>Nomenclatura ASTM</b>
1.00	N° 18
0.50	N° 35
0.25	N° 60
0.06	N° 230

Fuente (Diccionario de Geotécnica, 2019)

El equipo utilizado fue el Molino de Discos (figura III-10) por alrededor de 2 días para lograr que la totalidad de materia prima sea reducida en tamaño. Para el proceso se programó a 125 rpm por 15 min por cada 200 g de sustrato deshidratado con descanso de los equipos.

El tamizado (figura III-11) fue utilizado netamente para el control del diámetro promedio. Para esta prueba se utilizaron 500 gramos de Sustrato Molido.

En las siguientes figuras se puede observar el equipo y el procedimiento realizado. Los datos técnicos de los equipos utilizados se presentan en anexo D.

**Figura III- 10. Equipo y trituración de la materia Prima**

Fuente: Elaboración Propia

**Figura III- 11. Tamizado de la materia prima**



Fuente Elaboración Propia

#### **3.4.1.5. Pretratamiento alcalino (hidrólisis hidrotérmica alcalina)**

A 200 g de Sustrato Molido se añadió 2000 mL de hidróxido de sodio 0.10 N se adiciono además 4.08 g de sulfato de calcio el proceso se llevó en autoclave a 125°C 1.80 bar de presión por 15 min. Según bibliografía se menciona que el sulfato de calcio evita la degradación de la celulosa causada por el hidróxido de sodio; además las especificaciones para la hidrólisis hidrotérmica de cáscaras de naranja, situando como los que presentan mejor resultado. (Gerene B, 2013) (Lesly, 2010) (Boluda-Aguilar, Garcia-Vidal, & López-Gomez, 2010) (Marquez, 2017)

En la figura III-12 se muestra el equipo; que consiste en un autoclave al cual se añadió agua destilada tal cual indica el modo de uso del equipo, además de programado según las especificaciones y el envase con la muestra a ser tratada.

**Figura III-12. Preparación de la materia para la hidrólisis hidrotérmica y el equipo utilizado**



Fuente: Elaboración Propia

Al concluir el pretratamiento se observó un hinchamiento en la materia prima, y se constata el debilitamiento en la estructura de la biomasa y posteriormente se lavó con ácido cítrico hasta neutralidad como se observa en la figura III-13.

**Figura III- 13. Hinchamiento de la materia prima al finalizar el pretratamiento y lavado hasta neutralización.**



Fuente: Elaboración Propia

#### **3.4.1.6. Segundo secado**

Se colocó alrededor como muestra 200 g del sustrato pretratado a la estufa SELECTA a temperatura de 105 °C, por un tiempo de 5 horas con 25 minutos hasta peso constante,

se debe tener precaución para que el sustrato no se caramelize, verificando su peso y si existe partículas cristalizadas. Se realiza además la curva de secado para determinar el contenido de humedad con 6.50 g de muestra.

### **3.4.2. ETAPA 2: HIDRÓLISIS ÁCIDA**

Según el marco metodológico se ha decidido por el uso de ácido sulfúrico diluido, los cuales presentan mejor adaptación a los residuos de cítricos, además el tiempo se reduce. Aunque posee cierta desventaja a la presencia de inhibidores los cuales según literatura no representan una cantidad alta como para evitar la producción de etanol.

Según bibliografía; señalan las mejores condiciones que se resumen a continuación: 100 mL de ácido sulfúrico diluido, se agregan según las combinaciones del diseño experimental de 2.50 g y 3.00 g de sustrato (autores difieren en cuanto a la cantidad), de los cuales se observó un buen rendimiento, por tanto, se decidió elegir dicho procedimiento para un volumen de 250 mL. Se tomó en cuenta el rango de temperatura entre 85 y 90 °C por el tiempo de 6 horas y se cubrió el vaso con vidrio reloj que contenía agua fría, y la cual se cambió cada 10 min, permitiendo la condensación del vapor evitando la pérdida de líquido. ; (Alban, 2009), (Boluda-Aguilar, Garcia-Vidal, & López-Gomez, 2010), (Gerene B, 2013), (Andrade, 2018), (Orozco, 2011), (Cortez, 2013).

Para tener un control en cuanto al avance de la reacción, se tomaron 2 mL de líquido cada media hora completando así 12 muestreos con la ayuda de un gotero de plástico, como se observa en la siguiente figura.

**Figura III-14. Matraz Erlenmeyer con muestra en el equipo de agitación magnética**



Fuente Elaboración Propia

#### **3.4.2.1. Determinación del volumen de dilución**

Este paso es importante para poder determinar la densidad de la solución y con ello el rendimiento experimental, utilizando el procedimiento descrito por Andrade Castro el cual detalla de la siguiente manera para los 8 experimentos:

Se utiliza una probeta de 300 mL, a la cual se agrega 100 mL de ácido sulfúrico diluido según las concentraciones a la cual se aplican en cada experimento, posteriormente se agrega la cantidad de sustrato usado (2.50 y 3.00 g) y se leyó de manera directa el volumen final, para observar directamente el cambio en el volumen usado de ácido según el punto 3.4.2. más el sustrato pretratado como se puede observar en la figura III-15.

**Figura III-15. Medición del Volumen de Dilución**



Fuente: Elaboración Propia

### 3.4.2.2. Determinación de la densidad

Se determinó el peso de los 100 mL de ácido sulfúrico y posteriormente se añadió 2.50 y 3.00 g de sustrato (figura III-16). Para obtener la densidad se dividió la masa con el volumen de dilución calculada previamente, repitiendo el procedimiento para los 8 experimentos y sus réplicas.

**Figura III-16. Medida de Densidad de la dilución**



Fuente: Elaboración propia

### 3.4.2.3. Filtrado

Al finalizar los tratamientos se filtró cada muestra para llevar al laboratorio y realizar su correspondiente análisis de azúcares reductores. El procedimiento es distinto, pues la muestra era tan viscosa que el equipo de filtración al vacío no funcionó correctamente, por tanto, se recurrió al uso de un liencillo fino, aunque tardo mucho más tiempo, pero fue más eficaz.

**Figura III-17. Filtración con liencillo**



Fuente: Elaboración Propia

#### 3.4.2.4. Cinética de hidrólisis ácida

Para su cálculo fue necesario conocer la cantidad de sustrato inicial, la cantidad de ácido y como respuesta la cantidad de azúcares reductores que poseen las muestras por tanto se dispuso la optimización de la etapa de hidrólisis, tomando el mejor experimento. Se llevó a cabo un experimento con un volumen de 1.2 L. (figura III-18) de los cuales 1 litro fue realizado en matraz Erlenmeyer y 200 mL en vaso de precipitado a la cual se aplicaron las condiciones que más rendimiento obtuvo. Tomando muestras alrededor de cada hora y llevando 200 mL para los respectivos análisis al CEANID.

**Figura III- 18. Cinética de hidrólisis ácida**



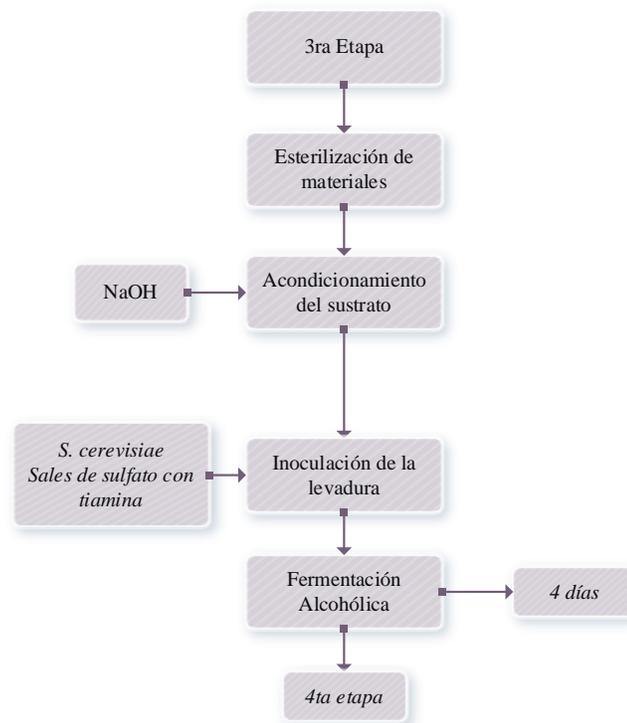
Fuente: Elaboración Propia

#### 3.4.3. ETAPA 3: FERMENTACIÓN

En esta etapa se toma en cuenta las especificaciones del fabricante de la levadura, los valores que son ideales son de 4.50 y 5.00 de pH a temperatura de 37°C.

Para especificar de mejor manera el procedimiento se realizó un diagrama de flujo detallado en la siguiente figura:

**Figura III-19. Diagrama de flujo del Proceso de Fermentación.**



Fuente: Elaboración Propia

A continuación, se describirá el proceso realizado para cada etapa de la fermentación, en base a los trabajos presentes en la bibliografía.

#### **3.4.4. Esterilización de materiales**

La esterilización de los materiales de vidrio y metálicos se llevó a cabo en autoclave (figura III-20) de la siguiente manera: en primer lugar, se añade agua destilada a temperatura ambiente cubriendo la resistencia del equipo, se colocan los materiales, se cierra el equipo y se programa el equipo a 121 °C y una Presión de 1.50 bar. Durante 15 min. (Andrade, 2018) (Huayta, 2016).

**Figura III-20. Proceso de esterilización**



Fuente: Elaboración propia

#### **3.4.5. Acondicionamiento del mosto**

El pH inicial del mosto a fermentar es ácido, según bibliografía mencionan entre 1 a 3 de pH, por tanto, requiere un ajuste. Se utilizó NaOH para cada sustrato hidrolizado. Se verifica: el pH inicial y la cantidad de NaOH utilizada; los cuales fueron contabilizados en una tabla en el siguiente capítulo. El objetivo de este procedimiento es liberar de sustancias tóxicas como es el azufre y corregir mediante un ajuste de pH al requerido para iniciar la fermentación que es entre aproximadamente 4.50 y 5.00. En la figura a continuación se muestra la neutralización:

**Figura III-21. Neutralización del producto hidrolizado**



Fuente: Elaboración propia

### 3.4.6. Inoculación de la levadura

Para lograr activar la levadura del tipo cervecera *Saccharomyces Cerevisiae* se siguen los pasos descrita por el proveedor:

Se lleva 250 mL de sustrato hasta ebullición (93°C) para lograr eliminar microorganismos que puedan afectar al progreso de la levadura, llevar el sustrato a enfría hasta alcanzar la temperatura de 37 °C. al tener el compuesto a dicha temperatura se adiciona las sales de fosfato con tiamina alrededor de 0.40 g por litro, para al final agregar la levadura según el diseño experimental.

Se observa en la figura III-22 el crecimiento con la formación de espuma y a los 30 min se adiciona al sustrato a fermentar.

**Figura III-22. Inoculación de levadura y crecimiento**



Fuente: Elaboración Propia

### 3.4.7. Fermentación alcohólica

La fermentación se realizó en un termostato a temperatura de 37°C en recipientes de plásticos de 1.50 litros previamente esterilizados que contaban con una salida de gases hacia una botella con agua para el escape del CO<sub>2</sub>.

Al llegar a este punto, el mosto se encuentra ajustado en cuanto al pH según el diseño experimental, por tanto, se adiciona la levadura y se colocó en termostato por alrededor de 3 días, tiempo mínimo para la fermentación y cada día se incorporó 1.50 g de

nutrientes. (Andrade, 2018) (Huayta, 2016) (Boluda-Aguilar, Garcia-Vidal, & López-Gomez, 2010).

Se realizo el control del avance por medio del descenso de los Grados Brix. En la siguiente imagen se aprecia el envase con el mosto a fermentar.

**Figura III- 23. Mosto (Sustrato hidrolizado) a fermentar**



Fuente: Elaboración Propia

De la misma manera en la figura III- 24 se aprecia a los envases dentro del termostato empezando el proceso de fermentación.

**Figura III-24. Equipo: Termostato y los experimentos realizados**



Fuente: Elaboración Propia

### 3.5. ETAPA 4: DESTILACIÓN

Esta es la última etapa, en esta realizamos la separación por destilación simple del etanol obtenido en todo el proceso, se realizó en un rotavapor que contiene una bomba la vacío, llevando 600 mL del fermentado por un tiempo de 3 horas.

Para medir la concentración de etanol en grados Gay-Lussac. Y al final se controló la cantidad de destilado obtenido el cual se detalla en el capítulo siguiente comprobar la cantidad de alcohol obtenido. El equipo utilizado fue el ROTAVAPOR (figura 25) del cual sus características se encuentran en el anexo D.

**Figura III-25. Equipo de destilación rotavapor**



Fuente: Elaboración propia

**CAPÍTULO IV**  
**ANÁLISIS DE RESULTADOS**

#### 4.1. RESULTADOS OBTENIDOS DE LOS ANÁLISIS DE MATERIA PRIMA

Se realizó determinación de humedad, cenizas, proteína, grasa, carbohidratos y fibra total, para lo cual se envió 550 g de muestras de residuos cítricos posterior a la extracción de aceite esencial al Centro de Análisis Investigación y Desarrollo CEANID.

Este análisis es necesario para la determinación del calor específico de las cáscaras de naranja y necesarios para el balance de energía en la destilación por arrastre de vapor.

Se resume en un cuadro los resultados obtenidos y en anexo se encontrarán el documento avalado de los análisis:

**Tabla IV-1. Resultado análisis fisicoquímicos de la Materia Prima**

Análisis	Técnica y/o método de ensayo	Porcentaje
<b>Ceniza</b>	NB 39934:10	1.11
<b>Fibra</b>	Gravimétrico	3.90
<b>Grasa</b>	NB 313019:06	0.31
<b>Hidratos de Carbono</b>	Calculo	22.75
<b>Proteína</b>	NB/ISO 8968-1:08	2.56
<b>Humedad</b>	NB 38027-06	82.37

Fuente: Elaboración Propia

#### 4.2. DETERMINACIÓN DE HOLOCELULOSA

La holocelulosa es el término que se utiliza para referirse al total de los carbohidratos, celulosa y hemicelulosas. La muestra debe estar libre de extractos (aceites esenciales) por lo que se debe seguir el procedimiento descrito en la norma ASTM 1105-96 y presentada en el anexo 1.

El resultado se expresa como porcentaje respecto al peso inicial en base seca, en este caso cáscaras de cítricos. (Vazquez, 2015). Este análisis es meramente comparativo para tener en cierta manera de caracterizar la materia prima que se tiene al inicio del

trabajo, lo cual ya sea por pandemia o la imposibilidad de los laboratorios es difícil en el País.

Se muestra en la figura IV-1 el resultado final del proceso de determinación.

**Figura IV-1. Muestra al finalizar el secado**



Fuente: Elaboración Propia

El proceso fue realizado por triplicado, siendo las pruebas mínimas según bibliografía. (Vazquez, 2015). Arrojando los siguientes datos para cada experimento:

**Tabla IV-2. resultados de la determinación de holocelulosa**

<i>Peso inicial</i>	<b>Peso del papel filtro</b>	<b>Peso del papel aluminio</b>	<b>Peso total de la muestra</b>	<b>Peso final: Holocelulosa</b>
2.05	0.64	0.91	2.36	0.81
2.04	0.63	0.83	2.30	0.83
2.00	0.64	0.90	2.29	0.74

Fuente: Elaboración Propia

Se determinó el porcentaje de holocelulosa, siendo el peso final y el porcentaje se define por la siguiente fórmula:

**Ecuación IV- 1. Formula del porcentaje de holocelulosa**

$$\text{Holocelulosa(\%)} = \frac{\text{Peso de holocelulosa}}{\text{Peso seco de la muestra inicial}} * 100$$

**Tabla IV-3. Resultados de la determinación de holocelulosa (%)**

<i>Prueba</i>	<b>Resultado %</b>
<i>1</i>	39.59
<i>2</i>	40.79
<i>3</i>	37.39
<i>Promedio</i>	39.26

Fuente: Elaboración Propia

Los valores son menores a los descritos por Marquez, pues en el mismo no contempla la eliminación de la lignina por el método de arrastre de vapor que indica Vázquez para una buena cuantificación de la cantidad de holocelulosa.

#### **4.3. RESULTADOS EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL, DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR**

La cantidad obtenida por cada destilación de 360 g de residuos cítricos y la cantidad de aceite esencial fue de 3.30 mL que con la densidad del aceite esencial ( $\rho = 0,84$ ) este tiene un valor de 2.77 g, el proceso de obtención se detalla a continuación en el siguiente balance de materia y energía:

**Tabla IV- 4. Datos para el Balance en la torre de Destilación**

<i>Masa de agua en la torre</i>	<b>6000 g</b>
<i>Masa de residuos cargados a la torre</i>	600 g
<i>Masa de residuos cítricos al final de la extracción</i>	782 g
<i>Masa de agua no evaporada</i>	3548 g
<i>Temperatura inicial del agua en la torre</i>	16°C
<i>Temperatura del vapor en la torre</i>	93°C

Fuente: Elaboración Propia

**Tabla IV-5. Datos para balance de materia y energía en el condensador**

<i>Flujo másico de agua en refrigeración</i>	<b>75.7 mL/s</b>
<i>Masa de Agua condensada</i>	2270 g
<i>Masa de aceite obtenido</i>	2.77 g
<i>Temperatura del condensador</i>	37°C
<i>Temperatura de entrada del agua de refrigeración</i>	16°C
<i>Temperatura de salida del agua de refrigeración</i>	18°C
<i>Tiempo de acondicionamiento</i>	37 min
<i>Tiempo de extracción</i>	150 min

Fuente: Elaboración Propia

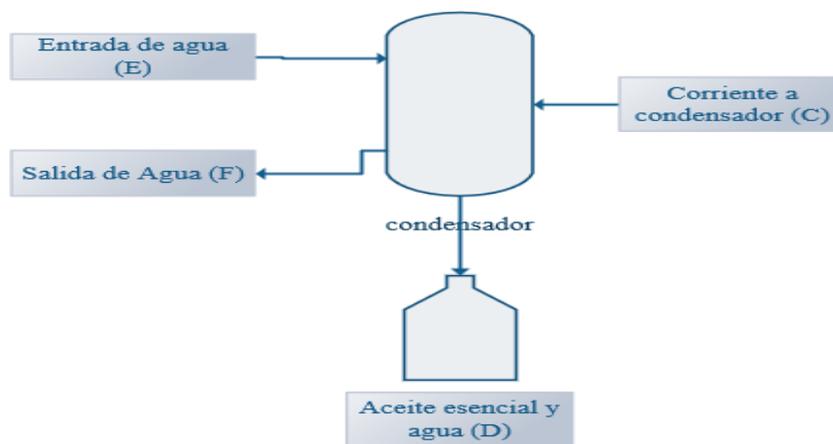
#### 4.3.1. Balance de materia

El flujo de agua de refrigeración fue de 75.7 mL/s.

##### - balance de materia en el condensador:

Para una mejor comprensión del equipo y para el elaborar los balances se presenta la figura IV-2.

**Figura IV-2. Diagrama de flujo en el condensador**



Fuente: Elaboración Propia

Para calcular la masa de agua de refrigeración usado en todo el proceso de extracción:

**Ecuación IV-2. volumen a partir del caudal**

$$v=Q*t=75.7 \frac{\text{mL}}{\text{s}} * 9000 \text{ s}$$

$$v=681300 \text{ mL}$$

Densidad del agua 1 g/mL, por tanto:

**Ecuación IV-3. Cálculo de la masa por la densidad**

$$m=\rho*v=681300\text{mL}*1 \text{ g/mL}$$

$$v=681300 \text{ g}$$

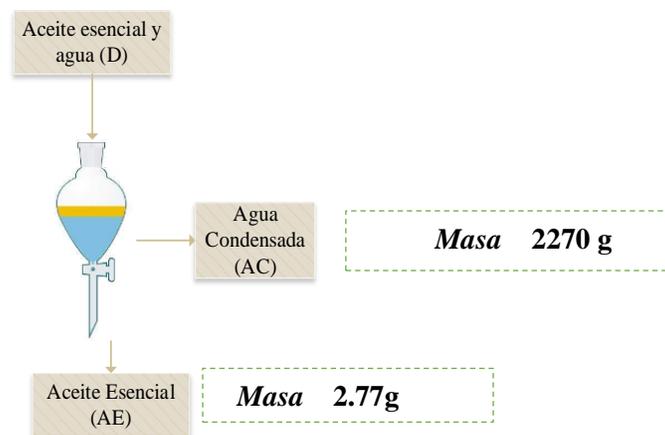
No hay pérdidas pues el agua que entra es igual al que sale del condensador:

**Ecuación IV-4. Balance de materia entrada y salida del agua de refrigeración**

$$E=F=681300 \text{ gr}$$

Para el flujo de condensado y agua condensada se tiene el siguiente balance

**Figura IV-3. Diagrama balance de materia en el matraz**



Fuente Elaboración Propia

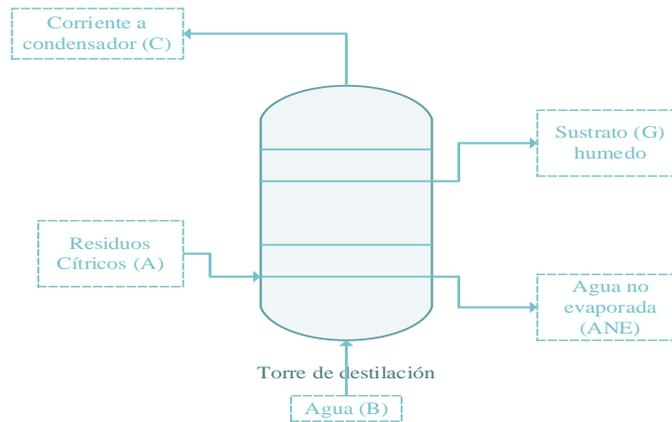
**Ecuación IV-5. Balance general en el matraz**

$$D=AE+AC$$

$$D= 2.77g + 2270g =2272.77 g$$

- **Balanza de materia en la Torre de destilación**

**Figura IV-4. Diagrama para el Balance de materia en la torre**



Fuente: elaboración propia

Datos

$$A=600g$$

$$B=6000L=6000 g$$

$$\text{Agua no evaporada (ANE)}=3548 g$$

$$G=782g$$

Siendo C la mezcla de vapores que sale de la torre hacia el condensador y que se evaporan totalmente

**Ecuación IV-6. Cantidad de vapores al condensador**

$$C = D = 2272.77 g$$

La masa de agua residual será la resta entre la masa de residuos que contiene agua y la masa de materia prima cargada en la torre.

**Ecuación IV-7. Cálculo de la masa de agua residual**

$$M_{\text{Residual}} = G - A = 782 \text{ g} - 600 \text{ g}$$

$$M_{\text{Residual}} = 182 \text{ g}$$

Se procede al cálculo de la masa de agua que queda en la torre, este es la suma del agua no evaporada E y la masa de agua residual

**Ecuación IV-8. Cálculo de la masa total de agua que queda en la torre**

$$M_{\text{Masa total de agua en la torre}} = A + E + M_{\text{Masa Residual}} = 3548 \text{ g} - 182 \text{ g}$$

$$M_{\text{Masa total de agua en la torre}} = 3730 \text{ g}$$

El cálculo del vapor generado en la torre es representado como la suma de la masa de agua condensada más la masa de agua que queda en los residuos

Datos:

$$D = 2272.77 \text{ g}$$

$$M_{\text{Residual}} = 182 \text{ g}$$

**Ecuación IV-9. Cálculo del vapor generado en la torre**

$$M_{\text{Vapor Gen.}} = D + M_{\text{Residual}} = 2272.77 + 182$$

$$M_{\text{Vapor Gen.}} = 2454.77 \text{ g}$$

El flujo másico de vapor generado es calculado dividiendo la masa de vapor generado entre el tiempo de extracción.

**Ecuación IV-10. Fórmula para el Cálculo del flujo masico**

$$F_v = \frac{M_{\text{Vapor Gen.}}}{\text{tiempo de extracción}} = \frac{2454.77 \text{ gr}}{9000 \text{ s}} = 0.27 \text{ g/s}$$

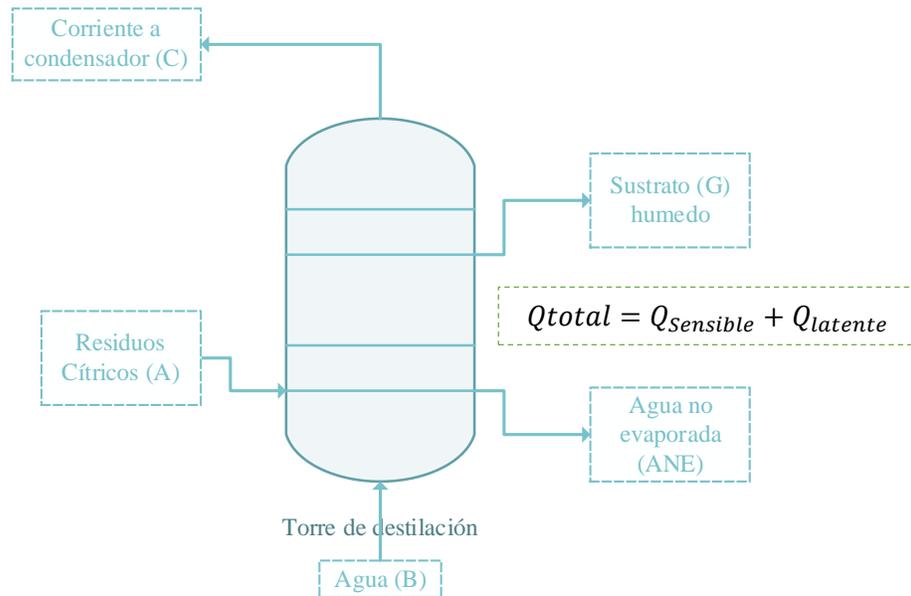
**4.3.2. Balance de energía destilación por arrastre de vapor**

De la misma manera, se dividió en dos partes:

- **Balance de energía en la torre**

Para poder interpretar se realizó la siguiente figura:

**Figura IV-5. Diagrama para el balance de energía en la torre**



**a) Cálculo del Calor Sensible**

El calor sensible es la energía térmica suministrada a un objeto haciendo que aumente su temperatura en 1°C.

Datos:

$$C_p = 1 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}^\circ\text{C}}$$

$$T_o = 16^\circ\text{C}$$

$$T_{\text{Ebu. torre}} = 93^\circ\text{C}$$

**Ecuación IV- 11. Fórmula y cálculo del Calor Sensible**

$$Q_{\text{Sensible}} = m_{\text{agua}} * C_p * \Delta T$$

$$Q_{\text{Sensible}} = 6\text{kg} * 1 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}^\circ\text{C}} * (93-16)^\circ\text{C} = 462\text{Kcal}$$

### b) Cálculo del Calor Latente:

En el que la energía térmica no aumenta la temperatura, sino que promueve un cambio de fase, por ejemplo, de líquido a vapor como en este proyecto.

Para realizar el cálculo se necesita la potencia de la hornalla. Por tanto, el tiempo en la etapa de acondicionamiento, es decir el tiempo entre el encendido de la hornalla y la presencia de la primera burbuja.

$$t_{\text{Acondicionamiento}} = 0.62 \text{ h}$$

### Ecuación IV-12. Fórmula para el Cálculo de la potencia de la hornalla

$$P = \frac{Q_{\text{sensible}}}{t_{\text{acondicionamiento}}}$$

$$P = \frac{462\text{Kcal}}{0.62\text{h}} = 750 \text{ kcal/h}$$

La multiplicación entre la potencia de la hornalla y el tiempo, será el calor latente de la primera extracción

### Ecuación IV-13. Cálculo del Calor Latente

$$Q_{\text{Latente}} = P * t_{\text{extraccion}}$$

$$Q_{\text{Latente}} = 750 \frac{\text{kcal}}{\text{h}} * 2.50 \text{ h} = 1875 \text{ kcal}$$

Por tanto, se realiza el cálculo del calor total en la torre para la primera extracción

### Ecuación IV-14. Cálculo del calor total

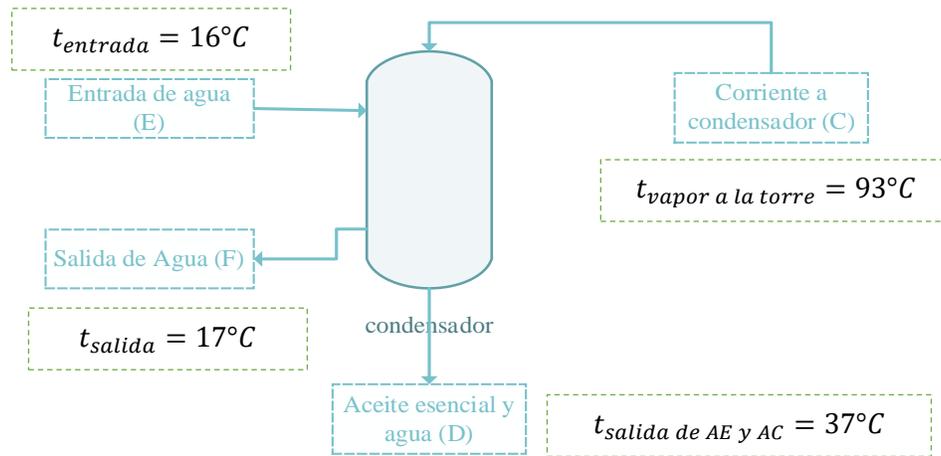
$$Q_{\text{total}} = Q_{\text{Sensible}} + Q_{\text{Latente}}$$

$$Q_{\text{total}} = 462 \text{ kcal} + 1875 \text{ kcal} = 2337 \text{ kcal}$$

- **Balance de energía en el condensador**

Se dividirá en el calor de vaporización y el calor cedido por el vapor de agua para el cambio de fase dentro del condensador:

**Figura IV-6. Diagrama de flujo para el cálculo del balance de energía en el condensador**



Fuente Elaboración Propia

**a) Calor de Vaporización**

Se utiliza el calor latente y la masa de vapor generado.

**Ecuación IV-15. Cálculo del Calor de vaporización, Lambda de vaporización**

$$\lambda_{\text{vaporización}} = \frac{Q_{\text{latente}}}{M_{\text{Vapor generado}}}$$

$$\lambda_{\text{vaporización}} = \frac{2337 \text{ kcal}}{2.45 \text{ kg}} = 952.02 \text{ kcal/kg}$$

**b) Calor cedido por el vapor de agua:**

Para este cálculo utilizamos la masa de agua que resulta de la decantación de la corriente D.

Datos

Agua condensada=2270g=2,27kg

$t_{\text{Condensación}}=37^{\circ}\text{C}$

$t_{\text{Ebullición}}=93^{\circ}\text{C}$

**Ecuación IV-16. Formulación del calor cedido por el vapor de agua**

$$Q_{\text{cedido}} = Q_{\text{latente}} + Q_{\text{sensible}}$$

$$Q_{\text{cedido}} = m_{\text{vapor de agua}} * \lambda_{\text{vaporización}} + m_{\text{vapor de agua}} * C_p * \Delta T$$

$$Q_{\text{cedido}} = 2.27\text{kg} * 949.88 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}} + 2.27 \text{ kg} * \frac{1\text{kcal}}{\text{kg}^{\circ}\text{C}} * (37-93)^{\circ}\text{C}$$

$$Q_{\text{cedido}} = 2029.12\text{kcal}$$

**c) Calor recibido o calor ganado**

Es necesario el uso de los siguientes datos, entre estos esta la corriente F de salida de agua al condensador:

Datos

$F=681300 \text{ g}$

$t_{\text{entrada}}=16^{\circ}\text{C}$

$t_{\text{salida}}=17^{\circ}\text{C}$

No existe cambio de fase, por tanto, es calor sensible el que se da en esta etapa:

**Ecuación IV-17. Cálculo del calor recibido**

$$Q_{\text{recibido}} = F * C_p * \Delta T$$

$$Q_{\text{recibido}} = 681.30\text{kg} * 1 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}^{\circ}\text{C}} * (18-16)^{\circ}\text{C}$$

$$Q_{\text{recibido}} = 1362.60 \text{ kcal}$$

En base a la ecuación 14 el calor total en el condensador:

$$Q_{\text{total}} = Q_{\text{Sensible}} + Q_{\text{Latente}}$$

$$Q_{\text{total}} = 2029.12 \text{ kcal} + 1362.60 \text{ kcal} = 3391.72 \text{ kcal}$$

#### d) Cálculo del consumo de combustible

Para el cálculo del consumo de energía en la extracción, es necesario conocer el poder calorífico del gas natural, el tiempo de extracción sumado el tiempo de acondicionamiento y la potencia de la hornalla

Como dato se tiene que el poder calorífico de gas natural boliviano es de 10188.81 kcal/m<sup>3</sup> (YPFB, 2015).

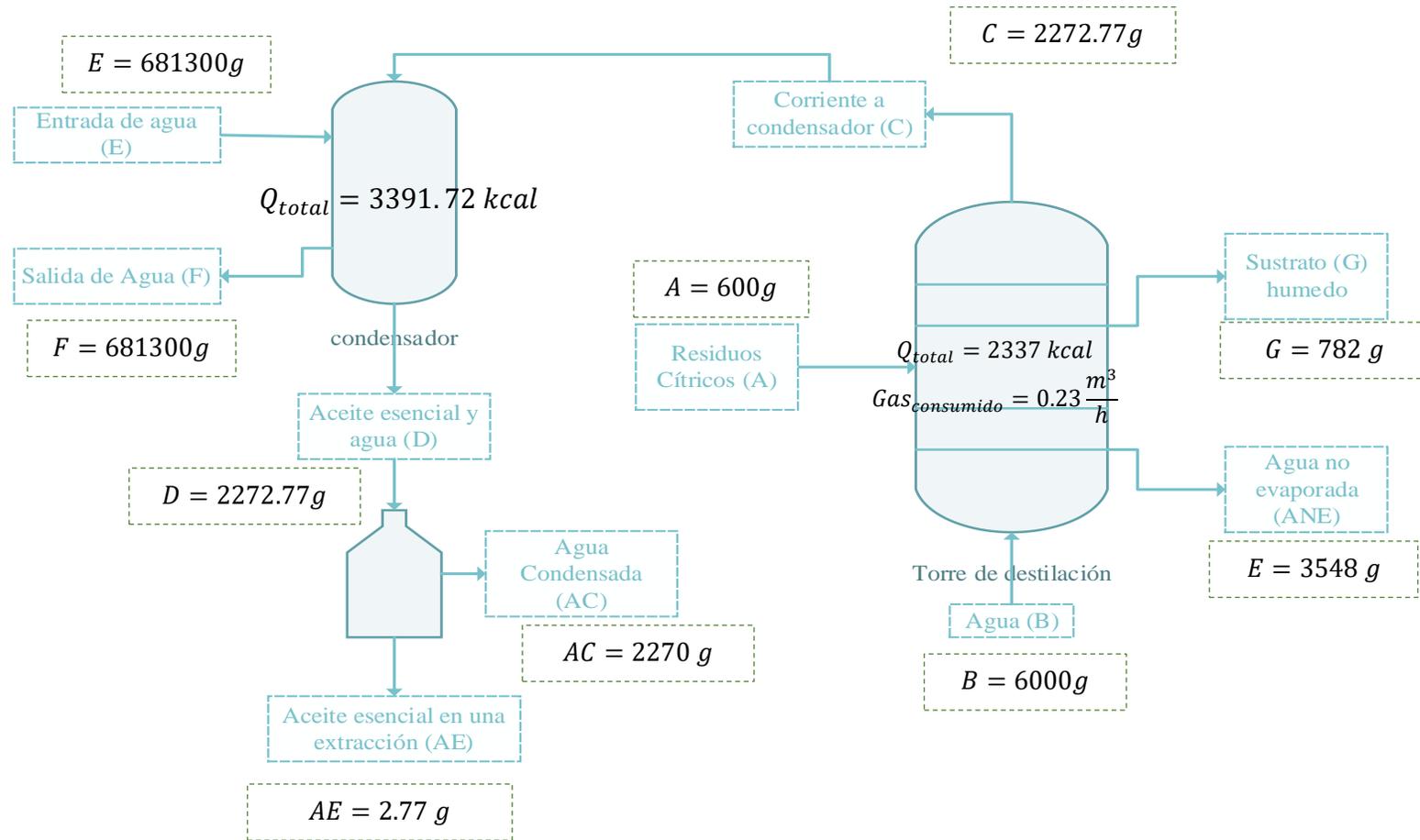
#### Ecuación IV-18. Cálculo del consumo de Combustible (Gas natural)

$$\text{Gas}_{\text{consumido}} = \frac{P * t_{\text{total de extracción}}}{\text{Poder Calorífico Gas Natural}}$$

$$\text{Gas}_{\text{consumido}} = \frac{750 \frac{\text{kcal}}{\text{h}} * 3.12 \text{ h}}{10188.81 \text{ kcal/m}^3}$$

$$\text{Gas}_{\text{consumido}} = 0.23 \frac{\text{m}^3}{\text{h}}$$

Figura III-7. Diagrama de flujo y balance de materia y energía en la destilación por arrastre de vapor



Fuente Elaboración propia

#### 4.4. RESULTADOS DEL PRIMER SECADO

Se determina la curva de secado del sustrato húmedo obtenido de la destilación por arrastre de vapor, el balance de materia y energía, así como también la curva de secado se presentan a continuación:

##### 4.4.1. Balance de materia

Como la estufa es más grande se decidió colocar una bandeja con el peso completo de los 200 gramos pretratados, esto corresponde al peso de 1094 g. Se parte del 282 g de muestra seleccionada de la primera bandeja de la destilación por arrastre:

Datos

Sustrato húmedo:  $A=282.03\text{g}$

Sustrato deshidratado:  $B=93.65\text{ g}$

agua de salida  $C=?$

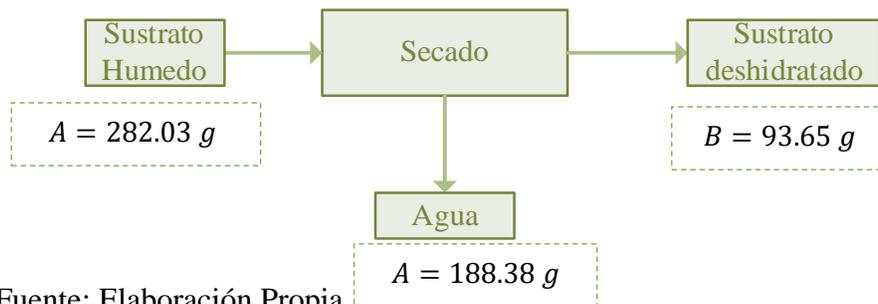
#### Ecuación IV-19. Balance General del secado y Cálculo de la Corriente de agua en la salida

$$A=B+C$$

$$C=A-B$$

$$C=282.03\text{g}-93.65\text{g}=188.38\text{g}$$

**Figura IV- 8. Diagrama de flujo: Proceso de secado**



#### 4.4.2. Balance de energía

En esta fase existe calor latente pues se da lo que es un cambio de fase del agua presente en el sustrato húmedo. Y como se presenta aumento de temperatura por tanto también existirá calor sensible.

#### Ecuación IV- 20. Balance general en el secado

$$Q_{\text{total}} = Q_{\text{Sensible}} + Q_{\text{Latente}}$$

Datos

Sustrato húmedo (A)=282.03 g

Masa de agua evaporada (C)=188.38 g

$T_{\text{inicial}}=70\text{ }^{\circ}\text{C}$

$T_{\text{final}}=105\text{ }^{\circ}\text{C}$

##### a) Cálculo del Calor sensible:

El Calor específico se calcula con la ecuación presentada por Orrego (2003); elaborado por Choi y Oikos (1983)

#### Ecuación IV-21. Fórmula según Choi y Oikos para el calor específico:

$$C_p = 4,180a + 1,711p + 1,928g + 1,547c + 0,908\zeta$$

Donde:

- a* Fracción másica del agua
- p* Fracción másica de la proteína
- g* Fracción másica de la grasa
- c* Fracción másica de los carbohidratos
- $\zeta$  Fracción másica de las cenizas

Fuente: (Orrego, 2003)

Para este cálculo utilizamos los datos de la tabla IV-1.

$$C_p = 4.180 * 0.8237 + 1.711 * 0.0256 + 1.928 * 0.0031 + 1.547 * 0.2275 + 0.908 * 0.0111$$

$$C_p = 3.85 \frac{\text{J}}{\text{Kg}^\circ\text{C}}$$

$$C_p = 9.21\text{E-}4 \frac{\text{kcal}}{\text{Kg}^\circ\text{C}}$$

#### **Ecuación IV-22. Cálculo del calor sensible**

$$Q_{\text{Sensible}} = A * C_p_{\text{Cáscara-Cítricos}} * \Delta T + C * C_p_{\text{agua}} * \Delta T$$

$$Q_{\text{Sensible}} = 0.28\text{kg} * 9.21\text{E-}4 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}^\circ\text{C}} * (105-70) + 0.18\text{kg} * 1 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}^\circ\text{C}} * (105-70)$$

$$Q_{\text{Sensible}} = 6.59 \text{ kcal}$$

#### **b) Cálculo del calor latente**

Para el cálculo del calor latente de vaporización en esta etapa, se debe considerar la presión atmosférica en el departamento de Tarija dicho valor es aproximadamente de 610.05 mmhg o su equivalente de 0.813 bar.

Partiendo con estos datos se ingresa a tablas del libro Mc Cabe W. L., Smith J. C. (1998) que dan como resultado:

$$\lambda_{\text{agua}} = 542.74 \text{ kcal/kg}$$

#### **Ecuación IV-23. Cálculo del calor Latente**

$$Q_{\text{Latente}} = m_{\text{agua}} * \lambda_{\text{agua}}$$

$$Q_{\text{Latente}} = 0.18\text{Kg} * 542.74 \text{ kcal/kg}$$

$$Q_{\text{Latente}} = 102.19 \text{ Kcal}$$

#### **Ecuación IV-24. Cálculo del calor total**

$$Q_{\text{total}} = 6.59 \text{ kcal} + 102.19\text{kcal}$$

$$Q_{\text{total}} = 108.79 \text{ kcal}$$

**c) Consumo de Energía:**

Se presenta la ecuación para el cálculo de la energía consumida

**Ecuación IV-25. Energía eléctrica**

$$E = P * t$$

Donde:

E: energía eléctrica (W)

I: intensidad de la corriente (A)

V: diferencia de potencial (V)

*Tiempo de uso del equipo = 6 horas*

*potencia del equipo SELECTA = 2 Kw*

*Factor de uso = 0.90*

$$E_{\text{estufa}} = P * t_{\text{op estufa}}$$

$$E_{\text{estufa}} = 2 \text{ Kw} * 6 \text{ h} * 0.90 = 9 \text{ Kwh}$$

**4.4.3. Curva de secado**

Se utilizó para tener datos más aproximados el equipo infrarrojo para medir la cantidad de humedad presente a base de 6.50 gramos a temperatura de 105°C para luego llevar lo demás de la materia prima al horno. Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

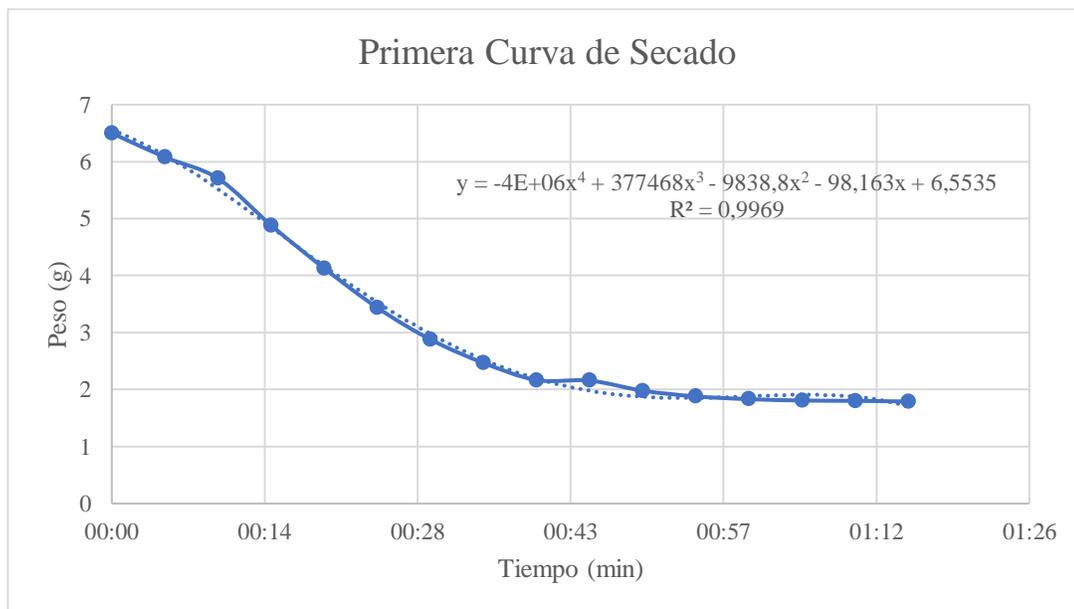
**Tabla IV- 6. Datos del secado para la curva**

Tiempo (min)	Peso (g)	Agua evaporada	% de agua evaporada
00:00	6.50	0.00	0.00
00:05	6.07	0.42	6.49

00:10	5.70	0.79	12.24
00:15	4.88	1.61	24.89
00:20	4.12	2.37	36.48
00:25	3.43	3.06	47.13
00:30	2.88	3.62	55.70
00:35	2.46	4.03	62.03
00:40	2.16	4.33	66.67
00:45	2.15	4.34	66.81
00:50	1.97	4.52	69.55
00:55	1.88	4.62	71.08
01:00	1.83	4.66	71.82
01:05	1.80	4.69	72.19
01:10	1.80	4.69	72.28
01:15	1.79	4.71	72.46

Fuente: Elaboración Propia

**Figura IV-9 Curva de Secado Tiempo (min) vs Peso (g)**



Fuente: Elaboración Propia

La ecuación que modela el secado del sustrato húmedo es la siguiente, realizado en el programa EXCEL:

**Ecuación IV-26. Modelo de la curva de secado y el valor de  $R^2$**

$$y = -4E+06x^4 + 377468x^3 - 9838.80x^2 - 98.16x + 6.55$$

$$R^2 = 0.99$$

Fuente: Elaboración propia

Por tanto, la humedad a la que se encuentra después del pretratamiento fue de 72.46% mencionando además que el peso se debe a la separación del aceite esencial (D-Limoneno). la velocidad de secado máxima de secado alcanzado fue de 65.80mg/seg.

**4.5. RESULTADOS EN LA MOLIENDA**

En esta etapa las pérdidas son pequeña, por tanto, el enfoque va en la determinación de diámetro medio utilizando el tamizado.

**4.5.1. Balance de materia**

**a) Balance en el molino de discos**

Se puede observar en los datos recolectados:

$$\text{Sustrato Deshidratado (SD)}=500 \text{ g}$$

$$\text{Sustrato molido}=(\text{SM})=492 \text{ g}$$

$$\text{Pérdidas}=(\text{P})=?$$

Cálculo de las pérdidas:

**Ecuación IV-27. Balance Generar Molienda Calculo de las perdidas**

$$\text{SD}=\text{P}+\text{SM}$$

$$\text{P}=\text{SD}-\text{SM}=500\text{g}-492\text{g}=8 \text{ g}$$

**b) Balance en el Tamiz**

$$\text{Sustrato molido}=(SM)=500 \text{ g}$$

$$\text{Sustrato Tamizado}=(ST)=493 \text{ g}$$

$$\text{Perdidas}=(PER)=\text{¿?g}$$

**Ecuación IV-28. Balance General Tamizado**

$$SM=PER+ST$$

**Ecuación IV-29. Cálculo de las pérdidas**

$$PER=SM-ST=500\text{g}-493\text{g}=7\text{g}$$

**4.5.2. Balance de energía**

En este cálculo no hay gasto o ganancia de calor por tanto se hace el cálculo del consumo de energía por el uso del equipo. Este proceso se llevó a cabo en 2 horas para los 500 g que se tomó como base para el control.

Para el balance de energía en el tamizado, se tomó en cuenta los 15 min de uso del equipo y la potencia de cada equipo.

**Tabla IV-7. Condiciones de uso de los equipos: Molienda y Tamizado**

<i>Equipo</i>	<b>Potencia (P)</b>	<b>Tiempo de Uso (t)</b>
<i>Molino de Discos</i>	1 KW	2 h
<i>Tamiz Vibratorio</i>	0.92 KW	0.25 h

Fuente: Elaboración Propia

En base a la Ecuación IV-25 encontramos el consumo de los equipos. En Resumen:

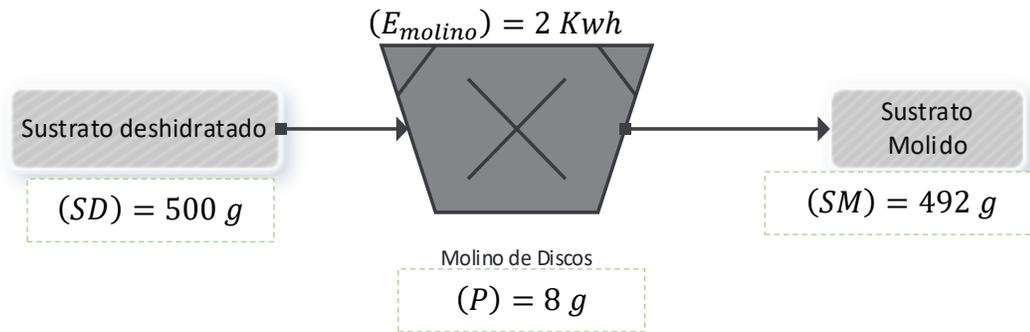
$$E_{\text{Molino}}=P_{\text{Molino}}*t_{\text{Uso Molino}}$$

$$E_{\text{molino}}=1 \text{ Kw}*2\text{h}= 2 \text{ Kwh}$$

$$E_{\text{tamizador}}=P_{\text{tamizador}}*t_{\text{Op tamizado}}$$

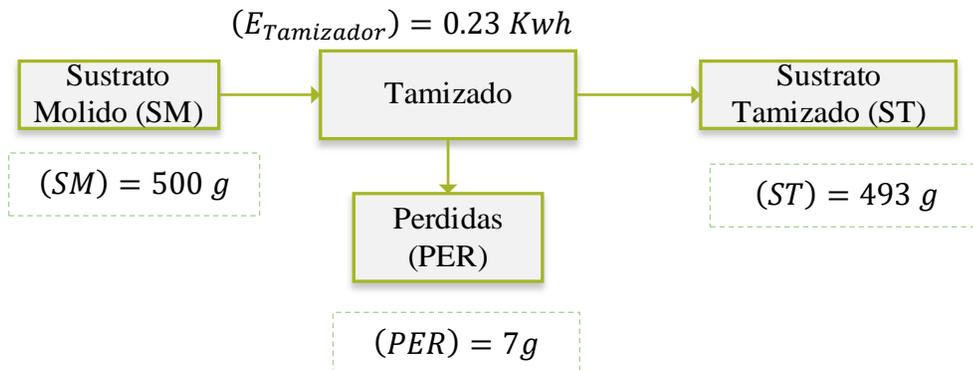
$$E_{\text{tamizador}} = 0.92 \text{ Kw} * 0.25 \text{ h} = 0.23 \text{ Kwh}$$

**Figura IV-10. Diagrama de flujo de proceso: Molienda**



Fuente: Elaboración Propia

**Figura IV-11. Diagrama de flujo de proceso: Tamizado**



Fuente: Elaboración Propia

#### 4.5.3. Análisis granulométrico

Tras la molienda se realizó un tamizado, con el uso de un tamiz vibratorio. Esto para poder determinar el diámetro al cual se logró reducir el sustrato deshidratado.

Como dato tenemos la siguiente nomenclatura de las mallas que se utilizó en el laboratorio.

**Tabla IV-8. Nomenclatura las mallas según UNE y ASTM**

<i>Nomenclatura UNE (mm)</i>	<i>Nomenclatura ASTM</i>
1.00	N° 18
0.50	N° 35
0.25	N° 60
0.06	N° 230

Fuente: (Diccionario de Geotécnica, 2019)

Se realiza el análisis de % de retención y el porcentaje de materia por cada malla utilizada.

**Ecuación IV-30. Fórmula Porcentaje de retención**

$$\% \text{ Retención} = \frac{\text{Masa Retenida}}{\text{Total de la masa Retenida}} * 100$$

**Ecuación IV- 31. Fórmula cálculo de % acumulado**

$$\% \text{ Acumulado} = \% \text{ retención} + \% \text{ Acumulación anterior}$$

**Ecuación IV- 32. Fórmula Porcentaje de Retención**

$$\% \text{ Pasa} = 100 - \% \text{ retención}$$

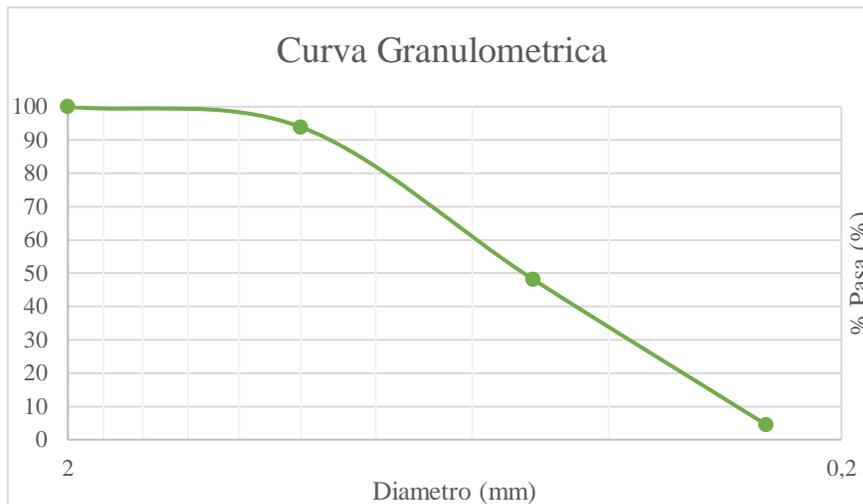
**Tabla IV- 9. Cálculo Realizado en Excel**

<i>N° tamiz</i>	<i>Abertura (mm)</i>	<i>Masa Retenida</i>	<i>% Retención</i>	<i>%Acumulado</i>	<i>% pasa</i>
N° 10	2	0	0	0	100
N° 18	1.00	30	6.08	6.08	93.91
N° 35	0.50	226	45.84	51.92	48.07
N° 60	0.25	215	43.61	95.53	4.46
N° 230	0.06	22	4.46	100	0
<i>Total</i>		493	100		

Fuente: Elaboración Propia

Por tanto, el sustrato molido en un 45.84 % se encuentra en un diámetro de 0.50 seguido de sustrato de diámetro 0.25; son diámetros aceptables para realizar el posterior procedimiento.

**Figura IV- 12. Curva Granulométrica: Abertura de malla (diámetro) vs % Pasa**



Fuente: Elaboración Propia

En la gráfica podemos observar del diámetro mayor a menor el porcentaje según los diámetros de apertura de las mallas. Siendo 100 % de sustrato que pasa por las mallas más grandes, mientras que se observa como en mallas menores es difícil el paso del sustrato obtenido.

#### **4.6. RESULTADOS PRETRATAMIENTO ALCALINO HIDRÓLISIS HIDROTÉRMICA ALCALINA**

En esta etapa el sustrato muestra un hinchamiento y absorción de agua por parte de la celulosa y hemicelulosa, se observa un coloramiento excesivo lo cual demuestra la sustracción de la lignina y la apertura de los enlaces de parte de la celulosa.

Para filtrar no se utilizó el equipo de filtración al vacío, pues el mismo equipo era ineficiente frente al sustrato pretratado debido a la viscosidad del mismo por tanto se decidió utilizar liencillo un colador de doble capa, el cual, sí presentó mejores resultados.

**Figura IV-13. Hinchamiento, y decoloración del sustrato posterior a la hidrólisis alcalina**



Fuente Elaboración propia

**4.6.1. Balance de materia**

Se realiza el balance general del proceso con los siguientes datos:

Sustrato Molido (SM)=200g

NaOH=2000 mL=2 L

$C_{\text{NaOH}}=0,1\text{N}$

$\rho_{\text{NaOH}}=1.004 \frac{\text{kg}}{\text{L}}$

Masa de NaOH (MHS) al 0.1 N=2.00 kg=2008 g

Masa de Sulfato de calcio (MSC)=4.08 g

Agua(A)=2250 mL=2250 g

Agua Caliente(AC)=2075 g

Sustrato Pretratado (SP)=2141.05 g

Pérdidas (P)=¿? g

Vapor de Agua (VA)=¿? g

**Ecuación IV-33. Balance General proceso de Pretratamiento Alcalino dentro del recipiente metálico**

$$SM+MHS+MSC=SP+P$$

Cálculo de las pérdidas en el recipiente

$$P=200 \text{ g}+2008 \text{ g}+4.08 \text{ g}-2141.05 \text{ g}=71.02 \text{ g}$$

**Ecuación IV-34. Balance General proceso de Pretratamiento Alcalino en la autoclave**

$$A=AC+VA$$

$$VA=A - AC=2250\text{g}-2075\text{g}=175 \text{ g}$$

**4.6.2. Balance de energía**

En base a la ecuación de balance de energía general, en el proceso se presenta calor sensible y latente. Se debe tomar muy en cuenta la presión a la cual se trabajó de 1,8 bar, utilizando a la misma tabla McCabe- Smith para el calor latente de vaporización:

$$\lambda_{\text{vaporización}}=508.74\text{kcal/Kg}$$

Los datos a continuación se detallan:

**Ecuación IV-35. Cálculo del Calor total en el autoclave**

$$Q_{\text{Total}}=A \cdot C_{p_{\text{agua}}} \cdot \Delta T + VA \cdot \lambda_{\text{vaporización}}$$

$$Q_{\text{Total}}=2.25\text{Kg} \cdot \frac{1\text{kcal}}{\text{Kg}^{\circ}\text{C}} \cdot (125-16)^{\circ}\text{C} + 0.17\text{Kg} \cdot 508.74\text{kcal/Kg}$$

$$Q_{\text{Total}}=334.27\text{kcal}$$

En base a la ecuación IV-25 se calcula el consumo de energía los datos son los que el equipo proporciona

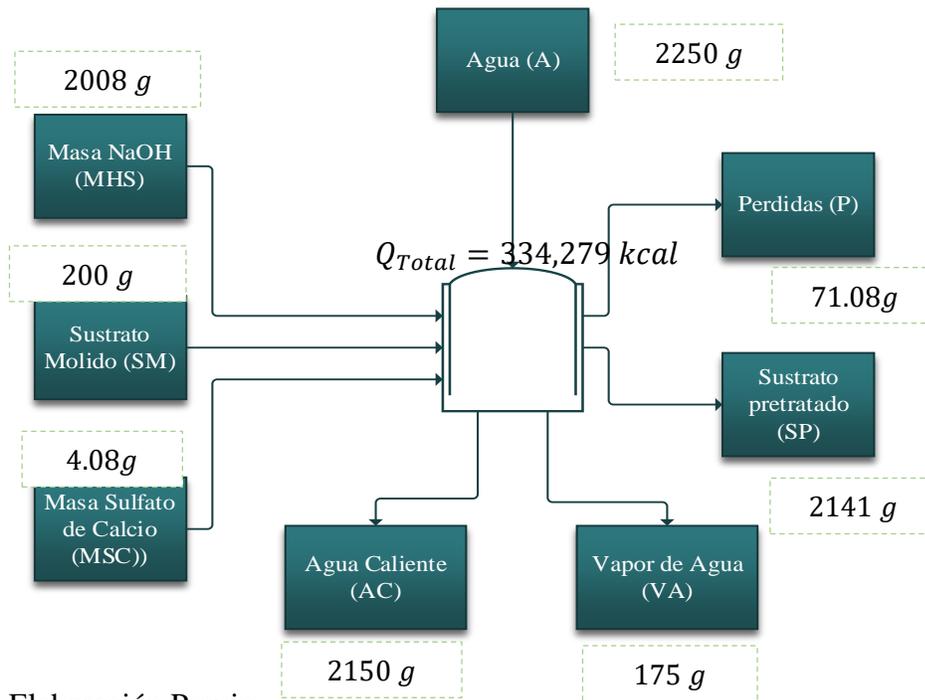
$$P_{\text{Autoclave}}=3200\text{ W}$$

$$t_{\text{Uso Autoclave}}=15\text{ min}=0.25\text{ h}$$

$$E_{\text{Autoclave}}=P_{\text{Autoclave}}*t_{\text{Uso Autoclave}}$$

$$E_{\text{Autoclave}}=3.20\text{ Kw}*0.25\text{ h}= 0.80\text{ Kwh}$$

**Figura IV-14. Resumen general balance de materia y energía**



Fuente: Elaboración Propio

#### 4.7.RESULTADOS SEGUNDA ETAPA DE SECADO

Se llevó a cabo una curva de secado para evaluar la humedad y las pérdidas que puede haber en el proceso de pretratamiento.

#### 4.7.1. Balance de materia

El equipo utilizado, estufa SELECTA, es más grande que en el anterior secado, por tanto, se decidió utilizar los 200 g que después del pretratamiento su peso aumento a 2141 g y fue pesado en una balanza comercial NATIONAL del tamaño de la bandeja colocada. Se llevó a 105 °C, el tiempo fue de 5 horas con 25 minutos, no se caramelizó.

Datos:

Sustrato húmedo Pretratado:(SHP)=2141g

Sustrato Pretratado deshidratado:(SPD)=171 g

Agua de salida (AS)=?

#### Ecuación IV-36. Balance general del segundo secado

$$\text{SHP}=\text{SPD}+\text{AS}$$

$$\text{AS}=\text{SHP}-\text{SPD}$$

$$\text{AS}=2141\text{g}-171\text{g}=1970 \text{ g}$$

#### 4.7.2. Balance de energía

Similar al primer secado, se realiza el cálculo del calor total, reconociendo la existencia del calor latente y sensible en base a la Ecuación IV-20 se amplía los términos y se calcula de forma general.

$$Q_{\text{Total}}=\text{SHP}*\text{Cp}_{\text{Cáscara}}*\Delta\text{T}+\text{AS}*\text{Cp}_{\text{agua}}*\Delta\text{T}+\text{AS}*\lambda_{\text{vaporizacion}}$$

Para el calor específico Cp. el cálculo cambia pues la humedad calculada fue:

#### Ecuación IV-37. Cálculo de la humedad presente en la muestra:

$$\text{Porcentaje de Humedad}=\frac{\text{Peso Inicial}-\text{Peso final}}{\text{Peso inicial}}*100$$

$$\text{Porcentaje de Humedad} = \frac{1094\text{g} - 171\text{g}}{1094\text{g}} * 100 = 84.36\%$$

Por tanto, en base a la ecuación IV-21:

$$C_p = 3.99 \frac{\text{J}}{\text{Kg}^\circ\text{C}}$$

$$C_p = 9.21\text{E-}4 \frac{\text{kcal}}{\text{Kg}^\circ\text{C}}$$

Por tanto, el cálculo general es:

$$Q_{\text{Total}} = 1.09\text{kg} * 9.21\text{E-}4 \frac{\text{kcal}}{\text{Kg}^\circ\text{C}} * (105-50)^\circ\text{C} + 0.92 * 1 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}^\circ\text{C}} * (105-50) + 0.92 * 542.74 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}}$$

$$Q_{\text{Total}} = 551.77 \text{ kcal}$$

- **Consumo de energía:**

En base a la Ecuación IV-25:

Tiempo de uso del equipo = 5.42 horas = 325 min

potencia del equipo SELECTA = 2Kw

Factor de uso = 0.90

$$E_{\text{estufa}} = P * t_{\text{op estufa}}$$

$$E_{\text{estufa}} = 2 \text{ Kw} * 5.41 \text{ h} * 0.90 = 9.75 \text{ Kwh}$$

### 4.7.3. Curva de secado

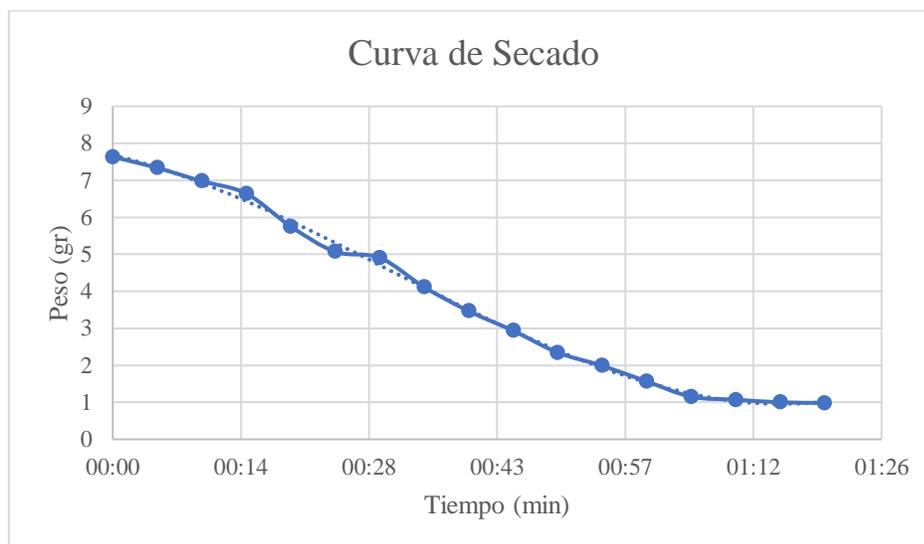
Esta curva fue realizada en base de 7.63 g en el equipo de secado infrarrojo del laboratorio. El equipo posee una pantalla que indica el peso del secado. Tiempo temperatura y velocidad, conforme se avanzaba se iba tomando los datos cada 5 min a 105 °C.

**Tabla IV-10. Datos obtenidos para la curva de secado**

<b>Tiempo (min)</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Agua evaporada</b>	<b>% de agua evaporada</b>
<b>00:00</b>	7.63	0.00	0.00
<b>00:05</b>	7.33	0.29	3.88
<b>00:10</b>	6.97	0.65	8.60
<b>00:15</b>	6.64	0.99	12.99
<b>00:20</b>	5.75	1.87	24.62
<b>00:25</b>	5.07	2.56	33.58
<b>00:30</b>	4.90	2.72	35.70
<b>00:35</b>	4.11	3.51	46.09
<b>00:40</b>	3.46	4.16	54.60
<b>00:45</b>	2.93	4.69	61.55
<b>00:50</b>	2.34	5.28	69.27
<b>00:55</b>	1.98	5.64	73.95
<b>01:00</b>	1.56	6.06	79.49
<b>01:05</b>	1.15	6.48	84.92
<b>01:10</b>	1.07	6.56	85.98
<b>01:15</b>	1.00	6.63	86.89
<b>01:20</b>	0.98	6.65	87.12

Fuente: Elaboración Propia

Por tanto, la humedad a la que se encuentra después del pretratamiento fue de 87.2% mencionando además que el peso se debe a la separación de la lignina del sustrato y un hinchamiento en la celulosa, la velocidad de secado máxima de secado alcanzado fue de 73 mg/seg.

**Figura IV-15. Segunda Curva de Secado**

Fuente: Elaboración Propia

**Ecuación IV-38. Ecuación Polinómica de tercer grado, representación de la curva de secado**

$$y = 64194x^3 - 4251.50x^2 - 81.74x + 7.67$$

$$R^2 = 0.998$$

#### 4.8. RESULTADOS EN LA HIDRÓLISIS ÁCIDA

Se realizó considerando: el tiempo de uso del laboratorio, el tiempo de entrega de resultados. Se controló para cada experimento los grados brix, con el objetivo de observar el avance de la reacción en un periodo de tiempo de 30 min finalizando el experimento a las 6 horas:

En base a las combinaciones de la tabla III-8 y los resultados de laboratorio del CEANID para cada experimento.

Prueba	Conc. de Ácido	Conc. Sustrato	Temp. °C	Az. Reduc. (%m/m)	Az. Reduc. (%m/m)
1	5	2.50	85	0.79	0.73

<b>2</b>	5	3.00	85	0.80	0.84
<b>3</b>	7	2.50	85	1.03	1.01
<b>4</b>	7	3.00	85	1.09	1.05
<b>5</b>	5	2.50	90	1.01	1.03
<b>6</b>	5	3.00	90	1.05	1.07
<b>7</b>	7	2.50	90	1.10	1.09
<b>8</b>	7	3.00	90	1.09	1.06

Fuente: Elaboración Propia

**Tabla IV-11. Resumen de datos según el tiempo de los 8 experimentos realizados**

Temperatura	Experimento	Tiempo (t)											
		t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>3</sub>	t <sub>4</sub>	t <sub>5</sub>	t <sub>6</sub>	t <sub>7</sub>	t <sub>8</sub>	t <sub>9</sub>	t <sub>10</sub>	t <sub>11</sub>	t <sub>12</sub>
85°C	Muestra 1	7.60	7.90	8.20	8.30	8.70	8.80	9.00	9.20	9.40	9.40	9.50	9.60
	Muestra 2	7.40	7.70	8.00	8.30	8.50	8.60	8.70	9.00	9.30	9.50	9.60	9.70
	Muestra 3	9.40	10.20	11.50	11.80	11.90	12.00	12.20	12.50	12.70	12.90	13.00	13.10
	Muestra 4	9.60	10.30	11.50	11.70	11.90	12.00	12.20	12.50	12.60	12.80	13.00	13.20
90°C	Muestra 5	8.40	9.10	9.40	9.80	9.90	10.10	10.20	10.40	10.70	10.90	11.00	11.10
	Muestra 6	8.30	8.90	9.20	9.60	9.80	10.00	10.20	10.30	10.50	11.00	11.30	11.50
	Muestra 7	9.10	10.50	11.30	11.50	11.60	11.70	12.10	12.50	12.80	13.00	13.20	13.30
	Muestra 8	9.30	10.80	11.20	11.60	11.80	12.00	12.20	12.40	12.60	12.80	13.00	13.20

Fuente: Elaboración Propia

**Tabla IV-12. Resumen de datos según el tiempo de las réplicas de los 8 experimentos realizados**

Temperatura	Experimento	Tiempo (t)											
		t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>3</sub>	t <sub>4</sub>	t <sub>5</sub>	t <sub>6</sub>	t <sub>7</sub>	t <sub>8</sub>	t <sub>9</sub>	t <sub>10</sub>	t <sub>11</sub>	t <sub>12</sub>
85°C	Muestra R1	7.30	7.50	7.90	8.10	8.30	8.50	8.90	9.10	9.30	9.50	9.60	9.80
	Muestra R2	7.10	7.40	7.90	8.30	8.50	8.60	8.70	9.00	9.20	9.50	9.60	9.60
	Muestra R3	9.30	9.90	10.20	10.50	10.90	11.40	11.80	12.00	12.40	12.70	12.80	13.00
	Muestra R4	9.40	10.20	10.70	11.30	11.60	11.90	12.20	12.50	12.70	12.80	13.10	13.10
90°C	Muestra R5	8.50	8.80	9.20	9.60	9.90	10.30	10.50	10.70	10.90	11.10	11.20	11.30
	Muestra R6	8.20	8.50	8.90	9.40	9.60	9.90	10.20	10.30	10.60	10.80	11.30	11.60
	Muestra R7	9.00	9.60	10.30	10.70	11.30	11.60	12.00	12.30	12.60	12.90	13.00	13.20
	Muestra R8	9.50	10.00	10.20	10.60	11.00	11.50	11.80	12.20	12.40	12.60	12.90	13.00

Fuente: Elaboración Propia

Los resultados del proceso de hidrólisis de la tabla IV-12 demuestra el incremento en el contenido de sólidos solubles a medida que avanza la reacción entre las cáscaras de los cítricos (Compuesto de celulosa y hemicelulosa) y el ácido sulfúrico, llegando a un tope y luego manteniendo el valor de los mismos.

A comparación de los resultados presentados en bibliografía se ve un aumento considerable de producción de Azúcares reductores y en su correspondiente seguimiento con el refractómetro en cuanto a los sólidos solubles presentes, hecho que se debe a la extracción previa del aceite esencial y del pretratamiento hidrotérmico con hidróxido de sodio.

Según Andrade Castro la cantidad de azúcares reductores obtenidos fueron expresados en g/L, por tanto, se llevó a un cambio de unidades, pues los resultados de este trabajo se expresaron en gramos de muestra por 100 g de solución, (m/m) de tal manera que para la comparación se tiene que realizar la conversión a g/L.

**Tabla IV-13. Comparación de mejores resultados**

Andrade g/L	Investigación g/L
8.70	9.98

Fuente: Elaboración Propia

#### **4.8.1. Resultado del análisis estadístico de experimentos**

El propósito en este apartado es establecer los factores que influyen en el proceso de obtención de azúcares reductores en la etapa de hidrólisis. En base al diseño factorial  $2^3$ , es decir dos niveles y tres factores.

El software a utilizar es IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 26, el cual permite obtener los resultados significativos, de tal manera aceptar o rechazar las hipótesis establecidas. Además de corroborar el tratamiento con el programa Minitab 19 que cuenta con un sistema mucho más sencillo.

Los cuadros a continuación son un resumen del diseño factorial realizado en MINITAB, siendo un programa estadístico muy completo.

**Tabla IV-14. Análisis de Varianza SPSS**

**Pruebas de efectos inter-sujetos**

Variable dependiente: AR

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,226 <sup>a</sup>	7	,032	57,473	,000
Intersección	15,682	1	15,682	27878,400	,000
Cacido	,090	1	,090	160,000	,000
Csus	,004	1	,004	7,511	,025
Temp	,084	1	,084	149,511	,000
Cacido * Csus	,001	1	,001	2,178	,178
Cacido * Temp	,044	1	,044	78,400	,000
Csus * Temp	,002	1	,002	3,600	,094
Cacido * Csus * Temp	,001	1	,001	1,111	,323
Error	,005	8	,001		
Total	15,912	16			
Total corregido	,231	15			

a. R al cuadrado = ,981 (R al cuadrado ajustada = ,963)

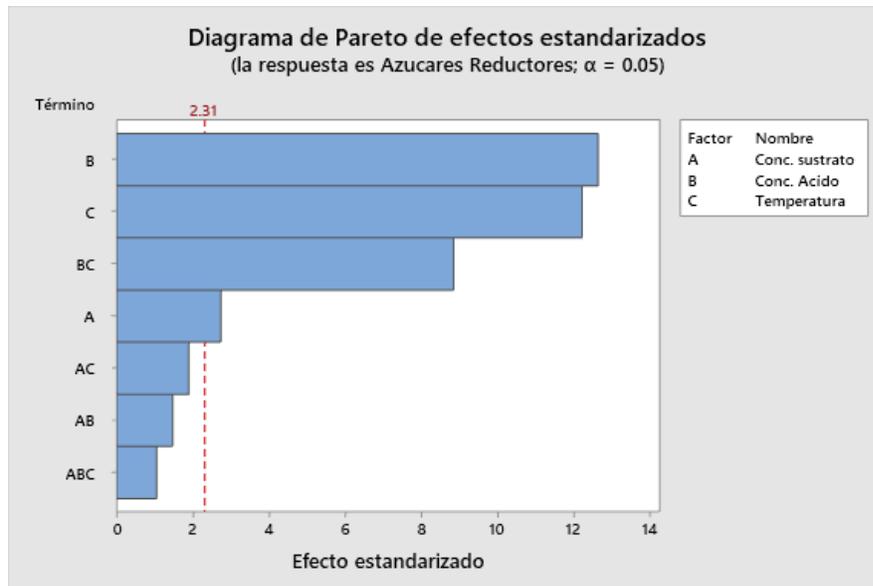
Fuente: (Elaboración Propia en base de los resultados obtenidos en SPSS, 2021)

**Tabla IV-15. Análisis de Varianza Minitab 19**

Fuente	GL	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	0.032	57.47	0.000
Lineal	3	0.059	105.67	0.000
Conc. Sustrato	1	0.004	7.51	0.025
Conc. Ácido	1	0.090	160.00	0.000
Temperatura	1	0.084	149.51	0.000
Interacciones de 2 términos	3	0.015	28.06	0.000
Conc. sustrato*Conc. Ácido	1	0.001	2.18	0.178
Conc. sustrato*Temperatura	1	0.002	3.60	0.094
Conc. Ácido*Temperatura	1	0.044	78.40	0.000
Interacciones de 3 términos	1	0.000	1.11	0.323
Conc. sustrato*Conc. Ácido*Temperatura	1	0.000	1.11	0.323
Error	8	0.000		
Total	15			

Fuente: (Elaboración Propia en base de los resultados obtenidos en Minitab 19, 2021)

**Figura IV-16. Diagrama de Pareto muestra la influencia de las variables en el proceso**



Fuente: Elaboración Propia en base de los resultados obtenidos en MINITAB 19, 2021

Ambos programas nos dan resultados casi similares avalando y corroborando la elaboración del análisis, se observa en el diagrama de Pareto cuales son los factores (variables) que más afectan al proceso por parte del programa Minitab 19, estos se encuentran en orden de influencia en el proceso: la concentración del ácido sulfúrico, la temperatura, la combinación de ácido y temperatura y por último la concentración de sustrato. Siendo las demás combinaciones complementarias para el estudio.

Los resultados posteriores del análisis como ser ANOVA y otros se encuentran completos en el anexo B. Mientras de ahora en adelante se presentaron los resueltos en el programa SPSS.

En el análisis de varianza presentado por el programa SPSS en la tabla IV-14 muestra un valor de F calculado de cada factor, la manera de conocer si estos factores son significativos sobre la hidrólisis ácida en este programa se debe comparar el valor de F con el F de tablas (Prueba de Fisher), calculado en Excel con un nivel de confianza del 95%.

**Tabla IV- 16. Resultado Prueba De Fisher**

F Calculado	F Tablas
57.47	3.50
27878.40	5.31
160	5.31
7.51	5.31
149.51	5.31
2.17	5.31
78.40	5.31
3.60	5.31
1.11	5.31

Fuente: Elaboración Propia

Con el programa SPSS al realizar el cálculo de la F de tablas y comparando se llega a la limitante: si  $F_{\text{tablas}} < F$  indica los efectos principales, que coincidieron con los expuestos en la gráfica de Pareto resuelto en el programa Minitab 19.

De igual manera, se analiza las colas de significación resultantes de la ANOVA, demostrando que a un nivel de confianza del 95% todos los valores obtenidos que son mayores que 0,05 se sitúan en la zona de rechazo, por lo que se descarta la hipótesis nula, lo que concluye que la concentración de ácido, concentración de sustrato y temperatura influyen en la obtención de los azúcares reductores en la hidrólisis ácida.

Establecido lo anterior, se procede a realizar la regresión lineal a fin de establecer el modelo matemático. Los resultados de la regresión se presentan a continuación:

**Tabla IV-17. Análisis de Varianza de regresión lineal**

ANOVA <sup>a</sup>						
Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	,222	4	,056	73,035	,000 <sup>b</sup>
	Residuo	,008	11	,001		
	Total	,231	15			

a. Variable dependiente: AR

b. Predictores: (Constante), Cacidotemp, Temp, Csus, Cacido

Fuente: Elaboración Propia

Al analizar la tabla IV-17, observamos el valor de  $F=73,03$ , el valor de tablas es igual a 3.056 el cual, al cumplir con la condición  $F_t < F$  se rechaza la hipótesis nula por tanto la dependencia lineal de la obtención de azúcares reductores respecto a los efectos independientes es significativa. Ahora bien, para precisar el modelo respectivo se hace uso de los coeficientes de la tabla siguiente:

**Tabla IV- 18. Coeficientes del modelo**

**Coeficientes<sup>a</sup>**

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
		B	Desv. Error	Beta		
1	(Constante)	,990	,007		143,516	,000
	Cacido	,075	,007	,624	10,872	,000
	Csus	,016	,007	,135	2,356	,038
	Temp	,073	,007	,604	10,510	,000
	Cacidotemp	-,053	,007	-,437	-7,611	,000

a. Variable dependiente: AR

Fuente: Elaboración propia

Los resultados de la Tabla IV- 18 establecen los coeficientes de los efectos en el modelo; no obstante, la cola de significación del factor concentración de sustrato es mayor a 0.025 y este puede es rechazado, por lo que el modelo resulta en:

**Ecuación IV-39. Modelo lineal experimental**

$$\text{Az. Reductores} = 0.99 + 0.75 * \text{Conc. Acido} + 0.73 * \text{Temp} - 0.53 * \text{CAcido} * \text{Temp}$$

Finalmente se analiza los factores de correlación y determinación obtenidos:

**Tabla IV- 19. Resumen del modelo de Regresión lineal**

**Resumen del modelo<sup>b</sup>**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,982 <sup>a</sup>	,964	,951	,02759

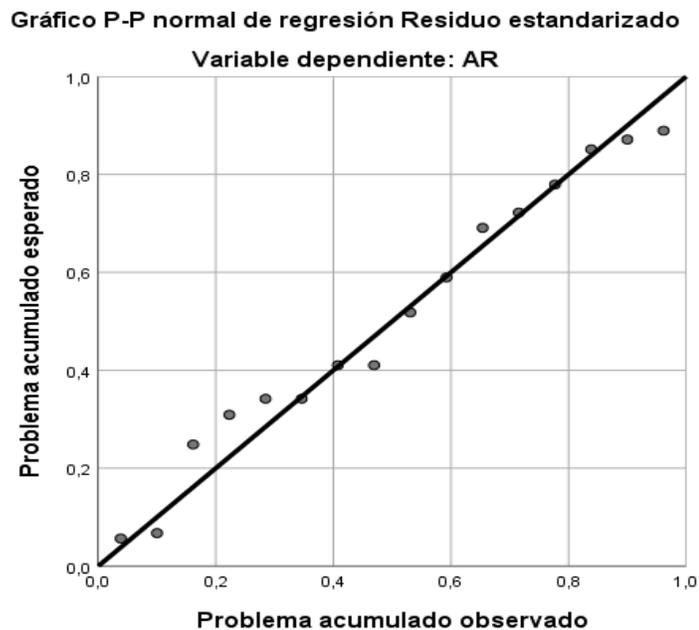
a. Predictores: (Constante), Cacidotemp, Temp, Csus, Cacido

b. Variable dependiente: AR

Como se puede observar el coeficiente de Pearson señala un alto grado de correlación lineal entre las variables dependientes e independientes. Mientras que, el coeficiente de determinación indica que la variabilidad del porcentaje obtenido de azúcares reductores; queda explicado en un 96.4% por el modelo lineal obtenido.

La representación gráfica de los valores del rendimiento observado y el rendimiento generado por el modelo se muestra a continuación:

**Figura IV-17. Rendimiento observado vs rendimiento esperado**



Fuente: Elaboración Propia

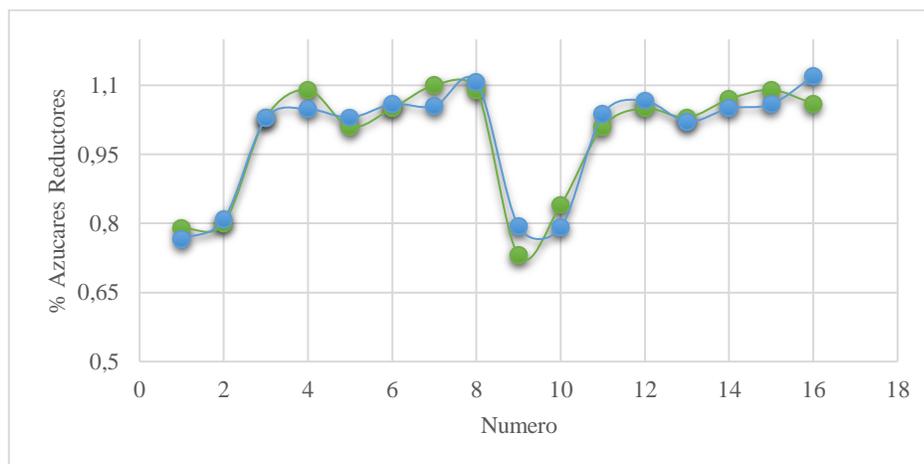
Por último, se presentará el error de los valores de azúcares reductores observados con respecto a los valores de rendimiento generado

**Tabla IV-20. Errores entre valores observados y ajustados del modelo**

<i>EXP</i>	<b>A. R. OBSERVADO</b>	<b>A. R. GENERADO</b>	<b>ERROR</b>
1	0.79	0.76	0.0236
2	0.80	0.80	-0.0091
3	1.03	1.02	0.0018
4	1.09	1.04	0.0418
5	1.01	1.03	-0.0200
6	1.05	1.05	-0.0091
7	1.10	1.05	0.0455
8	1.09	1.10	-0.0164
9	0.73	0.79	-0.0636
10	0.84	0.79	0.0491
11	1.01	1.03	-0.0273
12	1.05	1.06	-0.0164
13	1.03	1.02	0.0091
14	1.07	1.05	0.0200
15	1.09	1.05	0.0309
16	1.06	1.12	-0.0600

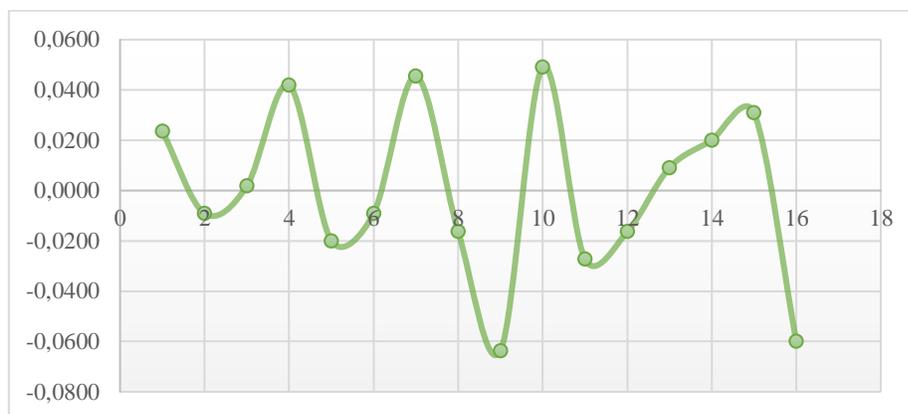
Fuente. Elaboración Propia

**Figura IV-18. Valores observados vs valores ajustados al modelo**



Fuente. Elaboración Propia

**Figura IV-19. Error entre el porcentaje de azúcares observado y lo generado por SPSS**



Fuente: Elaboración Propia

En las figuras anteriores se observa los errores que se tienen por cada replica realizada y el ajuste que se tiene para lograr la linealidad del modelo según la ecuación IV-39.

#### 4.8.2. Cálculo del volumen de dilución

Para esta determinación se utilizó lectura directa que se presenta:

**Tabla IV- 21. Resultados de la determinación del volumen de Dilución**

<i>Concentración de Ácido (%)</i>	<i>Volumen de Ácido (mL)</i>	<i>Peso de Sustrato deshidratado Molido</i>	<i>Volumen final (mL)</i>
5	100	2.51	104
5	100	3.01	105
7	100	2.50	107
7	100	3.00	108
5	100	2.52	104
5	100	3.03	105
7	100	2.50	107
7	100	3.06	108

Fuente: Elaboración propia

Con los datos de la tabla IV-21 es posible realizar el cálculo de la densidad, que es un dato importante para el cálculo del rendimiento de los experimentos y en especial del que muestra los mejores resultados.

#### 4.8.3. Resultados de la densidad de la dilución

Los resultados se expresan en la tabla III-22.

**Tabla IV-22. Tabla datos y cálculo de la densidad**

<i>Concentración ácida %</i>	<b>Volumen de Dilución (mL)</b>	<b>Peso de la dilución Peso de MP+ Peso del ácido</b>	<b>Densidad (g/mL)</b>
5	104	106.24	1.02
5	105	106.67	1.01
5	104	106.09	1.02
5	105	106.85	1.01
7	107	107.64	1.00
7	108	108.14	1.00
7	107	107.63	1.00
7	108	108.18	1.00

Fuente: Elaboración propia

#### 4.8.4. Balance de materia

Los datos son

$$\rho_{\text{mezcla ácido y sustrato}} = 1.0059 \text{ g/ml}$$

Para el Cálculo de la masa que entra de sustrato y ácido utilizando la densidad encontrada en tabla IV-22.

$$SA = 267.50 \text{ g}$$

$$ARS = 264.34 \text{ g}$$

#### Ecuación IV- 40. Balance General y perdidas

$$SA=ARS+PE$$

$$PE=SA-ARS=267.50g-264.34g=3.16 g$$

#### 4.8.5. Balance de masa en el filtrado

Datos:

Azúcares Reductores más sustrato ARS=264.34 g

Masa de Sustrato Hidrolizado (SH) en el liencillo=80.14 g

Mosto a fermentar (MF)= ¿?

#### Ecuación IV- 41. Balance General en el Filtrado

$$ARS=SH+MF$$

$$AR=ARS-SH=264.34g - 80.14g= 184.19 g$$

#### 4.8.6. Balance de energía total

En esta etapa el cálculo se hizo para el calor total del sistema, como no se llega a temperaturas de ebullición se tomó en cuenta el calor sensible en el sistema.

Según ecuación IV-20 modificad solamente para el cálculo de calor sensible

$$Q_{Total}=SA*Cp_{Cascara}*\Delta T$$

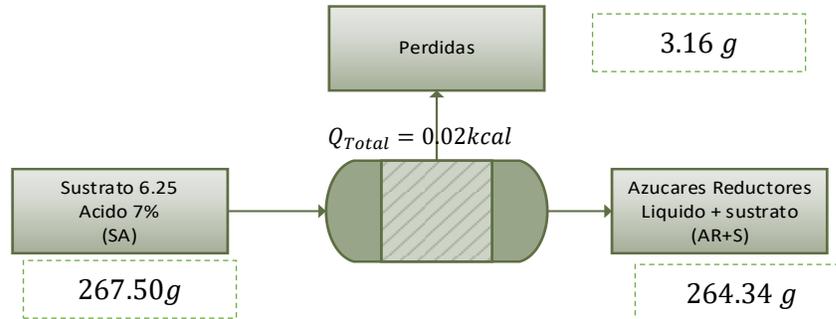
Se puede Utilizar el Cp de las cáscaras pretratadas pues no hay algún hidrato de carbono que haya sido eliminado, la lignina que fue descartada es un polímero más no un hidrato de carbono que modifique al Cp

$$Cp=9.54E-4 \frac{\text{kcal}}{\text{Kg}^{\circ}\text{C}}$$

$$Q_{Total}=0.26*9.53E-4 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}^{\circ}\text{C}}*(90-16)$$

$$Q_{Total}=0.02kcal$$

**Figura IV-20. Resumen Balance de Masa Hidrólisis Ácida**



Fuente: Elaboración Propia

- **Consumo de energía.**

En base a la ecuación IV-25 tenemos los datos del equipo un agitador magnético

Tiempo de uso del equipo=6 horas

potencia del equipo AGITADOR CALENTADOR=640 w=0.64 kw

$$E_{agitar} = P * t_{op \text{ agitador}}$$

$$E_{estufa} = 0.64Kw * 6 h = 3.84 Kwh$$

#### 4.8.7. Cinética de hidrólisis ácida

En base al mejor experimento, N° 7 del diseño factorial, se propuso la realización de la cinética en base a 1200 mL llevando 200 mL por hora para su análisis.

Según literatura, el análisis del comportamiento cinético en este caso del producto azúcares reductores va en aumento dependiendo del tiempo de reacción y por lo cual se postulan 2 consideraciones

- ✓ Se supone que la única reacción que ocurre es la de formación de azúcares reductores, no tomando en cuenta la formación de subproductos como el

furfural, HMF ya ácido acético al ser concentraciones mínimas y disminuidas por los procesos anteriores.

- ✓ Se considera 1.13 g por 100 g de solución (11.3 mg/g) como la concentración de azúcares iniciales.

#### Ecuación IV-42. Ecuación de velocidad de reacción

$$\frac{dS}{dt} = kS^n$$

En donde:

S= Concentración de sustrato

k= constante de velocidad de reacción específica

n= orden de reacción

Para encontrar k y n se linealizaron la ecuación II- 5 se linealiza obteniendo:

$$\ln\left(\frac{dS}{dt}\right) = \ln(k) + n\ln(S)$$

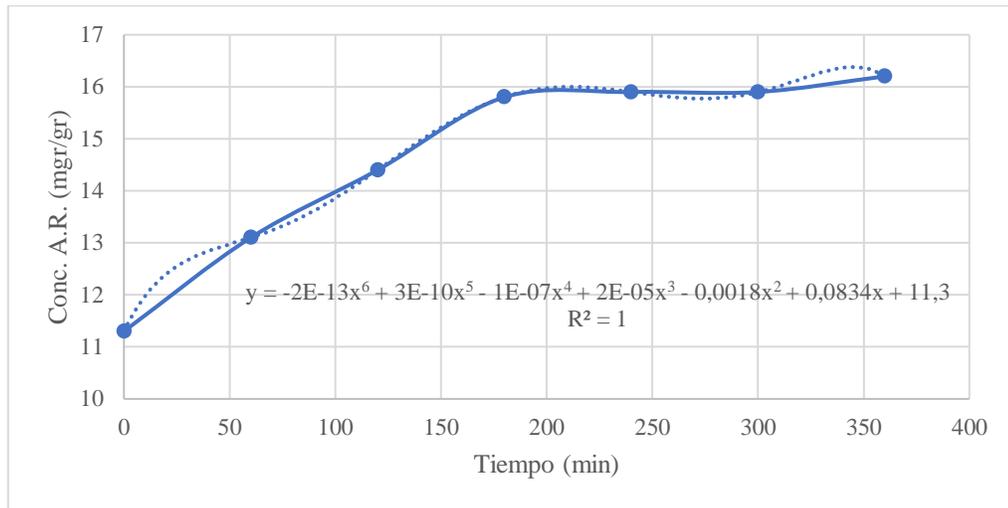
Los datos en cuanto a los análisis de azúcares reductores obtenidos:

**Tabla IV-23. Datos obtenidos para la cinética de hidrólisis**

TIEMPO (MIN)	CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES EN g /100g	CONCENTRACIÓN AZÚCARES REDUCTORES (mg/g)
0	1.13	11.30
60	1.31	13.10
120	1.44	14.40
180	1.58	15.80
240	1.59	15.90
300	1.59	15.90
360	1.62	16.20

Fuente: Elaboración Propia

Es necesario realizar el gráfico de la concentración en función del tiempo.

**Figura IV- 21. Gráfico tiempo vs Concentración**

Fuente: Elaboración Propia

Se realiza la línea de tendencia hasta que el valor de  $R^2$  sea de 1, encontrando la ecuación polinómica de sexto grado.

#### **Ecuación IV-43. Ecuación representativa de la cinética de hidrólisis ácida**

$$y = -2E-13x^6 + 3E-10x^5 - 1E-07x^4 + 2E-05x^3 - 0,0018x^2 + 0,0834x + 11,3$$

Se deriva la ecuación en función de x:

$$f(t) = 6 * ((-2E-13)x^5) + 5 * ((3E-10)x^4) + 4 * ((-1E-7)x^3) + 3 * ((2E-5)x^2) + (2 * (-0,0018x)) + 0,0834$$

Se resuelve la velocidad de reacción (r) para todos los tiempos propuestos, se desarrolla el logaritmo para las mismas y para las concentraciones encontradas. Para más cercanía a la linealidad se propuso que se deben eliminar los puntos fuera de la línea de tendencia.

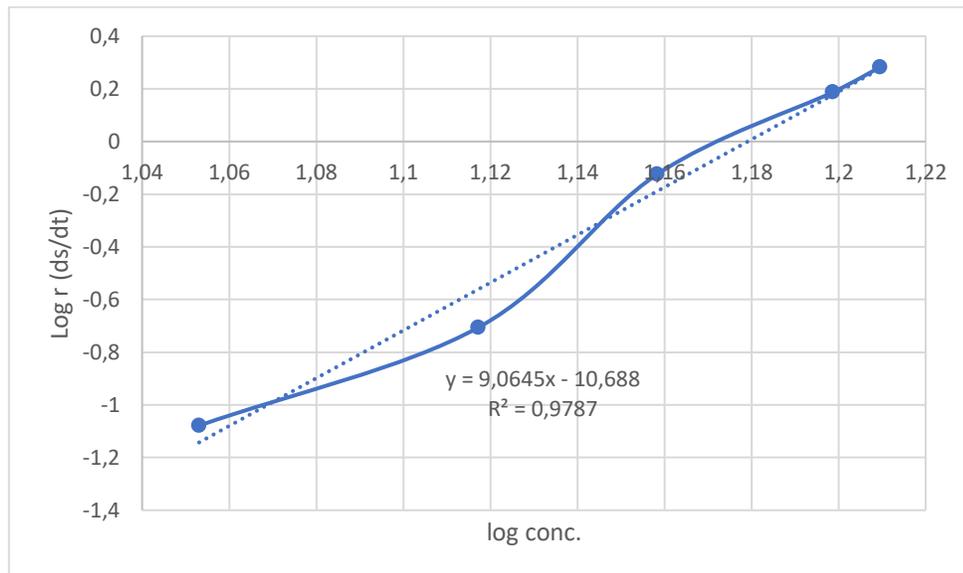
**Tabla IV-24. Resolución de la ecuación de sexto grado de la cinética de hidrólisis ácida**

Tiempo (min)	Conc. A. R. (mg/g)	(r)(mg/g*min)	Valor Absoluto	Log (r)	Log (Conc)
0	11.30	0.08	0.08	-1.08	1.05
60	13.10	-0.19	0.19	-0.71	1.11
120	14.40	-0.75	0.75	-0.12	1.15
180	15.80	-1.53	1.54	0.19	1.198
240	15.90	-2.27	2.27	0.35	1.20
300	15.90	-2.54	2.54	0.40	1.20
360	16.20	-1.91	1.91	0.282	1.21

Fuente: Elaboración Excel 2021

Se descartan los valores en amarillo por ser valores alejados de la linealidad.

**Figura IV- 22. Gráfico de linealidad y ecuación que describe el modelo y R<sup>2</sup>**



Fuente: Elaboración Propia

De tal manera que los datos para representar la ecuación cinética:

**Tabla IV-25. Resultados de la linealización**

M (pendiente)	9.06
B	-10.68
K	2.05E-11

Fuente: Elaboración Propia

**Ecuación IV-44. Modelo cinético de segundo orden**

$$\sigma = 2.05E^{-11} * C^{-9.06}$$

Fuente: Elaboración Propia

**4.8.8. RENDIMIENTO EN EL PROCESO DE HIDRÓLISIS ÁCIDA**

Se toman en cuenta los siguientes datos

$$^{\circ}\text{Brix inicial} = 9.10$$

$$^{\circ}\text{Brix final} = 13.30$$

El rendimiento en esta etapa se calcula de la siguiente manera:

**Ecuación IV- 45. Fórmula para el cálculo de rendimiento:**

$$\eta = \frac{^{\circ}\text{Brix finales} - ^{\circ}\text{Brix iniciales}}{^{\circ}\text{Brix iniciales}}$$

Calculando:

$$\eta = \frac{13.30 - 9}{9} * 100$$

$$\eta = 47.78\%$$

Presentamos en resumen los valores de rendimiento de la hidrólisis ácida:

**Tabla IV- 26. Rendimiento de la Etapa de Hidrólisis**

Brix inicial	Brix final	Rendimiento
7.30	9.60	31.51
7.10	9.70	36.62
9.30	13.10	40.86
9.40	13.20	40.43
8.50	11.10	30.59
8.20	11.50	40.24
9.00	13.30	47.78
9.50	13.20	38.95

Fuente: Elaboración Propia

#### 4.9. RESULTADOS DE LA CORRECCIÓN DE SUSTRATOS

Para llegar a los valores de pH necesario y seguir el procedimiento para una sacarificación y fermentación separada, fue necesario no tomar demasiado tiempo y realizar el ajuste con una base, en este caso con hidróxido de sodio sólido.

**Tabla IV- 27. Corrección de Sustrato**

Sustrato	Inicial	NaOH	Final
	pH	añadido	pH
F1	0.03	62.76	4.51
F2	0.04	59.35	4.49
F3	0.06	57.93	5.00
F4	0.06	57.35	5.03
RF1	0.04	60.24	4.53
RF2	0.04	60.34	4.50
RF3	0.05	58.46	5.02
RF4	0.06	57.92	5.04

Fuente: Elaboración propia

#### 4.10. RESULTADOS EN LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

En esta etapa la cantidad utilizada de sustrato que contiene azúcares reductores fue llevada a volumen constante de 1000 mL, pues en la hidrólisis se preparó 200 mL extra de sustrato para compensar las pérdidas. En todo el proceso se tomó en cuenta la medición decreciente de los grados brix iniciales.

**Tabla IV-28. Consumo de sustrato en la Fermentación alcohólica en base al diseño experimental**

<i>Sustrato</i>	<b>Brix por día</b>						
	Inicio	1	2	3	4	5	6
<i>F1</i>	13.10	12.50	12.00	11.60	11.00	10.30	10.20
<i>RF1</i>	13.00	12.70	12.10	11.90	11.40	10.20	10.20
<i>F2</i>	13.20	12.30	11.60	10.40	9.70	9.50	9.40
<i>RF2</i>	12.90	12.40	11.80	11.50	10.70	9.90	9.90
<i>F3</i>	13.20	11.70	11.30	11.10	10.40	9.80	9.80
<i>RF3</i>	13.30	12.50	12.50	11.50	10.70	10.30	9.80
<i>F4</i>	13.20	12.30	12.30	10.40	9.90	9.60	9.50
<i>RF4</i>	13.30	12.30	11.70	10.40	9.70	9.40	9.20

Fuente: Elaboración Propia

En la Tabla anterior se muestran los grados brix recopilados todos los días que duro la fermentación, estos se van reduciendo a medida que las levaduras van consumiendo el sustrato convirtiéndolo en etanol. Los sólidos solubles restantes son considerados como la hemicelulosa, la misma no pudo degradarse a glucosa.

Para observar el experimento que mejores resultados tiene, se realiza el cálculo del rendimiento y posteriormente realizar el diseño factorial correspondiente.

##### 4.10.1. Rendimiento en la etapa de fermentación

Se calcula primero el rendimiento teórico y posteriormente el real en base a los grados brix y la cantidad de etanol obtenido.

**a) Cálculo del Rendimiento Teórico**

Datos al inicio de la fermentación, ejemplo experimento 4.

$$^{\circ}\text{brix}=13.30$$

Cálculo de la densidad en base a los grados brix

**Ecuación IV-46. Fórmula para el cálculo de la densidad con los grados brix**

$$\text{Densidad}=\rho=\frac{(^{\circ}\text{brix}\cdot 4)+1000}{1000}$$

Fuente: (Zuñiga, 2020)

$$\text{Densidad}=\rho=1.05\text{g/mL}$$

$$\text{Volumen inicial}=1000\text{mL}$$

**Ecuación IV-47. Fórmula para el cálculo de la masa en base a la densidad**

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

$$m=1.05\frac{\text{g}}{\text{mL}}\cdot 1000\text{ml}=1053.20\text{g}$$

De los grados brix definimos que 13.30 g de sólidos por 100 mL de la solución:

$$13.30\text{g de sólido}\cdot\left(\frac{1053.20}{100}\right)=140.08\text{ g de Azúcares Reductores}$$

Se considera idealmente que los sólidos disueltos son la totalidad de azúcares reductores que serán fermentadas por la levadura. En base a ello se realiza la relación estequiométrica.



$$\text{PM} \quad 180\text{ g} \qquad \qquad \qquad 92\text{ g} \qquad 88\text{ g}$$

$$140.07\text{g de azúcares reductores} \cdot \left(\frac{92\text{ g}}{180\text{g}}\right) = 71.59\text{ g de etanol}$$

### b) Rendimiento Real

Para calcular el rendimiento real es necesario utilizar los grados GL leídos del producto obtenido (ejemplo F4):

$$^{\circ}\text{GL}=7.80$$

$$\rho_{\text{Etanol puro}}=0.78 \frac{\text{g}}{\text{mL}}$$

Los grados GL muestran que 8 mL de etanol puro por 100 mL de la mezcla etanol-agua.

$$985\text{mL de sustrato fermentado} * \frac{7.8 \text{ mL de etanol}}{100 \text{ mL de muestra}} = 76.83 \text{ ml de etanol}$$

Se utilizó la ecuación IV- 47 para el cálculo de la masa real obtenida

$$m=0.78 \frac{\text{g}}{\text{mL}} * 76.83\text{mL}=60.62\text{g}$$

Por tanto, el cálculo del rendimiento total

#### **Ecuación IV- 48. Fórmula para el cálculo del rendimiento total**

$$\eta = \frac{\eta_{\text{Real}}}{\eta_{\text{Teorico}}} * 100$$

$$\eta = \frac{60.62}{71.59} * 100 = 84.67\%$$

Siendo satisfactorio la realización de los procesos realizados. De tal manera que para cada uno de los diseños experimentales se obtuvo los siguientes rendimientos:

Tabla IV-29. Cálculo de la masa, etanol teórico, rendimiento

<i>EXP.</i>	<b>EXTRACTO INICIAL (mL)</b>	<b>EXTRACTO FINAL (mL)</b>	<b>°BRIX INICIAL</b>	<b>DENSIDAD INICIAL (g/mL)</b>	<b>MASA DE A.R. (g)</b>	<b>MASA DE ETANOL TEÓRICO (g)</b>	<b>°BRIX FINAL</b>	<b>°G.L.</b>	<b>ETANOL OBT. (mL)</b>	<b>MASA DE ETANOL (g)</b>	<b>REND. (%)</b>
<i>F1</i>	1000	960	13.10	1.052	137.86	70.46	10.20	6.30	60.48	47.72	67.72
<i>F2</i>	1000	955	13.20	1.052	138.97	71.03	10.20	6.80	64.94	51.24	72.14
<i>F3</i>	1000	975	13.20	1.052	138.97	71.03	9.40	7.40	72.15	56.93	80.15
<i>F4</i>	1000	985	13.30	1.053	140.08	71.59	9.20	7.80	76.83	60.62	84.67
<i>RF1</i>	1000	965	13.00	1.052	136.76	69.90	9.80	5.20	50.18	39.59	56.64
<i>RF2</i>	1000	945	13.10	1.052	137.86	70.46	9.80	6.50	61.42	48.46	68.78
<i>RF3</i>	1000	940	13.30	1.053	140.08	71.59	9.50	7.30	68.62	54.14	75.62
<i>RF4</i>	1000	980	13.30	1.053	140.08	71.59	9.90	7.60	74.48	58.76	82.08

Fuente: Elaboración Propia

#### 4.10.2. Resultado del análisis estadístico de experimentos

De la misma manera que en la hidrólisis ácida, los datos fueron procesados en el software IBM SPSS versión 26 y para corroborar los resultados se procesó también el programa MINITAB 19. El análisis estadístico inicia evaluando cuál de las variables son las más representativas en el diseño. Para tal objeto se realizó un análisis de varianza, y con su respectivo diagrama de Pareto.

**Tabla IV-30. Análisis de Varianza**

**Pruebas de efectos inter-sujetos**

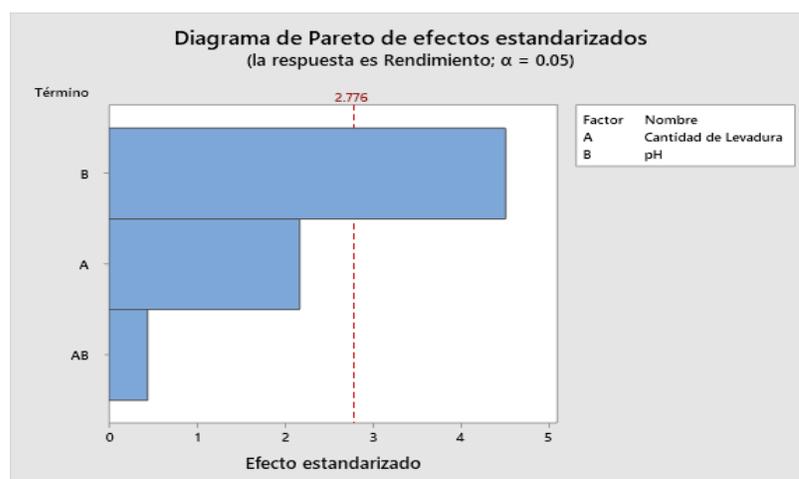
Variable dependiente: Rendimiento

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	508,251 <sup>a</sup>	3	169,417	8,403	,034
Intersección	43188,605	1	43188,605	2142,226	,000
C.Lev	94,806	1	94,806	4,703	,096
pH	409,552	1	409,552	20,314	,011
C.Lev * pH	3,892	1	3,892	,193	,683
Error	80,643	4	20,161		
Total	43777,498	8			
Total corregido	588,893	7			

a. R al cuadrado = ,863 (R al cuadrado ajustada = ,760)

Fuente: Elaboración propia SPSS, 2021

**Figura IV-23. Diagrama de Pareto**



Fuente: Elaboración Propia MINITAB 2019

En base a los datos presentados se observa que la variable más significativa en el proceso fue el pH; demostrando que con la levadura es posible trabajar con un pH de 5. El análisis de varianza anterior muestra el valor F calculado de cada factor, la manera de conocer si estos factores son significativos sobre el rendimiento de la fermentación, es comparando su valor con el F de tablas el cual es calculado en Excel a un nivel de confianza del 95%, dando como resultado:

**Tabla IV-31. Resultados de la prueba de Fisher**

F	Ft	
<b>8.403</b>	6.59	Se acepta
<b>2142226</b>	7.70	Se acepta
<b>4.703</b>	7.70	No se acepta
<b>20314</b>	7.70	Se acepta
<b>0.193</b>	7.70	No se acepta

Fuente: Elaboración Propia

De acuerdo a la tabla IV-31 para valores  $F_{tablas} < F$  indica las variables que afectan el proceso, la cual es el pH del proceso la más significativa, corroborando los presentados en el diagrama de Pareto.

De igual manera, se analiza las colas de significación resultantes de la ANOVA, demostrando que a un nivel de confianza del 95% todos los valores obtenidos que son mayores que 0.05 se sitúan en la zona de rechazo, por lo que se descarta la hipótesis nula, lo que concluye que el pH de fermentación sí influye en el rendimiento del proceso de obtención de etanol.

**Tabla IV-32. Análisis de varianza de regresión lineal**

ANOVA <sup>a</sup>						
Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	409,552	1	409,552	13,702	,010 <sup>b</sup>
	Residuo	179,341	6	29,890		
	Total	588,893	7			

a. Variable dependiente: Rendimiento

b. Predictores: (Constante), pH

Fuente: Elaboración propia

Según la tabla IV-30 el valor de  $F = 13.70$  tiene un valor de tablas igual a 5.59, demostrando cumplir la condición de  $F_{tablas} < F$  lo cual lleva a rechazar la hipótesis nula. Como resultado se determina la dependencia lineal del rendimiento con respecto al efecto de la variable independiente pH. Para el modelo representativo que describe el proceso se hace uso de los coeficientes:

**Tabla IV-33. Coeficientes del modelo**

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	T	Sig.
		B	Desv. Error	Beta		
1	(Constante)	73,475	1,933		38,012	,000
	pH	7,155	1,933	,834	3,702	,010

a. Variable dependiente: Rendimiento

Por tanto, la ecuación que escribe el modelo:

**Ecuación IV- 49. Modelo lineal del diseño experimental**

$$\text{Rendimiento} = 73.475 + 7.155 * pH$$

Finalmente se analiza los factores de correlación y determinación obtenidos

**Tabla IV-34 Resumen del modelo en la fermentación alcohólica**

Resumen del modelo <sup>b</sup>				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,834 <sup>a</sup>	,695	,645	5,46719

a. Predictores: (Constante), pH

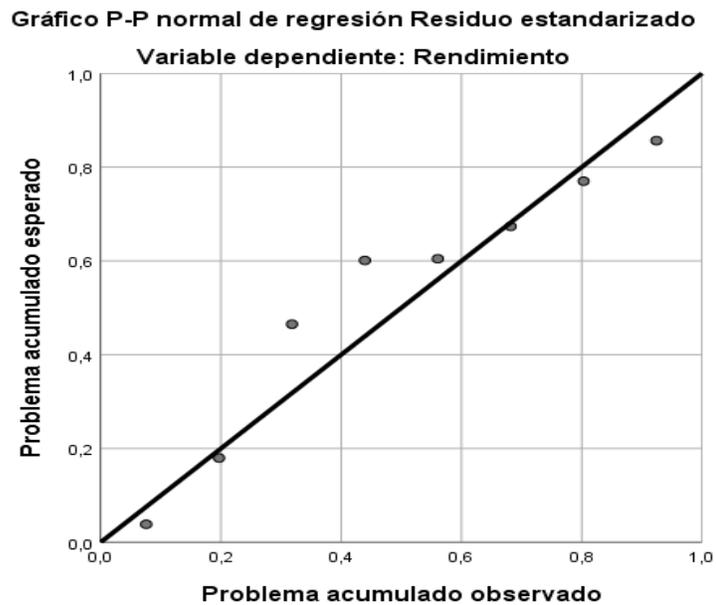
b. Variable dependiente: Rendimiento

Fuente: (Elaboración Propia en base a Resultados Obtenidos de SPSS, 2021)

El coeficiente de Pearson señala un grado de correlación lineal entre las variables dependientes e independientes. Mientras que, el coeficiente de determinación indica que la variabilidad del rendimiento del proceso de fermentación queda explicada en un

69.50%. La representación gráfica de los valores del rendimiento observado y el rendimiento generado por el modelo se muestra a continuación:

**Figura IV-24. Rendimiento observado vs rendimiento esperado**



Fuente: (SPSS, 2021)

Se presenta además el error entre los valores del rendimiento observado respecto a los valores del rendimiento generado:

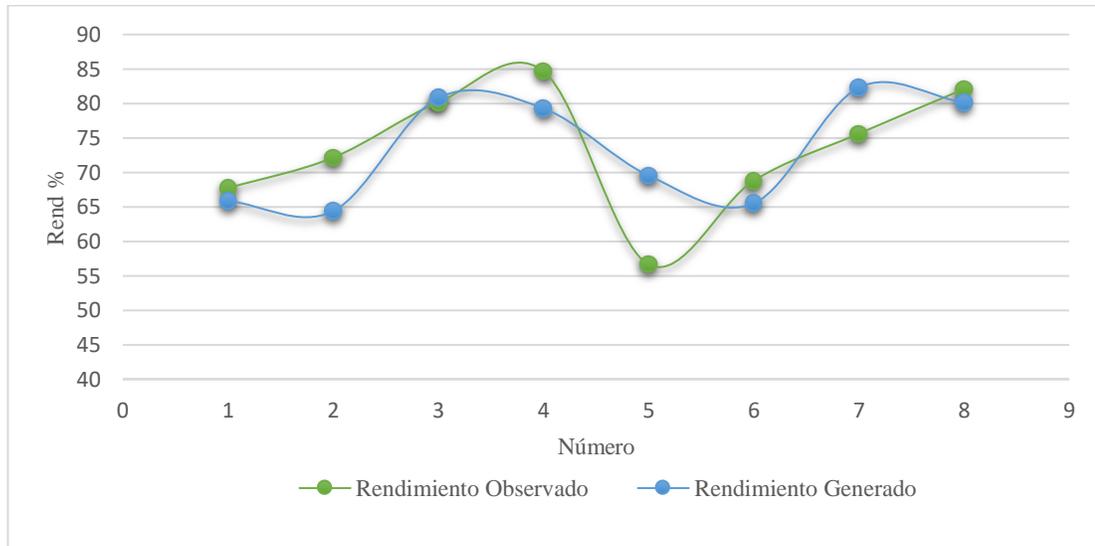
**Tabla IV-35. Errores entre los valores observados y ajustados del modelo**

EXP	RENDIMIENTO OBSERVADO	RENDIMIENTO GENERADO	ERROR
1	67.72	65.85	1.87
2	72.14	64.38	7.76
3	80.15	80.79	-0.64
4	84.67	79.28	5.39
5	56.64	69.55	-12.91
6	68.78	65.50	3.28
7	75.62	82.30	-6.68
8	82.08	80.15	1.93

Fuente: Elaboración propia

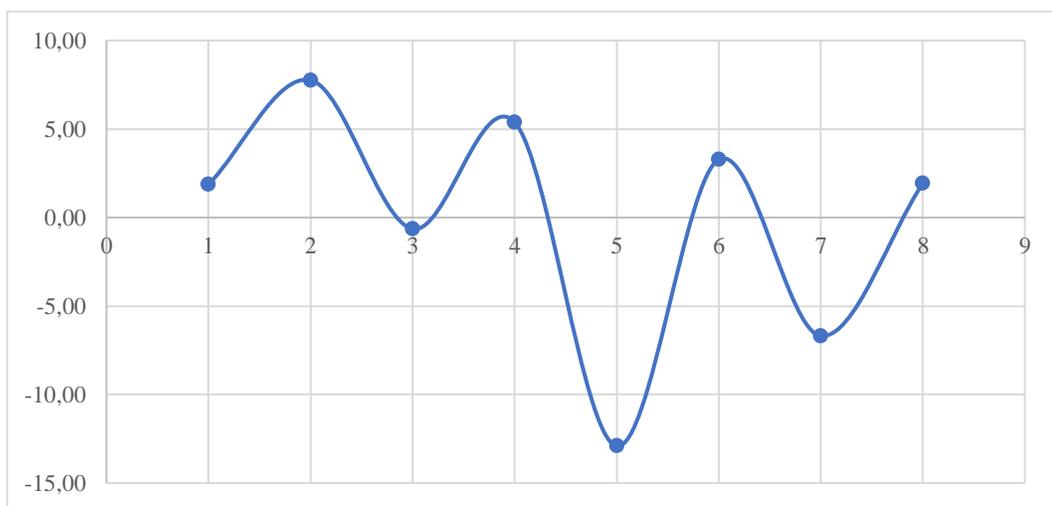
A continuación, las figuras IV-25 y IV-26 representan los valores observados, los ajustados y los errores de cada uno de los experimentos. Los mismos muestran que tan cerca se encuentran de la linealidad generado por el programa SSPS y los obtenidos mediante experimentación.

**Figura IV-25. Valores observados vs valores ajustados al modelo**



Fuente: Elaboración Propia EXCEL,2021

**Figura IV-26. Error entre el rendimiento observado y el rendimiento generado**



Fuente: Elaboración Propia

### 4.10.3. Balance de materia

Para realizar el balance de materia, se escoge tomar como referencia el experimento F4. Los datos de tal experimento son:

Volumen de Mosto=1000 mL

Densidad inicial=1.05 g/mL

Por tanto:

Mosto (M)=1053.20 g

Levadura (L)=1.20 g

Para transformar los mililitros de etanol en mezcla con el mosto obtenido al finalizar la fermentación, utilizamos la ecuación de la densidad.

Volumen etanol-mosto=985mL

Densidad final=1.03  $\frac{\text{g}}{\text{mL}}$

Masa de Etanol-Mosto (MEM)=1021.25 g

Productos de Cola(PC)=¿?

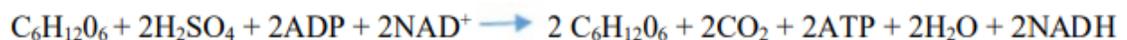
#### **Ecuación IV- 50. Balance general para la fermentación**

$$M=PC+MEM+L$$

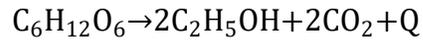
$$PC=M-MEM-L=1053.20 \text{ g}-1021.25 \text{ g} -1.2 \text{ g}=30,75 \text{ g}$$

La fermentación alcohólica se describe:

#### **Ecuación IV-51. Ecuación general de la fermentación alcohólica**



La cual se simplifica:



**Tabla IV-36. Datos estequiometrías en orden**

<i>Reactivos</i>		<i>Productos</i>	
$C_6H_{12}O_6$		$2C_2H_5OH$	$2CO_2$
<b>1 mol</b>		2 moles	2 moles
<b>180 g</b>		92	88

Fuente: Elaboración Propia

#### 4.10.4. Balance de energía

Como la temperatura es constante y el uso del equipo, no es necesario calcular el calor sensible del agua desde el ingreso a 17°C hasta la temperatura final de 37°C.

En base a la ecuación:

#### Ecuación IV- 52. Balance general de Energía

$$Q_{total} = Q_{sensible} + Q_{Latente}$$

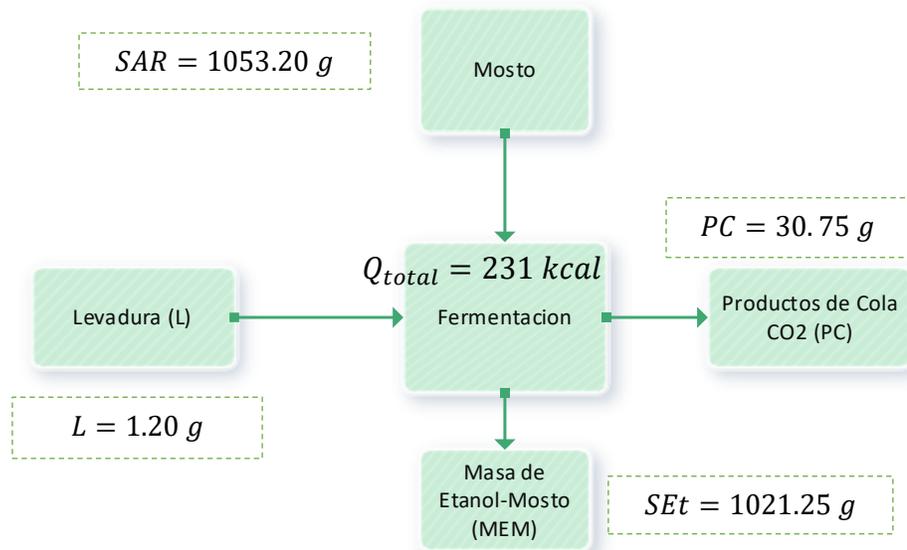
Por lo anteriormente mencionado no hay calor latente, pues no llega a temperatura de ebullición

$$Q_{total} = m_{agua} * C_{p_{agua}} * \Delta T$$

Se mantiene la cantidad de agua en 11 litros, equivalente a 11 kilos

$$Q_{total} = 11 \text{kg} * 1 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}^\circ\text{C}} * (37-16)^\circ\text{C} = 231 \text{ kcal}$$

**Figura IV-27. Resumen balance materia en la fermentación**



Fuente: Elaboración Propia

- **Consumo de energía**

Tiempo de uso del equipo=72 horas

potencia del equipo TERMOSTATO=960w=0,96 kw

Resolviendo:

$$E_{\text{Termostato}} = P \cdot t_{\text{op termostato}}$$

$$E_{\text{termostato}} = 0.96 \text{ Kw} \cdot 72 \text{ h} = 69.12 \text{ Kwh}$$

#### 4.11. RESULTADOS EN LA ETAPA DE DESTILACIÓN

Al finalizar la fermentación, se midió la densidad y el grado alcohólico que poseía cada experimento (Tabla IV-37). En este proceso tanto el fosfato de amonio con tiamina, las sales de neutralización y la levadura restante fueron separados por la destilación. Por tanto, en base a los datos de la tabla IV-28, en la que se muestra el proceso de fermentación para los 8 experimentos realizados se realizó 3 destilaciones a los mejores experimentos.

Tabla IV- 37. Resultados de la Destilación

<i>Muestra</i>	<b>Volumen destilado (mL)</b>	<b>°G.L. obtenido al finalizar la destilación</b>	<b>Contenido de agua (%)</b>	<b>pH</b>	<b>Acidez total (%)</b>	<b>Densidad (g/mL)</b>
<i>F4</i>	220.54	22.40	77.60	6.60	0.87	0.971
<i>F3</i>	235.36	17.30	82.70	6.78	0.68	0.976
<i>F2</i>	243.47	14.70	85.30	6.81	0.58	0.979

Fuente: Elaboración Propia

El mayor contenido de alcohol se obtuvo en el experimento F4 seleccionado por presentar la mejor fermentación. Además, que pH, Acidez Total, Densidad, fueron obtenidos mediante análisis propio en el laboratorio de química de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho.

#### 4.11.1. Balance de materia

Masa de Etanol Obtenido en el expe. F4 (MEO)=76.83 g

Volumen de Etanol obtenido=220.54 mL

°GL=22.40

Densidad del etanol<sub>(Etanol puro)</sub>= $0.78 \frac{\text{g}}{\text{mL}}$

Con estos datos se realiza el cálculo de la cantidad de etanol obtenido en los 220.54 mL recolectados, utilizando la fórmula de densidad como se muestra en la siguiente ecuación:

$$220.54 \text{ mL de destilado} = \frac{22.4 \text{ mL de etanol}}{100 \text{ mL de destilado}} = 49.40 \text{ mL de etanol}$$

$$m = \rho * v = 49.40 \text{ mL} * 0.78 \frac{\text{g}}{\text{mL}} = 38.98 \text{ g de etanol destilado}$$

Masa de Etanol obtenido (MEt)=38.98 g

Agua evaporada (AE)=¿?

**Ecuación IV- 53. Balance General**

$$MEO = MEt + AE$$

$$AE = SF - Et = 76.83 - 38.98 = 37.85 \text{ g}$$

**4.11.2. Balance energía**

La temperatura del agua al iniciar fue de 16 °C y al finalizar de 75°C los demás datos son:

$$\text{Masa de agua utilizada} = 4.5 \text{ litro} = 4.5 \text{ kg}$$

Al utilizar destilación simple existe calor latente y sensible por tanto el cálculo de divide:

**a) Calor Sensible**

De la ecuación IV-22.

$$Q_{\text{Sensible}} = m_{\text{agua}} * C_{p_{\text{agua}}} * \Delta T$$

Resolviendo

$$Q_{\text{Sensible}} = 4.50 * 1 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}^\circ\text{C}} * (75 - 16)$$

$$Q_{\text{Sensible}} = 265.50 \text{ kcal}$$

**b) Calor latente:**

Para calcular el calor para latente se toma en cuenta la presión de Tarija tal como se hizo en el proceso de secado y además al no estar en un ambiente cerrado en el cual el vapor es recolectado. En base a esto el calor latente de vaporización es:

$$\lambda_{\text{agua}} = 542.74 \text{ kcal/kg}$$

Por tanto, el cálculo es:

$$Q_{\text{Latente}} = \lambda_{\text{agua}} * m_{\text{agua}}$$

$$Q_{\text{Latente}} = 542.74 \text{ kcal/kg} * 4.50 \text{ kg} = 2442.33 \text{ kcal}$$

Por tanto, el calor total será:

$$Q_{\text{Total}} = 265.50 \text{ kcal} + 2442.33 \text{ kcal} = 2707.83 \text{ kcal}$$

### c) Consumo de energía

Tiempo de uso del equipo = 3 horas

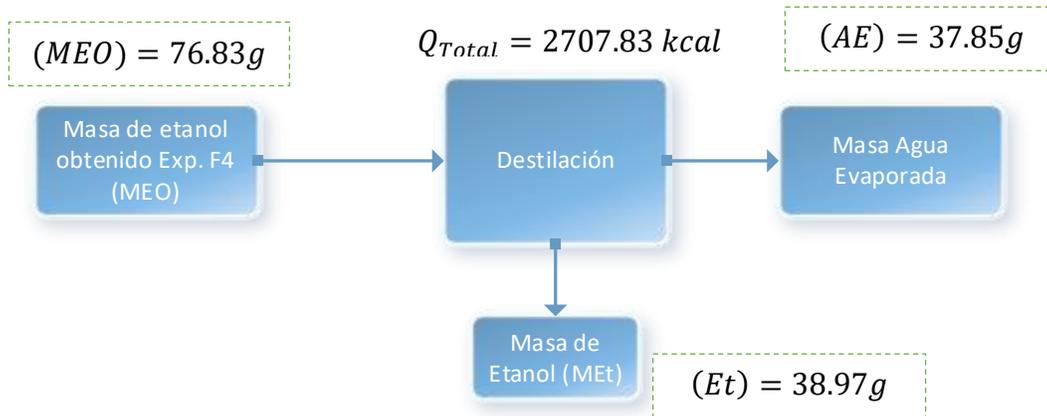
Potencia del equipo ROTAVAPOR 4000 = 1400W = 1.40 KW

Resolviendo:

$$E_{\text{rotavapor}} = P * t_{\text{op rotavapor}}$$

$$E_{\text{estufa}} = 1.40 \text{ Kw} * 3 \text{ h} = 4.20 \text{ Kwh}$$

**Figura IV- 28. Resumen Balance materia y energía**



Fuente: Elaboración Propia

**CAPÍTULO V**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 5.1. CONCLUSIONES

Gracias a todo lo anterior descrito, y en base al objetivo general, es necesario responder de la siguiente manera:

El proceso para obtener etanol a partir de diferentes materiales lignocelulósicos como son los residuos cítricos frente a otras alternativas más comunes como la caña de azúcar o maíz muestra su gran apuesta para llevarla a un proyecto a gran escala; tomando en cuenta la selección óptima para el proceso que se debe realizar.

Se destacan que el proceso seleccionado para este proyecto de grado mejora con un proceso de pretratamiento para eliminar interferencias, el uso de una hidrólisis ácida para obtener los azúcares reductores, una fermentación alcohólica que transforma los azúcares en etanol y para la para concentrar aún más el etanol; una destilación que en conjunto con los diseños experimentales se logra obtener etanol de una aceptable concentración y subproductos como esencias, compuestos químicos de alto valor agregado.

Este trabajo, proyecto de grado muestra una comprensión de la posibilidad de obtener etanol a partir de otras materias primas que se pueden encontrar por las ciudades capitales ya sea en mercados o en ferias.

Es necesario e importante desglosar todo lo observado y analizado según los objetivos específicos propuestos, tal que las conclusiones de cada proceso seleccionado se expresen conforme los resultados obtenidos:

- El análisis de la cantidad de holocelulosa en este proyecto se presenta en un porcentaje promedio de 39.26 % resultados que se encuentran dentro de los rangos presentado en tablas que se encuentra entre un 37 a 40%, acercándose a los resultados según bibliografía, que presentan un porcentaje de 40.74%. Lo que demuestra que la cáscara y en general la fruta que se comercializa en el municipio tiene las características para lograr una hidrólisis y fermentación óptima logrando obtener una cantidad considerable de etanol. (Boluda-Aguilar, Garcia-Vidal, & López-Gomez, 2010) (Sasaki, 2011)

En cuanto a la selección del proceso experimental, en base a la experimentación se concluye:

- El pretratamiento de extracción de los aceites esenciales demuestra ser un factor clave que perjudica en la etapa de fermentación y su extracción permite contar con subproductos del proceso, hecho que permite en una el aprovechamiento total de la materia prima obteniendo mayor beneficio económico.
- El pretratamiento hidrotérmico alcalino seleccionado en la metodología, demuestra que la lignina puede ser separada del proceso. De tal manera que no represente un problema para el proceso de hidrólisis y fermentación.
- En cuanto a la hidrólisis ácida, se determinó que es más eficaz que los métodos que emplean hidrólisis enzimática más que nada por el tiempo necesario para el proceso, cabe mencionar que sus desventajas son: el uso de altas temperaturas y el aumento en la concentración de ácido.
- La fermentación se realizó según lo seleccionado sin ninguna complicación y siguiendo el procedimiento de sacarificación y fermentación separada, pero con el uso de un corto tiempo para el acondicionamiento de las levaduras como lo explica la bibliografía.
- Se utilizó una destilación al vacío, eficaz que gracias al equipo se obtiene una buena concentración de etanol que, comparado con la bibliografía, esta se encuentra según los valores descritos.

Sobre la cantidad de azúcares obtenidos en la etapa de hidrólisis se tienen que; realizando una comparación, según otros autores, tenemos una obtención de 8.70 g/L por parte de Andrade; 8 g/L de Mejia y trejo; 10.1 y 9.6 g/L por parte de los trabajos de Aguilar, este trabajo obtiene conforme el experimento 9.98 g/L.

Al ejecutar la fase experimental se concluye: en muchos de los procesos es necesario adaptarse a los tiempos y la situación de los equipos, que para este proyecto se fue cumpliendo con cada etapa y según cronograma.

En cuanto a los rendimientos: de la hidrólisis, se vio un aumento comparando con el trabajo de Andrade, quien logra obtener un 24.27% de rendimiento, mientras en el presente trabajo este equivale a un 47.78%, siendo el experimento 7 el que muestra los mejores efectos: Concentración de ácido 7%, Temperatura de 90°C y la cantidad de sustrato 2.50g por 100 mL.

En la etapa de fermentación se logró obtener rendimiento del 84.67% de la muestra fermentada 4: pH: 5 cantidad de levadura 1.40 gramos.

Comparando con trabajos similares de Andrade quien obtuvo un rendimiento de 74.17%. Según el trabajo de Alban, quien obtiene 5.60% v/v o °GL de etanol mientras este proyecto obtiene un 7.80 % o °GL.

Y por último obtener un etanol de características: Volumen 220.54; Concentración de 22.40 °GL; Contenido en agua de 77.60 %; pH de 6.60; Acidez total (contenido de Ácido Acético) de 0.87 y de densidad 0.98.

## **5.2. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda continuar con las experimentaciones con materiales lignocelulósicos similares, y observar la creación de subproductos que puedan beneficiar a la industria.
- En la etapa de pretratamiento se sugiere evaluar el uso de hidróxido de calcio frente al pretratamiento con hidróxido de sodio, como alternativa, además comparar el rendimiento del mismo frente a este trabajo.
- Se sugiere además realizar estudios en cuanto a técnicas para la determinación de celulosa, hemicelulosa y glucosa, pues estos compuestos son muy esenciales para realizarlos de los cálculos más precisos.
- Se recomienda el uso de concentraciones más bajas de ácido sulfúrico aumentado la temperatura del proceso, o experimentar con enzimas comerciales los cuales presentan una aceptabilidad mejor y no existe la producción de productos que afecten a la etapa de fermentación. Además, se expresa que se

debe realizar estudios en cuanto a la recuperación de ácido sulfúrico, pues este componente es de alto costo y de comercialización controlada.

- Es aconsejable el uso de diferentes ácidos para la obtención de etanol, como se ve en literatura, el uso de ácido fosfórico o ácido cítrico que pueden considerarse como opciones para la hidrólisis ácida.
- En la fermentación es recomendable el uso de diferentes levaduras que muestren un buen rendimiento frente a concentraciones más altas de glucosa, componentes tóxicos y niveles altos de etanol producidos por los mismos.
- Se sugiere elaborar una etapa de destilación más, con el objetivo de obtener grado alcohólico más alto para su uso como biocombustible y se analice la mezcla con gasolina como se menciona en el capítulo I, o llegar a un grado alcohólico desinfectante para su venta en los comercios del país.