



UNIVERSIDAD CENTRAL "MARTA ABREU" DE LAS VILLAS
VERITATE SOLA NOBIS IMPONETUR VIRILIS TOGA. 1948

Facultad Química-Farmacía

Departamento de Ingeniería Química

Trabajo de Diploma

*Título: Estudio de alternativas para la obtención de
bioetanol a partir de bagazo de caña*



Diplomante: Naudis García Navarro

Tutor(es): Dr. Agustín García Rodríguez

Lic. Guillermin Agüero Chapín

"Año de la Alternativa Bolivariana para Las Américas"

Santa Clara

Curso 2004-2005

El revolucionario verdadero está guiado por grandes sentimientos de amor.



Resumen

La producción de bioetanol en Cuba tradicionalmente ha sido a partir de materia primas azucaradas, principalmente las mieles finales de la industria azucarera. Las mieles por ser una fuente importante de alimentos por una parte además de su limitada disponibilidad, constituyen materias primas muy costosas para afrontar grandes producciones de bioetanol para fines combustibles, ya sea utilizándolo como combustible directamente o como materia prima en celdas combustibles. La utilización de materiales lignocelulósicos para la producción de grandes volúmenes de bioetanol para estos fines aparece como una alternativa viable en este sentido.

El bagazo de la caña de azúcar, los residuos de la agricultura no cañera y algunas malezas ricas en celulosas son en este orden los materiales lignocelulósicos que se encuentran en una mayor disponibilidad para la producción de bioetanol en nuestro país. Sin embargo aun no se ha definido una tecnología acorde a las condiciones tecno-económicas cubanas para la conversión estos materiales a bioetanol. Este trabajo de tesis después de un exhaustivo análisis crítico de las diferentes opciones para cada etapa del proceso de conversión de lignocelulosa en etanol reflejadas en la bibliografía propone dos variantes tecnológicas con perspectivas para su implementación en el territorio nacional las cuales son sometidas a un análisis de factibilidad técnico-económica. La primera alternativa consiste en un pretratamiento con explosión a vapor utilizando SO_2 como agente impregnante seguido de una sacarificación y fermentación acopladas utilizando respectivamente celulasas proveniente del hongo *Trichoderma reesei* (novo) y la cepa recombinante de levadura *Sacchromyces cerevisiae* TMB 3001. La otra variante difiere en que pretrata la materia prima con ácidos diluidos al 2% con un aumento de la temperatura a 80°C , requiriendo una etapa intermedia de neutralización y ajuste de pH para llevar a cabo con posterioridad una sacarificación y fermentación acopladas.

El análisis económico de estas alternativas arrojó como resultados fundamentales un elevado costo de inversión para la variante II, mayor que el obtenido para la variante I, ya que esta requiere de una etapa adicional para la neutralización de los licores provenientes del pretratamiento con ácidos diluidos, lo cual atenta directamente contra los costos de inversión y de producción. Por otra parte se encontró como resultado del análisis económico que la alternativa que utiliza la explosión por vapor como pretratamiento tiene un costo de producción unitario de \$0.207/l, menor que el obtenido para la variante II, \$0.254/l.

Summary

The bioethanol production in Cuba traditionally has been starting from matter sugary cousins, mainly the final honeys of the sugar industry. The honeys to be on one hand an important source of foods besides their limited readiness constitute matters very expensive cousins to confront big bioethanol productions for combustible ends, either using it directly as fuel or to be used as an eatable matter it prevails in combustible cells. The use of lignocelulosics materials for the production of big bioethanol volumes for these ends appears like a viable alternative in this sense.

The trash of the cane of sugar, the residuals of the non cane agriculture and some rich overgrowths in celluloses are in this order the lignocelluloses materials that are in a bigger readiness for the bioethanol production in our country. However not yet has been defined an agreement technology to the conditions techno-economic Cubans for the conversion these materials to bioethanol. This thesis work after an exhaustive critical analysis of the different options for each stage of the process of lignocelluloses conversion in ethanol reflected in the bibliography proposes two technological variants with perspectives for its implementation in the national territory which are subjected to an analysis of technician-economic feasibility. The first alternative consists on a pretreatment with explosion to steam using SO_2 like agent impregnate followed by a scarification and coupled fermentation using celulasas enzymes coming from the mushroom respectively *Trichoderma reesei* (novo) and the stump yeast recombinant *Sacchromyces cerevisiae* TMB 3001. The other variant differs in that pretreated the matter prevails with acids diluted to 2% with an increase from the temperature to 80oC, requiring an intermediate stage of neutralization and pH adjustment to carry out with posteriori a scarification and coupled fermentation.

The economic analysis of these alternatives hurtled as fundamental results a high investment cost for the variant II, bigger than the one obtained for the varying I, since this it requires of an additional stage for the neutralization of the liquors coming from the pretreatment with diluted acids, that which attentive directly against the investment costs and of production. On the other hand it was as a result of the economic analysis that the alternative that uses the explosion for vapor like pretratamiento has an unitary production cost of \$0.207/l, smaller than the one obtained for the variant II, \$0.254/l.

Índice

Introducción.....	1
Capítulo I “Revisión bibliográfica”.....	4
1.1 <i>Generalidades de la fermentación alcohólica.....</i>	4
1.2 <i>Materias utilizadas en el proceso de fermentación alcohólica y sus características.....</i>	7
1.2.1 <i>Melazas.....</i>	11
1.2.2 <i>Jugos procedentes de la caña de azúcar.....</i>	14
1.2.3 <i>Mosto o vinaza de destilería.....</i>	16
1.2.4 <i>Utilización de otros sustratos.....</i>	18
1.3 <i>Conclusiones parciales</i>	20
Capítulo II “Tecnología del proceso de obtención de etanol a partir de sustratos lignocelulósicos”	21
2.1 <i>Tecnología.....</i>	21
2.1.1 <i>Preacondicionamiento.....</i>	23
2.1.2 <i>Pretratamiento.....</i>	25
2.1.2.1 <i>Pretratamientos químicos.....</i>	25
2.1.2.2 <i>Pretratamientos Biológicos.....</i>	28
2.1.2.3 <i>Pretratamientos Combinados.....</i>	30
2.1.2.4 <i>Aspectos economicos de la etapa de pretratamiento.....</i>	33
2.2 <i>Hidrólisis.....</i>	34
2.2.1 <i>Hidrólisis ácida.....</i>	34
2.2.1.1 <i>Hidrólisis con ácidos concentrados.....</i>	35
2.2.1.2 <i>Hidrólisis con ácidos diluidos.....</i>	36
2.2.2 <i>Tratamientos combinados.....</i>	37
2.3.3 <i>Hidrólisis enzimática.....</i>	37
2.3.3.1 <i>Aspectos generales.....</i>	37
2.3.3.2 <i>Aspectos económicos.....</i>	40

2.5 Fermentación.....	41
2.5.1 Evaluación de las técnicas tradicionales.....	42
2.5.2 Procesos combinados.....	43
2.5.2.1 Sacarificación y fermentación simultaneas (SFS).....	43
2.5.2.2 Sacarificación y fermentación acopladas.....	44
2.5.3 Aspectos económicos.....	45
2.5.4 Fermentación de pentosas.....	46
2.6 Concentración del etanol.....	47
2.6.1 Sistemas tradicionales.....	47
2.6.2 Sistemas no convencionales.....	49
2.6.3 Propuesta tecnológica para la producción de etanol en Cuba.....	50
2.7 conclusiones parciales.....	55
Capítulo III “Análisis de factibilidad técnico-económico de alternativas de	
producción de etanol a partir de bagazo de caña”.....	56
3.1 Estudio de mercado.....	56
3.1.1 Equipamiento a instalar en la alternativa I.....	57
3.1.2 Equipamiento a instalar en la alternativa II.....	58
3.2 Determinación de costos para cada alternativa.....	59
3.2.2 Costo total de producción.....	60
3.3 Conclusiones parciales.....	63
Conclusiones generales.....	65
Recomendaciones	67
Bibliografía	68
Anexos.....	76

Introducción

La crisis energética actual, desencadenada a partir del incremento brusco en los precios internacionales del petróleo, como el ocurrido en la década de los años 70, reviste una gran preocupación e incertidumbre por las consecuencias desastrosas que generaría para los países importadores del crudo. Cuba dispone de reservas naturales propias de combustibles fósiles pero todavía son insuficientes para la demanda existente en el país importándose aun grandes volúmenes del crudo.

En los últimos años, varios programas nacionales e internacionales están alentando y apoyando la mejora y desarrollo de formas de producción y usos de la biomasa como recurso sustentable para la producción de combustibles líquidos capaces de sustituir los combustibles fósiles tradicionales. En los países en vías de desarrollo, la accesibilidad a combustibles eficientes es, a menudo, difícil y, por ello, se ven forzados a utilizar la biomasa directamente como combustible. Los biocombustibles son una fuente de energía renovable y limpia que además contribuyen a la conservación del medio ambiente gracias al reciclado de productos de desecho como los que origina la industria oleícola. La generación de energía mediante el aprovechamiento de productos naturales o de residuos (biomasa) es una de las industrias del futuro. Son varios los proyectos que se quieren poner en marcha para ampliar el peso de la biomasa en el global de consumo energético.

Las investigaciones en la producción de etanol a partir de biomasa vegetal han vuelto a resurgir ya que durante los últimos años el uso del etanol como combustible automotor ha ganado interés debido a razones ecológicas y económicas; además de resultar una materia prima muy atractiva en las celdas combustibles. El etanol obtenido por fermentación es un recurso energético renovable de origen vegetal, cuya combustión no implica una adición neta de CO₂ a la atmósfera y por lo tanto no contribuye al efecto invernadero (Macedo, 1998). Además, el bioetanol se presenta como una alternativa para sustituir la importación de combustibles en la mayoría de los países no petroleros entre los cuales se incluye nuestro país.

La producción de bioetanol para fines combustibles ya sea en la industria automotriz o para su uso como materia prima en celdas combustibles para la generación de energía eléctrica, solo será rentable si se utilizan materias primas abundantes, renovables y de bajo costo. El bagazo de la caña de azúcar, los residuos agrícolas y algunas malezas apuntan en ese orden a ser las materias primas más promisorias para la producción de bioetanol en Cuba, constituyendo el bagazo de caña la materia prima principal por su alto contenido de glúcidos, su bajo costo y su relativa disponibilidad en comparación con las demás.

Existen varias tecnologías reportadas a nivel mundial para convertir materiales lignocelulósicos en bioetanol. A pesar de las ventajas de dichas materias primas sobre las tradicionales azucaradas, las variantes tecnológicas existentes para la producción de bioetanol a partir de las mismas son complejas y costosas. Por ello se requiere de un aprovechamiento óptimo de las tecnologías implementadas en este sentido de acuerdo con las condiciones socioeconómicas y ambientales de cada región o el desarrollo de nuevas que permitan hacer de la conversión de la lignocelulosa en bioetanol un proceso económicamente viable.

Problema científico:

Por todo lo anterior descrito se puede plantear el siguiente problema científico: Existe alguna variante tecnológica para la producción de bioetanol combustible a partir de bagazo que sea factible técnica y económicamente para Cuba.

Hipótesis:

Pueden existir alternativas tecnológicas económicamente viables para producir bioetanol a partir del bagazo de la caña de azúcar en Cuba.

Objetivo general:

Realizar un estudio de las variantes tecnológicas existentes en el mundo para la producción de bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos buscando la que resulte

técnica, económica y ambientalmente compatible como materia prima para la obtención de hidrogeno combustible en Cuba.

Objetivos específicos:

- 1- Realizar un estudio bibliográfico detallado sobre las diferentes alternativas para la producción de bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos.
- 2- Seleccionar las variantes más atractivas para la producción de bioetanol a partir de bagazo de caña en Cuba.
- 3- Realizar un estudio técnico económico de las alternativas más atractivas para la producción de bioetanol a partir de bagazo de caña en Cuba.

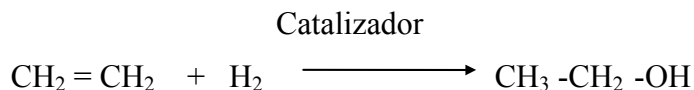
Capítulo I

Revisión bibliográfica

Fermentación alcohólica a partir de varios sustratos.

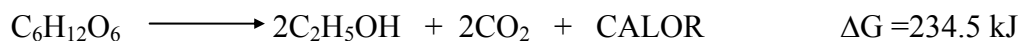
1.1- Generalidades de la fermentación alcohólica.

Las vías de producción de etanol han ido variando movido principalmente por cambios de índole económicos o tecnológicos. Antes de la segunda guerra mundial se utilizaba la vía fermentativa, luego, dado la escasez de las materias primas utilizadas, esta fue desplazada por vía petroquímica que consistía en la hidrogenación catalítica del etileno.



Después de la década de los años 70, la producción de alcohol adquiere un nuevo giro debido al aumento de la demanda del etanol a nivel mundial y el encarecimiento de los hidrocarburos, de este modo, la vía fermentativa debe ser retomada nuevamente.

Como consecuencia de la crisis internacional del petróleo, el etanol pasó a ser visto como un producto de mezcla, o aún como reemplazantes de gasolinas, esto determinó el establecimiento de numerosas plantas de producción de etanol por fermentación microbológica (Olguín E .J.;Téllez P, otros , 1988).



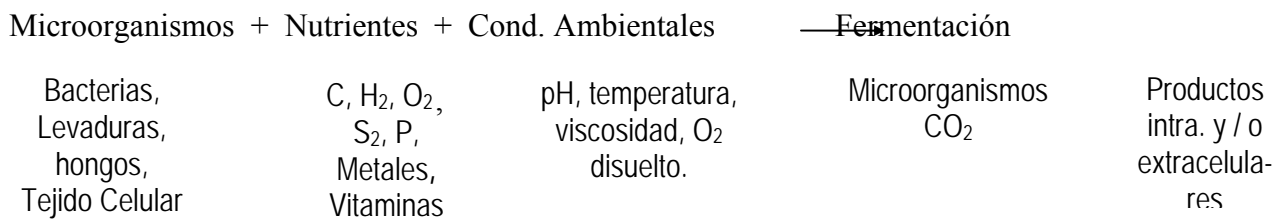
A partir de entonces se inicia la investigación de nuevas fuentes de materias primas, así como la búsqueda de mejoras tecnológicas que den al traste en la disminución de los costos de producción.

En los países productores de azúcar, resultaron ser las fuentes más prometedoras de carbono para la obtención de etanol, los productos intermedios y subproductos del proceso de producción de azúcar.

Los países no productores de esta, comenzaron a usar cereales como fuente de carbono, analizando conjuntamente varias alternativas, tales como la utilización de los residuos comunales de papel y cartón, previa separación mecánica del resto de los desechos para su hidrólisis enzimática y su posterior conversión a etanol (Blanco C. G, 1982).

De este modo, conjuntamente se han venido desarrollando tecnologías que usen como materia prima substratos lignocelulósicos de cualquier procedencia, posterior conversión a etanol ya sea por tratamientos físicos, químicos, biológicos o una combinación efectiva de estos.

Según (Quintero,R,1981), de manera esquemática se puede representar la fermentación de la siguiente forma:



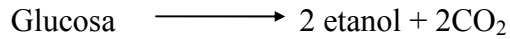
Productos intracelulares: Proteínas, endotoxinas, etc.

Productos extracelulares: Antibióticos, alcohol, etc.

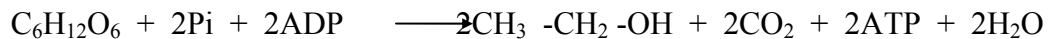
Los procesos mediante los cuales muchos organismos extraen energía química de la molécula de glucosa y de otros combustibles en ausencia de oxígeno molecular permiten tener una idea mucho más precisa sobre los procesos conocidos por fermentación.

La fermentación anaeróbica constituye el tipo más sencillo y primitivo de mecanismo biológico que permite la obtención de energía de las moléculas nutritivas.

En la fermentación alcohólica, la glucosa de 6 átomos de carbono se escinde en dos moléculas de etanol y dos de CO₂. La fermentación alcohólica transcurre por la misma ruta enzimática de la glucólisis, pero necesita dos etapas adicionales.

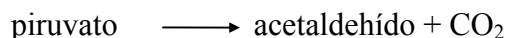


Las reacciones de la fermentación alcohólica resultan completas en su visión del fenómeno cuando en las mismas se tiene en cuenta la formación de ATP a partir de fosfatos. En realidad, este proceso no puede ocurrir sin la simultánea fosforilación oxidativa del ADP.



En los organismos tales como la levadura de cerveza que se desarrollan a través de la fermentación alcohólica, la ruta de la fermentación es idéntica, excepto en la etapa terminal en que el piruvato es transformado en alcohol por acción sucesiva de la piruvato-descarboxilasa y la alcohol - deshidrogenasa.

En la primera etapa, el piruvato es descarboxilado a acetaldehído y CO₂.



La descarboxilación del piruvato para formar acetaldehído y CO₂ es esencialmente irreversible. La piruvato - descarboxilasa necesita Mg²⁺ y posee un coenzima íntimamente unido, el pirofosfato de tiamina (antes denominado cocarboxilasa), que es el éster pirofosfórico de la tiamina o vitamina B1, factor de crecimiento necesario para muchos microorganismos.

En la etapa final de la fermentación alcohólica, el acetaldehído se reduce a etanol y el potencial de reducción es proporcionado por el NADH + H⁺, en una reacción catalizada por la alcohol- deshidrogenasa.



En el proceso industrial de fermentación alcohólica por levadura se utilizan los carbohidratos contenidos en la materia portadora por la vía aeróbica y anaeróbica, en forma sucesiva.

Durante la etapa de crecimiento de los cultivos, los mismos son sometidos a una oxigenación fuerte, mediante la aireación del medio, lo que permite la utilización de la glucosa por oxidación completa. Este proceso rinde una gran cantidad de energía que en parte es fijada mediante el sistema ADP - ATP y posibilita el desarrollo de reacciones de síntesis celular, que consumen gran cantidad de energía. Una vez que el cultivo en el fermentador ha alcanzado el número de células necesario para la degradación óptima de la materia prima se elimina la aireación y las condiciones anaeróbicas se establecen en el medio por el consumo de oxígeno remanente y el desprendimiento de CO₂.

En las condiciones anaerobias, el aporte de energía a las células es muy pequeño comparado con el de la respiración y con las necesidades energéticas de la síntesis lo que implica que en estas condiciones no se produzca el crecimiento celular. La experiencia indica, no obstante, que aún en condiciones anaerobias existe una mínima reproducción celular a expensas y acorde con el pequeño aporte energético recibido por la célula. Este fenómeno es conocido como “Efecto Pasteur” (Quintero,R.R, 1981).

1.2-Materias utilizadas en el proceso de fermentación alcohólica y sus características.

Para la producción de alcohol han sido utilizadas diferentes fuentes de carbono como materia prima, estas deben poder ser transformadas con facilidad en azúcar fermentable, almidón o celulosa. Su uso práctico estará determinado por el rendimiento en alcohol, por su costo y el tipo de microorganismo que se utilice.

La utilización de una u otra materia prima varía de un país a otro. Varios autores entre ellos Palacio y Almazan (Palacio, H F1956, Almanza O), coincidieron en definir tres tipos de materias primas para la producción de etanol:

- 1- Materia azucarada (sustancias sacarinas).
- 2- Materias Amiláceas (sustancias feculantes)
- 3- Materias celulósicas.

Blanco (Blanco,G, 1982), incluye el cuarto grupo de materia prima.

- 4- Hidrocarburos gaseosos.

En las 3 primeras, el alcohol se produce por fermentación de azúcares con levaduras. La materia prima de la primera clase fermenta directamente. La segunda clase consta de hidratos de carbono complejos, como el almidón, que primero se deben convertir en azúcares fermentables mediante la acción de enzimas. Las sustancias celulósicas de la tercera clase se convierten en azúcares fermentables por hidrólisis con ácidos inorgánicos. La cuarta clase de materias primas se obtiene por hidratación del etileno o por hidrogenación del monóxido de carbono. Es evidente que este grupo no es objeto de análisis nuestro pues se obtienen alcoholes por vía sintética y no fermentativa.

- 1- Materias azucaradas (Sustancias sacarinas).
 - Azúcar de caña o remolacha.
 - Melazas.
 - Jugo de frutos.
 - Suero de leche.

Son los más fácilmente fermentables y en general basta la acción enzimática asociada al microorganismo para metabolizar el sustrato sin necesidad de tratamientos previos para la degradación de carbohidratos.

- 2-Materias amiláceas (sustancias feculantes).

- Cereales (arroz, maíz, cebada, malta, trigo, sorgo, avena, alforfón, centeno, mijo)
- Tubérculos (papa, yuca, boniato, mandioca, etc.)

Son aquellas que contienen almidón, que es un polisacárido cuya unidad estructural más sencilla es la glucosa.

Los almidones naturales, están compuestos de dos fracciones de polímeros de la glucosa: amilosa y amilopectina. El almidón no es fermentable directamente por lo que requiere un tratamiento previo, que puede ser químico o enzimático con el fin de ser llevado a formas más simples que si pueden ser fermentables (Ej. Glucosa y maltosa). Este proceso se conoce con el nombre de sacarificación.

El alto costo de los granos invalida el proceso de producción de alcohol a partir de estas sustancias (Conferencia,1992) y la no existencia en nuestro país de grandes excedentes de los mismos.

3- Materias celulósicas:

- Madera.
- Bagazo.
- Residuos lignocelulósicos(bagazo, hoja, cogollo).

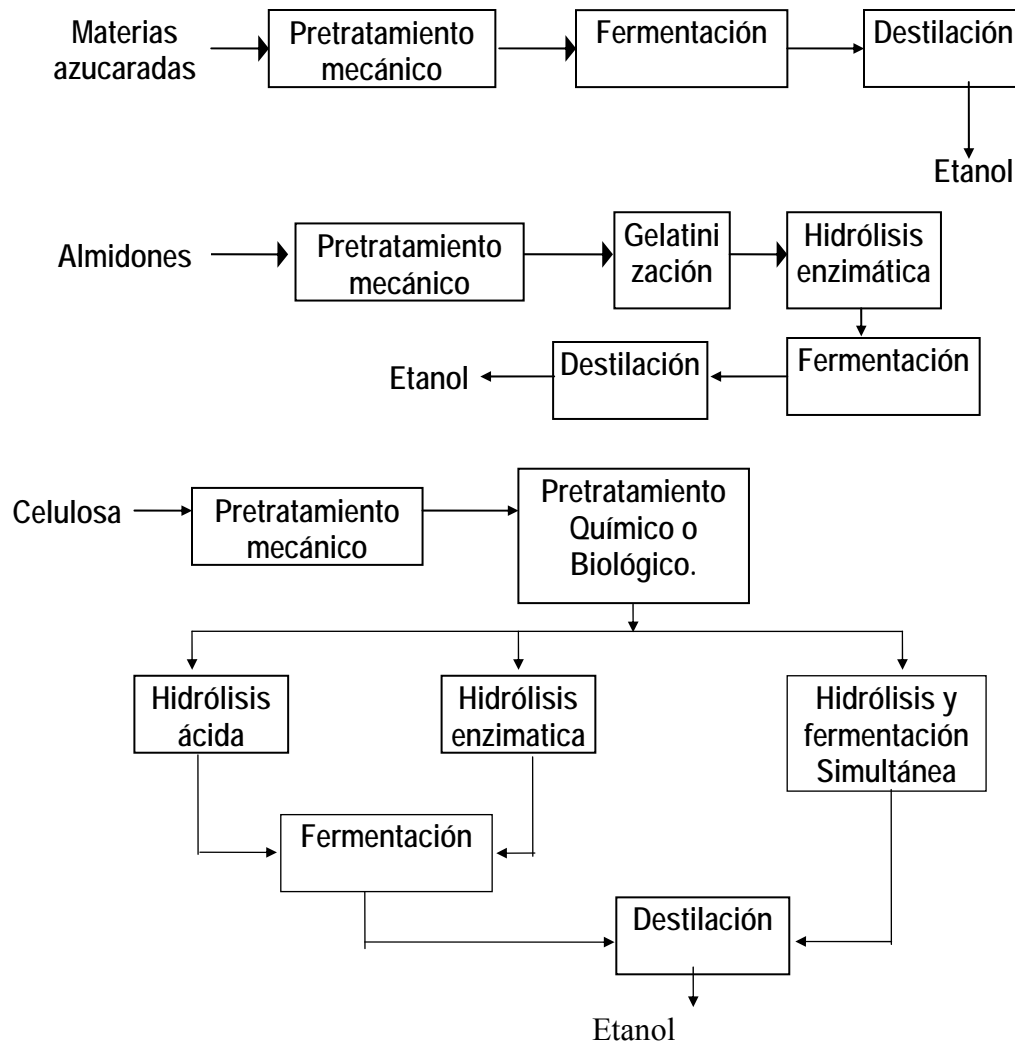
Los materiales celulósicos están presentes en las fibras vegetales, el polisacárido componente se denomina celulosa y pueden ser sacarificados o hidrolizados, por medios químicos, pero más enérgicamente que en los almidones. Es el tipo de materia prima más abundante, pero a pesar del bajo costo del sustrato, el costo de la inversión biológica es muy alto, por tanto se hace necesario realizar un estudio comparativo para considerar seriamente la aplicación económica de los materiales celulósicos para la obtención de alcohol (Nikitin, G.A, 1981).

4-Hidrocarburos gaseosos:

El alcohol es obtenido aquí por hidratación del etileno o por hidrogenación del monóxido de carbono.

Estos aspectos están recogidos en la siguiente figura.

Figura 1. Esquema general de obtención de alcohol de acuerdo a la materia prima empleada



(G.P. Marcos, 1989), en el caso más complejo, plantea que el proceso global de obtención de alcohol por vía fermentativa puede dividirse en las siguientes etapas de acuerdo a la materia prima empleada:

- a) Pretratamiento de materias primas.
- b) Hidrólisis o sacarificación.

- c) Fermentación.
 - d) Separación y purificación del etanol.
-
- a) Pretratamiento de la materia prima: tiene como objetivo preparar el sustrato a utilizar cuando esta es poco asequible a la hidrólisis o transformación posterior.
 - b) Hidrólisis o sacarificación: tiene como finalidad la transformación de polímeros de glucosa en azúcares sencillos. Cuando la materia prima es almidón se efectúa mediante enzimas, mientras que si es celulosa puede emplearse tanto la hidrólisis ácida como enzimática.
 - c) Fermentación: Proceso que transforma en alcohol los azúcares obtenidos en la fase anterior. Esta es la etapa que vamos a analizar detenidamente en nuestro trabajo.
 - d) Separación y purificación: La destilación es el método empleado industrialmente para separar el etanol de la masa de fermentación y purificarlo. Nuestro estudio no incluye esta etapa aunque sería necesario conocer de la calidad del alcohol producto a que este se forma en la etapa de fermentación y nos permite llegar a conclusiones más adecuadas sobre la materia prima empleada así como los microorganismos.

Los procesos empleados en la fabricación de etanol por fermentación dependen de la naturaleza de la materia prima.

Para los países productores de azúcar de caña como Cuba, tiene gran importancia el empleo de la miel, como fuente de carbono para la fermentación alcohólica, materia prima tradicionalmente empleada para este fin.

1.2.1- Melazas.

La palabra miel o melaza se deriva del latín mel que significa miel y del sufijo español aza que expresa tamaño grueso, de calidad inferior.

La miel final o producto final de la fabricación de azúcar se denomina melaza o jarabe de purga. Es un líquido oscuro, denso y viscoso que se separa de la masa cocida de baja calidad y de la cual no se puede cristalizar más azúcar por métodos convencionales y económicos.

- Miel Final.

La miel final como materia azucarada tiene una composición compleja la cual depende de la variedad de la caña, los distintos tipos de suelo, la influencia de la lluvia y del proceso empleado en la fabricación del azúcar. De todos estos factores el único que puede ser modificado es el proceso de fabricación.

Los componentes principales de la miel lo constituyen el agua que se encuentra en su mayor parte como agua libre y otra parte retenida como agua de hidratación, los hidratos de carbono, el azúcar presente en la miel se encuentra fundamentalmente como sacarosa, glucosa, fructuosa y pequeñas cantidades de manosa en mieles almacenadas. En su composición están presentes los no azúcares orgánicos e inorgánicos, entre los que se pueden citar los compuestos nitrogenados, ácidos, aminoácidos, albúminas, vitaminas, ceras, esteroides, lípidos, sales minerales o cenizas etc.

La miel está constituida también por una fracción de origen mineral de gran importancia en la que se encuentran más de 20 metales y no metales en distintas proporciones.

En Cuba, por su condición de gran productora de azúcar de caña y por el desarrollo de la industria azucarera, se han explotado las riquezas de la caña de azúcar y sus derivados, no obstante, la industria del alcohol no ha tenido mucho desarrollo y su importancia no ha sido resaltada en su justa medida. Entre los factores que han propiciado el no desarrollo vertiginoso de la industria alcoholera se destaca muy por encima de los demás, el referido a la materia prima, fundamentalmente las mieles finales, que de acuerdo con su precio en el mercado, su disponibilidad y los destinos de su mejor uso han marcado la efectividad económica de esta producción, por otra parte, el bagazo de caña con un precio mucho menor, es también una fuente de azúcares fermentables poco considerada dado los altos costos requeridos en su pretratamiento. Además la tecnología con potencial para su

explotación instalada en nuestro país, sin ser sometida a grandes cambios atenta en cierta manera contra el desarrollo de nuevas alternativas.

Una parte considerable de las destilerías actualmente en operación en Cuba se encuentran anexas a centrales azucareros, utilizando como materia prima fundamental la miel final procedente de estos. No obstante la ventaja de cercanía entre las plantas ,que posibilita el aprovechamiento de corrientes del central y un eficiente acoplamiento energético , no se ha explotado desde el punto de vista técnico –económico , aunque en los últimos años se han realizado estudios e investigaciones que persiguen algunos de estos fines , como el uso de diferentes tipos de mieles , jugos del proceso de producción de azúcar como jugo crudo y clarificado, jugo de los filtros además del bagazo propiamente dicho para la producción de alcohol.

Por otra parte, un factor importante a considerar en la industria del alcohol son los grandes volúmenes de vinaza o mosto generados por las tecnologías tradicionales y a partir de materiales lignocelulósicos para la producción de alcohol en el país, cuyas características potencian su poder contaminante. Desde que el control ambiental se ha tornado mas exigente y se ha tratado de dar un uso a los mostos que minimice su efecto perjudicial, se han utilizado como fertilizantes, alimento animal, fuente de obtención de biogás o reciclándolo al proceso, lograndose con eso una disminucion del impacto ambiental de estos residuos.

- Miel B.

En los trabajos de Suárez y Michelena (Suarez M.B,Michelena G.L, 1988), se realiza el estudio de la miel B en la fermentación alcohólica, en ellos se utiliza para fermentar la miel B procedente de 11 centrales azucareros y se comparan los resultados con un patrón de miel C. Se simularon las condiciones de las destilerías cubanas, realizándose fermentaciones discontinuas en condiciones no estériles con concentraciones iniciales de azúcares de 110 - 150 g /L a escala de banco de laboratorio, inoculados en un cultivo puro de levadura industrial.

La velocidad máxima de formación de alcohol empleando miel B fueron como promedio 30 % mayor que los obtenidos, con el patrón de miel C, por lo que resulta recomendable realizar estudios de fermentación continua de miel B.

El rendimiento alcohólico fue superior para la miel B que para la C por lo que es factible realizar la fermentación a partir de esta fuente carbonada. No se encontró inhibición por azúcar y por alcohol en el rango de concentración estudiada.

La sustitución de la miel B disminuye los costos de materia prima para una tonelada de alcohol, pero este beneficio se ve disminuido cuando se comparan los rendimientos en alcohol con azúcar dejada de producir.

La producción de alcohol a partir de la miel B sigue siendo solo una solución estratégica donde más que los costos, determinan toda la problemática del trasiego de mieles y la ausencia de materia prima disponible en la industria nacional.

- Mieles ricas invertidas y mieles integrales.

Las mieles ricas invertidas y las mieles integrales se producen a partir del jugo de caña, mediante la concentración del jugo e inversión de la sacarosa. La diferencia entre ambas mieles, es que las integrales no se clarifican, se obtienen al invertir y concentrar el jugo con todos sus componentes.

Las mieles ricas invertidas y las integrales se obtienen en cualquier central azucarero, con la mayor parte de los equipos existentes y prácticamente sin ninguna instalación adicional, solo es necesario disponer de ácido o levadura invertasa para su inversión y prever capacidades suficientes para el almacenamiento de la miel. Estas mieles se emplean fundamentalmente en la destilación ya que su alto contenido de azúcar los hace una materia prima ventajosa para este fin.

1.2.2- Jugos procedentes de la caña de azúcar.

Jugo de caña

El jugo de la caña es otra de las alternativas más ampliamente usado en la producción de etanol. Su utilización como sustrato de acuerdo a su procedencia requiere algunos criterios y formas de prepararlos. Algunos autores proponen su mezcla con azúcares o mieles para buscar un enriquecimiento del material o en su defecto una concentración por evaporación para lograr un contenido más alto de azúcares. Otros plantean la producción de alcohol sobre la base del jugo de caña tal como sale de los molinos, concentrando una cierta cantidad para su utilización en período de no zafra.

Para la producción de etanol también puede usarse jugo crudo y clarificado, estudios realizados muestran que la presencia de materias extrañas en el jugo crudo afecta negativamente el proceso como prefiriéndose los jugos clarificados independientemente el efecto deteriorativo sobre los azúcares libres, además el jugo clarificado presenta contenidos típicos de sus componentes principales como son: Azúcares reductores totales, nitrógeno y fósforo (Mansur M; Cuellar A, 1990).

Cuando se utiliza jugo de caña como sustituto de la miel, el rendimiento alcohólico promedio resulta de 17 a 19 t de caña por tonelada de alcohol base 100° GL.

Un estudio reciente de alternativas de la combinación de sustratos para la fermentación alcohólica, con la utilización del jugo de los filtros y del mosto de destilería como sustratos para la obtención de alcohol, ha demostrado la gran utilidad que tiene la utilización de estos dos componentes en la preparación de vinazas , se reportan resultados satisfactorios en cuanto al grado alcohólico alcanzado y a la disminución de residuales en un porcentaje bastante elevado.(Cruz Soriano, 2000, Correa Y.,1997).

- Jugo de los filtros de cachaza.

El jugo de los filtros de cachaza se puede definir como la corriente intermedia o filtrado que se obtiene en la operación de separación de la torta de cachaza extraída del jugo

clarificado en el proceso de fabricación de azúcar crudo. Se considera conflictivo en dicho proceso ya que contiene polisacáridos como el almidón y la dextrana que afectan el propio proceso de clarificación y operaciones posteriores a causa del aumento de viscosidad del jugo clarificado, meladura, masa cocida, etc. que afecta inclusive la calidad del azúcar crudo. Esta afectación del producto terminado se extiende aún más, cuando el mismo se somete al proceso de refinación, pues dificulta y disminuye la eficiencia de las operaciones de purificación de los licores en las refinерías de azúcar.

Por todo lo anteriormente planteado esta corriente puede afectar la producción de azúcar, ya sea por dificultad tecnológica o mecánica disminuyendo la calidad del azúcar. Este jugo puede ser decantado para su uso posterior como sustrato en fermentación alcohólica.(Namer I ,1986).

Hasta el momento, la referencia que se tiene de la utilización de los jugos para fines diferentes a la fabricación de azúcar es su utilización industrial en las llamadas destilerías autónomas brasileñas para producir alcohol con jugo mezclado como fuente de carbono. En Cuba se ha utilizado para sustituir parcialmente la miel final de caña en la producción industrial de levadura forrajera así como en la de alcohol. Han sido realizado los estudios de la mezcla de vinaza de destilería para hacer la sustitución total de la miel final en plantas de levadura.

Esta integración de sustratos en un Complejo Agroindustrial azucarero sería económicamente ventajosa para la producción integral azúcar- alcohol - levadura.

Desde el punto de vista de la economía la valoración de los jugos de los filtros podría efectuarse por diferentes vías: costo real o aproximado de obtención, precio equivalente.

Como sustituto de la miel final y también por el azúcar crudo y la miel final dejada de producir al desviar esta corriente.

Los parámetros propuestos por el ministerio del azúcar para la fermentación alcohólica de mezclas de miel final con jugo de los filtros han sido verificados con vista a futuras pruebas industriales, se concluyó que es necesario clarificar previamente los jugos

recomendando el empleo de poliacrilamida 7 ppm como floculante, fluctuando los rendimientos en la fermentación entre 49,3 - 58,6 ml / 100g de ART. (Michelena G.L, 1988).

Trabajos posteriores reportan el empleo del jugo de los filtros clarificados en la fermentación alcohólica con similares resultados. (García,R, 1997),

Por otra parte (Martínez E,1987) realizó trabajos donde evaluó el jugo de los filtros en la obtención de alcohol, concluyendo que aunque el consumo de jugo por hectolitro de alcohol referido a las mieles se incrementa debido a la disminución de azúcar presente en el mismo, su utilización reporta grandes ventajas desde el punto de vista tecnológico al proceso y como sustituto de una parte de la miel final que pudiera destinarse a otros usos.

1.2.3- Mosto o vinaza de destilería.

Se entiende por mosto de destilería el residuo que se obtiene al destilar la miel final que ha sido sometida a una fermentación alcohólica, aunque en muchos países templados se utilizan cereales para la producción de alcohol, denominándose también mosto o vinaza a la fracción agotada que emerge de la columna de destilación.

Existen diferencias notables entre ambos tipos de mostos, aún entre los mostos provenientes de miel final de caña o los obtenidos en procesos a partir de materiales celulósicos. En general, los mostos de mieles finales de caña presentan un menor contenido de nitrógeno y un mayor contenido de minerales, que los de cereales remolacha u otros materiales celulósicos, por lo cual su utilización en la alimentación animal es más limitada a escala mundial.

Las vinazas residuales de nuestras destilerías actualmente están provocando en el país serias alteraciones ecológicas por las altas temperaturas, carga orgánica y bajos valores de pH a que se vierte en el mar, ríos y suelos en cantidades entre 350-750 m³/día aproximadamente al no emplearla en otros procesos industriales, como materia prima, por ejemplo en la producción de levadura torula, producción de alcohol o ir hacia

métodos de tratamiento. Este constituye un residual altamente contaminante, el que de ser eliminado en uno u otro por ciento estaríamos contribuyendo a la preservación del ambiente; además constituye un sustrato barato ya que es un residuo del proceso.

El efluente de vinaza puede llegar a ser del orden de 8 a 13 veces el volumen del alcohol producido. Se reporta que, para una destilería de alcohol de tamaño medio que procesa 200 toneladas métricas por día de melazas, las vinazas serán similares a los residuos del alcantarillado de una ciudad de hasta un millón de habitantes.(Kujol P, 1979), De ahí la necesidad de emplear las vinazas con fines que disminuyan su contaminación y a la vez sean productivos.

Los mostos tienen varias aplicaciones, estos pueden ser utilizados como alimento animal después de pasar por evaporación, como fuente de energía al ser quemado en calderas de recuperación (Armas M.C, 1985), producción de biogás y proteína unicelular, ya que el 50% de los mostos cubanos están formados por materias reductoras, ácidos volátiles y alcohol con potencialidad de producir proteína, algunos autores (González M^a D; Vazquez M, 1989, Almacida M; Pérez J, 1987, Silvia M.G, 1981), refieren la posibilidad de usar hasta 20 % de mosto concentrado sin presentar problemas y con un contenido similar a la miel final de caña y 70 % de digestibilidad de la proteína en rumiantes, además se ha valorado su utilización como biofertilizante por su alto contenido de potasio, fósforo y nitrógeno, son capaces de sustituir considerables cantidades de fertilizantes orgánicos y minerales artificiales (Obaya M.C; Valdés E; 1988,).

Con la utilización de las vinazas en la fermentación alcohólica, surge la posibilidad de aprovechar eficientemente los nutrientes y los azúcares residuales no fermentados. Mediante la recirculación de las vinazas aquellos componentes fermentables o presentes originalmente en vinazas provenientes de ineficiencias en la etapa de fermentación, tienen mayor oportunidad para un ataque secundario de las levaduras con un aumento correspondiente en la producción de etanol (Kujol P, 1999).

En el mundo se han realizado diversas investigaciones encaminadas al estudio de la fermentación alcohólica con recirculación de vinazas existiendo además fábricas de alcohol que implementan la recirculación de vinaza y tecnologías planteadas como la Biostil de la firma Alfa-Laval.

1.2.4- Utilización de otros sustratos.

Además de la utilización de las mieles, jugo de los filtros y vinazas utilizadas en el proceso de producción del etanol, se encuentran otros sustratos que pueden ser empleados como materia prima en la obtención de alcohol entre ellos tenemos:

- Fermentación de frutas secas: Pues el aprovechamiento técnico fermentativo de las frutas secas en regiones subtropicales donde se produce en cantidades superiores al consumo, presenta gran interés. Se puede considerar como ejemplos las pasas, dátiles, trigo y algarrobos.
- Transformación de patatas en alcohol: Las patatas crudas trituradas mecánicamente pueden macerarse y someterlas a la fermentación.
- Transformación del maíz en alcohol: Por el método amylo, se prepara el macerado procurando que en la cuba de fermentación entre aire filtrado, excepto gérmenes, este método se aplica al arroz también, pues como contiene almidón, presenta ciertas dificultades en la fermentación, ya que si se sacarifica con malta no se puede avanzar más en la hidrólisis de dextrina que se encuentra en la cuba de fermentación y la levadura no la aprovecha.
- Obtención de alcohol a partir de lechada de malta: La malta se tritura, se mezcla con agua durante un tiempo determinado y se transforma en una emulsión lechosa que luego se sacarifica.
- Fermentación alcohólica del suero de la leche (.” Hernández.ML, 1993): El suero contiene un cierto número de microorganismos que interfieren e incluso, inhiben la

fermentación alcohólica. Por otra parte los componentes del suero son las sustancias de descomposición de las albúminas, fosfatos etc., por tanto cubren las necesidades en sustancias nutritivas del agente fermentativo de que no es necesario incorporar al medio, sulfato y fosfato para que se efectúe la fermentación.

- Fermentación del sorgo de remolacha: Para lixiviar mejor las rodajas se tratan con gas sulfuroso, se deshidratan para facilitar el transporte, se unen con la menor cantidad de agua posible en presencia de ácido sulfúrico y se rallan hasta obtener un papilla muy fina que puede fermentar directamente adicionando sustancias extractivas de la remolacha que contiene nitrógeno orgánico. Cuantos más azúcares contenga la remolacha tanta menor cantidad se requiere para obtener un hectolitro de alcohol y tanto menor resulta el costo para la misma cantidad de alcohol.

Existen otros productos vegetales dignos de considerar para la producción de alcohol como: yuca, sorgo azucarado y diversos granos en regímenes secos.

La tabla siguiente ofrece una comparación del tonelaje aproximado y el rendimiento alcohólico de diversos cultivos (Brazil Azucarero, 1982)

Tabla #1. Comparación del rendimiento alcohólico en diversos cultivos.

CULTIVO	RDTO DEL ALC (l/ton)	RDTO DEL CUL (ton/ha)	PRODUCTIVIDAD DE ALCOHOL (l/ha)
Caña	70	70	4900
Yuca	180	20	3600
Sorgo azucarado	86	35	3010
Trigo	340	1.5	510
Trigo (alto rdto)	350	3.0	1050
Maíz	370	6.0	2220
Cebada	250	2.5	625
Papas	11	25	2750
Arroz	430	2.5	1075

Uvas	130	25	3250
Boniatos	125	15	1875

La alternativa de emplear los residuos lignocelulósicos en la producción de Alcohol, constituye hoy día una posibilidad altamente prometedora por su amplia disponibilidad en el mundo (Fontes,J.B, 1979).

La fracción celulósica y las hexosas que constituyen la hemicelulosa y se encuentran presentes en los residuos lignocelulósicos, pueden hidrolizarse para, con posterioridad, convertirse en etanol.

La idea de producir etanol a partir de los residuos lignocelulósicos, data de las décadas de 1940 y 1950, y su producción se ha llevado a escala comercial en algunos países, principalmente en Alemania, Estados Unidos y los países que conformaban la Unión Soviética.

La producción de etanol a partir de la lignocelulosa entrega también, cantidades apreciables de lignina y hemicelulosa, los cuales pueden ser empleados en la generación de energía (Pelayo O.C ,1990).

1.3- Colusiones parciales

1. Existe un gran número de materias primas con potencialidades para ser fermentadas para le producción de bioetanol.
2. Los materiales lignocelulósicos se presentan como una opción viable para ser utilizados como materia prima para la producción de bioetanol por su abundancia y su bajo precio.

Capítulo II

Tecnología del proceso de obtención de etanol a partir de materiales lignocelulósicos.

2. Tecnología

2.1. Generalidades

Cualquier producto que contenga azúcares fermentables o hidratos de carbono transformables en aquéllos (almidón o celulosa) puede servir para obtener alcohol. Dado esto, se hace necesario analizar con detalle el rendimiento de este proceso de conversión de la biomasa en alcohol combustible. Es necesario además evaluar su viabilidad técnica y económica debido a que cuando la materia prima es rica en almidón o celulosa, es necesario someterla previamente a ciertos tratamientos para transformarla en azúcares fermentables. Se distinguen tres grandes grupos de sustratos susceptibles de a ser fermentados a alcohol:

- **Materias azucaradas:**
 - Mostos y jugos de diversas frutas.
 - Remolacha y caña de azúcar
 - Sorgo azucarado
 - Algarroba
 - Mandioca

- **Amiláceas: Cereales**
 - Maíz
 - Cebada
 - Malta
 - Trigo
 - Avena
 - Centeno
 - Arroz

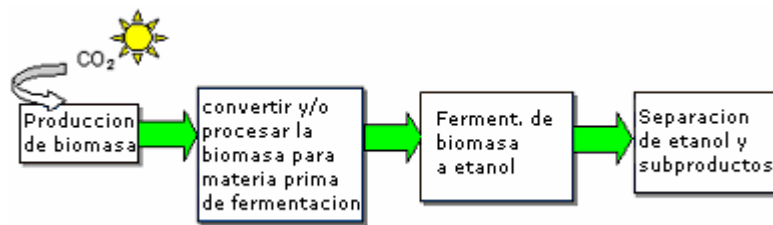
- **Celulósicas:**
 - Madera
 - Bagazo de caña de azúcar
 - Residuos de paja de trigo
 - Despojos de maíz
 - Líquidos residuales del papel
 - Pulpa de remolacha

En nuestro país tradicionalmente el etanol se ha producido por fermentación de materias primas azucaradas principalmente las mieles finales. Sin embargo, esta materia prima constituye una importante fuente de alimentos y su disponibilidad no es suficiente para cubrir la demanda potencial de etanol con fines combustibles ya sea en mezclas con carburantes tradicionales o para su utilización como materia prima en celdas combustibles. Las materias primas azucaradas representan una parte significativa y determinante del costo total de producción del etanol por lo que las producciones de grandes cantidades de alcohol solamente serán rentables solo si se emplean materiales que se encuentren en abundancia y de bajo costo.

El bagazo de la caña de azúcar, los residuos de la agricultura no cañera y algunas malezas ricas en celulosas serían los materiales más disponibles y factibles para esta incipiente industria alcoholera. El bagazo, principal residuo de la industria azucarera, es el material que por su alto contenido de glúcidos, su bajo costo y su disponibilidad podría ser la mejor opción para la producción de etanol en Cuba. La utilización del bagazo para la producción de etanol contribuiría a la diversificación de la industria azucarera, una necesidad urgente para nuestra economía.

La tecnología de producción de bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos se ha venido investigando desde hace algunas décadas y existen 4 etapas fundamentales que son necesarias en dicho proceso:

1. La producción de biomasa, resultado de la fotosíntesis.
2. Conversión de la biomasa en una materia prima adecuada para la fermentación.
3. Fermentación.
4. Purificación del etanol producto.



Cada uno de estos pasos se traduce en una serie de etapas que son imprescindibles al tratar los materiales lignocelulósicos para la producción de etanol, sin importar el diseño conceptual que se adopte en este sentido:

- Preacondicionamiento de la materia prima, tiene como objetivo tornar el material y hacerlo accesible a los procesamientos posteriores
- Pretratamiento de la materia prima, su objetivo es llevar a cabo la biotransformación esencial, liberar las hemicelulosas presentes en el material.
- Hidrólisis de los polímeros constitutivos, en esta etapa es liberada la glucosa contenida en los materiales lignocelulósicos.
- Fermentación de hexosas y pentosas.
- Concentración hasta los niveles deseados por el productor.

Estas funciones pueden ser logradas mediante distintas técnicas, las cuales se pretende analizar a continuación con el enfoque de la ingeniería de procesos: factibilidad técnica sumada a viabilidad económica.

2.1.1. Preacondicionamiento

Dada la naturaleza cristalina del polímero celulósico y su asociación natural con la hemicelulosa en una matriz de lignina, resulta un material sumamente refractario a los ataques químicos. De esta propiedad surge el requerimiento de someter la materia prima lignocelulósica a un pretratamiento, antes de su ingreso al proceso de hidrólisis propiamente dicho.

Los pretratamientos aplicables en este sentido se clasifican en físicos, químicos, biológicos, y combinaciones de mas de una de dichas clases.

Estos pretratamientos modifican la masa lignocelulósica por:

- Desfibración
- Solubilización y remoción de la hemicelulosa
- Reducción del grado de polimerización de la molécula de celulosa
- Alteración de la lignina

En la tabla 2.1 del anexo 2, se muestra una clasificación general de los métodos de pretratamientos de materiales lignocelulósicos seguidos en procesos de producción de etanol. De las distintas variantes que aquí se relacionan podemos mencionar que llevar a

cabo esta etapa utilizando tratamientos químicos trae consigo la generación de residuos altamente contaminantes de difícil tratamiento además de incurrir en inversiones adicionales en tecnologías para la recuperación de los solventes u otras sustancias químicas utilizadas las cuales generalmente poseen altos precios en el mercado y sin la etapa de recuperación el proceso no sería viable económicamente. Por estas razones, nos inclinamos en este caso por un acondicionamiento de tipo físico. Existen otras formas de acondicionamiento utilizando tratamientos con ácidos, álcalis, con agentes biológicos e incluso utilizando explosión con vapor las cuales son más útiles después de haber disminuido el tamaño de partícula del material a utilizar por lo que el acondicionamiento físico de molienda se ha convertido en una etapa de obligatoria en el proceso relegando a segundas etapas a los acondicionamientos antes mencionados y convirtiéndolos en pretratamientos antes de la fermentación.

El acondicionamiento físico el cual fue relacionado en la tabla 2.1 del anexo 2 con mayores perspectivas para una posible tecnología cubana de producción de bioetanol es la operación de molienda que no genera prácticamente valor añadido a la materia prima original, pero que resulta imprescindible para asegurar la accesibilidad de las fracciones poliméricas a los pasos sucesivos del proceso. Esta es una etapa que en pocas ocasiones es considerada a la hora de llevar a cabo el tratamiento de los aspectos científicos básicos del proceso, sin embargo, desde el punto de vista de la ingeniería, adquiere relevancia cuando deben considerarse sus costos en energía y equipamiento.

En consecuencia resulta necesario cuantificar los requerimientos de energía de esta etapa como una función del tamaño final de partícula, con el objetivo de establecer un compromiso entre dicho requerimiento, los costos asociados, y la adecuación del material para las siguientes etapas de transformación.

El tamaño de partícula es indicativo de la macroaccesibilidad del sustrato, y puede resultar de alguna forma representativo de la superficie específica expuesta a la acción de la hidrólisis, aunque no resulte el factor determinante en la hidrólisis enzimática (Rivers y Emert, 1988)

Algunos tipos de molienda, tales como la obtenida en un molino de bolas, a través de mecanismos que no se han estudiado a profundidad, mejoran la hidrólisis enzimática más allá del simple efecto de la reducción de tamaño sobre el incremento de área expuesta, esto

podría ser debido a una reducción de la cristalinidad inherente de la celulosa a causa de una molienda vigorosa (Tsao y *col.*, 1987)

Al emplear un sustrato finamente dividido se alcanzan mayores concentraciones de la suspensión, reduciendo con esto los volúmenes del reactor. Además con la molienda no ocurren cambios significativos en el sustrato. Sin embargo tiene la desventaja de la elevada demanda energética y luego de esta operación, la lignina continúa inhibiendo el acceso de las enzimas al sustrato. Por otra parte, los procesos que requieren partículas muy finas, condiciones severas de tratamiento, etc, llegan a consumir cantidades de energía tan elevadas que terminan resultando en técnicas globalmente ineficientes como para justificar tenerlas en cuenta a la hora de realizar un estudio para su escalado a nivel industrial.

Considerando la metodología de reducción de tamaño de partícula, los molinos de bolas resultan los más prometedores desde el punto de vista de la velocidad de hidrólisis y rendimientos de azúcar. Sin embargo, los tiempos requeridos para alcanzar dichos resultados vuelven impracticable esta operación a gran escala. Se tienen como ejemplo rendimientos de hasta 260 g de azúcar/Kg. de paja de trigo, luego de 8 horas de molienda en un molino de bolas, en comparación con 160 g/Kg. para molinos de rodillo durante 0.25 h (Fan y *col.*, 1981).

De acuerdo con la información anterior y teniendo en cuenta que el consumo de energía en estos equipos es directamente proporcional al tiempo que este demore para realizar la operación, sugerimos que un molino de rodillos por presión sería el más adecuado para la molienda del bagazo proveniente de nuestra industria azucarera ya que en un tiempo menor a la mitad del requerido por un molino de bolas se pueden alcanzar los mismos niveles de concentración de azúcares por Kg. de material tratado.

Se debe tener en cuenta además el consumo energético del molino de rodillos por presión y según datos recogidos en la literatura, dicho molino puede procesar maderas duras y mantenerse trabajando por debajo de los 30 KWh/Ton de materia prima procesada, manteniendo un régimen de operación que asegure un tamaño final de partículas en el rango de 3 a 6 mm. Esta consideración se complementa con la mención previamente efectuada acerca de la relativa influencia de tamaños de partículas inferiores sobre la accesibilidad para la degradación enzimática de la celulosa.

Otro aspecto de suma importancia es lo referente a no circunscribirse al bagazo como única materia prima ya que el tiempo de zafra dura solamente unos pocos meses y el resto del año la planta debe seguir trabajando y para eso debe estar preparada para procesar otros sustratos tales como residuos de la agricultura no cañera e incluso algunas malezas ricas en celulosa. Para esto dicho molino se ajusta por sus rendimientos y demanda energética, la que mejoraría mucho si se procesaran materiales más blandos que el bagazo.

También se ha ensayado la molienda húmeda: sacarificación simultánea de residuos lignocelulósicos. Este método provee una generación continua de nuevos puntos accesibles para la enzima a medida que la sacarificación avanza trayendo consigo altos rendimientos y una elevada conversión. Un factor en su contra es que, los requerimientos energéticos son altos, del orden de 8KWh/Kg (Ryn y Lee, 1983).

Existe una variante de este procedimiento que incluye, además de la molienda, que en este enfoque ingenieril se ha descrito como una etapa de precondicionamiento, a la irradiación gamma.

La radiación gamma origina la depolimerización, la descomposición de los carbohidratos y la reducción de cristalinidad, factores concomitantes en el mejoramiento de etapas posteriores de hidrólisis ácida o enzimática (Han y Ciegler, 1982). Esta etapa al menos en nuestras condiciones queda descartada por lo costoso que resulta este tratamiento.

A continuación se llevará a cabo un análisis de las distintas opciones de pretratamiento que han sido desarrolladas para procesos de producción de etanol a partir de materiales lignocelulósicos.

2.1.2. Pretratamiento.

2.1.2.1. Pretratamientos Químicos.

Los pretratamientos químicos son empleados como medio de remoción de la lignina así como para la modificación estructural de materiales lignocelulósicos. Los procesos convencionales de pulpado (Kraft, sulfito, etc.) son aplicados en la industria del papel, por ejemplo, para la delignificación de la materia prima a la vez que se preserva cualitativamente la celulosa. Sin embargo estos procesos resultan demasiado caros para su empleo como pretratamiento en la bioconversión en etanol de los sustratos lignocelulósicos.

En los pretratamientos ácidos se pueden emplear, en bajas concentraciones, los ácidos clorhídrico, sulfúrico o fosfórico, para hidrolizar selectivamente la hemicelulosa a pentosas, hexosas, y ácidos acético y urónico principalmente. El producto resultante luego de llevar a cabo este tratamiento, contiene básicamente celulosa y lignina, es altamente poroso y estructuralmente débil, factores que incrementan la accesibilidad enzimática para lograr altos rendimientos en la digestión de la celulosa (Burastero y *col.*, 1987).

En este proceso la temperatura óptima de operación fluctúa entre 80 y 230°C, la concentración entre 0,2% a 2,4% de ácido, y espacios de tiempo relativamente cortos de tratamiento, con los cuales es posible alcanzar rendimientos de azúcar entre 38 y 81% del teórico, que según (Wenzl y *col.*, 1970) este es alrededor de 470 g de azúcar/Kg. de material lignocelulósico tratado, debido a la formación de coproductos en muchos casos.

Similar efecto al expuesto anteriormente, puede conseguirse al mantener la biomasa a temperaturas entre 175 y 225 °C por espacio de 1 a 2 horas. En estas condiciones se generan ácidos orgánicos que disminuyen el pH e incrementan la velocidad de hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa a azúcares simples. Como es de esperar, los costos de este modo de proceder suelen ser elevados debido al alto consumo de energía requeridas para mantener estas condiciones de proceso durante un tiempo relativamente largo (Colberg y *col.*, 1981).

Al usar álcalis en el tratamiento de materiales lignocelulósicos, como la sosa cáustica, esta origina un hinchamiento de la biomasa, incrementando su área superficial, con esto la superficie de contacto, y un desgarramiento de la matriz de lignina. Tenemos que agentes tales como el agua actúan al nivel intercrystalino, originando en el material tratado un cambio de volumen aproximadamente equivalente al del agua absorbida, sin mayores modificaciones de la estructura cristalina de la celulosa. Los agentes más activos, tales como los álcalis (hidróxido de sodio, algunas aminas, amoníaco), penetran tanto las regiones amorfas como las cristalinas de la celulosa, modificando su cristalinidad en el sentido de mejoramiento de la digestibilidad enzimática (Rivers y Emert, 1988).

Las condiciones de operación para este tratamiento alcalino son variables, dependiendo tanto del sustrato como de los reactivos empleados. Los rangos dentro de los que se opera se encuentran entre 80 y 180°C, tiempos de reacción de 1 a 3 horas, concentraciones alcalinas entre 0,5 y 2,5% y rendimientos en azúcar muy variables según la materia prima usada, entre 17 y 94% de los valores teóricos, estos pueden alcanzar hasta 340g de azúcar/Kg. de

material tratado (Camacho y col., 1987). El cáustico más usual es el hidróxido de sodio, aunque también se emplean el hidróxido de calcio, el carbonato de sodio y otros.

El pretratamiento con solventes orgánicos, puede desintegrar la estructura biomásica, al tiempo que rompe la barrera de lignina, eliminando así en un solo paso los dos mayores impedimentos que impiden la hidrólisis celulolítica (Hansen y April, 1982; Schaffeld y col., 1985)

En rigor, la celulosa no requiere ser disuelta, sino simplemente embebida en el solvente orgánico, para desintegrar la estructura cristalina, lo que resulta en mucho menor consumo de solvente que el requerido para formar una solución líquida verdadera (Tsao y col., 1987)

La lignina también es soluble en soluciones alcohólicas, de n-butanol o etanol, por ejemplo. Al usar solventes orgánicos en la extracción de la lignina, esto implica un tratamiento de la lignocelulosa con el solvente orgánico acuoso en presencia de un catalizador. Los catalizadores primarios son ácidos de Lewis (ejemplos: $AlCl_3$ en $FeCl_3$). Durante el proceso son liberados ácidos orgánicos de la lignocelulosa los cuales aceleran la delignificación, y son también responsables de la solubilización de las hemicelulosas. El proceso generalmente se realiza a altas temperaturas y presiones, produciendo un sustrato que es altamente degradable por enzimas y microorganismos. En este tipo de extracción, se genera como co-producto la lignina, la cual presenta un alto valor agregado, lo cual es una ventaja potencial para este tipo de proceso ya que contribuye a su abaratamiento (Bungay, 1981; Katzen y col., 1980).

Con este fin han sido empleados otros tipos de solventes como el etilenglicol y el ácido paracético. La principal dificultad encontrada en este proceder ha sido a la hora de establecer las condiciones que permitan la extracción selectiva de lignina sin disolución de hemicelulosas. Los solventes son recuperables y reciclables, por tanto, al usar solventes orgánicos de estas características, se hace necesario instalar el equipamiento necesario para llevar a cabo la recuperación de estas sustancias, abaratando de este modo los costos de operación a expensas del encarecimiento del costo de instalación de la planta. (Pannir Selvam y Ghose, 1980)

Las condiciones operativas del pretratamiento con solventes orgánicos varían en un rango bastante amplio. Los solventes utilizados incluyen el butanol en medio alcalino o en solución acuosa, la n-butilamina, el etanol en medio alcalino ($NaOH$, NH_3) o en solución

acuosa, el fenol en medio ácido (HCl) y la acetona. Encontramos rangos de temperaturas de trabajo que se ubican entre 95 y 175°C, llegando en algún caso excepcional a 230°C, con tiempos de tratamiento entre 30 minutos y 4 horas.

Los rendimientos dependen en gran medida del sustrato específico que se trate, encontrándose valores tan bajos como 13% sobre el azúcar potencial total para algunos bagazos de caña de azúcar residuales, así como hasta 99% para linters de algodón (Rolz, 1987)

La alternativa de oxidación de la lignina permite liberar la celulosa para la etapa siguiente de hidrólisis. Los reactivos empleados incluyen el agua oxigenada, el hipoclorito de sodio, solo o combinado con hidróxido de calcio, el permanganato de potasio, etc. Los tiempos de residencia habituales varían entre 30 y 180 minutos, a temperaturas entre ambiente y 80°C, con concentraciones de reactivos de entre 1,0 y 1,75%. Los rendimientos en azúcar referidos al valor teórico máximo, oscilan entre 60 y 95% (Gould y Freer, 1983; Takagi, 1987).

También se ha venido utilizando el ozono como método de pretratamiento para la lignocelulosa sobretodo que su uso en la purificación de las aguas y los avances en su tecnología de producción han derivado en una reducción del costo de producción del mismo. El ozono ataca a la lignina y a las hemicelulosas, y poco a la celulosa produciendo un residuo con reactividad aumentada frente a las enzimas. El ozono también ataca y degrada los anillos aromáticos de lignina de la cual se pueden obtener valiosos subproductos.

Estos modos de proceder tienen como desventaja que la lignina es degradada o transformada impidiendo su obtención como subproducto de alto valor agregado.

De los pretratamientos químicos mencionados anteriormente el pretratamiento con ácidos diluidos ha sido uno de los más utilizados mundialmente desde el comienzo de esta tecnología y es una variante muy atractiva para nuestro país ya que los ácidos que se utilizan coinciden con los de producción nacional. Dicha razón conjuntamente con la inclusión de una etapa recuperativa en el proceso puede disminuir grandemente los costos y si además se ajustan las condiciones operativas, la temperatura puede controlarse a valores más bajos para así disminuir los gastos de energía, el poder de corrosión y hacer más factible el proceso. Por otra parte la experiencia que se tiene en la industria papelera puede servir de mucho para encontrar las mejores condiciones operacionales ya que existen etapas muy

parecidas. Estas ventajas nos han llevado a proponer en una tecnología de producción de bioetanol a partir de lignocelulósicos que requiera esta etapa como pretratamiento.

El otro pretratamiento que pudiera ser implementado es el que utiliza álcalis por la relativa facilidad de encontrar ciertos álcalis en el mercado nacional pero este pretratamiento estaría en contradicción con la etapa de hidrólisis sobretodo si la misma es ácida. Los demás pretratamientos químicos requieren una inversión en equipamiento, tecnología y reactivos sobretodo solventes que son muy costosos y lo son aún más por los grandes volúmenes a utilizar. Así que de los pretratamientos anteriormente expuestos pocos son los que se adaptan a las condiciones técnico-económicas de nuestra región con excepción del pretratamiento con ácidos diluidos.

2.1.2.2 Pretratamientos Biológicos

La Dra. Mary Lopretti y su grupo han evaluados algunos microorganismos capaces de degradar la lignina como una alternativa biológica para el pretratamiento de materiales lignocelulósicos. La biodegradación de la lignina es un proceso oxidativo que produce CO₂ como producto final. Los agentes responsables de la degradación son enzimas extracelulares como la lignina peroxidasa (LiP), peroxidasa dependiente de Mn (MnP) y lacasa. No se sabe a ciencia cierta el papel que juega cada una de ellas, aunque se sabe que la Lig peroxidasa del *Acinetobacter anitratus* depolimeriza, oxida y demetila levemente. Se han usado también las demetilinasas del *Gloeophyllum trabeum* para el procesamiento de la lignina, provocando demetilaciones y oxidaciones. Al aparecer grupos metoxilos estos son llevados a metanol, el cual tiene un alto valor agregado así como otros productos que se forman en este proceso. Dichas enzimas han sido utilizadas para la producción de etanol a partir de maíz y aserrín.

Los hongos de putrefacción blanca (por ejemplo *Lentinus edodes*) pueden reducir el contenido en lignina de la madera sin provocar una rápida depolimerización de la celulosa, a diferencia de los hongos de putrefacción marrón que degradan la celulosa y la hemicelulosa preferencialmente.

En teoría, sería posible realizar una delignificación parcial sin pérdidas de celulosa. Se han aislado mutantes sin celulasas de *Polyporus adustus* y otros hongos de putrefacción blanca,

capaces de utilizar una gran fracción de xilanos y mananos mientras degradan la lignina de la madera (Ander y Ericsson, 1978).

Mutantes sin celulasas de *Phanerochaete chrysosporium* (*Sporotrichum pulverulentum*) utilizan 35% de los xilanos y la totalidad de los sustratos solubles para degradar un 30% de la lignina. Sin embargo, esta digestión biológica necesita de 10 a 14 días para que se verifiquen estos resultados lo cual es un impedimento fundamental para el escalamiento de esta técnica a nivel industrial (Klyosov, 1982). Otro ejemplo que confirma esta aseveración, está constituida por los 50 días de fermentación con el hongo lignolítico *Pleurotus ostreatus* requeridos por la paja de trigo para incrementar 4 a 5 veces la digestibilidad enzimática de su fracción celulósica.

El hecho de que esta alternativa sea viable técnico y económicamente en un futuro depende de que se lleven a cabo trabajos continuados de búsqueda de nuevas cepas de microorganismos, el mejoramiento de las existentes y el estudio básico de mecanismos de producción, estabilidad y actividad de las enzimas lignolíticas, seguidos de análisis económicos fundamentados en experiencias a escala piloto como mínimo. Se hace preciso señalar que actualmente, con los adelantos en la rama de la biotecnología, se hace posible obtener cepas de microorganismos transgénicos, usando tecnologías de recombinación de ADN, capaces de delignificar materiales lignocelulósicos en períodos cortos de tiempo lo que permitirá que este procedimiento contenga una etapa de pretratamiento barato.

Este procedimiento contempla como desventaja el hecho de que los microorganismos degradan la lignina, perdiéndose con esto un producto que puede llegar a tener un alto valor agregado.

Algunos pretratamientos enzimáticos de materiales lignocelulósicos han empleado enzimas que degradan pectinas, las cuales producen un sustrato más susceptible al ataque por enzimas celulolíticas. En este caso, la remoción de las sustancias pécticas de la pulpa de la remolacha azucarera facilita la hidrólisis enzimática de esta. Esta forma no encontrará aplicación en sustratos leñosos.

Este tipo de pretratamiento aún no ha encontrado su maduración tecnológica por las razones antes mencionadas, sin embargo nuestra experiencia en la industria papelera y en el campo de la biotecnología podrían buscar soluciones alternativas como la combinación de pretratamientos químicos con enzimáticos en aras de acortar el tiempo de la etapa y ganar en

rendimiento, por lo que dicha variante no podemos descartarla del todo para aplicaciones futuras.

2.1.2.3 Pretratamientos Combinados

El proceso de humectación, que no sea seguida de descompresión instantánea, mediante vapor en el rango de 150 a 225°C, provoca una autohidrólisis térmica parcial de la hemicelulosa por generación de ácidos orgánicos (fundamentalmente acético) (Mc Carty y col., 1987) y un incremento de la porosidad del material, que resulta en una mayor digestibilidad enzimática del mismo (Linden y col., 1980).

Este efecto no ocurre en proporciones significativas y en este caso el tiempo de residencia del sustrato a temperaturas elevadas debe ser controlado con el objetivo de minimizar la generación de subproductos indeseados por efecto de la autohidrólisis (furanos, ácido acético) (Klyosov, 1982).

El amoníaco anhidro líquido constituye otro agente capaz de provocar un hinchamiento de la biomasa similar al descrito anteriormente. Una despresurización rápida ("congelamiento explosivo") provoca la vaporización casi instantánea del amoníaco, lo cual provoca un sacudón a la estructura de la matriz lignocelulósica.

Este pretratamiento químico-mecánico, elimina el problema de la degradación de los carbohidratos por acción del calor y los ácidos generados por su característica de operación a baja temperatura. Sin embargo las complicaciones operativas de esta técnica han impedido su adopción en procesos a escala mayor que la del laboratorio ya que se necesita de reactores de diseño específico capaces de operar a alta presión y temperatura, parámetros que se hacen muy difíciles de lograr a gran escala (Dale y Moreira, 1982).

La explosión a vapor es un tipo de pretratamiento combinado el cual se hace bastante accesible a la puesta en operación a escala mayor. La técnica consiste esencialmente en presurizar con vapor un recipiente que contiene la biomasa lignocelulósica, mantener dichas condiciones durante un período de tiempo y luego provocar una despresurización instantánea. Este tratamiento provoca una apertura de la fibra, permite la solubilización de la fracción hemicelulósica en agua caliente, parece depolimerizar en alguna proporción a la lignina, y provoca la liberación de ácidos orgánicos, fundamentalmente acético, a partir de la

biomasa, que promueven la degradación de los carbohidratos. Por lo expuesto, éste es un tratamiento que combina los efectos físicos con los químicos.

Entre las ventajas que provee este método, se puede citar la capacidad para separar el residuo lignocelulósico en sus tres principales fracciones componentes, la celulosa, la hemicelulosa y la lignina; estos productos son obtenidos con rendimientos y grado de pureza aceptables; aplicando posteriormente hidrólisis ácida al sustrato tratado por este método, se pueden obtener rendimientos en glucosa de hasta el 80% del teórico, mientras que la hidrólisis enzimática puede dar conversiones de hasta 100%; la lignina generada en este proceso presenta características que permiten su conversión en un amplio rango de productos de alto valor agregado; la fracción de hemicelulosa es aprovechada casi en su totalidad; el equipamiento a ser utilizado puede adoptar un diseño modular, es decir, que permita variar las condiciones operativas con el objetivo de optimizar el rendimiento de productos específicos, a partir de un rango que incluye prácticamente a todas las clases distintas de materiales lignocelulósicos. En nuestro entorno podría ser aprovechable equipamiento y tecnología en desuso de las industrias de papel para implementar este pretratamiento tan promisorio para la obtención de elevados porcentajes de conversión de los sustratos lignocelulósicos en azúcares fermentables. De hecho en el próximo capítulo se abordará desde una perspectiva técnico-económica este pretratamiento seguido de una hidrólisis enzimática como otra forma viable para la producción de bioetanol en nuestro país.

Por otra parte, este sistema presenta algunas desventajas, entre estas se encuentra la formación de inhibidores, un rendimiento relativamente bajo cuando se aplica a maderas blandas; y la baja densidad aparente del sustrato generado, lo cual incrementa el volumen de equipos necesarios para su tratamiento posterior. Otra desventaja es el consumo de energía para la generación del vapor necesario para alcanzar presiones y temperaturas elevadas.

Debido a la alta temperatura del pretratamiento, ocurre la degradación de los azúcares con formación de productos colaterales que inhiben la fermentación. Además de esta dificultad, este proceso resulta muy susceptible a cambios de temperatura o a tiempos de operación cortos que permitan la minimización de la formación de inhibidores y la optimización de los rendimientos de azúcares (Palmqvist, 1988).

Carlos Martín propone en su tesis de Doctorado alternativas para eliminar o disminuir las concentraciones de inhibidores en el hidrolizado antes de ser tratado por enzimas celulolíticas. Se propone primeramente la disminución de la concentración de los inhibidores por una optimización del tiempo de residencia en el reactor y la temperatura de la explosión a vapor.

Por otra parte existen varios métodos reportados en la literatura que no pueden ser comparados entre sí debido a que se han usado diferentes materias primas y diferentes condiciones de hidrólisis, lo que resulta en una diferente composición química de los hidrolizados obtenidos. Para la elección de un método de detoxificación debe tenerse en cuenta la composición del hidrolizado pues debe elegirse un método que este dirigido al tipo de inhibidores que predominan en el hidrolizado.

La adición de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ es el método mas eficiente para hidrolizados de maderas blandas (Larsson y cols., 1999b) . Se supone que el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ puede propiciar la eliminación de compuestos tóxicos por precipitación o conversión a formas no tóxicas y/o adición de alguna sustancia que mejore la fermentabilidad de los hidrolizados. (Ranatunga y cols., 2000) .

Otro método de detoxificación novedoso dirigido específicamente a la eliminación de los compuestos fenólicos es el tratamiento con la enzima lacasa, la que ha sido empleada exitosamente en hidrolizados de madera (Jonson y cols., 1998; Larsson y cols., 1999b) y que por primera vez fue empleada en hidrolizados de bagazo por (Martin y cols., 2002).

La detoxificación con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ de hidrolizados de bagazo disminuye en un 17-25% la concentración de varios inhibidores mientras que la lacasa actúa solamente sobre los fenoles eliminándolos en mas de un 75 % . Los dos métodos son efectivos en el mejoramiento de la fermentabilidad de los hidrolizados pero el mayor rendimiento de etanol (0.18g/g) se obtiene con el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (Martin y cols., 2002). Sin embargo debemos tener en cuenta que este proceso de detoxificación puede constituir hasta el 22% del costo total de la producción de bioetanol (von Sivers y cols., 1994). Debe señalarse además que algunos métodos de detoxificación reducen la concentración de azúcares en los hidrolizados, lo que afecta más la economía del proceso (Martínez y col., 2000).

También se ha trabajado en la adaptación de cepas de levaduras a los inhibidores presentes en hidrolizados derivados de materiales lignocelulósicos, incluyendo de bagazo (Lodics y

Gong, 1984). Sin embargo la mayoría de la información que existía en la literatura se refería a levaduras fermentadoras de pentosas, tales como *Candida shehatae*, *Pichia stipitis* y *Pachysolen tannophilus*. La adaptación y fermentación de hidrolizados de bagazo por una cepa de *S. cerevisiae* utilizadora de xilosa fue tratada por primera vez por (Martin y cols., 2002) constituyendo la mejor opción para evitar los efectos negativos de los inhibidores.

La adición de catalizadores como el ácido sulfúrico y el dióxido de azufre a este pretratamiento permite mejorar el rendimiento de azúcares manteniendo la concentración de inhibidores de la fermentación constante en el segundo caso, logrando una alta digestibilidad del sustrato pretratado. La utilización de estos catalizadores permite acortar los tiempos de residencia así como la disminución de la temperatura, lo que repercute también una disminución de los productos indeseables.

En el caso de maderas blandas, se ha adicionado dióxido de azufre (2-4%peso/peso) al vapor de agua utilizado con el objetivo de provocar un incremento en la depolimerización inicial de la lignina además de provocar la remoción de productos solubles (Moore y cols., 1972)

A pesar de que el bagazo de caña de azúcar se acerca más a las maderas duras por su composición en lignina se han experimentado incrementos en el rendimiento de azúcares fermentables en relación con el material no impregnado de 47.4 a 52.9g/100g usando como agente impregnante el dióxido de azufre, sin aumentar la formación de inhibidores mejorando además el rendimiento en la fermentación hasta 0.17g de etanol por g de bagazo. La impregnación con ácido sulfúrico aumenta el rendimiento de glucosa (35.9g/100g) pero provoca una elevada formación de inhibidores por lo que la impregnación con SO₂ apunta a ser la mejor de las alternativas para formar parte del proceso global..

Según estudios realizados por autores como (Fox y col., 1989; Chum y col., 1985; Zacchi y col., 1988; San Martín y Aguilera, 1985), con el objetivo de optimizar las condiciones de operación, han obtenido que las presiones de trabajo oscilan entre 3,3 y 4,1 MPa, con rangos de temperaturas que oscilan entre 190 y 240°C.

Existen diferentes maneras de pretratamiento combinando la adición de agentes químicos con el vapor como pueden ser el uso alternativo de CO₂ y NaOH . El objetivo de la utilización de CO₂, es incrementar la acidez durante el proceso de explosión con vapor, que conjuntamente con la elevada presión, facilita la solubilización y la remoción de la

hemicelulosa. Este sistema es particularmente apropiado para maderas duras, bagazo de caña y pajas de cereales, obteniéndose sustratos con un elevado contenido de celulosa (Puri y Mameis, 1983)

Cuando se usa un agente alcalino en el pretratamiento por explosión a vapor, este se mantiene en concentraciones de alrededor de 12g NaOH por 100g de material lignocelulósicos (base seca), lográndose con esto que el residuo que resulta de esta operación sea de mas fácil acceso para que las enzimas lleven a cabo su degradación que el obtenido después de un pretratamiento hidrotérmico solo El álcali es capaz de disolver la hemicelulosa y parte de la lignina, así como de producir un hinchamiento de la celulosa, y una reducción del grado de polimerización de esta (Dale y Moreira, 1982)

2.1.2.4. Aspectos económicos en la etapa de pretratamiento.

Con el objetivo de completar el análisis entre las diferentes opciones de pretratamiento, seguidamente se llevará a cabo una evaluación desde el punto de vista económico de las alternativas con más posibilidades de ser aplicadas en el caso de Cuba.

Para el caso de nuestro país, los materiales disponibles en mayor cuantía, y que puedan ser factibles en la producción de etanol son en primer lugar el bagazo de caña, residuos de la agricultura no cañera y algunas malezas ricas en celulosa, por tanto, nos detendremos a analizar solo las alternativas capaces de procesar estos tipos de materiales lignocelulósicos.

El costo variable, sobre la base de la cantidad de material convertido, en la etapa de pretratamiento, es específico para cada combinación material/proceso y puede ser calculado a partir de los respectivos balances de masa y energía, en la tabla 2.2 del anexo 3, adaptada de (Cunningham y López, 1994) donde se puede consultar los costos variables de conversión para esta etapa.

Para la realización de estos cálculos, se tomó el precio de la materia prima en base a su poder calórico. Los costos que allí se relacionan son brutos, no se tuvieron en cuenta valor agregado alguno que pudieran tener subproductos generados en esta etapa, como pudieran ser lignina, pentosanos, etc (Cunningham y López, 1994).

En la mencionada tabla se muestran datos de costos de materiales y servicios en la etapa de pretratamiento, acorde con cada material y el tipo de tratamiento realizado, para tratamientos de tipo químico y combinación de estos con físicos. Según estos resultados, se puede observar que de entre estos tipos de alternativas, la explosión con vapor resulta ser la mas

promisoria desde el punto de vista económico ya que a pesar de que esta presenta un costo relativamente alto de los servicios, por el vapor que se emplea en la misma, cuando se observa el costo global de la etapa se tiene que este es el menor en comparación con los demás representados en este apartado.

En la tabla 2.3 del anexo 3 se relacionan los valores referentes a los costos fijos de inversión y los costos de operación asociados a cada alternativa de pretratamiento (Cunningham y López, 1994), estos valores corresponden a una hipótesis de planta productora de 100 m³/día de etanol, trabajando 330 días/año.

El costo de producción total, considerado como el valor agregado al material en la etapa de pretratamiento, incluye varios factores, la amortización de la inversión, los costos directos (mano de obra, mantenimiento, materiales e insumos, laboratorio), los costos indirectos no operativos, las tasas y seguros, etc.

2.2. HIDROLISIS

2.2.1. Hidrólisis ácida

Desde el punto de vista comercial, a nivel mundial solo se ha desarrollado para la producción de etanol a partir de materiales lignocelulósicos, operaciones basadas en hidrólisis ácida para liberar los azúcares fermentables de la gama de materia prima usada con este fin.

La hidrólisis ácida puede llevarse a cabo fundamentalmente de dos formas:

- 1- Alta concentración de ácido a baja temperatura.
- 2- Baja concentración de ácido a alta temperatura.

Cada una de estas opciones presenta ventajas y desventajas las que son relativas ya que estas dependen del establecimiento de un compromiso entre el rendimiento global de la operación y la degradación de los azúcares formados a compuestos que no puedan ser transformados posteriormente a etanol.

2.2.1.1. Hidrólisis con ácidos concentrados

La celulosa cristalina es soluble en ácido sulfúrico al 72% y en ácido clorhídrico al 42% a temperaturas entre 10 y 45°C, y es precisamente en esta propiedad en la que se basan estos métodos, en estas operaciones se liberan oligosacáridos, fundamentalmente celulotetraosa,

sin prácticamente producir el monómero glucosa en estas condiciones (Oshima, 1965). Esta mezcla de oligosacáridos en solución se diluye y calienta de 1 a 3 horas a 100-200°C, desdoblándose así las cadenas oligoméricas en los monómeros constituyentes, los cuales se degradan a 5-(hidroximetil)-2-fufuraldehído (HMF) si se mantienen las condiciones iniciales de trabajo. La cinética de esta hidrólisis es independiente de la cristalinidad de la celulosa original, posibilitando de esta manera rendimientos en glucosa del orden del 90% de los teóricos. Esto no excluye que la celulosa amorfa sea más fácilmente hidrolizable que su homóloga cristalina aunque ambas tengan una cinética de hidrólisis de orden uno.

Esta variante contempla como principal desventaja la necesidad de recuperar y reciclar el ácido como único modo de hacer viable económicamente el proceso, lo cual incluiría una inversión adicional para la adquisición del equipamiento necesario con este fin. Además esta tecnología requiere una etapa posterior de neutralización ya que los licores obtenidos presentan bajos valores de pH sobre los cuales se hace imposible el desarrollo de los microorganismos encargados de llevar a cabo la fermentación a bioetanol de los azúcares contenidos en estos licores. Al neutralizar o incrementar ligeramente el pH se producirían cantidades apreciables de CaSO_4 que pueden obstruir las tuberías y equipamiento en general por lo que es imprescindible recuperar el ácido para obtener licores más concentrados y menos ácidos. Por otra parte en esta etapa de hidrólisis se generan productos de degradación como el furfural e hidroximetil furfural que son inhibidores de la etapa fermentativa afectando directamente en el crecimiento de la levadura y afectando además la contribución de la hemicelulosa al rendimiento del proceso al ser las pentosas muy sensibles a degradarse en medio ácido a furfural.

Dicha variante tecnológica tiene muchas desventajas para ser usada en una posible planta de producción de bioetanol en nuestro país sobretodo por los costos de los equipos hechos necesariamente de materiales anticorrosivos y por la adición de tecnologías para la recuperación del ácido lo que atenta contra la idea de aprovechar equipos ya existentes en destilerías o industrias papeleras ya establecidas que se encuentran en desuso. En este sentido encontramos que el uso de ácido clorhídrico, según el proceso Bergius, tiene cierta ventaja al respecto, ya que la alta volatilidad del mismo posibilita su recuperación por agotamiento al vacío.

Estos procesos han sido aplicados a maderas duras, tal como el álamo, entre las cuales se encuentra el bagazo de caña por su contenido de lignina, con rendimientos superiores al 90% de los azúcares totales teóricos, mediante el empleo de ácidos clorhídrico y fluorhídrico, a temperaturas de 20 a 35°C y tiempos de reacción de una hora o mayores (Wright y *col.*, 1985).

2.2.1.2. Hidrólisis con ácidos diluidos.

A pesar de que los ácidos concentrados hidrolizan con relativa rapidez la celulosa sin requerir prácticamente ningún pretratamiento, este proceso suele tener rendimientos en azúcares fermentables bajos debido a la degradación de la glucosa a medida que es generada. Por otra parte, de utilizarse ácidos a baja temperatura, se obtiene una menor cantidad de productos de degradación, a costa de la disminución de la velocidad de hidrólisis debido principalmente al efecto de la estructura cristalina de la celulosa y su asociación con la matriz de lignina. Los rendimientos habituales se ubican en el orden de 65 a 80% de los azúcares reductores totales potencialmente disponibles en el sustrato.

Para mejorar el rendimiento global, se han diseñado procesos que operan a mayores temperaturas que eliminan la glucosa del medio a medida que se va formando, esto se logra llevando a cabo la operación en varios pasos, el proceso es conocido como hidrólisis multietapa, de este modo se opera cada etapa por espacio de 20 min con ácido sulfúrico al 2% y a una temperatura de 190°C lográndose que se libere en cada paso alrededor del 20% de monómeros a partir de la celulosa original (Wayman y Lora, 1979).

Eliminando el azúcar generado al cabo de cada etapa, el rendimiento global después de cinco etapas puede superar el 90% (Wayman, 1980).

En este proceso, al estar el ácido diluido, los consumos de este disminuyen considerablemente respecto a los que usan ácidos concentrados, hasta el punto de no ser necesaria su recuperación para garantizar la viabilidad económica de esta etapa. Por otra parte esta opción tiene como agravante, un elevado consumo de energía dada la necesidad de operar a alta temperatura y presión las que contribuyen a incrementar la corrosión dentro del equipamiento.

2.2.2. Tratamientos combinados

A nivel mundial, el modo de operación más generalizado de llevar a cabo la de hidrólisis ácida, es la combinación de tres etapas secuenciales: primeramente se lleva a cabo una prehidrólisis con ácidos diluidos, la cual permite recuperar la fracción hemicelulósica del sustrato; posteriormente se realiza la hidrólisis propiamente dicha, donde ocurre la formación de oligosacáridos y monómeros de glucosa en proporciones que dependen de la concentración de ácido a la cual se opere así como del modo en que se lleve a cabo esta operación; por último, se lleva a cabo un tercer tratamiento con ácido con el objetivo de hidrolizar oligosacáridos remanentes, donde pueden ser modificadas las condiciones de operación con el objetivo de maximizar el rendimiento global. Los líquidos hidrolizados en cada etapa son recobrados y fermentados a etanol; se obtiene como residuo de esta operación celulosa y lignina, las que pueden ser recuperadas indistintamente para ser utilizadas como combustible sólido para la generación de energía.

2.3.3. Hidrólisis enzimática

2.3.3.1. Aspectos generales

Como se ha venido tratando, la hidrólisis ácida presenta ciertas dificultades inherentes, lo que hace pensar que el potencial de desarrollo de esta tecnología se encuentra en los avances que puedan realizarse en la degradación enzimática de los materiales lignocelulósicos.

En general, este proceso se basa en la actividad de las celulasas, las que son producidas generalmente por organismos que degradan celulosa principalmente los hongos microscópicos que las secretan al exterior de la célula.

Estas son enzimas celulolíticas que conforman conjuntos multicomponentes de acción sinérgica, en los cuales suelen distinguirse los siguientes tipos de celulasas, independientemente de los microorganismos de los que provengan (Enari y Niku-Paavola, 1987).

*Endoglucanasas 1,4-β-D glucan glucanohidrolasas, EC 3.2.1.4, que atacan inicialmente las uniones químicas internas del polímero lignocelulósico, resultando en la primera etapa de depolimerización. Presentan mucha actividad sobre derivados solubles de celulosa, principalmente carboximetilcelulosa y generalmente no hidrolizan apreciablemente celulosa cristalina cuando están purificadas.

*Exoglucanasas 1,4- β -D glucan celobiohidrolasas, EC 3.2.1.91, que actúan separando unidades de celobiosa a partir de los extremos de las cadenas celulósicas previamente acortadas, aunque también se señala la presencia de exoglucosidasas que liberan glucosa (146,147). No tienen actividad apreciable sobre soluciones de carboximetilcelulosa. Algunos componentes purificados muestran cierta actividad sobre la celulosa cristalina.

* β -glucosidasas, EC 3.2.1.21, (o celobiasas cuando actúan sobre celobiosa) que hidrolizan la celobiosa y otros oligosacáridos de cadenas cortas, a glucosa. No hidrolizan celulosas insolubles o sus derivados solubles.

Al actuar estos tres tipos de enzimas por separado, la suma de sus actividades es mucho menor que al hacerlo de forma conjunta, esto se conoce como "sinergismo".

No todos los complejos celulolíticos son capaces de hidrolizar celulosa sólida con alto grado de cristalinidad, algunos son activos sobre la celulosa amorfa o derivados solubles de ésta. Estos son llamados por tal razón celulasas de "bajo valor", en cambio las activas sobre celulosa cristalina de llaman de "valor completo" ó "verdaderas" (Klyosov, 1990).

De manera general, la reacción enzimática se lleva a cabo en diversas etapas, cuya velocidad es dependiente del tamaño de partículas de la materia prima, la calidad y composición del complejo enzimático, los grados de polimerización y cristalinidad originales del sustrato, la cantidad y naturaleza de los restantes componentes del sustrato lignocelulósico, las condiciones de la reacción, y la inactivación enzimática.

Cuando se pretende llevar a cabo el desarrollo de un proceso viable, se hace necesario realizar un estudio sobre la influencia de estos factores sobre la digestibilidad enzimática del sustrato lignocelulósico.

Al analizar la digestión enzimática de diferentes sustratos, el tamaño promedio de partículas parece no tener una influencia decisiva, entre ellos el bagazo de caña, la paja de cereales y los desechos urbanos sólidos, lo cual podría ser debido a que la misma característica esponjosa de la celulosa permita la accesibilidad al complejo enzimático.

Este punto no puede ser analizado desde un solo punto de vista ya que si por un lado el tamaño de partícula no ejerce una influencia apreciable, por otro lado, este realiza una influencia decisiva en los valores de otros parámetros importantes, tales como el índice de cristalinidad y el área superficial específica expuesta al ataque, también modifica en cierto

grado la naturaleza de la matriz lignocelulósica original, mejorando en alguna proporción la accesibilidad del complejo enzimático (Rivers y Emert, 1988).

Por otro lado, la actividad en la digestión enzimática, esta regida por la proporción relativa de las distintas celulasas en el complejo enzimático utilizado, la cual depende, a su vez, del microorganismo productor. En la tabla 2.4 del anexo 4, se muestran las actividades celulolíticas de preparaciones purificadas. (Adaptada de Klyosov y Rabinowitch, 1980).

Conjuntamente con lo expuesto anteriormente, también la capacidad de adsorción de las celulasas sobre la estructura del polímero varía en varios órdenes de magnitud, dependiendo del microorganismo del cual fue obtenido, aunque su composición sea similar (Klyosov, 1990). Este punto reviste gran importancia debido a que la digestión enzimática es un fenómeno superficial, por lo que una mayor concentración específica de celulasas adheridas sobre el sustrato repercute en una mayor productividad. Por otra parte, desde el punto de vista operativo, si se pretende llevar a cabo la operación en un sistema de columnas rellenas en flujo pistón, las celulasas pobremente adheridas serán rápidamente arrastradas fuera del equipo por la corriente de circulación.

Se ha demostrado que la capacidad de una celulasas para solubilizar la celulosa está directamente relacionada con su habilidad para adsorberse sobre la misma, independientemente de su estado amorfo o cristalino. Las celulasas que presentan mayores coeficientes de adsorción le corresponden mayores velocidades de reacción y rendimientos de conversión, sin importar el tiempo de residencia. Para celulasas con bajos coeficientes de absorción, el límite de conversión se ubica en el orden del 8 al 9%, el cual corresponde aproximadamente al contenido de celulosa amorfa en el sustrato. Este límite no es dependiente de la concentración del complejo celulolítico, este límite no puede ser superado sin recurrir a celulasas capaces de una fuerte adsorción sobre el material, que permita la hidrólisis de la fracción cristalina (Klyosov, 1990).

La tabla 2.5 del anexo 4 (Adaptada de Klyosov, 1990), donde se muestra la influencia de la adsorción de endoglucanasas en la reactividad sobre celulosa microcristalina, ratifica lo expuesto anteriormente.

De acuerdo con la información brindada en las tablas anteriores, las cuales muestran la composición de los sistemas enzimáticos celulolíticos pertenecientes a diferentes microorganismos así como sus constantes de adsorción sobre la celulosa microcristalina

llegamos a la conclusión de que la cepa *Trichoderma reesei* (NOVO) es la más adecuada para realizar la hidrólisis enzimática. Dicho microorganismo presenta una composición más balanceada en lo que a Endoglucanasa, Exoglucanhidrolasa y Celobiasa se refiere además que su complejo celulolítico presenta la más alta constante de adsorción respecto a los demás señalados.

La influencia de la cristalinidad en la velocidad de hidrólisis enzimática ha sido discutida por muchos autores. Según (Peitersen y Ross, 1979) la fracción cristalina es más resistente al ataque enzimático que a la fracción amorfa. El efecto observado de disminución de la velocidad de hidrólisis a medida que transcurre la reacción, es a causa del ataque más lento a la fracción cristalina luego de la hidrólisis rápida de la amorfa (Lamed y Bayer, 1988). Pero en este aspecto no existe una conclusión clara.

En este sentido se tiene que generalmente está presente el problema de que cualquier tratamiento que altere el grado de cristalinidad, modifica también otras propiedades que pueden influenciar la hidrólisis, tales como accesibilidad, área superficial, etc. Con el objetivo de eliminar este problema (Lee y Fan, 1981) realizan una comparación entre las velocidades iniciales de hidrólisis de sustratos que presentan diferente grado de cristalinidad, referida a la misma cantidad de enzima adsorbida sobre el sólido, magnitud que depende de la accesibilidad. En estas condiciones ellos encontraron un efecto retardante de la cristalinidad.

Otro aspecto a considerar para el desarrollo de una tecnología viable de hidrólisis enzimática, es el hecho de la disminución de la productividad a medida que transcurre el tiempo de reacción. Esta es provocada tanto por un mecanismo de inhibición por productos, el cual es común en las reacciones microbiológicas, como por la inactivación del sistema enzima/sustrato, probablemente debido a la unión de la enzima a sitios en los que no puede ejercer su capacidad hidrolítica.

Al aumentar la concentración inicial de sustrato, aumenta el nivel crítico de producto por encima del cual comienza a inhibirse el proceso, aumentando con esto la concentración total de azúcares aunque difícilmente exceda de 8 al 10% en el hidrolizado. Este aumento en la concentración de sustrato trae consigo por otra parte la disminución de la productividad global. Debido a esta situación, es necesario encontrar la solución de compromiso ingenieril

entre los costos de producción de glucosa (productividad) y los de concentración de los hidrolizados obtenidos.

El costo de producción de las enzimas ocupa gran parte en la economía del proceso de hidrólisis enzimática, por tanto se hace necesario desarrollar diseños de sistemas capaces de optimizar el aprovechamiento del complejo enzimático.

3.3.3.2. Aspectos económicos.

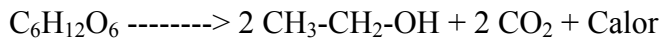
Para llevar a cabo la etapa de hidrólisis enzimática de materiales celulósicos existen varias tecnologías pero se dispone de pocos datos para una evaluación económica definitiva. Se plantea que el alto costo de producción de las celulasas, además de su baja actividad, inciden de manera negativa en la economía de este proceso. Algunos estudios revelan que el costo de celulasas puede representar hasta un 60% del costo de producción de azúcares fermentables a partir de recursos celulósicos. La solución tecnológica para abaratar los costos esta en la fase recuperativa de las enzimas y en la búsqueda de microorganismos que produzcan eficientemente celulasas y que las mismas sean estables. Esta variante a pesar de sus inconvenientes presenta un tremendo futuro por delante y la tecnología a nivel mundial marcha en esta dirección. Cuba no queda exenta de este desarrollo contando con la experiencia de su industria biotecnológica para el desarrollo de mejores cepas de microorganismos productores de celulasas. Por esta razón se toma la hidrólisis enzimática como el tratamiento con mejores condiciones para el proceso global de producción de bioetanol, escogiéndose para la misma la cepa de *Trichoderma reesei* (NOVO) como una aproximación de lo que se puede mejorar en un futuro.

A los efectos de intentar una aproximación a lo que costaría producir azúcares fermentables a partir de bagazo de caña, se considera válido el criterio de definir un costo para el azúcar fermentable producido a través de dos opciones: a partir de tallos de maíz y a partir de papel de diarios. La tabla 2.6 del anexo 5 resume los datos disponibles según (Tangu, 1982; Wright, 1978). Estos son costos netos de conversión, incluyendo el costo de la materia prima, estos se pueden incrementar hasta en un 100%.

2.5. FERMENTACION

Una vez que la biomasa conteniendo hidratos de carbono se ha transformado en una solución azucarada se puede someter esta a un proceso de fermentación con objeto de convertir los azúcares en etanol.

La fermentación alcohólica es el proceso de conversión de la glucosa en etanol, por la acción de microorganismos. Esta transformación se produce a través de una compleja secuencia de reacciones que puede expresarse, desde el punto de vista tecnológico, por la siguiente ecuación:



Según esta reacción, de 100kg de glucosa se obtienen 51,1kg de etanol y 48,9kg de dióxido de carbono. En la práctica, el rendimiento real en etanol es menor que el valor teórico, ya que aproximadamente un 5% de glucosa es utilizado por el microorganismo para producir nuevas células y otros productos de su metabolismo.

Los microorganismos generalmente empleados son las levaduras, hongos unicelulares ampliamente distribuidos en la naturaleza. Los más utilizados en la fermentación alcohólica son los de la familia *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*). En la acción de las levaduras influye una gran cantidad de factores, entre los que destaca la temperatura, el pH y la concentración de azúcares.

En el caso de la producción de bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos los licores resultantes de los procesos de sacarificación tienen contenidos apreciables de inhibidores de la fermentación, los cuales son producidos principalmente por degradaciones de los monosacáridos presentes en la celulosa y la hemicelulosa. Como ya se mencionó anteriormente los métodos de detoxificación son costosos y consumen mucho tiempo se hace necesario que la cepa de levadura posea una elevada resistencia a los inhibidores derivados de la lignocelulosa. Por dicha razón se propone trabajar con una cepa recombinante de *Saccharomyces cerevisiae*, utilizadora de pentosas, que ha sido adaptada a hidrolizados de bagazo con un rendimiento y productividad de etanol en 2.1 y 2.2 veces respectivamente y con una disminución de 36 a 24 horas para alcanzar el rendimiento máximo de etanol. (Martin y col., 2002)

El rendimiento de 0.18g de etanol por g de bagazo que se ha alcanzado con esta cepa adaptada es similar al los que se han obtenido en la fermentación de hidrolizados

detoxificados con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ por lo que se puede prescindir de la etapa de detoxificación la cual presenta un elevado costo de operación.(Martin y *col.*, 2002).

Tradicionalmente, la fermentación alcohólica ha sido un proceso discontinuo de duración entre 2 y 3 días, después de los cuales se retira la masa fermentada para su destilación.

2.5.1. Evolución de las técnicas tradicionales

A no ser que en la etapa de hidrólisis se haya generado agentes inhibidores, la tecnología para llevar a cabo la fermentación alcohólica no difiere básicamente de las utilizadas para otras soluciones azucaradas.

Casi conjuntamente con el surgimiento de la humanidad, surge la fermentación alcohólica, aunque se puede decir que variaciones significativas en la tecnología de este proceso se han llevado a cabo en las últimas décadas de este siglo.

Actualmente los esfuerzos en este sentido están dirigidos a lograr una alta productividad global conjuntamente con la mayor conversión factible de la materia prima; menores consumos de energía y costos; lograr procesos de separación y concentración más económicos.

La industria alcoholera a nivel mundial esta regida por el uso casi generalizado de los sistemas fermentativos tradicionales, los cuales son reactores discontinuos con agitación a los que se les siembra un pie conteniendo microorganismos libres. Estos equipos presentan algunas desventajas, entre los que se encuentran: la pérdida de eficiencia asociada a los lapsos periódicos de paradas, reacondicionamiento, esterilización, y puesta en marcha, con la consiguiente mayor repercusión de los costos fijos, derivados de esa baja productividad global; la heterogeneidad del producto obtenido en sucesivas operaciones desde obtener el cultivo puro hasta la obtención de las vinazas; la dificultad para integrar esta operación a otras etapas del proceso debido a su carácter discontinuo, lo cual implica que la separación del producto desde la masa de reacción, recién se lleva a cabo una vez finalizada la fermentación; los períodos relativamente prolongados que requiere el completamiento de cada sucesiva operación de fermentación.

Como consecuencia de lo apuntado, las productividades globales habituales en estos sistemas tradicionales, se ubican en el entorno de 1 a 2,5 g/l h.

La respuesta más directa a los inconvenientes mencionados, es la realización de arreglos tecnológicos de forma tal que se opere con una cantidad tal de fermentadores, que garantice que la operación global de la etapa sea de forma continua, garantizando con esto un acople efectivo con las siguientes etapas de separación y purificación.

Además, se ha llevado a cabo el diseño de fermentadores continuos con diversas configuraciones. Entre las ventajas a señalar a esta opción, se encuentran: el incremento de la productividad global, con la disminución de costos operativos específicos asociada a una mayor eficiencia; la mayor facilidad relativa de controlar la operación continua, menor dedicación de mano de obra y garantizando simultáneamente mayor constancia en la calidad del producto; la viabilización de técnicas de integración entre etapas; la posibilidad de operar los equipos con altas velocidades de dilución, reduciendo los efectos inhibitorios (Camacho y col., 1988).

2.5.2. Procesos combinados

Sin lugar a dudas, lo más novedoso en este sentido, lo ha sido la combinación de la fermentación con la hidrólisis enzimática, principalmente mediante dos alternativas: sacarificación y fermentación simultánea (SFS) y sacarificación y fermentación acoplada (SFA). Mediante el uso de estos sistemas se garantiza un incremento en la velocidad de la hidrólisis, debido a que el nivel de glucosa se mantiene en valores por debajo del permisible antes de que se inhiba la sacarificación por producto ya que esta se encuentra continuamente siendo asimilada por los microorganismos fermentadores, lo cual mejora el rendimiento global de la producción de etanol.

2.5.2.1. Sacarificación y fermentación simultáneas (SFS)

Numerosos investigadores han encarado el estudio de esta alternativa. Según (Berglund y Richardson, 1982; Blotkamp y col., 1978) esta alternativa presenta varias ventajas sobre los sistemas tradicionales de hidrólisis y posterior fermentación, entre estas se pueden citar:

- Mejora el rendimiento debido a la remoción de glucosa y celobiosa que inhiben al complejo enzimático de celulasa.
- La concentración alcohólica, debido a la limitante dada por la concentración inicial de celulosa, nunca alcanza un nivel inhibitorio para las celulasas ni para las levaduras.
- La volatilidad del etanol producto, permite una recuperación más simple que la de la

glucosa en el método tradicional.

En la tabla 2.8 en anexos se muestran algunas alternativas de sacarificación y fermentación simultáneas según (Ghose y col., 1984).

No obstante, este método presenta algunas desventajas técnicas que deben ser resueltas. La principal es la necesidad de trabajar a una temperatura de compromiso intermedia entre las óptimas para la sacarificación (50°C) y para la fermentación (30°C). La tabla 2.8 del anexo 6 muestra la influencia importante de este parámetro sobre los rendimientos en alcohol (Blotkamp y col., 1978). Al llevar a cabo esta operación a temperaturas por debajo de la óptima para la hidrólisis, serían necesarios grandes volúmenes de fermentador de manera de alcanzar tiempos de residencia adecuados.

2.5.2.2. Sacarificación y fermentación acopladas

Esta alternativa surge como respuesta tecnológica a la desventaja principal de la SFS (Blanco y col., 1982; Salomón y col., 1988). Esta opción plantea llevar a cabo la operación en un sistema de dos columnas acopladas, una que contiene el material lignocelulósico y la otra levadura inmovilizada. Entre ambas recircula continuamente una solución acuosa que contiene enzimas y productos de reacción. Al operar de esta forma, permite que en una columna se opere a la temperatura óptima para la hidrólisis, y en la otra a la temperatura óptima para la fermentación, maximizando así los rendimientos a etanol.

El sistema fue originalmente evaluado usando bagazo de caña de azúcar pretratado con NaOH, estudiándose luego la posibilidad de fermentación de las pentosas generadas en la hidrólisis enzimática. Para ello se intercaló en el circuito de recirculación una columna con xilosa inmovilizada (Salomón y col., 1988). Se produce así la isomerización de xilosa, principal pentosa generada, a xilulosa. Esta última a diferencia de la xilosa, puede ser fermentada a etanol por las levaduras de *Sacchomyces cerevisiae* empleadas en el sistema. De esta manera se obtiene un aumento adicional en la producción de alcohol.

Nuestra tecnología incluye la sacarificación y fermentación acopladas por las ventajas mencionadas anteriormente ya que en una columna se puede manejar la hidrólisis enzimática con el complejo de las celulasas procedentes del *Trichoderma reesei* a la temperatura óptima de hidrólisis y en la otra columna se llevaría a cabo la fermentación a 30°C utilizando la cepa recombinante *Sacchomyces cerevisiae* TMB 3001, la cual es capaz de fermentar las hexosas y las pentosas del hidrolizado, además de ser tolerante a los

inhibidores presentes en el mismo y de conservar la capacidad fermentativa. La utilización de esta cepa evita primeramente la detoxificación de los hidrolizados lo que ahorraría la implementación de una etapa de detoxificación que atentaría contra la rentabilidad del proceso. En segundo lugar no hay que necesidad de insertar una columna con la enzima xilosa isomerasa para convertir la xilosa a xilulosa para que esta sea transformada por la *S. cerevisiae* natural a etanol.

Además de incrementar el rendimiento en etanol, del orden del 15% respecto de SFS luego de 50 horas de operación, mediante la operación a temperatura óptima de cada etapa, el proceso de SFA presenta las restantes ventajas de la alternativa de SFS: no se requiere agitación de suspensiones de elevada concentración, la relación líquido/ sólido puede mantenerse en valores bajos, y el sistema admite escalamiento a niveles productivos (Blanco y col., 1982)

2.5.3. Aspectos económicos

Un punto clave desde el punto de vista ingenieril, para realizar una comparación efectiva entre los sistemas tradicionales de hidrólisis enzimática y fermentación, en dos etapas secuenciales diferenciadas, y las alternativas de procesos combinados (SFS, SFA), es la comparación de los aspectos económicos globales involucrados en cada opción.

En la tabla 2.9 del anexo 7 se presentan datos referidos a ejemplos específicos de ambas alternativas, a efectos de contrastar los mismos.

El primer caso es el de la tecnología convencional desarrollada en los laboratorios Natick del Ejército de Estado Unidos de Norteamérica (Emert y Katzen, 1979; Spano y col., 1980). En este caso, el proceso se centra en la producción de complejos de celulosa de bajo costo y alta calidad a partir de mutantes de *Trichoderma reesei*, además de la integración de las distintas etapas del proceso y optimización de parámetros del proceso: pH, temperatura, tiempos de residencia, concentraciones de sustrato, enzimas y levaduras.

El otro ejemplo es el de la tecnología desarrollada por Gulf Oil Chemical, de Estados Unidos de Norteamérica, llevada a escala piloto en una planta de una tonelada diaria en Sayhawk Works, cerca de Pittsburg, Kansas. La base del proceso es la sacarificación y fermentación simultáneas.

En la tabla 2.10 del anexo 8, adaptada de (Emert y Katzen, 1979; Spano y col., 1980) se muestran detalles sobre la inversión de capital requerida y la estructura de costos de producción. Se aprecia también el peso que tiene la producción de enzimas en este tipo de procesos (mas del 40% del costo total) seguida por las etapas de fermentación (25%), pretratamiento (21%), e hidrólisis (12%).

Dado que los costos de conversión tanto de (SFS), como (SFA), se presentan sensiblemente superiores a las opciones convencionales por vía petroquímica tendremos que la competitividad de la sacarificación y fermentación de recursos lignocelulósicos está dada por la disponibilidad de una materia prima de costo tan bajo que pueda compensar sobradamente las ventajas económicas de conversión de recursos petroquímicos o amiláceos.

Para que se tenga una idea de lo expuesto, basta comentar que la síntesis de un litro de etanol por vía petroquímica, demanda 0,48Kg de etileno, mientras que por vía fermentativa se requieren 1,54Kg de azúcar. Basando el análisis en el costo de las materias básicas respectivas, se tiene en consecuencia que el costo del azúcar para ingresar a la etapa de fermentación, debería estar en el orden de un tercio del costo del etileno, el cual se ubica actualmente en el orden de 0,40 USD/Kg.

Este costo, según estudios basados en experiencias a escalas pequeñas (laboratorio, banco), puede ser alcanzado cuando la materia prima celulósica es un desecho de muy bajo precio, tal como el papel de diarios o los desechos urbanos, pero se duplica al considerar la elaboración a partir de desechos agrícolas (Burastero, 1990).

2.5.4. Fermentación de pentosas.

A menos que se utilicen las pentosas, la factibilidad económica del proceso en una situación realista, en la cual la materia prima tenga un costo razonable, difícilmente pueda ser viable para la producción de etanol. Esto es válido en general, pero en particular resulta indispensable para sustratos ricos en hemicelulósicas, tales como los tallos de maíz, las pajas de cereales, el bagazo de caña de azúcar, las maderas duras, etc.

Una opción para encarar este tema, es la transformación de la xilosa a su ceto-isómero xilulosa, empleando, por ejemplo la glucosa isomerasa disponible comercialmente para la producción industrial de fructosa (Jeffries, 1981; Wang y col., 1980)

La tabla 2.11 del anexo 9, adaptada de (Salomón y col., 1988), muestra el incremento en la productividad obtenido mediante la fermentación adicional de las pentosas en un sistema de sacarificación y fermentación acoplada.

Otra opción para aprovechar el potencial de la fracción de hemicelulosas en la generación de etanol, es la de utilizar microorganismos capaces de fermentar directamente las pentosas, sin previa isomerización (Burastero, 1990). Al comenzar la década del '80 se descubre la posibilidad de fermentación directa de la xilosa por varias especies de levaduras, de las cuales solo unas pocas pueden llevar a cabo este proceso con productividades de interés práctico: *Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae* y *Pichia stipitis* (Bravo Rodríguez y col., 1987).

También algunas bacterias y hongos (*Clostridium thermosaccharolyticum*, *Fusarium oxysporum*, *Neurospora crassa*), son capaces de llevar a cabo esta fermentación directa, si bien con producción simultánea de otros productos, tales como 2-3 butanodiol, ácido acético, ácido fórmico, etc. (Skoog y Hahn-Hagerd, 1988).

Con el desarrollo de la Biología Molecular y la Ingeniería Metabólica se ha venido trabajando en crear organismos capaces de fermentar todos los azúcares derivados de la lignocelulosa. La Ingeniería Metabólica permite ampliar el rango de sustratos que un microorganismo puede utilizar. (Olsson y Nielsen, 2000). Una forma de hacerlo es transformando organismos fermentadores de xilosa con genes de un organismo etanológico, (Ingram y col., 1998). Otra forma es la introducción en *S. Cerevisiae*, o en otro organismo fermentador de hexosas, de una ruta para el metabolismo de xilosa de un organismo utilizador de xilosa.

Como la *Sacchromyces* es capaz de fermentar xilulosa a etanol, la misma ha sido transformada genéticamente con los genes *XYL1* y *XYL2* que codifican para las enzimas xilosa reductasa (XR) y xilitol deshidrogenasa (XDH) provenientes de *P. stipitis*. A pesar de esto los rendimientos de etanol no han sido muy elevados y la xilosa ha sido fundamentalmente convertida a xilitol debido a imbalances de cofactores enzimáticos y los bajos niveles de expresión del gen *XKS1* que codifica para la xilulosa kinasa (XK) (Eliasson, 2000). De los organismos recombinantes creados hasta ahora el más eficiente es la bacteria *Escherichia coli* KO11, a la que se le ha introducido la ruta del etanol de *Z.mobilis* (Ingram, L.O. (1991). Este microorganismo recombinante tiene características

robustas ante las fluctuaciones operacionales de una planta a escala comercial ya que esta basado en la muy estudiada *Escherichia coli*.

Sin embargo estudios fermentativos mas recientes sobre hidrolizados de bagazo utilizan una cepa *S. Cerevisiae* TMB 3001 adaptada a la presencia de inhibidores, que contiene los genes *XYL1* y *XYL2* de *P. stipitis* integrados en su cromosoma y cuyo gen homologo *XKSI* ha sido sobre-expresado. Dicha cepa aumentó el rendimiento de etanol de 0.28g de etanol por g de azucres totales a 0.31g/g respecto a una cepa natural de *S. Cerevisiae* transformando el 33% de la xilosa a bioetanol y limitando la producción indeseada de xilitol (Martin y cols., 2002)

En la tabla 2.12 del anexo 9, adaptada de (Burastero, 1990), se muestra la significativa contribución de la fermentación de pentosa al rendimiento global en etanol de una planta productora que integra ambos procesos.

2.6. CONCENTRACION DEL ETANOL

Según lo expuesto hasta aquí, dos de los obstáculos fundamentales que previenen la producción masiva del etanol a partir de biomasa lignocelulósica, son las bajas productividades globales y los elevados consumos energéticos. En particular, la etapa de concentración de los mostos generados en los fermentadores es la etapa más intensiva energéticamente.

En consecuencia se han estudiado diversas alternativas para la misma, aunque ninguna haya alcanzado al presente la masividad de aplicación de la técnica convencional de destilación y sus modificaciones y optimizaciones.

El análisis del tema, por lo tanto, puede dividirse en dos enfoques: los sistemas tradicionales y sus modificaciones, y los sistemas no convencionales (Serra y col., 1987).

2.6.1. Sistemas tradicionales

La destilación convencional es en la actualidad la técnica más generalizada a escala industrial para la producción de etanol azeotrópico (95,57 % p/p, equivalente al 89% en moles).

La demanda energética con esta tecnología tradicional, muestra una fuerte dependencia de la composición de la alimentación (tenor alcohólico en los mostos) y de la operación de la columna de destilación (relación de flujo) (Sobrón y Fernández Polanco, 1984).

La energía específica para alcanzar cualquier concentración dada de producto por destilación, puede variar hasta en dos órdenes de magnitud, dependiendo de la concentración inicial de la alimentación, y se incrementa notoriamente cuando la concentración de la corriente de entrada está por debajo del 4%, ya que una cantidad desproporcionadamente grande de agua debe ser evaporada para obtener el producto (Burastero y Ferrari, 1989).

La tabla 2.13 del anexo 10, adaptada de (Cadoche y López, 1988), confirma que gran parte de esa energía específica es requerida por las etapas iniciales de concentración de mostos muy diluidos, indicando la necesidad de obtener tenores alcohólicos razonables en el mosto de fermentación si se pretende escalar las tecnologías hasta un nivel industrial.

Los datos de esta tabla corresponden a sistemas convencionales de destilación, en operación continua a presión atmosférica. Para la obtención de mezclas azeotrópicas, partiendo de una concentración inicial de los mostos de alrededor del 10%, puede ubicarse en el rango de 4700 a 5800Kg vapor/l etanol producido, pudiéndose incrementar la eficiencia mediante distintas modificaciones del proceso.

Una de las modificaciones más habituales, es la recompresión del vapor de cabeza para utilizarlo como fluido calefactor en el calderín de la columna de rectificación, aprovechando así el aumento de temperatura debido a la compresión. Los costos de capital, debido al equipo adicional requerido, se incrementan en el orden del 50% respecto del esquema convencional. Este aumento deberá compensarse económicamente con los ahorros energéticos, dado que la demanda de energía con esta alternativa oscila, según (Sobrón y Fernández Polanco, 1984), alrededor de 750Kg vapor/l (129) y 1600-1780Kg de vapor/l de etanol azeotrópico según (Serra y *col.*, 1987).

Otra opción razonablemente simple, es la de operar el tren de destilación a diferentes niveles de presión, de manera que el vapor procedente de la cabeza de una de las columnas se utiliza como fuente de energía en el calderín de la siguiente. Este sistema tiene una demanda energética específica en el rango de 2150 a 2450 Kg/l de etanol azeotrópico (Serra y *col.*, 1987).

La rectificación a presiones inferiores a 10 KPa permite obtener, con una técnica convencional, etanol anhidro. Se aprovecha para esto la desaparición del azeotrópo etanol-agua en dichas condiciones de vacío. Sin embargo la penalización energética para

conseguir este resultado, es demasiado elevada: 10300 Kg/litro de etanol, sin contar además las exageradas dimensiones de la columna, de alrededor de 60 etapas de equilibrio. El consumo puede reducirse significativamente (a la mitad o menos) mediante la técnica de recompresión del vapor (Gostoli, 1989).

La técnica más usada para romper el azeótropo y producir etanol anhidro, es la adición de un tercer agente a la mezcla que altere selectivamente la volatilidad de uno de los componentes, por efectos de solubilidad. Cuando el agente es más volátil que el agua, el proceso se denomina destilación azeotrópica. Cuando es relativamente poco volátil, la técnica recibe el nombre de destilación extractiva.

Partiendo de etanol azeotrópico, por destilación con benceno, según el proceso más empleado a escala industrial, el consumo energético específico está en el orden de los 2000 Kg/l de etanol absoluto.

2.6.2. Sistemas no convencionales

En este campo, existen dos enfoques. Por un lado las técnicas desarrolladas para extraer el etanol de soluciones diluidas, en sistemas que, por ejemplo, pueden acoplarse al mismo reactor de fermentación y por otra parte las tecnologías apropiadas para deshidratar el alcohol que forma parte de mezclas azeotrópicas (Gostoli, 1989).

Dentro del primer enfoque, se han invertido considerables esfuerzos de investigación en la aplicación de la ósmosis inversa. La concentración máxima de etanol susceptible de ser alcanzada mediante esta técnica, está limitada por la presión osmótica ejercida por la soluciones de etanol-agua, que alcanzan los 6,6 MPa para soluciones de etanol al 12% p/p. Por lo tanto esta tecnología sólo encontraría aplicación en la preconcentración de mostos muy diluidos, con el objeto de minimizar la demanda energética de las etapas posteriores de concentración, según se justifica cuantitativamente en la tabla 2.13 del anexo 10. Para extender la aplicación de la ósmosis inversa a un rango mayor de concentraciones, se requiere resolver algunos obstáculos tecnológicos, tal como la disponibilidad de membranas adecuadas para soluciones de distinta concentración, y la degradación de las mismas por exposición continua a soluciones de alto tenor alcohólico.

También dentro del enfoque de concentrar mostos diluidos, se encuentran las técnicas denominadas de fermentación extractiva (Gostoli, 1989). Para ello se requieren extractantes dotados de una serie de propiedades: selectividad para el etanol, baja toxicidad hacia los

microorganismos, inmiscibilidad con el agua, baja emulsibilidad en la fase acuosa, disponibilidad comercial a costos razonables, etc. Con estos fines, se han probado dodecanol, dibutilftalato, tributilfosfato, 2-etil hexanol, aceite blanco liviano de parafinas, etc (Serra y *col.*, 1987).

La técnica de pervaporación, basada en la tecnología de membranas, es en alguna medida análoga a la fermentación al vacío, con la ventaja que en este caso el fermentador opera a presión atmosférica, mientras que el vacío está confinado al espacio de vapor del módulo de membrana (Gostoli, 1989).

También se emplea la tecnología de tamices moleculares capaces de adsorber selectivamente el agua, ya sea de soluciones diluidas en combinación con una adsorción previa de etanol sobre carbón, o bien como técnica para anhidrar mezclas azeotrópicas (Serra y *col.*, 1987).

Entre las técnicas apropiadas para obtener etanol anhidro a partir de soluciones con un tenor alcohólico superior al 70%, se menciona el empleo de materiales que adsorben selectivamente el agua de estas soluciones, tales como la celulosa, el almidón de maíz, residuos celulósicos de maíz, óxidos, hidróxidos o sulfatos minerales, etc, que resultan en productos de una pureza de hasta 99,8% en etanol, tal como se muestra en la tabla 2.14 del anexo 10, adaptada de (Ladisich y Dyck, 1979).

Otras técnicas incluyen la adsorción del agua o del etanol de las soluciones concentradas en compuestos poliméricos en fase líquida (resinas XAD-2, XAD-4, IRC-50, IRA-400, IRA-401, IR-45, etc).

Una ventaja de los sistemas basados en la adsorción, desde el punto de vista energético, es que sólo se consume la energía necesaria para la regeneración del adsorbente.

Los consumos energéticos para incrementar el tenor alcohólico desde un mínimo del 85% hasta un máximo del 99.9%, varían en el rango de 340 a 1400Kg vapor/l de producto, dada su dependencia específica de la tecnología en particular que se considere (Serra y *col.*, 1987).

De cualquier manera, en la actualidad, la mayor parte de estas alternativas aún se encuentran en fase de desarrollo y deben competir con la marcada predisposición de la industria por la optimización de los sistemas convencionales.

2.6.3. Propuesta tecnológica para la producción de bioetanol en Cuba

En cada epígrafe de este capítulo hemos recorrido todas las alternativas que están en fase de investigación y desarrollo en el mundo para la obtención de bioetanol a partir de lignocelulósicos. En cada etapa se ha hecho énfasis en la o las variantes que más se ajustan a las condiciones cubanas. Se ha tenido en cuenta infraestructura ya existente así como las condiciones económicas y medioambientales del territorio. El análisis se ha hecho superficialmente considerando la información bibliográfica recopilada excluyendo las variantes que a simple vista son demasiado costosas para nuestro país y que no valen la pena tratarlas a profundidad.

De este análisis primario surgieron dos alternativas que pudieran tener factibilidad técnica y económica en nuestras condiciones. El Capítulo III de este trabajo abordara con mayor profundidad el análisis de ambas alternativas con la finalidad de tomar decisiones acerca de la factibilidad de producir bioetanol a partir de bagazo en Cuba.

Las alternativas propuestas son:

Alternativa I: Esta alternativa incluye las siguientes etapas: molienda del bagazo utilizando un molino de compresión de rodillos capaz de realizar una reducción de tamaño de partícula hasta 3mm. En estas condiciones de operación el requerimiento de energía eléctrica de este equipo se mantiene por debajo de los 30 KWh/Ton de materia prima, lo que se recomienda en términos energéticos para el desarrollo de una operación factible. Este tamaño de partícula está ubicado en el óptimo recomendable para la hidrólisis enzimática.

Nuestra propuesta contempla como pretratamiento la explosión a vapor precedida de una etapa de impregnación del material con SO₂ con lo cual se logra aumentar el rendimiento en azúcares mientras que los niveles de agentes inhibidores se mantienen similares a los obtenidos con un pretratamiento sin impregnación. Las mejores condiciones de operación reportadas para esta etapa fueron: temperatura de 205°C con un tiempo de residencia de 10 min (Martín, 1992).

Del pretratamiento se toma la parte líquida rica en hemicelulosa, celulosa, celobiosa, glucosa, arabinosa y xilosa y con ciertas cantidades de los productos de degradación. La

parte sólida puede retener parte de la celulosa y la mayor parte de la lignina, dicha fracción podría ser pretratada nuevamente para aprovechar lo que quedó de celulosa y obtener la lignina más pura, producto de alto valor agregado.

El licor resultante se introduce en las columnas de sacarificación y fermentación acopladas. En una de las columnas contiene el complejo de celulasas inmovilizadas obtenidas a partir de la cepa *Trichoderma reesei* (NOVO) y en la otra levaduras inmovilizadas de la cepa recombinante *S. Cerevisiae* TMB 3001 utilizadora de xilosa y capaz de crecer y fermentar azúcares en presencia de inhibidores. La columna de sacarificación puede operar a 50°C y la de fermentación a 30°C. La columna de sacarificación llevaría un sistema de recuperación para las enzimas que se desprendan de la matriz a las que están fijadas.

Después de ciertos ciclos entre las columnas, el fermentado es llevado a un equipo de destilación convencional, comunes de encontrar en las destilerías anexas a centrales azucareros.

Alternativa II: Esta alternativa parte de una etapa de molienda semejante a la descrita para la alternativa I, seguida de un pretratamiento al material lignocelulósico con ácidos diluidos a temperatura que puede oscilar entre 80 y 230°C dependiendo de la dilución del ácido. En esta alternativa se propone operar a 80°C con una concentración del ácido alrededor de 2%. Los ácidos a utilizar son de producción nacional (sulfúrico o clorhídrico), y un tiempo de contacto del material con la solución relativamente pequeño. Operando en estos niveles se pueden alcanzar valores de rendimiento acordes con los reportados en la literatura así como atenuar la formación de productos de degradación e inhibidores de la fermentación.

Posteriormente la mezcla obtenida es filtrada y separada en dos corrientes; una líquida rica en pentosas y en azúcares derivados de la hemicelulosa principalmente y otra sólida compuesta principalmente por lignina y celulosa.

La fracción que contiene los sólidos es acumulada en tanques receptores donde es mezclada con la fracción líquida después de que esta fuera neutralizada hasta niveles que garanticen el pH óptimo en la etapa posterior de sacarificación y fermentación acopladas.

La neutralización se lleva a cabo en un sistema compuesto por una columna de intercambio iónico, luego el licor pasa a un recipiente mezclador donde se ajusta el pH hasta los niveles deseados mediante la adición de hidróxido de calcio, en esta etapa ocurre la formación de

cantidades mínimas de yeso la cual es separada posteriormente en un filtro que opera a vacío, luego el filtrado es mezclado con la fracción que contiene los sólidos para ser incorporado a la etapa de sacarificación y fermentación acopladas donde se opera de forma semejante a la descrita en la alternativa I a diferencia de que en el reactor donde ocurre la sacarificación se ubica el material sólido y en el líquido recirculante se ingresan las enzimas celulasas del *Trichoderma reesei* (NOVO).

Para una mejor ilustración de la tecnología propuesta, cada alternativa esta representada en forma de diagrama de bloques en la figura 1 y 2.

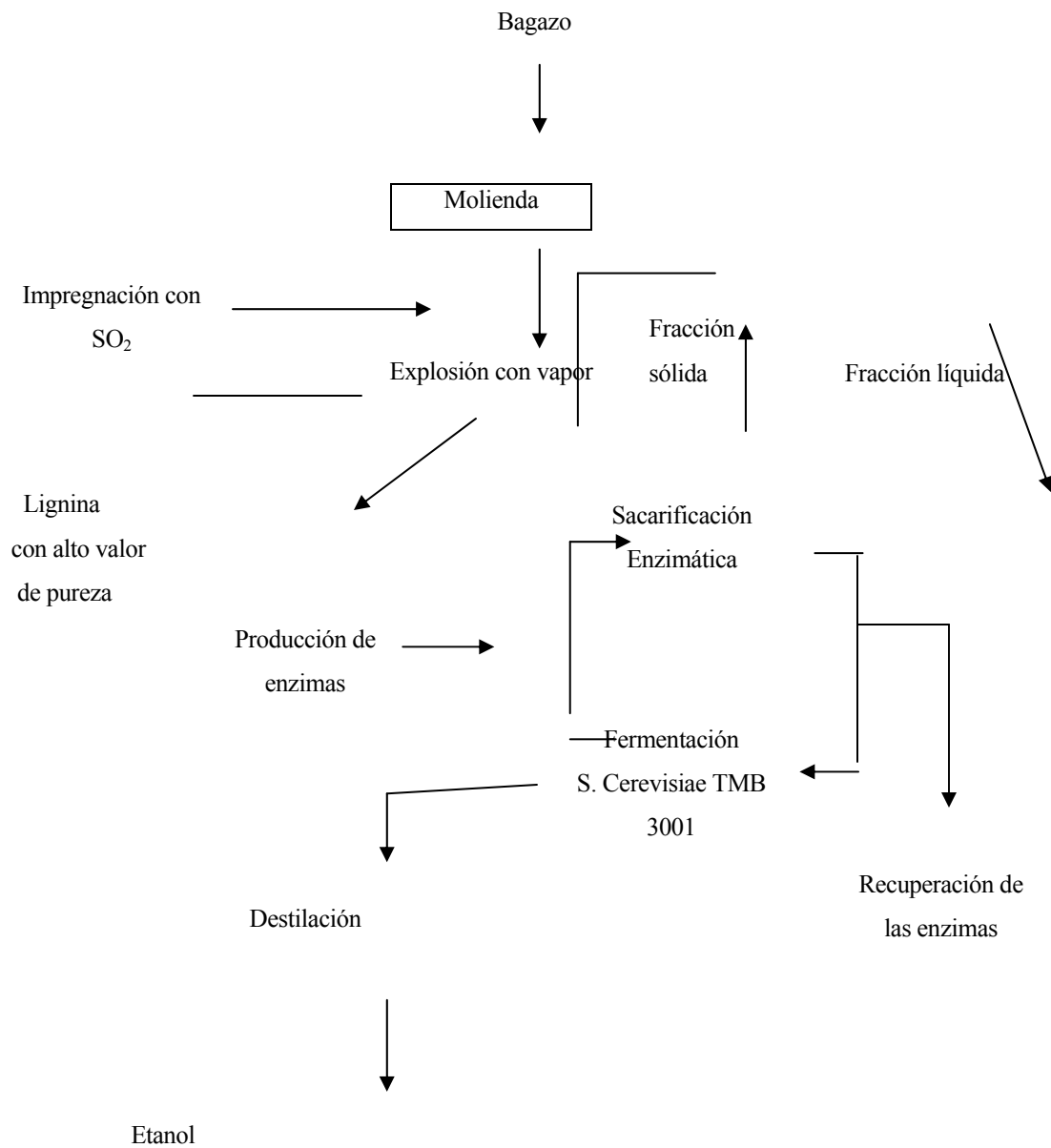


Figura 1. Representación de la alternativa tecnológica I.

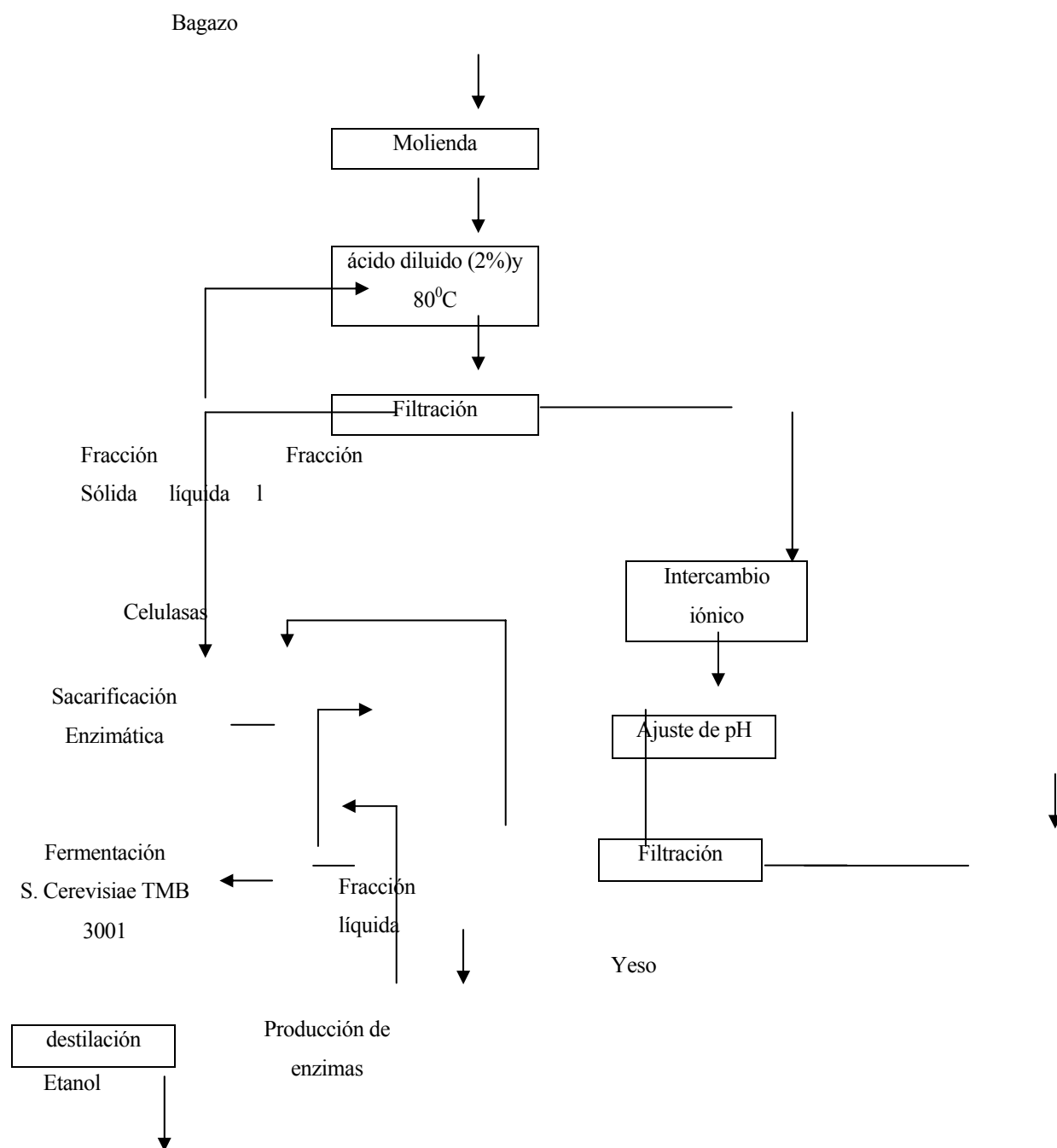


Figura 2. Representación de la alternativa tecnológica II.

2.7. Conclusiones parciales

- Existen un gran número de alternativas para cada etapa del proceso de producción de bioetanol a partir de sustratos lignocelulósicos: variantes diversas para las etapas de pretratamiento, hidrólisis, fermentación y concentración final del producto
- No existe aún una tecnología irrefutable que no deje margen a la combinación de alternativas de acuerdo a la materia prima utilizada y las condiciones económicas y ambientales de cada región.
- Cuba requiere llegar a la determinación de una alternativa viable tanto técnica como económicamente para su desarrollo en nuestras condiciones que permita producciones a mediana y gran escala de bioetanol sobre la base del bagazo como fuente lignocelulosa fundamentalmente.
- Las tecnologías más promisorias aplicables en Cuba según el análisis bibliográfico resultaron el empleo del bagazo pretratado a través de un proceso de explosión por vapor de agua con impregnación de SO_2 , seguida de una hidrólisis enzimática acoplada a una fermentación que utiliza la cepa recombinante *S. Cerevisiae* TMB 3001. La otra alternativa es diferente en el pretratamiento del bagazo, ya que utiliza ácidos diluidos y aumento de temperatura, además de requerir una operación de neutralización y ajuste de pH antes de ingresar a la sacarificación y fermentación acopladas.

Capítulo III

Análisis de factibilidad técnico-económico de alternativas de producción de bioetanol a partir de bagazo de caña.

En el capítulo anterior luego de realizar un análisis de las diferentes opciones existentes para cada etapa del proceso de producción de etanol a partir de lignocelulósicos se concluyó con la selección de las dos alternativas con más perspectivas para la producción de etanol combustible en Cuba a partir de bagazo de caña. En los anexos 1 y 2 se muestran los esquemas de flujo correspondientes a las alternativas I; explosión por vapor del bagazo impregnado con SO₂, seguido de una sacarificación y fermentación acopladas y II; pretratamiento del bagazo con ácido diluido seguido de una etapa de neutralización y posterior etapa de sacarificación y fermentación acopladas respectivamente.

Prosiguiendo con la evaluación de alternativas con vista a definir la opción con más perspectivas para ser implementada a nivel industrial en Cuba, se lleva a cabo en este capítulo una evaluación técnico-económica de las variantes de proceso seleccionadas.

3.1. Estudio de mercado

En la actualidad la producción de bioetanol con fines combustibles en Cuba es un renglón con poco desarrollo debido a que la insuficiente materia prima esta destinada fundamentalmente a producir alcohol para la elaboración de bebidas para la exportación, lo cual es una de las fuentes principales de obtención de moneda libremente convertible para el MINAZ. Con el objetivo de ampliar la variedad de sustratos con potencial fermentable en este trabajo se han valorado dos alternativas para la producción de bioetanol a partir de bagazo de caña debido a su rica composición de celulosa y hemicelulosa que son las principales fuentes de azúcares fermentables en la biomasa lignocelulósica.

- Macro localización de la planta.

Nuestra propuesta comprende la Empresa azucarera “Uruguay” para la instalación de una

planta para la producción de bioetanol a partir de bagazo, aprovechando las ventajas que brinda la integración material y energética entre el central azucarero y la fabrica a instalar.

- Análisis de capacidades de la planta.

Se determina trabajar 300 días al año mediante la integración material y energética del central con las plantas de derivados. Sobre la base de la capacidad de procesamiento de la Empresa azucarera, la capacidad de procesamiento de la planta de producción de bioetanol quedó fijada en 100000 @/día de bagazo, es decir 30000000 @/año.

3.1.1. Equipamiento a instalar en la Alternativa I.

➤ Preacondicionamiento.

- Elevador de canjilones provisto de tornillo sinfín dosificador:

Largo=5m Ancho=1.2m Altura=4.25m Inclinación=45°

Esta conformado por una estera elevadora a la cual están sujetos los canjilones separados uno de otro a 0.50m la cual descarga en la parte superior en un recipiente donde esta ubicado el tornillo sinfín encargado de dosificar la cantidad de bagazo al molino de rodillos, toda la unidad se encuentra cubierta por una caja para evitar formación de polvo o perdidas por abate del viento. Material de construccion: acero al carbono.

Transportador Dosificador Tornillo Sinfín

Característica	UM	Valor	Referencia
Diámetro del Tramo	Pulg.	16	Perry Tabla 7.7
Velocidad	Rev /min	35	
Capacidad máxima del torque	Pulg. Lb.	7 600	
Diámetro de la Sección de Alimentación	Pulg.	20	
Longitud	Pie	6	

- Molino de rodillos por presión.

Conformado por dos rodillos contruidos de acero al carbono con un diámetro de 0.9144m, ubicados de forma tal que el material es obligado a circular entre estos.

➤ Pretratamiento.

- Reactor cilíndrico de alta presión dotado de un taladro que tiene la función de empujar los sólidos por un orificio donde al salir a un tanque flash el material explota.

Opera a una temperatura de 205 °C.

- Tanque flash.
- Condensador. (2 unidades)
- Tanque de almacenamiento de condensado.
- Tanque de almacenamiento de licores azucarados.(3 unidades)

➤ Hidrólisis y fermentación acopladas.

- Reactor enchaquetado con agitación interna para hidrólisis enzimática. Opera a una temperatura entre 40-50 °C. (6 unidades)
- Reactor enchaquetado para fermentación de exosas y pentosas a etanol. Opera a una temperatura entre 29-34 °C. (6 unidades)

➤ Sistemas auxiliares.

- Sistema de enfriamiento de agua.
- Torre de enfriamiento de tiro inducido.

3.1.2. Equipamiento a instalar en la Alternativa II.

➤ Preacondicionamiento.

El equipamiento seleccionado para esta etapa es exactamente igual al descrito para la Alternativa I.

➤ Pretratamiento.

- Reactor cilíndrico enchaquetado con agitación.

Opera a una temperatura de 80 °C.

- Tanque de almacenamiento de solución ácida. (2 unidades)
- Tanque flash.
- Filtro Belt.
- Condensador.
- Tanque de almacenamiento de condensado.
- Tanque de almacenamiento de licores.(3 unidades)

➤ Neutralización.

- Intercambiador de calor.
- Columna de intercambio iónico.(4 unidades)
- Tanque mezclador.
- Filtro de vacío.
- Tanque de almacenamiento de mezcla.(3 unidades)

➤ Hidrólisis y fermentación acopladas.

El equipamiento seleccionado para esta etapa es similar al seleccionado con este objetivo para la Alternativa I.

3.2. Determinación de costos para cada alternativa.

Luego de la selección de los equipos se procedió a calcular sus correspondientes costos mediante la utilización de las páginas interactivas provistas por el sitio Web www.matche.com, el cual presenta valores actualizados de costo de adquisición de equipamiento. En las tablas 3.1 y 3.2 del anexo 11 se encuentra relacionado el costo de adquisición e instalación para las alternativas I y II respectivamente.

Costo Total de Inversión (CTI) = Costo Fijo de Inversión (CFI) + Costo del Trabajo (CT)

• Costo del Trabajo (CT) = [10 - 20] % Costo de Total de Inversión (CTI)

• Costo Fijo de Inversión (CFI) = Costos Directos (CD) + Costos Indirectos (CI)

•• Costos Directos (CD) = Costo de Adquisición (A) + Costo de Edificación (B) +

Costo de Servicio y Movimiento de Terreno (C) + Costo del Terreno (D)

- Costo de Adquisición (A) = Costo de los Equipos (A1) + Costo de la Instalación (A2) + Costo de Instrumentación (A3) + Costo de Tuberías y Accesorios (A4) + Costo de Instalaciones Eléctricas (A5)
- Costo actualizado de los Equipos (A1)
- Costo de la Instalación (A2) = 25% Costo de los equipos.
- Costo de Tuberías y Accesorios (A4)
- Costo de Instalaciones Eléctricas (A5) = [8 - 20] % Costo de los Equipos (A1)
- Costo de Edificación (B) = [10 - 70] % Costo de los Equipos (A1)
- Costo de Servicio y Movimiento de Terreno (C) = [40 - 90] % Costo de los Equipos
- Costo del Terreno (D) = [4 - 8] % Costo de los Equipos (A1)
- Costos Indirectos (CI) = Ingeniería y Supervisión (AA) + Gastos Indirectos de Construcción (BB) + Impuestos y Contingencia (CC)
- Ingeniería y Supervisión (AA) = [5 - 15] % Costo de Adquisición (A)
- Gastos Indirectos de Construcción (BB) = [7 - 20] % Costo de Adquisición (A)
- Impuestos y Contingencia (CC) = [5 - 15] % Costo Fijo de Inversión (CFI)

A continuación se muestra en las Tablas I y II el valor de la inversión de las dos variantes.

Tabla 3-I. Resumen de los costos de inversión para cada alternativa.

Costos de Inversión	Valor (\$)	
	Alternativa I	Alternativa II
Adquisición del Equipamiento	639506.765	3563874.22
Costos Directos Total	1580786.765	5398114.22
Costos Indirectos Total	260910.5465	1074973.698
Capital Fijo Invertido	1841697.347	6473087.918
Costo total de inversión	2046330.386	7192319.9

3.2.2. Costo Total de Producción.

Para llevar a cabo la determinación de los costos totales de producción para cada variante tecnológica se tuvieron en cuenta una serie de consideraciones ya que ambas alternativas presentan como etapas comunes la destilación y la producción de enzimas.

El rendimiento de azúcares totales en el proceso de explosión por vapor con impregnación de dióxido de azufre es de 52.9 g/g. lográndose en este caso un rendimiento de etanol de 0.18 g/g de bagazo.(Martín, 2002).

En el caso de los pretratamientos con ácidos diluidos los rendimientos en azúcares oscilan entre 65-80% del contenido teórico en el material lignocelulósico (López, 1994) siendo el contenido teórico de azúcares en el bagazo 70%. (Boutros, 1993)

El rendimiento a etanol de la cepa adaptada *S. Cerevisiae* TMB 3001, es de 0.31 g/g de azúcares (Martín, 2002).

El costo de producción de enzimas representa hasta el 23% del costo total de producción de etanol a partir de sustratos lignocelulósicos por hidrólisis enzimática.(Nguyen, 1993). En este mismo tipo de procesos el costo de la etapa de destilación es de 0.08 \$/l de etanol producido. (Quintero, 2003).

$$\text{Costo Total de Producción (CTP)} = \text{Costo de Fabricación (CF)} + \text{Gastos Generales (GG)}$$

- Costos de Fabricación (CF) = Costos Directos (CD) + Costos Indirectos (CI) + Cargos Fijos (CFJ)

- Costos Directos (CD) = Costo de Materia Prima (MP) + Costo de Mano de Obra (MO) + Supervisión (SP) + Requerimientos (RQ) + Mantenimiento y Reparación (MM) + Suministros (SM) + Gastos de Laboratorio (LB)

- Costo de Mano de Obra (MO) = [10 - 20] % Costo Total de Producción (CTP)

- Supervisión (SP) = [10 - 25] % Costo Total de Producción (CTP)

- Mantenimiento y Reparación (MM) = 2 % Costo de los Equipos (A1)

- Suministros (SM) = 15 % Mantenimiento y Reparación (MM)

- Gastos de Laboratorio (LB) = [10 - 20] % Costo de Mano de Obra (MO)

- Costos Indirectos (CI) = [5 - 15] % Costo Total de Producción (CTP)

- Cargos Fijos (CFJ) = Depreciación (DP) + Seguros (SG)

- Depreciación (DP) = 10 % Costo Total de Inversión (CTI) + [2 - 3] % Gastos Indirectos de Construcción (BB)
- Seguros (SG) = 1 % Costo Total de Inversión (CTI)
- Gastos Generales (GG) = Administración (AD) + Distribución y Venta (DV) + Inversión y Desarrollo (ID) + Intereses (IN)
- Administración (AD) = [2 - 5] % Costo Total de Producción (CTP) / Período de Vida
- Distribución y Venta (DV) = [2 - 20] % Costo Total de Producción (CTP)
- Inversión y Desarrollo (ID) = [2 - 5] % Costo Total de Producción (CTP)
- Intereses (IN) = [0 - 7] % Costo Total de Inversión (CTI)

Sobre la base de los valores obtenidos al determinar los costos de inversión, se obtuvieron los resultados del cálculo de los costos de producción mostrados en la tabla 3-II así como los valores de flujo de caja que se muestran tabulados en las figuras 3.1 y 3.2 para las alternativas I y II respectivamente.

Tabla 3-II . Resumen de los costos de producción para cada alternativa

Costos	Costo (\$/año)	
	Variante I	Variante II
Gastos de Fabricación	7828003.027	12198083.94
Costos Directos	6635141.34	10188199.83
Cargos Fijos	410161.3867	796144.6129
Gastos Generales	782700.3	1114837.998
Costo Total de Producción	7827003	12137395
Costo Unitario de Producción (\$/l)	0.207	0.254
Costo de Venta del Etanol (\$/l)	0.29	0.29

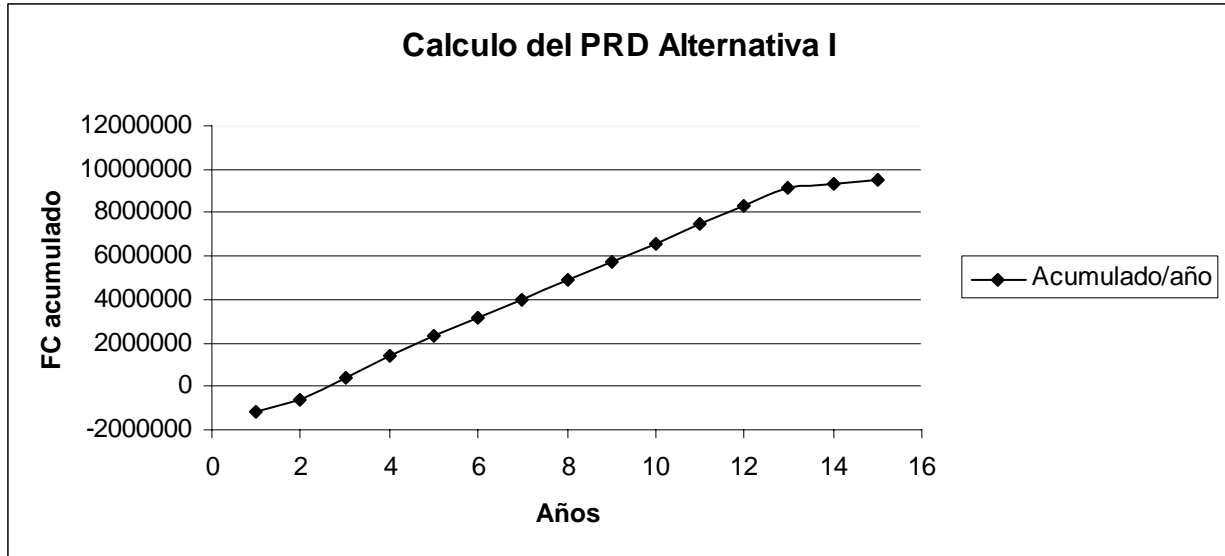


Figura 3.1. Cálculo del PRD para la alternativa I.

Alternativa I: VAN = 1828561.1, PRD= 2.7 años

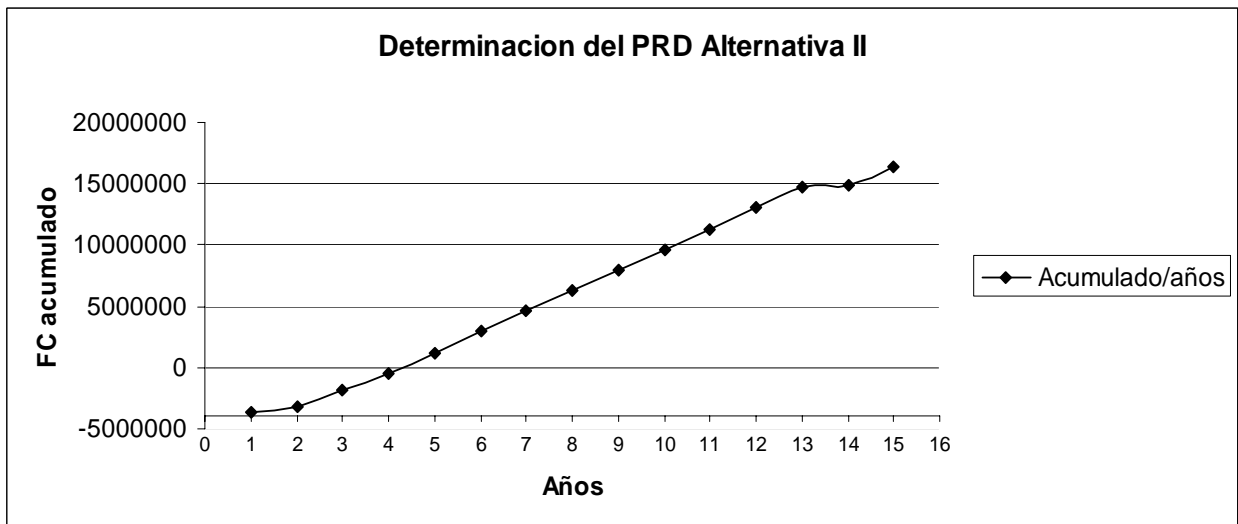


Figura 3.2. Cálculo del PRD para la alternativa II.

Alternativa II: VAN = 1290110.6, PRD= 4.18 años

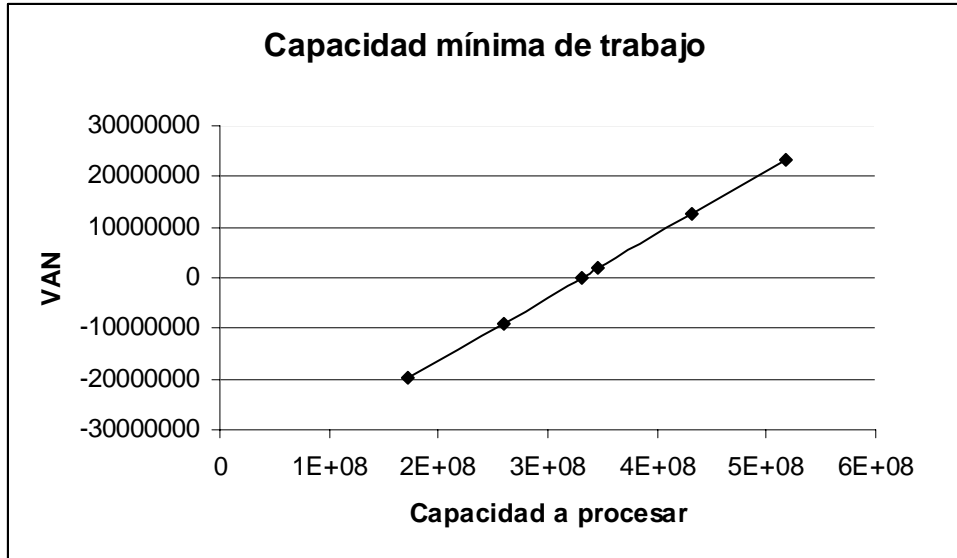


Figura 3.3. Determinación de la capacidad mínima factible de trabajo para la alternativa I.

Capacidad mínima factible de trabajo alternativa I= 766004.68 @/día.

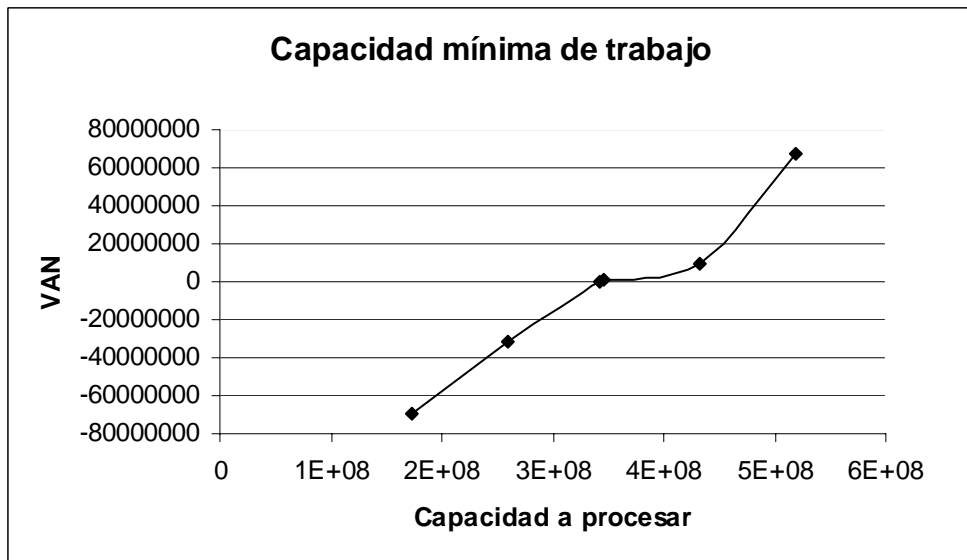


Figura 3.4. Determinación de la capacidad mínima factible de trabajo para la alternativa II.

Capacidad mínima factible de trabajo alternativa II= 791380.97 @/día.

3.3. Conclusiones parciales

1. Los grandes volúmenes de equipos que se utilizan en la alternativa II para la etapa de neutralización incurren en un elevado costo de inversión, y a pesar de que esta variante presenta niveles de conversión en azúcares superior a los obtenidos por la variante de explosión por vapor, los altos costos de operación requeridos por esta etapa de neutralización hacen el proceso global menos factible, ratificándose lo antes mencionado por su mayor costo de producción unitario en comparación con la alternativa I.
2. La alternativa I presenta un menor valor del VAN así como que requiere de un menor tiempo para la recuperación del capital invertido lo cual hace más factible y promisorio su instalación con respecto a la alternativa II.

Conclusiones

-Conclusiones generales

- 1- El pretratamiento juega un papel fundamental en los procesos de obtención de etanol a partir de materiales lignocelulósicos ya que este define en gran medida el rendimiento global del proceso y las condiciones de operación de las etapas posteriores.
- 2- Los avances alcanzados por la biología molecular y la ingeniería genética en el uso de técnicas de recombinación de ADN han permitido desarrollar algunos tipos de microorganismos con características excepcionales para llevar a cabo la hidrólisis enzimática así como la fermentación de hidrolizados con altos valores relativos de rendimiento.
- 3- Las alternativas mas atractivas para la producción de bioetanol a partir de bagazo de caña en cuba para su uso como materia prima en celdas combustible son:
 - I- Contempla como etapas principales molienda, pretratamiento con explosión por vapor con impregnación con dióxido de azufre, hidrólisis enzimática con enzimas producidas por el hongo *Trichoderma reesei* (NOVO) y fermentación con una cepa adaptada del género *Sacharomices Serevisiae*.
 - II- Esta alternativa solo difiere de la primera en que se sustituye la explosión por vapor por una etapa de pretratamiento con acido sulfúrico diluido, requiriendo además de una etapa de neutralización.
- 4- Del estudio de las alternativas seleccionadas se concluye que en principio ambas reúnen los requisitos técnicos y económicos para la producción de bioetanol a partir de bagazo de caña en Cuba.
- 5- La variante tecnológica de producción de bioetanol a partir de bagazo de caña que comprende la explosión por vapor con impregnación con SO₂ como pretratamiento, seguida de hidrólisis enzimática y fermentación es la de mayor perspectivas por sus resultados de factibilidad técnico económica y medioambiental como se refleja en los resultados de los resultados del cálculo de los indicadores económicos, VAN, PRD, además de la no generación de productos contaminantes que puedan traer consecuencias adversas al medio ambiente.

Recomendaciones

- 1- Profundizar en estudios a escala de laboratorio el proceso de fermentación con microorganismos recombinantes.
- 2- Profundizar en el estudio de los reactores idóneos para el desarrollo de procesos fermentativos sobre estado sólido así como para llevar a cabo la hidrólisis enzimática.

Bibliografía

- 1- Ander, P., Eriksson, K.E., "Lignin degradation and utilization by microorganisms", Prog. Indust. Microbiol, 14, p.p. 1-58, 1978.
- 2- Ando, S., Kakimoto, T., Itoh, K., Arai, I., Kiyoto, K., Hanai, S., "Increased digestibility of cedar by pretreatment with peracetic acid and steam explosion", Biotech. Bioeng., Vol. 31, p.p. 802-804, 1988.
- 3- Berglund, G.R., Richardson, J.G., "Design for a small-scale fuel alcohol plant", Chemical Eng. Progress, p.p. 60-67, August, 1982.
- 4- Blanco, S., Gamarra, A., Cuevas, C., Ellenrieder, G., "Ethanol production by coupled saccharification and fermentation of sugar cane bagasse", Biotechnology Letters, 4, N° 10, p.p. 661-666, 1982.
- 5- Blotkamp, P.J., Takagi, M., Pemberton, M.S. Emert, G.H., "Enzymatic hydrolysis of cellulose and simultaneous fermentation to alcohol", AIChE Symposium Series N° 181, 74, p.p. 85-90, 1978.
- 6- Boutros F, Jover J, Agüero G. Análisis de factibilidad técnico-económico del proceso de la hidrólisis del bagazo con ácido sulfúrico concentrado en una sola etapa y en una sola etapa modificada.(1993)
- 7- Bravo Rodriguez, V., Martínez Sancho, M.E., Sánchez Gómez, P., Santiandrew López, R.M., "Fermentación etanólica de xilosa con *Pachysolen tannophilus*", III Jornadas Biomasa, Soria, España, p.p. 7.7.1-7.7.8, junio 1987.
- 8- Brownell, H., Saddler, J.N., "Steam pretreatment of lignocellulosic material for enhanced enzymatic hydrolysis", Biotech. Bioeng., Vol. 29, p.p. 228-235, 1987.
- 9- Bungay, H.R., "Energy, The Biomass Option", New York, Wiley, 1981.
- 10- Burastero, J., Ferrari, M.D., "Requerimiento energético para separar etanol de soluciones acuosas por destilación", Informe Interno Proyecto IV. 1 CYTED-D, Setiembre 1989.
- 11- Burastero, J., Informe semestral Proyecto IV.1 CYTED, 1987.

- 12- Burastero, J.J., "Etanol de hemicelulosa de madera de eucalipto. Integración al proceso etanol de lignocelulósicos", presentado en "Taller Iberoamericano sobre oportunidades y competitividad de los recursos lignocelulósicos en la obtención de etanol", Concepción, Chile, noviembre 1990.
- 13- Cadoche, L., López, G., "Fijación de parámetros de proceso: tenor alcohólico del mosto", Memoria descriptiva P4. 1./MD-PR-003, INGAR, Santa Fe, 29 Octubre 1988.
- 14- Camacho Rubio, F., Gonzalez Tello, P., Jurado Alameda, E., Robles Medina, A., "Influencias de la relación NaOH/sustrato y del tiempo de pretratamiento sobre la hidrólisis enzimática de la madera de álamo", Anales de Química, recibido: 11-5-87, (1987).
- 15- Camacho, F., Gonzalez, P., Giménez, J.M., Moya, M., "Influencia de las condiciones de pretratamiento con NaOH sobre la eficacia de la hidrólisis enzimática de paja de trigo", Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment., 27 (2), p.p. 231-236, 1987.
- 16- Camacho, F., Martínez, L., Rodríguez, S., "Fermentación alcohólica: estado actual y alternativas", Ingeniería Química, p.p. 175-182, Febrero 1987.
- 17- Camacho, F., Martínez, L., Rodríguez, S., Salvago, M., "Fermentación etanólica con *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizado", An. Quím., 84, p.p. 246-250, 1988.
- 18- Camacho, F., Martínez, L., Rodríguez, S., "Fermentación etanolítica con microorganismos inmovilizados", Ingeniería Química, p.p. 129-135, Febrero 1988.
- 19- Chum, H.L., Douglas, L.J., Feinberg, D.A., Schroeder, H. A., "Evaluation of pretreatment of biomass for enzymatic hydrolysis of cellulose", Solar Energy Research Institute (SERI/TR-231-2183), Golden, Colorado, 1985.
- 20- Colberg, P.S., et al, "Heat treatment of organics for increasing anaerobic biodegradability", Annual Progress Report, SERI/TR-98174-1, Marzo 1981
- 21- Dale, B.E., Moreira, M.J., "A freeze explosion technique for increasing cellulose hydrolysis", Biotech. Bioeng. Symp., 12, p.p.31-43, 1982.
- 22- Enari, T.M. and Niku-Paavola 1987. CRC Crit. Rev. Biotechnol. 5, 67.

- 23- Fan, L.T., Gharpuray, M.M., Lee, Y.H., "Evaluation of pretreatments for enzymatic conversion of agricultural residues", *Biotechnol. Bioeng. Symp*, N° 11, p.p. 29-45, 1981.
- 24- Fox, D.J., Gray, P.P., Dunn, N.W., Marsden, W.L., "Comparison of alkali and steam (acid) pretreatments of lignocellulosic materials to increase enzymic susceptibility: evaluation under optimised pretreatment conditions", *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 44, p.p. 135-146, 1989.
- 25- Ghose, T.K., Roychoudhury, P.K., Ghosh, P., "Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of lignocellulosics to ethanol under vacuum cycling and step feeding", *Biotech. Bioeng.*, 26, p.p. 377-381, 1984.
- 26- Gostoli, C., "Production of ethanol from biomass: separation processes", Final Report C.E.C., D.G. XII/F-4, "Biomassas", contrato EN3B-0078-I(A), Bruselas, Bélgica, 1989.
- 27- Gould, J.M., Freer, S.N., "High-efficiency ethanol production from lignocellulosic residues pretreated with alkaline H₂O₂", *Biotech. Bioeng.*, Vol.26, p.p. 628-631, 1984.
- 28- Grethlein, H.E., *J. Appl. Chem. Biotechnol*, 28, p. 296.
- 29- Han, Y.W., Ciegler, A., "Effect of Gamma-ray irradiation on sugar production from plant biomass", *Biotech. Bioeng. Symp.*, 12, p.p. 73-77, 1982.
- 30- Han, Y.W., Ciegler, A., "Effect of light energy radiation on lignocellulose conversion", *Annual Reports Ferment. Processes*, 6, p.p. 299-322, 1983.
- 31- Hansen, S.M., April, G. C., "Prediction of solvent effects in aqueous organic solvent delignification" *Chem. Eng. Res. and Dev.*, 21, N° 4, p.p. 621-625, 1982.
- 32- Ho, N.W., Chen, Z., Brainard A. (1998) Genetically engineered *Saccharomyces* strain capable of effective cofermentation of glucose and xilose. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64,1852-1859.
- 33- Hohlberg, A.I., Aguilera, J.M., San Martín, R., "Pretratamientos físico-químicos para mejorar los rendimientos de sacarificación del aserrín de pino (*pinus radiata*)", *Apuntes de Ingeniería*, 30, p.p. 5-20, 1987.
- 34- Ingram, L.O. (1991) U.S. Patent No. 5 000 000.

- 35- Ingram, L.O., Gomez, P.F., Lai, X., Moniruzzaman, M., Wood, B.E., Yomano, L.P., York, S.W. (1998) Metabolic engineering of bacteria for esthanol production. *Biotech. Bieong.* **58**, 204-214.
- 36- Jeffries, T.W., "Fermentation of xylose to ethanol using xylose isomerase and yeast", *Biotech. Bioeng. Symp.*, 11, p.p. 315-324, 1981.
- 37- Katzen, R., Frederickson, R., Bush, B., "The Alcohol Pulping and Recovery Process", *Chem. Eng. Progr.*, 76,p.p. 62-67, 1980.
- 38- Kling, S.H., Carvalho Neto, C., Ferrara, M.A., Torres, J.C., Magalhaes, D.B., Ryu, D.D., "Enhancement of enzymatic hydrolysis of sugar cane bagasse by steam explosion pretreatment", *Biotech. Bioeng.*, Vol. 29, p.p. 1035-1039, 1987.
- 39- Klyosov, A. A. 1990. *Biochemistry* 29, 10577.
- 40- Klyosov, A.A., "Enzimatic conversion of cellulosic material to sugars and alcohol: the technology and its implications", UNIDO/IS. 476, 1984.
- 41- Klyosov, A.A., "Enzimatic conversion of cellulosic material to sugars and alcohol: the technology and its implications", UNIDO/IS. 476, 1984
- 42- Klyosov, A.A., Rabinowitch, M.L., "Enzymatic conversion of cellulose to glucose: present state of the art and potential", en "Enzyme engineering - Future directions", L.B. Wingard, I.V. Berezin, A.A. Klyosov ed., Plenum Press, New York, p.p. 83-165, 1980.
- 43- Klyosov, A.A., Sinitsyn, A.P., "Enzymatic hydrolysis of cellulose-IV. Effect of major physico-chemical and structural features of the substrate", *Bioorgan. Khimiya*, Vol. 7, N° 12, p.p. 994-1004, 1981.
- 44- Klyosov. A.A., "The biotechnology of the enzymatic conversion of cellulose into glucose: fundamental and applied aspects", *Proceedings of the First Finnish-Soviet Seminar on Bioconversion of Plant Materials*, Helsinki, p.p. 152 -178, 1982.
- 45- Ladisch, M.R., Dyck, K., "Dehydration of ethanol: New approach gives positive energy balance", *Science*, 205, p.p. 898-900, 1979.
- 46- Ladisch, M.R., Ladisch, C., Tsao, G.T.,"Cellulose to sugars: New path gives quantitative yield", *Science*, 201, p.p. 743-745, 1978.
- 47- Ladisch, M.R., *Process Biochem.*, 14, N° 1, p.p. 21, 1979
- 48- Lamed, R. and Bayer, E. A. 1988. *Adv. Appl. Microbiol.* 33,1.

- 49- Lamptey, J., Moo-Young, M., Robinson, C.W. "Pretreatment of lignocellulosics for bioconversion applications: Process options", *Biotechnology and Renewable Resources*, p.p. 46-56, 1985.
- 50- Lee, Y. H. and Fan, L. T. 1981. *Adv. Biochem. Eng.* 20, 9.
- 51- Lee, Y., Robinson, C. W., Moo-Young, M. "Evaluation of organosolv processes for the fractionation and modification of corn stover for bioconversion", *Biotech. Bioeng.*, Vol. 29, p.p. 57-581, 1987.
- 52- Linden, J.C., Murphy, V.G. Moreira, A.R., "Wheat straw autohydrolysis", *Adv. in Biotech.*, 2, p.p.41-46, 1980.
- 53- López, G.D., "Comparación de alternativas de pretratamiento de materiales lignocelulósicos para la producción de bioetanol", presentado en Taller Iberoamericano sobre oportunidades y competitividad de los recursos lignocelulósicos en la obtención de etanol, Concepción, Chile, Noviembre 1990.
- 54- Martín C., Marcel M, Almazán O, Jonson L.J. Estudio de la inhibición de la fermentación de hidrolizados de bagazo de caña de azúcar para la producción de etanol combustible (2002)
- 55- Mc Carty, P.L., Young, L.Y. Stuckey, D.C., Healg, J.B., "Heat Treatment for increasing methane yields from organic materials", p.p. 179-199 en Schlegel, H.G., Barnea, J. Eds., *Microbiology Energy Conversion*, New York and Oxford, Pergamon Press, 1977.
- 56- Mc Laren, D.A., Packerk, L., *Adv. Enzyme*, Vol. 33, p. 245, 1970.**
- 57- Moore, W.E., Effland, M.J., Millet, M.A., "Hydrolysis of wood and cellulose with cellulolytic enzymes", *J. of Agricultural and Food Chemistry*, 20, p.p. 1173-1175, 1972.
- 58- Nguyen, Q. A. y Saddler, J. (1992) Economic analyzes of integrating of biomass-to-ethanol plant into a pulp. *International wallingford*, 1993, pp 321-340.
- 59- Olsson, L., Nielsen, J. (2000) The role of metabolic engineering in the improvement of *Saccharomyces cerevisiae*: utilization of industrial media. *Enzyme Microb. Technol.*, **26**, 785-792.
- 60- Oshima, M., "Wood chemistry processes: Engineering aspects", Noyes, Dev. Corp., New York, 1965.

- 61- Palmqvist, E. (1998) Fermentation of lignocellulosic hydrolysates: inhibition and detoxification. PhD Thesis. Department of Applied Microbiology, Lund University, Sweden.
- 62- Pannir Selvam, P.V., Ghose, T.K., "Pretreatment of agricultural residues for enzymatic saccharification by the culture filtrate of *T. reesei* QM914", presentado en Second International Conference on Bioconversion and Biochemistry Eng., II T, Delhi, 1980.
- 63- Peitersen, N. and Ross, E. 1979. *Biotechnol. Bioeng.* 21, 997.
- 64- Presentacion: "Biomasa Lignocelulosica"; Dra Mary Lopretti – Uruguay.
- 65- Puri, V.P., Mameis, H. (1983), *Biotechnol. & Bioeng.*, 25, 3149-3161.
- 66- Quintero R, Martinez A., *Biocombustibles a partir de residuos lignocelulósicos, estudio del caso bagazo de caña en México* (1993).
- 67- **Rivers, D.B., Emert, G.H., "Factors affecting the enzymatic hydrolysis of municipal solid waste components", *Biotech. and Bioeng*, Vol. 31. p.p. 278-281, 1988.**
- 68- **Rivers, D.B., Emert, G.H., "Factors affecting the enzymatic hydrolysis of bagasse and rice straw", *Biological Wastes*, Vol. 26, p.p. 85-95, 1988.**
- 69- Rolz C. "Review on effects of some physical and chemical pretreatments on composition, enzymatic hydrolysis and digestibility of Lemongrass, Citronella and Sugarcane bagasse", *Horizons of Biochemical Engineering*, S. Alba (ed), University of Tokyo Press, p.p. 349-368, 1987.
- 70- Rolz, C., "Ultrasound effect on enzymatic saccharification", *Biotechnology Letters*, Vol. 8, N°2, p.p. 131-136, 1986.
- 71- **Ryn, S.K. and Lee, T.M. (1983). *Biotechnol.& Bioeng.*, 25, 53-65.**
- 72- Salomon, R. L., Cuevas, C. and Ellenrieder, G. 1988. *MIRCEN J.* 4, 383.
- 73- Salomón, R.L., Cuevas, C.M., Ellenrieder, G.R., "Ethanol production from sugarcane bagasse holocellulose. Coupled systems for saccharification, xylose isomerization and yeast fermentation", *MIRCEN J.*, 4, p.p. 383-392, 1988.
- 74- San Martín, R.M., "Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials for sugar production", MSc Thesis, Univ. of Berkeley, California, 1985.

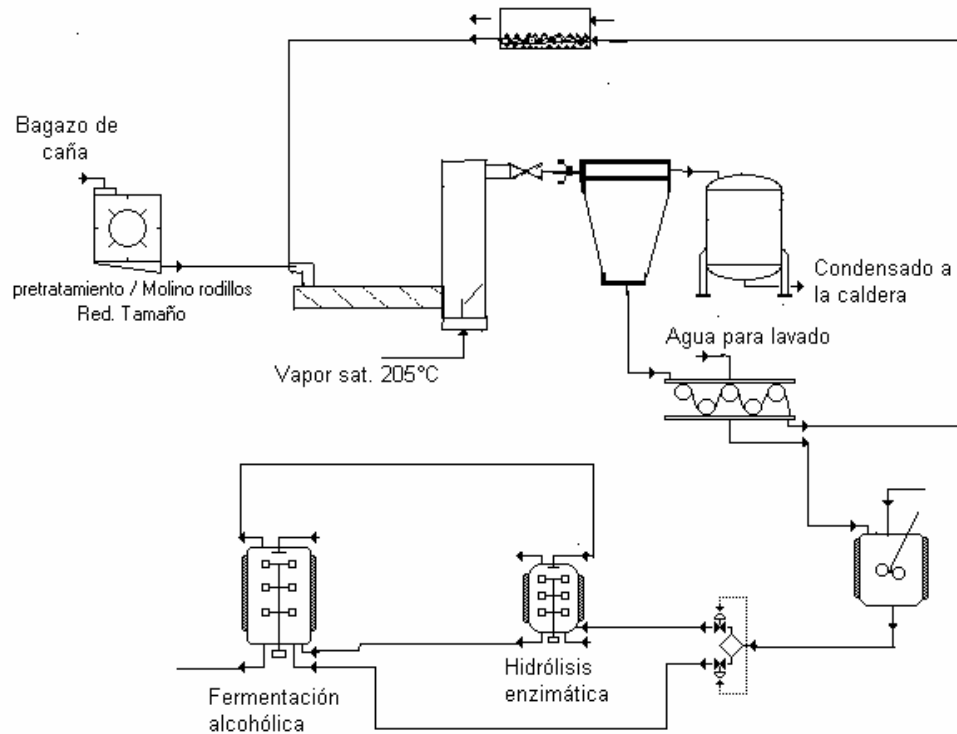
- 75- San Martín, R.S., Aguilera, J.M., "Ethanol production in Chile via enzymatic hydrolysis of eucalyptus globulus", Anais do II S.H.E.B., Vol.II, de Moraes, F.F., y Zanin, G.M. ed., Maringá, p.p. 278-293, 1985.
- 76- Schaffeld, G., Gentina, J.C., Illanes, A., Acevedo, F., Molina, R., "Diseño y evaluación técnica y económica de tres alternativas de pretratamiento e hidrólisis enzimática para la producción de azúcares fermentables a partir de Pino Insigne", Actas II Taller Aprovechamiento de Recursos Lignocelulósicos, Schaffeld, G. ed., Chile, 1985.
- 77- Schwald, W., Brevil, C., Brownell, H.H., Chan, M., Saddler, J.N., "Assessment of pretreatment conditions to obtain fast complete hydrolysis on high substrate concentrations", Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol. 20-21, p.p. 29-44, 1989.
- 78- Serra, A., Poch, M., Solá, C., "A survey of separation systems for fermentation ethanol recovery", Process Biochemistry, p.p. 154-158, Octubre 1987.
- 79- Serra, A., Poch, M., Solá, C., "Recuperación del etanol producido por fermentación a partir de biomasa. I Sistemas convencionales", Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment., 27 (3), p.p. 361-372, 1987.
- 80- Serra, A., Poch, M., Solá, C., "Recuperación del etanol producido por fermentación a partir de biomasa. II Sistemas no convencionales", Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment., 27 (4), p.p. 497-5-8, 1987.
- 81- Skoog, K., Hahn-Hagerd, B., "Xylose fermentation", Enzyme Microb. Technology, 10, p.p. 66-80, 1988.
- 82- Sobrón, F., Fernández Polanco, F., "Ahorro de energía en destilación", Ingeniería Química, p.p. 125- 129, Julio 1984.
- 83- Spano, L., Tassinari, T., Ryu, D.D.M., Allen, A., Mandels, M., "Producing ethanol from cellulosic biomass", Proceedings "Biogas and alcohol Fuels Production", Seminar on Biomass Energy for City, Farm, and Industry, The J.G. Press Inc., Emmaus, Filadelfia, p.p. 62-81, 1980.
- 84- Takagi, M., "Pretreatment of lignocellulosic materials with hydrogen peroxide in presence of manganese compounds", Biotech. Bioeng., Vol. 29, p.p. 165-170, 1987.

- 85- Tangu, S.K., "Process development for ethanol production based on enzymatic hydrolysis of cellulosic biomass", *Process Biochem.*, May/June, p.p. 36-49, 1982.
- 86- Tengborg, C. (2000) Bioethanol production: Pretreatment and enzymatic hydrolysis of softwood. Department of Chemical Engineering I, University of Lund, Sweden.
- 87- Tsao, G.T., "Pre/Posttreatment", Chapter 6 in *Anaerobic Digestion of Biomass*, D.P. Hynoweth and R. Isaacson Ed., Elsevier Applied Science, Essex, England, 1987.
- 88- Tsao, G.T., Ladisch, M., Ladisch, C., Hsu, T.A., Dale, B., Chou, T., "Fermentation substrates from lignocellulosic materials: Production of fermentable sugars from cellulosic materials", *Annual Reports Ferment. Processes*, 2, p.p. 1-22, 1978.
- 89- Wang, P.Y., Johnson, B.F., Schneider, H., "Fermentation of D-xylose by yeast using glucose isomerase in the medium to convert D-xylose to D-xylulose", *Biotechnology Letters*, 2, p. 273, 1980.
- 90- Wayman, M., Lora, J.H., Gulbinas, E., *J. Am. Chem. Soc.*, 90, p.183, 1979.
- 91- Wayman, M., *Proc. IV Int. Symp. Alcohol Fuel Technol.*, São Paulo, Brasil, October, 1980.
- 92- Wenzl, H.F.J. "The acid hydrolysis of wood", *The chemical technology of wood*, Academic Press, p.p. 157- 252, 1970.
- 93- Wright, J.D., "Ethanol from biomass by enzymatic hydrolysis of newsprint", *Biotech. Bioeng.*, 20, p.p. 503-525, 1978.
- 94- Wright, J.D., Power, A.J., Bergeron, P.W., "Evaluation of concentrated halogen acid hydrolysis processes for alcohol fuel production", *Solar Energy Research Institute (SERI/TR-232-2386)*, Golden, Colorado, 1985.
- 95- Zacchi, G., Skoog, K., Hahn-Hagerdal, B., "Economic evaluation of enzymatic hydrolysis of phenol pretreated wheat straw", *Biotech. Bioeng.*, Vol. 32, p.p. 460-466, 1988.
- 96- -Olguín E.J.; Téllez P, otros "Evaluación de alternativas biotecnológicas para la diversificación de la industria azucarera." *Revista ATAM* N^o 1.1988
- 97- Blanco C.G."La producción de alcohol a partir de la industria azucarera y sus posibilidades." *Ed.Científico-Técnica*.1982

- 98- Quintero, R.R. Ingeniería Bioquímica. Ed. Alhambra Mexicana. 1 E d México 1981.
- 99- Palacio,H;Fabricación de alcohol. Editorial Salvat.s.a.Primer Edicion 1956
- 100- Nikitin, G.A. Fundamentos Bioquímicas de las producciones Microbiológicas E d.Peipol.1981.312
- 101- G.P.Marcos."Fermentación alcohólica con células inmovilizadas: experiencias en batch repetido.Septiembre 1989.
- 102- Suárez M.B; Michelena G.L. "Fermentación alcohólica utilizando miel "B" como fuente de carbohidratos."Seminario Internacional sobre los derivados de la caña de azúcar.XXV Aniversario ICIDCA.1988.
- 103- Namer I."Evaluación económica preliminar del tema : "Utilización de diferentes corrientes del central azucarero para la producción de alcohol."sept.1986.
- 104- Martínez E. y col Potencialidad de levaduras deficientes respiratorias para la producción de etanol. Rev ICIDCA. Vol21 N°2.1987
- 105- García, R; Valdés I. "Pesquizaje de cepas termotolerantes en tres géneros de levaduras alcoholeras ".Primer Taller Internacional de producción de alcoholes febrero 3-5. 1997 TIPAL'97
- 106- González M^a D; Vázquez M; otros "Desalinización de mostos de destilería con ácido sulfúrico concentrado."Rev ICIDCA. N° 3 Vol. XXIV .1989
- 107- Almacida M; Pérez J. I;otros "Estudio de algunas vías de aprovechamiento de los efluentes de destilería."Rev ICIDCA N° 2.1987
- 108- Kujol P"Ahorro de combustible en destilerías por el procesamiento eficiente de las melazas y utilización de las vinazas."Octubre 1999.
- 109- Fontes,J.B."Reciclangen do vinhoto."Saccharum.Dez.1979

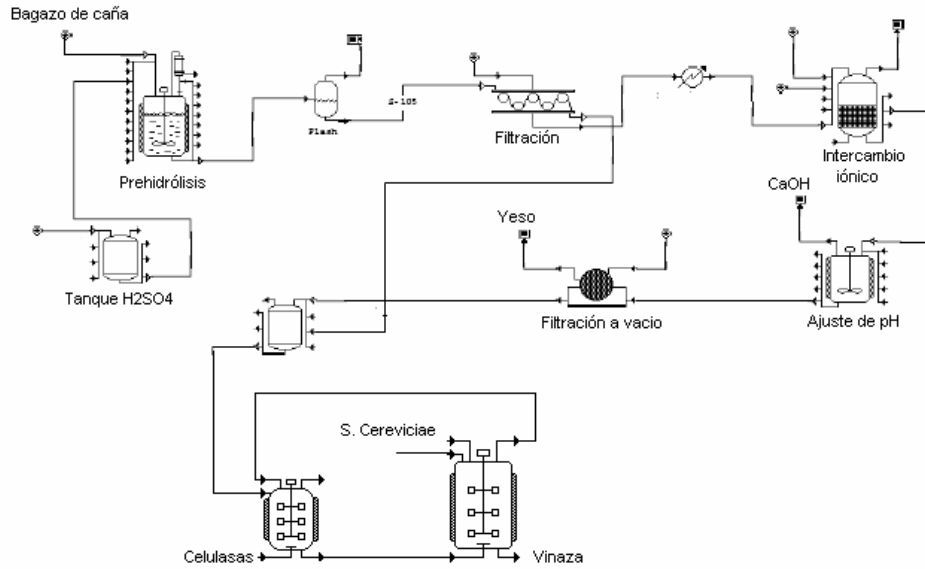
Anexo 1

Esquemas tecnológicos para procesos de obtención de bioetanol a partir de materiales lignocelulosicos



Obtención de etanol a partir de lignocelulósicos por explosión a vapor

Anexo 1(continuación)



Obtención de etanol de lignocelulósicos por pretratamiento con ácido diluido

Anexo 2

TABLA 2.1
Métodos de pretratamiento de materiales lignocelulósicos

Modo de acción	Métodos
Físico	Molienda
	Irradiación de alta energía
Químico	Ácidos
	Alcalis (NaOH, NH ₃)
	Gases (ClO ₂ , NO ₂ , O ₂),
	Oxidantes (H ₂ , ozono)
	Extracción con orgánicos solventes
Físico-Químico	Autohidrólisis (Vapor)
	Explosión por Vapor
	Oxidación húmeda
	Congelamiento explosivo
Biológico	Maceración peptinolítica
	Maceración xilanolítica
	Delignificación bacteriana y fúngica (Biopulpado)

Anexo 3

TABLA 2.2
Costos variables de conversión en la etapa de pretratamiento; usando agentes químicos, o combinación de físicos con químicos.

Pretratamiento	Materia Prima		Costo de Conversión (US\$/m ³ etanol)		
	Genérica	Específica	Materiales	Servicios	Total
Organosolventes	Residuo Agrícola	Paja de Trigo (+ fenol y HCl)	6200	80	6280
	Residuo Agroindustrial	Bagazo caña de azúcar (+ etanol y NaOH)	275	270	545
Ácidos Diluidos	Residuo Agrícola	Tallos de Maíz (+H ₂ SO ₄ y CaOH)	280	10	290
	Residuo Agroindustrial	Bagazo caña de azúcar (+ HCl y CaOH)	2820	190	3010
Alcalino	Residuo Agrícola	Paja de Trigo (+ NaOH)	560	430	990
	Residuo Agroindustrial	Bagazo caña de azúcar (+NaOH)	420	50	470
Oxidación	Residuo Agrícola	Paja de trigo (+NaClO, HCl y NaOH)	2260	70	2330
	Residuo Agroindustrial	Bagazo caña de azúcar (+NaClO, HCl y CaO)	1830	60	1890
Explosión de Vapor	Residuo Agroindustrial	Bagazo caña de azúcar (+ H ₂ SO ₄)	235	105	340

Tabla 2.3
 Costo fijo de inversión y costo de operación en la etapa de pretratamiento para una planta de producción de 100 m³/día de etanol a partir de materiales lignocelulósicos.
 (Valores X 10⁶ US\$)

Pretratamiento	Inversión en límite de baterías	Inversión en servicios auxiliares	Costo fijo de Inversión total	Costo de operación
Organosolventes	8,8	2,7	11,5	2,7
Ácidos diluidos	2,9	0,8	3,7	s/d
Alcalinos	s/d	s/d	4,8	s/d
Oxidación	10,6	3,2	13,8	2,6
Explosión de vapor	7,5	2,2	9,7	1,9

Anexo 4

Tabla 2.4
Actividades celulolíticas de preparaciones purificadas

Microorganismo	Actividad (I.V./g)		
	Endoglucanasa	Exoglucohidrolasa	Celobiasa
<i>Trichoderma reesei</i> (NOVO)	3000	350	20
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	5500	175	70
<i>Geotrichum candidum</i>	5700	250	90
<i>Aspergillus foetidus</i>	190	< 3	3900
<i>Aspergillus terreus</i>	1160	120	130

Tabla 2.5
Influencia de la absorción de endoglucanasas de distintos orígenes en la reactividad sobre celulosa microcristalina

Origen (Microorganismo)	Constante de adsorción (l/g)	Conversión de sustrato (%)
<i>T. reesei</i>	0.15	97
<i>T. Longibrachiatum</i>	0.12	92
<i>G. Candidum</i>	0.093	88
<i>Asp. Terreus</i>	0.05	70
<i>Rapidasa</i>	0.025	27
<i>Asp. Niger</i>	0.02	8.5
<i>Asp. Foetidus</i>	0.015	8.0

Anexo 5

Tabla 2.6

Costo de producción de azúcares fermentables por hidrólisis enzimática de sustratos celulosicos.

	Materia Prima	
	Tallos de maíz	Papel de diarios
Capacidad de procesamiento (Ton. materia prima/día)	1376	885
Capacidad de producción (Ton. glucosa/día)	320	238
Concentración de hidrolizado (% glucosa)	12-15	4
Capital fijo total (10 ⁶ U\$S)	24.9	23.38
Capital fijo, anualizado (10 ⁶ U\$S)	6.78	6.16
Mano de obra, anualizada (10 ⁶ U\$S)	0.77	0.47
Costos de servicios, anualizado (10 ⁶ U\$S)	2.10	0.93
Costo total de insumos, anualizados (10 ⁶ U\$S)	4.39	1.45
(Insumos pretratamiento ácido, anualizado (10 ⁶ U\$S)	1.24	(s/d)
(Producción de enzimas, anualizado (10 ⁶ U\$S)	3.10	(s/d)
Costo total de conversión, anualizado (10 ⁶ U\$S)	14.04	9.01
Costo de glucosa (U\$S/Kg.)	0.22	0.11

Tabla 2.7

Alternativas de sacarificación y fermentación simultanea.

Proceso (G/G)	Productividad (g/l.h)	Aprovechamiento de celulosa (%)	Rendimiento de etanol
SFS sin reciclado al vacio	1,25	58,6	0,32
SFS con reciclado al vacio	1.8	98.0	0.49
SFS con reciclado al vacio y alimentación de sustrato en lotes	4.5	97.5	0.52

Anexo 6

Tabla 2.8

Influencia de la temperatura sobre los microorganismos fermentadores en la sacarificación y fermentación simultánea.

Cepa de levadura	Temperatura (°C)	Etanol (g/l)	
		24 hs	48 hs
S. Cerevisiae ATCC 4132	40	2.4	3.6
	45	0.6	0.7
S. Cerevisiae ATCC 4126	40	2.1	3.3
	45	0.6	0.6
S. Cerevisiae ATCC 24858	40	2.0	2.3
	45	0.4	0.4
S. Cerisbergensis IAM 4787	40	1.9	2.7
	45	1.8	2.6
Candida Brassicae IFO 1664	40	2.4	3.7
	45	1.9	2.0
S. Cerevisiae var. Ellipsoides	40	2.1	3.3
	45	0.3	0.4

Anexo 7

Tabla 2.9

Parámetros operativos de tecnologías de producción de etanol a partir de sustratos celulosicos.

	Tecnología Natick Lab.	Tecnología Gula Oil
Capacidad de producción (m ³ etanol 95%/Día)	20	
Materia prima (Ton/Día)	1500	2000
Concentración de sustrato (%)	20-30	7.5-15
Celulosa hidrolizable (Ton/Día)	1136	1140
Relación enzima/sustrato (IU/g)	10	s/d
Productividad de celulosas (IU/l.h)	125	s/d
Conversión de celulosa (%)	45	s/d
Concentración de azúcares (%)	10	n/c
Conversión de azúcares (%)	40	s/d
Concentración de etanol (%)	s/d	3.5
Operación (con factor de funcionamiento = 0.9)	330 días/año 24hs/día	330 días/año
Demanda energética		
Pretratamiento (molienda) (Kwh/kg mt.prima)	0,496	s/d
Destilación (kwh/l etanol)	1,937	5,065
TOTAL (kwh/l etanol)	s/d	6,784

Anexo 8

Tabla 2.10

Costos de capital y de conversión de tecnología de producción de etanol a partir de sustratos celulósicos.

	Tecnología Natick Lab.	Tecnología Gula Oil
Capital total (10⁶,U\$S 1983)	85,330	122,000
Capital fijo (10⁶ U\$S)	68,270	112,000
(Equipos (%))	(30)	(s/d)
Total límites batería (%)	78	72
Total fuera batería (%)	13	s/d
Servicios (%)	9	s/d
Puesta en marcha (8,5% C.F.)	5,800	s/d
Capital de trabajo (16,5% C.F.)	11,260	10,000
Coto de convesion (U\$S/l etanol)		
Producción de enzimas	0,158	s/d
Pretratamiento	0,077	s/d
Hidrólisis	0,045	s/d
Fermentación	0,095	s/d
Insumos	s/d	0,051
Servicios	s/d	0,056
Mano de obra	s/d	0,026
Cargas fijas (amortización)	s/d	0,095
s/d Totales	0,375	0,228
Capacidad instalada		
Procesamiento (ton/mat. prima/día)	1500	2000
Producción (ton etanol 95%/día.)	40	20

Anexo 9

Tabla 2.11
Producción de etanol por SFA a partir de bagazo de caña de azúcar.

Pretratamiento	Rendimiento en etanol (g/g de bagazo)		Incremento (%)
	SFA Sin Isomerización	SFA con Isomerización	
Na OH	0,19	0,24	30
Ca (OH ₂)	0.11	0.18	64
Combinado	0.26	0.29	12

Tabla 2.12
Rendimientos potenciales de hidrólisis ácida y fermentación por **Pichia stipitis**.

Azucres fermentables	Kg/Ton de sustrato	Rendimiento en etanol	
		(L/Ton)	Contribución(%)
Xilosa	239	100	30
Total hexosas (<i>glucosa</i> : <i>Manosa</i> : <i>galactosa</i>) :	514 478 8 28	230	70

Anexo 10

Tabla 2.13

Demanda energética específica en destilación de mostos alcohólicos de fermentación.

Concentración inicial de etanol (p/p)	Relación de reflujo	Flujo másico de destilación (Kg/h)		Demanda energética (Kg vapor/Kg destilado)
		Etanol 15%	Etanol 90%	
0.1	51.5	13.34	-	119.650
0.2	25.32	26.67	-	59.975
0.255	5.15	-	5.77	132.500
0.3	16.58	40.01	-	40.065
0.4	12.22	53.35	-	30.125
0.5	9.60	66.68	-	24.155
0.6	7.85	80.02	-	20.180
0.7	6.61	93.35	-	17.330
0.8	5.67	106.68	-	15.210
0.9	4.94	120.03	-	13.545
1,0	4.36	133.35	-	12.220
1.27	2.58	-	-	27.000
2	1.74	266.72	28.2	6.250
2.52	2.2	-	-	13.800
3	0.87	400.1	56.0	4.260
3.75	2.03	-	-	9.400
4	0.43	-	83.3	3.270
4.96	1.93	110.2	-	7.200
5.0	0.17	-	-	2.670
6.15	1.7	136.7	-	5.840
7.32	1.64	162.7	-	4.960
8.48	1.53	188.4	-	4.310
9.62	1.51	213.8	-	3.830
11.86	1.37	263.6	-	3.140
14.02	1.3	311.6	-	2.680
22.12	1.07	491.6	-	1.720

Tabla 2.14

Material	Etanol (%)	
	Inicial	Final
Almidón de maíz	73,7	99,0
Sacarosa	72,5	90,7
Maíz	77,0	97,7
Celulosa microcristalina	88,9	98,6
Celulosa Whatman CF-11	88,8	96,4

Celulosa Buckeye CM	84,8	99,8
---------------------	------	------

Anexo 11

Tabla 3.1
Costos de Adquisición e Instalación del Equipamiento para Alternativa I.

Equipo	Costo actualizado US\$ (A1)	Referencia	% I	A2 US\$
Elevador de canjilones	6300	www.Matche.com	25	1575
Molino de rodillos	73800	www.Matche.com	25	18450
Reactor cilíndrico de alta presión	717300	www.Matche.com	25	179325
Tanque flash	12300	www.Matche.com	25	3075
Condensador	25800	www.Matche.com	25	6450
Tanque de almacenamiento de condensado (10000 lts)	30500	www.Matche.com	25	7625
Tanque de almacenamiento de licores (10000 lts)	91500	www.Matche.com	25	22875
Reactor Para hidrólisis enzimática	888000	www.Matche.com	25	222000
Reactor Para fermentación	382800	www.Matche.com	25	95700
Torre de enfriamiento de tiro inducido	69800	www.Matche.com	25	17450
Bomba centrífuga	7900	www.Matche.com	25	1975
Bomba de desplazamiento (+)	3500	www.Matche.com	25	875
Total	1176600			577375

* **Costo por Equipo.** % I: Por Ciento de Instalación *** A2: Costo de Instalación de los Equipos. **** A1: Costo de Adquisición de los Equipos.

Anexo 11(continuación)

Tabla 3.2
Costos de Adquisición e Instalación del Equipamiento para Alternativa II.

Equipo	Costo actualizado US\$ (A1)	Referencia	% I	A2 US\$
Elevador de canjilones	6300	www.Matche.com	25	1575
Molino de rodillos	73800	www.Matche.com	25	18450
Reactor cilíndrico enchaquetado	273700	www.Matche.com	25	68425
Tanque de almacenamiento de sol. ácida	44100	www.Matche.com	25	11025
Tanque flash	12300	www.Matche.com	25	3075
Condensador	25800	www.Matche.com	25	6450
filtro	285000	www.Matche.com	25	71250
Tanque de almacenamiento de condensado (10000 lts)	30500	www.Matche.com	25	7625
Tanque de almacenamiento de licores (10000 lts)	91500	www.Matche.com	25	22875
Intercambiador de calor	7200	www.Matche.com	25	1800
Columna de intercambio iónico	32600	www.Matche.com	25	8150
Tanque mezclador	24400	www.Matche.com	25	6100
Filtro al vacío	15600	www.Matche.com	25	3900
Tanque de almacenamiento de mezcla (12000 lts)	18000	www.Matche.com	25	4500
Reactor Para hidrólisis enzimática	888000	www.Matche.com	25	222000
Reactor Para fermentación	382800	www.Matche.com	25	95700
Torre de enfriamiento de tiro inducido	69800	www.Matche.com	25	17450
Bomba centrífuga	7900	www.Matche.com	25	1975
Bomba de desplazamiento (+)	3500	www.Matche.com	25	875
Total	2292800			573200

* **Costo por Equipo.** % I: Por Ciento de Instalación *** A2: Costo de Instalación de los Equipos. **** A1: Costo de Adquisición de los Equipos.

Anexo 12

Tabla 3.3
Costo de Tuberías para Alternativa I.

Diámetro Nominal (pulg.)	Longitud (m)	Precio (\$ / m)	Costo (\$)
0.75	20	29.53	590.6
1.5	35	31.76	1238.64
2.50	30	42.81	1391.33
TOTAL			3220.565

Tabla 3.4: Costos de Accesorios para Alternativa I.

Diám. (Pulg.)	Accesorios			Precio (US\$)			Costo (US\$)		
	C.	V. C.	V. G.	C.	V. C.	V. G.	C.	V. C.	V. G.
0.75	20	3	6	16	70	96	320	210	576
1	10	5	4	22	95	124	220	285	248
1.5	10	5	3	34	115	148	340	460	444
TOTAL							3103		

* C.: Codos. ** V. C.: Válvulas de Cuña. *** V. G.: Válvulas de Globo.

Anexo 13

Tabla 3.5
Resultados de los Costos de Inversión para la Alternativa I.

RESULTADOS	Designación	% - Ref.	Valor (\$)
Costos Directos	CD	-	1580786.765
• Costo de Adquisición	A	-	639506.765
•• Costo de los Equipos	A1	-	1176600
•• Costo de la Instalación	A2	-	577375
•• Costo de Instrumentación	A3	15-A1	176490
•• Costo de Tuberías y Accesorios	A4	-	6323.565
•• Costo de Instalaciones Eléctricas	A5	15-A1	176490
• Costo de Edificación	B	35 – A1	411810
• Costo de Servicio y Movimiento de Terreno	C	40 – A1	470640
• Costo del Terreno	D	5 – A1	58830
Costos Indirectos	CI	-	260910.5465
• Ingeniería y Supervisión	AA	5 - A	31975.33825
• Gastos Indirectos de Construcción	BB	7 – A	44765.47355
• Impuestos y Contingencia	CC	10 - CFI	184169.7347
Costo Fijo de Inversión	CFI	-	1841697.347
Costo del Trabajo	CT	10 - CTI	204633.0386
Costo Total de Inversión	CTI	-	2046330.386

Anexo 14

Tabla 3.6
Costo de Tuberías para Alternativa II.

Diámetro Nominal (pulg.)	Longitud (m)	Precio (\$ / m)	Costo (\$)
0.75	34	29.53	1004.02
1.5	55	31.76	1746.8
2.50	40	42.81	1712.4
TOTAL			4463.22

Tabla 3.7: Costos de Accesorios para Alternativa II.

Diám. (Pulg.)	Accesorios			Precio (US\$)			Costo (US\$)		
	C.	V. C.	V. G.	C.	V. C.	V. G.	C.	V. C.	V. G.
0.75	25	4	8	16	70	96	400	280	768
1	14	4	6	22	95	124	308	380	744
1.5	25	7	7	34	115	148	850	805	1036
TOTAL							5571		

* C.: Codos. ** V. C.: Válvulas de Cuña. *** V. G.: Válvulas de Globo.

Anexo 15

Tabla 3.8
Resultados de los Costos de Inversión para la Alternativa II.

RESULTADOS	Designación	% - Ref.	Valor (\$)
Costos Directos	CD	-	5398114.22
• Costo de Adquisición	A	-	3563874.22
•• Costo de los Equipos	A1	-	2292800
•• Costo de la Instalación	A2	-	573200
•• Costo de Instrumentación	A3	15-A1	343920
•• Costo de Tuberías y Accesorios	A4	-	10034.22
•• Costo de Instalaciones Eléctricas	A5	15-A1	343920
• Costo de Edificación	B	35 – A1	802480
• Costo de Servicio y Movimiento de Terreno	C	40 – A1	917120
• Costo del Terreno	D	5 – A1	114640
Costos Indirectos	CI	-	1074973.698
• Ingeniería y Supervisión	AA	5 - A	178193.711
• Gastos Indirectos de Construcción	BB	7 – A	249471.1954
• Impuestos y Contingencia	CC	10 - CFI	647308.7918
Costo Fijo de Inversión	CFI	-	6473087.918
Costo del Trabajo	CT	10 - CTI	719231.99
Costo Total de Inversión	CTI	-	7192319.9

Anexo 16

Tabla 3.9
Costos de Materia Prima para la Alternativa I.

Materia Prima	Cantidad	Precio	Costo
	Kg. / día	\$ / Kg.	\$ / día
Bagazo de caña	1152073	0.01	11520.73
Dióxido de azufre	576036	0.0067	3859.44

Tabla 3.10
Consumos de Potencia para la Alternativa I.

No.	Motores	Pot.	Tiempo	Consumo
		Kwh. / h	h / día	Kwh. / día
1	Bomba centrifuga (11 unidades)	4.50 X 11 udes	24	1188
2	Bomba reciprocante (2 unidades)	8.50 X 2 udes	24	408
Total				1596

Tabla 3.11
Costos de Requerimientos para la Alternativa I.

Requerimientos	UM	Consumo	Precio \$/Kg.	Costo (\$ / día)
Agua	Kg./día	10000	0.0050	50.0
Electricidad	KW – h/día	36000	0.0600	2160
Vapor	Kg./día	450000	0.0080	3600
TOTAL				5810

Anexo 17

Tabla 3.12
Resultados de los Costo Totales de Producción para la Alternativa I.

RESULTADOS	Designación	% - Ref.	Costo (\$ / Año)
Costos de Fabricación	CF	-	7828003.027
Costos Directos	CD	-	6635141.34
Costo de Materia Prima	MP	-	3456219
Costo de Mano de Obra	MO	15 % - CTP	1174050.45
Supervisión	SP	10 % - MO	117405.045
Requerimientos	RQ	-	1743000
Mantenimiento y Reparación	MM	2 % - A1	23532
Suministros	SM	15 % - MM	3529.8
Gastos de Laboratorio	LB	10 % - MO	117405.045
Costos Indirectos	CI	10 % - CTP	782700.3
Cargos Fijos	CFJ	-	410161.3867
Depreciación	DP	10 % - CTI + 2 % - BB	205528.3481
Seguros	SG	1 % - CTI	204633.0386
Gastos Generales	GG	-	782700.3
Administración	AD	3 % - CTP	234810.09
Distribución y Venta	DV	3 % - CTP	234810.09
Inversión y Desarrollo	ID	2 % - CTP	156540.06
Intereses	IN	2 % - CTI	156540.06
Costo Total de Producción	CTP	-	7827003

Anexo 18

Tabla 3.13
Costos de Materia Prima para la Alternativa II

Materias Primas	Cantidad	Precio	Costo
	Kg. / Dia	\$ / Kg.	\$ / Dia
Bagazo de caña	1152073	0.01	11520.73
Ácido Sulfúrico	12495.4	0.7619	9520.24
Óxido de Calcio	7540	0.0840	633.36
Total			21674.33

Tabla 3.14
Consumos de Potencia para la Alternativa II.

No.	Motores	Pot.	Tiempo	Consumo
		Kwh. / h	h / día	Kwh. / día
1	Bomba centrifuga (22 unidades)	4.50 X 24 udes	24	2376
2	Bomba reciprocante (2 unidades)	8.50 X 2 udes	24	408
Total				2784

Tabla 3.15
Costos de Requerimientos para la Alternativa II.

Requerimientos	UM	Consumo	Precio \$/Kg.	Costo (\$ / día)
Agua	Kg./día	4533800	0.0050	22669
Electricidad	KW – h/día	14500	0.0600	870
Vapor	Kg./día	13400	0.0080	107
Total				23646

Anexo 19

Tabla 3.16

Resultados de los Costo Totales de Producción para la Alternativa II.

RESULTADOS	Designación	% - Ref.	Costo (\$ / Año)
Costos de Fabricación			
	CF	-	12198083.94
Costos Directos			
	CD	-	10188199.83
Costo de Materia Prima	MP	-	21674.33
Costo de Mano de Obra	MO	15 % - CTP	1820609.25
Supervisión	SP	10 % - MO	182060.925
Requerimientos	RQ	-	7929060
Mantenimiento y Reparación	MM	2 % - A1	45856
Suministros	SM	15 % - MM	6878.4
Gastos de Laboratorio	LB	10 % - MO	182060.925
Costos Indirectos			
	CI	10 % - CTP	1213739.5
Cargos Fijos			
	CFJ	-	796144.6129
Depreciación	DP	10 % - CTI + 2 % - BB	724221.4139
Seguros	SG	1 % - CTI	71923.199
Gastos Generales			
	GG	-	1114837.998
Administración	AD	3 % - CTP	364121.85
Distribución y Venta	DV	3 % - CTP	364121.85
Inversión y Desarrollo	ID	2 % - CTP	242747.9
Intereses	IN	2 % - CTI	143846.398
Costo Total de Producción			
	CTP	-	12137395