

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA

Facultad de Ingeniería Química



Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrolisis Acida Diluida para la Obtención de Etanol a partir de Cascarilla de Arroz

TRABAJO MONOGRAFICO PRESENTADO POR:

Br. William Ricardo Rivas Baltodano

Br. Enrique Rafael Maltez Sequeira

PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO:

Tutor

PhD. Danilo López Valerio

Managua, Nicaragua, noviembre 2019

AGRADECIMIENTOS

En profundo agradecimiento con mi familia, mi padre Rafael Elías Maltez Gonzales mi madre Rosa Matilde Sequeira Guido, y mi hermano, Rafael Emilio Maltez Sequeira por todo el apoyo desinteresado y sin condiciones que me han brindado en toda esta jornada. Nunca podre agradecerles suficiente.

Agradezco a mi tutor, PhD. Danilo López Valerio, por aportar su invaluable conocimiento y orientación para la culminación del presente trabajo. Agradezco a los encargados y asistentes de laboratorio, Br. Kevin Gutiérrez, TSPA. Alejandro Hernández, Lic. Arnoldo Hidalgo Castro y Br. Cristhian Sánchez.

También agradezco a todos los docentes que contribuyeron a mi formación profesional y aquellos que aportaron a la culminación del proyecto con sus perspectivas e ideas. Por último, pero no por ello menos importante, agradezco a mi compañero de tesis, William Rivas por todo el tiempo y dedicación que invirtió.

Enrique Maltez

AGRADECIMIENTO

Reconocimiento especial mi Madre y mi Padre que con su esfuerzo y dedicación me ayudaron a culminar mi carrera universitaria y me dieron el apoyo suficiente para finalizar esta gran etapa de mi vida.

Asimismo, agradezco los encargados de laboratorio de Proceso, de alimentos de ambiente, de general y operaciones unitarias. Que sin el apoyo de ellos realizar la tesis no hubiera sido posible.

De igual forma, agradezco a mi Director de Tesis, que gracias a sus consejos y correcciones hoy puedo culminar este trabajo. A los Profesores que me han visto crecer como persona, y gracias a sus conocimientos hoy puedo sentirme dichoso y contento.

William Rivas

DEDICATORIA

A mi amada Xochitl Sandoval y mi pequeño hijo Adrian Maltez. Por darme la motivación para culminar esta etapa de mi vida y que todos mis logros también sean de ustedes.

Enrique Maltez

DEDICATORIA

Les dedico esta tesis a mis padres por todo su apoyo incondicional a lo largo de la carrera, a mi compañero de tesis por su trabajo duro y sacrificio para lograr culminar esta etapa de nuestras vidas.

A mis amigos y compañeros que sin dudarlo compartieron sus conocimientos, alegrías y apoyo en todo momento.

William Rivas

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue analizar la influencia del pretratamiento alcalino en la hidrólisis ácida diluida para la transformación de la celulosa y hemicelulosa contenida en la cascarilla de arroz, en azúcares reductores y posterior obtención de etanol mediante destilación, proveniente de Malacatoya departamento de Rivas republica de Nicaragua. Se caracterizó el material lignocelulósico según el método Chesson – Datta, resultando en: celulosa 36.53%, hemicelulosa 18.96%, lignina 26.14%, cenizas 10.4% y solubles en agua 7.97%. Se implementó el diseño experimental Taguchi con arreglo ortogonal L9, la combinación y optimización de las variables en el proceso de pretratamiento alcalino, resulto en remoción de lignina un 59.92% a 120°C, 60 minutos y NaOH 3% (p/v). Por otro lado, la hidrólisis de cascarilla de arroz pretratada con H₂SO₄ 4% (v/v) a 120°C y 30 minutos alcanzó una conversión máxima de azúcares reductores totales, cuantificados según el método DNS, del 32.22%, inferior a la cascarilla no pretratada e hidrolizada a las mismas condiciones, con un 37.23%. Indicando que el pretratamiento alcalino no adecua al proceso de hidrólisis ácido, lo que se manifiesta en un aporte poco significativo, al rendimiento global del proceso, siendo el valor mayor de 40.67%; esto representa un incremento del 3.44% en relación a la cascarilla no pretratada, lo cual justifica la no implementación del pretratamiento.

OPINION DEL TUTOR

Managua, octubre de 2019

El trabajo realizado por los bachilleres Enrique Rafael Maltez Sequeira y William Ricardo Rivas Baltodano, titulado “**Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrolisis Acida Diluida para la Obtención de Etanol a partir de Cascarilla de arroz**”, para optar al título de Licenciatura en Ingeniería Química, se ha llevado a cabo con autonomía investigativa, iniciativa y liderazgo.

Cabe mencionar que esta investigación dará pauta a continuar en el campo de fuentes alternas de energía, prioridad indispensable ante el agotamiento del recurso fósil y contaminación desproporcionada, además abrirá las puertas a otros temas relacionados a la industria energética, basada en el aprovechamiento de los residuos agroindustriales. Además, es la base para la innovación de nuevos proyectos de interés nacional.

Por tanto, hacemos constar que los Brs. Maltez y Rivas, han realizado esta investigación, fortaleciendo sus habilidades de análisis, además de invertir recursos económicos y horas de trabajo. Por tanto, avalamos a los Brs. Antes mencionados para que realicen los tramites de presentación y defensa del trabajo.

INDICE

CONTENIDO	Página
AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIA	ii
RESUMEN	iii
OPINION DEL TUTOR.....	iv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo General	4
2.2. Objetivos específicos	4
III. MARCO TEÓRICO	5
3.1. El cultivo del arroz	5
3.2. La cáscara de arroz.....	5
3.3. Composición.....	5
3.3.1. Celulosa	6
3.3.2. Hemicelulosa	7
3.3.3. Lignina.....	8
3.3.4. Glucosa	11
3.3.5. Xilosa.....	12
3.4. Pretratamiento alcalino.....	13
3.5. Hidrólisis Ácida.....	14
3.6. Inhibidores.....	16
3.7. Diseño Taguchi	17
IV. MATERIAL Y METODO.....	18
4.1. Caracterización fisicoquímica de la materia prima	20
4.1.1. Determinación del porcentaje de humedad	20
4.1.2. Determinación del porcentaje de cenizas	20
4.1.3. Determinación del pH.....	20
4.1.4. Determinación de Solubles en agua, Celulosa, hemicelulosa y lignina	21
4.1.5. Determinación de azúcares reductores totales.....	21
4.2. Acondicionamiento de la materia prima	22
4.3. Pesado de las muestras.....	22

4.4. Pretratamiento de la cascarilla de arroz.	22
4.5. Hidrólisis Ácida.....	22
V. RESULTADOS.....	23
5.1. Caracterización fisicoquímica de la cascarilla de arroz	23
5.2. Lignina removida por el pretratamiento alcalino	24
5.3. Cuantificación de azúcares reductores formados en la hidrólisis ácida. ..	24
5.4. Determinación del efecto pretratamiento alcalino en la hidrólisis ácida. ..	25
5.5. Establecer las condiciones optima del pretratamiento alcalino.	26
VI. DISCUSION DE RESULTADOS.....	27
6.1. Caracterización fisicoquímica de la cascarilla de arroz	27
6.2. Lignina removida por el pretratamiento alcalino.	27
6.3. Cuantificación de azúcares reductores formados en la hidrólisis ácida. ..	28
6.4. Determinación del efecto del pretratamiento alcalino en la hidrólisis ácida. 28	
6.5. Establecer las condiciones optima del pretratamiento alcalino.	29
VII. CONCLUSIONES	30
VIII. RECOMENDACIONES	31
IV. NOMENCLATURA.....	32
X. BIBLIOGRAFIA	33
XI. ANEXO.....	38

INDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 <i>Composición de cascarilla de arroz (Iyenagbe B. Ugheoke, 2012)</i>	5
Tabla 3.2 Distribución de las principales unidades de lignina y sus enlaces para madera dura y suave. (Stefan Schoenherr, 2017).....	9
Tabla 5.1 <i>Caracterización de cascarilla de arroz</i>	23
Tabla 5.2 Cantidad y Porcentaje de lignina removida pretratamiento alcalino	24
Tabla 5.3 Azúcares reductores hidrolisis acida diluida y promedio conversión	25
Tabla 5.4 Azúcares reductores formados en pretratamientos alcalinos e hidrolisis acida diluida.	25
Tabla 5.5 Rendimiento global en función de los azúcares reductores totales formados Y Rendimiento global pronosticado	26
Tabla 11.1 Diseño Taguchi, fuente propia.....	9
Tabla 11.2 Volúmenes y concentraciones para curva de calibración	11
Tabla 11.3 Criterio de Chauvenet, relación de desviación máxima aceptable	14
Tabla 11.4 Resultado determinación de humedad	15
Tabla 11.5 Valores para el método Chesson-Datta.....	16
Tabla 11.6 Composición de la cascarilla de arroz sin pretratamiento.....	16
Tabla 11.7 Fracciones de cascarilla de arroz post pretratamiento	17
Tabla 11.8 Fracciones medias de cascarilla de arroz post pretratamiento.....	18
Tabla 11.9 Masa remanente media de cascarilla de arroz post pretratamiento	18
Tabla 11.10 Masa de cascarilla de arroz según composición	19
Tabla 11.11 Cantidad de masa media de cascarilla de arroz según composición	20
Tabla 11.12 Perdidas de cascarilla según composición pretratamiento alcalino...	20
Tabla 11.13 Masa media perdida pretratamiento alcalino	21
Tabla 11.14 Remoción de Lignina.....	21
Tabla 11.15 Determinación de longitud de onda	23
Tabla 11.16 Concentración Vs Absorbancia para curva de calibración	27
Tabla 11.17 Absorbancias registradas para el pretratamiento alcalino	28
Tabla 11.18 Media y desviación estándar pretratamiento alcalino	29
Tabla 11.19 Criterio de Chauvenet lecturas de absorbancia en el pretratamiento	29
Tabla 11.20 Absorbancias registradas para la hidrolisis acida diluida de cascarilla de arroz pretratada, 495 nm	31
Tabla 11.21 Media y desviación estándar hidrolisis acida diluida	32
Tabla 11.22 Método Chesson-Datta para las absorbancias registradas en cascarilla de arroz pretratada.....	32
Tabla 11.23 Absorbancias para hidrolisis acida diluida de cascarilla de arroz sin pretratamiento	34
Tabla 11.24 Media y desviación estándar cascarilla de arroz sin pretratamiento..	35
Tabla 11.25 Criterio de Chauvenet para las absorbancias registradas en cascarilla de arroz sin pretratamiento.....	35
Tabla 11.26 Absorbancia y azúcares reductores formados en el pretratamiento alcalino	36

Tabla 11.27 Valores promedios de azucares reductores formados en el pretratamiento alcalino	37
Tabla 11.28 Determinación de Azucares reductores y % Conversión para cascarilla de arroz pretratada.....	38
Tabla 11.29 Promedio azucares reductores hidrolisis acida, promedio conversión y azucares totales formados en hidrolisis.....	39
Tabla 11.30 Azucares reductores y % conversión para cascarilla de arroz sin pretratamiento.	40
Tabla 11.31 Conversión de polisacáridos en azucares reductores para Hidrolisis acida diluida.	41

INDICE DE ANEXO

Anexo 1. Determinación del porcentaje de humedad (TAPPI T 550 om-08)	1
Anexo 2. Determinación del porcentaje de cenizas (TAPPI T 211 om-02)	2
Anexo 3. Determinación del pH (TAPPI T 252 om-90)	3
Anexo 4. Determinación de lignina (TAPPI T 222 om-88)	4
Anexo 5. Determinación de solubles, celulosa, hemicelulosa, lignina y ceniza	6
Anexo 6. Diseño experimental	8
Anexo 7. Cuantificación de azúcares reductores totales, método DNS	10
Anexo 8. Descarte de datos - Criterio de Chauvenet	12
Anexo 9. Determinación de humedad	15
Anexo 10. Caracterización de cascarilla de arroz, método Chesson – Datta	16
Anexo 11. Balance de materia para la cascarilla de arroz post pretratamiento	17
Anexo 12. Determinación de la longitud de onda	23
Anexo 13. Curva de calibración para la determinación de azúcares reductores.	27
Anexo 14. Lecturas de absorbancia para hidrolizado en pretratamiento alcalino	28
Anexo 15. Criterio Chauvenet – Absorbancia etapa de pretratamiento alcalino ...	29
Anexo 16. Lecturas de absorbancia en la hidrólisis ácida diluida para la cascarilla con pretratamiento	31
Anexo 17. Criterio Chauvenet–Absorbancia Hidrólisis cascarilla pretratada	32
Anexo 18. Lecturas absorbancia para hidrolizado, cascarilla sin pretratamiento .	34
Anexo 19. Criterio de Chauvenet – Absorbancia cascarilla sin pretratamiento	35
Anexo 20. Cuantificación de azúcares reductores obtenidos en el pretratamiento alcalino	36
Anexo 21. Cuantificación de azúcares reductores obtenidos en hidrolizado con ácido diluido a cascarilla pretratada.	38
Anexo 22. Cuantificación de azúcares reductores obtenidos en hidrolizado diluido para cascarilla sin pretratamiento	40
Anexo 23. Porcentaje de Conversión de polisacáridos en azúcares reductores para Hidrólisis ácida diluida	41
Anexo 24. Cálculo del rendimiento global	43

INDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Estructura de Celulosa (Heidi Richards, 2012).....	6
Figura 3.2. Estructura de la Hemicelulosa (Vishakha Kulkarni, 2012)	7
Figura 3.3. Principales tres polímeros de lignina y sus correspondientes unidades, fuente (Vanholme R, 2010)	8
Figura 3.4. Representación esquemática de una estructura hipotética de lignina, incluidos los principales tipos de enlaces y los bloques que la conforman (H, G y S), fuente (Stefan Schoenherr, 2017)	10
Figura 3.5. Estructura de la molécula D-glucosa (Ophardt, 2003)	11
Figura 3.6. Estructura de la molécula D-Xilosa (PubChem, 2017)	12
Figura 3.7. Diagrama esquemático del pretratamiento para el material lignocelulósico (Farrukh Raza Amin, 2017)	13
Figura 3.8. Hidrolisis acida de la celulosa, (Yao-Bing Huang, 2013)	15
Figura 3.9. Formación de Inhibidores (Leif J Jönsson, 2013)	17
Figura 4.1. Diagrama de bloques para el proceso de obtención de etanol a partir de cascarilla de arroz. (Fuente propia)	19
Figura 6.1. Efecto de la temperatura, tiempo y concentración sobre la remoción de lignina (fuente propia).....	27
Figura 11.1. Criterio de Chauvenet - Banda alrededor de la media, Fuente (Bayless, 2005)	13
Figura 11.2. Determinación de longitud de onda	26
Figura 11.3. Curva de calibración para el método DNS.....	27

INDICE DE ECUACIONES

Ecuación 3.1. Conversión de Celulosa a Glucosa con ácido concentrado	14
Ecuación 3.2. Complejo acido de reacción celulosa/ácido sulfúrico	14
Ecuación 3.3. Conversión de celulosa a Glucosa con ácido diluido.....	14
Ecuación 3.4. Relación estequiométrica para conversión celulosa a glucosa.....	14
Ecuación 3.5. Relación estequiométrica entre pentosa y glucosa	16
Ecuación 11.1. Porcentaje de humedad.....	1
Ecuación 11.2. Porcentaje de Ceniza	2
Ecuación 11.3. Porcentaje de Lignina.....	5
Ecuación 11.4. Solubles en agua según Chesson-Datta	7
Ecuación 11.5. Porcentaje de Hemicelulosa según método Chesson - Datta.....	7
Ecuación 11.6. Porcentaje de Celulosa según método Chesson-Datta	7
Ecuación 11.7. Porcentaje de Lignina según Chesson-Datta	7
Ecuación 11.8. Porcentaje de Cenizas según Chesson-Datta	7
Ecuación 11.9. Desviación máxima no dimensional	13
Ecuación 11.10. Ecuación de la recta	27
Ecuación 11.11. Porcentaje de conversión para la hidrolisis acida	39
Ecuación 11.12. Azucares totales en hidrolisis	39
Ecuación 11.13. Porcentaje de conversión.	40
Ecuación 11.14. Conversión de polisacáridos en azucares reductores para la hidrolisis acida diluida.....	42
Ecuación 11.15. Cálculo de azucares reductores totales.....	43
Ecuación 11.16. Rendimiento global.....	43

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

INTA: Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria

CO₂: Dióxido de Carbono

TAPPI: *Technical Association of the Pulp and Paper Industry*

DNS: ácido 3,5-dinitrosalicílico

HO⁻: Grupo Hidroxilo

HS⁻: Anión sulfuro de hidrogeno

S₂: Ion sulfuro

NaOH: Hidróxido de Sodio

KOH: Hidróxido de Potasio

Ca (OH)₂: Hidróxido de calcio

C₆H₁₀O₅: Celulosa

H₂O: Agua

H₂SO₄: Ácido sulfúrico

C₆H₁₂O₆: Glucosa

(C₅H₈O₄)_n: Pentosas

HMF: Hidroximetil furfural

mm: Milímetro

min: Minuto

°C: grados centígrados

(p/v): Relación peso – volumen

(v/v): Relación volumen - volumen

g: Gramos

pH: Potencial de Hidrogeno

ml: Mililitros

nm: Nanómetros.

mg: miligramos.

L: Litro.

h: Hora.

µl: Micro litro.

g/L: Gramo por litro.

R²: Coeficiente de determinación.

RH: Cascarilla de arroz sin pretratamiento alcalino.

Pre_1: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el primer experimento del diseño Taguchi.

Pre_2: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el Segundo experimento del diseño Taguchi.

Pre_3: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el tercer experimento del diseño Taguchi.

Pre_4: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el cuarto experimento del diseño Taguchi.

Pre_5: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el quinto experimento del diseño Taguchi.

Pre_6: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el sexto experimento del diseño Taguchi.

Pre_7: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el séptimo experimento del diseño Taguchi.

Pre_8: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el octavo experimento del diseño Taguchi.

Pre_9: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el noveno experimento del diseño Taguchi.

H_1: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el primer experimento del diseño Taguchi e hidrolizada.

H_2: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el Segundo experimento del diseño Taguchi e hidrolizada.

H_3: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el tercer experimento del diseño Taguchi e hidrolizada.

H_4: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el cuarto experimento del diseño Taguchi e hidrolizada.

H_5: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el quinto experimento del diseño Taguchi e hidrolizada.

H_6: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el sexto experimento del diseño Taguchi e hidrolizada.

H_7: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el séptimo experimento del diseño Taguchi e hidrolizada.

H_8: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el octavo experimento del diseño Taguchi e hidrolizada.

H_9: Cascarilla de arroz pretratada con hidróxido de sodio a las condiciones establecidas para el noveno experimento del diseño Taguchi e hidrolizada.

m_1: Muestra uno.

m_2: Muestra dos.

m_3: Muestra tres.

m_4: Muestra cuatro.

m_5: Muestra cinco.

m_6: Muestra seis.

m_7: Muestra siete

m_8: Muestra ocho.

m_9: Muestra nueve.

I. INTRODUCCIÓN

Nicaragua presenta una relación estrecha entre su economía, la agronomía y la subsistencia de su población. Entre los productos agrícolas más cosechados a nivel nacional se encuentra el arroz, el cual presenta gran demanda por parte de los consumidores. En el ciclo agrícola 2011-2012 se cultivó a nivel nacional 127,624 manzanas, con una producción de 5.4 millones de quintales (INTA, 2012). No obstante, al someter el grano de arroz al proceso de trillado se genera un desperdicio en cantidades considerables, dicho subproducto se conoce como cascarilla de arroz y se estima que alrededor del 20% del peso del grano equivale a la cascarilla (Santiaguel, 2013)

La cascarilla de arroz es un problema para los dueños de los trillos, debido que deben deshacerse de ella, por lo cual se ha investigado su aprovechamiento, como bloque multinutricional, biomasa para la generación de energía y fabricación de cemento. Cabe destacar que los esfuerzos realizados para aprovechar al máximo este subproducto no han solucionado el problema, porque sigue siendo subutilizado.

Con el fin de lograr entender el verdadero potencial de la cascarilla de arroz es necesario conocer su estructura. La composición química consta de diversos polímeros como celulosa (35%), hemicelulosa (25%), lignina (20%), proteína cruda (3%) y ceniza (17%) (Iyengar B. Ugheoke, 2012), lo que la hace una biomasa potencial para la obtención de azúcares reductores y subsecuente producción de bioetanol.

La principal aplicación del bioetanol es para la producción de energía como combustible en motores de automóviles. Cabe recalcar que este combustible puede ser usado de forma pura en motores modificados o en mezclas de hasta el 15% en motores regulares, reduciendo las emisiones de CO₂.

El proceso para la producción de bioetanol consta de un pretratamiento químico, una hidrólisis y una fermentación final, cada una de estas etapas juega un papel importante en su rendimiento global, por lo cual es de suma importancia controlar sus condiciones de operación. El pretratamiento alcalino altera la estructura de la biomasa para hacer más accesible la celulosa al proceso que convierta los polisacáridos en azúcares reductores. Además, este pretratamiento tiene la ventaja de no generar inhibidores que afecten la actividad enzimática, a diferencia del pretratamiento ácido.

El enfoque de esta investigación es analizar el efecto del pretratamiento alcalino sobre el rendimiento de la hidrólisis ácida diluida con respecto a la transformación de glucosa/hemicelulosa en azúcares reductores.

Las técnicas utilizadas para la caracterización de la cascarilla de arroz referente a su contenido de humedad, ceniza, extractivos totales y lignina son las normas establecidas por la organización *Technical Association of the Pulp and Paper Industry* (por sus siglas en inglés TAPPI). Por otro lado, se aplicó el método de Kurschner y Hoffer para la determinación de celulosa y el método Miller ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), para determinar cuantitativamente los azúcares reductores formados en la etapa de hidrólisis ácida diluida.

La problemática de la cascarilla de arroz ha sido abordada desde diferentes ángulos, a partir de su utilización de forma rústica como relleno de pisos para avícolas, hasta aplicaciones más especializadas, por ejemplo: su utilización como abono en ciertos cultivos, la fabricación de cementos y su aprovechamiento como biomasa para la generación de energía eléctrica. Resulta oportuno mencionar los proyectos e investigaciones más relevantes a nivel nacional con respecto a la solución del problema planteado.

La empresa arrocera AGRICORP ha decidido aprovechar la cascarilla de arroz como fuente de biomasa para la producción de electricidad, con la cual pretende disminuir sus costos de producción al utilizar la energía producida, y a su vez vender el excedente al circuito nacional (La Voz del Sandinismo , 2013)

Por otro lado, se ha planteado el desarrollo de un proyecto enfocado en el aprovechamiento de la cascarilla de arroz por medio de la elaboración de briquetas que sirvan como biocombustible en los hogares, restaurantes de asados y comiderías. El enfoque de este proyecto no solo se limita con la problemática de la cascarilla, sino que también pretende disminuir la dependencia de carbón y leña en la población. (Roxana Alejandra Avendaño Torrez, 2015)

De forma similar, egresados de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN) han llevado a cabo un estudio de prefactibilidad para el diseño de una fábrica de briquetas a base de cascarilla de arroz. El objetivo principal del proyecto es producir y comercializar un producto ecológico con alto poder calorífico, baja humedad, alta densidad y de rápida ignición. (Flores Medal Belki Vanessa, 2015)

La lignina contenida en la cascarilla de arroz también ha sido de interés para su aprovechamiento debido a su estructura rígida. Se evaluó de forma técnica y económica la ampliación de una compañía nacional con nombre PLYNIC S.A., la cual pretendía producir láminas aglomeradas utilizando cascarilla de arroz y aserrín (Cuadra, 2004).

Por otro parte la cascarilla de arroz ha sido estudiada por sus propiedades nutricionales. En un estudio presentado por estudiantes de la Universidad Nacional Agraria se analizó el efecto de la Urea a tres distintos niveles (3%, 5% y 7%) sobre la calidad nutritiva de la cascarilla. La aplicación de este estudio está enfocada en la producción de un suplemento alimenticio para el ganado en época seca. (Bayardo Jose Balmaceda Castrillo, 2002)

La biomasa lignocelulósica también ha sido objeto de estudio en el ámbito nacional, en este caso particular la coronta de maíz fue caracterizada y sometida a un proceso de hidrólisis ácida para la obtención de azúcares reductores. La composición resultante fue de 0.2% humedad, 0.1% cenizas, 0.3627% de extractivos totales, 36.7052% de celulosa, 19.7272% de lignina y 43.5676 de hemicelulosa. Las condiciones de operación para la hidrólisis ácida fueron de 7% ácido sulfúrico, 1.5 horas y 100°C, lo cual produjo una “variable respuesta” del 38% azúcares reductores totales cuantificados mediante un método espectrofotométrico (DNS). La investigación concluyó con un 30% de rendimiento para el proceso general. (Kiara Montiel, 2016)

Una de las alternativas para alcanzar una solución parcial al problema de la cascarilla de arroz es el desarrollo y aplicación de un proceso químico que convierta este desperdicio en un producto con valor agregado. El proceso permitirá transformar los polisacáridos (Celulosa y Hemicelulosa) contenidos en la estructura de la cascarilla a monosacáridos (Glucosa y Xilosa) por medio de la hidrólisis ácida diluida. Una vez obtenidos los azúcares simples estos se someterán a una fermentación alcohólica para su conversión al etanol.

Esta investigación tiene como propósito analizar el efecto que tiene un pretratamiento alcalino para la cascarilla de arroz sobre el rendimiento de la hidrólisis ácida diluida, con respecto a la conversión de Celulosa y Hemicelulosa en azúcares reductores. Para ello se hará uso del diseño experimental Taguchi, con el cual estudiaremos las diferentes iteraciones de los experimentos y sus respectivos resultados.

Además de determinar la influencia del pretratamiento alcalino sobre el rendimiento de la hidrólisis ácida diluida, también se podrá proponer las condiciones operacionales más adecuadas con respecto al rango de operación que será establecido en el diseño experimental, lo cual proporcionaría información importante al momento de llevar a cabo un posible escalamiento del proceso.

Realizar la producción de etanol a partir de la cascarilla de arroz no solo significaría un beneficio económico a los trillos al aprovechar un subproducto que está siendo desperdiciado en su mayoría, sino que también permitiría reducir la dependencia de combustibles fósiles en el hipotético caso de que el país y su sector industrial decida enfocarse en la obtención del etanol para su uso como biocombustible.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Analizar el efecto del pretratamiento alcalino en el rendimiento de la hidrólisis ácida diluida para la obtención de etanol a partir de la cascarilla de arroz.

2.2. Objetivos específicos

1. Caracterizar la cascarilla de arroz cuantificando la celulosa, hemicelulosa, lignina, extractivos y cenizas totales.
2. Determinar la acción del pretratamiento alcalino cuantificando la cantidad de lignina removida.
3. Cuantificar la cantidad de azúcares reductores formados en la hidrólisis ácida utilizando el método Miller ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS).
4. Determinar el efecto del pretratamiento alcalino en la hidrólisis ácida, comparando la cantidad de azúcares reductores obtenidos.
5. Establecer las condiciones del pretratamiento alcalino que generen el mayor rendimiento global y comparar el mismo con cascarilla de arroz no pretratada.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. El cultivo del arroz

El cultivo del arroz es una necesidad real en la alimentación del nicaragüense. En Nicaragua se siembra arroz en dos épocas bien definida, invierno (época lluviosa) y la de verano (época seca) bajo una alta tecnología de producción. (McGregor, 2015)

Nicaragua produce 320,000 quintales mensuales de arroz (AGRICORP, 2015). El 90 % de la producción se centra en manos de pequeños y medianos productores con los más bajos rendimientos de centro américa.

3.2. La cáscara de arroz

La cáscara de arroz es un residuo lignocelulósico, disponible en grandes cantidades en los sitios donde se procesa el cereal. Es el principal subproducto de la producción de arroz y representa el 20% de la cosecha. Contiene alrededor de un 36% de celulosa, 12% de hemicelulosas, 16% de lignina y 20% de componentes minerales.

3.3. Composición.

El material lignocelulósico está formado por tres tipos diferentes de polímeros, celulosa, hemicelulosa y lignina. Estos materiales son los más abundantes en la naturaleza.

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se presenta la composición de la cascarilla de arroz. Cabe recalcar que su composición varía según su procedencia.

Tabla 3.1 *Composición de cascarilla de arroz (Iyenagbe B. Ugheoke, 2012)*

Constituyente	%
Celulosa	35
Hemicelulosa	25
Lignina	20
Proteína cruda	3
Ceniza	17

3.3.1. Celulosa

La celulosa es el recurso orgánico renovable más abundante en la tierra, y se encuentra en su mayoría en plantas, bacterias, algas marinas y otras biomásas. Este es un polímero lineal unido por enlaces β -1,4 entre unidades de glucosa. También es insoluble en agua, soluciones acidas diluidas y soluciones básicas diluidas a temperaturas normales. Aunque la estructura y composición de las paredes celulares contenidas en las plantas varían ampliamente, el contenido de celulosa generalmente representa entre 35-50% del peso seco (Chen, 2014).

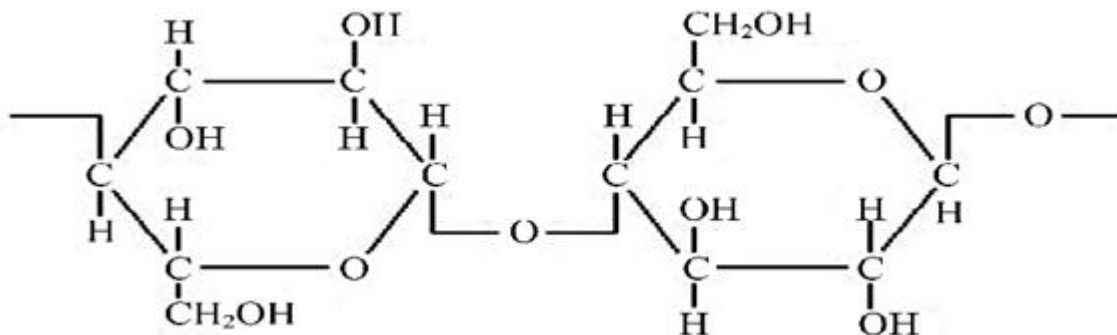


Figura 3.1. Estructura de Celulosa (Heidi Richards, 2012)

Estudios de la estructura supramolecular de celulosa natural muestran que las fases cristalinas y no cristalinas se entrelazan para formar celulosa. La fase no cristalina asume un estado amorfo cuando se prueba por difracción de rayos X, ya que la mayoría de los grupos hidroxilos en la glucosa son amorfos. Sin embargo, grandes cantidades de grupos hidroxilo en la fase cristalina forman muchos enlaces de hidrogeno, y estos construyen una red enorme que contribuye directamente a su estructura cristalina compacta (Zhang JQ, 2008).

Cuando los sólidos absorben líquidos, la homogeneidad de la configuración no cambia, pero los sólidos se vuelven blandos con disminución en la fuerza cohesiva interna y un aumento en su volumen. Este fenómeno se conoce como la hinchabilidad. La Hinchabilidad de celulosa se divide en hinchabilidad en las regiones cristalinas e hinchabilidad entre las regiones cristalinas, y un hinchamiento sin límites resulta en la disolución de la celulosa. Los grupos hidroxilos en la celulosa tienen polaridades, por lo tanto, entre mayor sea la polaridad de un agente líquido mayor será el hinchamiento de la celulosa (Chen, 2014).

3.3.2. Hemicelulosa

La hemicelulosa se deriva de polisacáridos que se encuentran en las plantas y esta contiene cadenas básicas con residuos de D-xilosa, D-manosa, D-glucosa, D-galactosa y otros glicosilos como cadenas ramificadas vinculadas a esta cadena básica (Chen, 2014). A diferencia de la celulosa, la hemicelulosa es un copolímero compuesto de diferentes cantidades de varias moléculas de sacárido (SH, 2008).

El contenido y la estructura de la hemicelulosa en varias plantas son diferentes. La investigación sobre la estructura química se centra principalmente en la composición de la cadena principal y cadenas ramificadas de glucanos en hemicelulosa. La cadena principal puede consistir en uno o más tipos de glicosilos, y las conexiones entre glicosilos también son diferentes (Yin ZF, 1999).

Debido a su bajo grado de polimerización y pocas estructuras cristalinas, la hemicelulosa se dragada más fácilmente en medio ácido que la celulosa. Por otro lado, de forma similar a la celulosa, esta puede tener una reacción de descamación bajo una solución alcalina leve y temperaturas elevadas, se daría lugar a una hidrolisis alcalina (Chen, 2014).

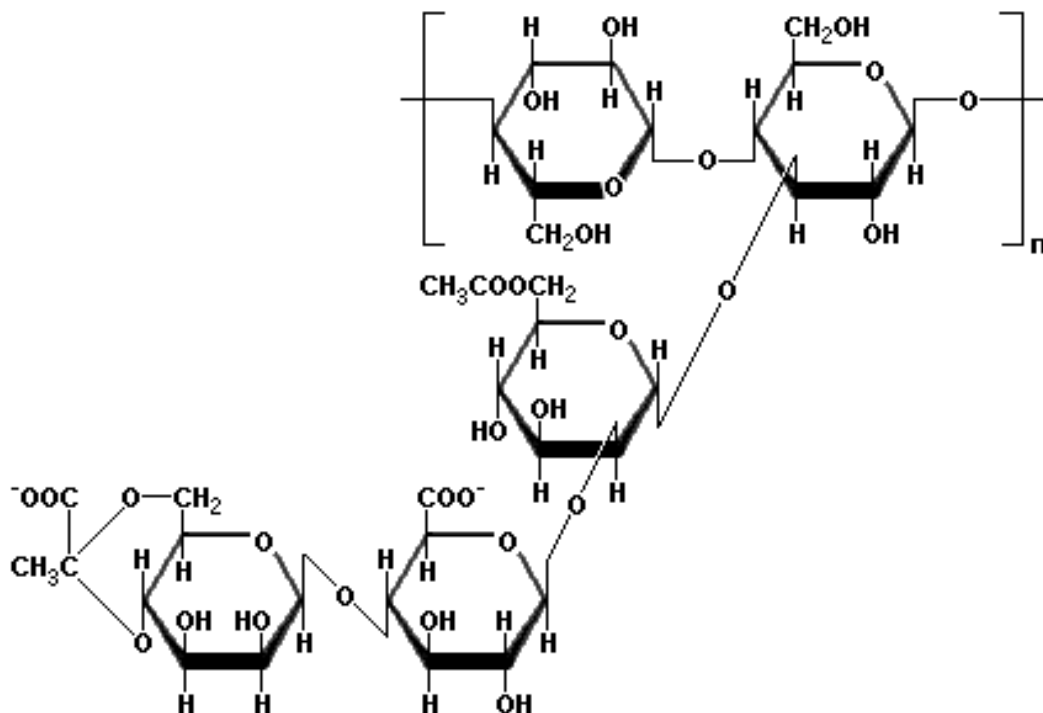


Figura 3.2. Estructura de la Hemicelulosa (Vishakha Kulkarni, 2012)

3.3.3. Lignina

La **lignina** es un complejo compuesto por unidades complicadas, no lineales y vinculadas al azar de fenilpropano; Esta puede presentar tres monómeros principales (Figura 3.3), los cuales son: alcohol cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico. Debido a los diferentes monómeros, la lignina se puede dividir en tres tipos: Lignina siriginil, polimerizada por siriginil propano (S), lignina guaiacilo (G), polimerizada por guaiacil propano e hidroxifenil lignina, polimerizada por hidroxifenilpropano (H) (Chen, 2014).

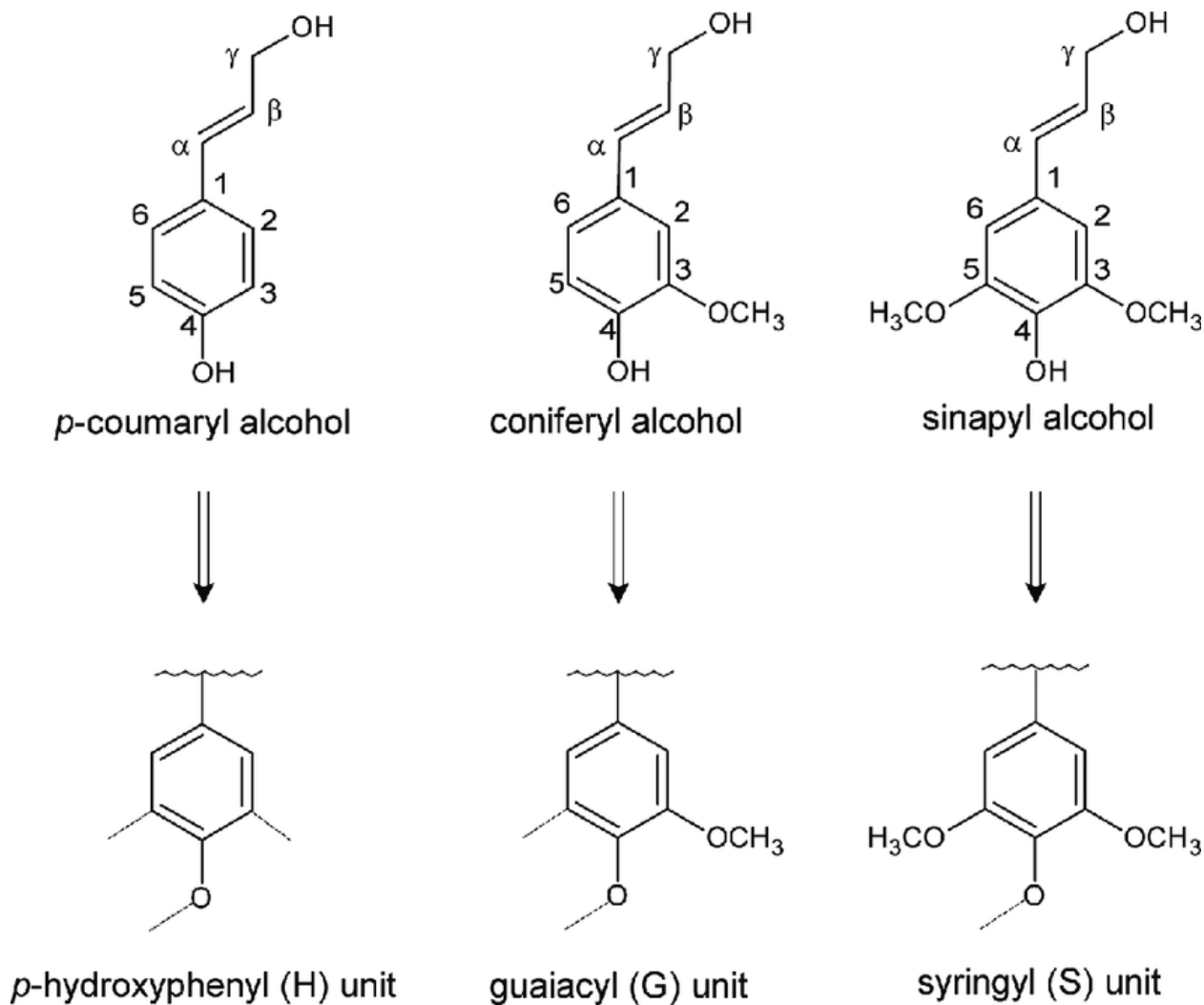


Figura 3.3. Principales tres polímeros de lignina y sus correspondientes unidades, fuente (Vanholme R, 2010)

La polimerización natural de los monolignols (lignificación) comienza con la formación oxidativa de radicales fenoxi catalizados por peroxidases y / o lacasas, y es seguido por combinatorio y radicales, que genera enlaces carbono-carbono y carbono-oxígeno (éter) (Vanholme R, 2010). El emergente La red reticulada y la naturaleza aromática de la lignina explican su recalcitrancia hacia la degradación (Gonzalo G, 2016) Los enlaces más frecuentes formados durante la lignificación son los enlaces -O-4, que representan ~ 50% de todos los vínculos entre los bloques de construcción de monolignol en madera dura y madera blanda lignina (Faulon J-L, 1994) . Se resumen los principales tipos de enlaces en la madera y la lignina de madera blanda en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..** y, por otro lado, se representan esquemáticamente en la Figura III.4

Tabla 3.2 Distribución de las principales unidades de lignina y sus enlaces para madera dura y suave. (Stefan Schoenherr, 2017)

Linkage type	[%]	
	Hardwood lignin	Softwood lignin
β -O-4	50-65	43-50
β -5 + cyclic α -O-4	4-6	9-12
noncyclic α -O-4	4-8	6-8
4-O-5	6-7	4
β - β	3-7	2-4
5-5	4-10	10-25
β -1	5-7	3-7

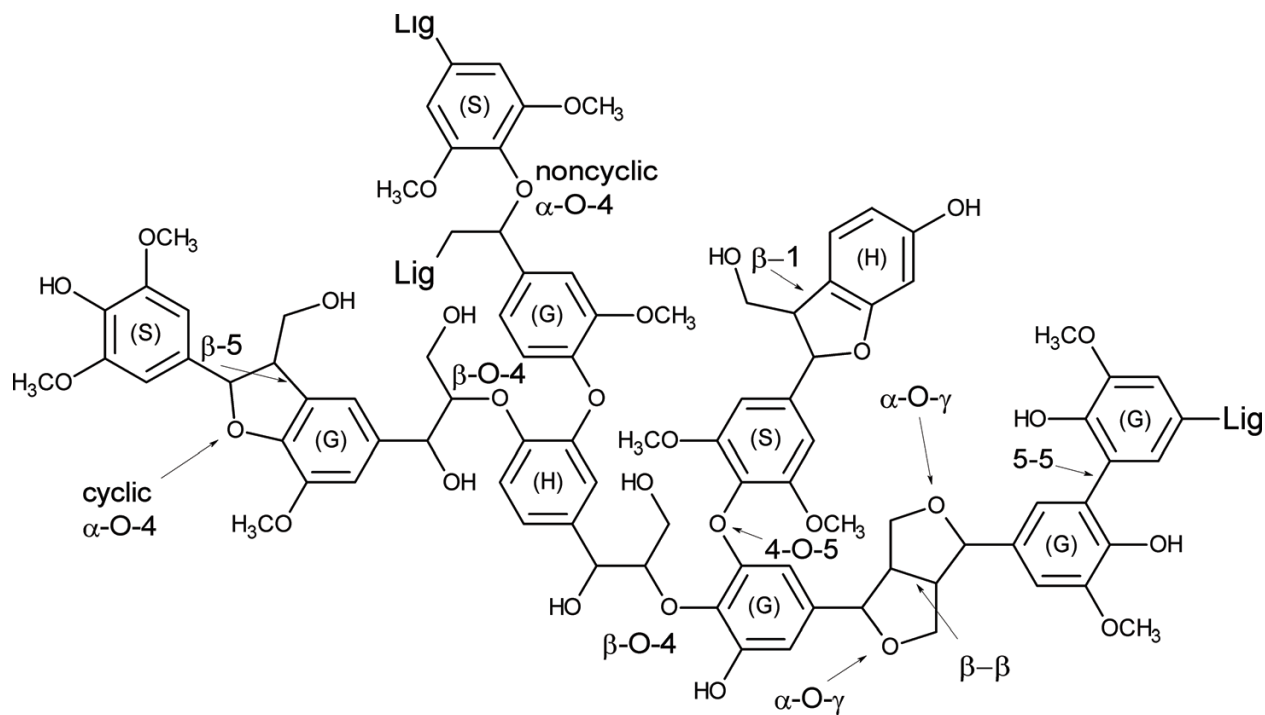


Figura 3.4. Representación esquemática de una estructura hipotética de lignina, incluidos los principales tipos de enlaces y los bloques que la conforman (H, G y S), fuente (Stefan Schoenherr, 2017)

3.3.4. Glucosa

Al romper las cadenas de celulosa se obtiene el monosacárido conocido como Glucosa, el cual es el carbohidrato más común y se clasifica como una aldosa, hexosa y un azúcar reductor. También se conoce como dextrosa porque es dextro-rotatoria, significa que como un isómero óptico gira la luz polarizada plana hacia la derecha y también un origen para la designación D.

La glucosa es sintetizada inicialmente por la clorofila en las plantas que usan dióxido de carbono del aire y la luz solar como fuente de energía. La glucosa se convierte adicionalmente en almidón para su almacenamiento (Ophardt, 2003).

En la **Figura 3.5** se muestra la estructura de glucosa.

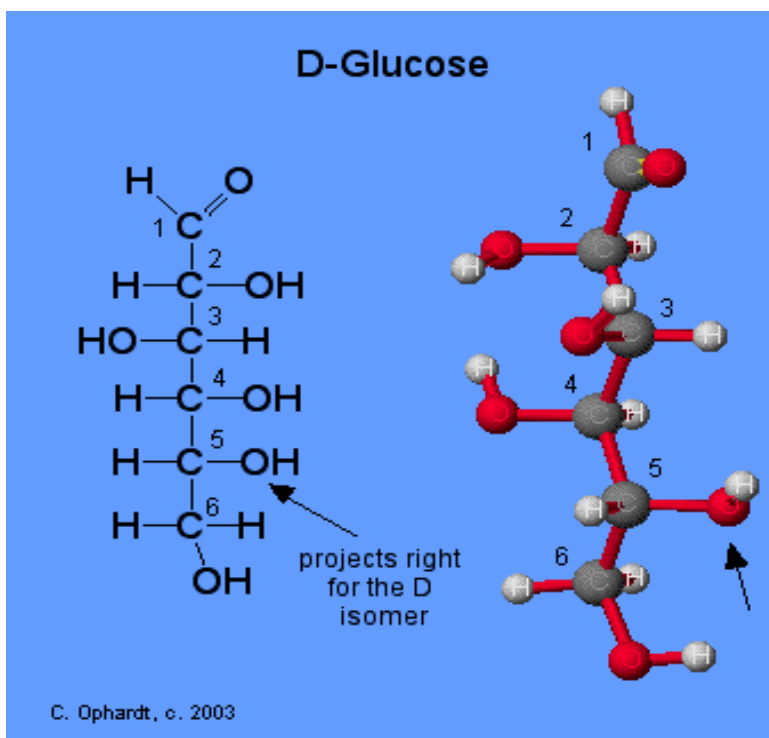


Figura 3.5. Estructura de la molécula D-glucosa (Ophardt, 2003)

3.3.5. Xilosa

La Xilosa es un monosacárido que puede ser obtenido a partir de la hemicelulosa. Esta contiene cinco átomos de carbono y un grupo funcional aldehído. Tiene la fórmula química $C_5H_{10}O_5$ y es 40% más dulce que la sacarosa. La xilosa se encuentra en los embriones de la mayoría de las plantas comestibles (PubChem, 2017). En la Figura III.6 se muestra la estructura de la molécula de D-Xilosa.

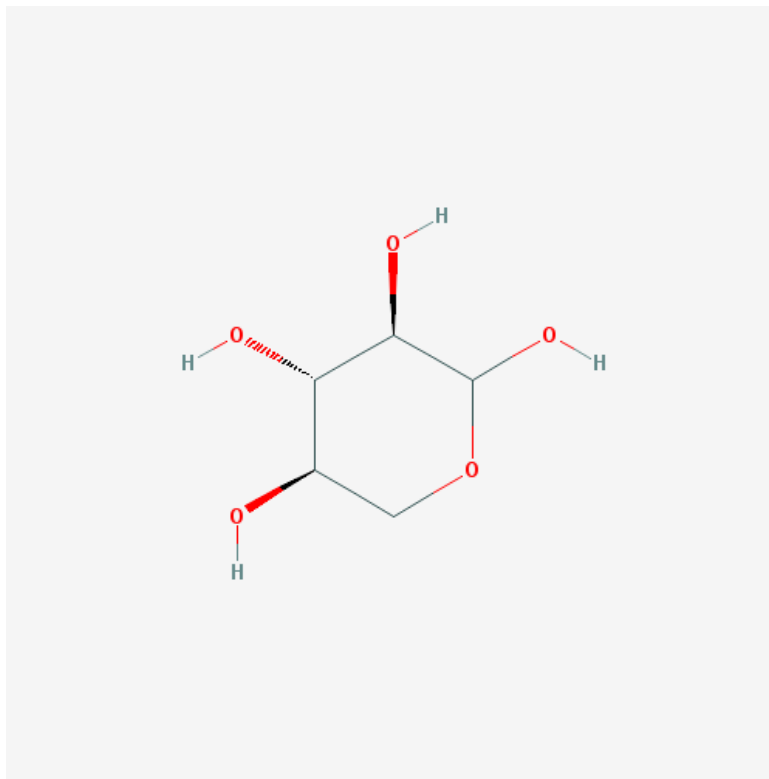


Figura 3.6. Estructura de la molécula D-Xilosa (PubChem, 2017)

3.4. Pretratamiento alcalino

En medio alcalino, el efecto de los reactivos nucleofílicos HO^- , HS^- y S_2 conduce a la escisión del enlace de éter principal para la lignina (por ejemplo, 'enlace de éter arílico, un enlace éter α -alcoxi tipo fenol, y "enlace de éter de arilo-tipo fenol), además de fragmentación y disolución parcial de macromolécula lignina. En medio alcalino, la unidad estructural tipo fenol se separa en aniones fenolato y un átomo de oxígeno que afecta el anillo de benceno por inducción y un efecto conjugativo, que activa sus posiciones orto y para. Por lo tanto, afecta la estabilidad del enlace CO y rompe el enlace éter ión-aril, luego genera un metileno quinona intermedio resultando en la aromatización de metileno quinona para generar una estructura de 1,2-difeniletano (Chen, 2014).

Por otro lado, el pretratamiento alcalino funciona mejor para la biomasa con bajo contenido de lignina, además, el aumento del contenido de lignina de la biomasa hace que este método sea menos efectivo (Sun Y., 2002). Así que la eficacia de este pretratamiento depende del contenido de lignina de la biomasa (Mudhoo, 2012).

Los químicos más usados para el pretratamiento alcalino son los siguientes: NaOH, KOH y $\text{Ca}(\text{OH})_2$, en el cual las condiciones del proceso son relativamente leves, pero los tiempos de reacción pueden ser largos (Harmsen P., 2010)). Estos pretratamientos son beneficiosos de una manera u otra en el logro de la hidrólisis parcial de las biomásas lignocelulósicas. Esto es debido a que puede solubilizar y remover la lignina, resultando en una digestibilidad mejorada de la celulosa (Wyman, 2005).

En la **Figura 3.7.** se presenta un esquema del efecto del pretratamiento en la estructura física de una materia lignocelulósica (Farrukh Raza Amin, 2017)

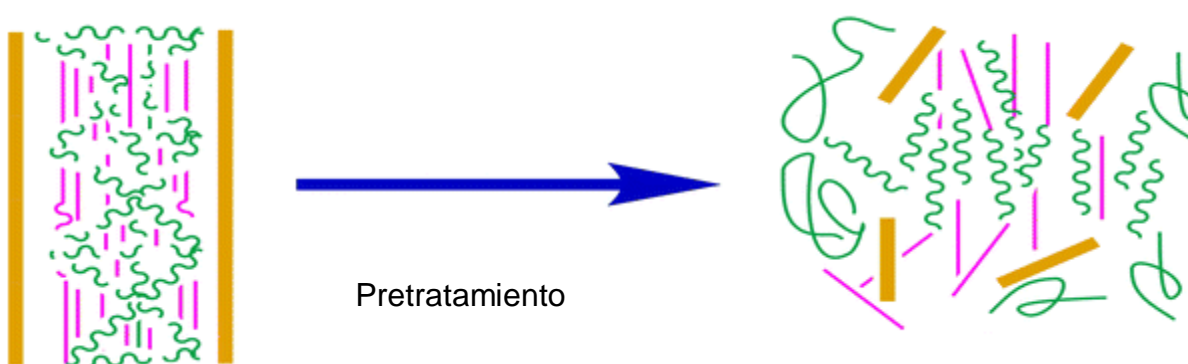


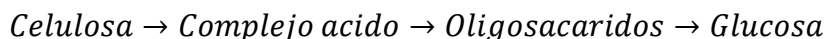
Figura 3.7. Diagrama esquemático del pretratamiento para el material lignocelulósico (Farrukh Raza Amin, 2017)

3.5. Hidrólisis Ácida

La hidrólisis ácida es un proceso en el cual un ácido protico se utiliza para catalizar la ruptura de un enlace químico a través de una reacción de sustitución nucleófilo, con la adición de agua. Un ejemplo de este tipo de reacción es la conversión de celulosa o de almidón en glucosa.

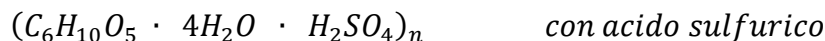
Cuando la celulosa es hidrolizada en un medio ácido a glucosa, los lazos β -1,4-glucosídicos de una molécula con cadenas de celulosa se dividen por la adición de moléculas de agua: esta adición produce fragmentos de longitudes de cadena más cortas, mientras se preserva la estructura básica. Uno de los grupos formados por este procedimiento es un grupo de aldehído potencial, el cual posee azúcares reductores (Hermann, 1970).

La hidrólisis de la celulosa con ácido concentrado se lleva a cabo por medio de la formación de complejos ácidos de celulosa; esto ocurre solo cuando la estructura cristalina es destruida, ya sea por su inflación o disolución en el ácido (Goto K. et al, 1971).



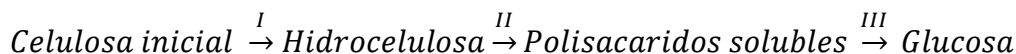
Ecuación 3.1. Conversión de Celulosa a Glucosa con ácido concentrado

Ejemplos de complejo ácidos son:



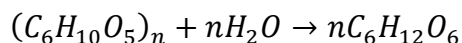
Ecuación 3.2. Complejo ácido de reacción celulosa/ácido sulfúrico

La hidrólisis de la celulosa con ácido diluido caliente conlleva la formación de hidro celulosa, la cual se transforma a polisacáridos solubles y por último en azúcares simples (Hermann, 1970)



Ecuación 3.3. Conversión de celulosa a Glucosa con ácido diluido

La estequiometria de la reacción para la conversión de celulosa a glucosa se puede describir de la siguiente forma:



Ecuación 3.4. Relación estequiométrica para conversión celulosa a glucosa

Por lo tanto, cada unidad de glucosa en la cadena larga se combina con una molécula de agua y se liberan 180 unidades másicas de glucosa por cada 162 unidades másicas de glucano y 18 unidades másicas de agua. Generando una ganancia másica del 11.1% (Charles E. Wyman, 2005).

En la Figura III.8. se refleja la acción de la hidrolisis acida en la estructura de la celulosa

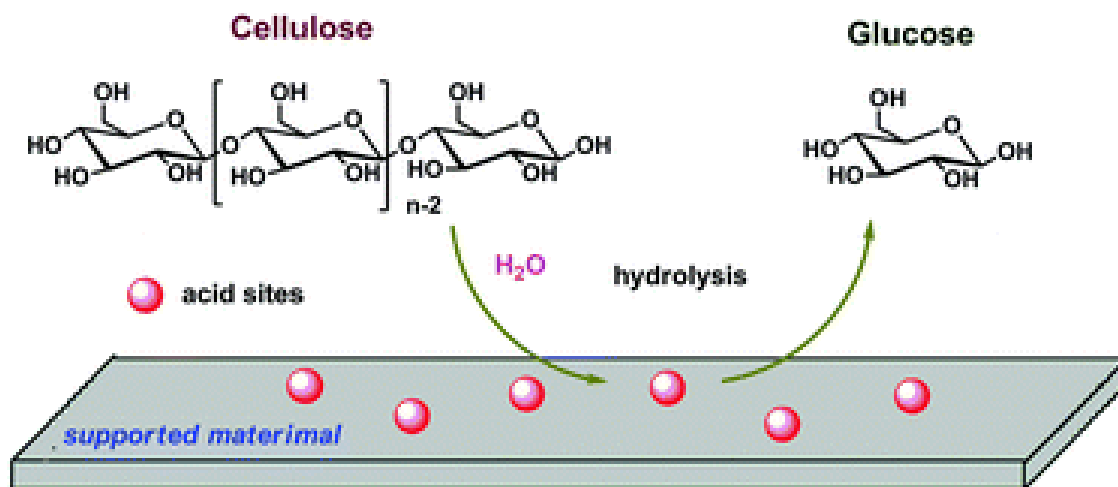


Figura 3.8. Hidrolisis acida de la celulosa, (Yao-Bing Huang, 2013)

Generalmente, la mayoría de la celulosa se encuentra en forma cristalina y por lo tanto se necesitan condiciones de reacción severas (altas temperaturas y altas concentraciones) para liberar la glucosa de estas cadenas fuertemente asociadas. Para lograr romper estas largas cadenas de forma eficiente con ácido diluido (ácido sulfúrico al 1%) se necesita llevar la reacción hasta temperaturas de 220 °C, lo cual a su vez generara inhibidores e inconvenientes con la pirolisis. Por otro lado, un ácido concentrado (Por ejemplo, Ácido sulfúrico 75%), requerirá temperaturas más moderadas (Charles E. Wyman, 2005).

Con respecto a la hemicelulosa, la hidrolisis acida de la misma es muy similar a la de la celulosa: el ácido cataliza la ruptura de largas cadenas de hemicelulosa para formar oligómeros de cadenas más corta y luego monómeros de azúcar que el ácido pueda degradar. Sin embargo, debido a que la hemicelulosa es amorfa, se requieren condiciones menos severas para liberar sus azúcares (Charles E. Wyman, 2005).

La estequiometria para la reacción de los azúcares de hexosa galactosa, glucosa y manosa que se encuentran en la hemicelulosa son las mismas que las mostradas

anteriormente para la glucosa, y resulta en un 11,1% de masa ganada para estas moléculas. Por otro lado, la adición de agua a las moléculas de azúcar de 5 carbonos arabinan y xilan contenidos en la hemicelulosa siguen la siguiente estequiometria:

Ecuación 3.5. *Relación estequiométrica entre pentosa y glucosa*

Donde, $(C_5H_8O_4)_n$, es una cadena compuesta de moléculas de arabinosa o xilosa, las que se pueden denominar arabinan o xilan respectivamente, y $C_5H_{10}O_5$ es uno de los correspondientes azúcares de pentosa formados por la reacción. Se puede apreciar que el peso molecular de la molécula de azúcar aumenta de 132 unidades antes de la hidrolisis a 150 unidades de masa de pentosas formadas, lo cual significa una ganancia del 13.6% (Charles E. Wyman, 2005).

3.6. Inhibidores

La hidrólisis ácida diluida de biomasa puede dar lugar a la formación de inhibidores que son tóxicos para los microorganismos, tal como la levadura. Entre estos se tiene el ácido acético, ácido fórmico, ácido levulinico, furfurales, Hidroximetilfurfural (HMF), fenoles y vanilina. La presencia de estos compuestos es no deseada, ya que este inhibe la actividad de las levaduras, entre sus efectos conocidos para los cultivos por lotes se encuentran una disminución en la tasa de producción de etanol y la tasa de crecimiento específica. Una de las explicaciones razonables para ello es la inhibición a un nivel enzimático de la levadura. (Modig, 2017). Una de las formas de evitar, o disminuir la formación de estos compuestos es optimizando las condiciones de operación (Chandel AK, 2011) .

El compuesto de furano se origina a partir de las reacciones de Mailliard de pentosas y hexosas durante la hidrólisis ácida, y es uno de los inhibidores más importantes en el hidrolizado de hidrólisis ácida diluida. El furfural resulta de la descomposición de las pentosas, mientras que el HMF se forma a partir de las hexosas (Modig, 2017)

A continuación, en la Figura III.9. se presenta un esquema que indica las principales rutas de formación de inhibidores para materia lignocelulósica.

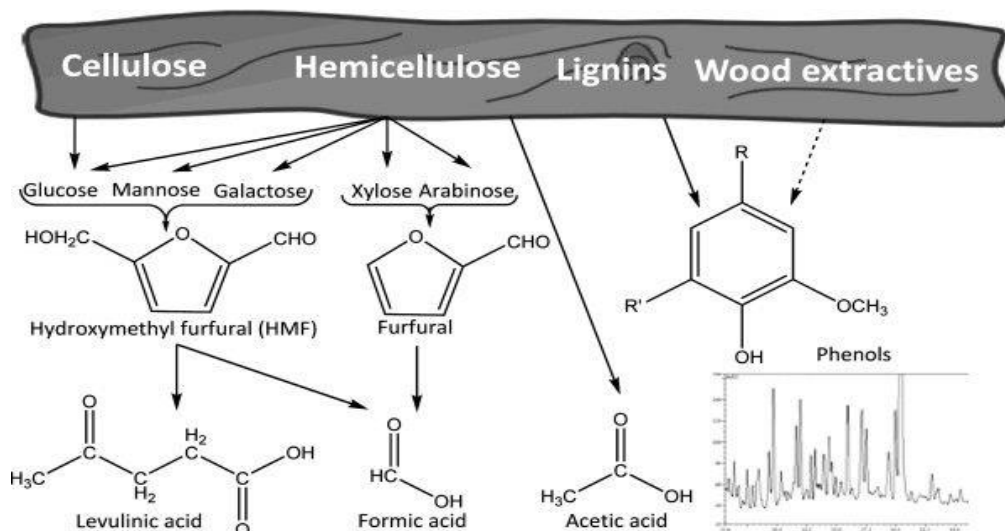


Figura 3.9. Formación de Inhibidores (Leif J Jönsson, 2013)

3.7. Diseño Taguchi

La idea de diseñar productos y procesos cuyo desempeño sea insensible a las condiciones ambientales (robustez del sistema) y realizar esto en las etapas de diseño a través del uso de diseño de experimentos ha sido la piedra angular de la metodología Taguchi. Las fortalezas de la metodología de Taguchi son las siguientes (Barron, 2011):

- Enfatiza en la calidad durante la etapa del diseño del proceso
- Reconoce la importancia relativa de los factores que influyen en el desempeño de los productos o procesos
- Enfatiza en la reducción de variabilidad, por medio del uso de la función de pérdida y de la razón señal-ruido (existiendo una para cada objetivo que se quiere lograr con el experimento)
- Se concentra en el concepto de diseño de parámetros que sirvan para disminuir la variabilidad en el desempeño de los productos

El Diseño experimental Taguchi está diseñado para optimizar producto o un proceso para que funcione con mayor consistencia en el entorno operativo. Los diseños de Taguchi reconocen que no todos los factores que causan variabilidad pueden ser controlados. Estos factores que no se pueden controlar se denominan factores de ruido.

Los diseños de Taguchi intentan identificar factores controlables (factores de control) que minimicen el efecto de los factores de ruido. Durante el experimento, se manipulan los factores de ruido para hacer que haya variabilidad y luego determina la configuración óptima de los factores de control para que el proceso o producto sea robusto o resistente ante la variación causada por los factores de ruido.

IV. MATERIAL Y METODO

La metodología para la obtención de azúcares reductores a partir de cascarilla de arroz, inicia con la caracterización de la muestra, seguido del acondicionamiento, mediante la separación de cascarilla de arroz según su tamaño para eliminar contaminantes tales como arroz y materia extraña, posteriormente es secada para eliminar la humedad presente y reducir su tamaño con un molino manual de diámetro entre 1 y 0.5 mm.

Seguidamente, la cascarilla es pretratada con hidróxido de sodio a diferentes condiciones de concentración (2%, 3%, 4%), tiempo (30, 45 y 60 min) y temperatura (60, 80, 100 °C), con el fin de remover la lignina. Es importante mencionar que se evaluará una muestra concentración 0 de Hidróxido de sodio como un blanco para comparar el efecto de la remoción de lignina en la hidrólisis ácida.

Una vez finalizado el pretratamiento, las muestras fueron filtradas, lavadas con agua destilada y secadas a una temperatura de 60 °C hasta un peso constante. Posteriormente se procedió a la hidrólisis ácida en la cual, el producto del pretratamiento se sometió con ácido sulfúrico diluido 4% (v/v) por un tiempo de 30 minutos a una temperatura de 120° C. La función del ácido sulfúrico es como catalizador para romper los enlaces en la cadena carbonada de celulosa y hemicelulosa y liberar moléculas de glucosa y otro azúcares fermentables.

Por último, se midió la cantidad de azúcares reductores en el hidrolizado según el método (DNS).

Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrólisis Ácida Diluida para la Obtención de Etanol a partir de Cascarilla de Arroz

En la **Figura 4.1**, se muestra el proceso de forma esquemática, mediante un diagrama de bloques.

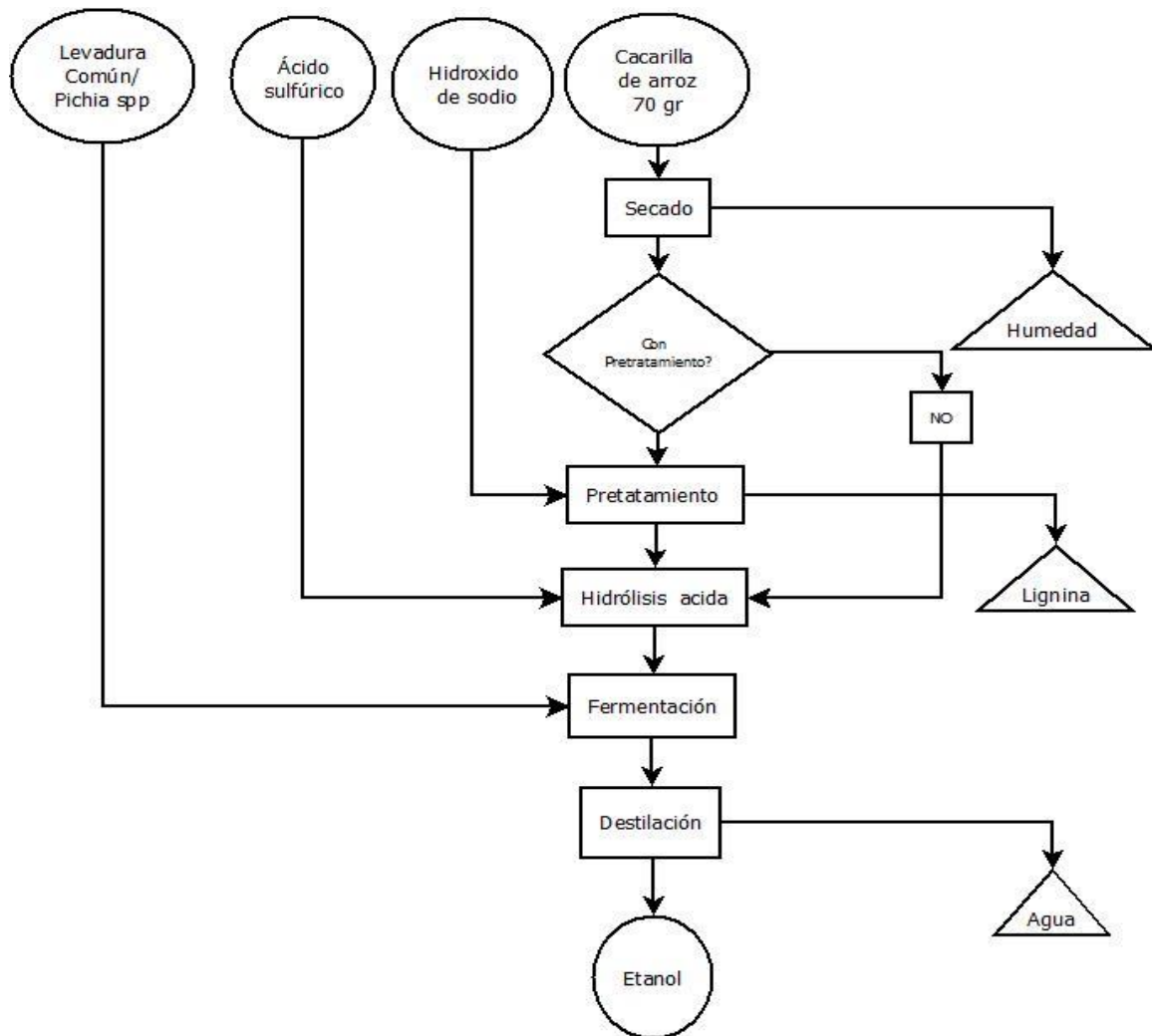


Figura 4.1. Diagrama de bloques para el proceso de obtención de etanol a partir de cascarilla de arroz. (Fuente propia)

4.1. Caracterización fisicoquímica de la materia prima

Se efectuó la caracterización bajo la referencia de las normas TAPPI (Technical Association of the Pulp and Paper Industry), la cual cubre tres principales campos: Celulosa y papel, empaque corrugado y empaques de papel de papel sintético. Por otro lado, se realizó la caracterización de celulosa, hemicelulosa, lignina y cenizas según el método Chesson – Datta.

4.1.1. Determinación del porcentaje de humedad

Para la determinación del porcentaje de humedad contenido en la cascarilla de arroz se aplicó la norma TAPPI “Determinación de la humedad en pulpa, papel y cartón (T 55 om-08)”.

Se tomaron dos especímenes de pruebas de 5 gramos cada uno. Posteriormente se colocaron en capsulas de aluminio y se midió el peso de la muestra con la capsula en una balanza analítica Mettler AE200. A continuación, el recipiente fue colocado en un horno Fischer Scientific a 105 °C por 30 minutos. Una vez culminado el tiempo, la capsula fue removida, enfriada a temperatura ambiente en un desecador y pesada en la balanza. La muestra fue introducida al horno una vez más y sometida al mismo proceso hasta peso constante. (TAPPI, 2013)

Para el cálculo del porcentaje se utilizó la metodología descrito en el **Anexo 1**.

4.1.2. Determinación del porcentaje de cenizas

El porcentaje de cenizas se calculó por medio de la norma TAPPI titulada “Ceniza en madera, pulpa y papel (T 211 om-02)”.

Se tomaron dos muestras de 2 g cada una de cascarilla de arroz libre de humedad. A continuación, se colocaron en crisoles de porcelana limpios y se pesaron en una balanza analítica. Luego se introdujeron en una mufla Nabertherm, programada para elevar la temperatura gradualmente de 100 °C hasta 525 °C, para carbonizar la muestra sin quemarla.

Finalizada la incineración, se enfrió a temperatura ambiente en un desecador. Por último, el crisol con la muestra fue pesado en una balanza analítica. El procedimiento se repitió hasta peso constante con una variación no mayor a ± 0.2 mg (TAPPI, TAPPI, 2002).

El porcentaje se calculó mediante el procedimiento descrito en el **Anexo 2**.

4.1.3. Determinación del pH

El pH del extracto de agua caliente de la cascarilla fue medido utilizando la norma “pH y conductividad eléctrica de extractos de agua caliente para pulpa, papel y cartón (T 252 om-02)”. El procedimiento se encuentra en el **Anexo 3**.

Para este análisis se pesaron 10 g de cascarilla de arroz libre de humedad en una balanza analítica Mettler AE200, posteriormente se colocó en un matraz de ebullición de 250 ml, y se agregó 100 ml de agua destilada. A continuación, la muestra se sometió a un proceso de ebullición con reflujo por 3 horas. Una vez culminado, la solución se enfrió a temperatura ambiente para su posterior medición con un pH metro Thermo Scientific Orion Star A111. (TAPPI, 2007)

4.1.4. Determinación de Solubles en agua, Celulosa, hemicelulosa y lignina

El análisis de la lignina, celulosa y Hemicelulosa se llevó a cabo mediante el método empleado por (Anwar Mar'uf, 2017), quienes aplicaron el método de (Datta, 1981) para la cascarilla de arroz. Una mezcla de 1 g de cascarilla de arroz seca con 150 ml de agua destilada fue calentada a reflujo en una plancha de calentamiento hasta alcanzar ebullición por 1 hora. La mezcla se filtró y el residuo fue lavado con 300 ml de agua destilada caliente. Se procedió a secarlo en un horno hasta alcanzar un peso constante. Posteriormente fueron agregados 150 ml de H_2SO_4 1 N a la parte sólida, y se procedió a calentar a reflujo por una hora. Se filtró y se lavó con 300 ml de agua destilada caliente, y se secó hasta peso constante.

El residuo seco se remojó en 10 ml de H_2SO_4 a temperatura ambiente por 4 horas. Una vez concluido el periodo se agregó 150 ml de 1N H_2SO_4 y se sometió a reflujo por 1 hora. La parte sólida se lavó con 400 ml de agua destilada, se calentó en un horno a $105^\circ C$ hasta peso constante. Por último, el sólido seco se introdujo a una mufla a $525^\circ C$ por 2 horas hasta que se convirtió en ceniza. Se determinó el peso y se calculó los porcentajes de hemicelulosa, celulosa y lignina relacionando las diferentes medidas del peso en el proceso. La metodología se encuentra detallada en el **Anexo 5**.

4.1.5. Determinación de azúcares reductores totales

Para la determinación se preparó una solución de NaOH 2M, diluyendo 1.6g del mismo en 20 ml de agua destilada. A la misma se le agregó 1g de DNS (ácido 3,5 dinitrosalicílico) y se colocó en una plancha de calentamiento y agitación Fischer Scientific para asegurar su disolución. En otro Beaker se preparó una solución de tartrato de sodio y potasio, diluyendo 40 g del mismo en 50 ml de agua destilada, aplicando calor y agitación. Ambas soluciones fueron mezcladas y sometidas a calor y agitación por 3 horas para asegurar la homogenización. Una vez culminado el tiempo, la solución fue aforada a 100 ml. El método empleado se encuentra descrito en el **Anexo 77**.

En cinco tubos de ensayo etiquetados y se colocaron disoluciones de glucosa y xilosa a concentraciones de 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, y 0.1 g/L. A cada uno se le adicionó 0.5 ml de reactivo DNS al 1%. Se mantuvieron en agua hirviendo por 15 minutos y posteriormente se les agregó 0.5 ml de la solución de tartrato de sodio al 40%.

Para medir la absorbancia se hizo uso de un espectrofotómetro Spectronic Instruments 4001/4, estas fueron tomadas a una longitud de onda de 540 nm. El blanco utilizado contenía 0.5 ml de agua destilada, 0.5 ml de la solución DNS. Una vez hechas las

mediciones, se graficó la absorbancia a 495 nm en el eje “Y” vs la concentración de glucosa o xilosa en el eje “X”.

La **Ecuación 11.10**, se utilizó para calcular la concentración de azúcares reductores totales en las muestras de prueba al determinar su absorbancia. (Miller, 1959), según la curva de calibración presente en la **Figura 11.3, Anexo 13**.

4.2. Acondicionamiento de la materia prima

La cascarilla de arroz fue tamizada en una serie de tamices (Fischer Scientific, No. 6,8 y 12), con el fin de separarla de cualquier material ajeno a la misma. Posteriormente esta fue lavada con agua destilada y secada en un horno Fischer Scientific a 60 °C por 24 horas. Una vez seca se efectuó una reducción de tamaño de partícula usando un molino artesanal “El rey”, por último, se tamizó (Fischer Scientific, No. 18, 35) una vez más para asegurar un tamaño de partícula de 1 mm – 0.5 mm.

4.3. Pesado de las muestras

Se estableció un punto de control en el cual se pesaron las muestras a trabajar usando una balanza analítica Mettler AE200, estos resultados son utilizados como referencia para la determinación de porcentajes de rendimientos y conversión.

4.4. Pretratamiento de la cascarilla de arroz.

En el pretratamiento se utilizó muestras de 10 g de cascarilla de arroz en relación 1:10 m/v con hidróxido de sodio a concentraciones de 2%, 3% y 4% por un tiempo de 30,45, y 60 min y temperaturas de 60, 80 y 100°C. Se analizó la parte líquida por medio del método DNS para determinar la cantidad de azúcares totales obtenidos, mientras que la parte sólida fue lavada varias veces con agua destilada para remover el hidróxido adherido (Salimi M. N., 2017). Posteriormente fue secada en un horno a 60 °C por 12 horas. El diseño experimental Taguchi se encuentra en el **Anexo 6**

4.5. Hidrólisis Ácida

La fracción sólida proveniente del pretratamiento (3 g de cascarilla pretratada) se hidrolizó con ácido sulfúrico diluido. Los experimentos se llevaron a cabo con ácido sulfúrico 4% (v/v), relación 1:10, 120 °C y una duración de 30 min en autoclave All american electric 25X-1. Las condiciones de operación usadas fueron seleccionadas de acuerdo a los resultados de la literatura consultada para la hidrólisis ácida diluida (Mustafa Germec, 2016).

V. RESULTADOS

5.1. Caracterización fisicoquímica de la cascarilla de arroz

Para la caracterización físico química de la cascarilla de arroz se realizaron tres replicas. La metodología se presenta el **Anexo 5**. En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se muestran los valores promedios de las características de la cascarilla de arroz, y la respectiva desviación estándar, mientras que los resultados individuales de cada iteración se presentan en el **Anexo 9** y **Anexo 10**. La caracterización fue llevada a cabo en cascarilla de arroz libre de humedad.

Tabla 5.1 *Caracterización de cascarilla de arroz*

Característica	Media aritmética	Desviación estándar
Humedad, %	8.62	0.22
Cenizas, %	10.4	0.54
Solubles en agua, %	7.97	0.74
Celulosa, %	36.53	2.61
Hemicelulosa, %	18.96	1.50
Lignina, %	26.14	0.36
Total, %	100	

5.2. Lignina removida por el pretratamiento alcalino .

La cantidad de lignina removida se cuantifico en base al peso de cascarilla inicial y el peso de cascarilla remanente post pretratamiento y sus respectivas fracciones de lignina. El balance de materia correspondiente se encuentra en el **Anexo 11**.

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se muestra el porcentaje de l ignina removido en el pretratamiento de 10 g de cascarilla de arroz

Tabla 5.2 *Cantidad y Porcentaje de lignina removida pretratamiento alcalino*

Muestra	Masa Remanente de Lignina (g)	Masa Removida Lignina (g)	Remoción de Lignina Media (%)	Desviación estándar
Pre_1	1.6612	0.9528	36.45	5.84
Pre_2	1.5459	1.0681	40.86	5.25
Pre_3	1.5726	1.0414	39.84	4.91
Pre_4	1.3686	1.2454	47.64	2.84
Pre_5	1.3588	1.2552	48.02	2.20
Pre_6	1.5417	1.0723	41.02	5.12
Pre_7	1.1958	1.4182	54.26	1.68
Pre_8	1.2752	1.3388	51.22	3.62
Pre_9	1.0476	1.5664	59.92	1.51

5.3. Cuantificación de azúcares reductores formados en la hidrólisis ácida.

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se muestran los valores p romedios de azúcares reductores totales correspondiente a cada lectura de absorbancia, y el promedio de conversión en relación a la cantidad de polisacáridos disponibles para cada muestra. La muestra "RH "corresponde a la cascarilla de arroz sin pretratar.

La cuantificación de azúcares reductores formados en la etapa de hidrolisis acida diluida se llevó a cabo según el método Miller ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), el cual se describe en el **Anexo 6**. Por otro lado, los cálculos se encuentran en el **Anexo 21** y **Anexo 23**.

Tabla 5.3 Azucares reductores hidrolisis acida diluida y promedio conversión

Muestra	Azucares Reductores(g)	Promedio Conversión Hidrolisis (%)
RH	2.0657	37.23%
H_1	1.7925	32.30%
H_2	1.4766	26.61%
H_3	1.4627	26.36%
H_4	1.7415	31.38%
H_5	1.2617	22.74%
H_6	1.7880	32.22%
H_7	1.3233	23.85%
H_8	1.4585	26.28%
H_9	1.2194	21.97%

5.4. Determinación del efecto pretratamiento alcalino en la hidrólisis ácida.

La **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** presenta las cantidades de azucares reductores formados en la etapa del pretratamiento alcalino y en la hidrolisis acida diluida, además de los azucares reductores totales formados para cada muestra. Los cálculos para los azucares reductores totales en el pretratamiento se encuentran en el **Anexo 20**.

Tabla 5.4 Azucares reductores formados en pretratamientos alcalinos e hidrolisis acida diluida.

Muestra	Azucares Reductores Totales Pretratamiento(g)	Azucares Reductores Totales Hidrolisis(g)	Azucares Reductores Totales (g)
RH	-----	2.0657	2.0657
m_1	0.2883	1.7925	2.0808
m_2	0.4093	1.4766	1.8860
m_3	0.5715	1.4627	2.0342
m_4	0.4447	1.7415	2.1862
m_5	0.5083	1.2617	1.7700
m_6	0.4690	1.7880	2.2569
m_7	0.7636	1.3233	2.0870
m_8	0.4199	1.4585	1.8784
m_9	0.9077	1.2194	2.1270

5.5. Establecer las condiciones optima del pretratamiento alcalino.

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se presenta el rendimiento global obtenido con respecto a la conversión de azucares reductores. Este se calculó según el procedimiento descrito en el **Anexo 24**. Por otro lado, el rendimiento global pronosticado se calculó mediante un análisis Taguchi en MiniTab 18.

Tabla 5.5 Rendimiento global en función de los azucares reductores totales formados Y Rendimiento global pronosticado

Muestra	Rendimiento Global (%)	Rendimiento Global Pronosticado (%)
RH	37.23	
m_1	37.50	38.25
m_2	33.99	33.22
m_3	36.66	36.68
m_4	39.40	39.42
m_5	31.90	32.65
m_6	40.67	39.90
m_7	37.61	36.84
m_8	33.85	33.87
m_9	38.33	39.08

VI. DISCUSION DE RESULTADOS

6.1. Caracterización fisicoquímica de la cascarilla de arroz

La **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** muestra los resultados de la caracterización de cascarilla de arroz suministrada por AGRICORP-Tipitapa y proveniente de Malacatoya, se observa que la parte de interés para la transformación en azúcares reductores suman 56 % en total de celulosa y hemicelulosa, siendo un 4 % menor según los datos reportados por (Iyenagbe B. Ugheoke, 2012) de 60%. Con respecto a las demás características, lignina (20%) y ceniza (17%) estas diferencias pueden ser atribuidas a la variedad, las condiciones agrícolas y climática del cultivo de arroz.

6.2. Lignina removida por el pretratamiento alcalino.

En la **Figura 6.1** se presenta los efectos de los factores temperatura, tiempo y concentración de hidróxido de sodio, sobre los resultados de remoción de lignina.

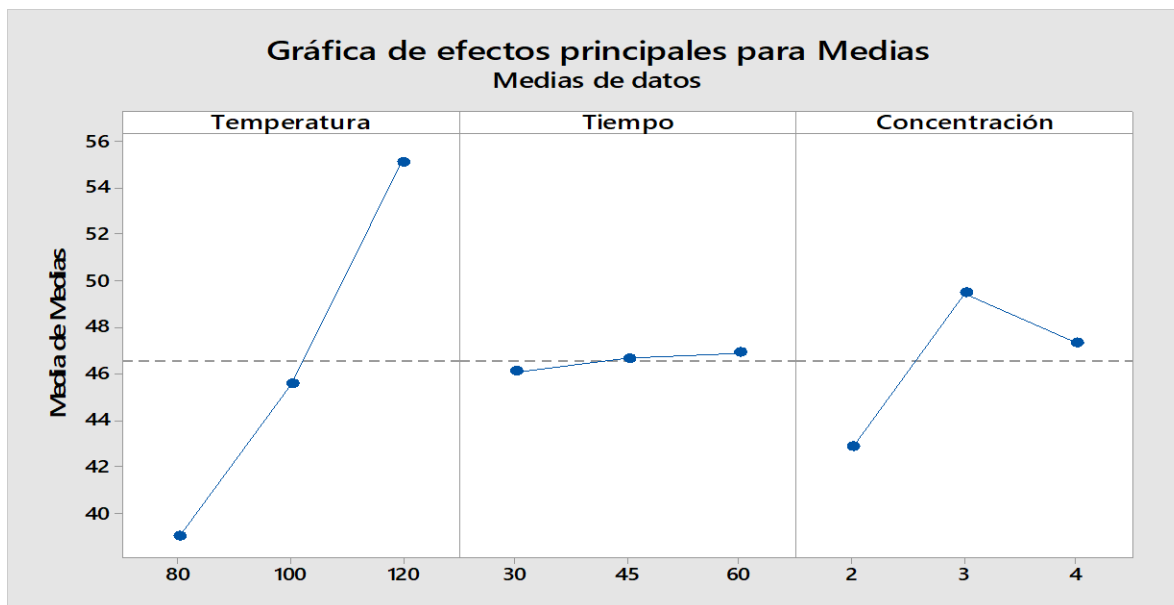


Figura 6.1. Efecto de la temperatura, tiempo y concentración sobre la remoción de lignina (fuente propia)

Se observa que el efecto de la temperatura sobre la remoción de lignina es mayor comparado con el efecto del tiempo. En general el efecto del pretratamiento alcalino ocasiona una remoción de lignina que oscila entre un 36.45% hasta un 59.92% para diferentes condiciones. Este efecto es atribuible al grupo hidroxilo, (HO^-) presente en el hidróxido de sodio, que provoca una ruptura en los principales enlaces éter, además de una fragmentación y disolución parcial de la macromolécula lignina (Chen, 2014).

De acuerdo a los resultados obtenidos por (M. Nikzad, 2013), quien reporta una remoción de lignina del 69.80% a condiciones de 3% (p/v) NaOH, 121 °C y 30 min, se puede apreciar una disminución de remoción del 10% en condiciones similares.

Estos resultados de baja remoción están relacionados al contenido de lignina de la cascarilla de arroz, que represento un valor relativamente alto de 26%, según (Sun Y., 2002) el pretratamiento alcalino será menos eficaz con biomasa con alto contenido de lignina.

Por otro lado, (Ekwe, 2012) alcanzo una delignificación del 58.41% al someter cascarilla de arroz con hidróxido de sodio al 4% a 121 °C por 30 minutos, y (Diana Torres, 2016) obtuvo una remoción de lignina del 54.3% al llevar a cabo un pretratamiento para cascarilla de arroz con hidróxido de sodio 10% (p/v), 70 °C y 75 minutos, siendo estos resultados similares a los obtenidos en la presente investigación.

6.3. Cuantificación de azúcares reductores formados en la hidrólisis ácida.

Los resultados presentados en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** indican los efectos de la hidrolisis acida efectuada en cascarilla de arroz sin pretratamiento, esta alcanzo un porcentaje de conversión mayor en comparación a aquella que fue pretratada a diferentes condiciones, siendo estos valores del 37.23% y 21.97% - 32.30 % respectivamente. Esto puede ser provocado por la redistribución y condensación de la lignina, así como modificaciones del estado cristalino de la celulosa, lo cual lleva a contrarrestar los efectos positivos de la eliminación de la lignina y el esponjamiento de la celulosa (Gregg, 1996).

6.4. Determinación del efecto del pretratamiento alcalino en la hidrólisis ácida.

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se observa que, la formación de azúcares reductores en el pretratamiento es bajo, el experimento 9 muestra la mayor formación igual a 0.9076 g. También se observa que al someter cascarilla de arroz no pretratada a una hidrolisis acida diluida se logra alcanzar una conversión de 2.0657g de azúcares reductores, siendo mayor a los resultados obtenidos con cascarilla de arroz pretratada en todas las condiciones.

Esto indica que, al someter la cascarilla de arroz a un pretratamiento alcalino, la hidrolisis acida diluida no logro transformar la celulosa eficientemente en azúcares reductores de las cadenas fuertemente asociadas su estructura. Lo cual significa que la remoción de lignina y la modificación en la estructura lignocelulósica no disminuye la necesidad de emplear condiciones de temperatura severas para obtener una conversión adecuada (por encima de 220°C) (Charles E. Wyman, 2005).

Por otra parte, las condiciones utilizadas en el pretratamiento alcalino no son extremas, lo que justifica las bajas conversiones de azúcares reductores provenientes de la celulosa. Probablemente, el aporte de azúcares reductores sean de la hemicelulosa, que es amorfa y más sencilla a transformarse en condiciones menos severas (Charles E. Wyman, 2005).

Además, se observa que el pretratamiento básico tiene un efecto adverso en la producción de azúcares reductores para la hidrolisis acida diluida, esto probablemente se deba a la modificación del estado cristalino de la celulosa y su esponjamiento (Gregg, 1996).

6.5. Establecer las condiciones optima del pretratamiento alcalino.

Según los resultados presentes en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se observa que los valores con mayor conversión corresponden al experimento 6, con un porcentaje de 39.90% a las condiciones de Temperatura: 100°C, tiempo: 60 min y $[NaOH]: 2\% \left(\frac{P}{V}\right)$. Este valor representa un aumento del 2.67% en relación a la cascarilla de arroz que no fue pretratada (37.23%), lo cual no justifica el empleo de un pretratamiento alcalino para alcanzar mayores conversiones.

VII. CONCLUSIONES

1. La cascarilla de arroz procedente de AGRICORP-Tipitapa presento las características optimas en concentración de celulosa y hemicelulosa para considerarla apta para la obtención de azucares reductores fermentables para la producción de etanol.
2. El pretratamiento alcalino sobre la cascarilla de arroz removi6 hasta un 59.92% de lignina al aplicar condiciones de 120 °C, 60 minutos y 3% (p/v) NaOH. Rendimiento comparable con los obtenidos en otros estudios similares.
3. El efecto del pretratamiento alcalino sobre el rendimiento de la hidrolisis acida es negativo, disminuyendo la conversi6n de azucares reductores un 5.02 % respecto a la cascarilla de arroz sin pretratamiento.
4. El rendimiento global en la obtenci6n de azucares ve un aumento gracias al pretratamiento alcalino en un 3.44 %, esto debido a que durante el pretratamiento tambi6n se obtienen azucares reductores.
5. Las condiciones del pretratamiento alcalino que generan el mayor rendimiento global son las correspondiente al experimento 6, con 39.90% a una temperatura de 100 °C, 60 minutos y 2% (p/v) NaOH.

VIII. RECOMENDACIONES

De acuerdo al estudio realizado, se recomienda aumentar la temperatura por encima de 120 °C en el pretratamiento para aumentar la remoción de lignina y aumentar la transformación de azúcares reductores.

Por otro lado, el rendimiento de la hidrolisis acida diluida obtenida es relativamente bajo comparado a otros estudios que han ejercido condiciones de operación más severas. Esto refleja la necesidad de emplear temperaturas mayores a 120°C para aumentar la conversión a azúcares reductores en la hidrolisis acida diluida.

Se debe evaluar otros tipos de hidrolisis, como la hidrolisis enzimática para alcanzar mayores rendimientos para reducir el impacto ambiental.

En última instancia se recomienda emplear métodos analíticos que permitan cuantificar glucosa y xilosa individualmente así como otras pentosas y hexosas formadas en el tratamiento.

IV. NOMENCLATURA

β : Tipo de enlace que determina la posición del hidrogeno en el primer carbón de una molécula.

\bar{X} : Valores medios para las absorbancias.

σ : Desviación estándar de las absorbancias medias.

X. BIBLIOGRAFIA

- AGRICORP. (12 de Mayo de 2015). *AGRICORP*. Obtenido de <http://www.agricorp.com.ni/index.php/division-industrial>
- Anwar Mar'uf, B. P. (2017). Lignin Isolation process from rice husk by alkaline hydrogen peroxide: Lignin and silica extracted. *AIP Conference Proceedings*.
- Badie M, A. N. (2014). Comparison of chemical pretreatment methods for cellulosic biomass. . *Procedia Soc Behav Sci* 9, 170-174.
- Barron, O. (23 de Septiembre de 2011). *Periodico El Realista*. Obtenido de <http://periodicoelrealista.opennemas.com/articulo/economia/neque-porro-quisquam-est-qui-dolorem-ipsam-quia-dolor-sit-amet-consectetur-adipisci-velit/20110923205111000010.html>
- Bayardo Jose Balmaceda Castrillo, N. A. (2002). *Evaluacion del efecto fisico de tres niveles de urea (3, 5 y 7%) sobre la calidad de la cascarilla de arroz*. Managua.
- Bayless, D. (2005). Statistical Rejection of “Bad” Data—Chauvenet’s Criterion. Recuperado el 02 de Septiembre de 2019, de <https://chetaero.files.wordpress.com/2016/11/chauvenet.pdf>
- Carolus B. Rasrendra, R.-J. v. (May de 2012). Hydroxymethylfurfural, A Versatile Platform Chemical Made from Renewable Resources. *Chemical Reviews*. Obtenido de Academia.
- Chandel AK, C. G. (2011). The realm of cellulases in biorefinery development. *Crit Rev Biotechno*.
- Chandra RP, B. R. (2007). Substrate pretreatment: the key to effective enzymatic hydrolysis of lignocellulosics? *Adv Biochem Eng Biotechnol*.
- Charles E. Wyman, S. R. (2005). HYDROLYSIS OF CELLULOSE AND HEMICELLULOSE. *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*. doi:10.1201/9781420030822.ch43.
- Chen, H. (2014). *Biotechnology of Lignocellulose: Theory and Practice*. Beijing: © Chemical Industry Press.
- Consejo Superior de Investigaciones Científicas. (31 de julio de 2016). *Seres Modelicos*. Obtenido de <http://seresmodelicos.csic.es/llevat.html>
- Cuadra, C. R. (Noviembre de 2004). Evaluacion tecno-economica de PIYNIC S.A. para la instalacion de una procesadora de laminas aglomeradas a partir de desechos de madera y cascarilla de arroz. Managua.

- Datta, R. (1981). Acidogenic Fermentation of Lignocellulose-Acid Yield and Conversion of. *Biotechnology and Bioengineering*, 2167-2170.
- Diana Torres, S. P. (2016). Evaluación de pretratamientos químicos sobre materiales lignocelulósicos. *Revista Chilena de Ingeniería*.
- Díaz, C. B. (2013). *Obtención de Bioetanol 2G a partir de Hidrolizados de paja de trigo fermentación conjunta de los penta y hexa carbohidratos con Pichia Stipitis*. Valladolid.
- Ekwe, N. B. (2012). The effect of delignification on the saccharification of abakaliki rice husk. *Advances in Applied Science Research*, 3902-3908.
- Encyclopædia Britannica. (2017). Filtration. *Encyclopædia Britannica, inc*.
- Farrukh Raza Amin, H. K. (2017). Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. *AMB Express*.
- Faulon J-L, H. P. (1994). Is there any order in the structure of lignin? *Energy & Fuels.*, 8, 402-407.
- Flores Medal Belki Vanessa, L. P. (2015). *Estudio a Nivel de Pre Factibilidad para el Diseño de una Fabrica de Briquetas a Base de cascarilla de arroz*. Managua.
- Garcia, A. D. (2015). *PRETRATAMIENTO DE EXTRUSIÓN REACTIVA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE PAJA DE CEBADA*. Valladolid.
- Gonzalo G, d. C. (2016). Bacterial enzymes involved in lignin degradation. *Journal of Biotechnology*, 236, 110-119. doi:<https://doi.org/10.1016/j>.
- Gregg, D. y. (1996). A techno-economic assessment of the pretreatment and. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1(57-58), 711-727.
- Harmsen P, H. W. (2010). Literature review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass. 1-49.
- Harmsen P., H. W. (2010). *Literature review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass*. Wageningen UR.
- Heidi Richards, P. G. (2012). Metal Nanoparticle Modified Polysulfone Membranes for Use in Wastewater Treatment: A Critical Review. *Journal of Surface Engineered Materials and Advanced Technology*, 2, 183-193.
- Hendriks, A. y. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 1(100), 10-18.
- Hidalgo, J. (2010). *Tratad de Enologia*. Madrid España: Mundi Prensa.
- INTA. (2012). Guia Tecnológica del cultivo del arroz.

- Iyenagbe B. Ugheoke, O. M. (2012). A critical assessment and new research directions of rice husk. *The International Journal of Science & Technology* , 430-488.
- Jarina Joshi, T. B. (2018). Efficient Methods of Pretreatment for the Release of Reducing Sugars from Lignocellulosic Biomass Native to Nepal and Characterization of Pretreated Lignocellulosic Biomass. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 9(3), 9-23.
- Kiara Montiel, L. R. (2016). Obtencion de etanol a partir de la Coronta del maiz.
- Kim Olofsson, M. B. (2008). A short review on SSF – an interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks. *Biotechnology for Biofuels*.
- Koichirô Gotô, Y. S. (1970). The Rate of Cellulose Hydrolysis by a Small Amount of Concentrated Sulfuric Acid. *Agricultural and Biological Chemistry*, 111-114.
- Kürschner, & Hoffer. (1931). Chemiker Zeitung 55. *Chemiker Zeitung*, 161-163 and 182-184.
- La Voz del Sandinismo . (22 de February de 2013). Generarán electricidad mediante técnica de biomasa. *La Voz del Sandinismo*.
- Lehninger, A., & Cox, M. (2005). *Lehninger Principios de Bioquímica*. Omega.
- Leif J Jönsson, B. A.-O. (2013). Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification. *BioMed Central*.
- M. Nikzad, K. M. (2013). Comparative Studies on the Effect of Pretreatment of Rice Husk on Enzymatic Digestibility and Bioethanol Production. *International Journal of Engineering Vol. 26*, 455-464 .
- McGregor, R. (12 de Mayo de 2015). RAMAC. Obtenido de http://www.ramac.com.ni/?page_id=902
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 31, 426-428.
- Modig, T. (2017). *Kinetics and inhibition effects of furfural and hydroxymethyl furfural*. Lund, Sweden : Department of Chemical Engineering II, Lund University.
- MSc. Yoney López Hervis, D. C. (2012). *Producción de etanol combustible apartir de materiales lignocelulósicos*. Matanzas,Cuba.
- Mudhoo, A. (2012). Biogas production: pretreatment methods in anaerobic digestion. *Massachusetts: Scrivener Publishing*.
- Mustafa Germec, M. I. (2016). Optimization of acidic hydrolysis conditions of rice husk for fermentable sugar production. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, 3103-3108.

- Nachaiwieng W, L. S. (2015). Potential in bioethanol production from various ethanol fermenting microorganisms using rice husk as substrate. *BIODIVERSITAS*, *Volume 16*, 320-326.
- Nelson. (12 de Mayo de 2015). *Bioweb*. Obtenido de http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2007/nelson_andr/
- Ophardt, C. E. (2003). *Virtual Chembook*. Chicago : Elmhurst College.
- Ortiz, W. G. (2011). *Materiales lignocelulosicosb como fuente de biocombustibles y productos químicos*. Madrid, Colombia.
- PubChem. (04 de 11 de 2017). *D-Xylose*. Obtenido de PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/135191>
- Roxana Alejandra Avendaño Torrez, T. P. (2015). *BRIQUETAS DE CASCARILLA DE ARROZ*.
- Salimi M. N., L. S. (2017). Conversion of rice husk into fermentable sugar by. *Journal of Physics: Conference Series*.
- Sánchez Riaño, A. M. (2010). *Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos*.
- Sanjeev K. Sharma, K. L. (2002). *Biomass and Bioenergy*, *23*, 237-243.
- Santiagoel, A. F. (2013). A second life for rice husk. *Rice Today*.
- SH, Y. (2008). Plant fiber chemistry. *China Light Industry Press*.
- Singh S, C. G. (2015). Comparison of different biomass pretreatment techniques and their impact on chemistry and structure. *Front Energy Res Bioenergy Biofuels*, 1-12.
- Stefan Schoenherr, M. E. (2017). *Lignin - Trends and Applications*. INTECH. doi:10.5772/intechopen.71210
- Sun Y., C. J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, *83*, 1-11.
- TAPPI. (2002). *TAPPI*. Obtenido de TAPPI: <https://research.cnr.ncsu.edu/wpsanalytical/documents/T211.PDF>
- TAPPI. (2006). Obtenido de <http://www.tappi.org/content/SARG/T222.pdf>
- TAPPI. (Marzo de 2007). Obtenido de <http://www.tappi.org/content/sarg/t252.pdf>
- TAPPI. (Marzo de 2007). Obtenido de <http://www.tappi.org/content/sarg/t204.pdf>
- TAPPI. (2013). *TAPPI*. Obtenido de TAPPI: <http://www.tappi.org/content/tag/sarg/t550.pdf>

- Vanholme R, D. B. (Julio de 2010). Lignin biosynthesis and structure. *Plant Physiology*, 153, 895-905.
- Vishakha Kulkarni, K. B. (2012). Natural Polymers- A comprehensive Review. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 1597-1613.
- Wenzl, H. F. (1970). *The Chemical Technology of Wood*. Lucerne, Switzerland: Academic Press, Inc.
- Wyman, C. &. (2005). *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*. Colorado: National Renewable Energy Laboratory.
- Yao-Bing Huang, Y. F. (2013). Hydrolysis of cellulose to glucose by solid acid catalysts. *Green Chemistry*, 15, 1095–1111.
- Yin ZF, F. R. (1999). The research progress of plant cell wall. *Bull Bot Res*(19), 407.
- Yineth Piñeros, Á. M. (2010). Evaluación de la producción de etanol a partir de cascarilla de arroz.
- Yoney López, A. G. (2010). Chemical characterisation and dilute-acid hydrolysis of rice hulls from an artisan mill. *BioResources*.
- Zhang JQ, L. L. (2008). Advance of studies on structure and decrystallization. *Chem Ind For Prod.*, 28(6), 14-109.

XI. ANEXO

Anexo 1. Determinación del porcentaje de humedad (TAPPI T 550 om-08)

El porcentaje de humedad refleja la cantidad de agua que contiene una muestra de materia, en este caso el método a utilizar es válido para materiales lignocelulósicos.

Espécimen de prueba.

Se utilizaron muestras de prueba duplicadas de cascarilla arroz, cada una con un peso de 2 g.

A. Materiales

1. Capsula de porcelana
2. Horno (105 ± 2 ° C)
3. Desecador
4. Balanza analítica

B. Procedimiento

1. Colocar 2g de la cascarilla de arroz en la capsula de porcelana
2. Pesar la capsula de porcelana con la muestra a analizar al miligramo más cercano, colocar en el horno y calentar por 30 minutos.
3. Remover la capsula del horno, enfriar a temperatura ambiente en un desecador y pesar nuevamente.
4. Posteriormente al primer periodo de secado, realizar un según periodo, el cual tendrá una duración de la mitad del procedimiento anterior. Reiterar hasta que el peso del espécimen no varié más del 0.1%.

C. Cálculos

Se calculo la humedad de cada espécimen como el porcentaje perdido del peso original. La humedad será el promedio de los valores para ambos especímenes.

$$\text{Porcentaje de humedad contenida} = \frac{P_2 - P_1}{P_2 - P_T} (100)$$

Ecuación 11.1. Porcentaje de humedad

Donde:

P_2 = Peso de la capsula y especimen previo al secado

P_1 = Peso de la capsula y especimen posterior al secado

P_T = Peso de la capsula

Anexo 2.. Determinación del porcentaje de cenizas (TAPPI T 211 om-02)

Para la determinación de cenizas es necesario secar un espécimen de prueba a 525 °C en una mufla, el peso obtenido de la ceniza y el porcentaje de humedad en la muestra son utilizados para calcular el porcentaje de ceniza presente a 525 ° C sobre una base de muestra sin humedad.

Espécimen de prueba.

Se tomaron 2 g de cascarilla de arroz libre de humedad para la prueba, según el procedimiento presentado anteriormente.

A. Materiales

1. Crisol de porcelana 100 ml
2. Mufla eléctrica

B. Procedimiento.

1. Limpiar cuidadosamente el crisol vacío y colocarlo en la mufla durante 45 minutos, a una temperatura de 525 °C.
2. Colocar el crisol en un desecador a temperatura ambiente, posteriormente pesarlo en una balanza analítica.
3. Transferir el espécimen al crisol y carbonizarlo colocándolo en un horno a una temperatura de 100 °C. Elevar la temperatura gradualmente hasta 525°C para que la muestra se carbonice sin quemarla.
4. Cuando el espécimen haya finalizado la combustión, retirarlo del horno, tapanlo y permitir que se enfríe a temperatura ambiente en un desecador que contenga aluminio anhidro.
5. Pesar el crisol con las cenizas en una balanza analítica. Repetir el procedimiento hasta que el peso constante

C. Cálculos

Calcular el contenido de ceniza de la siguiente forma:

$$Ceniza, \% = \frac{A \times 100}{B}$$

Ecuación 11.2. Porcentaje de Ceniza

Donde:

$A =$ peso de ceniza, g

$B =$ Peso del espécimen de prueba libre de humedad, g

Anexo 3. Determinación del pH (TAPPI T 252 om-90)

Por medio de este procedimiento se calculó el potencial de Hidrogeno en la cascarilla de arroz.

A. Materiales

1. Matraz de ebullición de 250 ml
2. Vidrio Reloj
3. Balanza analítica
4. Espátula
5. Refrigerante Pyrex 24/40
6. Mangueras
7. Manta calefactora
8. Termostato
9. Perlas de ebullición

B. Procedimiento

1. Pesar 10g de muestra (cascarilla de arroz)
2. Colocar la muestra en un matraz de ebullición de 250 ml
3. Agregar 100 ml de agua destilada y mezclar
4. Montar el equipo de reflujo y someterlo a este proceso durante 3 horas
5. Una vez finalizado el periodo, remover y tapar la solución, dejándola enfriar hasta 25°C
6. Medir el pH con el pH metro durante 3 minutos

Anexo 4.. Determinación de lignina (TAPPI T 222 om-88)

Los hidratos de carbono en la cascarilla de arroz se hidrolizan y solubilizan con ácido sulfúrico; La lignina insoluble en acido es separada por filtración, secada y pesada.

A. Materiales

1. Aparato de filtración: Un matraz filtrante (2000 ml), un crisol filtrante de 30 ml, un adaptador y un tubo de sifón.
2. Erlenmeyer 1000 ml
3. Horno de secado
4. Plato caliente, eléctrico
5. Molino Wiley
6. Bureta
7. Beakers 100 ml
8. Varillas agitadoras de vidrio

B. Reactivos

1. Ácido sulfúrico 72%
2. Enfriar la solución acida a una temperatura de 10 a 15 °C antes de usar
3. Mezcla de etanol-benceno. Mezclar un volumen de aproximadamente 95% etanol y dos volúmenes de benceno.

Espécimen de prueba

El espécimen de prueba será 1g de cascarilla de arroz libre de extractivos, los cuales fueron colocados en beakers de 100 ml.

C. Procedimiento

1. Agregar a los beakers que contienen los especímenes de prueba (1g) 15 ml de ácido sulfúrico al 72%. El ácido será agregado en incrementos pequeños, manteniendo agitación con una varilla de vidrio.
2. Una vez que el espécimen se haya dispersado el beaker se cubrirá con un vidrio reloj y se mantendrá en un baño maría a una temperatura de 20 ± 1 °C por 2 h. El material se agitará frecuentemente para asegurar una solución completa.
3. Transferir a un matraz con 360 ml de agua destilada con el fin de diluirlo hasta alcanzar una concentración de ácido del 3%.
4. Hervir a reflujo por 4 horas para asegurar un volumen constante de agua.
5. Permitir que la lignina se asiente, manteniendo el matraz en una posición inclinada.

Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrolisis Acida Diluida para la Obtención de Etanol a partir de Cascarilla de Arroz

6. Sin agitar el precipitado, decantar la solución o filtrar por un crisol.
7. Lavar la lignina libre de ácido con agua caliente.
8. Secar el crisol con la lignina en un horno eléctrico a una temperatura de 105 ± 3 °C hasta alcanzar un peso constante.

D. Cálculos

$$\% \text{ Lignina} = \frac{\text{Peso de Lignina}}{\text{Peso del especimen}} * 100$$

Ecuación 11.3. Porcentaje de Lignina.

Anexo 5. Determinación de solubles, celulosa, hemicelulosa, lignina y ceniza.

La determinación de solubles en agua, celulosa, hemicelulosa, lignina y ceniza fue llevada a cabo según el método de Chesson – Datta (Datta, 1981). Cabe recalcar que este método fue utilizado para caracterizar la cascarilla de arroz sin pretratamiento.

A. Materiales:

1. Malla de calentamiento
2. Baño Térmico
3. Tubo Condensador
4. Erlenmeyer 1 L
5. Sistema de filtrado:
6. Kitasato 1L
7. Bomba de vacío
8. Horno de secado
9. Balanza analítica
10. Mufla
11. Capsula de porcelana

B. Reactivos:

1. Agua destilada
2. Ácido sulfúrico 72%
3. Ácido sulfúrico 1N

Espécimen de prueba:

Se tomo 1g de cascarilla de arroz libre de humedad. Se llevaron a cabo 3 pruebas en total.

C. Procedimiento:

1. Se mezcló la muestra de 1 g (a) con 150 ml de agua destilada en un balón de 250 ml. Posteriormente se montó un sistema de reflujo con un baño térmico. A continuación, se procedió a calentar la muestra en una malla hasta alcanzar ebullición por un tiempo de 1h.
2. La muestra fue filtrada haciendo uso de un Kitasato y una bomba de vacío. La parte residual se lavó con 300 ml de agua destilada caliente.
3. La parte solida fue secada en un horno hasta peso constante. Este se registró como peso (b)
4. El residuo se mezcló con 150 ml de 1N H₂SO₄ y una vez más, fue llevado a ebullición en el sistema de reflujo.
5. La mezcla fue filtrada y lavada con 300 ml de agua destilada caliente, posteriormente se procedió a secar la parte solida hasta peso constante. Este fue anotado como peso (c).

6. El residuo seco fue mojado con 10 ml de H₂SO₄ 72% a temperatura ambiente por 4 horas. Una vez terminado el lapso, se agregó 150 ml de 1N H₂SO₄ y se sometió a reflujo por 1 hora.
7. La parte solida se lavó con 400 ml de agua destilada caliente, se filtró y se secó en el horno hasta peso constante. Este fue registrado como peso (d)
8. Finalmente, el sólido se introdujo en una mufla hasta convertirlo en ceniza. El peso fue registrado como peso (e).

Cálculos:

$$\% \text{ Solubles en agua} = \left(\frac{a - b}{a} \right) * 100$$

Ecuación 11.4. Solubles en agua según Chesson-Datta

$$\% \text{ Hemicelulosa} = \left(\frac{b - c}{a} \right) * 100$$

Ecuación 11.5. Porcentaje de Hemicelulosa según método Chesson - Datta

$$\% \text{ Celulosa} = \left(\frac{c - d}{a} \right) * 100$$

Ecuación 11.6. Porcentaje de Celulosa según método Chesson-Datta

$$\% \text{ lignina} = \left(\frac{e - d}{a} \right) * 100$$

Ecuación 11.7. Porcentaje de Lignina según Chesson-Datta

$$\% \text{ Cenizas} = \left(\frac{e}{a} \right) * 100$$

Ecuación 11.8. Porcentaje de Cenizas según Chesson-Datta

Anexo 6. Diseño experimental

El Diseño experimental utilizado fue el método Taguchi, que presenta la ventaja de ser robusto, rápido y económico en las pruebas experimentales

- A. Variables Independientes o factores y sus niveles son
- Concentración de Hidróxido de sodio: 2%, 3%, 4% (m/v)
 - Tiempo de contacto pretratamiento: 30, 45, 60 min
 - Temperatura del pretratamiento: 60, 80 y 100 °C

En total son 3 variables con 3 niveles cada una.

- B. Variables Dependiente (respuesta)

- Rendimiento de hidrólisis (concentración de azúcares)
- Remoción de lignina

- C. Para el tratamiento ácido, las condiciones son constantes y corresponden a:

- Temperatura de tratamiento 120°C
- Tiempo de contacto 30 minutos.
- Concentración de H₂SO₄ 4% (v/v)

Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrolisis Acida Diluida para la Obtención de Etanol a partir de Cascarilla de Arroz

Diseño de Taguchi

El arreglo de Taguchi consta de 9 experimentos con 3 factores (Concentración NaOH, Tiempo Pretratamiento y Temperatura de pretratamiento). Además, cada factor cuenta con 3 niveles

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se muestra el diseño T aguchi L9

Tabla 11.1 Diseño Taguchi, fuente propia.

Muestra	Temperatura	Tiempo (min)	Concentración
1	80	30	2
2	80	45	3
3	80	60	4
4	100	30	3
5	100	45	4
6	100	60	2
7	120	30	4
8	120	45	2
9	120	60	3

Anexo 7.. Cuantificación de azúcares reductores totales, método DNS

A. Reactivos

1. Tartrato de sodio y potasio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) /sal de Rochelle 99.8%
2. Hidróxido de sodio (NaOH) 99% Merck
3. Acido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) 99,9% Merck
4. Agua destilada

B. Materiales y equipos

1. Matraz volumétrico de 100 ml Pyrex con tapón clase A/ ± 0.10 ml
2. Micro pipetas de 100 μ , 200 μ l, 500 μ l, 1000 μ l, 5000 μ l
3. Frasco de vidrio ámbar
4. Papel Kraft
5. 2 vasos precipitado de 100 ml y 250 ml Pyrex clase A/ ± 0.05 ml
6. 15 vasos de precipitado de 50 ml Pyrex A/ ± 0.05 ml
7. 1 baño María
8. Hielo
9. Gradilla plástica forrada con plástico negro
10. Espátula
11. 40 tubos de ensayo de 16x150 mm
12. Plancha de calentamiento
13. Plancha de agitación
14. Espectrofotómetro
15. Centrifuga
16. Varilla de agitación
17. Cronometro

C. Procedimiento

1. Preparación de la solución DNS

- a. Se disolverán 1.6 g de NaOH en 20 ml de agua destilada, en un vaso para precipitación de 250 ml, aplicándole agitación magnética. Posteriormente se adiciono 30 ml de agua destilada y se procedió a disolver en intervalos 43.8 g de tartrato de sodio y potasio.
- b. A continuación, se disolvió 1g de DNS en 20 mL de agua destilada en un beaker de 100 ml, previamente forrado con papel kraft. Se tapo y se mantuvo en agitación y calor moderado (60 °C) por 2 horas.
- c. La solución del tartrato de sodio y potasio se mezcló con la solución DNS y se aforo a 100 ml con agua destilada. La solución presento color naranja translucido.

- d. La solución se trasladó a un frasco de vidrio ámbar previamente forrado con papel kraft y se mantuvo en un lugar fresco sin luz presente. El estimado de la vigencia de este reactivo es de aproximadamente dos meses.
2. Curva de calibración
- Se preparo una solución Stock de glucosa a una concentración de 1g/L en un balón aforado de 100 mL.
 - Una serie de diluciones de concentraciones 0.02 g/L, 0.04 g/L, 0.06 g/L, 0.08 g/L, 0.10 g/L estos se prepararon en tubos de ensayo y se colocaron en una gradilla forrada con plástico negro, evitando de esta forma el contacto con la luz. En cada tubo se depositó solución madre de Glucosa, más agua y el reactivo generador de color DNS en relación 1:1 hasta completar 1 ml, a continuación, se agito en una centrifuga a 900 rpm por 2 minutos.

Los volúmenes y concentraciones para la curva de calibración se presentan en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**

Tabla 11.2 Volúmenes y concentraciones para curva de calibración

Vol (mL)	[g/L]Glucosa					
	Blanco	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10
Glucosa	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Agua	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0
DNS	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
H ₂ O	4	4	4	4	4	4
Aforo final	5	5	5	5	5	5

- Se colocaron los tubos con las soluciones en un baño maría por 5 minutos, posteriormente serán colocados en un baño de hielo por la misma cantidad de tiempo.
- A continuación, se adiciono 4 mL de agua destilada, y se centrifugaron a 900 rpm por 2 minutos, dejándolos reposar por 10 minutos
- La absorbancia fue leída a 495 nm.

4. La absorbancia se graficó en función de la concentración (g/L). Con ello se ajusta la curva y se determina la ecuación correspondiente usando regresión lineal. La curva estándar permitirá conocer las concentraciones de glucosa en las muestras problemas.

Anexo 8.. Descarte de datos - Criterio de Chauvenet

Ocasionalmente, cuando se obtiene una muestra de N mediciones de una variable, puede haber uno o más que parecen diferir notablemente de los demás. Si alguna influencia extraña o puede identificarse un error en la técnica experimental, estos "datos incorrectos" o "puntos salvajes" pueden simplemente ser descartados. Más difícil es la situación común en la que no hay explicación fácil disponible. En tales situaciones, el experimentador puede verse tentado a descartar los valores sobre la base que algo seguramente debió haber salido mal.

Sin embargo, esta tentación debe ser resistida, ya que tales datos pueden ser significativos; ya sea en términos de los fenómenos estudiados o en la detección de fallas en la técnica experimental. Por otro lado, no se quiere que un valor erróneo sesgue los resultados. En este caso, se debe utilizar un criterio estadístico para identificar los puntos que pueden ser considerado para el rechazo. No hay otro método justificable para "tirar" los datos.

Un método que ha ganado amplia aceptación es el criterio de Chauvenet; esta técnica define una dispersión aceptable, en un sentido estadístico, alrededor del valor medio de una muestra dada de N medidas. El criterio establece que todos los puntos de datos deben conservarse dentro de una banda alrededor de la media que corresponde a una probabilidad de $1 - 1 / (2N)$. En otras palabras, puntos de datos puede considerarse para el rechazo solo si la probabilidad de obtener su desviación de la media es menor que $1 / (2N)$. Esto se ilustra a continuación.

En la figura **Figura 11.1** se presenta el criterio de Chauvenet.

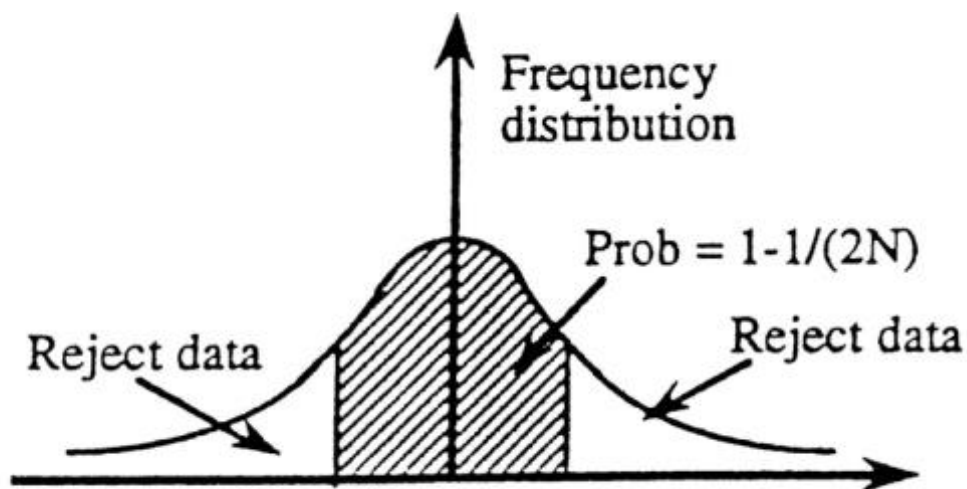


Figura 11.1. Criterio de Chauvenet - Banda alrededor de la media, Fuente (Bayless, 2005)

Para la probabilidad dada, se puede determinar la desviación máxima no dimensional τ_{max} de la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** donde

$$\tau_{max} = \left(\frac{|X_i - \bar{X}|_{max}}{\sigma} \right) = \frac{d_{max}}{\sigma}$$

Ecuación 11.9. Desviación máxima no dimensional

y σ es el índice de precisión de la muestra. Por lo tanto, todas las mediciones que se desvían de la media más que la razón τ_{max} puede ser rechazado. Un nuevo valor medio y un nuevo índice de precisión pueden luego ser calculados a partir de las mediciones restantes. Ninguna otra aplicación del criterio a la muestra está permitida; El criterio de Chauvenet puede aplicarse solo una vez a una muestra dada de lecturas (Bayless, 2005).

La **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** muestra las desviaciones máximas aceptables para varios tamaños de muestra.

Tabla 11.3 Criterio de Chauvenet, relación de desviación máxima aceptable

Numero de Lecturas (N)	Relación de desviación máxima aceptable al índice de precisión de la muestra ($\frac{d_{max}}{\sigma}$)
3	1.38
4	1.54
5	1.65
6	1.73
7	1.80
8	1.87
9	1.91
10	1.96
15	2.13
20	2.24
25	2.33
50	2.57
100	2.81
300	3.14
500	3.29
1,000	3.48

Anexo 9. Determinación de humedad

La humedad fue calculada según el método descrito en el **Anexo 1**. Los resultados fueron los siguientes:

Tabla 11.4 Resultado determinación de humedad

Determinación Humedad	
Muestra	Humedad, %
Muestra 1	8.31
Muestra 2	8.85
Muestra 3	8.69
Promedio	8.62
Desviación Estándar	0.23

Anexo 10. Caracterización de cascarilla de arroz, método Chesson – Datta.

La Caracterización de la cascarilla sin pretratamiento se llevó acabo según el procedimiento descrito en el **Anexo 10**. La **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..** refleja los resultados, las diferentes iteraciones y su desviación estándar.

Tabla 11.5 Valores para el método Chesson-Datta

Método de Chesson - Datta					
	a	b	c	d	e
Muestra 1	1	0.9176	0.7189	0.3699	0.0992
Muestra 2	1	0.9154	0.7258	0.3811	0.1078
Muestra 3	1	0.9278	0.7473	0.3452	0.1049

Tabla 11.6 Composición de la cascarilla de arroz sin pretratamiento

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Promedio	Desviación Estándar
Solubles en agua, %	8.24	8.46	7.22	7.97	0.54
Hemicelulosa, %	19.87	18.96	18.05	18.96	0.74
Celulosa, %	34.90	34.47	40.21	36.53	2.61
Lignina, %	27.07	27.33	24.03	26.14	1.50
Cenizas, %	9.92	10.78	10.49	10.40	0.36

Anexo 11. Balance de materia para la cascarilla de arroz post pretratamiento

La cuantificación de las fracciones de Solubles en agua, Lignina y ceniza se cuantificaron según el procedimiento descrito en el **Anexo 10**, **Anexo 4** y **Anexo 2** respectivamente. Mientras que las fracciones de celulosa y hemicelulosa se presentan bajo una sumatoria con nombre "Fracción Polisacáridos". Los resultados encontrados son los siguientes:

Composición de cascarilla de arroz post pretratamiento:

Tabla 11.7 Fracciones de cascarilla de arroz post pretratamiento

Muestra	Masa Remanente Cascarilla, g	Solubles en agua	Fracción Ceniza	Fracción Lignina	Fracción Polisacáridos
Pre_1a	6.9193	0	0.0171	0.235	0.7479
Pre_1b	7.0514	0	0.0205	0.2593	0.7202
Pre_1c	7.1089	0	0.0196	0.2151	0.7653
Pre_2a	6.6748	0	0.0142	0.2106	0.7752
Pre_2b	6.7625	0	0.0183	0.2484	0.7333
Pre_2c	6.8166	0	0.0186	0.2277	0.7537
Pre_3a	6.4711	0	0.0183	0.2645	0.7172
Pre_3b	6.4976	0	0.0167	0.2382	0.7451
Pre_3c	6.7061	0	0.0184	0.2175	0.7641
Pre_4a	6.4047	0	0.0214	0.2112	0.7674
Pre_4b	6.2891	0	0.0162	0.2073	0.7765
Pre_4c	6.8986	0	0.0188	0.2101	0.7711
Pre_5a	6.2735	0	0.0159	0.2067	0.7774
Pre_5b	6.5529	0	0.0176	0.209	0.7734
Pre_5c	6.4601	0	0.0171	0.2183	0.7646
Pre_6a	6.4511	0	0.0151	0.2154	0.7695
Pre_6b	6.5801	0	0.0184	0.2495	0.7321
Pre_6c	6.9536	0	0.0174	0.2292	0.7534
Pre_7a	5.9928	0	0.0163	0.2046	0.7791
Pre_7b	5.8485	0	0.0206	0.2079	0.7715
Pre_7c	5.79003	0	0.0171	0.1978	0.7851
Pre_8a	6.3793	0	0.0138	0.2045	0.7817
Pre_8b	6.5328	0	0.0146	0.2069	0.7785
Pre_8c	6.3801	0	0.0132	0.1833	0.8035
Pre_9a	5.5711	0	0.0174	0.1953	0.7873
Pre_9b	5.6009	0	0.0156	0.1867	0.7977
Pre_9c	5.6153	0	0.0196	0.1797	0.8007

Tabla 11.8 Fracciones medias de cascarilla de arroz post pretratamiento

Muestra	Solubles en agua, %	Fracción Ceniza, %	Fracción Lignina, %	Fracción Polisacáridos, %
Pre_1	0.00%	1.91	23.65	74.45
Pre_2	0.00%	1.70	22.89	75.41
Pre_3	0.00%	1.78	24.01	74.21
Pre_4	0.00%	1.88	20.95	77.17
Pre_5	0.00%	1.69	21.13	77.18
Pre_6	0.00%	1.70	23.14	78.20
Pre_7	0.00%	1.80	20.34	77.86
Pre_8	0.00%	1.39	19.82	78.79
Pre_9	0.00%	1.75	18.72	79.52

Tabla 11.9 Masa remanente media de cascarilla de arroz post pretratamiento

Muestra	Masa cascarilla, g	Desviación estándar
Pre_1	7.0265	0.0972
Pre_2	6.7513	0.0716
Pre_3	6.5583	0.1287
Pre_4	6.5308	0.3237
Pre_5	6.4288	0.1423
Pre_6	6.6616	0.2610
Pre_7	5.8771	0.1044
Pre_8	6.4307	0.0884
Pre_9	5.5958	0.0225

La masa de cascarilla de arroz según composición presentes en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se calcularon en relación de las fracciones y su

correspondiente masa remanente (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia., Anexo 11**).

Tabla 11.10 Masa de cascarilla de arroz según composición

Muestra	Masa Polisacáridos (g)	Masa Lignina (g)	Masa Ceniza (g)
Pre_1a	5.1749	1.6260	0.1183
Pre_1b	5.0784	1.8284	0.1446
Pre_1c	5.4404	1.5291	0.1393
Pre_2a	5.1743	1.4057	0.0948
Pre_2b	4.9589	1.6798	0.1238
Pre_2c	5.1377	1.5521	0.1268
Pre_3a	4.6411	1.7116	0.1184
Pre_3b	4.8414	1.5477	0.1085
Pre_3c	5.1241	1.4586	0.1234
Pre_4a	4.9150	1.3527	0.1371
Pre_4b	4.8835	1.3037	0.1019
Pre_4c	5.3195	1.4494	0.1297
Pre_5a	4.8770	1.2967	0.0997
Pre_5b	5.0680	1.3696	0.1153
Pre_5c	4.9394	1.4102	0.1105
Pre_6a	4.9641	1.3896	0.0974
Pre_6b	4.8173	1.6417	0.1211
Pre_6c	5.2388	1.5938	0.1210
Pre_7a	4.6690	1.2261	0.0977
Pre_7b	4.5121	1.2159	0.1205
Pre_7c	4.5458	1.1453	0.0990
Pre_8a	4.9867	1.3046	0.0880
Pre_8b	5.0858	1.3516	0.0954
Pre_8c	5.1264	1.1695	0.0842
Pre_9a	4.3861	1.0880	0.0969
Pre_9b	4.4678	1.0457	0.0874
Pre_9c	4.4962	1.0091	0.1101

Tabla 11.11 Cantidad de masa media de cascarilla de arroz según composición

Muestra	Masa Polisacáridos, g	Masa Lignina, g	Masa Ceniza, g
Pre_1	5.2313	1.6612	0.1341
Pre_2	5.0903	1.5459	0.1151
Pre_3	4.8689	1.5726	0.1168
Pre_4	5.0393	1.3686	0.1229
Pre_5	4.9615	1.3588	0.1085
Pre_6	5.0068	1.5417	0.1132
Pre_7	4.5756	1.1958	0.1057
Pre_8	5.0663	1.2752	0.0892
Pre_9	4.4500	1.0476	0.0981

Las pérdidas para cada uno de los experimentos fueron calculadas en relación a la masa remanente post pretratamiento (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia...**, **Anexo 11**. Balance de materia para la cascarilla de arroz post pretratamiento) y la masa inicial de la cascarilla de arroz sin pretratamiento (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia...**, **Anexo 10**. Caracterización de cascarilla de arroz, método Chesson – Datta.), es relevante mencionar que la cantidad inicial de cascarilla de arroz sin pretratamiento era de 10 g.

Tabla 11.12 Perdidas de cascarilla según composición pretratamiento alcalino

Muestra	Perdidas Solubles en agua, g	Perdidas de Polisacáridos, g	Perdidas Lignina, g	perdidas cenizas, g	Pérdidas totales, g
Pre_1a	0.797	0.3741	0.9880	0.9217	3.0807
Pre_1b	0.797	0.4706	0.7856	0.8954	2.9486
Pre_1c	0.797	0.1086	1.0849	0.9007	2.8911
Pre_2a	0.797	0.3747	1.2083	0.9452	3.3252
Pre_2b	0.797	0.5901	0.9342	0.9162	3.2375
Pre_2c	0.797	0.4113	1.0619	0.9132	3.1834
Pre_3a	0.797	0.9079	0.9024	0.9216	3.5289
Pre_3b	0.797	0.7076	1.0663	0.9315	3.5024
Pre_3c	0.797	0.4249	1.1554	0.9166	3.2939
Pre_4a	0.797	0.6340	1.2613	0.9029	3.5953
Pre_4b	0.797	0.6655	1.3103	0.9381	3.7109
Pre_4c	0.797	0.2295	1.1646	0.9103	3.1014
Pre_5a	0.797	0.6720	1.3173	0.9403	3.7265
Pre_5b	0.797	0.4810	1.2444	0.9247	3.4471
Pre_5c	0.797	0.6096	1.2038	0.9295	3.5399

Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrolisis Acida Diluida para la Obtención de Etanol a partir de Cascarilla de Arroz

Pre_6a	0.797	0.5849	1.2244	0.9426	3.5489
Pre_6b	0.797	0.7317	0.9723	0.9189	3.4199
Pre_6c	0.797	0.3102	1.0202	0.9190	3.0464
Pre_7a	0.797	0.8800	1.3879	0.9423	4.0072
Pre_7b	0.797	1.0369	1.3981	0.9195	4.1515
Pre_7c	0.797	1.0032	1.4687	0.9410	4.20997
Pre_8a	0.797	0.5623	1.3094	0.9520	3.6207
Pre_8b	0.797	0.4632	1.2624	0.9446	3.4672
Pre_8c	0.797	0.4226	1.4445	0.9558	3.6199
Pre_9a	0.797	1.1629	1.5260	0.9431	4.4289
Pre_9b	0.797	1.0812	1.5683	0.9526	4.3991
Pre_9c	0.797	1.0528	1.6049	0.9299	4.3847

Tabla 11.13 Masa media perdida pretratamiento alcalino

Muestra	Masa Perdida Lignina, g	Masa Perdida Carbohidratos, g	Masa Perdida Ceniza, g	Masa Perdida Total, g
Pre_1	0.9528	0.3177	0.9059	2.9735
Pre_2	1.0681	0.4587	0.9249	3.2487
Pre_3	1.0414	0.6801	0.9232	3.4417
Pre_4	1.2454	0.5097	0.9171	3.4692
Pre_5	1.2552	0.5875	0.9315	3.5712
Pre_6	1.0723	0.5422	0.9268	3.3384
Pre_7	1.4182	0.9734	0.9343	4.1229
Pre_8	1.3388	0.4827	0.9508	3.5693
Pre_9	1.5664	1.0990	0.9419	4.4042

Los porcentajes de lignina removidos presentes en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se calcularon de acuerdo a las pérdidas de lignina registradas (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, Anexo 11. Balance de materia para la cascarilla de arroz post pretratamiento) y la cantidad de lignina inicial (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, Anexo 10)

Tabla 11.14 Remoción de Lignina

Muestra	Remoción de Lignina (%)
Pre_1a	37.80
Pre_1b	30.05
Pre_1c	41.50
Pre_2a	46.22

Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrolisis Acida Diluida para la Obtención de Etanol a partir
de Cascarilla de Arroz

Pre_2b	35.74
Pre_2c	40.62
Pre_3a	34.52
Pre_3b	40.79
Pre_3c	44.20
Pre_4a	48.25
Pre_4b	50.13
Pre_4c	44.55
Pre_5a	50.39
Pre_5b	47.61
Pre_5c	46.05
Pre_6a	46.84
Pre_6b	37.19
Pre_6c	39.03
Pre_7a	53.09
Pre_7b	53.48
Pre_7c	56.19
Pre_8a	50.09
Pre_8b	48.29
Pre_8c	55.26
Pre_9a	58.38
Pre_9b	60.00
Pre_9c	61.40

Anexo 12.. Determinación de la longitud de onda

La longitud de onda se determinó llevando a cabo lecturas de absorbancia a una muestra de concentración 0.1 g/L de glucosa, la cual se reaccionó con el reactivo DNS. El procedimiento se describe en el **Anexo 7**. Se selecciono la longitud de onda que otorgo la mayor magnitud de absorbancia. Los resultados son los siguientes:

Tabla 11.15 Determinación de longitud de onda

Longitud de onda (nm)	Absorbancia
485	0.854
486	0.905
487	0.947
488	1.06
489	1.118
490	1.132
491	1.154
492	1.186
493	1.218
494	1.238
495	1.244
496	1.24
497	1.237
498	1.239
499	1.232
500	1.221
501	1.203
502	1.195
503	1.165
504	1.147
505	1.121
506	1.099
507	1.085
508	1.071
509	1.055
510	1.028
511	0.996
512	0.973
513	0.958
514	0.935
515	0.92
516	0.89

Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrolisis Acida Diluida para la Obtención de Etanol a partir de Cascarilla de Arroz

517	0.86
518	0.841
519	0.826
520	0.804
521	0.795
522	0.767
523	0.741
524	0.728
525	0.712
526	0.688
527	0.66
528	0.637
529	0.622
530	0.609
531	0.589
532	0.566
533	0.545
534	0.533
535	0.519
536	0.506
537	0.488
538	0.465
539	0.447
540	0.436
541	0.424
542	0.415
543	0.399
544	0.382
545	0.367
546	0.357
547	0.349
548	0.335
549	0.324
550	0.31
551	0.294
552	0.293
553	0.283
554	0.272
555	0.26
556	0.249
557	0.242

Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrolisis Acida Diluida para la Obtención de Etanol a partir
de Cascarilla de Arroz

558	0.235
559	0.226
560	0.215
561	0.208
562	0.201
563	0.2
564	0.193
565	0.185
566	0.176
567	0.17
568	0.169
569	0.161
570	0.154
571	0.153
572	0.146
573	0.138
574	0.135
575	0.13
576	0.125
577	0.119
578	0.112
579	0.108
580	0.106
581	0.101
582	0.099
583	0.089
584	0.087
585	0.084
586	0.082
587	0.077
588	0.074
589	0.072
590	0.07
591	0.068
592	0.065
593	0.062
594	0.061
595	0.059
596	0.055
597	0.054
598	0.052

Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrolisis Acida Diluida para la Obtención de Etanol a partir de Cascarilla de Arroz

599	0.051
600	0.049

La **Figura 11.2** nos permite observar el comportamiento de la absorbancia con respecto a la longitud de onda.

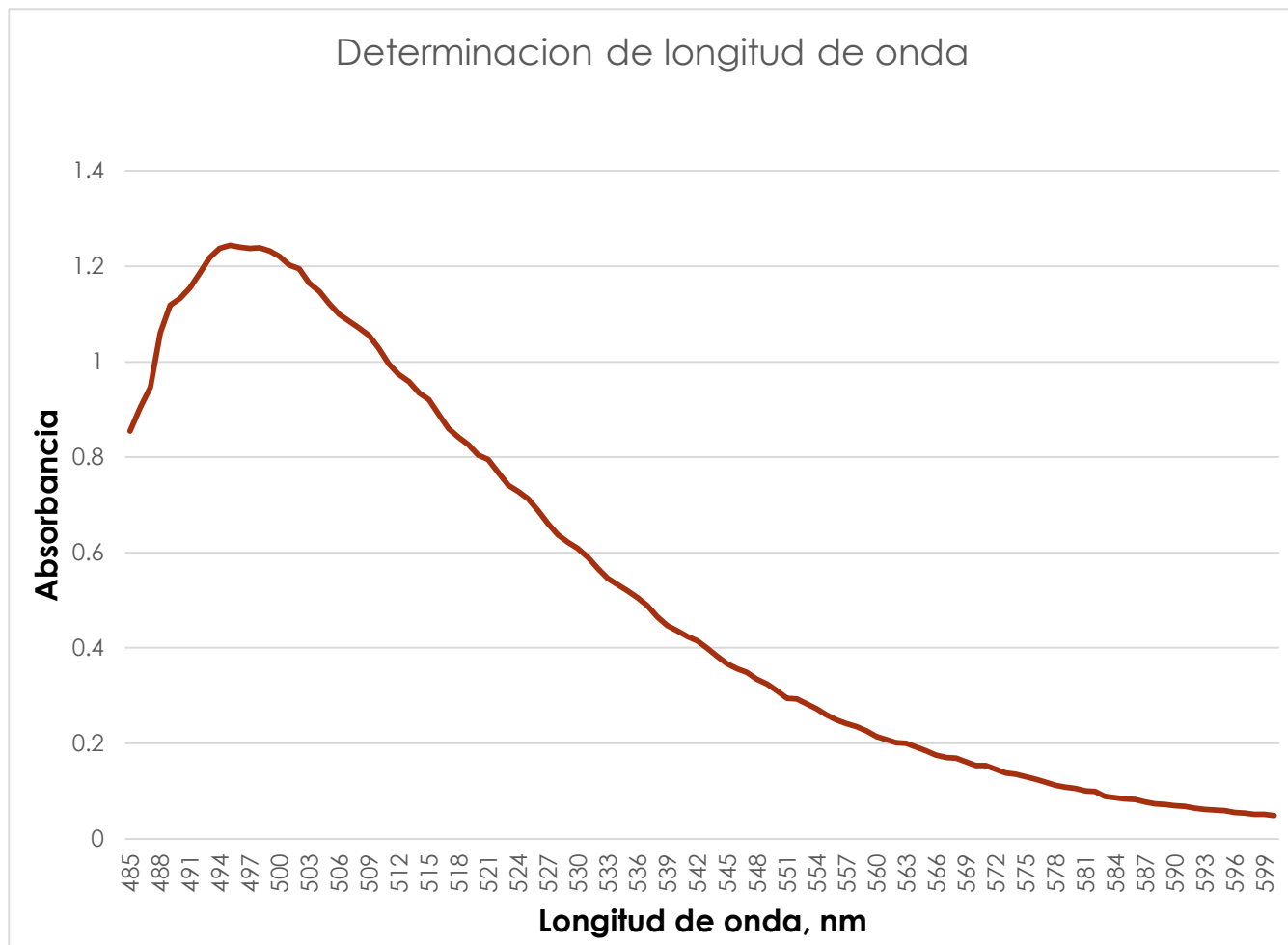


Figura 11.2. Determinación de longitud de onda

Anexo 13. Curva de calibración para la determinación de azúcares reductores.

La curva de calibración presente en la **Figura 11.3.** fue construida de acuerdo al procedimiento descrito en el **Anexo 7.** Las lecturas de absorbancias se hicieron en un espectrofotómetro a 495 nm. La ecuación de la recta ajustada es “ $y = 12.575x + 0.2765$ ” con un índice de calidad $R^2 = 0.9802$ esta relaciona las absorbancias medidas en el hidrolizado con la cantidad de azúcares reductores correspondientes.

Ecuación 11.10. Ecuación de la recta

$$y = 12.575x + 0.2765$$

Tabla 11.16 Concentración Vs Absorbancia para curva de calibración

Concentración de Glucosa (g/L)	Absorbancia
0.02	0.459
0.04	0.833
0.06	1.089
0.08	1.282
0.1	1.492

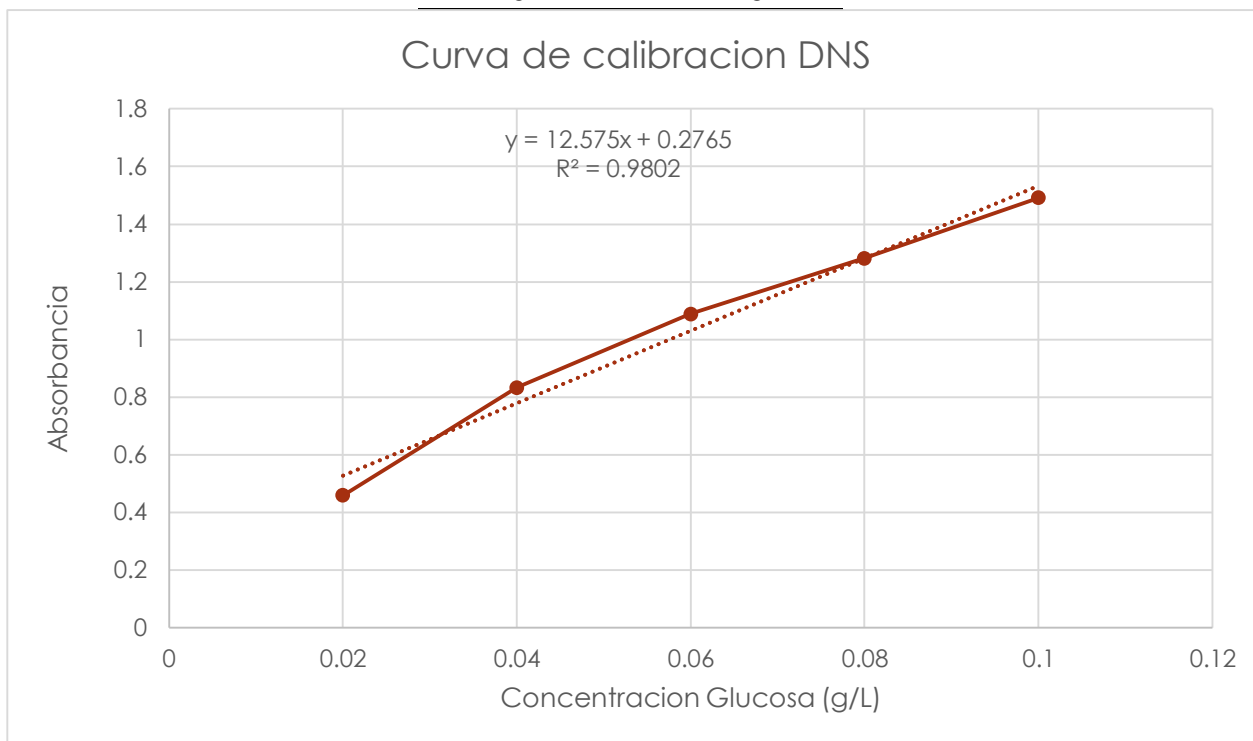


Figura 11.3. Curva de calibración para el método DNS

Anexo 14.. Lecturas de absorbancia para hidrolizado en pretratamiento alcalino

Las lecturas de absorbancia presente en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..** fueron llevadas a cabo en un espectrofotómetro Spectronic Instruments 4001/4 a una longitud de onda de 495 nm. El procedimiento que se llevó acabo se encuentra descrito en el **Anexo 7**.

Tabla 11.17 Absorbancias registradas para el pretratamiento alcalino

Muestra	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3
Pre_1a	0.411	0.314	0.364
Pre_1b	0.371	0.402	0.372
Pre_1c	0.366	0.337	0.385
Pre_2a	0.331	0.377	0.384
Pre_2b	0.427	0.419	0.377
Pre_2c	0.336	0.396	0.368
Pre_3a	0.451	0.478	0.466
Pre_3b	0.411	0.422	0.456
Pre_3c	0.346	0.391	0.361
Pre_4a	0.409	0.424	0.395
Pre_4b	0.416	0.458	0.406
Pre_4c	0.322	0.305	0.36
Pre_5a	0.399	0.421	0.432
Pre_5b	0.361	0.375	0.398
Pre_5c	0.411	0.416	0.426
Pre_6a	0.393	0.385	0.416
Pre_6b	0.465	0.423	0.422
Pre_6c	0.349	0.331	0.366
Pre_7a	0.465	0.474	0.423
Pre_7b	0.468	0.476	0.501
Pre_7c	0.487	0.446	0.477
Pre_8a	0.412	0.402	0.378
Pre_8b	0.379	0.389	0.375
Pre_8c	0.352	0.383	0.369
Pre_9a	0.522	0.513	0.496
Pre_9b	0.482	0.529	0.516
Pre_9c	0.526	0.472	0.487

Anexo 15. Criterio Chauvenet – Absorbancia etapa de pretratamiento alcalino

Ciertas lecturas de absorbancia presentaron valores anómalos con respecto al resto, por lo cual se decidió aplicar el criterio de Chauvenet descrito en el **Anexo 8**

Tabla 11.18 Media y desviación estándar pretratamiento alcalino

Muestra	Media \bar{X}	Desviación Estándar (σ)
Pre_1	0.3691	0.0300
Pre_2	0.3794	0.0326
Pre_3	0.4202	0.0469
Pre_4	0.3883	0.0498
Pre_5	0.4043	0.0237
Pre_6	0.3944	0.0418
Pre_7	0.4686	0.0228
Pre_8	0.3821	0.0177
Pre_9	0.5048	0.0210

Tabla 11.19 Criterio de Chauvenet lecturas de absorbancia en el pretratamiento

$ X_i - \bar{X} $ Lectura 1	$ X_i - \bar{X} $ Lectura 2	$ X_i - \bar{X} $ Lectura 3	$ X_i - \bar{X} /\sigma$ Lectura1	$ X_i - \bar{X} /\sigma$ Lectura2	$ X_i - \bar{X} /\sigma$ Lectura3
0.0419	0.0551	0.0051	1.3958	1.8364	0.1703
0.0019	0.0329	0.0029	0.0629	1.0959	0.0963
0.0031	0.0321	0.0159	1.9170	1.0700	0.5294
0.0484	0.0024	0.0046	1.4864	0.0750	0.1398
0.0476	0.0396	0.0024	1.4591	1.2136	0.0750
0.0434	0.0166	0.0114	1.3330	0.5080	0.3511
0.0308	0.0578	0.0458	0.6558	1.2311	0.9754
0.0092	0.0018	0.0358	0.1965	0.0379	0.7624
0.0742	0.0292	0.0592	1.5815	0.6227	1.2619
0.0207	0.0357	0.0067	0.4152	0.7165	0.1339
0.0277	0.0697	0.0177	0.5558	1.3996	0.3549
0.0663	0.0833	0.0283	1.3326	1.6741	0.5692
0.0053	0.0167	0.0277	0.2249	0.7027	1.1665
0.0433	0.0293	0.0063	1.8271	1.2368	0.2670
0.0067	0.0117	0.0217	0.2811	0.4919	0.9135
0.0014	0.0094	0.0216	0.0345	0.2257	0.5151
0.0706	0.0286	0.0276	1.6861	0.6824	0.6585
0.0454	0.0634	0.0284	1.0860	1.5162	0.6798

Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrolisis Acida Diluida para la Obtención de Etanol a partir de Cascarilla de Arroz

0.0036	0.0054	0.0456	0.1562	0.2392	2.0011
0.0006	0.0074	0.0324	0.0244	0.3270	1.4251
0.0184	0.0226	0.0084	0.8102	0.9908	0.3709
0.0299	0.0199	0.0041	1.6932	1.1267	0.2329
0.0031	0.0069	0.0071	0.1762	0.3902	0.4028
0.0301	0.0009	0.0131	1.7058	0.0504	0.7427
0.0172	0.0082	0.0088	0.8218	0.3923	0.4188
0.0228	0.0242	0.0112	1.0869	1.1558	0.5355
0.0212	0.0328	0.0178	1.0127	1.5641	0.8483

Anexo 16. Lecturas de absorbancia en la hidrolisis acida diluida para la cascarilla con pretratamiento

Las lecturas de absorbancia presente en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** fueron llevadas a cabo en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 495 nm. El procedimiento que se llevó a cabo se encuentra descrito en el **Anexo 7.**

Tabla 11.20 Absorbancias registradas para la hidrolisis acida diluida de cascarilla de arroz pretratada, 495 nm

Muestra	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3
H_1a	0.964	0.856	0.972
H_1b	0.88	0.85	0.894
H_1c	1.077	0.851	0.922
H_2a	0.971	1.014	1.128
H_2b	0.48	0.832	0.875
H_2c	0.622	0.681	0.86
H_3a	0.891	0.882	0.914
H_3b	0.673	0.717	0.729
H_3c	0.915	1.59	0.901
H_4a	1.065	1.124	1.084
H_4b	0.818	1.088	0.878
H_4c	0.771	0.833	0.861
H_5a	0.769	0.759	0.672
H_5b	0.692	0.875	0.741
H_5c	0.864	0.733	0.824
H_6a	1.036	0.412	0.997
H_6b	0.854	0.987	0.927
H_6c	0.847	0.936	0.968
H_7a	0.851	0.959	1.101
H_7b	0.729	0.762	0.696
H_7c	0.826	0.849	0.815
H_8a	0.972	0.696	0.904
H_8b	0.782	0.684	0.818
H_8c	0.865	0.936	0.972
H_9a	0.971	0.942	0.962
H_9b	0.774	0.567	0.917
H_9c	0.756	0.306	0.765

Anexo 17. Criterio Chauvenet–Absorbancia Hidrolisis cascarilla pretratada

Ciertas lecturas de absorbancia presentaron valores anómalos con respecto al resto, por lo cual se decidió aplicar el criterio de Chauvenet descrito en el **Anexo 8**

Tabla 11.21 Media y desviación estándar hidrolisis acida diluida

Muestra	\bar{X}	Desviación Estándar (σ)
H_1	0.9184	0.0753
H_2	0.8292	0.2042
H_3	0.9124	0.2715
H_4	0.9469	0.1399
H_5	0.7699	0.0714
H_6	0.8849	0.1881
H_7	0.8431	0.1237
H_8	0.8477	0.1102
H_9	0.7733	0.2194

Una vez identificados los datos atípicos, estos fueron excluidos al momento de analizar los resultados.

Tabla 11.22 Método Chesson-Datta para las absorbancias registradas en cascarilla de arroz pretratada

Muestra	$ X_i - \bar{X} $ Lectura 1	$ X_i - \bar{X} $ Lectura 2	$ X_i - \bar{X} $ Lectura 3	$ X_i - \bar{X} /\sigma$ Lectura1	$ X_i - \bar{X} /\sigma$ Lectura2	$ X_i - \bar{X} /\sigma$ Lectura3
H_1a	0.0456	0.0624	0.0536	0.6054	0.8298	0.7117
H_1b	0.0384	0.0684	0.0244	0.5109	0.9095	0.3248
H_1c	0.1586	0.0674	0.0036	1.9170	0.8962	0.0472
H_2a	0.1418	0.1848	0.2988	0.6945	0.9051	1.4635
H_2b	0.3492	0.0028	0.0458	1.7106	0.0136	0.2242
H_2c	0.2072	0.1482	0.0308	1.0150	0.7260	0.1508
H_3a	0.0214	0.0304	0.0016	0.0790	0.1121	0.0057
H_3b	0.2394	0.1954	0.1834	0.8819	0.7198	0.6756
H_3c	0.0026	0.6776	0.0114	0.0094	2.4954	0.0421
H_4a	0.1181	0.1771	0.1371	0.8440	1.2656	0.9798
H_4b	0.1289	0.1411	0.0689	0.9210	1.0083	0.4923
H_4c	0.1759	0.1139	0.0859	1.2569	0.8138	0.6137
H_5a	0.0009	0.0109	0.0979	0.0124	0.1525	1.3708

Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrolisis Acida Diluida para la Obtención de Etanol a partir de Cascarilla de Arroz

H_5b	0.0779	0.1051	0.0289	1.0907	1.4719	0.4045
H_5c	0.0941	0.0369	0.0541	1.3179	0.5166	0.7577
H_6a	0.1511	0.4729	0.1121	0.8032	2.5137	0.5959
H_6b	0.0309	0.1021	0.0421	0.1642	0.5428	0.2238
H_6c	0.0379	0.0511	0.0831	0.2014	0.2717	0.4418
H_7a	0.0079	0.1159	0.2579	0.0638	0.9371	2.0853
H_7b	0.1141	0.0811	0.1471	0.9227	0.6559	1.1895
H_7c	0.0171	0.0059	0.0281	0.1384	0.0476	0.2273
H_8a	0.1243	0.1517	0.0563	1.1281	1.3761	0.5111
H_8b	0.0657	0.1637	0.0297	0.5958	1.4850	0.2692
H_8c	0.0173	0.0883	0.1243	0.1573	0.8015	1.1281
H_9a	0.1977	0.1687	0.1887	0.9009	0.7688	0.8599
H_9b	0.0007	0.2063	0.1437	0.0030	0.9404	0.6548
H_9c	0.0173	0.4673	0.0083	0.0790	2.1300	0.0380

Anexo 18. Lecturas absorbancia para hidrolizado, cascarilla sin pretratamiento

El hidrolizado proveniente de la hidrolisis acida diluida para la cascarilla sin pretratamiento fue sometido al procedimiento expuesto en el **Anexo 7**. Esto dio como resultado las siguientes lecturas de absorbancia

Tabla 11.23 Absorbancias para hidrolisis acida diluida de cascarilla de arroz sin pretratamiento

Muestra	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3
RH_1	0.874	0.936	0.695
RH_2	0.835	0.468	0.834
RH_3	0.783	0.756	0.786
RH_4	0.333	0.816	0.894
RH_5	0.291	0.633	0.902
RH_6	0.882	0.795	0.817

Anexo 19. Criterio de Chauvenet – Absorbancia cascarilla sin pretratamiento

Ciertas lecturas de absorbancia presentaron valores anómalos con respecto al resto, por lo cual se decidió aplicar el criterio de Chauvenet descrito en el **Anexo 8**.

Tabla 11.24 Media y desviación estándar cascarilla de arroz sin pretratamiento

Muestra	\bar{X}	Desviación Estándar (σ)
RH	0.74055556	0.18529413

Tabla 11.25 Criterio de Chauvenet para las absorbancias registradas en cascarilla de arroz sin pretratamiento

Muestra	$ X_i - \bar{X} $ Lectura 1	$ X_i - \bar{X} $ Lectura 2	$ X_i - \bar{X} $ Lectura 3	$ X_i - \bar{X} / \sigma$ Lectura1	$ X_i - \bar{X} / \sigma$ Lectura2	$ X_i - \bar{X} / \sigma$ Lectura3
RH_1	0.1334	0.1954	0.0456	0.7202	1.0548	0.2459
RH_2	0.0944	0.2726	0.0934	0.5097	1.4709	0.5043
RH_3	0.0424	0.0154	0.0454	0.2291	0.0834	0.2453
RH_4	0.4076	0.0754	0.1534	2.1995	0.4072	0.8281
RH_5	0.4496	0.1076	0.1614	2.4262	0.5805	0.8713
RH_6	0.1414	0.0544	0.0764	0.7634	0.2938	0.4126

Una vez identificados los datos atípicos, estos fueron excluidos al momento de analizar los resultados.

Anexo 20. Cuantificación de azúcares reductores obtenidos en el pretratamiento alcalino

A continuación, se presentan los valores de absorbancia registrados según el método DNS (**Anexo 7**) y los azúcares reductores correspondientes calculados en función de la curva de calibración presentada en el **Anexo 13**. Utilizando la **Ecuación 11.10** ajustada, donde X = absorbancia registrada y y = azúcares reductores.

Tabla 11.26 Absorbancia y azúcares reductores formados en el pretratamiento alcalino

Muestra	Absorbancia	Azúcares Reductores (g/L)
Pre_1a	0.363	0.3439
Pre_1b	0.382	0.4182
Pre_1c	0.363	0.1028
Pre_2a	0.364	0.3479
Pre_2b	0.408	0.5215
Pre_2c	0.367	0.3585
Pre_3a	0.465	0.7495
Pre_3b	0.430	0.6090
Pre_3c	0.366	0.3559
Pre_4a	0.409	0.5282
Pre_4b	0.427	0.5971
Pre_4c	0.329	0.2087
Pre_5a	0.417	0.5600
Pre_5b	0.378	0.4036
Pre_5c	0.418	0.5613
Pre_6a	0.398	0.4831
Pre_6b	0.437	0.6368
Pre_6c	0.349	0.2869
Pre_7a	0.454	0.7058
Pre_7b	0.482	0.8158
Pre_7c	0.470	0.7694
Pre_8a	0.397	0.4805
Pre_8b	0.381	0.4155
Pre_8c	0.368	0.3638
Pre_9a	0.510	0.9298
Pre_9b	0.509	0.9245
Pre_9c	0.495	0.8688

Influencia del Pretratamiento Alcalino en la Hidrolisis Acida Diluida para la Obtención de Etanol a partir de Cascarilla de Arroz

La **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** presenta los valores promedios de los azúcares reductores calculados.

Tabla 11.27 Valores promedios de azúcares reductores formados en el pretratamiento alcalino

Muestra	Azúcares Totales Pretratamiento, g
Pre_1	0.2883
Pre_2	0.4093
Pre_3	0.5715
Pre_4	0.4447
Pre_5	0.5083
Pre_6	0.4690
Pre_7	0.7636
Pre_8	0.4199
Pre_9	0.9077

Anexo 21. Cuantificación de azúcares reductores obtenidos en hidrolizado con ácido diluido a cascarilla pretratada.

La cantidad de azúcares reductores formados en cada iteración se determinó de acuerdo a la curva de calibración (**Figura 11.3**) presente en el **Anexo 13**. Para ello se utilizó la **Ecuación 11.10.**, remplazando los valores de “y” por las absorbancias registradas y despejando “x” para los azúcares reductores obtenidos.

Tabla 11.28 Determinación de Azúcares reductores y % Conversión para cascarilla de arroz pretratada.

Muestra	Absorbancia	Azúcares Reductores (g)	Conversión (%)
H_1a	0.931	0.7803	34.78
H_1b	0.875	0.7135	33.02
H_1c	0.950	0.8034	34.99
H_2a	1.038	0.9080	39.04
H_2b	0.729	0.5398	24.54
H_2c	0.721	0.5302	23.45
H_3a	0.896	0.7386	34.33
H_3b	0.706	0.5127	22.94
H_3c	0.908	0.7533	32.86
H_4a	1.091	0.9716	42.20
H_4b	0.928	0.7771	33.36
H_4c	0.822	0.6503	28.11
H_5a	0.733	0.5449	23.37
H_5b	0.769	0.5879	25.34
H_5c	0.807	0.6328	27.59
H_6a	1.017	0.8827	38.24
H_6b	0.923	0.7708	35.09
H_6c	0.917	0.7640	33.80
H_7a	0.970	0.8276	35.41
H_7b	0.729	0.5398	23.32
H_7c	0.830	0.6602	28.03
H_8a	0.857	0.6928	29.54
H_8b	0.761	0.5783	24.76
H_8c	0.924	0.7728	32.06
H_9a	0.958	0.8133	34.43
H_9b	0.753	0.5680	23.73
H_9c	0.761	0.5773	24.03

El porcentaje de conversión presente en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se calculó con la **Ecuación 11.11**

$$\% \text{ Conversion} = \left(\frac{\text{gramos azucares reductores obtenidos}}{3 * \text{gramos polisacaridos disponibles post pretratamiento}} \right) * 100$$

Ecuación 11.11. Porcentaje de conversión para la hidrolisis acida

Es relevante aclarar que los gramos de polisacáridos iniciales corresponden a la cantidad de polisacáridos presentes en una muestra de 3 g. La composición se encuentra reflejados en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia., Anexo 11.**

Los valores promedios de azucares reductores formados en la etapa de hidrolisis acida, así como los valores correspondientes para la cantidad de polisacáridos iniciales se refleja a continuación:

Tabla 11.29 Promedio azucares reductores hidrolisis acida, promedio conversión y azucares totales formados en hidrolisis

Muestra	Promedio Azucares Hidrolisis acida (g)	Promedio Conversión (%)	Azucares totales Hidro lisis (g)
RH	0.6197	37.23	2.0657
H_1	0.7657	34.26	1.7925
H_2	0.6593	29.01	1.4766
H_3	0.6682	30.04	1.4627
H_4	0.7997	34.56	1.7415
H_5	0.5885	25.43	1.2617
H_6	0.8058	35.71	1.7880
H_7	0.6759	28.92	1.3233
H_8	0.6813	28.79	1.4585
H_9	0.6529	27.40	1.2194

Para calcular la cantidad total se relacionó el promedio de conversión encontrado y la cantidad inicial de celulosa y hemicelulosa disponible (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia., Anexo 11**)

$$\text{Azucares totales Hidrolisis} = (\text{Promedio de conversion} * \text{masa de polisacaridos})$$

Ecuación 11.12. Azucares totales en hidrolisis

Anexo 22. Cuantificación de azúcares reductores obtenidos en hidrolizado diluido para cascarilla sin pretratamiento

La cantidad de azúcares reductores formados en cada iteración se determinó de acuerdo a la curva de calibración (**Figura 11.3, Anexo 13.**) y su respectiva **Ecuación 11.10.**

Tabla 11.30 Azúcares reductores y % conversión para cascarilla de arroz sin pretratamiento.

Muestra	Absorbancia	Azúcares Reductores (g)	Conversión (%)
RH1	0.8350	0.6662	40.02
RH2	0.7123	0.5199	31.23
RH3	0.7750	0.5946	35.72
RH4	0.8550	0.6901	41.45
RH5	0.7675	0.5857	35.18
RH6	0.8313	0.6618	39.76
	Promedio	0.6197	37.23

El porcentaje de conversión se calculó usando la siguiente **Ecuación 11.13.**

$$\% \text{ Conversion} = \left(\frac{\text{gramos azúcares reductores obtenidos}}{3 * \text{gramos polisacaridos disponibles}} \right) * 100$$

Ecuación 11.13. Porcentaje de conversión.

Los valores calculados fueron en base a una muestra de 3 g. La composición inicial de la cascarilla de arroz se encuentra reflejada en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia., Anexo 10.**

Anexo 23. Porcentaje de Conversión de polisacáridos en azúcares reductores para Hidrolisis acida diluida.

Tabla 11.31 Conversión de polisacáridos en azúcares reductores para Hidrolisis acida diluida.

Muestra	Azúcares reductores totales, g	% Conversión
Pre_1a	1.7998	34.78
Pre_1b	1.6771	33.02
Pre_1c	1.9037	34.99
Pre_2a	2.0201	39.04
Pre_2b	1.2167	24.54
Pre_2c	1.2048	23.45
Pre_3a	1.5931	34.33
Pre_3b	1.1105	22.94
Pre_3c	1.6839	32.86
Pre_4a	2.0742	42.20
Pre_4b	1.6292	33.36
Pre_4c	1.4954	28.11
Pre_5a	1.1395	23.37
Pre_5b	1.2841	25.34
Pre_5c	1.3627	27.59
Pre_6a	1.8981	38.24
Pre_6b	1.6906	35.09
Pre_6c	1.7709	33.80
Pre_7a	1.6533	35.41
Pre_7b	1.0523	23.32
Pre_7c	1.2743	28.03
Pre_8a	1.4733	29.54
Pre_8b	1.2594	24.76
Pre_8c	1.6434	32.06
Pre_9a	1.5104	34.43
Pre_9b	1.0604	23.73
Pre_9c	1.0806	24.03

La conversión presente en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..** se calculó según la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**

$$\% \text{ Conversion Hidrolisis} = \frac{\text{Azucares Totales Hidrolisis}}{\text{Masa remanente cascarilla} * \text{fraccion polisacarido}}$$

Ecuación 11.14. Conversión de polisacáridos en azúcares reductores para la hidrolisis acida diluida.

Los azúcares totales para la hidrolisis se calcularon según la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..** presente en el **Anexo 21**, mientras que la masa remanente de cascarilla y fracción de polisacáridos post pretratamiento se encuentran en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..** de **Anexo 11**.

Anexo 24. Cálculo del rendimiento global.

El cálculo de azúcares reductores totales se calculó según la **Ecuación 11.15**

$$A.R.Totales = A.R.Totales Hidrolisis + A.R.totales Pretratamiento$$

Ecuación 11.15. Cálculo de azúcares reductores totales

➤ A.R.: Azúcares Reductores

Donde A.R. Totales hidrolisis se encuentra en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia., Anexo 21**. Y A.R. totales pretratamiento se encuentra en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia., Anexo 20**.

El rendimiento global se calculó según la **Ecuación 11.16**.

$$Rendimiento\ global\ (\%) = \frac{Azúcares\ Reductores\ Totales}{Polisacáridos\ disponibles\ R.H.}$$

Ecuación 11.16. Rendimiento global.

- Polisacáridos disponibles R.H hace referencia a la cantidad de celulosa y hemicelulosa disponible en la cascarilla de arroz sin pretratamiento, la cual se calcula con las fracciones presentes en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia., Anexo 10** y el tamaño de muestra inicial : 10g.
- Para calcular el rendimiento global para cascarilla de arroz sin pretratamiento se utiliza la cantidad de azúcares reductores totales formados en la hidrolisis acida diluida aplicada en la misma. Estos valores se encuentran en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia., Anexo 21**.