Universidad Nacional de Ingeniería

Área del Conocimiento de Agricultura

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA OBTENCIÓN DE ETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN A PARTIR DE RASTROJO DE MAÍZ Y BAGAZO DE CAÑA POR LOS MÉTODOS DE HIDRÓLISIS ÁCIDA-FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Trabajo Monográfico para optar al título de Ingeniero Químico

Elaborado por:

Br. ADRIANA ALEJANDRA ALTAMIRANO IRIAS
2018-1065U

Br. GABRIELA ALEJANDRA PINEDA BLANDON
2018-1096U

Tutor:

Dr. DANILO LOPEZ VALERIO

13 de junio del 2025
Managua, Nicaragua

Opinión del tutor

Por medio de la presente yo, Dr. Danilo López Valerio, en calidad de tutor académico del trabajo de tesis titulado **"Análisis comparativo de obtención de etanol de segunda generación a partir de rastrojo de maíz y bagazo de caña por los métodos de hidrolisis acida-fermentación alcohólica"**, elaborado por los bachilleres Adriana Alejandra Altamirano Irías y Gabriela Alejandra Pineda Blandón, manifiesto que he revisado y aprobado el contenido del mismo.

Considero que el trabajo cumple con los requisitos académicos y metodológicos establecidos por la Universidad Nacional de Ingeniería, por lo cual autorizo la entrega formal de la tesis ante las instancias correspondientes para su evaluación final.

Sin otro particular, extiendo la presente para los fines pertinentes.

_____

Dr. Danilo López Valerio

Agradecimientos

Primeramente, quiero agradecer a Dios por darme la fortaleza y la perseverancia para alcanzar esta meta. Sin su guía en todos estos años este logro no habría sido posible.

A mis padres, que han sido una fuente inagotable de amor, sabiduría y apoyo a lo largo de mi vida. Sus palabras de aliento, sus consejos y su ejemplo de resiliencia han sido una inspiración constante para mí. Gracias por creer en mí, por sus bendiciones y por brindarme siempre un refugio de cariño incondicional. Este logro no es solo mío, sino también de ustedes porque sin ustedes este camino habría sido mucho más difícil.

A mis abuelos, por enseñarme el valor del esfuerzo y la humildad. Sus historias, consejos y cariño han sido mi mayor inspiración en este camino. Cada logro que alcanzo lleva consigo un pedacito de ustedes.

A mi novio, por su apoyo, su paciencia y por estar a mi lado en este proceso. Gracias por motivarme en los momentos difíciles y celebrar cada pequeño avance conmigo. Tu compañía ha sido un gran impulso para seguir adelante y me alegra compartir este logro contigo.

A mi compañera de tesis, gracias por tu paciencia y esfuerzo. Durante este proceso, hemos compartido largas jornadas de trabajo, momentos de incertidumbre y también muchas risas que hicieron el camino más llevadero.

A mis amigos, que siempre me brindaron palabras de aliento, momentos de distracción, risas y apoyo en esta etapa tan desafiante. Su compañía hizo que este camino fuera más divertido y significativo.

A mi tutor y a cada una de las personas que contribuyeron a la realización de esta tesis. Sus aportes, conocimientos y ayuda han sido fundamentales para la culminación de este proyecto.

Gracias a todos por ser parte de este logro.

Adriana Alejandra Altamirano Irías

Agradecimientos

En primer lugar, a Dios por ser fuente de sabiduría y fortaleza, por guiar mis pasos, iluminar mi mente y darme la perseverancia necesaria para culminar esta etapa.

A mis padres, por su amor incondicional, apoyo constante a lo largo de mi vida y por creer en mí, incluso cuando yo dudaba. Su sacrificio y dedicación han sido el motor que me impulsó a lo largo de los años.

A mi tutor y todos mis maestros por haber sembrado en mí la curiosidad, conocimiento y amor por el aprendizaje, su influencia ha sido significativa en mi desarrollo académico.

A mis queridos amigos, gracias por compartir conmigo las alegrías y las derrotas, por ser un refugio en momentos difíciles y por darle alegría a este viaje que sin ustedes no hubiese terminado.

A Lic. Danelis Avilés por habernos brindado incontables veces su ayuda, consejos, apoyo y amistad.

A Adriana Altamirano por ser mi compañera en esta aventura, juntas superamos los obstáculos, gracias por tu dedicación, amistad y por hacer de este proceso una experiencia memorable.

A todos ustedes gracias por estar conmigo a lo largo de este camino.

Gabriela Alejandra Pineda Blandón

Dedicatoria

A mis padres, por ser mi mayor ejemplo de amor, esfuerzo y dedicación. Gracias por cada sacrificio y por enseñarme que con perseverancia todo es posible. Les dedico con amor y gratitud esta tesis, como un pequeño reflejo del inmenso legado que han dejado en mí.

Adriana Alejandra Altamirano Irías

Dedicatoria

A mi familia, mi mayor inspiración, a mis amigos, mi refugio y alegría constante y a mí por el camino recorrido, los obstáculos superados y la valiosa experiencia adquirida a través de los años.

Gabriela Alejandra Pineda Blandón

Resumen

Este estudio se centra en un análisis comparativo de la obtención de etanol de segunda generación utilizando rastrojo de maíz y bagazo de caña por los métodos de hidrolisis acida-Fermentación alcohólica, dos residuos agrícolas abundantes en Nicaragua.

La investigación comienza con una caracterización fisicoquímica de los materiales, analizando su contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina, humedad y cenizas. Los resultados de esta caracterización muestran que el bagazo de caña contiene un mayor porcentaje de celulosa (46.06%) y menos lignina (11.51%) en comparación con el rastrojo de maíz (35.12% de celulosa y 15.55% de lignina).

Para mejorar la accesibilidad de los azúcares fermentables, se aplicó un pretratamiento fisicoquímico basado en la exposición de las muestras en agua caliente (140°C) durante 20 minutos. Luego, se llevó a cabo la hidrólisis ácida, en la que se utilizó ácido sulfúrico en tres concentraciones diferentes (1%, 2% y 3%) a 110°C durante 3 horas. Este proceso permite descomponer la celulosa y hemicelulosa en azúcares más simples, que luego pueden ser utilizados en la fermentación.

En la etapa de fermentación alcohólica, se empleó la levadura Saccharomyces cerevisiae, utilizando distintas concentraciones y tiempos de fermentación (1, 5 y 10 días), para evaluar su impacto en la producción de etanol. Para el análisis de los resultados, se utilizó el método Taguchi, un diseño experimental que permite optimizar las variables sin necesidad de realizar un número excesivo de pruebas.

Los resultados revelan que el bagazo de caña produce un mayor rendimiento de etanol en comparación con el rastrojo de maíz, debido a su mayor contenido de celulosa y menor presencia de lignina, lo que facilita el acceso a los azúcares fermentables. Además, se identificaron las condiciones óptimas de ácido, levadura y tiempo de fermentación para maximizar la producción de etanol en ambos casos.

Índice

I. Introducción ..... **- 1 -**

II. Objetivos ..... **- 3 -**

2.1 Objetivo general: ..... - 3 -

2.2 Objetivos específicos: ..... - 3 -

III. Marco teórico ..... **- 4 -**

3.1 Maíz ..... - 4 -

3.1.1 Morfología de la planta ..... - 4 -

3.1.2 Rastrojo de maíz ..... - 5 -

3.2 Caña de azúcar ..... - 5 -

3.2.1 Morfología de la planta ..... - 6 -

3.2.2 Bagazo de caña ..... - 7 -

3.3 Celulosa ..... - 8 -

3.4 Hemicelulosa ..... - 8 -

3.5 Lignina ..... - 9 -

3.6 Combustible ..... - 11 -

3.6.1 Biocombustible ..... - 11 -

3.6.2 Etanol ..... - 11 -

3.7 Bioetanol ..... - 12 -

3.7.1 Bioetanol de primera generación ..... - 12 -

3.7.2 Bioetanol de segunda generación ..... - 13 -

3.7.3 Bioetanol de tercera generación ..... - 13 -

3.7.4 Impacto ambiental de la producción de bioetanol de segunda generación ..... - 13 -

3.8 Pretratamiento ..... - 14 -

5.9.1 Pretratamiento fisicoquímico ..... - 15 -

3.9 Hidrólisis ..... - 15 -

3.9.1 Hidrólisis ácida ..... - 15 -

3.9.2 Hidrolisis enzimática ..... - 16 -

3.9.3 Factores que afectan la Hidrolisis acida ..... - 17 -

3.10 Fermentación ..... - 17 -

3.10.1 Fermentación alcohólica ..... - 18 -

3.10.2 Microorganismos de producción de bioetanol ..... - 21 -

3.10.2.1 Levaduras ..... - 21 -

3.10.2.2 Saccharomyces cerevisiae ..... - 21 -
3.10.2.3 Zymomonas mobilis ..... - 22 -
3.11 Destilación ..... - 23 -
3.11.1 Destilación al vacío ..... - 23 -
3.12 Cuantificación de azucares reductores ..... - 23 -
3.12.1 Método de Hermann Von Fehling ..... - 23 -
IV. Hipótesis de investigación ..... - 25 -
V. Metodología ..... - 26 -
5.1 Materiales y Método ..... - 26 -
5.1.1 Materiales ..... - 26 -
Materiales, Reactivos y Equipos: ..... - 26 -
5.1.2 Método ..... - 28 -
Caracterización fisicoquímica de materia prima: ..... - 28 -
Determinación de porcentaje de humedad: ..... - 28 -
Determinación de porcentaje de cenizas: ..... - 29 -
Determinación de Solubles en agua, Celulosa, hemicelulosa y lignina: - 30 -
Cuantificación de azucares reductores: ..... - 31 -
Pretratamiento: ..... - 32 -
Hidrólisis ácida: ..... - 32 -
Fermentación alcohólica: ..... - 32 -
5.2 Diseño de parte experimental ..... - 33 -
5.2.1 Características Generales ..... - 33 -
5.2.2 Factores y Niveles ..... - 33 -
5.2.3 Descripción y definición de los tratamientos ..... - 34 -
5.2.4 Variable respuesta ..... - 35 -
5.2.5 Definición de unidad experimental ..... - 35 -
VI. Resultados y Discusión ..... - 36 -
6.1 Caracterización de la materia prima, rastrojo de maíz y bagazo de caña- 36 -
6.2 Determinar las condiciones óptimas de hidrólisis ácida y fermentación para la obtención del etanol ..... - 41 -
6.3 Análisis y comparación de los porcentajes obtenidos de bioetanol por cada una de las materias primas ..... - 46 -

6.4 Análisis Estadístico ..... - 48 -
VII. Conclusiones ..... - 56 -
VIII. Recomendaciones ..... - 57 -
Bibliografía ..... - 58 -
Anexos ..... - 63 -
Anexo 1. Determinación de porcentaje de humedad ..... - 63 -
Anexo 2. Determinación de porcentaje de ceniza ..... - 64 -
Anexo 3. Determinación de solubles en agua, celulosa, hemicelulosa, lignina y ceniza. ..... - 65 -
Anexo 4. Método Fehling para determinación de azucares reductores . - 68 -
Anexo 5. Pretratamiento ..... - 69 -
Anexo 6. Hidrolisis ácida ..... - 69 -
Anexo 7. Fermentación ..... - 70 -
Anexo 8. Análisis Estadístico ..... - 71 -
Anexo 9. Evidencias de la fase experimental ..... - 74 -

Índice de Tablas

Tabla 1: Composición química del rastrojo de maíz.....- 5 -
Tabla 2: Composición química del bagazo de caña.....- 7 -
Tabla 3. Equipos utilizados para la obtención de Bioetanol de segunda generación.....- 27 -
Tabla 4: Factores y niveles para el diseño experimental .....- 33 -
Tabla 5: Diseño Taguchi .....- 35 -
Tabla 6: Caracterización fisicoquímica del Rastrojo de maíz.....- 36 -
Tabla 7: Caracterización fisicoquímica de Bagazo de caña .....- 39 -
Tabla 8: Datos de etanol obtenidos en la fermentación del bagazo de caña ...- 42 -
Tabla 9: Datos de etanol obtenidos de la fermentación del rastrojo de maíz...- 44 -
Tabla 10. Resultados de etanol del rastrojo de maíz y bagazo de caña. ..- 46 -
Tabla 11: Respuesta para relaciones Señal/Ruido (Bagazo de caña).....- 48 -
Tabla 12: Tabla de respuesta para medias (Bagazo de caña).....- 49 -
Tabla 13: Tabla de respuesta para relaciones Señal/Ruido (Rastrojo de maíz) .....- 52 -
Tabla 14: Tabla de respuesta para Medias (Rastrojo de maíz) .....- 53 -
Tabla 15: Resultados de las variables de la ecuación del método Chesson-Datta (Rastrojo de maíz).....- 67 -
Tabla 16: Resultados de las variables de la ecuación del método Chesson-Datta (Bagazo de caña).....- 67 -
Tabla 17: Coeficientes del modelo para relación Señal-Ruido (Bagazo de caña).....- 71 -
Tabla 18: Ajuste del modelo (Bagazo de caña).....- 71 -
Tabla 19: Coeficientes del modelo para relación Señal-Ruido (Rastrojo de maíz).....- 72 -
Tabla 20: Ajuste del modelo (Rastrojo de maíz) .....- 73 -

Índice de Figura

Figura 1: Composición estructural de la celulosa. .....- 8 -
Figura 2: Composición estructural de la hemicelulosa .....- 9 -
Figura 3: Composición estructural de Lignina.....- 10 -
Figura 4: Esquema de procesos termoquímicos para transformación de la lignina y sus productos potenciales .....- 10 -
Figura 5. Formula química del etanol .....- 12 -
Figura 6: Acción del pretratamiento en materiales lignocelulósicos .....- 15 -
Figura 7: Resultados del método de Fehling .....- 24 -
Figura 8. Diagrama de flujo del proceso experimental de la obtención de etanol de segunda generación .....- 28 -
Figura 9: Grafica de efectos principales para relaciones Señal-Ruido (Bagazo de caña).....- 49 -
Figura 10: Grafica de Medias (Bagazo de caña) .....- 50 -
Figura 11: Gráfica de probabilidad Normal.....- 51 -
Figura 12: Grafica de efectos principales para relaciones Señal-Ruido (Rastrojo de maíz) .....- 53 -
Figura 13. Grafica de Medias (Rastrojo de maíz) .....- 54 -
Figura 14: Gráfica de probabilidad Normal.....- 55 -

I. Introducción

El bioetanol de segunda generación se obtiene de la degradación de biomasas lignocelulósicas de los residuos agrícolas y desechos forestales, esto da lugar a la reducción del potencial de diversificación de las fuentes de energía relacionadas y también la menor dependencia de los combustibles fósiles.

La creciente preocupación mundial por el agotamiento de los combustibles fósiles y los efectos negativos derivados de su utilización, como la emisión de gases de efecto invernadero y el deterioro ambiental, ha incentivado la investigación y el desarrollo de fuentes alternativas de energía renovable.

En Nicaragua, el sector energético ha experimentado una transformación importante en las últimas décadas, diversificando su matriz energética hacia fuentes renovables que actualmente representan aproximadamente el 70% del consumo energético nacional. Particularmente, la generación de bioenergía a partir del bagazo de caña constituye cerca del 24% de dicha energía renovable. No obstante, esta bioenergía ha sido obtenida predominantemente mediante procesos de combustión y no a través de la producción de etanol, lo que refleja un área de oportunidad para el aprovechamiento más eficiente de los residuos agrícolas.

Asimismo, investigaciones previas han explorado el potencial de diversas materias primas para la producción de bioetanol mediante técnicas como la hidrólisis ácida diluida y la fermentación alcohólica. Estudios realizados tanto a nivel nacional como internacional, utilizando residuos como la coronta de maíz, la cascarilla de arroz y racimos de palma aceitera, han evidenciado que la selección de las materias primas y la optimización de las condiciones de operación son factores críticos para maximizar el rendimiento en la obtención de bioetanol. Estos antecedentes subrayan la importancia de adaptar las tecnologías de producción a las características específicas de los residuos disponibles en cada región.

En este contexto, la presente investigación tiene como objetivo principal analizar y comparar el rendimiento en la producción de bioetanol a partir de

dos materias primas ampliamente disponibles en Nicaragua: el rastrojo de maíz y el bagazo de caña. Para ello, se emplearán los procesos de hidrólisis ácida y fermentación alcohólica, utilizando un diseño experimental Taguchi que permitirá evaluar de manera sistemática la influencia de tres factores fundamentales: la concentración de ácido sulfúrico, la concentración de levadura y la temperatura de fermentación, cada uno considerado a tres niveles.

II. Objetivos

2.1 Objetivo general:

Analizar la obtención de bioetanol mediante un estudio comparativo por el método de hidrólisis ácida - fermentación alcohólica a partir: de rastrojo de maíz y bagazo de caña.

2.2 Objetivos específicos:

- Caracterizar el rastrojo de maíz, el bagazo de caña cuantificando la celulosa, hemicelulosa, lignina y cenizas totales.
- Determinar las condiciones óptimas de hidrólisis ácida y fermentación para la obtención del etanol con cada una de las materias primas comparadas.
- Analizar y comparar los porcentajes obtenidos de bioetanol por cada una de las materias primas.

III. Marco teórico

3.1 Maíz

Maíz, palabra de origen indio caribeño, significa literalmente «lo que sustenta la vida». El maíz es uno de los cereales más importantes del mundo, suministra elementos nutritivos a los seres humanos y a los animales y es una materia prima básica de la industria de transformación, con la que se producen almidón, aceite y proteínas, bebidas alcohólicas, edulcorantes alimenticios y, desde hace poco, combustible. La planta tierna, empleada como forraje, se ha utilizado con gran éxito en las industrias lácteas y cárnicas y, tras la recolección del grano, las hojas secas y la parte superior, incluidas las flores, aún se utilizan hoy en día como forraje de calidad relativamente buena para alimentar a los rumiantes de muchos pequeños agricultores de los países en desarrollo. Los tallos erectos, que en algunas variedades son resistentes, se utilizan para construir cercas y muros duraderos (FAO, 2016).

3.1.1 Morfología de la planta

La planta del maíz pertenece a la familia de las pomáceas o gramíneas, con un ciclo anual y tallos resistentes y erectos, que pueden alcanzar los dos metros y medio de altura.

Esta planta se compone de:

- Raíces: Presenta dos tipos de raíz: las primarias y fibrosas que van bajo tierra, y las adventicias que brotan del primer nudo de la planta y son superficiales. Ambas permiten que se mantenga erguido el largo tallo.
- Tallo: Compuesto a su vez por tres capas: una epidermis impermeable y transparente, una pared vegetal por la que circula la savia y una médula de tejido esponjoso y blanco en donde se almacenan los azúcares.
- Hojas: Generalmente lanceoladas, largas y finas, alcanzando los 120 centímetros de longitud y los 9 centímetros de ancho (Etece, 2024).

3.1.2 Rastrojo de maíz

El rastrojo de maíz consiste en las hojas, tallos y mazorcas de maíz que quedan en un campo después de la cosecha. Tal rastrojo constituye aproximadamente la mitad del rendimiento de un cultivo de maíz y es similar a la paja de otras gramíneas de cereales. La paja de maíz es un producto agrícola muy común en áreas con grandes cantidades de producción de maíz. Además de la parte no granular del maíz cosechado, el rastrojo también puede contener otras malezas y pastos. El maíz de campo y el maíz dulce, dos tipos diferentes de maíz, tienen restos de maíz relativamente similares (Ibarguen, 2019).

Tabla 1: Composición química del rastrojo de maíz

Componente	**% En peso seco**
Glucano (celulosa)	37.4
Hemicelulosa (xilano)	21.1
Arabinosa	2.9
Mannan	1.6
Galactan	2.0
Ceniza	5.2
Lignina	18.0
Acetato	2.9
Proteína	3.1

Nota: (Josifovich, 1988)

3.2 Caña de azúcar

La caña de azúcar pertenece a la familia de las gramíneas y al género Saccharum., en el cual existen seis especies: S. spontaneun, S. robustum, S. barberi, S. sinensi, S. edule y S. officinarum.

El tallo de la caña de azúcar se considera un fruto agrícola, ya que en él se distribuye y se almacena azúcar, posee aproximadamente 75% de agua y está formada por nudos y entrenudos. Se cultiva principalmente para la producción de azúcar, aunque también se convierte en materia prima para la fabricación de papel, cemento, abonos y alimento animal, con ella se pueden producir bebidas alcohólicas destiladas (Gobierno de Mexico, 2018).

3.2.1 Morfología de la planta

Las partes básicas de la estructura de una planta, que determinan su forma, son: la raíz, el tallo, las hojas y la flor.

- Sistema radical: Constituye la parte subterránea del eje de la planta; es el órgano sostén y el medio para la absorción de nutrientes y agua del suelo. En la planta de caña se distinguen dos tipos de raíces:

Raíces primordiales: Corresponden a las raíces de la estaca original de siembra; son delgadas, muy ramificadas y su período de vida llega hasta los tres meses de edad.

Raíces permanentes: Brotan de los anillos de crecimiento de los nuevos brotes, son numerosas, gruesas, de rápido crecimiento y su proliferación avanza con el desarrollo de la planta. Su cantidad, longitud y edad dependen de la variedad y de las condiciones de suelo y humedad. La raíz de la caña es fasciculada.

- El tallo: Es el órgano más importante de la planta de la caña, puesto que allí se almacenan los azúcares; el número, el diámetro, el color y el hábito de crecimiento dependen de la variedad. La longitud de los tallos, en gran parte depende de las condiciones ambientales de la zona y del manejo que se le dé a la variedad. Los tallos pueden ser primarios, secundarios o terciarios.
- El nudo: Es la porción dura y más fibrosa del tallo que separa dos entrenudos vecinos. El nudo, a su vez, se encuentra conformado por el anillo de crecimiento, la banda de raíces, la cicatriz foliar, el nudo propiamente dicho, la yema y el anillo ceroso. La forma de la yema y su

pubescencia son diferentes en cada variedad y, por tanto, muy usados para su identificación.

- Hoja: Se origina en los nudos y se distribuye en posiciones alternas a lo largo del tallo. Cada hoja está formada por la lámina foliar y por la vaina y la yagua. La unión entre estas dos partes se conoce con el nombre de lígula, en cuyo extremo existe una aurícula con pubescencia variable.
- La flor: Es una inflorescencia en panícula sedosa en forma de espiga. Las espiguillas dispuestas a lo largo de un raquis contienen una flor hermafrodita con tres anteras y un ovario con dos estigmas. Cada flor está rodeada de pubescencias largas que le dan a la inflorescencia un aspecto sedoso. La floración ocurre cuando las condiciones ambientales de fotoperíodo, temperatura y disponibilidad de agua y niveles de nutrientes en el suelo son favorables (Agrioriente, 2019)

3.2.2 Bagazo de caña

El bagazo es el residuo del proceso de fabricación del azúcar a partir de la caña, el remanente de los tallos de la caña después de ser extraído el jugo azucarado que ésta contiene, se ha empleado habitualmente en los países azucareros como materia prima para la producción de energía en las calderas de los ingenios o centrales azucareros y su empleo en la manufactura de papel iniciado hace más de 150 años además de la fabricación de paneles aglomerados de fibras y de partículas y celulosa para derivados farmacéuticos y aditivos de alimento (Aguilar, 2019).

Tabla 2: Composición química del bagazo de caña

Componente	**% En peso seco**
Glucano (celulosa)	54
Hemicelulosa	35
Lignina	11

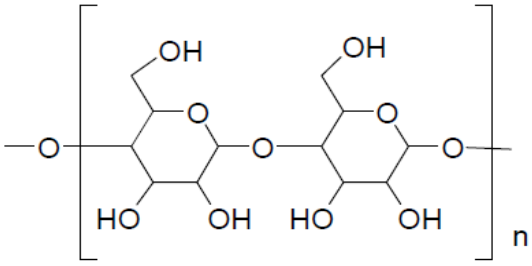
Nota: (Garcia, 2008)

3.3 Celulosa

La celulosa es un polisacárido lineal de elevado peso molecular y grado alto de polimerización además de ser el componente principal en las paredes celulares de los vegetales. El grado de polimerización de la celulosa se define como el número a repetir de unidades de anhidro glucosa (β-D-glucopiranosa) unidas entre sí mediante un enlace glicosídico entre el carbono 1 y 4 en la cadena polimérica (Rosa, 2015)

Su estructura es altamente cristalina debido a la presencia de puentes de hidrógeno inter e intermoleculares que fluyen en su morfología, rigidez, orientación, resistencia y reactividad. Las zonas de alta cristalinidad son difíciles de hidrolizar en sus unidades monoméricas, mientras que, en las zonas de menor cristalinidad, es decir amorfas, son accesibles y susceptibles a las reacciones químicas (Fernandez, 2009).

Figura 1: Composición estructural de la celulosa.



celulosa

Nota: (Tejedor, 2016)

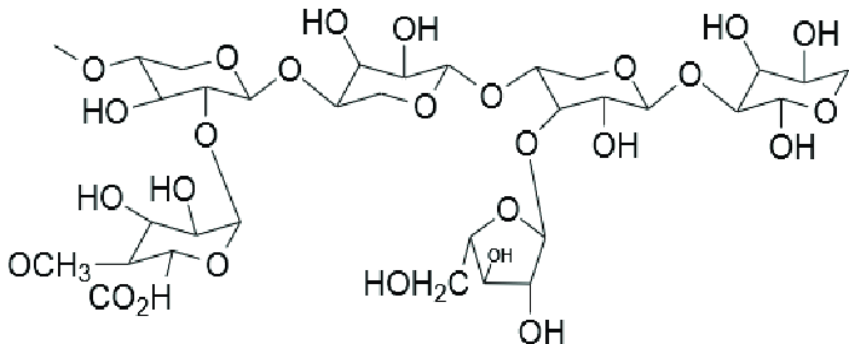
3.4 Hemicelulosa

La hemicelulosa está compuesta por polímeros de diferentes azucares con cadenas más cortas y ramificadas, lo que la hace más amorfa y más fácil de hidrolizar en sus azúcares constituyentes que la celulosa. En estado natural consigue tener un grado de polimerización que no excede a los 200 monómeros. Su papel es suministrar la unión entre la lignina y la celulosa para proporcionar rigidez a la pared celular y son insolubles en agua (Rosa, 2015).

Las hemicelulosas son heteropolisacáridos, su función en la pared celular es servir de puente de unión entre la celulosa y la lignina, la estructura y abundancia de las hemicelulosas varía ampliamente entre las diferentes especies de plantas.

Desde el punto de vista biológico, el rol de las hemicelulosas es su contribución al fortalecimiento de la pared celular, por su interacción con la celulosa y la lignina, reforzando las microfibrilas de la celulosa por entrecruzamiento formando una compleja red, además de ser una fuente potencial de azucares simples (H. Scheller, 2010); Esta 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 (Cheng, 2000).

Figura 2: Composición estructural de la hemicelulosa



Nota: (Suarez, 2022)

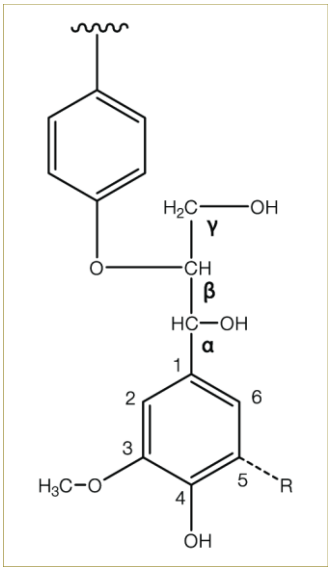
3.5 Lignina

La lignina es uno de los biopolímeros más abundantes en las plantas junto con la celulosa y la hemicelulosa. Al igual que muchos otros componentes de la biomasa, la lignina se forma mediante la reacción de fotosíntesis y su función estructural es la aglomeración de las fibras de celulosa dotando de rigidez a la planta (G. Gellerstedt, 2008).

La definición estructural de la lignina nunca ha sido tan clara como la de otros polímeros naturales tales como celulosa y proteínas, debido a la complejidad que afecta su aislamiento, análisis de la composición, y la caracterización

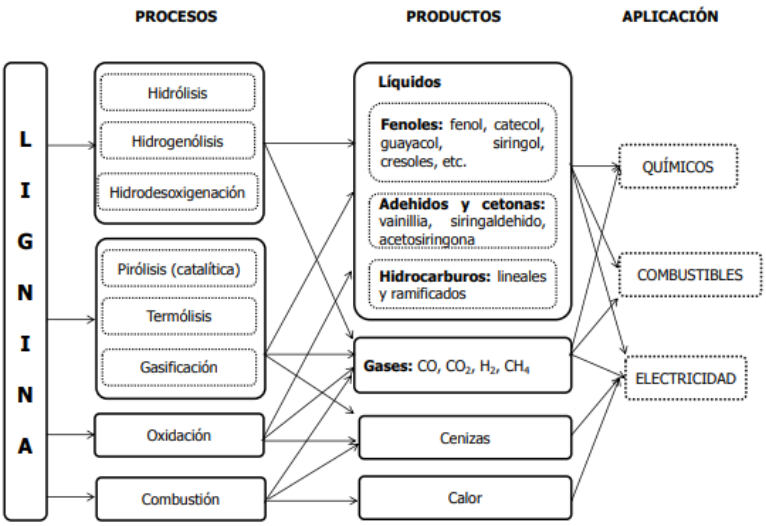
estructural, el problema de una definición precisa para la lignina se asocia con la naturaleza de sus múltiples unidades estructurales, las cuales no suelen repetirse de forma regular, dado que la composición y estructura de la lignina varían dependiendo de su origen y el método de extracción o aislamiento utilizado (F. Lu, 2020).

Figura 3: Composición estructural de Lignina



Nota: (Willaart, 2012)

Figura 4: Esquema de procesos termoquímicos para transformación de la lignina y sus productos potenciales



Nota: (M. Chavez-Sifones, 2013)

3.6 Combustible

Un combustible es un material que, por sus propiedades, arde con facilidad. El concepto suele aludir a la sustancia que, al oxidarse cuando se enciende, desprende calor y libera energía que pueda aprovecharse. Los combustibles, de este modo, generan energía mecánica o energía térmica. La gasolina (también conocida como nafta), el gasóleo o gasoil, el gas natural, la madera y el carbón son algunos de los combustibles más utilizados a nivel mundial.

Todos los combustibles tienen un cierto poder calorífico: la cantidad de energía (calor) que liberan por unidad de volumen o de masa cuando se produce la reacción de oxidación. Dicha reacción se inicia en el momento en que el combustible alcanza su temperatura de ignición. Los combustibles fósiles provienen de biomasa cuyo origen se remonta varios millones de años atrás. Otro tipo de combustible que se puede generar en corto tiempo son los biocombustibles, estos son de origen biológico y son bioetanol, biodiesel y biogás (Gardey, 2018).

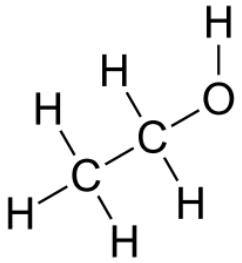
3.6.1 Biocombustible

Los biocombustibles son los combustibles que se producen, directa o indirectamente, a partir de recursos naturales y la biomasa. La biomasa, por su parte, es la fuente de energía que proviene de materiales no fósiles y de origen biológico, como pueden ser los cultivos energéticos, los desechos agrícolas y forestales y sus subproductos, esta materia se transforma en energía mediante procesos termoquímicos (combustión, pirólisis y gasificación) o bioquímicos (digestión, anaerobia y fermentación). La energía producida mediante el uso de biocombustibles recibe el nombre de bioenergía (Primagas, 2018).

3.6.2 Etanol

El concepto de etanol alude al alcohol etílico: una sustancia cuya fórmula química es CH_3CH_2OH. Se trata de un líquido que se genera a partir de la fermentación de productos que presentan una elevada cantidad de carbohidratos. Se obtiene al fermentar los azucares presentes en distintas materias vegetales o biomasa en general (Porto, 2018).

Figura 5. Formula química del etanol



Nota: (Lobert, 2000)

3.7 Bioetanol

El bioetanol es un tipo de biocombustible que se obtiene a partir de la fermentación de materiales ricos en azúcares y almidones, como la caña de azúcar, el maíz, la remolacha, entre otros. Es factible dedicar el cultivo de ciertos vegetales exclusivamente para la elaboración de bioetanol, pero este combustible también se puede producir utilizando desechos forestales o residuos de actividades agrícolas.

Es utilizado principalmente como alternativa ecológica a los combustibles fósiles en motores de automóviles**,** ya que su uso puede reducir la emisión de gases de efecto invernadero. El bioetanol es renovable, ya que proviene de cultivos que se pueden replantar y cosechar continuamente. Además, contribuye a la diversificación energética y puede fomentar la seguridad energética de un país al reducir su dependencia de petróleo importado. Sin embargo, el debate sobre el bioetanol incluye preocupaciones sobre su impacto en el uso del suelo, los precios de los alimentos y la biodiversidad (Castellanos, 2024).

3.7.1 Bioetanol de primera generación

El bioetanol de primera generación es un tipo de biocombustible producido a partir de materias primas comestibles ricos en almidón o azúcar. Las principales fuentes de bioetanol de primera generación son los cultivos como la caña de azúcar, el maíz, el trigo y la remolacha. El proceso de producción involucra la fermentación de los azúcares presentes en estos cultivos para

producir etanol, que luego se puede utilizar como sustituto o aditivo en combustibles para vehículos (AOP, 2019).

3.7.2 Bioetanol de segunda generación

El bioetanol de segunda generación es un biocombustible que se produce a partir de materias primas no comestibles, como residuos agrícolas, maderas, pastos o incluso desechos orgánicos urbanos e industriales. A diferencia del bioetanol de primera generación, que utiliza cultivos comestibles como el maíz o la caña de azúcar, el bioetanol de segunda generación emplea biomasa lignocelulósica, lo que lo hace más sostenible y menos conflictivo con la producción de alimentos (AOP, 2019).

3.7.3 Bioetanol de tercera generación

El bioetanol de tercera generación se refiere a la producción de biocombustibles a partir de algas o microalgas, que son organismos fotosintéticos que pueden generar grandes cantidades de biomasa y aceites, de los cuales se puede obtener etanol u otros biocombustibles. A diferencia de las generaciones anteriores, que dependen de cultivos terrestres como maíz, caña de azúcar o residuos agrícolas, los biocombustibles de tercera generación aprovechan los recursos marinos y acuáticos, lo que les permite ofrecer una serie de ventajas adicionales en términos de sostenibilidad y eficiencia (Buenrostro, 2021).

3.7.4 Impacto ambiental de la producción de bioetanol de segunda generación

El impacto ambiental de la producción de bioetanol de segunda generación está influenciado principalmente por el proceso de conversión de biomasa lignocelulósica (residuos agrícolas, madera, paja, entre otros) en etanol. Aunque este proceso tiene ciertas ventajas, también presenta algunos desafíos ambientales.

Aunque el bioetanol de segunda generación reduce las emisiones de gases de efecto invernadero en comparación con los combustibles fósiles, la producción y procesamiento de biomasa genera emisiones. El proceso de pretratamiento

y la hidrólisis de la biomasa para extraer los azúcares fermentables consume energía, lo que puede generar emisiones, especialmente si la energía proviene de fuentes no renovables. Sin embargo, el ciclo de vida total del bioetanol tiende a ser menos intensivo en emisores que los combustibles derivados del petróleo (N. Montoya, 2020).

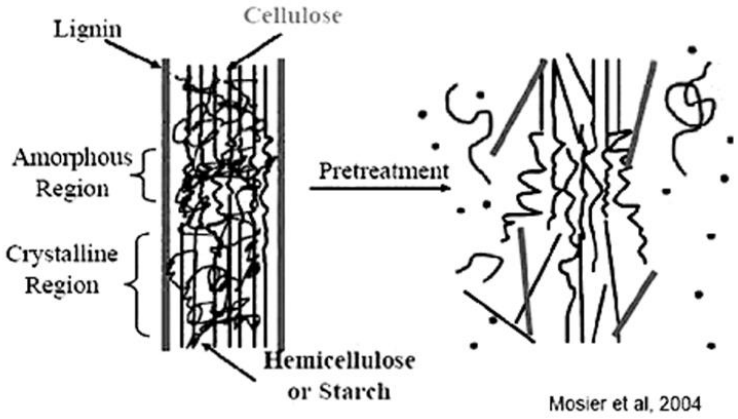
3.8 Pretratamiento

Para la utilización de los carbohidratos que constituyen la biomasa es necesario el rompimiento de la estructura lignocelulósica, a través de un pretratamiento, con el fin de separar la fracción hemicelulósica, rica en xilosa y parte de la lignina. Esta etapa es una muy importante para mejorar la eficiencia del proceso de fraccionamiento de la celulosa. El objetivo del pretratamiento es aumentar la susceptibilidad del material para obtener un sustrato lignocelulósico reactivo que sea altamente accesible al ataque químico, microbiológico o enzimático. Para esto se pueden utilizar métodos físicos, químicos, físico-químicos y biológicos. (M. Viñals-Verde, 2012)

Sin embargo, es durante esta etapa que se liberan varios subproductos derivados de la lignocelulosa que actúan como inhibidores del crecimiento microbiano y de la posterior etapa de fermentación, disminuyendo el rendimiento de la producción de etanol. (Bayona, 2021)

La concentración y diversidad de estos subproductos depende de las condiciones del pretratamiento escogido, así como del tipo de biomasa de partida, ya que su composición es muy variable.

Figura 6: Acción del pretratamiento en materiales lignocelulósicos



Nota: (N. Mosier, 2005)

5.9.1 Pretratamiento fisicoquímico

Este tipo de pretratamientos combinan los efectos de la acción física y química. Actúan rompiendo la estructura cristalina de la celulosa, desestructurando la matriz lignocelulósica y aumentando el área superficial. Este efecto se combina con la hidrólisis de los enlaces de hidrógeno y éster entre los tres biopolímeros, contribuyendo a que se solubilice la lignina y parte de la hemicelulosa, incrementando todavía más el área accesible de enzimas hidrolíticas o ácidos sobre la celulosa. Sin embargo, el uso de elevadas temperaturas produce compuestos que inhiben la posterior fermentación. La formación de estos compuestos se incrementa en aquellos tratamientos con condiciones más severas. (Bayona, 2021).

3.9 Hidrólisis

La hidrólisis es una reacción química en la que moléculas de agua (H_2O) se dividen en sus átomos componentes (hidrógeno y oxígeno). A su vez, en el proceso de hidrólisis, los átomos que componen las moléculas de agua pasan a formar enlaces químicos con la sustancia que reacciona con el agua. (Álvarez, 2021).

3.9.1 Hidrólisis ácida

Es un proceso químico que emplea catalizadores ácidos para transformar las cadenas de polisacáridos que forman la biomasa (hemicelulosa y celulosa) en

sus monómeros elementales. Este tipo de hidrólisis utiliza diferentes clases de ácidos: sulfuroso, clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico y fórmico. Este método tiene por objetivo convertir la biomasa en azúcares en forma de oligómeros para después convertir los azúcares oligoméricos en azúcares monoméricos como la glucosa y xilosa. (Riaño, 2010).

Las ventajas de este tipo de hidrólisis son que el ácido puede penetrar la lignina sin tratamiento previo, la velocidad de la hidrólisis ácida es más rápida que la hidrólisis enzimática, pero la glucosa también se degrada rápidamente en condiciones ácidas. En este proceso generalmente se utiliza ácido sulfúrico y ácido clorhídrico en concentraciones del 1 al 10% utilizando una temperatura moderada (en el rango de 100 a 150 °C). Pero en estas condiciones operativas relativamente moderadas, resulta menos eficaz en la formación de hexosas, esto se debe principalmente a la descomposición de los monosacáridos en compuestos menos deseables durante la hidrólisis, estos compuestos incluyen furfural, un producto de la deshidratación de pentosas y hidroximetilfurfural-HMF, resultado de la deshidratación de hexosas.

Estos compuestos, junto con el ácido acético que se forma durante la descomposición inicial de las hemicelulosas, como resultado de la hidrólisis de los grupos acetilo unidos al azúcar, inhiben la fermentación posterior, lo que lleva a una reducción del rendimiento de etanol, la producción de estos inhibidores aumenta cuando la hidrólisis tiene lugar a temperaturas más altas y concentraciones de ácido más altas. (P. Lenihan, 2010).

3.9.2 Hidrolisis enzimática

La hidrólisis enzimática consiste en la ruptura de un enlace químico por efecto del agua y puede ser de tipo térmico con la ayuda solo del calo, químico con la ayuda de sustancias químicas a altas temperatura, enzimático con la ayuda de enzimas normalmente a temperaturas por debajo de los 60°C o mixto química y enzimática. Además de la hidrólisis enzimática, ha puesto a punto en los últimos años un proceso de hidrólisis enzimática aplicado a materias primas de origen animal o vegetal. Este tipo de hidrólisis se caracteriza porque se liberan

aminoácidos en forma sobre todo levógira y péptidos, biológicamente más activa y útil para las plantas.

Las enzimas son proteínas biológicas que actúan como catalizadores, acelerando las reacciones químicas sin consumirse en el proceso. En la hidrólisis enzimática, las enzimas específicas dependiendo del tipo de sustrato que se esté descomponiendo actúan sobre moléculas grandes como o lípidos. Cuando las enzimas actúan sobre estas moléculas complejas, rompen los enlaces entre los componentes más pequeños de la molécula. Por ejemplo, las enzimas celulásicas rompen los enlaces en la celulosa liberando glucosa, que es un azúcar simple y fermentable (Salazar, 2014).

3.9.3 Factores que afectan la Hidrolisis acida

Hidrólisis ácida es un proceso químico en el que un ácido rompe enlaces en compuestos orgánicos, como polisacáridos o proteínas, para obtener moléculas más simples, varios factores pueden influir en su eficiencia:

- La concentración de ácido, ya que al ser mayor aumenta la velocidad de la hidrólisis. El ácido actúa como catalizador, facilitando la reacción.
- La temperatura entre 100-250°C, la reacción es más rápida ya que proporciona la energía necesaria para romper los enlaces químicos. Aunque a temperatura muy altas pueden degradarse los productos y formar inhibidores.
- El tiempo de reacción es crucial. A medida que avanza la reacción, se hidroliza más sustrato. Sin embargo, un tiempo excesivo puede llevar a reacciones secundarias no deseadas.
- Después de la hidrólisis, es importante neutralizar el ácido para evitar la degradación de los productos obtenidos. Se puede usar bases (NaOH, Ca $(OH)_2$) para ajustar el pH (Gonzalez, 2006).

3.10 Fermentación

La fermentación consiste en transformar los azúcares liberados en la etapa de hidrólisis ácida en etanol y dióxido de carbono, por medio de microorganismos adecuados, principalmente levaduras. Estos microorganismos pueden ser

cepas naturales que metabolicen azúcares de seis carbonos, cepas naturales que consumen tanto azúcares de seis como de cinco carbonos. En esta etapa se consideran tres factores importantes que garantizan la obtención de altos rendimientos de producto y estos son: el sustrato, las condiciones de operación y el microorganismo fermentador.

Las condiciones de operación son de mucha importancia para que aseguren la reproducción del microorganismo de forma más eficiente. Los factores importantes en esta parte del proceso son la temperatura, el medio de fermentación, el pH y la velocidad de agitación. (Romero, 2015).

3.10.1 Fermentación alcohólica

Es un complejo proceso anaeróbico originado por la actividad de algunos microorganismos llamados levaduras que procesan los hidratos de carbono que se liberaron en la etapa de hidrolisis acida, en este caso sería la celulosa, hemicelulosa, y los transforman en alcohol etílico y dióxido de carbono. (H.J. Vázquez, 2007).

La fermentación alcohólica se puede representar de la siguiente manera:

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

Ecuación 5.1 Fermentación alcohólica

El bioetanol es un tipo de alcohol inflamable que se obtiene a partir de la fermentación de ciertos tipos de material orgánico, principalmente la materia vegetal con alto contenido en celulosa, al ser una biomasa de origen vegetal, el bioetanol es considerado una energía renovable y su empleo disminuye ampliamente la emisión de gases contaminantes a la atmosfera, lo que es un gran aporte para disminuir la contaminación ambiental y como consecuencia, el calentamiento global. (Arriols, 2018).

Se produce mediante una fermentación alcohólica por medio de levaduras. Las levaduras fermentan los azucares simples, que proviene de la biomasa, dando como resultado final, etanol y dióxido de carbono. (Bio4.SA, 2017)

3.10.1.1 Fermentación aeróbica

La fermentación aeróbica es un proceso metabólico mediante el cual los organismos convierten sustancias, como azúcares, en productos energéticos a través de la acción de oxígeno, sin que se generen productos secundarios como en la fermentación anaeróbica. Es un proceso vital para muchas células, especialmente en organismos como los animales, plantas y ciertos microorganismos, donde el oxígeno se utiliza como donante final de electrones en la cadena respiratoria (B. Beenish, 2020).

La fermentación aeróbica, también conocida como respiración celular aeróbica, es un proceso biológico esencial que utiliza el oxígeno para descomponer carbohidratos y otros compuestos en energía, principalmente en forma de ATP. Este proceso ocurre en todos los organismos que dependen del oxígeno para sobrevivir y es la fuente principal de energía para células de organismos eucariotas. Gracias a su alta eficiencia, la fermentación aeróbica es fundamental para la vida en la Tierra y tiene aplicaciones industriales clave, como la producción de energía y compuestos bioquímicos (Carbonero, 1975).

3.10.1.2 Fermentación anaeróbica

La fermentación anaeróbica, que es un proceso respiratorio común en todas las bacterias y eucariotas, es una vía metabólica que convierte los carbohidratos en ácidos orgánicos, gases o alcoholes en condiciones anaeróbicas. La fermentación anaeróbica hace que el NADH reaccione con aceptores orgánicos endógenos de electrones, extrayendo energía de la molécula y produciendo NAD+ y un producto orgánico, como etanol, ácido láctico, ácido butírico, acetona, hidrógeno, dióxido de carbono, etc.

La fermentación normalmente ocurre en un entorno anaeróbico. Los microorganismos están diseñados como fábricas celulares capaces de fabricar de manera eficiente proteínas, enzimas, moléculas de sabor, vitaminas,

pigmentos y grasas. En la fermentación anaeróbica, los microorganismos producen en exceso productos biológicos valiosos, como metabolitos secundarios. Por lo general, implica ingeniería metabólica para inducir la producción de ciertos metabolitos manipulando genes metabólicos relevantes de los microorganismos (BOC, 2011).

La fermentación anaeróbica sigue varios pasos, aunque el principal es la glucólisis, que ocurre en el citoplasma de las células. En la glucólisis, la glucosa se divide en dos moléculas de piruvato, liberando una pequeña cantidad de ATP en el proceso. Cuando no hay oxígeno disponible, el piruvato se convierte en otros productos como ácido láctico o etanol, dependiendo del tipo de organismo (Varacallo, 2013).

3.10.1.3 Factores que afectan la Fermentación anaeróbica

La fermentación anaeróbica es un tipo de respiración que se produce en ausencia de oxígeno y libera menos energía, varios factores pueden influir en su eficiencia y productos finales:

- Diferentes bacterias, levaduras y hongos tienen distintas capacidades para fermentar sustratos. Por ejemplo, Saccharomyces cerevisiae en la fermentación alcohólica.
- La composición y cantidad del sustrato afectan la fermentación. Los carbohidratos simples (glucosa, fructosa) se fermentan más rápido que los complejos (almidón, celulosa)
- La temperatura afecta la velocidad de las reacciones enzimáticas. Cada microorganismo tiene un rango de temperatura óptimo. Temperaturas extremas pueden inhibir o detener la fermentación.
- El pH del medio influye en la actividad de los microorganismos. Un pH fuera del rango óptimo puede afectar negativamente la fermentación.
- Sustancias como antibióticos, etanol (en altas concentraciones) y ácidos orgánicos pueden inhibir la fermentación o alterar la producción de compuestos deseados
- El tiempo necesario depende del tipo de fermentación y del producto final esperado. Un tiempo insuficiente puede dar productos incompletos,

mientras que un tiempo excesivo puede generar compuestos indeseados (Carbonero, 2001) .

3.10.2 Microorganismos de producción de bioetanol

En muchos procesos de fermentación, la oxidación de azúcares simples bajo condiciones anaerobias involucra dos fases: Los principales microorganismos fermentadores son las levaduras: bacterias lácticas y propionicas.

3.10.2.1 Levaduras

La levadura son hongos unicelulares, muy pequeños, que, para poder observarlos en detalle, necesitamos de un microscopio. Estos microorganismos son muy abundantes en la naturaleza y se encuentran tanto el suelo, en las plantas (semillas, frutas, flores, etc.), como en el intestino de los animales. Una de sus principales funciones es la de descomponedores primarios de la materia muerta de plantas y animales en muchos ecosistemas. Se alimentan de azúcares de los que obtienen energía durante el proceso de fermentación, en este proceso de fermentación el azúcar, en ausencia de oxígeno, se transforma en etanol y dióxido de carbono. (CONICET-CIIDEPT, 2015).

3.10.2.2 Saccharomyces cerevisiae

Es el organismo mejor estudiado y una herramienta valiosa para la mayoría de los aspectos de la investigación básica sobre organismos eucariotas. Esto se debe a su naturaleza unicelular, que a menudo simplifica las cosas, ofreciendo la combinación de hechos de que casi todas las funciones biológicas encontradas en eucariotas también están presentes y bien conservadas en S. cerevisiae. Además, también se presta fácilmente a la manipulación genética a diferencia de otros organismos modelo (M. Parapouli, 2020).

La utilidad biotecnológica de cerevisiae reside en sus características biológicas únicas, es decir, su capacidad de fermentación, acompañada de la producción de alcohol y CO_2 y su resistencia a condiciones adversas de osmolaridad y pH bajo. Entre las aplicaciones más destacadas que implican el uso de S.

cerevisiae son las de las industrias de producción de alimentos, bebidas y biocombustibles. Esta revisión se centra exactamente en la función de S. cerevisiae en estas aplicaciones, solo o junto con otros microorganismos útiles involucrados en estos procesos. (M. Parapouli, 2020)

3.10.2.3 Zymomonas mobilis

Zymomonas mobilis es un bacilo gramnegativo, móvil, no esporulado, anaerobio facultativo aislado de bebidas alcohólicas en todo el mundo y en muchos jugos de fermentación obtenidos de plantas diversas en las que existe una elevada concentración de glucosa.

La capacidad para sobrevivir en líquido con elevada concentración de azucares y en concentraciones de etanol superiores a las que toleran las levaduras se debe en parte a su capacidad para realizar un metabolismo anaeróbico de la glucosa a través de acetaldehído y este es convertido a continuación en etanol y CO_2. Para ello se utiliza la via de Entner-Doudoroff, es el único microorganismo conocido capaz de utilizar este metabolismo anaeróbico con un único sustrato (IVAMI, 2015).

3.10.2.4 Pichia stiptis

Scheffersomyces stipitis es una levadura Crabtree negativa, conocida comúnmente por su capacidad para fermentar azúcares pentosos. A diferencia de las levaduras Crabtree positivas como Saccharomyces cerevisiae, el inicio de la fermentación en S. stipitis no depende de la concentración de azúcar, sino que está regulado por una disminución en los niveles de oxígeno.

Aunque S. stipitis ha sido ampliamente estudiada debido a su posible aplicación en la fermentación de pentosas, hay una cantidad limitada de información disponible sobre su metabolismo durante el crecimiento aeróbico en glucosa. Aquí, proporcionamos una comparación basada en la biología de sistemas entre las dos levaduras, descubriendo el metabolismo de S. stipitis durante el crecimiento aeróbico en glucosa en cultivos discontinuos y quimiostatos (Nielsen, 2012).

Pichia stipitis (actualmente Scheffersomyces stipitis) es una levadura no convencional que se encuentra en la madera en descomposición y otros materiales ricos en xilanos. Se distingue por su capacidad para fermentar xilosa, un azúcar abundante en la biomasa vegetal, algo que muchas levaduras no pueden hacer eficientemente (E. Johnson, 2011).

3.11 Destilación

Es una operación que se basa en el equilibrio de fases por medio del calor, esta separación se logra debido al diferencial de los puntos de ebullición de los componentes de la mezcla. En el proceso se va obteniendo un vapor que es rico como componente más volátil y que se vuelve a destilar sucesivamente. Cuando se alcanza el punto de azeótropo la mezcla no se puede destilar más (Zarza, 2020).

3.11.1 Destilación al vacío

La destilación de etanol al vacío es una técnica especializada utilizada para purificar el etanol mediante la reducción de la presión en el aparato de destilación, lo que reduce su punto de ebullición. Este método es particularmente útil para separar etanol de mezclas o aislar etanol de alta pureza sin exponerlo a altas temperaturas que podrían causar su descomposición o degradación. Al operar a presión reducida, la destilación al vacío minimiza el estrés térmico sobre el etanol, preservando su integridad química y garantizando un destilado de gran pureza (Kintek, 2025).

3.12 Cuantificación de azucares reductores

3.12.1 Método de Hermann Von Fehling

En 1849 el químico alemán Hermann Von Fehling desarrollo el método que hoy lleve su nombre que sirve para demostrar la presencia de glucosa y sus derivados. Este método se basa en el poder reductor del grupo aldehído, este se oxida convirtiéndose a acido y reduce la sal de cobre en medio alcalino a oxido de cobre formando así un precipitado color rojo.

Un aspecto importante a saber de esta reacción es que el aldehído puede detectarse muy fácil, aunque en la muestra exista una pequeña cantidad de este ya que la reacción se produce en un medio alcalino fuerte, la sensibilidad de este método es de 1:500, sin embargo, esto hace que el método pueda arrojar falsos positivos

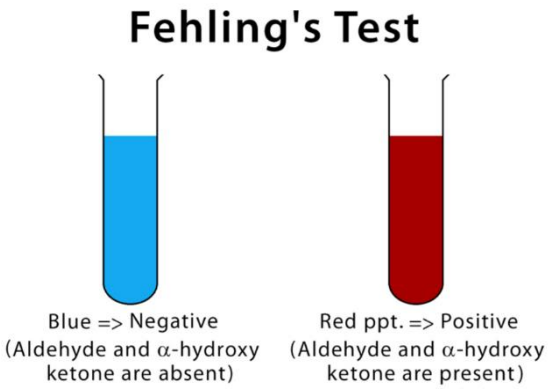
Las dos soluciones que se utilizan para este método son: sulfato de cobre y tartrato de sodio y potasio. Cuando los iones de cobre (II) reaccionan con el grupo aldehído de la muestra, se forma óxido de cobre (I), que forma un precipitado de color rojo. En la reacción entre la solución de Fehling y el grupo aldehído presente en el compuesto de muestra, el grupo aldehído se oxida a ácido y los iones de cobre (II) se reducen a iones Cu (I), dejando un precipitado rojo de óxido de cobre. (Chemistry Learner, 2021)

Reacción del aldehído en la solución de Fehling:

$$\mathrm{RCHO} + 2\mathrm{Cu}^{2+} + 5\mathrm{OH}^{-} \rightarrow \mathrm{RCOO}^{-} + \mathrm{Cu_2O} + 3\mathrm{H_2O}$$

Ecuación 5.2 Reacción de Fehling

Figura 7: Resultados del método de Fehling



Nota: (Chemistry Learner, 2021)

IV. Hipótesis de investigación

Los métodos de hidrólisis ácida-fermentación alcohólica para obtener etanol de segunda generación a partir de rastrojo de maíz y bagazo de caña tienen rendimientos comparables entre ambos materiales lignocelulósicos.

V. Metodología

5.1 Materiales y Método

Los experimentos para la determinación de etanol de segunda generación en rastrojo de maíz y bagazo de caña mediante los métodos de hidrólisis ácida y fermentación alcohólica se realizaron en los laboratorios de Alimentos y Ambiental, de la Dirección de Área de Conocimiento de Agricultura (DACA), UNI.

5.1.1 Materiales

Materia prima:

Para la obtención de etanol de segunda generación se utilizaron como principales materias primas rastrojo de maíz, obtenido de un plantío ubicado en el pueblo de Belén del departamento de Chinandega, y bagazo de caña, obtenido del Ingenio Montelimar ubicado en el municipio de San Rafael del sur del departamento de Managua.

Materiales, Reactivos y Equipos:

Los materiales, reactivos y equipos se usaron con respecto a las pruebas realizadas son los siguientes:

- Levadura: Se utilizó para la fermentación alcohólica de las muestras previamente hidrolizadas, se necesitarán concentraciones de $0.5\frac{g}{L}$, $1\frac{g}{L}, 2\frac{g}{L}\ m/v$.
- Ácido sulfúrico: Se utilizó en la hidrolisis acida a concentraciones de 1%, 2% y 3%.
- Tartrato de sodio: Se utilizó en la prueba de cuantificación de azucares reductores.
- Tartrato de potasio: Se utilizó en la prueba de cuantificación de azucares reductores.
- Hidróxido de sodio: Es un sólido blanco cristalino sin color. Se utilizó en la prueba de cuantificación de azucares reductores.

- Sulfato de cobre: Es un sólido cristalino de color azul y uno de los reactivos de Fehling ocupados en la prueba de cuantificación de azucares reductores.
- Agua destilada: Diluyente universal el cual se le han eliminado las impurezas para evitar reacciones indeseadas.

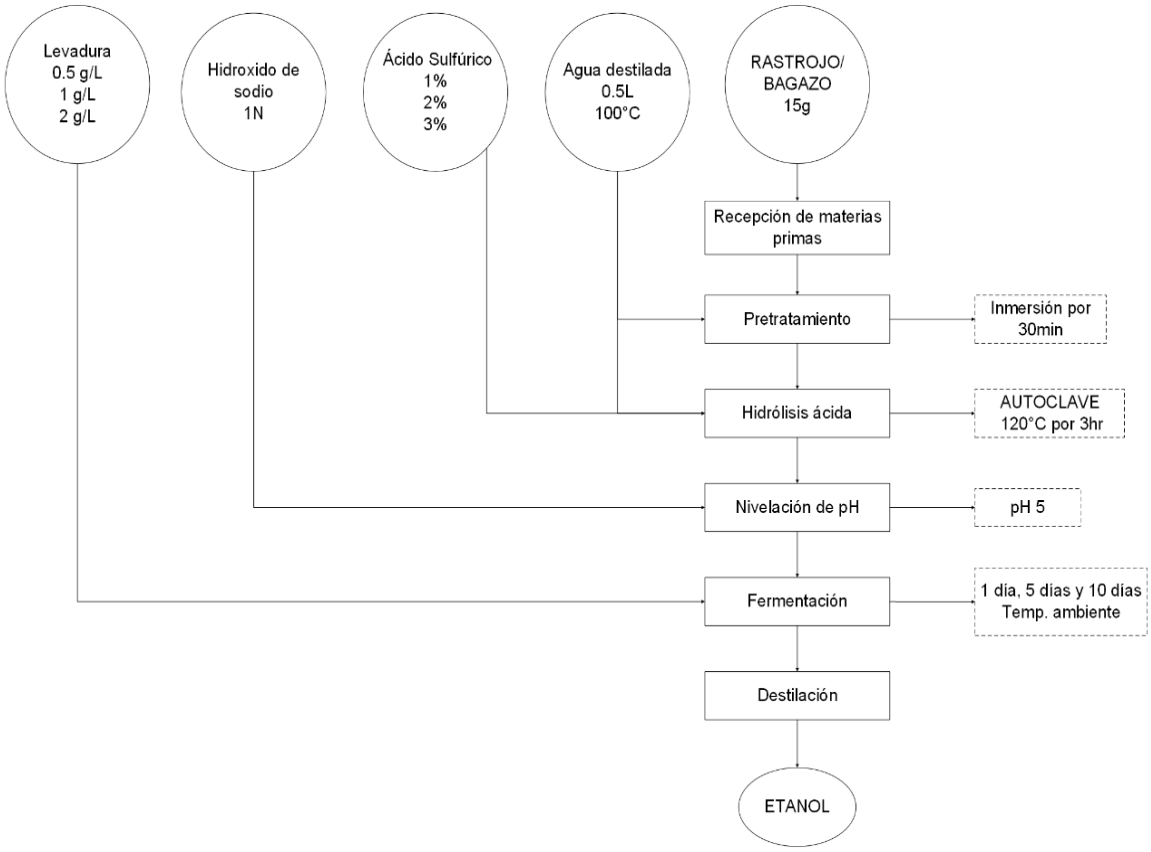
Tabla 3. Equipos utilizados para la obtención de Bioetanol de segunda generación

Prueba	Equipos
Caracterización de materia prima	Balanza analítica A&D Weighing Horno JP SELECTA Mufla Thermolyn Balanza de humedad Sartorius MA150
Hidrolisis acida	Autoclave All american electric 25X-1
Destilación	Rotavapor RE-301

Nota: Elaboración propia.

5.1.2 Método

Figura 8. Diagrama de flujo del proceso experimental de la obtención de etanol de segunda generación



Nota: Elaboración propia

Caracterización fisicoquímica de materia prima:

La caracterización de la materia prima se realizó en base a las normas TAPPI "Technical Association of the Pulp and Paper Industry", estos procedimientos aplican para pulpa, en este contexto es el residuo o subproducto de la cosecha de plantíos, papel, cartón y otros productos, excepto aquellos que contengan cantidades significativas de otros materiales distintos al agua que sean volátiles a 105± 2 °C, o para materiales que se oxidan y descompongan por arriba de 102 °C.

Determinación de porcentaje de humedad:

Debido a la naturaleza fibrosa de la materia prima es necesario aplicar las normas TAPPI T 550 "Determinación de humedad de equilibro en pulpas, papel

y cartón para análisis químico" (TAPPI, 2013). Este método consiste en la medición de la pérdida de peso de la muestra debido a la evaporación de agua y es determinado con la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de humedad} = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100 \qquad \text{Ecuación 7.1}$$

Pi: Peso inicial

Pf: Peso final

Se tomaron dos muestras de 5 gramos por cada una de las materias primas (Bagazo de caña y rastrojo de maíz) y se colocan en capsulas de aluminio, se mide el peso de la muestra con la capsula en una balanza analítica A&D Weighing la muestra es colocada a un horno JP SELECTA a 105 °C por 30 minutos. Una vez culminado el tiempo, la capsula es removida, enfriada a temperatura ambiente en un desecador y pesada en la balanza. La muestra es introducida al horno y sometida al mismo proceso hasta que su peso sea constante.

Así también se utilizó el método estándar de medición de contenido de humedad en un analizador de humedad marca Sartorius MA150. Ver **Anexo 1**

Determinación de porcentaje de cenizas:

Para este análisis se aplican las normas TAPPI T 211 "Ceniza en madera, pulpa, papel y cartón: combustión a 525°C" (TAPPI, 2013). Este método consiste en la determinación del contenido de minerales y materia inorgánica calcinando a altas temperaturas toda la parte orgánica de la muestra y se calcula con la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de cenizas} = \frac{A \text{ x } 100}{B} \qquad \text{Ecuación 7.2}$$

A: Peso de ceniza

B: Peso de la muestra libre de humedad

Dos muestras de 5g de bagazo de caña y rastrojo de maíz libres de humedad se colocan en crisoles de porcelana limpios y se pesan en una balanza analítica para luego introducirse en una mufla Thermolyn, que eleva la temperatura gradualmente de 100 °C hasta 525 °C, para carbonizar la muestra sin quemarla. Finalizada la incineración, se enfría a temperatura ambiente en un desecador. Por último, el crisol con la muestra es pesado en una balanza analítica. El procedimiento se repite hasta peso constante con una variación no mayor a ± 0.5 mg. Ver **Anexo 2**

Determinación de Solubles en agua, Celulosa, hemicelulosa y lignina:

Para este análisis se lleva a cabo el método de "Chesson-Datta" el cual consiste en determinar la cantidad de materia orgánica e inorgánica presente en la muestra y se calcula con las siguientes formulas:

$$\text{Porcentajes de solubles en agua} = \left(\frac{a-b}{a}\right) * 100 \qquad \text{Ecuación 7.3}$$

$$\text{Porcentajes de hemicelulosa} = \left(\frac{b-c}{a}\right) * 100 \qquad \text{Ecuación 7.4}$$

$$\text{Porcentajes de celulosa} = \left(\frac{c-d}{a}\right) * 100 \qquad \text{Ecuación 7.5}$$

$$\text{Porcentajes de lignina} = \left(\frac{e-d}{a}\right) * 100 \qquad \text{Ecuación 7.6}$$

$$\text{Porcentajes de ceniza} = \left(\frac{e}{a}\right) * 100 \qquad \text{Ecuación 7.7}$$

a: el peso inicial de la muestra.

b: el peso de la muestra luego de pasar por un sistema de reflujo por 1 hora, ser filtrado y secado en un horno hasta peso constante.

c: el peso de la muestra luego de ser mezclado con 150 ml de H_2SO_4 1N, calentado hasta ebullición en sistema de reflujo por 1 hora, lavado con agua destilada, filtrado y secado hasta peso constante.

d: el peso de la muestra luego de ser tratado con 10ml de H_2SO_4 al 72% por 4 horas, 150 ml de H_2SO_4 1N, calentado en reflujo por 1 hora, lavado, filtrado y secado hasta peso constante.

e: el peso de la muestra luego de ser calentado en una mufla hasta convertirlo en ceniza.

A dos mezclas de 1g con bagazo y rastrojo se agregaron 150 ml de agua destilada calentada hasta ebullición por 1 hora, luego las mezclas se filtran y los residuos se lavan con 300 ml de agua destilada caliente y se secan en un horno hasta alcanzar un peso constante. Posteriormente se agregan 150 ml de H_2SO_4 1 N a las partes sólidas, y calientan a reflujo por una hora. Se filtran y se lavan con 300 ml de agua destilada caliente, y se secan hasta peso constante.

El residuo seco se remoja en 10 ml de H_2SO_4 al 72% a temperatura ambiente por 4 horas. Una vez concluido el periodo se agregan 150 ml de 1N H_2SO_4 y se someten a reflujo por 1 hora. La parte solida se lava con 400 ml de agua destilada, se calienta en un horno a 105°C hasta peso constante. Por último, los sólidos secos se introducen a una mufla a 525°C por 2 horas hasta que se convierten en ceniza. La metodología detallada se encentra en el **Anexo 3**.

Cuantificación de azucares reductores:

- Método de Hermann Von Fehling

Para este análisis es utilizada la metodología de Hermann Von Fehling (1849) el cual se basa en la reacción de los azucares reductores de la muestra con los reactivos de Fehling que son: sulfato de cobre y tartrato de sodio y potasio, la reacción produce un precipitado rojo el cual se medirá posteriormente en un Fehling.

Primeramente, se preparan en dos beakers Pyrex de 200 ml dos soluciones que serán nombradas Fehling A y B, la primera contendrá 7g de sulfato pentahidratado de cobre (II) más 100ml de agua destilada y la segunda 35g de Tartrato de sodio y potasio más 10g de hidróxido de sodio y 100 ml de agua destilada posteriormente se mezclan a relación 1:1 en una probeta graduada Pyrex 50 ml para luego ser agregadas en dos tubos de ensayo donde se le añaden 2g de las muestras de las 2 materias primas a comparar, finalmente

los tubos se calientan a baño maría hasta notar cambios en la coloración. **Ver Anexo 4**

Pretratamiento:

Para esta etapa se ha observado en investigaciones anteriores (Bayona, 2021) que es más beneficioso el pretratamiento fisicoquímico de acción de agua caliente para la biomasa, este consiste en someter las dos muestras en agua caliente a 140 ºC por 20 minutos para romper las paredes de lignina. La metodología detallada se encentra en el **Anexo 5**

Hidrólisis ácida:

Una fracción solida de 5g proveniente del pretratamiento se hidroliza con ácido sulfúrico diluido. Los experimentos se llevan a cabo con ácido sulfúrico de 1%, 2% y 3% (v/v), relación 1:10 a 110 °C por 3 horas en autoclave All american electric 25X-1. Estas condiciones operacionales fueron seleccionadas basándose en resultados de investigación realizada en Indonesia (Rahmad, 2022). Ver **Anexo 6**

Fermentación alcohólica:

Las muestras hidrolizadas se estabilizan hasta obtener un pH de 5.5. Se utilizan levaduras de $0.5\frac{g}{L}$, $1\frac{g}{L}$ y $2\frac{g}{L}$ de concentración, estas concentraciones fueron seleccionadas de acuerdo a los resultados de la literatura consultada para la fermentación alcohólica (L. Oviedo, 2009), también se añade agua destilada a cada muestra y se deja fermentar por 72 horas bajo condiciones anaerobias. Finalmente, se toma el producto fermentado para realizar los análisis correspondientes. Ver **Anexo 7**

5.2 Diseño de parte experimental

5.2.1 Características Generales

Uno de los objetivos de este trabajo investigativo fue determinar las condiciones óptimas de hidrolisis acida y fermentación para la obtención del bioetanol con cada una de las materias primas utilizando como base investigaciones pasadas cuyas conclusiones pudiesen aportar en los parámetros de los dos métodos a utilizar.

Con la investigación se busca encontrar alternativas a combustibles fósiles que produzcan un menor impacto ambiental como es el caso del etanol de segunda generación puesto que se obtiene de desechos agroindustriales, para esto es necesario identificar cuáles son las variables del proceso y bajo qué condiciones una de las dos materias primas produce un mejor rendimiento de bioetanol.

5.2.2 Factores y Niveles

La investigación considera 3 factores con 3 niveles cada uno como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 4: Factores y niveles para el diseño experimental

Factores	Niveles		
	Bajo	Medio	Alto
Concentración de H_2SO_4	1%	2%	3%
Concentración de levadura	$0.5\frac{g}{L}$	$1\frac{g}{L}$	$2\frac{g}{L}$
Tiempo de fermentación	1 días	5 días	10 días

Nota: Elaboración propia

Se utiliza el método Taguchi debido a que permite evaluar el efecto de las variables independientes en la variable dependiente, así como también permite utilizar un número relativamente pequeño de corridas sin sacrificar la precisión de los resultados.

A. Variables independientes y sus niveles

- Materia prima: rastrojo, maíz y bagazo de caña.
- Concentración de ácido sulfúrico en la hidrólisis: 1%, 2% y 3%.
- Concentración de levadura en la fermentación: $0.5\frac{g}{L}$, $1\frac{g}{L}$, $2\frac{g}{L}$

B. Variable dependiente y su respuesta

- Rendimiento de bioetanol

5.2.3 Descripción y definición de los tratamientos

En el estudio experimental se aplicarán 9 tratamientos para cada una de las materias: Bagazo de caña y Rastrojo de Maíz, haciendo un total de tratamientos con sus respectivos factores y niveles. Para este diseño Taguchi se utilizó la herramienta Minitab la cual arrojo las siguientes combinaciones presentadas en la **Tabla 5.**

Tabla 5: Diseño Taguchi

Corridas	Porcentaje de H_2SO_4	Tiempo de fermentación	Concentración de Levadura
1	1%	1 día	$0.5\frac{g}{L}$
2	1%	5 días	$1\frac{g}{L}$
3	1%	10 días	$2\frac{g}{L}$
4	2%	5 días	$1\frac{g}{L}$
5	2%	10 días	$2\frac{g}{L}$
6	2%	1 día	$0.5\frac{g}{L}$
7	3%	10 días	$2\frac{g}{L}$
8	3%	5 días	$1\frac{g}{L}$
9	3%	10 días	$0.5\frac{g}{L}$

Nota: Elaboración propia

5.2.4 Variable respuesta

La variable dependiente definida para cuantificar la cantidad de etanol de segunda generación obtenido corresponde a la siguiente:

- Rendimiento de bioetanol

5.2.5 Definición de unidad experimental

La unidad experimental consiste en dos muestras de materias primas (Rastrojo de maíz y Bagazo de caña), cada una será sometida a nueve tratamientos descritos en la tabla 6 en la que se evalúan diferentes combinaciones de concentración de H_2SO_4, tiempo, concentración de levadura y tiempo para determinar y comparar las condiciones operacionales en el proceso de obtención de etanol de segunda.

VI. Resultados y Discusión

6.1 Caracterización de la materia prima, rastrojo de maíz y bagazo de caña

En la caracterización fisicoquímica de las dos muestras, se realizaron un total de 6 pruebas, 3 por cada materia prima calculando la respectiva media aritmética y desviación estándar. La metodología empleada se muestra más detallada en los **Anexos 1, 2 y 3**.

- Rastrojo de maíz:

El rastrojo de maíz se considera una biomasa lignocelulósica abundante y de bajo costo, lo que la convierte en un candidato prometedor para la producción de bioetanol de segunda generación. La caracterización de sus componentes es crucial para determinar su potencial y optimizar los procesos de conversión.

Tabla 6: Caracterización fisicoquímica del Rastrojo de maíz

Muestra	R1	R2	R3	Media Aritmética	Desviación Estándar
%Solubles	2.99	2.84	3.09	2.97	0.13
%Hemicelulosa	21.98	20.38	20.72	21.03	0.84
%Celulosa	35.16	34.23	35.98	35.12	0.88
%Lignina	15.26	16.21	15.19	15.55	0.57
%Ceniza	4.89	5.74	4.79	5.14	0.52
%Humedad	19.72	20.6	20.18	20.18	0.44
TOTAL	100	100	100		

Nota: Elaboración propia

Los datos presentados en la **tabla 6** revelan la composición del rastrojo de maíz en términos de porcentaje de solubles, hemicelulosa, celulosa, lignina, ceniza y humedad, elementos fundamentales para evaluar su aptitud para la producción de bioetanol. La metodología empleada, basada en réplicas y

análisis estadísticos, aporta robustez a la caracterización, permitiendo una interpretación confiable de los resultados obtenidos para este tipo de biomasa.

La celulosa y la hemicelulosa representan los componentes estructurales mayoritarios del rastrojo de maíz, con medias aritméticas de 35.12% y 21.03% respectivamente. Estos polisacáridos son la principal fuente de azúcares fermentables que, tras un pretratamiento y una hidrólisis enzimática eficientes, pueden convertirse en etanol mediante fermentación microbiana.

La desviación estándar relativamente baja para estos componentes (%Celulosa = 0.88, %Hemicelulosa = 0.84) indica una homogeneidad en la composición del rastrojo de maíz analizado, lo que favorece la predictibilidad y la escalabilidad de los procesos de conversión. La alta proporción de estos polisacáridos resalta el potencial del rastrojo de maíz como una fuente rica en carbohidratos estructurales para la metabolización.

El contenido de lignina, con una media de 15.55%, es un factor importante a considerar. Aunque la lignina proporciona rigidez a la pared celular de la planta, su estructura compleja dificulta el acceso de las enzimas a la celulosa y hemicelulosa, limitando la eficiencia de la hidrólisis enzimática. No obstante, una desviación estándar de 0.57% sugiere una consistencia en el contenido de lignina entre las muestras. El pretratamiento del rastro de maíz es una etapa crítica para remover o modificar la lignina y mejorar la accesibilidad de los polisacáridos a las enzimas hidrolíticas.

El porcentaje de solubles, con una media de 2.97%, es relativamente bajo, lo que sugiere una baja proporción de azúcares libres o compuestos fácilmente extraíbles en el rastro de maíz sin pretratamiento. El contenido de ceniza, con una media de 5.14%, representa los componentes inorgánicos presentes en la biomasa. Ambos componentes, solubles y cenizas, presentan desviaciones estándar bajas (0.13% y 0.52% respectivamente), indicando una estabilidad en su proporción. Si bien los solubles pueden contribuir mínimamente a la obtención de azúcares fermentables, las cenizas son generalmente consideradas un componente inerte en el proceso de la producción de etanol, aunque su composición puede influir en etapas posteriores del proceso.

Finalmente, el contenido de humedad del rastrojo de maíz, con una media de 20.18%, es un parámetro relevante para su almacenamiento y procesamiento. Una desviación estándar de 0.44% indica una homogeneidad en la humedad de las muestras analizadas. Un contenido de humedad relativamente alto puede favorecer la actividad microbiana y la degradación de la biomasa durante el almacenamiento.

- Bagazo:

El bagazo de caña, residuo agroindustrial abundante y de bajo costo generado tras la molienda de la caña de azúcar para la extracción de jugo, se destaca como una biomasa lignocelulósica con un gran potencial para la producción de bioetanol de segunda generación. La caracterización de sus componentes estructurales y minoritarios resulta esencial para evaluar su aptitud y optimizar los procesos de conversión biológica, buscando maximizar el rendimiento y la eficiencia de la producción de bioetanol.

Tabla 7: Caracterización fisicoquímica de Bagazo de caña

Muestra	**B1**	**B2**	**B3**	**Media Aritmética**	**Desviación Estándar**
%Solubles	7	8.24	8.12	7.79	0.68
%Hemicelulosa	24.32	25.33	25.77	25.07	0.66
%Celulosa	46.35	45.11	46.73	46.06	0.85
%Lignina	12.11	11.53	10.88	11.51	0.62
%Cenizas	3.92	3	2.73	3.22	0.65
%Humedad	6.3	6.3	5.97	6.35	0.41
%Total	100	100	100		

Nota: Elaboración propia

Los datos presentados en la **tabla 7** ofrecen una visión detallada de la composición del bagazo de caña, incluyendo los porcentajes de solubles, hemicelulosa, celulosa, lignina, ceniza y humedad, parámetros clave para determinar su viabilidad como materia prima bioenergética.

La celulosa y la hemicelulosa constituyen los componentes estructurales predominantes en el bagazo de caña, presentando medias aritméticas de 46.06% y 25.07% respectivamente. Estos polisacáridos representan la fracción

fermentable de la biomasa, ya que, tras un adecuado pretratamiento e hidrólisis enzimática, pueden ser descompuestos en azúcares simples, sustrato fundamental para la fermentación alcohólica que produce bioetanol.

La desviación estándar relativamente baja observada para ambos componentes (%Celulosa = 0.85, %Hemicelulosa = 0.66) indica una notable homogeneidad en la composición del bagazo de caña analizado, lo cual es ventajoso para la predictibilidad y la consistencia de los procesos de conversión a escala industrial. La elevada proporción de estos polisacáridos resalta el significativo potencial del bagazo de caña como una fuente rica en carbohidratos estructurales para la producción de bioetanol.

El contenido de lignina, con una media de 11.51%, es un factor crítico a considerar en el contexto de la producción de bioetanol. La lignina, polímero complejo que confiere rigidez a la pared celular vegetal, actúa como una barrera física que dificulta el acceso de las enzimas celulíticas y hemicelulíticas a los polisacáridos, limitando la eficiencia de la hidrólisis enzimática y, por ende, la liberación de azúcares fermentables. No obstante, la desviación estándar de 0.62% sugiere una cierta estabilidad en el contenido de lignina entre las muestras. El pretratamiento del bagazo de caña se torna indispensable para modificar la estructura de la lignina, incrementar la accesibilidad de los polisacáridos a las enzimas hidrolíticas y mejorar la eficiencia global del proceso de la producción de etanol.

El porcentaje de solubles, con una media de 7.79%, representa una fracción menor en la composición del bagazo de caña, aunque ligeramente superior al observado en el rastro de maíz. Esta fracción incluye compuestos de bajo peso molecular, como azúcares libres, extractivos y otros compuestos orgánicos que pueden ser liberados fácilmente.

El contenido de ceniza, con una media de 3.22%, representa los componentes inorgánicos presentes en la biomasa. Ambos componentes, solubles y cenizas, presentan desviaciones estándar relativamente bajas (0.68% y 0.62% respectivamente), sugiriendo una consistencia en su proporción. Si bien los solubles pueden contribuir a la carga orgánica del proceso, las cenizas son

mayormente inertes y su presencia debe ser considerada en el balance de masa del proceso.

Finalmente, el contenido de humedad del bagazo de caña, con una media de 6.35%, presenta el valor más bajo entre los componentes analizados, lo cual es una característica favorable para su almacenamiento y manejo. Una desviación estándar de 0.41% indica una homogeneidad en la humedad de las muestras. Un bajo contenido de humedad reduce los costos de transporte y almacenamiento, así como los requerimientos energéticos para el secado previo al procesamiento. No obstante, es importante considerar que un contenido de humedad demasiado bajo podría afectar la eficiencia de ciertos pretratamientos y etapas de hidrólisis, por lo que la optimización del contenido de humedad es un factor a considerar en el diseño del proceso global.

6.2 Determinar las condiciones óptimas de hidrólisis ácida y fermentación para la obtención del etanol

La variable del tiempo de hidrolisis se consideró constante igual a 3 horas para ambas materias primas, bagazo de caña y restrojo de maíz, se consideraron las mismas condiciones experimentales del diseño experimental L9 Taguchi presentados en la **Tabla 5**.

La fermentación empezó el 26 de septiembre de 2024, en eso días la temperatura promedio registrada fue de 27 °C debido a las lloviznas que se presentaron en esos días del mes el clima asimismo había un porcentaje de humedad de 88%. Los resultados del experimento en esas fueron los siguientes:

Tabla 8: Datos de etanol obtenidos en la fermentación del bagazo de caña

		Bagazo		
Corridas	H_2SO_4	tiempo Fermentación, día	Concentración Levadura, g/L	Etanol, ml
1	1	1	0.5	0
2	1	5	1	2
3	1	10	2	1.35
4	2	5	2	5.36
5	2	10	1	1.7
6	2	1	0.5	0
7	3	10	2	2.21
8	3	5	0.5	5.74
9	3	1	1	0

Nota: Elaboración propia

El análisis preliminar de los resultados experimentales revela variaciones significativas en la producción de etanol entre las diferentes corridas, lo que subraya la importancia de identificar la combinación de factores que conduce al rendimiento más alto. La corrida 8, que utilizó una concentración de ácido sulfúrico del 3%, un tiempo de fermentación de 5 días y una concentración de levadura de 0.5 g/L, obtuvo el mayor rendimiento de etanol con 5.74 mL. Sin embargo, para determinar las condiciones óptimas de manera robusta, es necesario analizar el efecto principal de cada factor en los diferentes niveles probados, lo que implica calcular la respuesta promedio para cada nivel de cada factor.

Para determinar las condiciones óptimas de fermentación, se calculó el promedio de la cantidad de etanol producido para cada nivel de cada factor. Para la concentración de ácido sulfúrico, los promedios fueron 1.12 mL para 1%, 2.35 mL para 2% y 2.65 mL para 3%. Esto sugiere que una mayor concentración de ácido sulfúrico en la hidrólisis, dentro de los niveles probados, favorece una mayor producción de etanol en la fermentación posterior.

Respecto al tiempo de fermentación, los promedios fueron 0 mL para 1 día, 4.37 mL para 5 días y 1.75 mL para 10 días, indicando que un tiempo de fermentación de 5 días resultó en la mayor producción promedio de etanol. En cuanto a la concentración de levadura, los promedios fueron 1.91 mL para 0.5 g/L, 1.23 mL para 1 g/L y 2.97 mL para 2 g/L, lo que sugiere que una concentración de levadura de 2 g/L es la más favorable para la producción de etanol bajo estas condiciones experimentales.

Basándonos en el análisis de los efectos principales, las condiciones óptimas de fermentación para el hidrolizado de bagazo de caña, dentro de los rangos de factores estudiados, parecen ser una concentración de ácido sulfúrico del 3% en la hidrólisis, un tiempo de fermentación de 5 días y una concentración de levadura de 2 g/L. Esta combinación de niveles resultó en los promedios más altos de producción de etanol para cada factor individualmente.

Es importante destacar que, si bien la corrida 8 mostró el mayor rendimiento individual, el análisis de los promedios por nivel proporciona una visión más generalizable de las condiciones óptimas.

Tabla 9: Datos de etanol obtenidos de la fermentación del rastrojo de maíz

Rastrojo				
Corridas	H_2SO_4, % v/v	Tiempo de Fermentación, días	Concentración Levadura, g/L	Etanol, mL
1	1	1	0.5	0
2	1	5	1	2.2
3	1	10	2	1.3
4	2	5	2	1.89
5	2	10	1	0.8
6	2	1	0.5	0
7	3	10	2	0.52
8	3	5	0.5	2.5
9	3	1	1	0

Nota: Elaboración propia

El diseño experimental Taguchi es una metodología robusta para optimizar procesos con múltiples variables, permitiendo identificar las condiciones que maximizan la respuesta deseada con un número reducido de experimentos. En este caso, se aplicó para determinar las condiciones óptimas de fermentación del hidrolizado de rastrojo de maíz para la producción de etanol, considerando la concentración de ácido sulfúrico en la hidrólisis (aunque no directamente una variable de fermentación, influye en la composición del hidrolizado), el tiempo de fermentación y la concentración de levadura. El objetivo es identificar la combinación de estos factores que resulta en la mayor cantidad de etanol producido.

El análisis de los resultados revela tendencias importantes. Al observar la respuesta (etanol producido) en cada corrida, se puede inferir preliminarmente que ciertas combinaciones de factores favorecen la producción de etanol. Por ejemplo, la corrida 8, con una concentración de ácido sulfúrico de 3%, un tiempo de fermentación de 5 días y una concentración de levadura de 0.5 g/L, arrojó el mayor volumen de etanol (2.5 mL). Sin embargo, para determinar las condiciones óptimas de manera sistemática, es necesario analizar la influencia de cada factor en los diferentes niveles probados.

Para identificar las condiciones óptimas, se debe calcular la respuesta promedio para cada nivel de cada factor. Por ejemplo, para la concentración de ácido sulfúrico al 1%, los resultados de etanol fueron 0 mL, 2.2 mL y 1.3 mL, dando un promedio de 1.17 mL. Similarmente, se calcularían los promedios para los niveles de 2% y 3% de ácido sulfúrico, así como para los diferentes niveles de tiempo de fermentación (1, 5 y 10 días) y concentración de levadura (0.5, 1 y 2 g/L). Este análisis de los efectos principales permite visualizar qué nivel de cada factor contribuye más a la producción de etanol.

Tras calcular los promedios de etanol para cada nivel de los factores, se puede determinar la combinación óptima. Un análisis preliminar de los datos sugiere que un tiempo de fermentación intermedio (5 días) parece favorecer la producción de etanol, como se observa en las corridas 2, 4 y 8. Respecto a la concentración de levadura, la corrida 8, con la menor concentración probada (0.5 g/L), obtuvo el mejor resultado, aunque es necesario considerar los promedios para cada nivel para una conclusión más robusta. La influencia de la concentración de ácido sulfúrico en la hidrólisis, aunque no directamente una variable de fermentación, también debe ser considerada en el contexto del rendimiento final de etanol.

La corrida 8 (3% H_2SO_4, 5 días, 0.5 g/L levadura) mostró el mayor rendimiento individual, pero el análisis de los efectos principales revelará si estos niveles son consistentemente los mejores para maximizar la producción de etanol en general.

6.3 Análisis y comparación de los porcentajes obtenidos de bioetanol por cada una de las materias primas

Tabla 10. Resultados de etanol del rastrojo de maíz y bagazo de caña.

Corridas	Concentración de H_2SO_4, % v/v	Tiempo de fermentación, días	Concentración de levadura, g-/L	Rastrojo de maíz, mL	Bagazo de caña, mL
1	1	1	0.5	0	0
2	1	5	1	2.2	2
3	1	10	2	1.3	1.38
4	2	5	2	1.89	5.36
5	2	10	1	0.8	1.7
6	2	10	0.5	0	0
7	3	10	2	0.52	2.21
8	3	5	0.5	2.5	5.74
9	3	1	1	0	0

Nota: Elaboración propia

El diseño experimental Taguchi L9 permitió evaluar de manera eficiente la influencia de la concentración de ácido sulfúrico en la hidrólisis, el tiempo de fermentación y la concentración de levadura en la producción de etanol a partir de dos materias primas lignocelulósicas: rastrojo de maíz y bagazo de caña.

Al comparar los resultados obtenidos para ambas biomasas bajo las mismas condiciones experimentales, se observan diferencias significativas en la cantidad de etanol producido, lo que sugiere que la naturaleza de la materia prima influye considerablemente en la eficiencia del proceso de fermentación. La corrida 8, con condiciones de 3% de ácido sulfúrico, 5 días de fermentación y 0.5 g/L de levadura, arrojó los mayores rendimientos individuales para ambas materias primas, con 2.5 mL de etanol para el rastrojo de maíz y 5.74 mL para

el bagazo de caña, indicando una potencial superioridad del bagazo bajo estas condiciones específicas.

Al analizar los efectos principales de cada factor para ambas materias primas (análisis realizado en respuestas anteriores), se identificaron las condiciones óptimas de fermentación. Para el rastrojo de maíz, las condiciones que mostraron el mayor promedio de producción de etanol fueron una concentración de ácido sulfúrico del 1%, un tiempo de fermentación de 5 días y una concentración de levadura de 2 g/L. En contraste, para el bagazo de caña, las condiciones óptimas identificadas fueron una concentración de ácido sulfúrico del 3%, un tiempo de fermentación de 5 días y una concentración de levadura de 2 g/L. Esta comparación revela que, aunque el tiempo de fermentación óptimo parece ser el mismo para ambas materias primas (5 días), la concentración de ácido sulfúrico requerida para la hidrólisis y la concentración de levadura que favorece la fermentación difieren entre el rastrojo de maíz y el bagazo de caña.

La diferencia en la concentración óptima de ácido sulfúrico para la hidrólisis podría atribuirse a las variaciones en la composición estructural de las paredes celulares del rastrojo de maíz y el bagazo de caña. Como se analizó previamente, el bagazo de caña presenta un mayor contenido de celulosa y hemicelulosa en comparación con el rastrojo de maíz, lo que podría requerir una mayor intensidad en el pretratamiento ácido para liberar eficientemente los azúcares fermentables. Esta liberación más efectiva de azúcares en el hidrolizado de bagazo de caña podría explicar los mayores rendimientos de etanol observados en general para esta materia prima en comparación con el rastrojo de maíz bajo las mismas condiciones de fermentación.

La concentración óptima de levadura también mostró diferencias sutiles, aunque en el análisis por promedios ambos mostraron el nivel de 2 g/L como favorable. Sin embargo, al observar la corrida con el mayor rendimiento individual para el rastrojo de maíz (corrida 8), se utilizó una concentración de levadura de 0.5 g/L. Esto podría indicar una interacción compleja entre la concentración de levadura y otros factores, o simplemente una variabilidad experimental. En general, la mayor producción de etanol obtenida del bagazo

de caña sugiere que esta biomasa podría ser una materia prima más eficiente para la producción de bioetanol bajo las condiciones experimentales evaluadas en este diseño Taguchi.

6.4 Análisis Estadístico

Al realizar el análisis del modelo Taguchi propuesto por el software Minitab, se obtuvieron los siguientes datos para cada una de las materias primas:

- **Bagazo:**

Tabla 11: Respuesta para relaciones Señal/Ruido (Bagazo de caña)

Level	Concentración de H_2SO_4	Concentración de levadura	Tiempo de fermentación
1	-10.458	-6.176	-40.000
2	-6.936	-9.790	11.788
3	-6.117	-7.545	4.701
Delta	4.340	3.614	51.788
Rank	2	3	1

Nota: Generado en Minitab Statistical Software

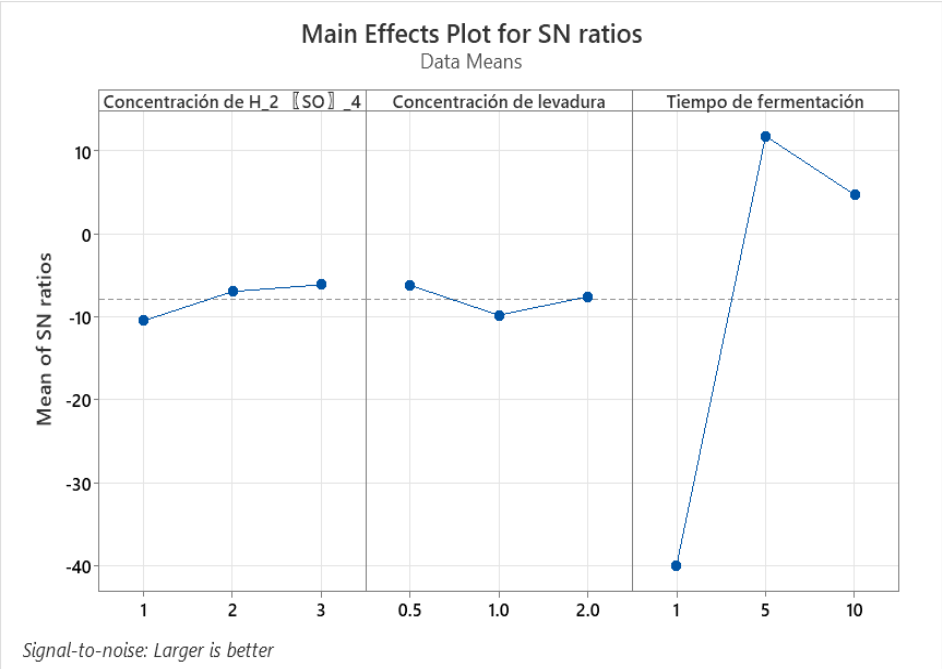
Usando la función ¨Larger is better¨, en esta tabla se analiza la relación S/N de cada factor, el delta o la diferencia entre el valor de S/N más alto y el más bajo así también como el orden de importancia de los factores según la magnitud del delta.

El factor más importante e influyente es el tiempo de fermentación y el nivel que tiene un valor de S/N más alto es el 2 es decir los 5 días de fermentación es el nivel óptimo, en este caso, que maximizó la variable respuesta.

El segundo factor más importante es la concentración de H_2SO_4 y el nivel con S/N más alto es el 3, es decir 3% de concentración de ácido fue lo óptimo para maximizar la variable respuesta.

El factor menos importante en este experimento fue la concentración de levadura, el nivel más óptimo de este factor fue el 1 es decir 0.5 de gr/L de levadura fue lo óptimo para este factor.

Figura 9: Grafica de efectos principales para relaciones Señal-Ruido (Bagazo de caña)



Nota: Generado en Minitab Statistical Software

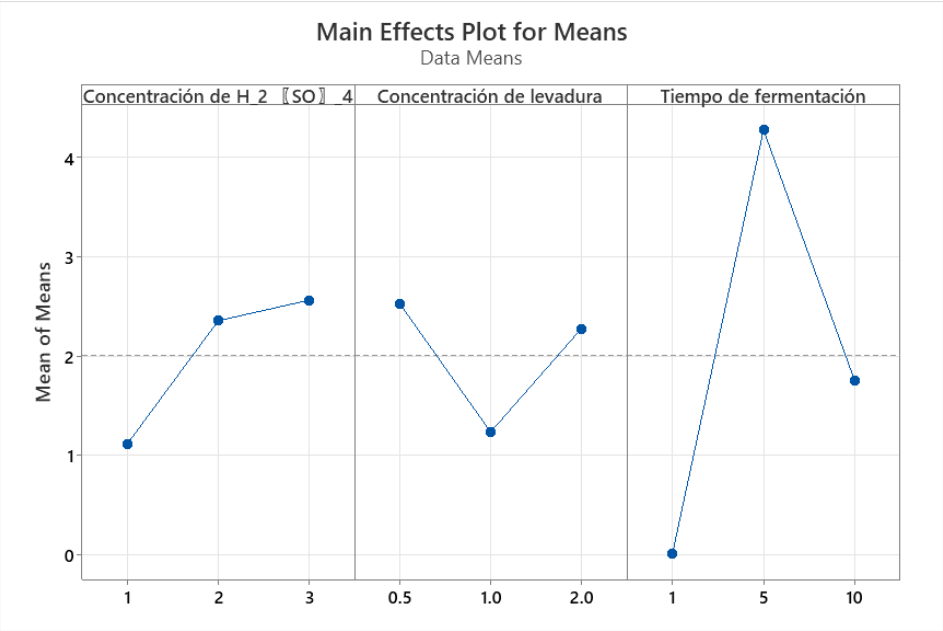
Tabla 12: Tabla de respuesta para medias (Bagazo de caña)

Level	Concentración de H_2SO_4	Concentración de levadura	Tiempo de fermentación
1	1.12000	2.52667	0.01000
2	2.35667	1.23667	4.27667
3	2.56333	2.27667	1.75333
Delta	1.44333	1.29000	4.26667
Rank	2	3	1

Nota: Generado en Minitab Statistical Software

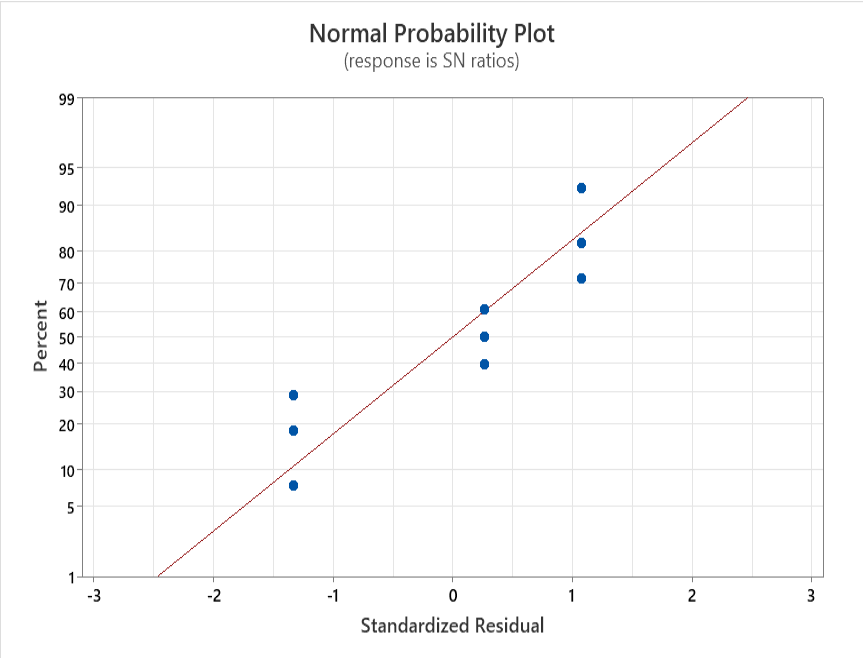
La tabla de respuesta para medias nos indica los valores promedio de la variable para cada nivel, estos resultados corroboran los anteriores de la tabla de S/N, sin duda la variable critica es el tiempo de fermentación seguido de la concentración de ácido y por último la concentración de levadura, la corrida con las condiciones óptimas fue la de 5 días de fermentación con 3% de concentración de ácido y 0.5 g/L de levadura.

Figura *10*: Grafica de Medias (Bagazo de caña)



Nota: Generado en Minitab Statistical Software

Figura 11: Gráfica de probabilidad Normal



Nota: Generado en Minitab Statistical Software

El grafico de probabilidad normal de los residuos para la relación S/N muestra la distribución de los residuos estandarizados en comparación con una distribución normal teórica, se puede observar que los residuos siguen una distribución normal ya que caen cerca de la línea y no hay valores atípicos importantes que se desvíen de la línea roja, esto respalda la validez al modelo.

- **Rastrojo:**

Tabla 13: Tabla de respuesta para relaciones Señal/Ruido (Rastrojo de maíz)

Level	Concentración de H_2SO_4	Concentración de levadura	Tiempo de fermentación
1	-10.523	-10.224	-40.000
2	-12.136	-11.697	6.685
3	-10.468	-10.247	-2.012
Delta	2.145	3.137	46.685
Rank	2	3	1

Nota: Generado en Minitab Statistical Software

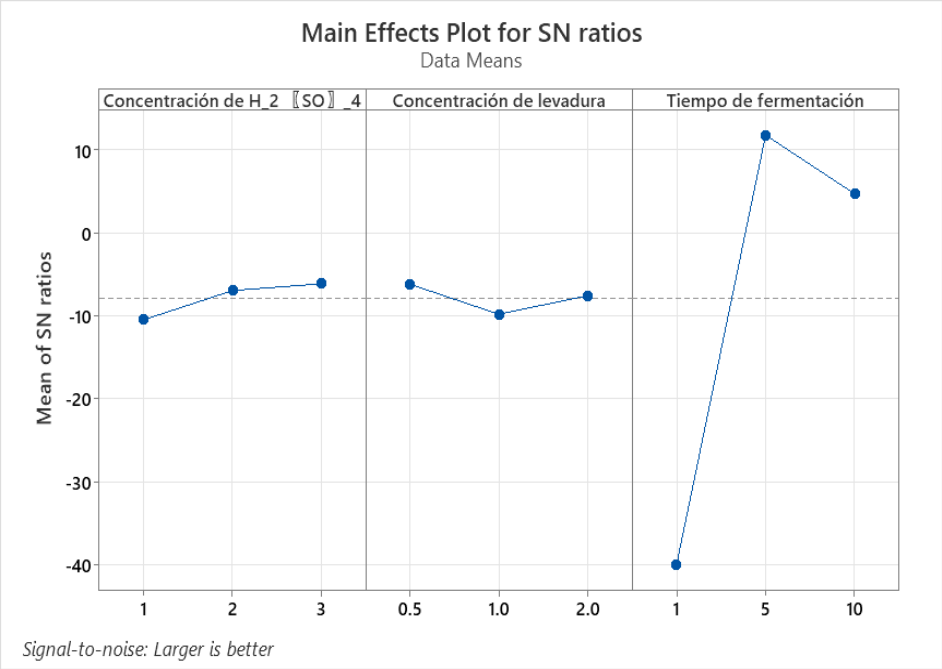
Esta tabla se analiza la relación S/N de cada factor, el delta o la diferencia entre el valor de S/N más alto y el más bajo así también como el orden de importancia de los factores según la magnitud del delta.

El factor más importante e influyente es el tiempo de fermentación y el nivel que tiene un valor de S/N más alto es el 2 es decir los 5 días de fermentación es el nivel óptimo, en este caso, que maximizó la variable respuesta.

El segundo factor más importante es la concentración de H_2SO_4 y el nivel con S/N más alto es el 3, es decir 3% de concentración de H_2SO_4 fue lo óptimo para maximizar la variable respuesta.

El factor menos importante en este experimento fue la concentración de levadura, el nivel más óptimo de este factor fue el 1 es decir 0.5 gr/L

Figura 12: Grafica de efectos principales para relaciones Señal-Ruido (Rastrojo de maíz)



Nota: Generado en Minitab Statistical Software

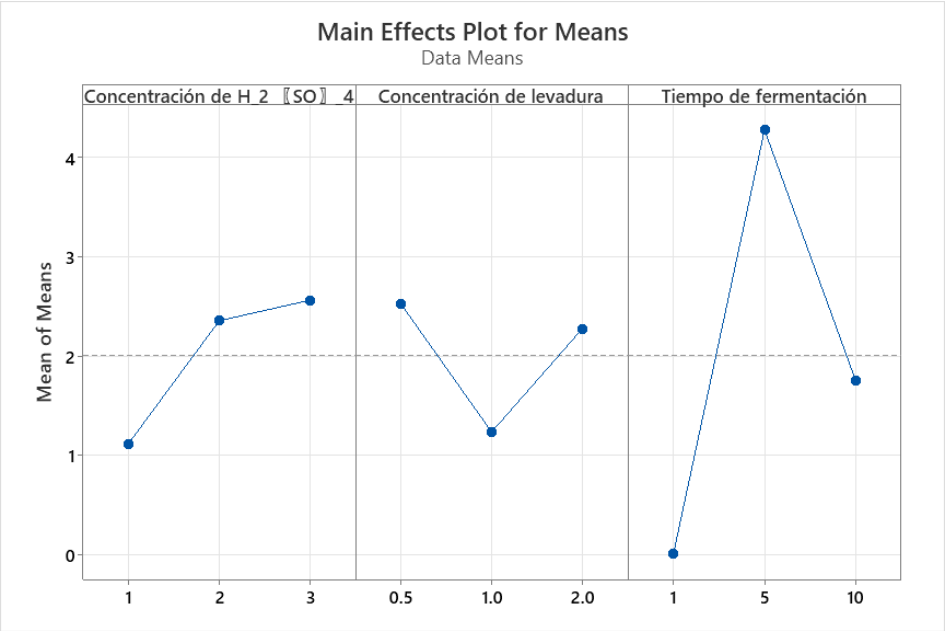
Tabla 14: Tabla de respuesta para Medias (Rastrojo de maíz)

Level	Concentración de H_2SO_4	Concentración de levadura	Tiempo de fermentación
1	1.13667	0.80667	0.01000
2	0.90000	1.00333	2.17000
3	0.98333	1.21000	0.84000
Delta	0.23667	0.40333	2.16000
Rank	3	2	1

Nota: Generado en Minitab Statistical Software

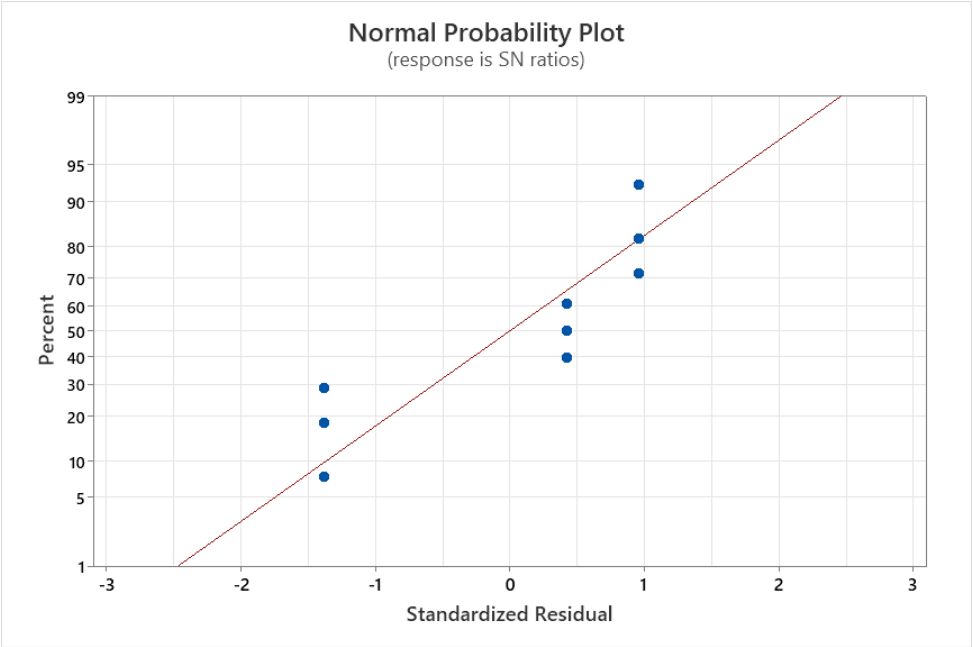
La tabla de respuesta para medias nos indica los valores promedio de la variable para cada nivel, estos resultados corroboran los anteriores de la tabla de S/N, la variable critica es el tiempo de fermentación seguido de la concentración de levadura y por último la concentración de ácido, la corrida con las condiciones óptimas fue la de 5 días de fermentación, 2g/L de levadura

Figura 13. Grafica de Medias (Rastrojo de maíz)



Nota: Generado en Minitab Statistical Software

Figura 14: Gráfica de probabilidad Normal



Nota: Generado en Minitab Statistical Software

El grafico de probabilidad normal de los residuos para la relación S/N muestra la distribución de los residuos estandarizados en comparación con una distribución normal teórica, se puede observar que los residuos siguen una distribución normal ya que caen cerca de la línea y no hay valores atípicos importantes que se desvíen de la línea roja, esto respalda la validez al modelo.

VII. Conclusiones

De acuerdo con los resultados que se obtuvieron se llegó a las siguientes conclusiones:

- La caracterización de ambas materias primas reveló las siguientes composiciones: en el rastrojo de maíz una media de 35.12% de celulosa, 21.03% de hemicelulosa, 15.55% de lignina y 5.14% de cenizas totales, y en el bagazo de caña una media de 46.65 de celulosa, 25.07% de hemicelulosa, 11.51% de lignina y 3.22% de cenizas totales.
- El análisis de los resultados del diseño experimental Taguchi indica que las condiciones óptimas de hidrólisis y fermentación para la obtención de etanol fueron las siguientes para ambas materias primas: 3% de concentración de ácido sulfúrico en la hidrolisis, un tiempo de fermentación de 5 días y una concentración de 2g/L de levadura.
- El análisis comparativo de la producción de etanol a partir de rastrojo de maíz y bagazo de caña demuestran que a las mismas condiciones el bagazo de caña presenta un mayor potencial para la producción de etanol, obteniendo 5.74 ml de etanol en comparación con los 2.5 ml que se obtuvieron con el rastrojo de maíz.

VIII. Recomendaciones

- Se recomienda la investigación de pretratamientos alternativos o combinados puesto que en el pretratamiento se descompone la estructura compleja de la lignocelulosa, permitiendo que las enzimas accedan más fácilmente a la celulosa y la hemicelulosa, por lo tanto, facilita la hidrólisis y aumenta el rendimiento de azucares fermentables.

- Se recomienda la investigación de la integración de otros tipos de material lignocelulósicos disponibles en la región debido a que la evaluación de estas materias primas permitiría diversificar las fuentes de biomasa para la producción de bioetanol, reduciendo la dependencia de materias primas específicas y aprovechando recursos disponibles en diferentes contextos geográficos.

Bibliografía

- A. Montalvan, A. Z. (Mayo de 2015). *SIBIUNI.* Obtenido de Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Ingeniería: https://ribuni.uni.edu.ni/1431/
- Agrioriente. (16 de mayo de 2019). *Agrioriente*. Obtenido de https://agrioriente.wordpress.com/morfologia-de-la-cana/
- Aguilar, N. (septiembre de 2019). *Effect of Storing of Sugar Cane Bagasse on Physical Properties.* Veracruz: Universidad veracruzana. Obtenido de https://www.redalyc.org/pdf/404/40419907008.pdf
- Álvarez, D. O. (15 de Julio de 2021). *Hidrolisis*. Obtenido de https://concepto.de/hidrolisis/
- AOP. (2019). *Biocombustibles de primera, segunda y tercera generación*. Obtenido de Biocombustibles de primera, segunda y tercera generación: https://www.aop.es/blog/biocombustibles-de-primera-segunda-y-tercera-generacion-que-son-como-contribuyen-a-reducir-emisiones/
- Aquoa fundación. (26 de Octubre de 2021). *Contaminación del aire: causas y tipos*. Obtenido de https://www.fundacionaquae.org/wiki/causas-y-tipos-de-la-contaminacion-del-aire/
- Arriols, E. (18 de Febrero de 2018). *Ecología y medio ambiente*. Obtenido de https://www.ecologiaverde.com/que-es-el-bioetanol-y-para-que-sirve-1147.html
- B. Beenish, S. M. (22 de Abril de 2020). Production of Lignocellulosic Biofuel by Agro-Industrial Waste. Michigan, U.S.A: https://doi.org/10.54692/LGUJLS.2019.030154.
- Bayona, M. (2021). *Universidad de Zaragoza*. Obtenido de Zaguan unizar: https://zaguan.unizar.es/record/108857/files/TAZ-TFG-2021-3518.pdf
- Bio4.SA. (04 de Marzo de 2017). *Bioetanol*. Obtenido de https://www.bio4.com.ar/productos/bioetanol/
- BOC. (2011). *Anaerobic Fermentation.* New York: Bocsi.
- Buenrostro, M. (28 de Septiembre de 2021). *Biocombustibles una solución energética .* Obtenido de https://keeui.com/2021/09/28/biocombustibles-una-solucion-energetica-bioetanol/
- Carbonero, P. (1975). Bioquimica de las Fermentaciones. Madrid: ETSIA.

- Carbonero, P. (2001). *Bioquimica de las fermentaciones.* Madrid: UPM.
- Castellanos, P. (11 de Mayo de 2024). *Manufactura Latam*. Obtenido de Bioetanol: definición, proceso de fabricación y usos industriales: https://www.manufactura-latam.com/es/noticias/bioetanol-definicion-proceso-de-fabricacion-y-usos-industriales
- CCAD. (2009). *Elementos de Diagnósticos de la Calidad del Aire y de su Marco Legal y de gestión.* Managua: MARENA.
- Chemistry Learner. (2021). *Chemistry Learner*. Obtenido de https://www.chemistrylearner.com/fehlings-solution.html
- Cheng, P. J. (2000). *Plant Fiber Chemistry.* China: China Light Industry Press.
- CONICET-CIIDEPT. (2015). *cultura cientifica.* Tucuman: Ministerio de Educación. Obtenido de https://www.fiq.unl.edu.ar/culturacientifica/extension-fiq/mundo-microscopico-i-la-levadura/
- E. Johnson, C. E.-E. (2011). Scheffersomyces (Pichia) Stipitis. En *The Teasts (Fifth Edition)* (págs. 21-44). ELSEVIER.
- Etece. (15 de Agosto de 2024). *Maiz*. Obtenido de Enciclopedia Humanidades: https://humanidades.com/maiz/
- F. Lu, R. J. (2020). Lignin. En R. Sun, *Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biochemicals* (págs. 169-2017). Amsterdam: Elsevier.
- FAO. (2016). *El maiz en la nutricion humana.* Obtenido de https://www.fao.org/4/t0395s/T0395S01.htm#Prefacio
- Fernandez, A. (17 de Agosto de 2009). *Biocombustible con celulosa*. Obtenido de https://www.consumer.es/medio-ambiente/biocombustible-con-celulosa.html
- G. Corea, P. M. (26 de Mayo de 2019). *Repositorio UNAN-Managua.* Obtenido de https://repositorio.unan.edu.ni/13595/1/Gustavo%20Emmanuel%20Correa%20Vega.pdf
- G. Gellerstedt, G. H. (2008). Chapther 9- Lignins: Major Sources, Structure and Properties. En *Monomers, Polymers and composites from renewable resources* (págs. 201-224). Elsevier.
- Garcia, I. (2008). *Hacia una definición de fibra alimentaria.* Caracas: ISSN.
- Gardey, J. P. (26 de enero de 2018). *Combustible - Qué es, definición y concepto*. Obtenido de https://definicion.de/combustible/

- Gobierno de Mexico. (21 de Agosto de 2018). *La caña de azúcar y su importancia para la industria azucarera*. Obtenido de https://www.gob.mx/agricultura/nayarit/articulos/la-cana-de-azucar-y-su-importancia-para-la-industria-azucarera?idiom=es
- Gonzalez, J. (2006). Ingenieria. *Revista de la Universidad de Costa Rica*. San Jose, Costa Rica : UCR.
- H. Scheller, P. (2010). Hemicelluloses. *The Annual Review of Plant Biology*, 263-289.
- H.J. Vázquez, O. D. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *Ingenieria, investigacion y tecnologia*.
- Ibarguen, L. (2019). *Siembra directa: el rol de los rastrojos.* Mendoza: Divulgacion cientifica.
- ILSA. (2018). *Hidrolisis Enzimatica.* Sicilia.
- IVAMI. (1 de Junio de 2015). *Zymomonas mobilis- Cultivo y detección molecular*. Obtenido de https://www.ivami.com/es/microbiologia-de-alimentos/648-zymomonas-mobilis-en-bebidas-cerveza-sidra-y-otras-bebidas-alcoholicas-obtenidas-por-fermentacion-cultivo-y-deteccion-molecular-por-pcr
- J. E. Braham, R. B. (1978). *Pulpa de cafe: Composicion, tecnologia y utilizacion.* Panaman: IDRC-108s.
- Jhonathan Lopez, M. M. (2024). *repositorio uncp*. Obtenido de https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/11371/T010_72653775_T%20-%20T010_70114837_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Josifovich, J. A. (1988). *Rastrojos y residuos en la produccion bovina.* Argentina: INTA.
- K. Montiel, L. R. (Diciembre de 2015). Obtenido de Repositorio UNAN-Managua: https://repositorio.unan.edu.ni/1357/1/Monograf%C3%ADa%20KiaraLeticia.pdf
- Kintek. (Marzo de 2025). *Kintek solution for researching* . Obtenido de https://es.kindle-tech.com/faqs/what-is-the-vacuum-distillation-of-ethanol
- L. Oviedo, C. M. (Junio de 2009). Levaduras autóctonas con capacidad fermentativa en la producción de etanol a partir de pulpa de excedentes de plátano Musa. *SciELO*. Obtenido de SciELO: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-

34752009000100005#:~:text=En%20la%20obtenci%C3%B3n%20del%20etanol,en%20la%20producci%C3%B3n%20del%20alcohol.

- Lobert. (20 de diciembre de 2000). *thanol, isopropanol, methanol, and ethylene glycol poisoning.* Utah: Crit Care Nurse.
- M. Chavez-Sifones, M. D. (Diciembre de 2013). Lignina, estructura y aplicaciones: Metodos de despolimerizacion para la obtencion de derivados aromaticos de interes industrial. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 15-46.
- M. Parapouli, A. V. (2020). Saccharomyces cerevisiae y sus aplicaciones industriales. *licenciatario AIMS Press*, 1-31.
- M. Viñal, A. B. (2012). Obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica. *Sistema de Infromacion Cientifica Redalyc*, 7-16. Obtenido de redalyc UAEMEX: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223123848002
- M. Viñals-Verde, A. B.-G.-A. (2012). Obtencion de etanol apartir de biomasa lignocelulosica. *ICIDCA*, 7-16.
- Mcneel, D. O. (18 de 04 de 2016). *Processes using antibiotic alternatives in bioethanol production.* Obtenido de https://patents.google.com/patent/MX2012010631A/en
- Morales, R. (23 de junio de 2010). Nicaragua con potencial para el desarrollo de biocombustibles. *La prensa*.
- N. Montoya, J. M. (2020). *Second generation´s Bioethanol production from the organic fraction of solid urban waste.* Bogota.
- N. Mosier, C. W. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. En *Bioresource Technology,* (págs. 673–686). ELSEVIER.
- Nielsen, J. (2012). Scheffersomyces stipitis : un estudio comparativo de biología de sistemas con la levadura Crabtree positiva Saccharomyces cerevisiae. *BMC*, 11-20.
- P. Lenihan, A. O. (2010). Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. *ELSEVIER*, 395-403.
- Porto, J. P. (30 de Octubre de 2018). *Etanol - Qué es, definición y concepto*. Obtenido de Etanol - Qué es, definición y concepto: https://definicion.de/etanol/
- Prensa, L. (16 de Agosto de 2007). *Nicaragua "cosechara" mas etanol*. Obtenido de laprensani: https://www.laprensani.com/2007/08/16/economia/1308000-nicaragua-cosechara-mas-etanol

- Primagas. (23 de mayo de 2018). *Biocombustibles: qué son, tipos, ventajas y desventajas*. Obtenido de https://www.primagas.es/blog/biocombustibles
- Rahmad, A. R. (2022). Effect of acid hydrolysis on bioethanol production from oil palm fruit bunches. *materialstoday: PROCEEDINGS*, 276-281.
- Riaño, S. (2010). produccion de bioetanol de subproductos agroindustriales lignocelulosicos. *revista Tumbaga*, 67.
- Romero, K. M. (2015). *Obtencion de bioetanol a partir de la coronta del maiz variedad HS-5 .* Managua.
- Rosa, S. M. (2015). *Hidrólisis ácida de celulosa y biomasa lignocelulósica .* Madrid: Instituto de catalisis y petroleoquimica.
- Salazar, C. (2014). *Hidrolisis enzimatica y su aplicacion en alimentos.* San Jose: Tecno.
- SIN. (2021). *CNDC*. Obtenido de https://www.cndc.org.ni/graficos/graficaGeneracion_Tipo_TReal.php
- Suarez, G. (2022). *Conceptos de biocatalisis de la lignocelulosa desde un enfoque de ingenieria de procesos y sistemas.* Peru: UTEC.
- TAPPI. (2013). *Ceniza en madera, pulpa, papel y carton> combustion a 525 C*. Obtenido de https://www.tappi.org/content/sarg/t211.pdf
- TAPPI. (2013). *Determinación de humedad de equilibro en pulpas, papel y cartón para análisis químico*. Obtenido de https://www.tappi.org/content/tag/sarg/t550.pdf
- TAPPI. (s.f.). *Ceniza en madera, pulpa, papel y cartón: combustión a 525°C*. Obtenido de https://www.tappi.org/content/sarg/t211.pdf
- Tejedor, A. S. (2016). *Tecnología de la celulosa. La industria papelera*. Obtenido de https://www.plantasyhongos.es/BH-/11-industria/celulosa.htm
- Varacallo, M. (2013). *Bioquimica,Glucolos.* Barbados: Statpearls .
- W. Rivas, E. M. (noviembre de 2019). *SIBIUNI.* Obtenido de Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Ingeniería: https://ribuni.uni.edu.ni/3907/
- Wegener, D. F. (1984). *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions.* Berlin .
- Willaart, B. (2012). Retos medioambientales de la industria alimentaria. Universidad de Burgos.
- Zarza, L. (2 de Abril de 2020). *iagua* . Obtenido de https://www.iagua.es/respuestas/que-es-destilacion-y-que-sirve

Anexos

Anexo 1. Determinación de porcentaje de humedad

El contenido de humedad en una muestra es la cantidad de agua en un material solido expresada por un porcentaje de su peso total ya sea base húmeda o base seca. Se siguió el método TAPPI T 550

Muestra: se realizaron 3 corridas por materia prima, pesando cada una 5 g

Materiales:

1. Capsula de porcelana
2. Horno
3. Balanza analítica
4. Deshumidificador Sartorious 150C

Procedimiento:

1. Pesar 5g de cada materia prima (bagazo y rastrojo) y colocarlas en capsulas de porcelana
2. Calentar en el horno a 105º por 30 min
3. Dejar enfriar en un desecador hasta temperatura ambiente y volver a pesar
4. Volver a meter al horno y repetir el procedimiento hasta que el peso no varie más de 0.1%.

Cálculos:

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

$$Porcentaje\ de\ humedad = \frac{Pi - Pf}{Pi} * 100$$

Ecuación 7.1

Pi: Peso inicial

Pf: Peso final

Así también, se realizó medición de humedad en el deshumidificador marca Sartorious 150C el cual calcula automáticamente el porcentaje, cada medición se realizó con el mismo peso de 5 g.

Anexo 2. Determinación de porcentaje de ceniza

La determinación de cenizas se basa en la incineración de la materia orgánica a alta temperatura, dejando como residuo únicamente los compuestos minerales (materia inorgánica). El resultado se expresa como porcentaje respecto al peso seco de la muestra.

Materiales:

- Mufla
- Crisoles de porcelana
- Balanza analítica
- Desecador
- Pinzas metálicas
- Espátulas

Procedimiento:

1. Pesar dos porciones de 5g de cada tipo de muestra (bagazo y rastrojo), utilizando la balanza analítica.
2. Colocar cada muestra en un crisol limpio y seco para luego introducir los crisoles en la mufla.
3. Programar la mufla para elevar la temperatura gradualmente de 100 °C hasta 525 °C. Luego mantener la temperatura de 525 °C durante 4 horas o hasta que toda la materia orgánica se haya incinerado.

4. Posteriormente, retirar los crisoles con pinzas y colocarlos en un desecador hasta que estén a temperatura ambiente.
5. Pesar los crisoles con las cenizas. Repetir el proceso de calentamiento y enfriamiento si es necesario, hasta obtener peso constante.

Cálculos:

Utilizar la siguiente fórmula para determinar el porcentaje de cenizas:

$$\%\ de\ cenizas = \left(\frac{Ax100}{B}\right)$$

A: Peso de la ceniza

B: Peso de la muestra seca

Anexo 3. Determinación de solubles en agua, celulosa, hemicelulosa, lignina y ceniza.

La determinación de solubles en agua, celulosa, hemicelulosa, lignina y ceniza se realizó según el método de Chesson-Datta para las dos materias primas.

Materiales:

Sistema de reflujo

1. Plancha de calentamiento
2. Condensador de reflujo de Dimroth
3. Matraz de fondo redondo
4. Mangueras de goma

Sistema de filtrado

1. Kitasato
2. Bomba de vacío
3. Embudo Buchner
4. Papel filtro

5. Horno de secado
6. Mufla
7. Balanza analítica
8. Capsula de porcelana

Reactivos

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

Muestra: se realizaron 3 corridas por materia prima,6 en total, pesando cada una 1 g y estando libre de humedad

Procedimiento:

1. Se mezclo la muestra de 1g (a) con 150 ml de agua destilada en un balón de 250 ml. Luego, se montó un sistema de reflujo con un baño térmico y se procedió a calentar la muestra en una malla hasta alcanzar ebullición, manteniendo esta condición por 1 hora.
2. La muestra se filtró usando un Kitasato y una bomba de vacío. El sólido residual se lavó con 300 ml de agua destilada caliente.
3. El sólido residual fue secado en un horno hasta alcanzar un peso constante, el cual se registró como peso (b).
4. El residuo se mezcló con 150 ml de 1N H_2SO_4 y se calentó hasta ebullición en el sistema de reflujo durante 1 hora.
5. La mezcla se filtró y lavó con 300 ml de agua destilada caliente, posteriormente se secó la parte solida hasta alcanzar un peso constante. Este se registró como peso (c).
6. El residuo seco se trató con 10 ml de H_2SO_4 al 72% a temperatura ambiente durante 4 horas. Transcurrido este tiempo, se añadieron 150 ml de H_2SO_4 1N y se calentóó la mezcla a reflujo durante 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 residuo se calentó en una mufla hasta convertirlo en ceniza. El peso fue registrado como peso (e).

Tabla 15: Resultados de las variables de la ecuación del método Chesson-Datta (Rastrojo de maíz)

	Rastrojo				
	a	b	c	d	e
R1	1	0.92	0.71	0.29	0.07
R2	1	0.97	0.62	0.26	0.03
R3	1	0.96	0.57	0.24	0.01

Tabla 16: Resultados de las variables de la ecuación del método Chesson-Datta (Bagazo de caña)

	Bagazo				
	a	b	c	d	e
M1	1	0.93	0.61	0.36	0.06
M2	1	0.81	0.54	0.3	0.03
M3	1	0.94	0.58	0.24	0.04

Anexo 4. Método Fehling para determinación de azucares reductores

Para la cuantificación de azucares reductores, se realizó una prueba con el método de Fehling, hay que entender que este es un método cualitativo ya que solo indica si en la muestra hay presencia de azucares reductores por medio de una tinción.

Materiales:

1. Malla
2. Mechero Buncen
3. Beakers
4. Probeta graduada
5. Tubos de ensayo

Reactivos:

1. Sulfato de cobre
2. Tartrato de sodio y potasio
3. Agua destilada
4. Hidróxido de sodio

Muestra:

Preparación de la solución de Fehling A

Solución al 3% de sulfato cúprico cristalizado.

1. Pesar 15g de $CuSO_4$

2. Disuelva en agua destilada

3. Afore a 500 ml de agua destilada en un balón aforado.

Preparación de la solución de Fehling B.

Solución al 15% de tartrato de sodio y potasio en solución, se aforó a 100 ml.

1. Prepara 500 ml de NaOH al 5% (pesar 33.3g de NaOH y aforar en un balón de 500 ml)

2. Pesar 75g de tartrato de sodio y potasio

3. Se disolvió en agua

Procedimiento:

1. Se mezclo en relación 1:1 la solución A y B en un balón de 1000 ml
2. Posteriormente se pasaron a unos tubos de ensayo donde se llenaron hasta la mitad
3. Se agregó 2g de cada muestra en los tubos de ensayo
4. Se calentó a baño maría por 2 min hasta que se notó un precipitado de color rojizo

Anexo 5. Pretratamiento

El pretratamiento físico que se les realizó a las muestras fue con agua hirviendo, se separaron en 6 beakers, 3 beakers con rastrojo y 3 con bagazo, cada uno con 15 gramos, así mismo todas se separaron por la concentración de ácido que posteriormente se les agregaría y se dejaron en remojo por 30 minutos en agua caliente.

Anexo 6. Hidrolisis ácida

Preparación de solución de ácido sulfúrico

Materiales:

1. Beaker de 500ml
2. Matraz de 1000ml
3. Pipetas

Reactivos:

- Ácido sulfúrico
- Agua destilada

Procedimiento:

- Solución de 1%: se agregaron 10 ml de ácido sulfúrico en un matraz de 1000 ml y se aforo con agua destilada.
- Solución de 2%: se agregaron 20 ml de ácido sulfúrico en un matraz de 1000 ml y se aforo con agua destilada.
- Solución de 3%: se agregaron 30 ml de ácido sulfúrico en un matraz de 1000 ml y se aforo con agua destilada

Se prepararon 2 soluciones por concentración para luego ser agregadas a los beaker anteriormente rellenados con bagazo y rastrojo pretratados para ser llevados a la autoclave a 120°C por 3 horas.

Anexo 7. Fermentación

Materiales:

- Levadura

Procedimiento:

Al salir de la autoclave se tuvo que nivelar el pH de las soluciones a 5 ya que la fermentación se favorece en condiciones ligeramente acidas, para realizar esto se estabilizaron las muestras con una base, en este caso, hidróxido de sodio 1N. Para preparar el inoculo se utilizaron 3 concentraciones de levadura (0.5 g/L, 1g/L y 2g/L) previamente activadas con el fin de evaluar su efecto en la producción de etanol en ambas materias primas.

Posteriormente, se evaluaron 3 tiempos de fermentación: 1, 5 y 10 días. Manteniendo las condiciones anaeróbicas en recipientes sellados y acondicionados con trampas de aire. En este proceso la levadura metaboliza los azucares transformándolos en etanol y CO_2.

Al finalizar el tiempo de la fermentación, el etanol fue separado del medio fermentado mediante destilación utilizado un rotavapor con la temperatura a 78 °C.

Anexo 8. Análisis Estadístico

- **Bagazo de caña**:

Tabla 17: Coeficientes del modelo para relación Señal-Ruido (Bagazo de caña)

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	-7.8370	0.6325	-12.390	0.006
Concentr 1	-2.6206	0.8945	-2.930	0.099
Concentr 2	0.9011	0.8945	1.007	0.420
Concentr 0.5	1.6607	0.8945	1.857	0.205
Concentr 1.0	-1.9532	0.8945	-2.183	0.161
Tiempo d 1	-32.1630	0.8945	-35.956	0.001
Tiempo d 5	19.6249	0.8945	21.939	0.002

Nota: Generado en Minitab Statistical Software

En el análisis estadístico de Taguchi “P” indica que tan probable los resultados que se ven sean al azar, un valor menor a 0.05 indicaría entonces que hay evidencia estadística que ese factor tenga un efecto significativo en la variable respuesta, en este caso el factor que tiene más influencia en la variable respuesta es el tiempo de 1-5 días, la concentración de 1% de H_2SO_4 también se debería de considerar, aunque sea marginalmente significativo.

Tabla 18: Ajuste del modelo (Bagazo de caña)

S	R-Sq	R-Sq(adj)
1.8976	99.85%	99.40%

Nota: Generado en Minitab Statistical Software

Los valores de R-Sq y R-Sq(adj) son muy altos y cercanos a 100% lo que significa que el modelo se ajusta bien a los datos, los factores, en especial el tiempo de fermentación, son buenos para predecir la variable respuesta y que el modelo explica el 99.40% de la variación de los factores y el etanol obtenido.

- **Rastrojo de maíz**:

Tabla 19: Coeficientes del modelo para relación Señal-Ruido (Rastrojo de maíz)

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	1.00667	0.04993	20.163	0.002
Concentr 1	0.13000	0.07061	1.841	0.207
Concentr 2	-0.10667	0.07061	-1.511	0.270
Concentr 0.5	-0.20000	0.07061	-2.833	0.105
Concentr 1.0	-0.00333	0.07061	-0.047	0.967
Tiempo d 1	-0.99667	0.07061	-14.116	0.005
Tiempo d 5	1.16333	0.07061	16.476	0.004

Nota: Generado en Minitab Statistical Software

En el análisis estadístico de Taguchi “P” indica que tan probable los resultados que se ven sean al azar, un valor menor a 0.05 indicaría entonces que hay evidencia estadística que ese factor tenga un efecto significativo en la variable respuesta, en este caso al igual que con el análisis del bagazo el factor más importante con respecto a la variable respuesta es el tiempo de fermentación, siendo los 5 días de fermentación los más óptimos, asimismo las concentraciones de ácido y levadura no son efectos estadísticamente significativos.

Tabla 20: Ajuste del modelo (Rastrojo de maíz)

S	R-Sq	R-Sq(adj)
0.1498	99.40%	97.61%

Nota: Generado en Minitab Statistical Software

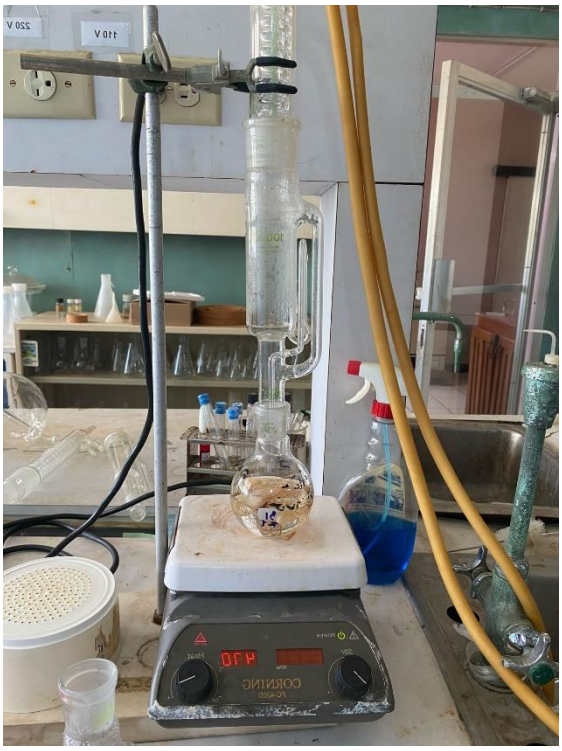
Los valores de R-Sq y R-Sq(adj) son muy altos y cercanos a 100% lo que significa que el modelo se ajusta bien a los datos, los factores, en especial el tiempo de fermentación, son buenos para predecir la variable respuesta y que el modelo explica el 97.61% de la variación de los factores y el etanol obtenido. El valor de S, desviación estándar del error, es relativamente bajo lo que sugiere que los puntos de datos están bastante cerca de la línea de regresión ajustada.

Anexo 9. Evidencias de la fase experimental

- Determinación de humedad

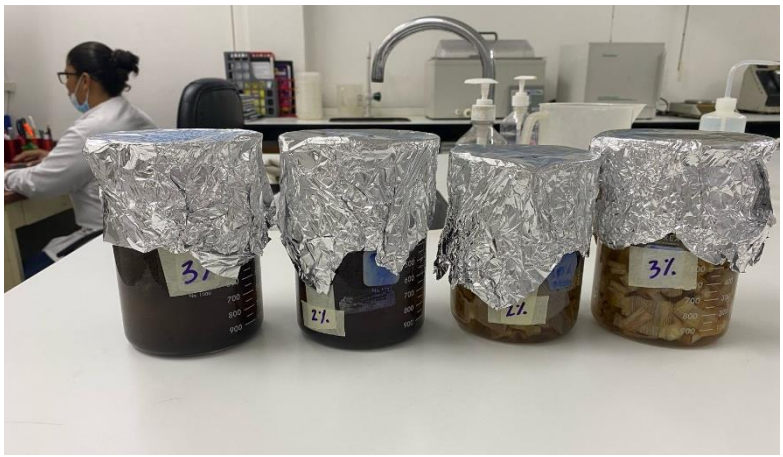
- Determinación de cenizas

- Solubles en agua

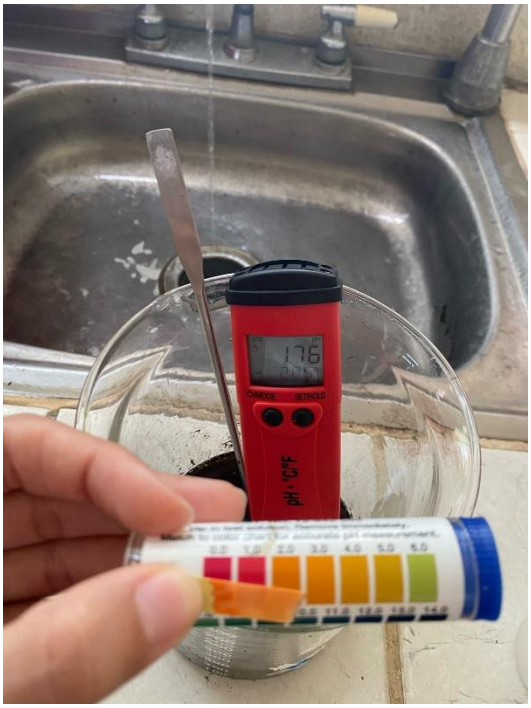


- Cuantificación de azucares por método de Hermann von Fehling

- Hidrólisis ácida

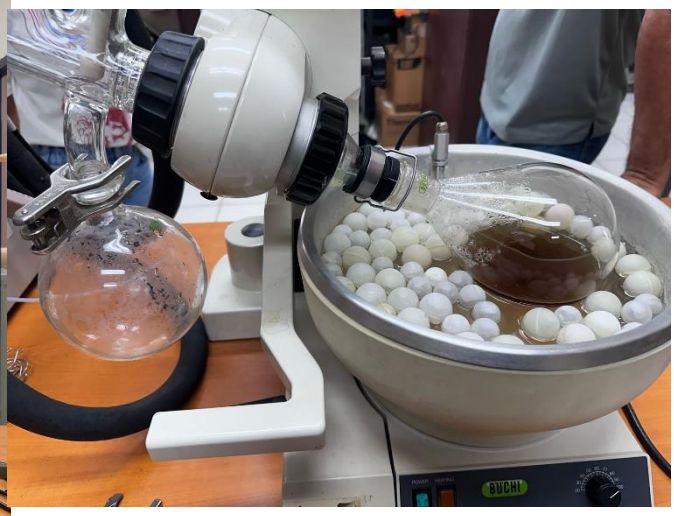


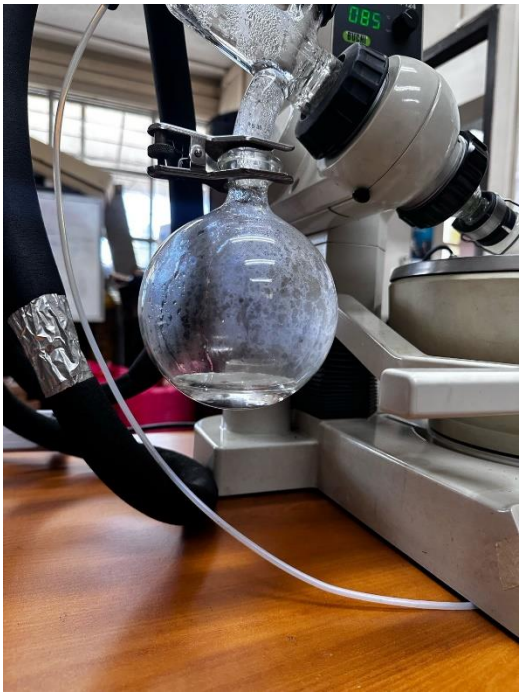
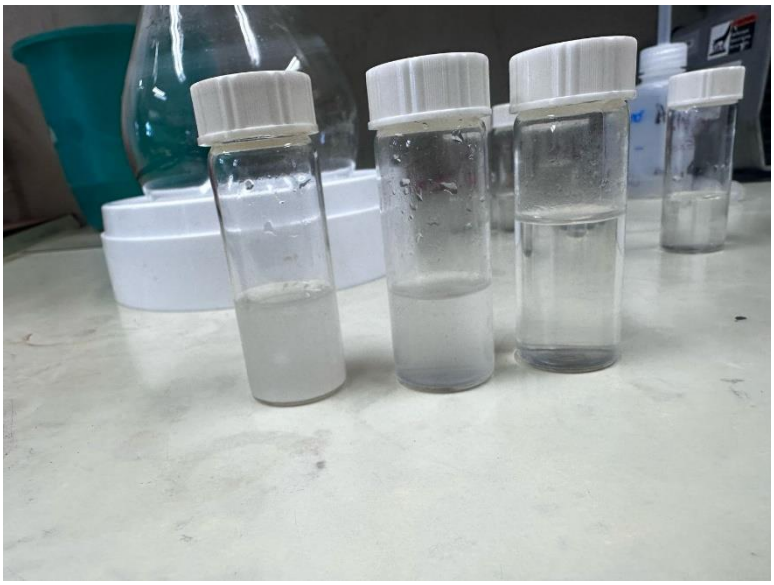
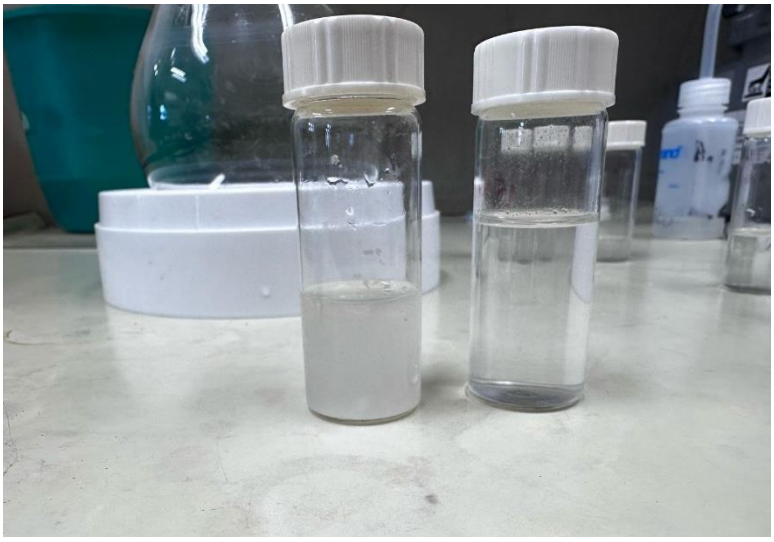
- Neutralización de pH posterior a la hidrólisis acida



- Fermentación

- Sistema de destilación en rotavapor





- Obtención de etanol posterior a la destilación