# ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

## FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA

# DISEÑO DE UN PROCESO FÍSICO QUÍMICO PARA LA PRODUCCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES A PARTIR DEL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*)

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA QUÍMICA**

**JOHANNA ELVIRA GAIBOR BASTIDAS**
***johannagaibor@hotmail.com***

**DIRECTOR: ING. MARIO SÁNCHEZ, MSc.**
***mario.sanchez@epn.edu.ec***

**Quito, febrero 2014**

© Escuela Politécnica Nacional (2014)
Reservados todos los derechos de reproducción

# DECLARACIÓN

Yo, Johanna Elvira Gaibor Bastidas, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

_____

Johanna Elvira Gaibor Bastidas

# CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Johanna Elvira Gaibor Bastidas bajo mi supervisión.

_____

Ing. Mario Sánchez, MSc.
**DIRECTOR DE PROYECTO**

# AGRADECIMIENTO

A mis padres, Milton y Rosita, quienes han sido luz y guía espiritual, grandes ejemplos de vida, perseverancia, lucha y amor.

A mis hermanos, Jorge, Sarita e Iván, cuyo apoyo incondicional y ejemplo me han impulsado a seguir cumpliendo las metas propuestas con decisión, honradez y perseverancia.

A mi novio, Paúl, quien ha sabido darme "aquellas palabras" de apoyo en el momento preciso y quien ha sabido ser mi cómplice y mejor amigo.

A mi gran amigo y maestro Ing. Oswaldo Proaño Borja, a quien le agradezco por confiar en mí y mis capacidades, colaborar con sus conocimientos, consejos acertados y su ejemplo para el desarrollo de este trabajo, en mi formación profesional y personal.

Al Ing. Mario Sánchez, quién confió en mis ideas y las apoyó con total apertura y amabilidad en todo momento hasta su culminación.

A mis maestros, Ing. Marcelo Albuja e Ing. Mario Aldás, quienes con su ejemplo, dedicación, paciencia y amor por la docencia han sido fuente de lecciones de vida, amistad y lealtad.

Al Departamento de Ingeniería Química y al Departamento de Ciencias de Alimentos y Biotecnología de la Escuela Politécnica Nacional, especialmente a todos quienes con esmero, profesionalismo y responsabilidad desempeñan su trabajo siendo apoyo y ayuda vital para quienes desarrollamos nuestros trabajos de investigación en estas dependencias.

Al Ing. José Mendoza y al INIAP de Portoviejo por facilitar la semilla de Piñón (*Jatropha curcas*) silvestre e información oportuna para el desarrollo del presente proyecto.

A la Escuela Politécnica Nacional, cuna de grandes profesionales y extraordinarios seres humanos.

# DEDICATORIA

*A Dios y a mi familia*

*Johanna*

# ÍNDICE DE CONTENIDOS


**PÁGINA**

**GLOSARIO** **xiii**
**RESUMEN** **xiv**
**INTRODUCCIÓN** **xvi**

**1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA** **1**

1.1. Extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) y su residuo 1
1.1.1. Antecedentes de la extracción industrial del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) y su residuo en el Ecuador 2
1.1.2. Métodos industriales para la extracción del aceite 4
1.1.2.1. Método de extracción mecánica: por prensado 4
1.1.2.2. Método de extracción con solventes: lixiviación continua 6
1.1.3. El residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) como fuente de azúcares reductores 10
1.1.3.1. Composición de la matriz lignocelulósica 10
1.1.3.2. Conformación de la matriz estructural de la biomasa lignocelulósica 12
1.1.3.3. Factores que influencian la efectividad de la sacarificación de la biomasa lignocelulósica 13
1.1.3.4. Implicaciones tecnológicas para mejorar la efectividad de la sacarificación de la biomasa lignocelulósica 16
1.1.3.5. Antecedentes de pretratamientos evaluados sobre la cascara de la semilla de Piñón (*Jatropha curcas*) 17
1.1.4. Otros componentes con valor industrial en el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) 19
1.1.4.1. Aceite residual de la extracción por prensado 19
1.1.4.2. Concentrado proteínico y su toxicidad 20
1.1.4.3. Proteína cruda para aplicaciones no alimenticias o técnicas 20
1.1.5. Comparación de las condiciones de dilución de proteína y el pretratamiento álcali 21

1.2. Pretratamiento hidrotérmico de las matrices lignocelulósicas 22
1.2.1. Mecanismo del pretratamiento hidrotérmico con agua líquida caliente (LHW) 23
1.2.2. Condiciones de pretratamiento hidrotérmico con agua líquida caliente (LHW) 24
1.2.3. Efectos del pretratamiento hidrotérmico (lhw) sobre la matriz lignocelulósica y otros productos termosencibles 26

1.3. Hidrólisis química de las matrices lignocelulósicas 26
1.3.1. Hidrólisis con ácido concentrado 27
1.3.2. Hidrólisis con ácido diluido 28
1.3.2.1. Reseña histórica 28
1.3.2.2. Mecanismo de reacción: hidrólisis con ácido diluido 30
1.3.2.3. Producto principal: azúcares reductores 32

1.3.2.4. Cinética de la hidrólisis con ácido diluido en materiales celulósicos y lignocelulósicos 35

**2. PARTE EXPERIMENTAL 38**

2.1. Obtención del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) a escala laboratorio con el equipo expeller del DECAB 41
2.1.1. Caracterización de la semilla silvestre y el residuo referencial INIAP 41
2.1.2. Acondicionamiento del expeller SARE 42

2.2. Caracterización del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) 43
2.2.1. Determinación de la distribución granulométrica 43
2.2.2. Determinación de humedad, aceite, ceras, grasas y proteína cruda 44
2.2.3. Determinación de celulosa, pentosanos, lignina y cenizas 44

2.3. Determinación de las condiciones de pretratamiento hidrotérmico para ablandar la matriz estructural del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) previo a la hidrólisis 45
2.3.1. Extracción de ceras y grasas residuales con solvente por lixiviación continua 45
2.3.1.1. Selección del solvente 45
2.3.1.2. Determinación del tiempo de extracción 45
2.3.2. Extracción de proteína cruda soluble en medio básico 46
2.3.2.1. Determinación de la dosificación de la solución de NaOH 1M 47
2.3.2.2. Determinación del tiempo de sedimentación de los sólidos 47
2.3.2.3. Estimación del rendimiento de extracción de proteína cruda 47
2.3.3. Pretratamiento hidrotérmico 48
2.3.3.1. Determinación de los parámetros de pretratamiento hidrotérmico 49
2.3.3.2. Evaluación de la eficacia del pretratamiento hidrotérmico e influencia de la temperatura sobre la conversión de celulosa en azúcares reductores 49

2.4. Determinación de las condiciones de hidrólisis del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) con ácido sulfúrico al 5 %w/w para la producción de azúcares reductores 50

2.5. Análisis preliminar de los costos del proceso propuesto 51
2.5.1. Consideraciones para el dimensionamiento de la planta 51
2.5.2. Estimación de la inversión del capital fijo 52
2.5.3. Costos directos e indirectos de producción 52

**3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 54**

3.1. Obtención del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) a escala laboratorio con el equipo expeller del DECAB 54

3.1.1. Caracterización de la semilla silvestre de Piñón (*Jatropha curcas*) 54
3.1.1.1. Humedad en la semilla 54
3.1.1.2. Aceite en la semilla 55
3.1.1.3. Ceras y grasas en la semilla 55
3.1.1.4. Tiempo de precalentamiento de la semilla a 90 °C 56
3.1.2. Caracterización del residuo referencial INIAP 58
3.1.2.1. Forma y compactación del residuo INIAP 58
3.1.2.2. Espesor del residuo INIAP 59
3.1.3. Acondicionamiento del expeller SARE para obtener el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) 59
3.1.3.1. Modo de alimentación de la semilla: ensayos MA1, MA2 y M3 62
3.1.3.2. Abertura a la salida del residuo resultante: ensayos ER1, ER2 63
3.1.3.3. Temperatura de precalentamiento de la semilla: ensayo TPC 63
3.1.3.4. Número de re-extracciones del residuo resultante 64

3.2. Caracterización del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) 64
3.2.1. Distribución granulométrica del residuo SARE triturado 65
3.2.2. Humedad en el residuo SARE 67
3.2.3. Aceite en el residuo SARE 67
3.2.4. Ceras y grasas en el residuo SARE 68
3.2.5. Celulosa en el residuo SARE 69
3.2.6. Pentosanos en el residuo SARE 69
3.2.7. Lignina en el residuo SARE 70
3.2.8. Proteína cruda en el residuo SARE 71
3.2.9. Ceniza en el residuo SARE 71

3.3. Determinación de las condiciones de pretratamiento hidrotérmico para ablandar la matriz estructural del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) previo a la hidrólisis 72
3.3.1. Extracción de ceras y grasas residuales con solvente por lixiviación continua 73
3.3.1.1. Solvente 73
3.3.1.2. Tiempo de extracción 76
3.3.2. Extracción de proteína cruda soluble en medio básico 77
3.3.2.1. Dosificación de la solución de hidróxido de sodio 1 M 78
3.3.2.2. Tiempo de sedimentación de los sólidos 78
3.3.2.3. Rendimiento de recuperación de proteína cruda 81
3.3.3. Pretratamiento hidrotérmico 81
3.3.3.1. Características del reactor 81
3.3.3.2. Parámetros de operación: agitación, temperatura de alimentación del ácido y descarga de la solución hidrolizada 83
3.3.3.3. Evaluación de la eficacia del pretratamiento hidrotérmico e influencia de la temperatura 87

3.4. Determinación de las condiciones de hidrólisis del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) con ácido sulfúrico al 5 %w/w para la producción de azúcares reductores 96

3.5. Análisis preliminar de los costos del proceso propuesto 103
3.5.1. Descripción de la planta piloto 104
3.5.2. Inversión del capital fijo 111
3.5.3. Costos totales de producción 113

**4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 120**

4.1. Conclusiones 120

4.2. Recomendaciones 122

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 123**

**ANEXOS 131**

# ÍNDICE DE TABLAS

**PÁGINA**


**Tabla 1.1.** Proyección de la demanda de aceite y semilla de acuerdo a la demanda y oferta de energía en las Islas Galápagos 2

**Tabla 1.2.** Consideraciones para la operación del expeller SARE 6

**Tabla 1.3.** Composición de ácidos grasos del aceite extraído con los solventes: n-hexano y etanol anhidro 9

**Tabla 1.4.** Composición de la cáscara de la semilla de Piñón (*Jatropha curcas*) brasileño 18

**Tabla 1.5.** Composición de la cáscara de la semilla de Piñón originaria del Brasil luego de los pretratamientos ácido y álcali respectivamente 18

**Tabla 1.6.** Composición y valoración de la torta de la extracción del aceite de Piñón (Jatropha) originaria de Indonesia 21

**Tabla 1.7.** Condiciones de la extracción de proteínas y el pretratamiento álcali 22

**Tabla 2.1.** Valor nominal para cuantificar la dificultad de rompimiento de la semilla 42

**Tabla 2.2.** Parámetros de los ensayos para acondicionar el equipo expeller SARE 43

**Tabla 2.3.** Parámetros del pretratamiento hidrotérmico establecidos por bibliografía 49

**Tabla 2.4.** Parámetros para el estudio de la hidrólisis ácida establecidos por bibliografía 51

**Tabla 3.1.** Características de la semilla silvestre de Piñón (*Jatropha curcas*) con cáscara, originaria de la provincia de Manabí 54

**Tabla 3.2.** Contenido de aceite en la semilla silvestre de Piñón (*Jatropha curcas*) determinado experimentalmente y los registrados en bibliografía 55

**Tabla 3.3.** Caracterización del residuo obtenido en la planta piloto del INIAP en noviembre de 2010 58

**Tabla 3.4.** Condiciones de operación para la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) con el expeller SARE 59

**Tabla 3.5.** Denominación y valor nominal de la compactación observada durante los ensayos para acondicionar el expeller SARE 60

**Tabla 3.6.** Caracterización del residuo obtenido en el expeller SARE 64

**Tabla 3.7.** Distribución granulométrica del residuo SARE triturado y tamizado a través de una malla de 6 mm 65

**Tabla 3.8.** Contenido de celulosa en el residuo SARE junto con los registrados en bibliografía 69

**Tabla 3.9.** Contenido de lignina en el residuo SARE y el registrado en bibliografía 70

**Tabla 3.10.** Condiciones de las tres etapas de pretratamiento del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) 72

**Tabla 3.11.** Ceras y grasas extraídas al cabo de 6 horas empleando como solventes: benceno: etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ (2:1 en volumen), etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ y n-hexano respectivamente 74

**Tabla 3.12.** Composición de aceite, ceras y grasas y del aceite remanente en el residuo desengrasado con etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ a 10, 30 y 60 minutos 76

**Tabla 3.13.** Proteína cruda en el residuo antes y después de su dilución al aplicar la metodología de la Figura 2.2 81

**Tabla 3.14.** Parámetros para la evaluación del pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis ácida establecidos por la operación del reactor 83

**Tabla 3.15.** Conversión de celulosa en azúcares reductores obtenidos a 121, 150, 170, 190 y 230 °C durante 15 minutos y sin pretratamiento (SP) 87

**Tabla 3.16.** Resumen ANOVA para el experimento de un factor: temperatura de pretratamiento hidrotérmico 89

**Tabla 3.17.** Aplicación de la prueba LSD a las temperaturas de pretratamiento hidrotérmico 89

**Tabla 3.18.** Media muestral de la conversión de celulosa en azúcares reductores y su desviación estándar en función de la temperatura de pretratamiento y sin pretratamiento 90

**Tabla 3.19.** Conversión de celulosa en azúcares reductores obtenidos al hidrolizar a 121, 135 y 150 °C durante 5 y 15 minutos respectivamente por triplicado (Diseño factorial 3 × 2) 96

**Tabla 3.20.** Resumen ANOVA del diseño factorial 3 × 2 para evaluar la influencia de la temperatura vs. el tiempo de hidrólisis en la conversión de celulosa en azúcares reductores 97

**Tabla 3.21.** Aplicación de la prueba LSD del efecto de la interacción de la temperatura vs. tiempo de hidrólisis ácida (AB) 97

**Tabla 3.22.** Aplicación de la prueba LSD del efecto de la interacción del tiempo vs. la temperatura de hidrólisis ácida (BA) 99

**Tabla 3.23.** Resumen del balance de materia y energía del proceso físico químico para la obtención de azúcares reductores a partir del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) para una planta piloto de 185 TM/año (70 kg/h) 106

**Tabla 3.24.** Estimación de la inversión del capital fijo para la implementación de una planta piloto de de 185 TM/año 110

**Tabla 3.25.** Estimación de los costos de producción para la implementación de una planta piloto de 185 TM/año 110

**Tabla 3.26.** Desglose del precio total de adquisición de los equipos principales para la implementación de una planta piloto de 185 TM/año 112

**Tabla 3.27.** Desglose de los costos directos de producción para el funcionamiento de una planta piloto de 185 TM/año 114

**Tabla 3.28.** Estimación del consumo eléctrico para una planta piloto de 185 TM/año 118

**Tabla 3.29.** Desglose del costo total de producción para una planta piloto de 185 TM/año 119

**Tabla AV.1.** Detalles de cálculos para el ANOVA de un diseño completamente al azar y de un factor 151

**Tabla AV.2.** Detalles de la tabla de ANOVA de un diseño completamente al azar y de un factor 151

**Tabla AV.3.** Detalles de cálculos para el ANOVA de un diseño completamente al azar y de dos factores 152

**Tabla AV.4.** Detalles de la tabla de ANOVA de un diseño completamente al azar y de dos factores 153

**Tabla AVI.1.** Tamaño de poro acorde al número de tamiz ASTM E-11 156

# ÍNDICE DE FIGURAS

**PÁGINA**


**Figura 1.1.** Expeller continuo con sus principales partes, vista externa 5

**Figura 1.2.** Expeller continuo con sus principales partes, corte transversal 5

**Figura 1.3.** Extractor tipo canasta horizontal, escala industrial 7

**Figura 1.4.** Aparato para la determinación del tiempo de lixiviación 7

**Figura 1.5.** Típico comportamiento de la extracción del aceite de soya, obtenido por el método Butt y con n-hexano como solvente 8

**Figura 1.6.** Estructura de la celulosa 11

**Figura 1.7.** Representación de la pared celular de una planta 13

**Figura 1.8.** Formación de la celulosa, polímero condensado 30

**Figura 1.9.** Mecanismo de la hidrólisis de la celulosa con ácido diluido 30

**Figura 1.10.** Productos de la degradación de la celulosa y hemicelulosa 31

**Figura 1.11**. Productos de degradación del la biomasa lignocelulósica 31

**Figura 1.12.** Monosacáridos con grupo funcional aldehído de 3, 4, 5 y 6 carbonos 33

**Figura 1.13.** Monosacáridos con grupo funcional cetona de 3, 4, 5 y 6 carbonos 33

**Figura 1.14.** Mecanismo de reacción de la hidrólisis de materiales celulósicos 35

**Figura 1.15.** Reactor batch de 2 L empleado por Pohja, et al. (1977) para determinar la cinética de la hidrólisis ácida de residuos lignocelulósicos de la fabricación de papel 36

**Figura 1.16.** Conversiones de glucosa experimentales (puntos discontinuos) y teóricas de residuos (línea continua) lignocelulósicos a 501, 409, 483 y 478 K 37

**Figura 2.1.** Metodología seguida para el desarrollo del presente proyecto 39

**Figura 2.2.** Metodología empleada para la extracción de la proteína cruda integrando las condiciones de dilución en medio básico establecidas por Makkar et al. (2008, p. 1542) 46

**Figura 2.3.** Metodología para evaluar el pretratamiento hidrotérmico 48

**Figura 2.4.** Metodología para evaluar la hidrólisis ácida (modificación de la Figura 2.3) 50

**Figura 2.5.** Diagrama de bloques del proceso físico químico para la obtención de azúcares reductores a partir del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) 53

**Figura 3.1.** Valor nominal de la dificultad de rompimiento media (VNDRM) de la semilla versus el tiempo de precalentamiento a 90 °C en función del punto de muestreo en la bandeja determinada manualmente 57

**Figura 3.2.** Residuo obtenido por la planta piloto del INIAP de Portoviejo en noviembre 2010 (residuo referencial) 58

**Figura 3.3.** Influencia de las condiciones de los ensayos de la Tabla 2.2 en las temperaturas de la cámara de extracción y en el residuo resultante, respectivamente 61

**Figura 3.4.** Influencia de las condiciones ensayadas para acondicionar el expeller SARE en el valor nominal (VN) de la compactación del residuo resultante, basado en la Tabla 3.5 62

**Figura 3.5.** Retención acumulada media en cada tamiz *i* ($\%RA_{SARE i}$) versus el tamaño de poro para la determinación gráfica del d80 del residuo SARE al ser triturado en el molino de malla 6 mm, d80 = 0,367 mm 66

**Figura 3.6.** Evidencia visual al cabo de 6 horas de extracción con n-Hexano (A), Benceno: etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ (2:1) (B) y etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ (C) 74

**Figura 3.7.** Extracto obtenido empleando etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ a: temperatura de reflujo (~78 °C) (A), al cabo del enfriamiento a temperatura ambiente (B) y material graso precipitado a temperatura ambiente (C) 75

**Figura 3.8.** Comportamiento del aceite comparado con las ceras y grasas al desengrasar el residuo SARE con etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ durante 10, 30 y 60 minutos, $\boldsymbol{X \pm \sigma\ (n = 3)}$ 77

**Figura 3.9.** Trayectoria del límite interfacial de los sólidos durante la sedimentación al cabo de la extracción de proteína cruda, $\boldsymbol{X \pm \sigma\ (n = 3)}$ 78

**Figura 3.10.** Separación por decantación del sólido 79

**Figura 3.11.** Sólidos suspendidos en la fase liquida al cabo de la decantación 80

**Figura 3.12.** Pulpa al cabo de 30 minutos de sedimentación (derecha) y fase sólida recuperada luego de la decantación (izquierda) 80

**Figura 3.13.** Componentes externos del reactor empleado para la evaluación del pretratamiento e hidrólisis ácida 82

**Figura 3.14.** Componentes internos de la tapa del reactor 82

**Figura 3.15.** Perfiles de temperatura del sistema de 100 mL de agua destilada a $T_{set}$ = 170 °C durante 15 minutos enfriado al ambiente y ventilación externa y tiempos de enfriamiento a (~25 °C) 85

**Figura 3.16.** Perfil base de temperatura del sistema 100 mL de agua destilada a $T_{set}$ = 170 °C durante 15 minutos y tiempos de enfriamiento a 92, 60 y 45 °C 86

**Figura 3.17.** Efecto de la temperatura de pretratamiento hidrotérmico sobre la media global de la conversión de celulosa en azúcares reductores 88

**Figura 3.18.** Medias de la conversión de celulosa en azúcares reductores, obtenidas por el método LSD en función de la temperatura de pretratamiento y sin pretratamiento 90

**Figura 3.19.** Influencia de la temperatura de pretratamiento hidrotérmico sobre la conversión de celulosa (CEL) en azúcares reductores obtenidos (AR) 91

**Figura 3.20.** Perfil de temperatura durante los pretratamientos hidrotérmico a 150, 170, 190 y 230 °C y el perfil base de agua destilada (línea punteada) 92

**Figura 3.21.** Acercamiento de la perturbación a l63 ± 2 °C 93

**Figura 3.22.** Acercamiento de la perturbación a 203,5 ± 0,5 °C 94

**Figura 3.23.** Efecto de interacción de la temperatura y tiempo de hidrólisis ácida sobre la conversión de celulosa en azúcares reductores 98

**Figura 3.24.** Efecto de interacción del tiempo vs. la temperatura de hidrólisis ácida sobre la conversión de celulosa en azúcares reductores 100

**Figura 3.25.** Medias de la conversión de celulosa en azúcares reductores, obtenidas por el método LSD del diseño factorial 3×2 101

**Figura 3.26.** Perfil de temperatura de la hidrólisis ácida a 150 °C durante 15 minutos, del pretratamiento hidrotérmico registrado a la misma temperatura y del perfil base 102

**Figura 3.27.** Acercamiento del perfil de temperatura de la hidrólisis con ácido sulfúrico al 5% $w_{ácido}/w_{residuo}$ a 150 °C durante 15 minutos y el prefil de temperatura durante el pretratamiento hidrotérmico registrado a 150 °C durante 15 minutos 103

**Figura 3.28.** Diagrama de flujo del proceso físico químico para la obtención de azúcares reductores a partir del residuo de la extracción de aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) 105

**Figura 3.29.** Participación de los equipos en el precio total de equipamiento de la planta piloto de 185 TM/año 113

**Figura 3.30.** Desglose de los costos directos de producción de la planta piloto de 185 TM/año, sin considerar el ingreso por venta de los subproductos 115

**Figura 3.31.** Desglose del costo de materia prima, reactivos y solvente de la planta piloto de 185 TM/año 116

**Figura 3.32.** Desglose del costo de los servicios de la planta piloto de 185 TM/año 117

**Figura 3.33.** Desglose del consumo eléctrico de la planta piloto de 185 TM/año 118

**Figura AI.1.** Efecto del tiempo de reacción en la concentración residual de glucosa (A), xilosa (B) y arabinosa (C) a diferentes temperaturas de reacción al 1 % de catalizador 132

**Figura AI.2.** Efecto de la temperatura de reacción en la concentración residual de glucosa (A), xilosa (B) y arabinosa (C) a diferentes temperaturas de reacción al 1 % de catalizador 133

# ÍNDICE DE ANEXOS

**PÁGINA**

**ANEXO I** **132**
Datos bibliográficos: Degradación de los azúcares reductores

**ANEXO II** **135**
Extracto de las Normas TAPPI: T11 os-74, T18 os-53, T6 os-59, T17 m-55, T450, T13 os-54 y T15 os-58

**ANEXO III** **144**
Extracto de la Norma AOAC 2001.11: Determinación de proteína cruda en alimento animal, forraje, granos y semillas oleginosas por digestión con catalizador de cobre y destilación en ácido bórico

**ANEXO IV** **147**
Extracto del método espectrofotométrico del ácido 3,5 di nitro salicílico (3,5 DNSA) para la determinación del contenido de azúcares reductores

**ANEXO V** **149**
Métodos estadísticos para el análisis de los datos experimentales

**ANEXO VI** **155**
Procedimiento para la determinación de la distribución granulométrica

**ANEXO VII** **157**
Procedimiento para la determinación del rendimiento de la extracción física del aceite

**ANEXO VIII** **158**
Procedimiento para la determinación del rendimiento de la extracción de proteína cruda

# GLOSARIO

**Albumen**: (ó endospermo de la semilla), es un tejido donde se acumulan las sustancias de reserva de la semilla, que serán metabolizadas durante la germinación y durante las primeras etapas de desarrollo de la planta. Normalmente acumulan almidón, lípidos y proteínas (Pérez, 2006, p. 178).

**CETEC:** FUNDAÇÃO CENTRO TECNOLÓGICO DE MINAS GERAIS

**EMAPAM:** EMPRESA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCANTARILLADO DE MANTA

**ERGAL:** PROYECTO DE ENERGÍAS RENOVABLES PARA GALÁPAGOS

**FEDAPAL:** FUNDACIÓN DE FOMENTO DE EXPORTACIONES DE ACEITE DE PALMA Y SUS DERIVADOS DE ORIGEN NACIONAL

**Índice de fósforo:** Es una medida del la cantidad de dicho elemento que se encuentra presente en el aceite. Un alto contenido implica mayor emisiones de material particulado. Cuando se emplea el aceite como combustible, el fósforo, al igual que el calcio y magnesio, forman compuestos que pueden obstruir las conducciones, así como también el sistema de inyección, reducen el tiempo de vida de los catalizadores de oxidación del motor diesel (Proaño, 2008, p. 10).

**MEER:** MINISTERIO DE ELECTRICIDAD Y ENERGÍAS RENOVABLES

**MRL:** MINISTERIO DE RELACIONES LABORALES

**NRI:** NATURAL RESOURCES INSTITUTE de la Universidad de Greenwich.

**Punto isoeléctrico:** Es el pH donde la carga neta de la molécula es cero, es decir que en este punto esta es incapaz de moverse en un campo eléctrico (Huerta, 2010, p. 10).

# RESUMEN

El proceso físico químico para la producción de azúcares reductores a partir del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) consta de cuatro etapas consecutivas: extracción de ceras y grasa con solvente, extracción de la proteína cruda soluble en medio básico, pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis con ácido sulfúrico del 5 $\%w_{ácido}/w_{residuo}$.

El proyecto contempló la determinación de las condiciones de operación de cada etapa, evaluar la efectividad del pretratamiento hidrotérmico y analizar de forma preliminar los costos que incluyen la estimación de la inversión del capital fijo y los costos totales de producción de una planta piloto semi-continua de 185 TM/año que trabaja 330 días/año, 8 h/día y de acuerdo al proceso desarrollado.

El estudio se basó en las características del residuo obtenido con el expeller SWANSON AGRICULTURAL RESEARCH EQUIPMENT (SARE), perteneciente al Departamento de Ciencias de Alimentos y Biotecnología (DECAB) de la Escuela Politécnica Nacional a partir de la semilla con cáscara silvestre originaria de la provincia de Manabí en el rango de 70 a 100 °C, alcanzando un rendimiento de extracción del 58,50 %.

Se determinó en la extracción de ceras y grasas del residuo obtenido del expeller SARE con un contenido inicial de ceras y grasas del 29,47 % en base seca, que se obtiene 0,991 $g_{ceras\ y\ grasas\ extraídas}/g_{ceras\ y\ grasas\ en\ el\ residuo}$ durante 1 hora de lixiviación con etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$. Además, se estableció que el contenido de aceite corresponde a 0,440 $g_{aceite}/g_{ceras\ y\ grasas\ en\ el\ residuo}$.

Se determinó en la extracción de proteína cruda del residuo desengrasado con un contenido inicial de proteína cruda del 19,71 % en base seca, que se obtiene 0,52 $g_{proteína\ extraída}/g_{proteína\ en\ el\ residuo\ desengrasado}$ a 60 °C y pH 11 durante 1 hora con un consumo de 19,30 mL NaOH 1 M por cada 40 g de residuo desengrasado. Además, se determinó que en 30 minutos se separa por decantación las fases líquida (proteína cruda diluida) y sólida (residuo sin proteína).

Se estableció que con el pretratamiento hidrotérmico a 190 °C durante 15 minutos se alcanza la mayor conversión de celulosa en azucares reductores y la mejora de 0,08 $g_{azúcares\ reductores}/g_{celulosa}$, sin pretratamiento, a 0,46 $g_{azúcares\ reductores}/g_{celulosa}$, con pretratamiento.

Se estableció que con la hidrólisis ácida del residuo pretratado a 121 °C durante 15 minutos con ácido sulfúrico al 5 $\%w_{ácido}/w_{residuo}$ se alcanza la máxima conversión de celulosa en azúcares reductores de 0,46 $g_{azúcares\ reductores}/g_{celulosa}$ con base en el contenido de celulosa del residuo obtenido con el expeller SARE del 15,64 % en base seca.

Finalmente, del análisis preliminar de costos de una planta piloto semi-continua de 185 TM/año trabajando 330 días al año durante 8 h/día de acuerdo al proceso físico químico desarrollado se concluyó que debido al alto costo de equipamiento para la implementación de la planta, la inversión del capital fijo se eleva a 1 172 138,00 USD, y para el funcionamiento de la planta el costo total de producción de azúcares reductores asciende a 5,40 $USD/kg_{azúcares\ reductores\ producidos}$, debido principalmente al alto costo de los servicios.

# INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, la constitución y las políticas nacionales impulsan la investigación de nuevas fuentes de energía renovable. Desde el año 2007, el aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) silvestre originario de la provincia de Manabí se emplea como combustible para la generación de electricidad en la Isla Floreana como parte del Programa Nacional de Biocombustibles (MEER, 2012).

Acorde al análisis de la demanda energética realizada por ERGAL (2011), la demanda de aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) en la Isla Floreana es de 11 000 gal/año, que corresponde a 143 TM/año de semilla y se estima que generaría 85,8 TM/año de residuo (si se considera 0,6 $kg_{residuo}/kg_{semilla}$).

La disposición final del residuo o torta generada de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) es limitada y de no ser canalizada en su totalidad, puede acumularse y contaminar el medio ambiente, debido, principalmente, a su toxicidad porque contiene curcina, forbol ésteres y anti nutrientes como inhibidor de tripsina, lectina y fitatos (Makkar, Francis y Becker, 2008, p. 1542).

Por otro lado, el residuo de extracción de Piñón (*Jatropha curcas*) silvestre originario de la provincia de Manabí, de naturaleza lignocelulósica, tiene un contenido aceptable de celulosa de aproximadamente del 23,14 % en base seca por lo que se sugería como fuente para la producción de azúcares reductores (Proaño, 2008, p. 18).

Debido a la resistencia de la biomasa lignocelulósica a desintegrarse directamente por un ataque ácido o enzimático, implica que para la producción de azúcares reductores se debe tener acceso, principalmente, a la celulosa y degradarla en glucosa, azúcar reductor de mayor interés con fines energéticos, por tanto, el estudio de un pretratamiento adecuado es un factor fundamental en cuanto a la economía del proceso global (Cuervo, Folch y Quiroz, 2009, p. 19; Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1627).

Numerosas investigaciones han estudiado alternativas de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica y se ha identificado que un proceso económicamente competitivo debería evitar la desnaturalización de la hemicelulosa y celulosa, la producción de agentes inhibidores de fermentación, minimizar la demanda energética, reducir el costo de reducción de tamaño, producir la menor cantidad de residuos y consumir poco o nada de químicos. Lamentablemente, no existe un pretratamiento que dé una solución integral al problema y que cumpla con las condiciones antes mencionadas (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1627).

El pretratamiento hidrotérmico con agua líquida caliente (LHW) es un método que no requiere de equipamiento de construcción robusta ni de químicos, favoreciendo a la dilución casi total de la hemicelulosa y parcial de la lignina. Como consecuencia del pretratamiento del material lignocelulósico se generan zonas amorfas en la estructura de la celulosa y la vuelve susceptible a la hidrólisis de los enlaces β-(1→4) de las cadenas de glucosa que la constituyen. Además, de la dilución de la hemicelulosa se obtienen pentosas, otros azúcares reductores (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1633).

La hidrólisis química ha sido el único mecanismo que se ha llevado a escala industrial en dos modalidades: con ácido concentrado y con ácido diluido y con la que se alcanzan los mejores rendimientos en cuanto a la conversión de celulosa en glucosa. La hidrólisis con ácido diluido se ha estudiado ampliamente sobre materiales lignocelulósicos: maderas y distintos residuos de origen vegetal. Los azúcares reductores obtenidos, principalmente glucosa, se emplea para obtener etanol a partir de su fermentación con levaduras u hongos especializados o para diversas aplicaciones en el área de la sucroquímica (Cuervo et al., 2009, pp. 16-18).

Adicionalmente, por la naturaleza del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) se debe considerar la recuperación de subproductos con valor industrial: el aceite y la proteína cruda. Al extraer el aceite se pretende evitar su interferencia durante la hidrólisis ácida, mientras que al extraer la proteína esta no se desperdicia y puede ser aprovechada para usos no alimenticios. El aceite se

extrae con solvente y la proteína cruda por dilución en medio básico bajo condiciones optimizadas por Makkar et al. (2008, p. 1542).

La realización del proyecto y la difusión del mismo traerán consigo el conocimiento de mejores prácticas para el manejo de los residuos de la extracción en la cadena de producción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) con miras a futuros trabajos en su aplicación industrial y su perfeccionamiento.

# 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

## 1.1. EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) Y SU RESIDUO

El Piñón o *Jatropha curcas* es una planta tóxica que se utiliza principalmente como cerca viva para proteger los cultivos. Aunque, Martinez, Martinez y Dávila (2009) identificaron que en las regiones de Morelos, Puebla y Veracruz, en México, existen variedades de *Jatropha curcas* que no son tóxicas (p. 1).

La semilla de Piñón (*Jatropha curcas*) contiene aceite en un 28 a 39 % en peso y depende de la variedad, precipitación anual, el tipo de suelo y disponibilidad de nutrientes (Ganduglia et al., 2010, p. 146).

El aceite del Piñón (*Jatropha curcas*) se ha estudiado con fines energéticos e incluso para ciertas aplicaciones en la petroquímica por sus características similares a los combustibles fósiles. De la extracción mecánica o por solventes de su aceite se produce alrededor de 0,60 $kg_{residuo}/kg_{semilla}$ Sin embargo, por la naturaleza de su origen es inevitable cuestionarse sobre el aprovechamiento del residuo de su extracción (Lestari, Mulder, Weusthuis y Sanders, 2008, p. 3).

El residuo o torta de extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) se caracteriza por su toxicidad, importante contenido de proteína y fibra de naturaleza lignocelulósica, constituida principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina.

Según Sánchez y Cardona (2008), la biomasa lignocelulósica constituye una interesante materia prima para la producción de etanol ya que es el biopolímero más abundante en la tierra y constituye el 50 % de la biomasa a nivel mundial y estiman que anualmente se produce de 10 – 50 billones de toneladas al año (p. 5276).

### 1.1.1. ANTECEDENTES DE LA EXTRACCIÓN INDUSTRIAL DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) Y SU RESIDUO EN EL ECUADOR

La Constitución de la República del Ecuador (2008), en el Art. 413, menciona que el Estado promoverá las energías renovables diversificadas mientras no pongan en riesgo la soberanía alimentaria nacional, el equilibrio ecológico de los ecosistemas ni el derecho al agua. Desde el año 2007, el Programa Nacional de Biocombustibles contempla el uso del aceite del Piñón (*Jatropha curcas*) silvestre como sustituto del diesel de petróleo en la iniciativa, "Cero Combustibles Fósiles para Galápagos", impulsada y financiada por el Ministerio de Electricidad y Energías Renovables. En su primera etapa se implementó, con éxito, en la Isla Floreana y consistió en emplear el aceite como combustible para los generadores eléctricos de tecnología híbrida alemana instalados en la isla (MEER, 2012).

ERGAL (2011) realizó la proyección de demanda de aceite y semilla para satisfacer los requerimientos energéticos del archipiélago, y que se muestra en la Tabla 1.1.

**Tabla 1.1.** Proyección de la demanda de aceite y semilla de acuerdo a la demanda y oferta de energía en las Islas Galápagos

| ISLA | ACEITE VEGETAL (gal/año) | SEMILLA (TM/año) |
|---|---|---|
| Sta. Cruz | 780 000 | 10 156 |
| San Cristobal | 300 000 | 3 906 |
| Isabela | 160 000 | 2 083 |
| Floreana | 11 000 | 143 |
| **Total** | **1 253 015** | **16 289** |

(ERGAL, 2011)

Se establece que para satisfacer la demanda de la Isla Floreana se requieren de 11 000 gal/año de aceite, que representa el 0,88 % de la demanda total del archipiélago, lo que significa que para erradicar el uso de diesel en el archipiélago se debe producir 1 253 015 gal/año de aceite, para lo cual se requiere de 16 289 TM/año de semilla y una producción a esta escala genera aproximadamente 773,4 TM/año de residuo (si se considera 0,6 $kg_{residuo}/kg_{semilla}$).

El Ing. José Mendoza, experto del INIAP de Portoviejo y encargado de la coordinación de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) para el Programa Nacional de Biocombustibles, indica los siguientes antecedentes:

- La mayoría de la producción actual del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) en el territorio ecuatoriano es destinada para el Programa Nacional de Biocombustibles y se encuentra concentrado en la provincia de Manabí.
- El aceite proviene de semilla silvestre con cáscara, cosechada de las cercas vivas de la provincia de Manabí. En las instalaciones del INIAP de Portoviejo se acopia la semilla y su aceite es extraído.
- La metodología de extracción empleada en el INIAP se basa únicamente en el prensado, que emplea un equipo tipo expeller, donde la semilla no requiere de un calentamiento previo a la extracción y la temperatura de extracción fluctúa en el rango de los 70 a 100 °C y, enfatiza, que no es recomendable superar esta temperatura debido a que la calidad del aceite se vería afectada, principalmente porque favorece la migración del fósforo desde la cáscara hacia el aceite, evidenciándose en el incremento del índice de fósforo que puede repercutir en su calidad como combustible.
- El residuo o torta que proviene de la extracción del aceite se emplea como fertilizante o pesticida en pequeños cultivos. Mientras que las plantas extractoras nacionales únicamente aprovechan el aceite y el residuo se comercializa al precio de 4,00 USD/quintal de residuo sin ningún tratamiento posterior a la extracción.

Por otro lado, Proaño (2008), determinó que la torta de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) procedente de la semilla silvestre con cáscara originaria de la provincia de Manabí tiene un contenido aceptable de celulosa del 23,14 % respecto al residuo desengrasado (p. 18).

Con estos antecedentes, se sugiere utilizar el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) como fuente de glucosa, para que por su fermentación anaerobia se obtuviera etanol para fines industriales.

### 1.1.2. MÉTODOS INDUSTRIALES PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE

La cantidad de aceite extraído varía en función del contenido de aceite en la semilla, del método de extracción y de la tecnología empleada. Los métodos empleados a escala industrial para extraer el aceite de semillas oleaginosas son: la extracción mecánica por prensado y la extracción química empleando solventes. La mayor diferencia entre ambos radica en los rendimientos de recuperación alcanzados.

Brossard-González, Ferrari, Pighinelli y Park (2010), demostraron que por prensado de la semilla de Piñón (*Jatropha curcas L.*), empleando una mini prensa tipo expeller, marca *Ecirtec*, modelo MPE-40 a 100 °C y 85 rpm, se alcanza una máxima recuperación de aceite en la semilla del 45,6 %, esto aclaran, que fue con un único prensado (p. 298).

Mientras que por lixiviación con n-hexano, Brossard-González et al. (2010) reportaron una recuperación del aceite en la semilla de 97,43 % durante 4 horas de extracción, además demostraron que utilizando etanol anhidro en las mismas condiciones se alcanza el 113,99 %, y el exceso de 13,99 %, se atribuye a que se extraen gomas y carbohidratos no estructurales presentes en la semilla (p. 301).

#### 1.1.2.1. Método de extracción mecánica: por prensado

La extracción por prensado consiste en exprimir mecánicamente a la semilla, generalmente empleando un extractor tipo expeller, cuyas principales partes se muestran en la Figura 1.1 y Figura 1.2, donde la semilla es alimentada al equipo por la tolva y es transportada por el tornillo sin fin dentro de la cámara de extracción, constituida por barras espaciadas que permiten la salida del aceite y mientras que el área transversal al flujo se reduce conforme se acerca al anillo final de estrangulamiento de donde sale el residuo prensado en forma de escamas u hojuelas.

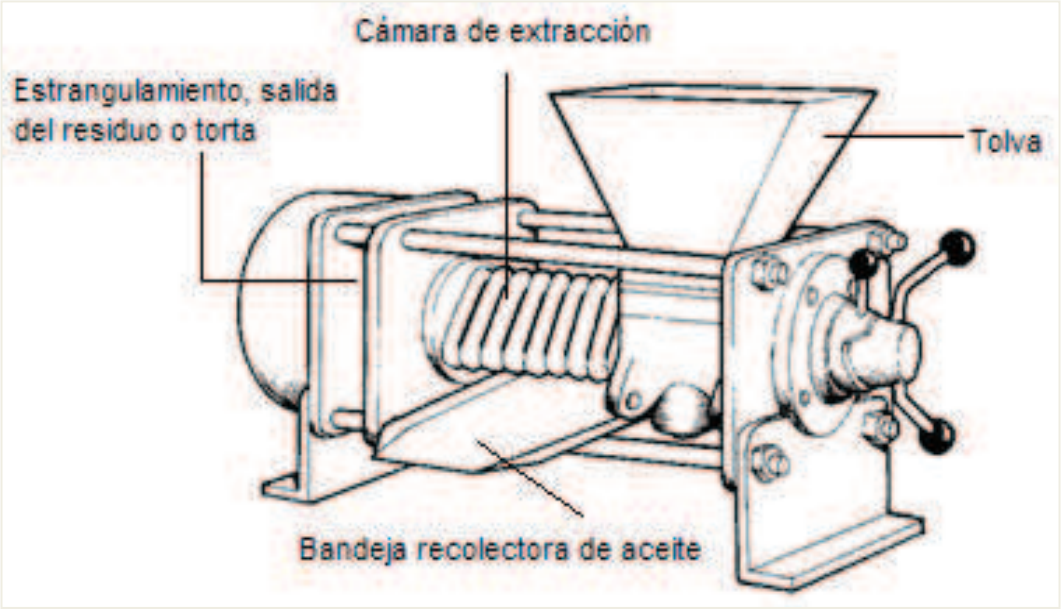



**Figura 1.1.** Expeller continuo con sus principales partes, vista externa
(FAO, 1995)

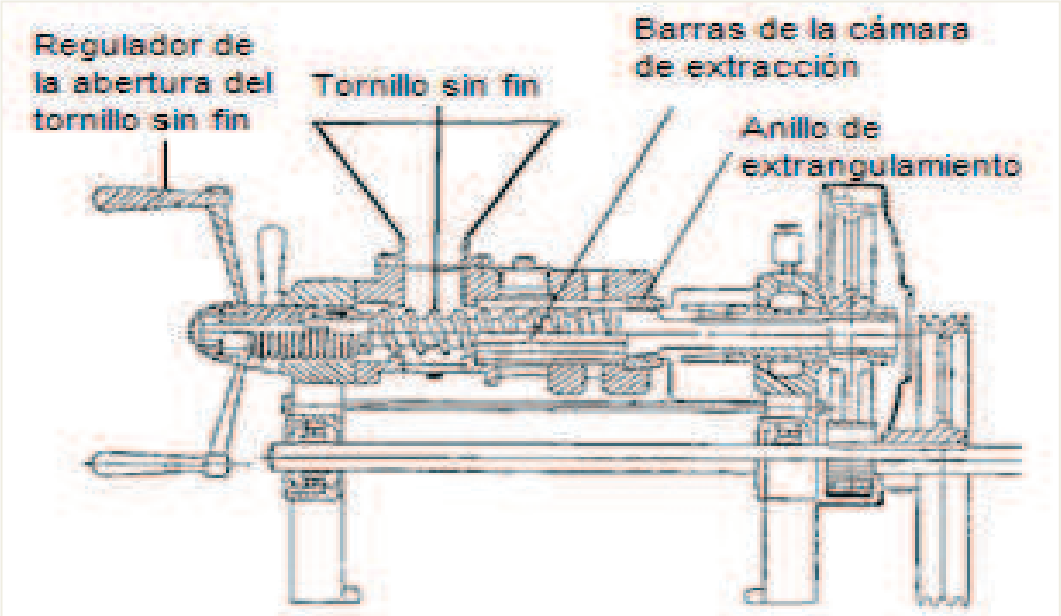



**Figura 1.2.** Expeller continuo con sus principales partes, corte transversal
(NRI, 1995)

Un calentamiento previo de la semilla favorece a que las paredes celulares y ceras que forman una barrera natural de protección, donde está contenido el aceite, disminuyan su consistencia y permitan la salida del aceite y, además, el aceite disminuya su viscosidad con lo que se consigue mayor fluidez del mismo (Beerens, 2007, p. 16; Rojas, 2008).

Para el desarrollo del presente proyecto se empleó el equipo piloto de extracción tipo expeller marca SWANSON AGRICULTURAL RESEARCH EQUIPMENT (SARE), modelo 6 y en la Tabla 1.2 se resumen las condiciones de extracción que recomienda el manual de operación del equipo.

**Tabla 1.2.** Consideraciones para la operación del expeller SARE

| **PARÁMETRO** | **REFERENCIA** | |
|---|---|---|
| Tipo de carga | Soya, habichuelas, maní, semillas vegetales | |
| Humedad en la semilla (%) | 5 – 8 | Semillas vegetales |
| | 8 – 11 | Habichuelas |
| Precalentamiento de la semilla (°C) | 70 – 95 | Para semillas vegetales |

(Manual de operación expeller marca SWANSON AGRICULTURE RESEARCH EQUIPMENT, modelo 6, ND, pp. 6-8)

### 1.1.2.2. Método de extracción con solventes: lixiviación continua

La extracción con solventes por lixiviación continua consiste en disolver un soluto (aceite) inmerso en un sólido (semilla o residuo del prensado, previamente triturado) durante un periodo de tiempo empleando un solvente (Karnofsky, 2005, p. 52).

A escala industrial se pone en contacto dicho solvente con el sólido por aspersión sobre una canasta que contiene al sólido y que es transportado por una banda móvil como se muestra en la Figura 1.3, donde el solvente es distribuido por aspersores ubicados en la parte superior de la banda cíclica. La miscella (solvente y soluto disuelto) se escurre de las canastas y es recolectada en tolvas en la parte superior e inferior de la banda cíclica (Karnofsky, 2005, pp. 53-55).

La solubilidad de un soluto de un solo componente, como el aceite (a pesar de ser una mezcla de diferentes glicéridos, estos se comportan de manera similar), y el tiempo de lixiviación se pueden apreciar con base en ensayos de laboratorio para el diseño de un extractor comercial empleando el método Butt (Karnofsky, 2005, p. 52).

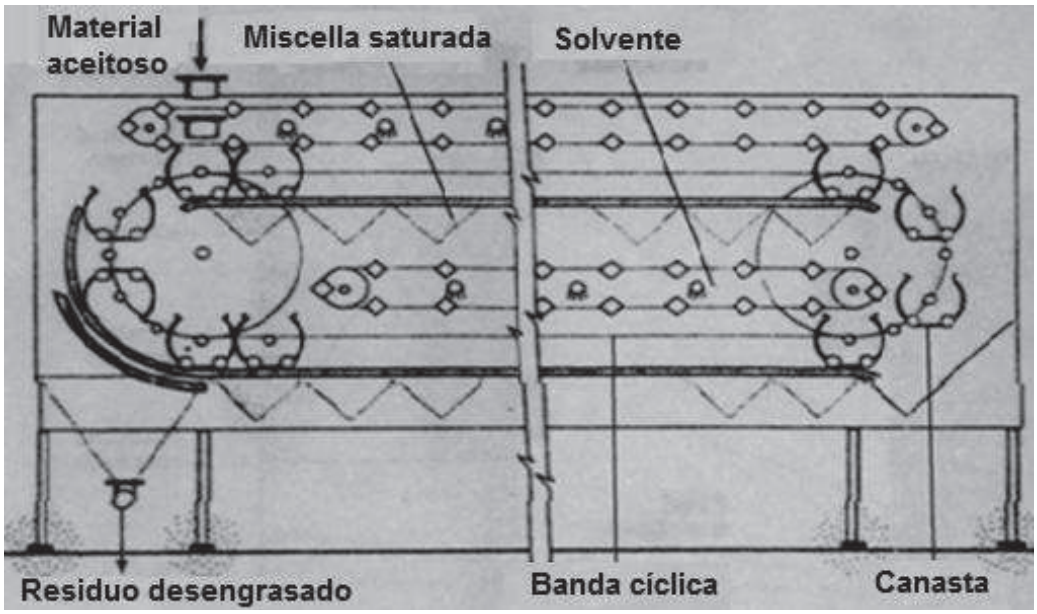



**Figura 1.3.** Extractor tipo canasta horizontal, escala industrial
(Karnofsky, 2005, p. 55)

En la Figura 1.4 se muestra el aparato Butt que se utiliza para la determinación de la velocidad de extracción, es decir el tiempo que debe transcurrir para alcanzar un cierto grado de recuperación del aceite.

**Figura 1.4.** Aparato para la determinación del tiempo de lixiviación
(Karnofsky, 2005, p. 52)

Este método denominado como Butt, consiste en poner en reflujo el solvente, inicialmente puro y contenido en el balón, en contacto con el sólido contenido en un dedal de celulosa y que forma un lecho. Cuando el solvente hierve, el vapor atraviesa el lecho y progresivamente, una parte de este condensa humedeciendo el lecho, mientras que el vapor que atraviesa el mismo es condensado y regresa a través del lecho al balón. Este proceso se repite constantemente y simula aproximadamente lo que ocurre en el equipo industrial (Karnofsky, 2005, p. 52).

Se determina cada cierto tiempo el contenido residual de aceite, de este modo se construye la curva que determina el comportamiento de la extracción con el tiempo.

En la Figura 1.5 se muestra el comportamiento típico de la extracción del aceite de soya empleando n-hexano por el método Butt.

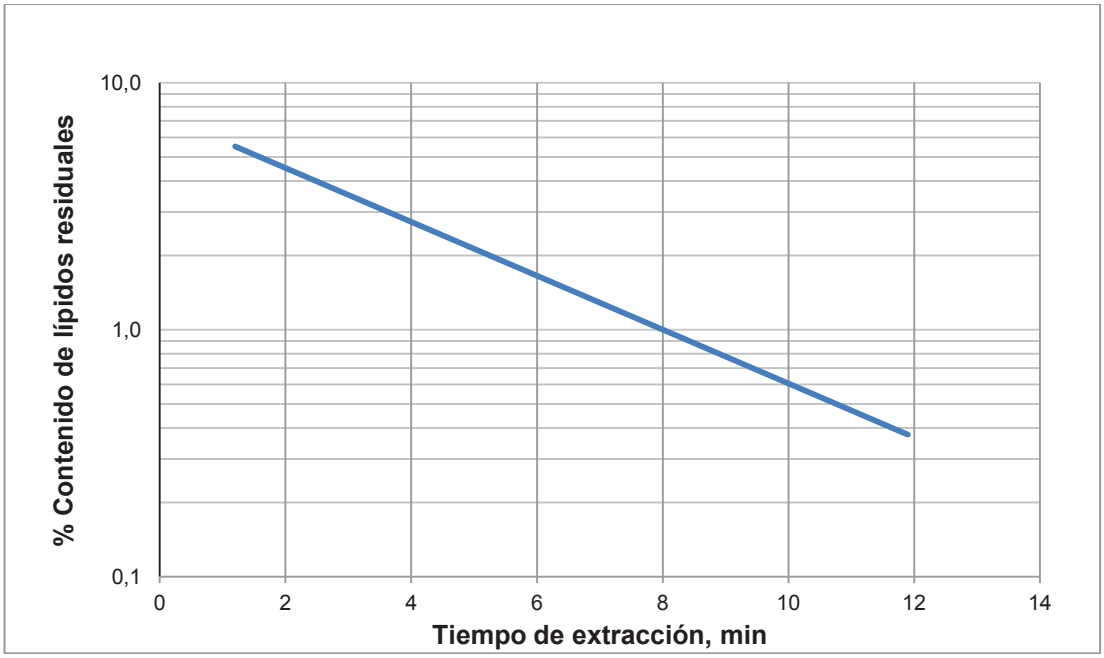



**Figura 1.5.** Típico comportamiento de la extracción del aceite de soya, obtenido por el método Butt y con n-hexano como solvente
(Karnofsky, 2005, p. 52)

Karnofsky (2005) indica que el tiempo determinado para alcanzar el 0,5 % de aceite de soya en el residuo con un extractor a contracorriente industrial tarda 105,0 % del tiempo determinado en pruebas de laboratorio de 10 minutos (p. 53).

***Características de los solventes para extraer aceite y grasas***

El solvente benceno : etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ (2:1, en volumen), empleado para la determinación de ceras, grasas, resinas y gomas presentes en maderas por la Norma TAPPI T6 os-59, tiene carácter polar y no polar.

El n-hexano, por su característica no polar, solubiliza esencialmente el aceite y es ampliamente utilizado en la extracción industrial de aceites vegetales (Karnofsky, 2005, p. 53).

El etanol por su característica polar, solubiliza los pigmentos, gomas y carbohidratos no estructurales presentes en la muestra y, además, aceite, ceras y grasas, cuya naturaleza es no polar (Brossard-González et al., 2010, p. 298).

Brossard-González et al. (2010) demostraron que la composición del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) extraído con etanol anhidro y n-hexano es similar, como se muestra en la Tabla 1.3, por lo cual, su calidad no se ve alterada por el tipo de solvente empleado para su extracción (p. 300).

**Tabla 1.3.** Composición de ácidos grasos del aceite extraído con los solventes: n-hexano y etanol anhidro

| Ácidos grasos | Solvente (%) | |
|---|---|---|
| | Etanol anhidro | n-Hexano |
| C 14:0 | ND | ND |
| C 16:0 | 15,61 | 15,63 |
| C 16:1 | 0,77 | 0,86 |
| C 17:0 | ND | ND |
| C 18:0 | 6,52 | 6,45 |
| C 18:1 | 42,21 | 42,09 |
| C 18:2 | 34,88 | 34,98 |
| C 20:0 | ND | ND |
| C 18:3 | ND | ND |

C a:b:"a" número de átomos de carbono y "b" tipo de enlace
ND: no detectado
(Brossard-González et al. 2010, p. 300)

La explicación para que el aceite, siendo no polar, sea extraído con un solvente polar, se debe a que, al solubilizar en contracorriente los solutos polares como: pigmentos, gomas, y carbohidratos, compuestos de diferente solubilidad en el etanol, pueden arrastrar a los componentes poco solubles como el aceite dentro de la miscella final (etanol con solutos polares y no polares disueltos) (Karnofsky, 2005, p. 52).

### 1.1.3. EL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) COMO FUENTE DE AZÚCARES REDUCTORES

Los azúcares reductores, hexosas y pentosas se producen de la sacarificación por hidrólisis química o enzimática de la celulosa y hemicelulosa que forman parte de la matriz lignocelulósica de la biomasa.

#### 1.1.3.1. Composición de la matriz lignocelulósica

La matriz lignocelulósica comprende entre sus componentes mayoritarios celulosa, hemicelulosa, lignina, compuestos extractivos como grasas, proteínas, terpenos, alcaloides, pectinas, gomas, resinas, etc. y material inorgánico (Ca, K y Mg, principalmente). La proporción de dichos componentes varía en función del tipo de material (Tomás, 2010, p. 16).

***Celulosa***

La celulosa o β-1-4 glucan es un polímero lineal constituido por monómeros de D-glucosa que se unen por enlaces β-(1→4), como se observa en la Figura 1.6.

La estabilidad de las moléculas de celulosa se da por la existencia de puentes de hidrógeno intra e intermoleculares mientras que los átomos de carbono están ubicados en una posición concreta.

El proceso de despolimerización de la celulosa se conoce como sacarificación.

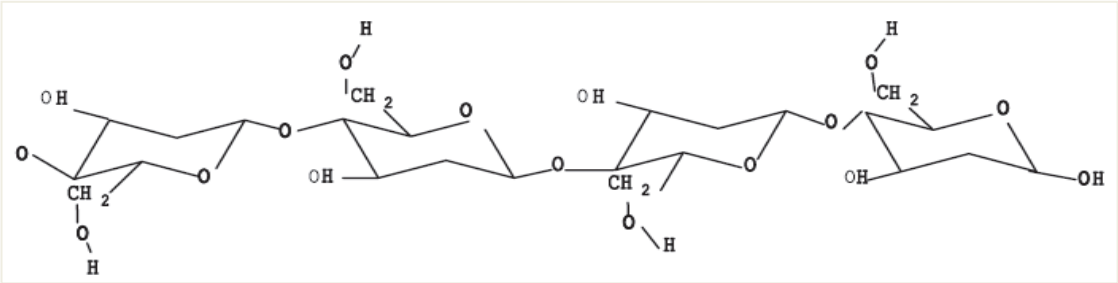


**Figura 1.6.** Estructura de la celulosa
(Tómas, 2010, p. 18)

Las moléculas de celulosa se sintetiza en la naturaleza formando moléculas más grandes llamadas protofibrillas, las mismas que se empaquetan formando estructuras mayores llamadas microfibrillas. Cuando las microfibrillas están altamente ordenadas conforman zonas cristalinas y cuando el ordenamiento es escaso se conoce como zonas amorfas, estas últimas son más solubles y susceptibles a degradarse por hidrólisis con ácidos o enzimas en sus monómeros, D-glucosa (Brown, 2003, pp. 489-490).

Según Brown (2003), la celulosa producida por organismos vivos se define como celulosa nativa y existe como “Celulosa I” y “Celulosa II”. La Celulosa I tiene las cadenas de glucosa orientadas paralelamente, mientras que la Celulosa II las tiene anti paralelas, esta última es termodinámicamente más estable y rara en la naturaleza (p. 490).

***Hemicelulosa***

La hemicelulosa es un polisacárido ramificado formado por distintos azúcares como: D-xilosa, L-arabinosa, D-manosa, D-glucosa, D-galactosa, etc. En mayor o menor cantidad según se trate de la naturaleza del material (Tomás, 2010, p. 13).

Su estructura está constituida por un homopolímero en la cadena principal y sus ramificaciones constituidas por heteropolímeros.

Acorde al azúcar predominante, de la cadena principal, se clasifican en xilanos, mananos, glucanos, y galactanos. La composición de azúcares, las cadenas cortas y las ramificaciones favorecen a un amorfismo de su estructura (Tomás, 2010, p. 16).

Por su composición química la hemicelulosa es la principal fuente de pentosas, productos inevitables, cuando se desea despolimerizar la celulosa por hidrólisis ácida o enzimática debido a que por la conformación amorfa de la hemicelulosa es mucho más degradable que la celulosa.

***Lignina***

La lignina es un compuesto tridimensional amorfo conformado principalmente por unidades de fenilpropano y que son particularmente difíciles de biodegradar.

Este comportamiento se atribuye a los enlaces químicos con la hemicelulosa y la celulosa. Al igual que la hemicelulosa, su composición química difiere del tipo de material (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1623; Tomás, 2010, p. 22).

### 1.1.3.2. Conformación de la matriz estructural de la biomasa lignocelulósica

Cada una de las unidades de celulosa, hemicelulosa y lignina realizan una función fundamental para dar la consistencia, forma e incluso las facilidades a las paredes celulares vegetales para que realicen sus funciones vitales.

La celulosa conforma parte de la membrana primaria y secundaria de las células y su disposición controla la elongación de la célula siguiendo el patrón establecido por la superficie de la célula (Brown, 2003, p. 491).

La hemicelulosa con las pectinas juntan las microfibrillas de celulosa conformando el ordenamiento respectivo para formar la estructura de la pared celular.

La lignina confiere rigidez estructural al endurecer y sostener las fibras de los polisacáridos, a más de participar en el transporte de agua, nutrientes y metabolitos (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1623; Tomás, 2010, p. 22).

En la Figura 1.7 se muestra la conformación típica de los componentes lignocelulósicos en la pared celular de una planta.

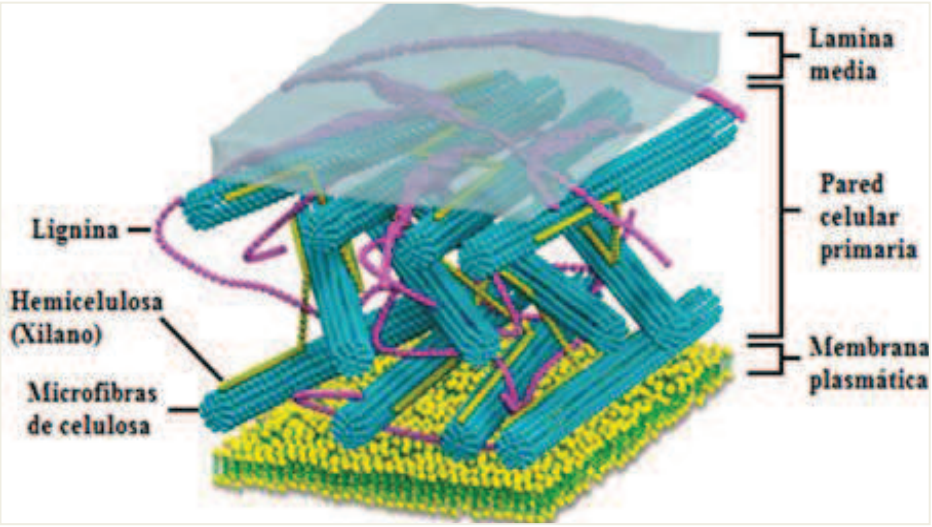



**Figura 1.7.** Representación de la pared celular de una planta
(Olivo, Aguilar y Montañez, 2012)

### 1.1.3.3. Factores que influencian la efectividad de la sacarificación de la biomasa lignocelulósica

Por la naturaleza de la estructura lignocelulósica donde coexisten la celulosa, hemicelulosa y lignina entrelazadas se identifican los factores que interactúan durante la sacarificación, ya sea con una hidrólisis ácida ó enzimática.

#### *Cristalinidad de la celulosa*

El grado de cristalinidad de la celulosa está dado por la cantidad de zonas cristalinas y amorfas. La celulosa nativa está conformada por mayor cantidad de zonas cristalinas.

La poca estabilidad de las zonas amorfas de esta estructura incrementa su susceptibilidad frente a una hidrólisis ácida ó enzimática.

Por otro lado, otros estudios demuestran que no existe relación del grado de cristalización y la sacarificación, ya que se ha reportado que el hinchamiento de la celulosa en agua incrementa la cristalinidad, pero no afecta su sacarificación. La explicación a estos comportamientos se atribuyen a la interacción que la lignina y hemicelulosa ejercen sobre dicho proceso (Taherzadeh y Karimi, 2008, pp. 1624-1625).

### *Acceso al área superficial*

Taherzadeh y Karimi (2008), indican que “los materiales lignocelulósicos tiene dos diferentes tipos de área superficial: la externa y la interna. La superficie externa está relacionada al tamaño y forma de las partículas, mientras que la interna depende de la capilaridad de la estructura de las fibras de celulosa”, además señalan que, “el área superficial interna de fibras celulósicas es más pequeña que el área superficial externa” (p. 1625).

Sin embargo, Fan, Lee y Beardmore (1980), señala que “sumergir los materiales lignocelulósicos en agua o solventes polares crea una gran área superficial interna” (p. 194).

El acceso al área superficial de la celulosa, es más determinante en el caso de la hidrólisis enzimática ya que este mecanismo se da por catálisis heterogénea por adsorción sobre dicha superficie.

Por otro lado, y debido al cambio que sufre el acceso al área superficial durante la hidrólisis, se ha demostrado que no es un factor influyente en la hidrólisis de celulosa pura, sino que se atribuye a la dificultad de hidrolizar las zonas cristalinas de la celulosa, por tanto lo primero que será digerido es la celulosa amorfa (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1626).

***Influencia de la lignina: barrera física***

La lignina proporciona las características de insolubilidad y rigidez de la estructura lignocelulósica, que varía según su composición y cantidad en la que se encuentra presente.

Se han realizado estudios para determinar la influencia de la lignina en el hinchamiento de la celulosa que incrementaría el tamaño de poro y mejoraría la accesibilidad de las enzimas pero se encontró que la presencia de la lignina no favorece el hinchamiento. Por tanto, remover la lignina mejora la digestibilidad de las enzimas y reduce la barrera física que impide el hinchamiento de la celulosa, consecuentemente se alcanza una mejora en la velocidad de hidrólisis (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1626).

***Influencia de la hemicelulosa: barrera física***

La hemicelulosa al igual que la lignina es una barrera física que empaqueta las microfibrillas de celulosa e impide en el caso de la hidrólisis enzimática el ataque directo.

En el caso de remover la hemicelulosa, por lo general también se elimina la lignina, es decir que la mejora en la velocidad de hidrólisis es un efecto conjunto.

Se concluye que, debido a la resistencia de la biomasa lignocelulósica a desintegrarse directamente por un ataque ácido ó enzimático, para la producción de azúcares reductores se debe facilitar el acceso a la celulosa, para degradarla o depolimerizarla en D-glucosa, azúcar reductor de mayor interés para la obtención de etanol.

Por tanto, el estudio de un pretratamiento adecuado es un factor fundamental para mejorar el rendimiento y la economía del proceso global (Cuervo, Folch y Quiroz, 2009, p. 19; Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1627).

### 1.1.3.4. Implicaciones tecnológicas para mejorar la efectividad de la sacarificación de la biomasa lignocelulósica

Una vez, identificados los aspectos que inciden en el rendimiento de la sacarificación, numerosas investigaciones se han encaminado a estudiar alternativas de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica que eliminen las barreras físicas incrementando el área superficial y reduciendo la cristalinidad de la celulosa antes de ser sometida a la sacarificación con el fin de obtener etanol por la fermentación anaerobia de la glucosa producida.

Las características que un proceso de pretratamiento económicamente competitivo debería cumplir:

- Evitar la desnaturalización de la hemicelulosa y celulosa que conduzca a la producción de agentes inhibidores de la fermentación.
- Minimizar la demanda energética.
- Reducir el costo de reducción de tamaño.
- Producir la menor cantidad de residuos.
- Consumir poco o nada de químicos.

Lamentablemente, no existe un pretratamiento que dé una solución integral al problema y que cumpla con las condiciones antes mencionadas. Los pretratamientos que se han estudiado sobre distintos tipos de biomasa lignocelulósica se resumen en: físicos, químicos, físico-químicos y biológicos (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1627).

Los pretratamientos físicos más relevantes incluyen: molienda e irradiación. Los cambios más evidentes que se logran en la biomasa lignocelulósica son: incremento del área superficial y del tamaño de poro, reducción de la cristalinidad de la celulosa y del grado de polimerización de la estructura. Demanda gran cantidad de energía, la mayoría no remueve la lignina, no se requiere de químicos y no se recomiendan para aplicaciones industriales (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1629).

Los pretratamientos químicos y fisicoquímicos más relevantes incluyen: explosión con vapor (auto hidrólisis), agua líquida caliente (LHW), álcali y ácido diluido. Los cambios que se logra en la biomasa lignocelulósica son: incremento del área superficial, parcial o completa deslignificación, reducción de la cristalinidad de la celulosa y del grado de polimerización y parcial o total hidrólisis de la hemicelulosa. Estos pretratamientos son los más prometedores a escala industrial, son rápidos, por lo general requieren condiciones severas y algunos requieren de químicos (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1631).

El pretratamiento biológico emplea hongos y bacterias para lograr una deslignificación, reducción del grado de polimerización de la celulosa y parcial hidrólisis de hemicelulosa, aunque no requiere de químicos, la velocidad del tratamiento es lenta y no se considera para aplicaciones comerciales (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1640).

#### 1.1.3.5. Antecedentes de pretratamientos evaluados sobre la cascara de la semilla de Piñón (*Jatropha curcas*)

Acorde a los resultados presentados por Visser, Filho, Tótola, Martins y Guimaraes (2011) al acabo de la sacarificación y fermentación simultanea de la cáscara de la semilla de Piñón (*Jatropha curcas*), con celulasas (*Trichoderma reesi*), celobiosas (*Aspergillus niger*) y una suspensión de la levadura *Sacharomices cerevisiae*, y que fue sometida a dos pretratamientos con ácido sulfúrico diluido e hidróxido de sodio alcanzaron una conversión de celulosa a etanol del 40,43 y 41,03 %, respectivamente (p. 801).

El pretratamiento con ácido diluido fue llevado a cabo en 20 g de cáscara en un recipiente de 500 mL y con una solución del 0,5 % de ácido sulfúrico hasta alcanzar una concentración de sólido/líquido del 10 %, luego se calentó hasta 121 °C durante 1 hora en una autoclave. Mientras que el pretratamiento álcali con una solución del 1 % de hidróxido de sodio, bajo las mismas condiciones de concentración sólido/líquido, temperatura y tiempo (Visser et al., 2011, p. 802).

En la Tabla 1.4 se presenta la composición de carbohidratos, proteína y lignina presentes en la cáscara de la semilla de Piñón (*Jatropha curcas*) brasileño

**Tabla 1.4.** Composición de la cáscara de la semilla de Piñón (*Jatropha curcas*) brasileño

| COMPONENTE | PORCENTAJE (%)* |
|---|---|
| Glucano | 26,5 ± 0,21 |
| Xilano | 6,1 ± 0,21 |
| Arabinano | 3,5 ± 0,21 |
| Galactano | 2,7 ± 0,01 |
| Manano | 1,2 ± 0,03 |
| Proteína | 6,8 ± 0,05 |
| Lignina | 22,1 ± 0,42 |

*Porcentajes en base seca
(Visser et al. 2011, p. 804)

En la Tabla 1.5 se presenta la composición de los carbohidratos, proteína y lignina de la cáscara de la semilla de Piñón (*Jatropha curcas*) brasileño luego de los pretratamientos ácido y álcali respectivamente.

**Tabla 1.5.** Composición de la cáscara de la semilla de Piñón originaria del Brasil luego de los pretratamientos ácido y álcali respectivamente

| | PRETRATAMIENTO ÁCIDO | PRETRATAMIENTO ÁLCALI |
|---|---|---|
| WIS (%) | 72,9 ± 0,23 | 50,4 ± 0,23 |
| Contenido en WIS (%*) | | |
| Glucano | 33,9 ± 0,26 | 50,0 ± 0,31 |
| Xilano | 8,1 ± 0,22 | 12,0 ± 0,22 |
| Arabinano | 4,2 ± 0,14 | 1,6 ± 0,03 |
| Galactano | 2,1 ± 0,10 | 1,3 ± 0,03 |
| Manano | 0,5 ± 0,02 | 0,4 ± 0,01 |
| Proteína | 7,8 ± 0,20 | 1,4 ± 0,40 |
| Lignina | 27,1 ± 0,14 | 16,2 ± 0,07 |
| Otros componentes** | 38,2 | 27,7 |

WIS: material insoluble en agua, recuperado al cabo del pretratamiento
*En base seca
** Componentes no cuantificados
(Visser et al., 2011, p. 804)

La conversión alcanzada al cabo del pretratamiento álcali del 41,03 % la atribuyen a la digestibilidad de las enzimas empleadas para la sacarificación, ya que con dicho pretratamiento disminuye el contenido de lignina de un 22,1 % a un 16,2 %. Sin embargo, el rendimiento aún no es suficiente y lo atribuyen a un deficiente pretratamiento (Visser et al., 2011, pp.801-804).

### 1.1.4. OTROS COMPONENTES CON VALOR INDUSTRIAL EN EL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*)

Lestari et al. (2008) establecen que, además del material lignocelulósico, en el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) hay otros componentes de interesante contenido y con valor industrial: el aceite residual y proteína, cuyo aprovechamiento incrementa el valor comercial del residuo (p. 5).

#### 1.1.4.1. Aceite residual de la extracción por prensado

El contenido de aceite residual en el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) obtenido por prensado varía según la tecnología que se emplee. Por ejemplo, Brossard-González et al. (2010) reportaron un contenido de aceite residual en la torta del 17,6 % en base seca, empleando una mini prensa tipo expeller, marca *Ecirtec*, modelo MPE-40, o como Makkar, Francis y Becker (2008) determinaron que la torta obtenida en el Central Salt and Marine Chemicals Research Institute (Bhavnagar, India) tiene un contenido de aceite residual del 6 % en base seca al cabo de la extracción por prensado (p. 301; p. 1543).

La presencia de los ácidos grasos insaturados del aceite, que se mostraron en la Tabla 1.3, puede interferir durante la hidrólisis ácida ya que reaccionan fácilmente con el ácido sulfúrico para formar sulfonados y, como consecuencia, reduce la eficiencia del ácido como catalizador (Brossard-González et al., 2010, p. 300; González, 2012a).

### 1.1.4.2. Concentrado proteínico y su toxicidad

Makkar et al. (2008) determinaron que el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) desengrasado previamente con éter de petróleo contiene 259 $g_{proteína\ cruda}/kg_{residuo\ desengrasado}$, así como componentes tóxicos, como curcina, ésteres de forbol y anti nutrientes como inhibidor de tripsina, lectina y fitatos (pp. 1542-1543).

Además, determinaron que se recupera el 53 % de la proteína contenida en el residuo en el concentrado proteínico o pellet empleando la precipitación isoeléctrica al diluir en una relación de 10 $g_{líquido}/g_{solido}$ a 60 °C durante 1 hora y a pH 11, regulado con una solución de NaOH 1 M, para luego recuperar la fase líquida y precipitar la proteína cruda a pH 4 con una solución de HCl 4 M, se seca por liofilización y se concentra por centrifugación (Makkar et al., 2008, pp. 1542-1543).

El contenido de proteína cruda en el concentrado proteínico o pellet obtenido del residuo desengrasado es de 820 $g/kg_{pellet}$ y el contenido de los compuestos tóxicos todavía es importante en el pellet Por tanto, se descarta una total detoxificación por esta ruta a pesar de que indican que la calidad del concentrado proteínico obtenido por este método es buena, ya que se compara con los niveles de aminoácidos, con excepción de lisina, recomendados por la FAO en la dieta de niños de 3 a 5 años (Makkar et al., 2008, p. 1543).

### 1.1.4.3. Proteína cruda para aplicaciones no alimenticias o técnicas

Lestari et al. (2008) determinaron que la torta de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) originaria de Indonesia tiene importante contenido de proteína y fibra, además de los carbohidratos, que de ser aprovechados comercialmente incrementaría el valor comercial de dicho residuo de 0,04 EUROS/kg a 1,40 EUROS/kg. En la Tabla 1.6, se desglosa el precio de los subproductos con valor industrial (p. 5).

**Tabla 1.6.** Composición y valoración de la torta de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha)* originaria de Indonesia

| COMPONENTES | SEMILLA (%) | EUROS/kg | EUROS/$kg_{semilla}$ |
|---|---|---|---|
| **a. Semilla parcialmente fraccionada** | | | |
| Grasa cruda (aceite) | 35 | 0,60 | 0,21 |
| Torta | 65 | 0,04 | 0,02 |
| **Total a.** | **100** | | **0,23** |
| **b. Semilla totalmente fraccionada** | | | |
| Grasa cruda (aceite) | 35 | 0,60 | 0,21 |
| Torta tiene: | | | |
| Proteína cruda | 17 | 1,00 | 0,17 |
| Fibra/lignina | 38 | 0,15 | 0,06 |
| Carbohidratos | 5 | 0,25 | 0,01 |
| Cenizas | 5 | 0,00 | 0,00 |
| **Total b.** | **100** | | **0,45** |

(Lestari et al., 2008, p. 5)

Lestari et al. (2008) sugieren, además, que las proteínas extraídas deben emplearse en el campo no alimenticio o técnico por su toxicidad ya que tiene interesantes propiedades como adhesivo, espumante y para formar films, que mejoran si proviene del residuo desengrasado. (pp. 11-20).

Para la extracción de la proteína cruda, Lestari et al. (2008) emplearon la lixiviación a contracorriente de 4 etapas con una solución NaOH 0,055 M y una relación de solvente a residuo de 4 $g_{solvente}/g_{residuo}$ y establecieron que se logra una recuperación de la proteína del 70 % y un contenido de proteína diluida de 62 mg/mL. Además, determinaron que la extracción de las proteínas es mayor si provienen de residuos de la extracción de semilla con cáscara (Lestari et al., 2008, p. 17-20).

### 1.1.5. COMPARACIÓN DE LAS CONDICIONES DE DILUCIÓN DE PROTEÍNA Y EL PRETRATAMIENTO ÁLCALI

En la Tabla 1.7 se comparan las condiciones de extracción de proteína cruda

optimizadas por Makkar et al. (2008, p. 1542) y las condiciones del pretratamiento álcali deslignificante propuesta por Visser et al. (2011, p. 802).

**Tabla 1.7.** Condiciones de la extracción de proteínas y el pretratamiento álcali

| CARACTERÍSTICA | Makkar et al. (2008) | Visser et al. (2011) |
|---|---|---|
| Método | Precipitación isoeléctrica | Pretratamiento álcali |
| Objetivo del método | Solubilizar proteínas | Desliginificar |
| pH | 11 | - |
| Catalizador | Hidróxido de sodio | Hidróxido de sodio |
| Concentración (%kg/kg solución) | 3,8 | 1,0 |
| Tiempo del proceso (h) | 1 | 1 |
| Temperatura (°C) | 60 | 121 |

(Makkar et al., 2008, p. 1542; Visser et al., 2011, p. 802)

Ambos métodos, utilizan hidróxido de sodio, concentraciones diluidas incluso duran el mismo tiempo, sin embargo difieren en la temperatura.

En cuanto a la concentración de hidróxido sodio en la dilución de proteínas es ligeramente mayor que en el pretratamiento alcalino, sin embargo, para un pretratamiento eficaz de la biomasa, la cantidad del catalizador no influye de manera apreciable como lo hace la temperatura (Guarnizo, Martinez y Valencia, 2009, p. 287).

Un pretratamiento deslignificante requiere el doble de temperatura que en la extracción de la proteína, con lo que se esperaría que la dilución de lignina durante la extracción de proteína sea mucho más débil de la obtenida por Visser et al. (2011, p. 802).

## 1.2. PRETRATAMIENTO HIDROTÉRMICO DE LAS MATRICES LIGNOCELULÓSICAS

Con los antecedentes de los estudios sobre la eficacia de los pretratamientos

álcali y ácido diluido sobre la matriz estructural lignocelulósica de la cáscara de Piñón (*Jatropha curcas*), se sugiere un tratamiento más agresivo, que no solamente sea deslignificante sino que permita mayor liberación de la celulosa (Visser et al. 2011, p. 806).

El pretratamiento hidrotérmico tiene la ventaja de que no requiere de químicos y no requiere de equipos dotados de materiales anticorrosivos. Se conocen como pretratamientos hidrotérmicos: a la explosión de vapor y al agua líquida caliente (LHW), por sus siglas en Inlgés *Liquid Hot Water* (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1633).

El método de agua líquida caliente (LHW) difiere del método de explosión con vapor por la alta recuperación de pentosanos y la baja formación de componentes tóxicos para las enzimas hidrolíticas y fermentativas, como el hidroximetilfurfural (Guarnizo et al., 2009, p. 286).

Este comportamiento se le atribuye a su selectividad, mientras que en la explosión con vapor se fracciona la estructura lignocelulósica agresivamente (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1632 y 1633).

### 1.2.1. MECANISMO DEL PRETRATAMIENTO HIDROTÉRMICO CON AGUA LÍQUIDA CALIENTE (LHW)

El pretratamiento hidrotérmico con agua caliente (LHW) emplea agua líquida saturada a alta temperatura, que ataca la biomasa lignocelulósica mientras que por la alta presión penetra dentro del material, hidrata la celulosa y remueve parte de la hemicelulosa y la lignina. El éxito de este método radica en que la celulosa es prácticamente insoluble en el agua (Guarnizo et al., 2009, p. 286; Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1633).

Además, la penetrabilidad del agua en la biomasa incrementa con la presión a la que es sometida y tiene estrecha relación con la temperatura, ya que se trata de

un proceso bajo condiciones de saturación. Las condiciones de saturación pueden alcanzarse con el equilibrio agua-vapor o por presurización del sistema con algún gas inerte.

A mayor temperatura de la masa líquida mayor será la presión sobre el líquido saturado traduciéndose en mayor capacidad de humectación sobre las áreas poco accesibles de la celulosa e incremento de la solubilidad de la hemicelulosa y parcialmente de la lignina.

La influencia de la temperatura se relaciona con la agresividad del pretratamiento para ablandar la matriz estructural donde se encuentra empaquetada la celulosa por lignina y hemicelulosa. A mayor temperatura, favorece a la total dilución de hemicelulosa y parcial lignina De acuerdo a la naturaleza de la matriz y sus componentes, las condiciones pueden ser muy variadas.

La influencia del tiempo de pretratamiento va ligada a la temperatura, a altas temperaturas menores tiempos de residencia.

El control del pH favorece a reducir la producción de compuestos de degradación que son tóxicos para la posterior hidrólisis enzimática y fermentación.

Por tanto, un pretratamiento eficiente genera mayor número de zonas amorfas en la estructura cristalina de la celulosa y puede disminuir las barreras físicas para facilitar el ataque ácido y como consecuencia de su despolimerización obtener D-glucosa.

### 1.2.2. CONDICIONES DE PRETRATAMIENTO HIDROTÉRMICO CON AGUA LÍQUIDA CALIENTE (LHW)

Los parámetros que rigen el desempeño del pretratamiento hidrotérmico con agua líquida caliente (LHW) son la temperatura, tiempo y pH. Las condiciones de pretratamiento con LHW son características del material lignocelulósico.

A continuación se mencionan algunos casos reportados con distintos tipos de biomasa lignocelulósica que fueron pretratados con agua líquida caliente LHW y las diversas condiciones de operación que obedecen a la su naturaleza:

- Según Guarnizo et al (2009), el LHW se realiza manteniendo un pH entre 4 y 7 a 160 °C durante 20 minutos. La biomasa tratada por este método alcanza el 96 % de conversión durante la sacarificación con enzimas, esto debido al control en la formación de hidroximetilfurfural, producto de degradación de las hexosas, y su presencia inhibe la actividad enzimática en las etapas posteriores de hidrólisis y fermentación. (p. 286).
- Zeng, Mosier, Huang, Sherman y Ladisch (2007), demostraron que la influencia del área superficial es despreciable cuando el follaje del maíz es pretratado con agua líquida caliente LHW a 190 °C durante 15 minutos a pH 4,3 – 6,2 (p. 265).
- La fibra sin almidón (afrecho) del maíz al pretratarse con agua líquida caliente LHW a 160 °C durante 20 minutos disuelve el 75 % del xilano. En cambio, a altas temperaturas de 220 °C, el método LHW puede disolver completamente la hemicelulosa y remover parcialmente la lignina durante 2 minutos. Las conversiones alcanzadas durante la sacarificación enzimática de la biomasa pretratada por este método alcanzan más del 90 % de efectividad, resultando un 80 % de oligosacáridos y 20 % de monosacáridos con la mínima degradación del 1% (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1633).
- El bagazo de caña pretratado con agua líquida caliente LHW a 170 – 230 °C de 1 a 46 minutos con una concentración de sólidos de 1 a 8 % y que los rendimientos son comparados con el pretratamiento con ácido diluido pero se diferencia de este en que no requiere de químicos y además que la hidrólisis se ve favorecida a temperaturas superiores a los 220 °C con tiempos cortos de residencia (menos de 2 minutos) y concentraciones diluidas de sólido (5 %) (Taherzadeh y Karimi, 2008, p. 1634).

### 1.2.3. EFECTOS DEL PRETRATAMIENTO HIDROTÉRMICO (LHW) SOBRE LA MATRIZ LIGNOCELULÓSICA Y OTROS PRODUCTOS TERMOSENCIBLES

Como consecuencia del pretratamiento con agua caliente (LHW) se produce el ablandamiento de la cristalinidad de la matriz estructural del residuo y se facilita la hidrólisis de la celulosa para obtener la mayor cantidad de los azúcares reductores.

Debido a las temperaturas de trabajo (160 – 230 °C), es inevitable la degradación de componentes termosencibles como las proteínas, que en el caso particular del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) se encuentran en una proporción considerable y cuyas propiedades le otorgan diversas aplicaciones en la industria no alimenticia.

En adelante, se referirá en el presente documento como “pretratamiento hidrotérmico” exclusivamente al pretratamiento con “agua líquida caliente (LHW)”.

## 1.3. HIDRÓLISIS QUÍMICA DE LAS MATRICES LIGNOCELULÓSICAS

El proceso por el cual se depolimeriza la celulosa en D-glucosa se conoce como sacarificación. De acuerdo con el mecanismo de sacarificación clasifican en: hidrólisis química con ácidos e hidrólisis enzimática. Según el mecanismo de sacarificación que se realice en la matriz lignocelulósica, se identifican los factores que influyen en la producción de azúcares reductores.

Cuando el mecanismo de sacarificación o hidrólisis es enzimático, el acceso a la superficie de la celulosa es importante y depende del contenido de hemicelulosa y lignina que son barreras físicas, mientras que la degradación de los azúcares y la producción de componentes tóxicos para las levaduras de fermentación se presentan en la hidrólisis química.

La hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos aún presenta grandes desafíos tecnológicos pero se caracteriza por alcanzar rendimientos superiores al 90 % de fermentabilidad de la glucosa producida durante la hidrólisis, ser selectiva y no producir compuestos tóxicos durante la sacarificación. Incluso, se puede emplear cocteles enzimáticos para realizar simultáneamente la sacarificación y fermentación o SSF, por sus siglas en Inglés *Simultaneous saccharification and fermentation*. A estas características deseables se suman tiempos prolongados de residencia, limitaciones físicas y fisiológicas de las enzimas, principalmente en lo que se refiere a la sensibilidad a los cambios de temperatura y la tolerancia a altas concentraciones de etanol y a productos de degradación producidos durante el pretratamiento (hidroximetilfurfural y furfural). (Cuervo et al., p. 19; Tomás, 2010, p. 4).

Por otro lado, la hidrólisis ácida ya se conocía desde finales del siglo IX. Es el único mecanismo que tuvo aplicaciones industriales para la producción de azúcares a partir de la madera y alcohol de su fermentación y en la actualidad aun tiene gran importancia debido a los tiempos cortos de reacción y alta conversión.

Los mecanismos de hidrólisis química se clasifica en:

- Hidrólisis con ácido concentrado
- Hidrólisis con ácido diluido

El ácido que se emplea para este fin es el ácido sulfúrico, aunque se también se estudió en algún momento la hidrólisis con ácido clorhídrico, fosfórico y fluorhídrico (Ketzen y Othmer, 1942, p. 314).

### 1.3.1. HIDRÓLISIS CON ÁCIDO CONCENTRADO

La hidrólisis con ácido concentrado fue llevada a escala industrial en el conocido proceso de Bergius para producir azúcares de la madera y alcohol a partir de su fermentación.

El proceso Bergius consiste en una serie de recipientes de difusión a contracorriente, se emplea ácido clorhídrico del 40 %, con una relación ácido/madera 7/1, y a temperatura ambiente, además se requiere que la madera tenga menos del 1 % de humedad. Se empleó para obtener concentrados de azúcares para balanceado animal ya que solubiliza casi totalmente a la celulosa (Ketzen y Othmer, 1942, p. 315).

En la actualidad, la hidrólisis con ácido concentrado no se emplea como una ruta para la sacarificación de material lignocelulósico ni como pretratamiento debido a que por dicha ruta favorece la producción de furfural e hidroximetil furfural, componente tóxicos para las enzimas empleadas durante la fermentación de los azúcares reductores producidos.

A pesar de sus altos rendimientos de sacarificación (sobre el 90 %) y condiciones de temperatura moderadas, implica equipamiento que soporte el ataque ácido, el alto consumo de ácido, el alto costo de la recuperación del ácido y de la posterior neutralización, razones por la cual no es económicamente factible para implementarlo a nivel industrial (Guarnizo et al., 2009, 287).

La hidrólisis con ácido sulfúrico concentrado se emplea para degradar completamente la celulosa y hemicelulosa y determinar el contenido de lignina insoluble en ácido.

### 1.3.2. HIDRÓLISIS CON ÁCIDO DILUIDO

#### 1.3.2.1. Reseña histórica

La primera unidad comercial de hidrólisis con ácido diluido para procesar desperdicios de madera establecida en Georgetown en 1910, no llenó las expectativas debido a los bajos rendimientos de alcohol alcanzados (14 gal/TM de substrato en base seca).

Más tarde, se demostró que se podía incrementar el rendimiento de la hidrólisis y que está asociado con el mecanismo de reacción, donde ocurre simultáneamente la descomposición de los azúcares y su formación (Ketzen y Othmer, 1942, p. 314; Pohjola, 1977, p. 5).

Con el tiempo varios modelos matemáticos se plantearon con el fin de comprender la cinética de dicho mecanismo. Al principio, se planteó que la cantidad de azúcares producidos en un instante dado era función de la reacción de hidrólisis y descomposición, aunque después, se determinaría que otros factores, como la concentración de azúcar y la acidez de la solución, afectarían la velocidad de la reacción.

Estudios sobre varios tipos de maderas, clasificadas como madera suave y dura, demostraron que el rendimiento de alcohol dependía de la composición de los azúcares obtenidos de la hidrólisis de cada material.

Por ejemplo, de la madera dura se podía alcanzar un rendimiento de 0 a 14 gal de alcohol/TM, mientras que a partir de la madera suave se alcanzaría de 20 a 26 gal de alcohol /TM (Ketzen y Othmer, 1942, p. 315).

La hidrólisis con ácido diluido fue llevada a escala industrial en el conocido proceso de Scholler, con el fin de producir azúcares de la madera y alcohol a partir de su fermentación, junto con el proceso de Bergius (con ácido concentrado), se implementaron en Alemania, durante la segunda guerra mundial y subsidiados por el gobierno, debido a la escases de combustible fósil en ese entonces. Sin embargo, los rendimientos en cuanto azúcar y alcohol frente a los obtenidos por otros métodos, no eran competitivos.

El proceso Scholler consiste en grandes percoladores donde se coloca la madera triturada, sin restricción en cuanto a la humedad, formando un lecho y la solución de ácido diluido (0,4 al 1,2 %) a 170 o 180 °C es alimentada intermitentemente a presión (150 psi aproximadamente), esta fluctuación favorece al rompimiento de las fibras y expulsa los azúcares tan pronto como son producidos para enfriarlos y

de este modo reduciendo el efecto de la degradación de los mismos (Ketzen y Othmer, 1942, p. 315).

### 1.3.2.2. Mecanismo de reacción: hidrólisis con ácido diluido

Las unidades de glucosa, cuando forman las cadenas de celulosa, pierden un par de átomos de hidrógeno y uno de oxígeno al complementarse unas con otras cuando forman los enlaces β-(1→4), y por esta razón se considera a la celulosa como un polímero condensado y cuya formación se muestra en la Figura 1.8 (Rudin, 1999, p. 156).

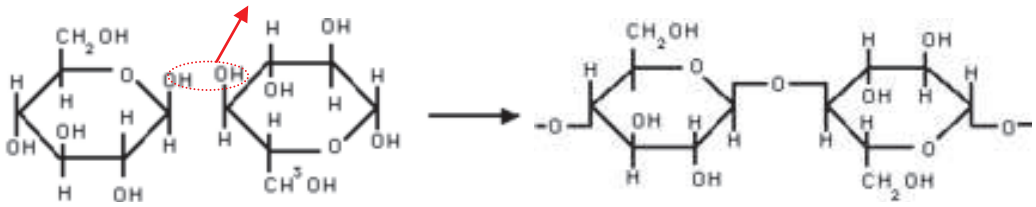


**Figura 1.8.** Formación de la celulosa, polímero condensado

Al estar en presencia del ácido y con las condiciones de temperatura adecuadas, se favorece la ruptura del enlace β-(1→4) y el ingreso de dichos átomos hasta formar moléculas “completas” de glucosa, como se muestra en la Figura 1.9.

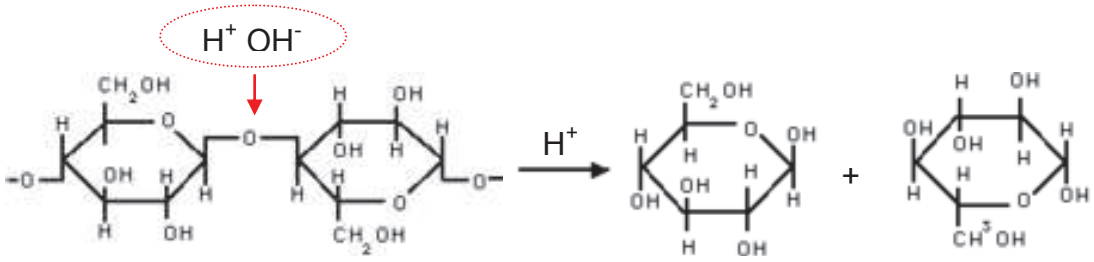



**Figura 1.9.** Mecanismo de la hidrólisis de la celulosa con ácido diluido

El fraccionamiento de la cadena de celulosa se da sobre las zonas de menor cristalinidad generando oligosacáridos (polímero de menor número de unidades de glucosa) antes de llegar a la producir los azúcares en su forma simple. Así como las unidades de glucosa, los azúcares que constituyen la hemicelulosa se hidrolizarían de la misma manera como se muestra en la Figura 1.10.

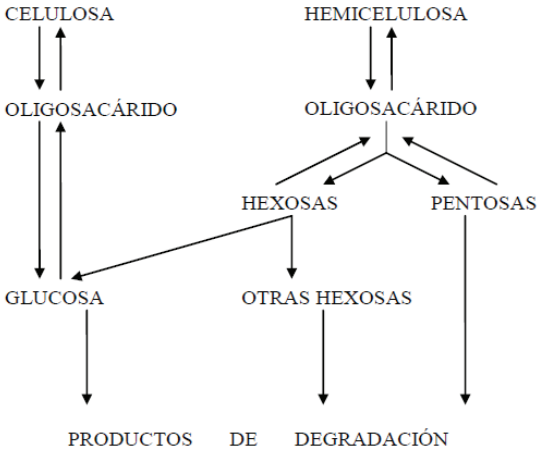



**Figura 1.10.** Productos de la degradación de la celulosa y hemicelulosa
(Ahuja, 2011, p. 28)

Cuando se habla de la hidrólisis ácida de materiales lignocelulósicos, se debe considerar que a más de los azúcares reductores se producen otros compuestos. De la hemicelulosa se puede producir ácido acético y ácido galacturónico y de la lignina compuestos fenólicos. En la Figura 1.11 se muestran los compuestos de degradación de la biomasa lignocelulósica.

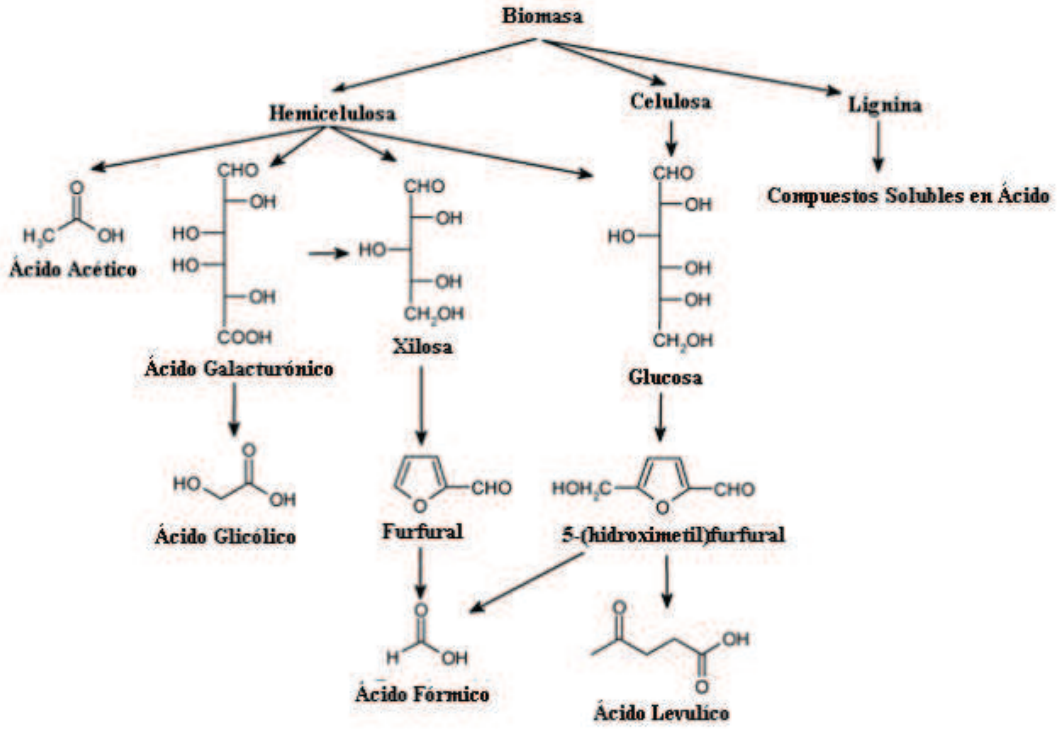



**Figura 1.11.** Productos de degradación del la biomasa lignocelulósica
(Aujar, 2011, p. 29)

### 1.3.2.3. Producto principal: azúcares reductores

Los azúcares o carbohidratos están formados por C, H y O, estos dos últimos elementos se encuentran en la misma proporción que en el agua y por ello se le atribuye dicha denominación.

Los azúcares pueden estar unidos a otro tipo de moléculas por enlaces covalentes para formar, por ejemplo, glicolípidos y glicoproteínas, cuando están en menor proporción, o proteoglicanos y peptidoglicanos (cuando se encuentran como componente mayoritario) (González, 2012b).

En la naturaleza no se encuentran en cantidades apreciables en forma simple y aunque son esenciales para el metabolismo de los seres vivos como principal fuente de energía, se encuentran en formas más complejas (polisacáridos).

En el reino vegetal, los azúcares reductores son sintetizados, como producto de los procesos fisiológicos de las plantas durante la fotosíntesis, para formar la celulosa y hemicelulosa que forman las paredes celulares de las plantas. En cambio en el reino animal, los azúcares son almacenados en forma de glucósidos (disacáridos) (Sun, 2005, p. 15).

Los azúcares reductores tienen un grupo funcional cetona o aldehído intacto y susceptible a reaccionar, según el grupo funcional que posea se clasifican en aldosas y cetosas. En la Figura 1.12 y Figura 1.13 se muestran algunos ejemplos de las aldosas y cetosas.

Por su carácter reductor, se puede determinar cualitativa y cuantitativamente mediante el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico el mismo que forma un complejo coloreado, obteniéndose una solución de color marrón, cuya intensidad indicará la concentración de dichos azúcares. La concentración se determina por espectrofotometría en la región UV-Visible con una longitud de onda de 575 nm, para establecer la concentración se construye una curva estándar con D-glucosa (Wang, 2007).

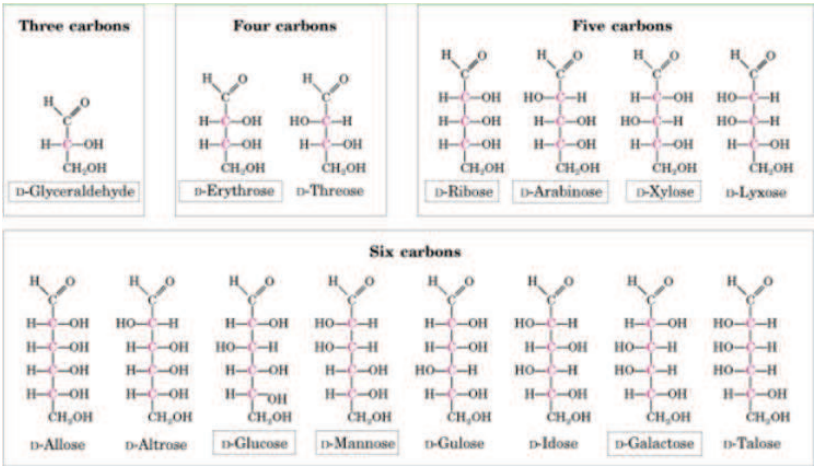



**Figura 1.12.** Monosacáridos con grupo funcional aldehído de 3, 4, 5 y 6 carbonos
(González, 2012c)

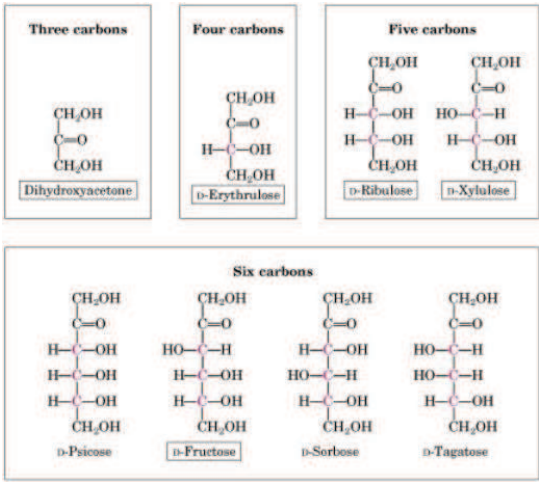



**Figura 1.13** Monosacáridos con grupo funcional cetona de 3, 4, 5 y 6 carbonos
(González, 2012c)

Los azúcares reductores que se obtienen de materiales lignocelulósicos son hexosas (D-glucosa y D-galactosa) y pentosas (D-xilosa y D-arabinosa), adoptan estas denominaciones debido al número de carbonos que constituyen su estructura. El azúcar reductor de mayor interés con fines energéticos es la D-glucosa para que por su fermentación anaeróbica, por lo general, con la levadura *Saccharomyces cerevisae* se obtenga etanol.

Por otro lado, las pentosas, originarias de la hemicelulosa, no son fermentables, pero su producción es inevitable sin importar si el mecanismo de hidrólisis es enzimático ó químico.

La integración para el aprovechamiento total de los azúcares reductores aún constituye un reto tecnológico enorme y por el momento los estudios se han orientado a la recuperación y aprovechamiento de la glucosa, azúcar mayoritario en la biomasa.

***Productos de la degradación de los azúcares reductores***

En presencia de ácido sulfúrico diluido a las condiciones de la sacarificación de material lignocelulósico, forman el 5-hidroximetilfurfural, a partir de las hexosas y el 2-furfuralaldehído a partir de las pentosas (Decker et al., 2007 p.1503).

Según Ahuja, (2011), la degradación de los azúcares reductores: glucosa, xilosa y arabinosa en presencia de ácido sulfúrico al 1 % se debe principalmente a la temperatura y en menor proporción al tiempo reacción (p. 60).

El efecto del tiempo de reacción en la degradación de la glucosa, xilosa y arabinosa a cualquier temperatura (125 a 200 °C), es mínimo e incrementa lentamente en el rango de los 0 a 45 minutos, como se muestra en la Figura AI.1, que consta en el Anexo I (Ahuja, 2011, pp. 52-55).

El efecto de la temperatura tiene gran incidencia en la degradación y es prácticamente independiente del tiempo (Ahuja, 2011, p. 60).

La glucosa es estable hasta no superar los 150 °C, a partir de esta temperatura la degradación incrementa importantemente como se muestra en la Figura AI.2, que consta en el Anexo I, mientras que la degradación de la xilosa y arabinosa aumenta importantemente a partir de 125 °C en adelante (Ahuja, 2011, pp. 57-59).

Ahuja (2011), demostró, además, que la formación del furfural alcanza su máxima concentración a 15 minutos y 175 °C, para después decrecer a temperaturas y tiempos mayores, y estableció que incluso estos compuestos sufre degradación (p. 66).

Se concluye, que no solo los azúcares reductores producidos por este mecanismo se formarían en cantidades importantes sino también, productos de su degradación.

Decker et al. (2011), indica que los “productos de degradación” tienen importancia industrial como precursores para la síntesis de otros químicos (p. 1502).

#### 1.3.2.4. Cinética de la hidrólisis con ácido diluido en materiales celulósicos y lignocelulósicos

Pohjola (1977) y Pohjola, Matti y Pekka (1977), han demostrado experimentalmente que la hidrólisis con ácidos minerales sobre materiales celulósicos y residuos lignocelulósicos de astillas de betula, provenientes del proceso furfural de W. Rosenlew Co., se ajustarían al comportamiento de reacciones homogéneas de descomposición unimolecular de primer orden en serie e irreversibles como se muestra en la Figura 1.14 (p. 5; p. 7).

**Figura 1.14.** Mecanismo de reacción de la hidrólisis de materiales celulósicos

Según Pohjola (1977), este modelo se aplica a la reacciones de hidrólisis donde la relación líquido/sólido sea lo suficientemente alta para considerar que la fase líquida se mantiene constante durante la reacción (p. 6).

Las velocidades de reacción de la producción de glucosa y de su degradación se ven influenciadas por:

- La actividad del ácido
- La concentración del ácido
- Temperatura de reacción

Para mejorar los rendimientos de glucosa se debe minimizar el tiempo de residencia antes de iniciar la degradación e incrementar la relación *k1/k2* (p. 7).

Pohjola, Matti y Pekka (1977), determinaron experimentalmente el comportamiento cinético de los residuos lignocelulósicos de la hidrólisis ácida con ácido sulfúrico del 0,5 % en peso respecto al sólido, empleando el reactor batch de acero inoxidable de 2 L que se muestra en la Figura 1.15, y lo compararon con el estimado si el mecanismo obedece a una reacción homogénea de degradación unimolecular en serie e irreversible (p. 5).

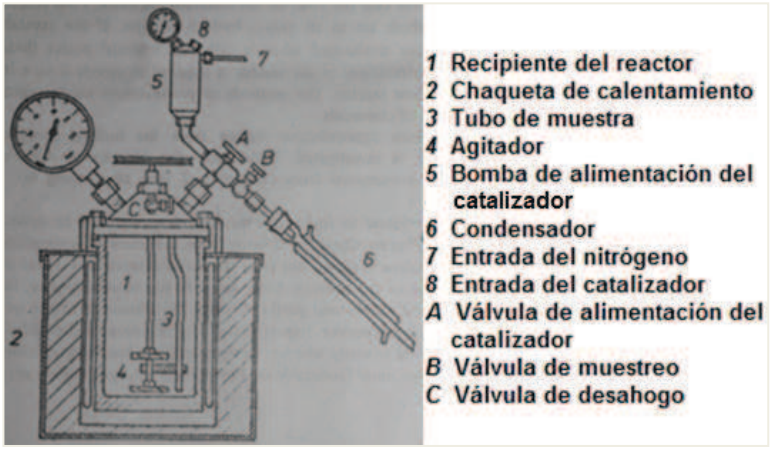



**Figura 1.15.** Reactor batch de 2 L empleado por Pohja, et al. (1977) para determinar la cinética de la hidrólisis ácida de residuos lignocelulósicos de la fabricación de papel
(Pohja, et al., 1977, p. 6)

En la Figura 1.16 se muestra el comportamiento cinético determinado experimentalmente (puntos) y el estimado (líneas continuas) y se demuestra que el comportamiento determinado experimentalmente corresponde al mecanismo propuesto de la Figura 1.14 y para la construcción se tomaron las máximas conversiones de glucosa determinadas experimentalmente en condiciones isotérmicas y aplicando la ecuación [1.1] y [1.2] para determinar las constantes de reacción *k1* y *k2*:

$$k_1 = 2{,}79 \times 10^{19} \times e^{\frac{-44500}{RT}} \quad [1.1]$$

$$k_2 = 1{,}43 \times 10^{17} \times e^{\frac{-39900}{RT}} \quad [1.2]$$

Donde:

$k_1$: constante de reacción de descomposición de la celulosa, $min^{-1}$

$k_2$: constante de reacción de descomposición de la glucosa, $min^{-1}$

$R$: constante de los gases, $J \times K^{-1} \times mol^{-1}$

$T$: temperatura de reacción, K

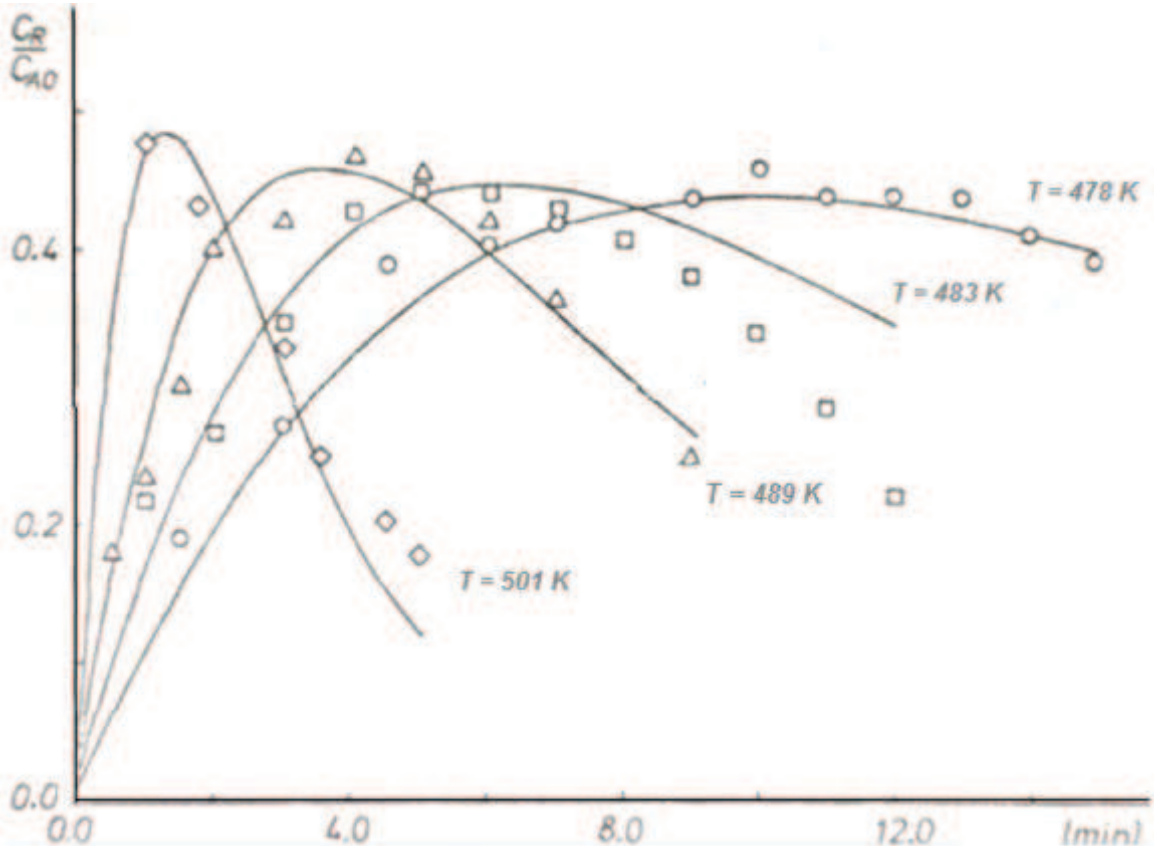



**Figura 1.16.** Conversiones de glucosa experimentales (puntos discontinuos) y teóricas de residuos (línea continua) lignocelulósicos a 501, 409, 483 y 478 K
(Pohja, et al., 1977, p. 7)

Finalmente, se esperaría, que el comportamiento cinético y así como la dependencia de la temperatura y conversiones de celulosa en azúcar glucosa obedezcan al mencionado comportamiento.

# 2. PARTE EXPERIMENTAL

Para el desarrollo del presente proyecto de titulación “Diseño un proceso físico químico para la producción de azúcares reductores a partir del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*)”, no se disponía de residuo fresco por no ser temporada de extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*).

Consecuentemente, se utilizaron como referencia los residuos proporcionados por el INIAP de Portoviejo obtenidos en noviembre de 2010 y como materia prima experimental se utilizaron los residuos obtenidos en el equipo de extracción tipo expeller del Departamento de Ciencias de Alimentos y Biotecnología (DECAB) de la Escuela Politécnica Nacional a partir de la semilla proporcionada por el INIAP, con el propósito de alcanzar los siguientes objetivos:

- Obtener el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) a escala laboratorio con el equipo expeller del DECAB.
- Caracterizar el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*).
- Determinar las condiciones de pretratamiento hidrotérmico para ablandar la matriz estructural del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) previo a la hidrólisis.
- Determinar las condiciones de hidrólisis del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) con ácido sulfúrico al 5 %w/w para la producción de azúcares reductores.
- Analizar de forma preliminar los costos del proceso propuesto.

En la Figura 2.1 se resume la metodología empleada para el desarrollo del presente trabajo, que consistió en la obtención del residuo con el expeller SARE, su caracterización, identificación de las condiciones de pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis ácida con el fin de producir azúcares reductores y el análisis preliminar de los costos del proceso.

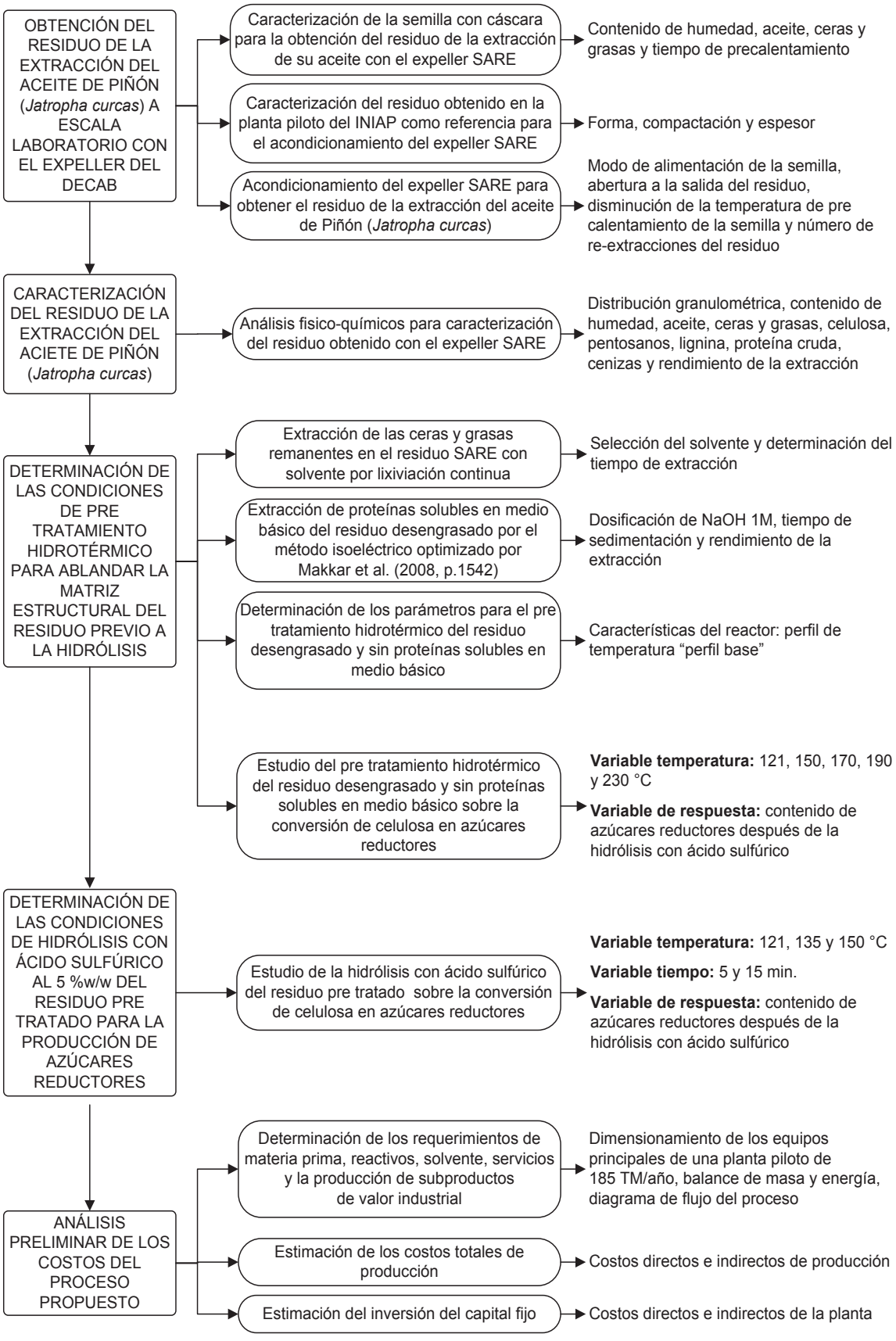



**Figura 2.1.** Metodología seguida para el desarrollo del presente proyecto

A continuación se listan los equipos que se emplearon:

- Balanza analítica AE ADAM PW 124, 120 g, 0,0001 g
- Balanza OHAUS, modelo CD-11 CHAMP II, 0,001 kg
- Centrífuga, Thomas Scientific de 30000 rpm
- Centrífuga WESTFALIA SEPARATOR AG. Oelde/Westf, tipo KA2-06-076, velocidad del tambor 9470 rpm
- Equipo Kjeldahl P SELECTA, con 6 digestores de 50 mL
- Equipo Soxhlet P SELECTA con 6 unidades de extracción de 250 mL
- Espectrofotómetro UV-Visible, SHIMADZU
- Expeller SWANSON AGRICULTURAL RESEARCH EQUIPMENT (SARE), modelo 6
- Juego de tamices ASTM E-11
- Molino de cuchillas, Thomas, modelo 5579-RO5, malla 0,5 mm
- Molino de martillos, CONDUX, modelo malla 6 mm
- Reactor de alta presión y acero inoxidable, 1L
- Sistema de extracción BUTT de 6 cm de diámetro

Finalmente, se listan los reactivos empleados:

- Ácido clorhídrico, grado ACS de pureza, MERCK
- Ácido sulfúrico fumante, mínimo 65 % de $SO_2$ libre, MERCK
- Ácido 3,5 di nitro salicílico, > 98 %, FLUKA CHEMIKA
- Alcohol etílico, 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$
- Benceno, industrial
- Fenol, 99,5 %, MERCK
- D-(+)-Glucosa anhidra, 99,5%, SIGMA
- Hexano, industrial
- Hidróxido de calcio en polvo, 87,9 %, BAKER
- Hidróxido de sodio en polvo, 98 %
- Sulfito de sodio, > 97,0 %, FLUKA CHEMIKA
- Tartrato de sodio y potasio, grado ACS, FISHER SCIENTIFIC

## 2.1. OBTENCIÓN DEL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) A ESCALA LABORATORIO CON EL EQUIPO EXPELLER DEL DECAB

Con el fin de obtener un residuo de la extracción mecánica por prensado del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) se empleó el expeller SWANSON AGRICULTURAL RESEARCH EQUIPMENT (SARE), modelo 6, que pertenece al Departamento de Ciencias de Alimentos y Biotecnología (DECAB) se realizó:

- La caracterización de la semilla: humedad, aceite, ceras y grasas y proteína cruda y determinación del tiempo de precalentamiento.
- La caracterización del residuo referencial INIAP obtenido en noviembre de 2010: forma, compactación y espesor.
- El acondicionamiento del expeller SARE, tomando como base la compactación del residuo de referencia INIAP y en el rango de temperatura de extracción de 70 a 100 °C (Brossard-González, Ferrari, Pighinelli y Park, 2010, p. 298).

### 2.1.1. CARACTERIZACIÓN DE LA SEMILLA SILVESTRE Y EL RESIDUO REFERENCIAL INIAP

El contenido de humedad, aceite, ceras y grasas en la semilla se determinaron con las metodologías de la NORMA TAPPI de las Secciones AII.2, AII.3 y AII.4, que constan en el Anexo II.

El tiempo de precalentamiento de la semilla se determinó con la mínima dificultad de rompimiento manual de la semilla cuantificada con los valores nominales de la Tabla 2.1. Se colocaron 500 g de semilla en bandejas de aluminio de fondo sólido hasta cubrir una altura de 2,5 cm, se fijó la temperatura de precalentamiento en 90 °C y se muestrearon al azar las semillas a las 0, 2, 3 y 4 horas en la superficie, mitad y fondo de la bandeja. Se graficaron la media aritmética de los valores nominales vs. el tiempo de precalentamiento.

**Tabla 2.1.** Valor nominal para cuantificar la dificultad de rompimiento de la semilla

| DIFICULTAD DE ROMPIMIENTO | VALOR NOMINAL |
|---|---|
| Baja | 1 |
| Media | 2 |
| Alta | 3 |

La forma y compactación del residuo INIAP se establecieron mediante observación. Con la compactación observada del residuo (INIAP) se estableció una escala nominal para evaluar la compactación del residuo resultante obtenido con el expeller SARE siendo “0” el referencial, “– X” los que se muestren menos compactos y “+ X” los más compactos.

El espesor del residuo INIAP, se determinó empleando el calibrador (0,05 mm). El espesor medio y su desviación estándar se calculó con las ecuaciones [AV.1] y [AV.2] respectivamente. Se realizaron 15 repeticiones (n = 15).

### 2.1.2. ACONDICIONAMIENTO DEL EXPELLER SARE

Para acondicionar el expeller se evaluaron los efectos del modo de alimentación de la semilla, de la abertura a la salida del residuo, de la temperatura de precalentamiento de la semilla y del número de re-extracciones del residuo sobre la compactación del residuo se mientras se mantuvo la temperatura de la cámara de extracción de 70 a 100 °C.

En la Tabla 2.2 se establecieron las condiciones del ensayo y con las siguientes consideraciones:

- Se trituró y precalentó la semilla en una estufa con bandejas perforadas.
- La abertura a la salida del residuo se estableció en 1,5, 2 y 5 mm.
- La temperatura de precalentamiento se estableció en 90 y 60 °C.
- El número de re-extracciones consistió en re alimentar al equipo el residuo resultante tantas veces sea necesario hasta parecerse al residuo referencial.

**Tabla 2.2.** Parámetros de los ensayos para acondicionar el equipo expeller SARE

| PARÁMETROS | MA 1 | MA2 | MA3 | ER1 | ER2 | TPC | RE1 | RE2 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| TIPO DE CARGA | Semilla entera sin precalentar | Semilla entera y precalentada | Semilla triturada y precalentada | Semilla triturada y precalentada | Semilla triturada y precalentada | Semilla triturada y precalentada | Residuo del ensayo TPC | Residuo del ensayo RE1 |
| LOTE (kg) | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | - | - |
| ABERTURA A LA SALIDA DEL RESIDUO (mm) | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 2 | 5 | 2 | 2 | 2 |
| TEMPERATURA DE PRECALENTAMIENTO DE LA SEMILLA (°C) | - | 90 | 90 | 90 | 90 | 60 | - | - |

MA: Ensayo para determinar el modo de alimentar la semilla
ER: Ensayo para determinar la abertura a la salida del residuo
TPC: Ensayo para determinar la temperatura de precalentamiento de la semilla
RE: Ensayo para determinar el número de re-extracciones

## 2.2. CARACTERIZACIÓN DEL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*)

El residuo obtenido con el expeller SARE, fue triturado en el molino dotado de un tamiz de porosidad de 6 mm. La caracterización del residuo triturado comprendió: la distribución granulométrica, el contenido de humedad, aceite, ceras y grasas, celulosa, pentosanos, lignina, proteína cruda y cenizas. Con el residuo triturado se desarrolló el estudio del pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis ácida.

### 2.2.1. DETERMINACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN GRANULOMÉTRICA

La distribución granulométrica se determinó con la retención acumulada empleando los tamices ASTM E-11 # 8, 20, 40 y 60.

Para determinar la retención acumulada se tamizó una muestra de 350 g durante 15 minutos, se pesó cada tamiz y se calculó:

- El peso de la muestra corregida total ($M_T$), el porcentaje de retención ($\%R_i$), el porcentaje de retención acumulada en cada tamiz i ($\%RA_i$), el porcentaje de retención acumulada media en cada tamiz i ($\%\overline{RA}_i$) y la desviación estándar ($\sigma_{RAi}$) con las ecuaciones [AVI.1], [AVI.2], [AVI.3], [AV.1] y [AV.2] respectivamente.
- Se graficó la retención acumulada vs. el tamaño de grano y determinó el d80.

### 2.2.2. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD, ACEITE, CERAS, GRASAS Y PROTEÍNA CRUDA

La humedad, aceite, ceras y grasas se determinaron con las metodologías de la NORMA TAPPI de las Secciones AII.2, AII.3 y AII.4, mientras que la proteína cruda se determinó con la Norma AOAC 2001.11, que consta en el Anexo III.

***Estimación del rendimiento de la extracción del aceite***

El rendimiento ($\%\eta_{Aceite}$) se determinó con el contenido de aceite en la semilla y en residuo resultante de la extracción con la ecuación [AVII.1].

### 2.2.3. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CELULOSA, PENTOSANOS, LIGNINA Y CENIZAS

El contenido de celulosa, pentosanos, lignina y cenizas se determinaron con las metodologías de la NORMA TAPPI de las Secciones AII.5, AII.6, AII.7 y AII.8, que constan en el Anexo II.

## 2.3. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE PRETRATAMIENTO HIDROTÉRMICO PARA ABLANDAR LA MATRIZ ESTRUCTURAL DEL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) PREVIO A LA HIDRÓLISIS

Por las características del residuo, el pretratamiento consistió en tres etapas consecutivas: extracción de ceras y grasas con solvente por lixiviación continua, extracción de proteína cruda soluble en medio básico y pretratamiento hidrotérmico.

### 2.3.1. EXTRACCIÓN DE CERAS Y GRASAS RESIDUALES CON SOLVENTE POR LIXIVIACIÓN CONTINUA

#### 2.3.1.1. Selección del solvente

El solvente se seleccionó en función de la máxima capacidad de recuperación de las ceras y grasas remanentes en el residuo obtenido con el expeller SARE.

La extracción se realizó en el equipo Soxhlet durante 6 horas con los solventes: benceno: etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ (2:1, en volumen), etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ y n-hexano con el procedimiento de la Norma TAPPI T6 os-59, que consta en la Sección AII.4 del Anexo II.

#### 2.3.1.2. Determinación del tiempo de extracción

Una vez seleccionado el solvente, se evaluó el contenido de aceite, ceras y grasas residuales a 10, 30 y 60 minutos, respectivamente para determinar el tiempo requerido para alcanzar el 0,5 % de aceite residual, con el método de extracción Butt, como se detalló en la Sección 1.1.2.2.

### 2.3.2. EXTRACCIÓN DE PROTEÍNA CRUDA SOLUBLE EN MEDIO BÁSICO

La extracción de proteína cruda del residuo desengrasado, con el 0,5 % de aceite residual, se realizó con la metodología de la Figura 2.2, integrando las condiciones optimizadas por Makkar, Francis y Becker (2008, p. 1542).

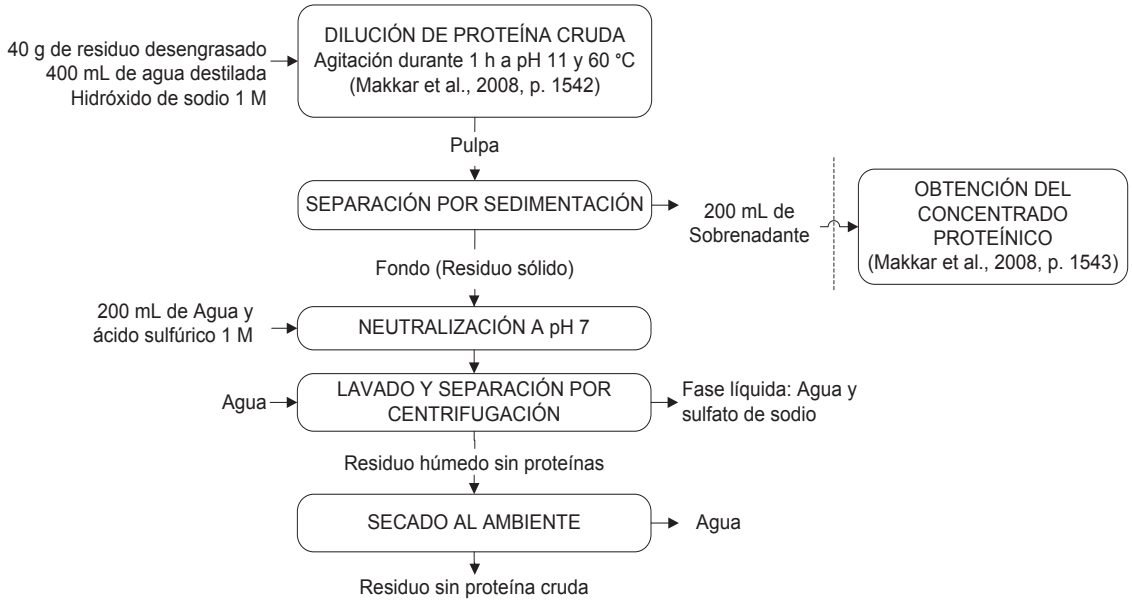



**Figura 2.2.** Metodología empleada para la extracción de la proteína cruda integrando las condiciones de dilución en medio básico establecidas por Makkar et al. (2008, p. 1542)

Se determinó la humedad del residuo resultante “sin proteína” con la metodología de la Sección AII.2, que consta en el Anexo II.

Con base en las condiciones del proceso propuesto en la Figura 2.2 y para el balance de materia se estableció:

- La dosificación de la solución de hidróxido de sodio (NaOH) 1 M para mantener el pH en 11 durante 1 hora.
- El tiempo de sedimentación de los sólidos después de la extracción de proteínas.
- La estimación del rendimiento de la recuperación de proteína cruda por la ruta propuesta en la Figura 2.2.

#### 2.3.2.1. Determinación de la dosificación de la solución de NaOH 1 M

Durante la extracción de proteína cruda se registró el consumo de la solución NaOH 1 M requerida para mantener el pH en 11 durante 1 hora. Se realizaron 20 repeticiones con el fin de procesar aproximadamente 800 g de residuo desengrasado y continuar con el estudio del pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis ácida.

#### 2.3.2.2. Determinación del tiempo de sedimentación de los sólidos

Inmediatamente después de la dilución de la proteína cruda, se colocó la pulpa en una probeta de 500 mL y el volumen que ocupó la fase sólida se determinó a los 0, 10, 20, 30, 45, 60 y 85 minutos. El tiempo de sedimentación se estableció cuando el volumen ocupado por la fase sólida se mantuvo constante en el tiempo.

#### 2.3.2.3. Estimación del rendimiento de extracción de proteína cruda

El rendimiento de la extracción de proteína cruda se calculó con la ecuación [AVIII.1] y para su cálculo se realizaron las siguientes consideraciones:

- Se determinó el contenido de proteína cruda en el residuo antes y después de la dilución de proteína cruda.
- El residuo inicial corresponde al “desengrasado” (0,5 % de aceite residual) obtenido bajo las condiciones establecidas acorde a la Sección 2.3.1.
- El residuo final corresponde al “sin proteínas”, obtenido al cabo de aplicar la metodología mostrada en la Figura 2.2.
- La proteína y sólidos solubles a pH 11, son precipitados a pH 4 con HCl 4 M, una vez seco por liofilización, se obtiene un concentrado proteínico o pellet, cuya composición es de 820 $g_{proteína\ cruda}/kg_{pellet}$ (Makkar et al., 2008, p. 1543).

### 2.3.3. PRETRATAMIENTO HIDROTÉRMICO

El pretratamiento del residuo “sin proteínas” se realizó con la metodología que se muestra en la Figura 2.3 y las consideraciones que se muestran a continuación:

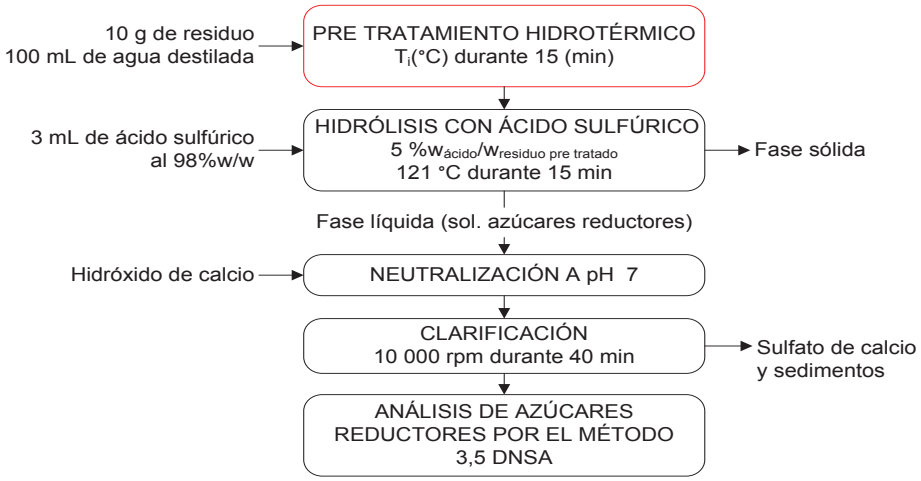



**Figura 2.3.** Metodología para evaluar el pretratamiento hidrotérmico

- El pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis ácida se realizaron en el mismo reactor.
- El pretratamiento hidrotérmico se evaluó bajo las condiciones de hidrólisis con ácido diluido establecidas por bibliografía.
- Los parámetros de operación y variables del proceso se establecieron con base en bibliografía y en las características del reactor.
- La variable de respuesta fue el contenido de azúcares reductores de la fase líquida neutralizada y clarificada determinado con método espectrofotométrico del ácido 3,5 di nitro salicílico (3,5 DNSA) que consta en el Anexo IV.
- El criterio de selección de las condiciones de pretratamiento fue la mayor conversión de celulosa en azúcares reductores.
- La conversión de celulosa en azúcares reductores se determinó por el contenido de los mismos en las soluciones hidrolizadas respecto al contenido de celulosa en el residuo de la extracción del aceite con el expeller SARE.
- Las mejores condiciones de pretratamiento hidrotérmico se establecieron como parámetros para el estudio de la hidrólisis ácida en la Sección 2.4.
- La metodología empleada se repitió para el estudio de la hidrólisis ácida.

#### 2.3.3.1. Determinación de los parámetros de pretratamiento hidrotérmico

Los parámetros que se establecieron experimentalmente para el pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis ácida con base en las características del reactor son:

- La velocidad de agitación vertical, que se cuantificó con base en el número de ciclos por segundos apropiados para mantener una pulpa homogénea.
- La temperatura para alimentar el ácido y descargar la solución hidrolizada, que se determinó el mínimo tiempo necesario para evitar la evaporación.

Para lo cual, se evaluó el perfil de temperatura calentando 100 mL de agua destilada, desde temperatura ambiente hasta alcanzar 170 °C, durante 15 minutos y luego enfriar a temperatura ambiente, constituyéndose como perfil base.

Los parámetros establecidos por bibliografía se muestran en la Tabla 2.3.

**Tabla 2.3.** Parámetros del pretratamiento hidrotérmico establecidos por bibliografía

| PARÁMETRO | VALOR | REFERENCIA |
|---|---|---|
| Relación sólido/líquido (%w/w) | 10 | Visser et al. (2011, p. 802) |
| Temperatura de hidrólisis (°C) | 121 | |
| Duración del pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis, respectivamente (min) | 15 | Taherzadeh y Karimi (2008, p. 1639) |
| Relación ácido sulfúrico/sólido (%w/w) | 5 | |
| Rango de temperatura de pretratamiento hidrotérmico (°C) | 121 - 230 | |

%w/w: relación en peso

#### 2.3.3.2. Evaluación de la eficacia del pretratamiento hidrotérmico e influencia de la temperatura sobre la conversión de celulosa en azúcares reductores

Para el estudio del pretratamiento hidrotérmico sobre la conversión de celulosa en azúcares reductores se evaluó por triplicado a 121, 150, 170, 190 y 230 °C durante 15 minutos y la obtenida sin pretratamiento (SP). El tratamiento estadístico de los datos incluyó el análisis ANOVA y la aplicación del método LSD

para determinar la significancia de los tratamientos, que se describen en las Secciones AV.4.1 y AV.5.1 que constan en el Anexo V.

La eficacia del pretratamiento hidrotérmico se determinó con respecto al residuo que no fue pretratado y la influencia de la temperatura de pretratamiento hidrotérmico en el ablandamiento de la matriz, se analizó con el perfil de temperatura de los pretratamientos en comparación con el perfil base.

## 2.4. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE HIDRÓLISIS DEL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) CON ÁCIDO SULFÚRICO AL 5 %w/w PARA LA PRODUCCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES

Para el estudio de la hidrólisis ácida se siguió la misma metodología empleada para el pretratamiento, con la modificación que se muestra en la Figura 2.4.

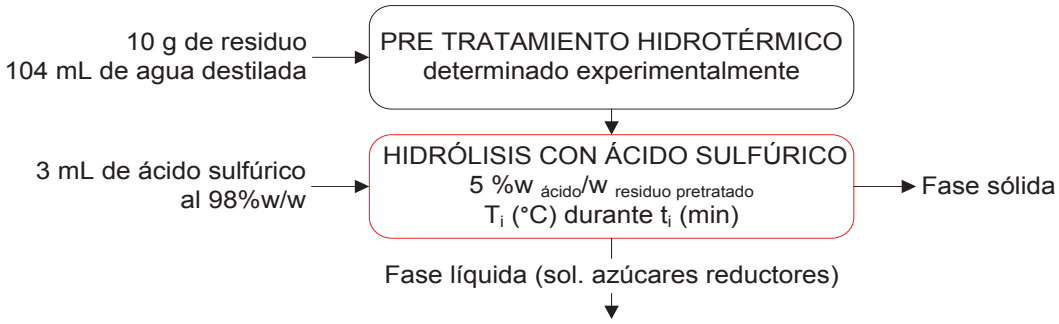



**Figura 2.4.** Metodología para evaluar la hidrólisis ácida (modificación de la Figura 2.3)

Se realizó un diseño factorial 3 × 2, a 121, 135 y 150 °C durante 5 y 15 minutos.

El tratamiento estadístico de los datos incluyó el análisis ANOVA y la aplicación del método LSD (mínima diferencia significativa) para determinar la significancia de los tratamientos, que consta en la Sección AV.4.2 y AV.5.2 del Anexo V.

Los parámetros establecidos por bibliografía se muestran en la Tabla 2.4.

**Tabla 2.4.** Parámetros para el estudio de la hidrólisis ácida establecidos por bibliografía

| PARÁMETRO | VALOR | REFERENCIA |
|---|---|---|
| Relación sólido/líquido (%w/w) | 10 | Visser et al. (2011, p. 802) |
| Relación ácido sulfúrico/sólido (%w/w) | 5 | Taherzadeh y Karimi (2008, p. 1639) |

%w/w: relación en peso

## 2.5. ANÁLISIS PRELIMINAR DE LOS COSTOS DEL PROCESO PROPUESTO

El análisis preliminar de costos del proceso propuesto consta de la estimación de la inversión de capital fijo y del costo total de producción para la implementación y funcionamiento de una planta piloto semi-continua que procesa 185 TM/año de residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) y opera 330 días al año, 8 horas al día y que se ubicaría en la provincia de Manabí. La capacidad de la planta piloto se calculó con base en la cantidad de residuos que generaría el INIAP de Portoviejo si procesara en promedio 4000 quintales de semilla al año. Para ello, se consideró un rendimiento de extracción del aceite en la planta INIAP del 60 %, esto es 154 TM/año de residuo y con un sobredimensionamiento del 20 % que corresponde a 185 TM/año de residuo.

### 2.5.1. CONSIDERACIONES PARA EL DIMENSIONAMIENTO DE LA PLANTA

El requerimiento de aceite para abastecer las necesidades energéticas de la Isla Floreana se estima en 11 000 gal/año y representa una demanda de semilla de 143 TM/año. La generación de residuo de la extracción del aceite se estima, considerando un 0,6 $kg_{residuo}/kg_{semilla}$, en 85,8 TM/año de residuo (ERGAL, 2011; Lestari, Mulder, Weusthuis y Sanders, 2008, p. 3).

El balance de masa de la planta se basó en los parámetros determinados experimentalmente para obtener el consumo de solvente, reactivos y agua de proceso, así como la producción de subproductos de valor industrial. Con el

balance de energía de la planta, se estableció el consumo eléctrico y las propiedades térmicas de las corrientes para determinar el consumo de combustible y fluido refrigerante para reproducir las condiciones de experimentación. Se realizó el dimensionamiento de los equipos principales y los balances de la planta acorde al diagrama que se muestra en la Figura 2.5.

### 2.5.2. ESTIMACIÓN DE LA INVERSIÓN DEL CAPITAL FIJO

La estimación de la inversión del capital fijo se realizó en función del precio de los equipos principales de acuerdo a la metodología propuesta por Peters, Timmerhaus y West (2002, p. 112) que incluye:

- El costo directo de la planta: costo de adquisición e instalación de los equipos, control e instrumentación, tuberías, instalaciones eléctricas y edificaciones.
- El costo indirecto de la planta: gastos de construcción, gastos legales y contingencia. El precio de los equipos se estimó tomando como referencia los precios recomendados por Peters et al. (2002) y con los Índices de los Costos de Planta de la revista Chemical Engineering de enero de 2013.

### 2.5.3. COSTOS DIRECTOS E INDIRECTOS DE PRODUCCIÓN

Los costos directos de producción comprenden: el costo de adquisición de materia prima, solventes, reactivos, agua de proceso y diesel menos los ingresos obtenidos por la venta de los subproductos con valor industrial.

Además, se consideró la mano de obra de 2 obreros, mantenimiento e insumos operativos, estos dos últimos calculados en base al precio de los equipos principales.

El costo indirecto de producción comprende la depreciación de los equipos principales para 10 años.

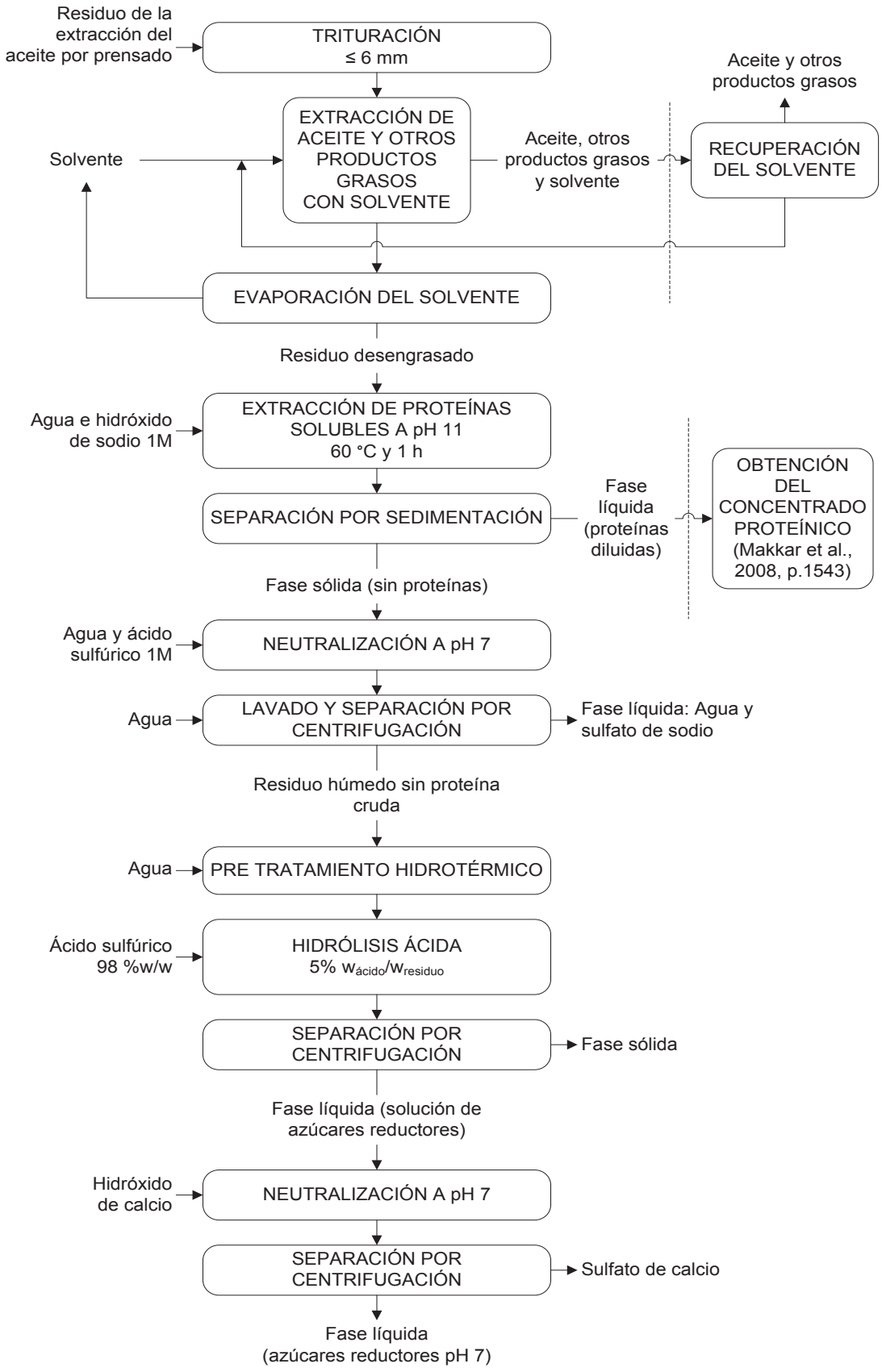



**Figura 2.5.** Diagrama de bloques del proceso físico químico para la obtención de azúcares reductores a partir del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*)

# 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 3.1. OBTENCIÓN DEL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) A ESCALA LABORATORIO CON EL EQUIPO EXPELLER DEL DECAB

A continuación se presenta la caracterización de la semilla y del residuo referencial INIAP, así como las condiciones de operación para obtener el residuo con el expeller SARE acondicionado

### 3.1.1. CARACTERIZACIÓN DE LA SEMILLA SILVESTRE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*)

En la Tabla 3.1 se muestran las características de la semilla silvestre originaria de la provincia de Manabí y proporcionada por el INIAP.

**Tabla 3.1.** Características de la semilla silvestre de Piñón (*Jatropha curcas*) con cáscara, originaria de la provincia de Manabí

| CARACTERÍSTICA | SEMILLA DE PIÑÓN |
|---|---|
| Humedad (%) | 7,51 ± 0,05 |
| Aceite* (%) | 26,56 ± 1,04 |
| Ceras y grasas* (%) | 43,38 ± 1,14 |
| Tiempo de precalentamiento a 90 °C (h) | 3 |

$\bar{X} \pm \sigma$ $(n = 3)$
*En base seca

#### 3.1.1.1. Humedad en la semilla

La humedad del 7,51 % en la semilla, indica que se encuentra dentro del rango recomendado por el manual de operación del expeller marca SWANSON

AGRICULTURE RESEARCH EQUIPMENT, modelo 6 (ND) para procesar semillas vegetales, que varía del 5 al 8 % (p. 6).

### 3.1.1.2. Aceite en la semilla

Un contenido de aceite del 26,56 % en la semilla silvestre originaria de la provincia de Manabí es congruente con los reportados en bibliografía, como se muestran en la Tabla 3.2.

**Tabla 3.2.** Contenido de aceite en la semilla silvestre de Piñón (*Jatropha curcas*) determinado experimentalmente y los registrados en bibliografía

| CARACTERÍTICA | Experimental | Proaño (2008) | ERGAL* (2011) |
|---|---|---|---|
| Aceite (%) | 26,56 | 26 | 27 |

*Estimado de la Tabla 1.1. $Densidad_{aceite}$ = 925 $kg/m^3$ (Proaño, 2008, p. 5)

Todos los datos corresponden a la semilla silvestre de Piñón (*Jatropha curcas*) originaria de la provincia de Manabí.

En contraste, con el contenido de aceite presentado por Lestari, Mulder, Weusthuis y Sanders (2008) del Piñón de Indonesia del 35 %, que se presentó en la Tabla 1.6, la semilla nacional tiene menor contenido. Aunque, Ganduglia et al. (2010) reportan que el rango de aceite aceptable en cultivos considerados energéticos es del 28 al 39 %, la diferencia no es amplia y se resalta el potencial que el Piñón (*Jatropha curcas*) originario de la provincia de Manabí, a pesar de ser haber sido cosechado de arbustos silvestres.

### 3.1.1.3. Ceras y grasas en la semilla

La diferencia del contenido de ceras y grasas del 43,38 % y del aceite del 26,56 % que es del 16,82 % corresponde a las gomas, resinas, ceras y grasas, distintas al aceite.

Según los resultados de Brossard-González, Ferrari, Pighinellli y Park (2010), al emplear como solvente etanol anhidro, se determinó que por cada 100 g de aceite en la semilla hay 13,99 g de material que se atribuyó a la presencia de pigmentos, carbohidratos, resinas, gomas (p. 301).

En cambio, en el caso de la semilla nacional por cada 100 g de aceite en la semilla hay alrededor de 63 g de material graso, que representa una porción 4,5 veces mayor.

Un contenido tan alto no correspondería únicamente a pigmentos, carbohidratos, gomas o resinas, sino que se trata de mayor contenido de ceras y grasas de mayor punto de solidificación que el aceite.

Se demuestra que la semilla silvestre de Piñón (*Jatropha curcas*) producida en la provincia de Manabí, tiene un interesante contenido de material graso adicional que otras variedades no presentan.

Esta porción de material graso, distinto al aceite, representa un contenido interesante que puede aprovecharse como materia prima para jabones, velas, lubricantes, entre otros una vez que se determine sus propiedades.

#### 3.1.1.4. Tiempo de precalentamiento de la semilla a 90 °C

Se estableció la temperatura de precalentamiento en 90 °C, teniendo en cuenta que a mayor temperatura, se facilitaría la extracción del aceite, debido a la reducción de su viscosidad y de la consistencia de las ceras que forman las barreras estructurales.

Además, se tomó en consideración que en la ciudad de Quito, donde se lleva a cabo el proyecto, el agua hierve a 92 °C y por tanto, la temperatura de precalentamiento debe ser menor porque afecta a la humedad en la semilla.

En la Figura 3.1 se muestra el valor nominal medio de la dificultad de rompimiento de la semilla en el tiempo de 2, 3 y 4 horas.

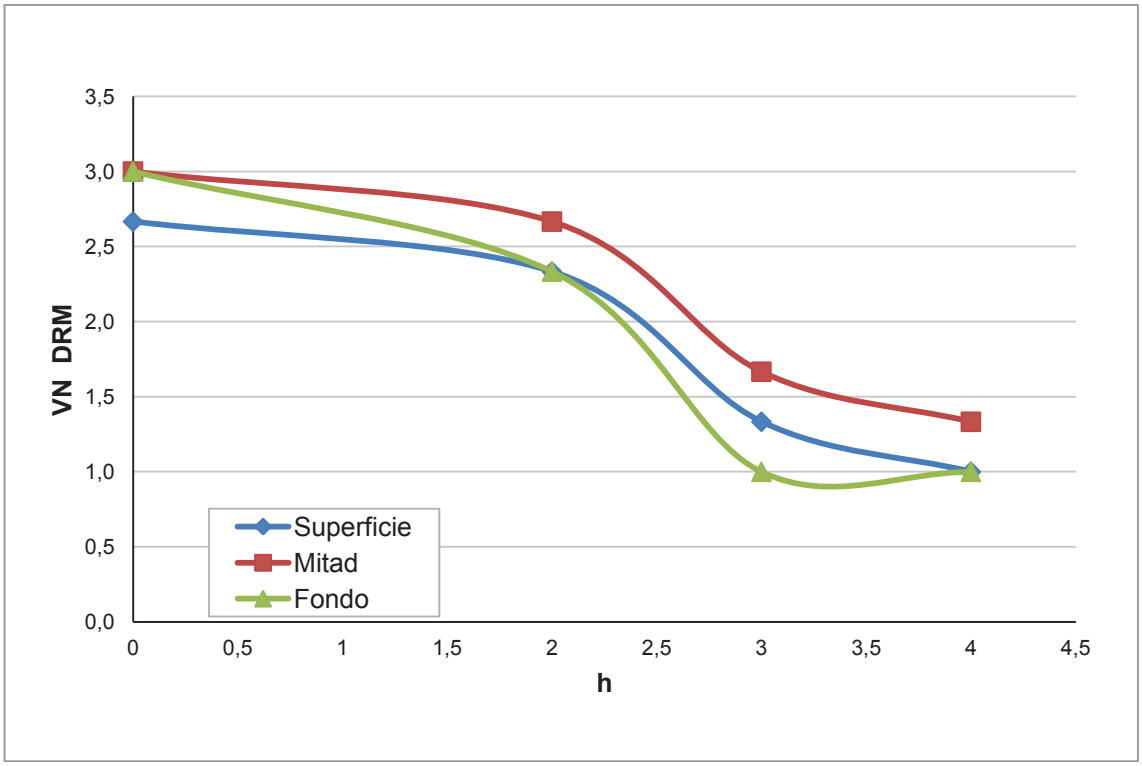



**Figura 3.1.** Valor nominal de la dificultad de rompimiento media (VNDRM) de la semilla versus el tiempo de precalentamiento a 90 °C en función del punto de muestreo en la bandeja determinada manualmente

De la Figura 3.1, se concluye que la tendencia a disminuir la dificultad de rompimiento de la semilla es independiente del punto de muestreo.

Se observa, además, que hay una mayor dificultad de rompimiento en la mitad de la bandeja, esto es porque el ensayo se llevó a cabo en una estufa de convección natural, que dificultó la distribución del calor uniforme en toda la bandeja.

Finalmente, se observa que al tiempo de 3 horas se inicia una tendencia asintótica alrededor del valor nominal 1 que corresponde a una baja dificultad de rompimiento de la semilla, que consta en la Tabla 2.1.

Por tanto, se estableció que el tiempo mínimo de calentamiento a 90 °C es de 3 horas.

### 3.1.2. CARACTERIZACIÓN DEL RESIDUO REFERENCIAL INIAP

En la Tabla 3.3 se muestran las características físicas del residuo obtenido en la planta de extracción del INIAP, en noviembre de 2010, tomadas como referencia para el acondicionamiento del expeller SARE.

**Tabla 3.3.** Caracterización del residuo obtenido en la planta piloto del INIAP en noviembre de 2010

| CARACTERÍSTICA | RESIDUO INIAP |
|---|---|
| Forma | Hojuelas |
| Compactación referencial | 0 |
| Espesor (mm) | 10,40 ± 0,06 |

$\bar{X} \pm \sigma\ (n = 15)$

#### 3.1.2.1. Forma y compactación del residuo INIAP

Se establece que la forma se denominará como hojuela y la compactación referencial “0” corresponde a la observada en la Figura 3.2 y de esta forma se establece la referencia con la que se caracterizó el residuo que se obtuvo de del expeller SARE. .

**Figura 3.2.** Residuo obtenido por la planta piloto del INIAP de Portoviejo en noviembre 2010 (residuo referencial)

#### 3.1.2.2. Espesor del residuo INIAP

Un espesor medio de 10,40 mm corresponde a la abertura del equipo extractor empleado, por la cual sale el residuo extruido. El tamaño de abertura a la salida de un equipo extractor por sí solo no asegura una extracción efectiva porque depende principalmente del diseño del tornillo sin fin y de la magnitud del esfuerzo al que es sometida la semilla.

### 3.1.3. ACONDICIONAMIENTO DEL EXPELLER SARE PARA OBTENER EL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*)

En la Tabla 3.4 se muestran las condiciones de extracción con el expeller SARE.

**Tabla 3.4.** Condiciones de operación para la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) con el expeller SARE

| CONDICIONES DE EXTRACCIÓN | |
|---|---|
| Modo de alimentar la semilla con cáscara | Triturada |
| Abertura a la salida del residuo resultante (mm) | 2 |
| Temperatura de precalentamiento semilla (°C) | 60 |
| Tiempo precalentamiento semilla (h) | 3 |
| Número de re-extracciones del residuo | 2 |

En la Tabla 3.5 se presenta la denominación, evidencia visual y escala nominal correspondiente establecida a lo largo de la experimentación.

Las características de la evidencia visual presentada en la Tabla 3.5 son:

- La escasa compactación “-3”, se caracteriza porque el residuo resultante está conformada principalmente de semilla que apenas sufrió rompimiento.
- La baja compactación “-2”, se caracteriza porque el residuo resultante está conformada de semilla triturada y con su albumen (partes blancas) casi

completo debido a que fue sometida a un pseudo-prensado.

- La media compactación “-1”, se caracteriza porque el residuo resultante ha sufrido un prensado que lo compacto pero que dicha torta es quebradiza.
- La alta compactación “+1”, se caracteriza por tener mayor consistencia y uniformidad en todo el residuo y que no se quiebra con tanta facilidad.

**Tabla 3.5.** Denominación y valor nominal de la compactación observada durante los ensayos para acondicionar el expeller SARE

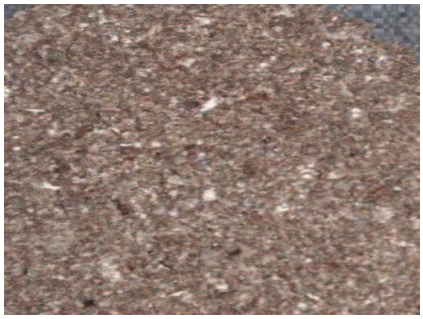
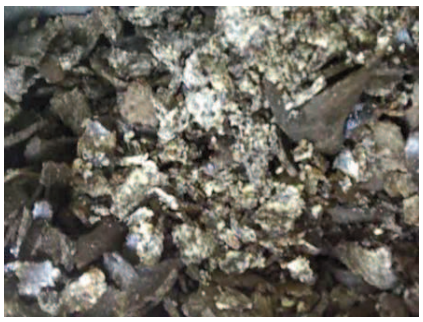
| DENOMINACIÓN | EVIDENCIA VISUAL | VALOR NOMINAL |
|---|---|---|
| Escasa compactación |  | -3 |
| Baja compactación |  | -2 |
| Media compactación | | -1 |
| Compactación referencial* | | 0 |

**Tabla 3.5.** Denominación y valor nominal de la compactación observada durante los ensayos para acondicionar el expeller SARE (continuación…)

| DENOMINACIÓN | EVIDENCIA VISUAL | VALOR NOMINAL |
|---|---|---|
| Alta compactación | | +1 |

*Establecida en la Sección 3.1.2.1.

En la Figura 3.3 se muestra la influencia de los ensayos de la Tabla 2.2 sobre la temperatura de la cámara de extracción y del residuo resultante, mientras que en la Figura 3.4, se muestra la influencia sobre su compactación.

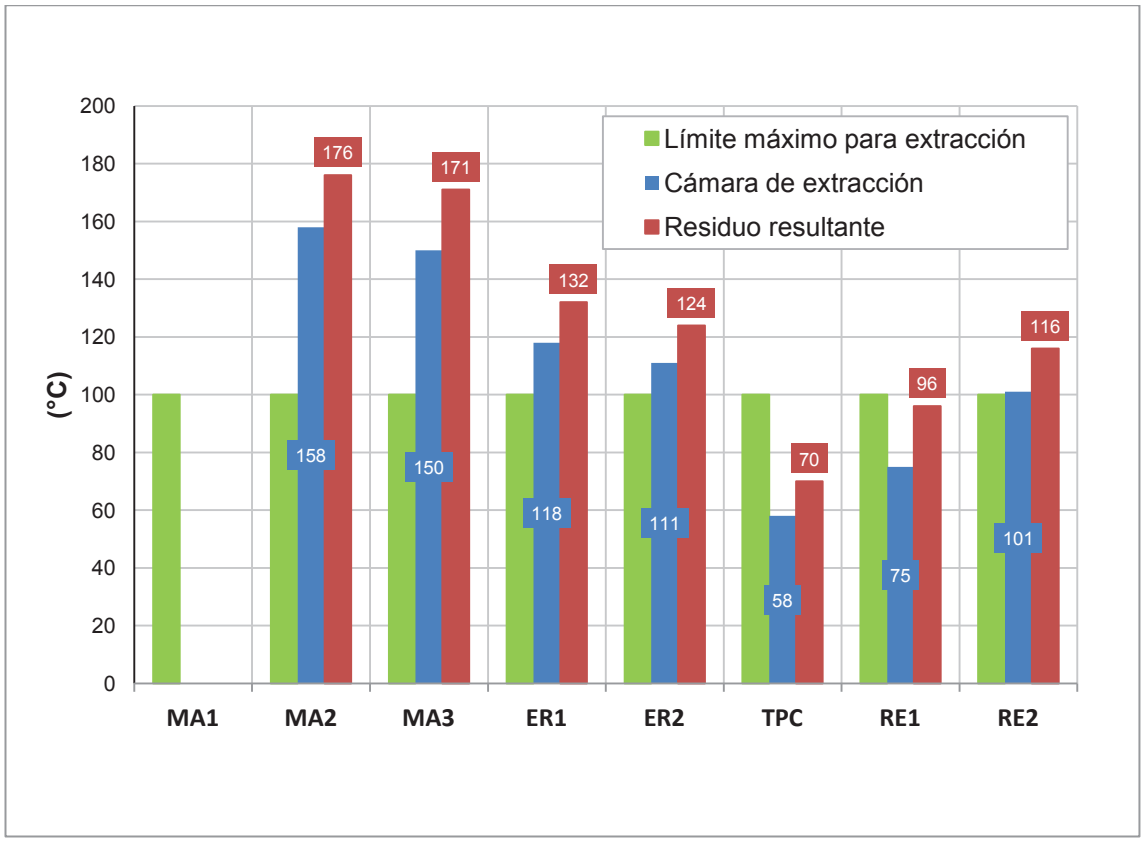



**Figura 3.3.** Influencia de las condiciones de los ensayos de la Tabla 2.2 en las temperaturas de la cámara de extracción y en el residuo resultante, respectivamente

**Figura 3.4.** Influencia de las condiciones ensayadas para acondicionar el expeller SARE en el valor nominal (VN) de la compactación del residuo resultante, basado en la Tabla 3.5

La temperatura en la cámara de extracción es inferior a la del residuo, debido a que en la salida del residuo el área trasversal es menor que en resto de la cámara, y por tanto, se produce mayor esfuerzo para ser extrudido.

#### 3.1.3.1. Modo de alimentación de la semilla: ensayos MA1, MA2 y M3

En el ensayo MA1, con semilla entera y sin precalentamiento, el equipo se atascó por lo que no fue posible medir ninguna de las variables de respuesta y, por tanto, se descarta esta condición.

En la Figura 3.3 se aprecia que las temperaturas en la cámara de extracción en los ensayos MA1 y MA2 están muy por encima del límite máximo de trabajo que corresponde a 100 °C. A tales temperaturas ~ 170 °C, se obtiene un residuo que ha sufrido la pirólisis de varios de sus componentes orgánicos dando como resultado una composición alterada y de apariencia carbonizada.

En la Figura 3.4 la compactación en ambos casos es alta, “1”, alta y está por encima de la referencial, “0”.

Se concluye que el modo de alimentar la semilla no altera la compactación y pero es necesario precalentar y reducir el tamaño de la semilla, para mitigar un sobrecalentamiento innecesario dentro de la cámara de extracción.

### 3.1.3.2. Abertura a la salida del residuo resultante: ensayos ER1, ER2

En la Figura 3.3 se observa que en los ensayos ER1 y ER2 la temperatura de extracción alcanzada aún está por encima 100 °C y los residuos aún se pirolizan (~ 130 °C). Consecuentemente esta acción no es suficiente para reducir la temperatura de extracción.

En la Figura 3.4 se observa que al incrementar la abertura a la salida del residuo resultante de 1,5 a 2 y 5 mm disminuye sustancialmente la compactación, que de acuerdo con la Tabla 3.5, cambia de alta, “+1”, a media, “-1”, y escasa, “-3”, respectivamente.

Por tanto, se determina que un espesor de 2 mm, favorece a reducir la temperatura de extracción, sin embargo aún no es suficiente.

### 3.1.3.3. Temperatura de precalentamiento de la semilla: ensayo TPC

En la Figura 3.3 se corrobora que la reducción de la temperatura de la carga disminuye la temperatura de la cámara de extracción y del residuo, se alcanzan 58 y 70 °C, respectivamente.

Sin embargo, se observó que el flujo de aceite decreció apreciablemente. Esto se debe a que a la temperatura de precalentamiento de 60 °C, el aceite contenido en la semilla tiene mayor viscosidad y las celdas estructurales que la contienen no se

dilatan lo suficiente como a 90 °C dando como resultado que el flujo de aceite extraído disminuya.

En la Figura 3.4 se muestra que disminuye la compactación de media “-1”, a baja “-2”. Lo que confirma que en ambos casos la semilla no estuvo sometida al mismo esfuerzo, debido a que la dificultad de rompimiento incrementó y como consecuencia no se obtuvo el mismo grado de extrusión en el ensayo TPC.

Por lo tanto, se produce un residuo muy flojo y con gran cantidad de aceite remanente pero dentro de los rangos de temperatura esperados < 100 °C.

#### 3.1.3.4. Número de re-extracciones del residuo resultante

Finalmente, al re-extraer el residuo resultante 2 veces en el equipo se alcanza la máxima recuperación de aceite y consecuentemente su compactación fue incrementando progresivamente con cada re-extracción, como se muestra en la Figura 3.4, mientras, que la temperatura de la cámara de extracción incrementa de 58 a 101 °C y la temperatura del residuo alcanza 116 °C.

## 3.2. CARACTERIZACIÓN DEL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*)

En la Tabla 3.6 se presentan las características del residuo de la extracción de aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) obtenido en el equipo piloto expeller SARE bajo las condiciones de operación establecidas en la Tabla 3.4.

**Tabla 3.6.** Caracterización del residuo obtenido en el expeller SARE

| CARACTERÍSTICA | RESIDUO SARE |
|---|---|
| d80** (mm) | 0,367 |
| Humedad (%) | 5,61 ± 0,01 |

**Tabla 3.6.** Caracterización del residuo obtenido en el expeller SARE (continuación…)

| CARACTERÍSTICA | RESIDUO SARE |
|---|---|
| Aceite* (%) | 13,05 ± 1,15 |
| Ceras y grasas* (%) | 29,47 ± 1,73 |
| Celulosa* (%) | 15,64 ± 0,53 |
| Pentosanos* (%) | 5,15 ± 0,19 |
| Lignina* (%) | 12,35 ± 0,92 |
| Proteína cruda* (%) | 25,26 ± 0,32 |
| Cenizas* (%) | 7,64 ± 0,36 |

$\bar{X} \pm \sigma \ (n = 3)$
ND: no determinado
*En base seca
**Del residuo triturado y tamizado a través de una malla de 6 mm

### 3.2.1. DISTRIBUCIÓN GRANULOMÉTRICA DEL RESIDUO SARE TRITURADO

En la Tabla 3.7 se muestra la distribución granulométrica del residuo obtenido con el expeller SARE al cabo de ser triturado y tamizado a través de una malla de 6 mm en el molino.

**Tabla 3.7.** Distribución granulométrica del residuo SARE triturado y tamizado a través de una malla de 6 mm

| Tamiz ASTM E-11* | Tamaño de poro (mm) | Retención acumulada media (%) |
|---|---|---|
| 8 | 2,360 | 0,72 ± 0,32 |
| 20 | 0,850 | 30,05 ± 0,80 |
| 40 | 0,425 | 73,36 ± 0,49 |
| 60 | 0,250 | 98,45 ± 0,47 |

$\bar{X} \pm \sigma \ (n = 3)$
*(U.S.A. Standard testing sieve ASTM E-11 Specification)

En la Figura 3.5 se determinó que el d80 del residuo SARE corresponde a 0,367 mm, basándose en la Tabla 3.7, que significa que el 80 % de la muestra tiene un tamaño de partícula mayor a 0,367 mm.

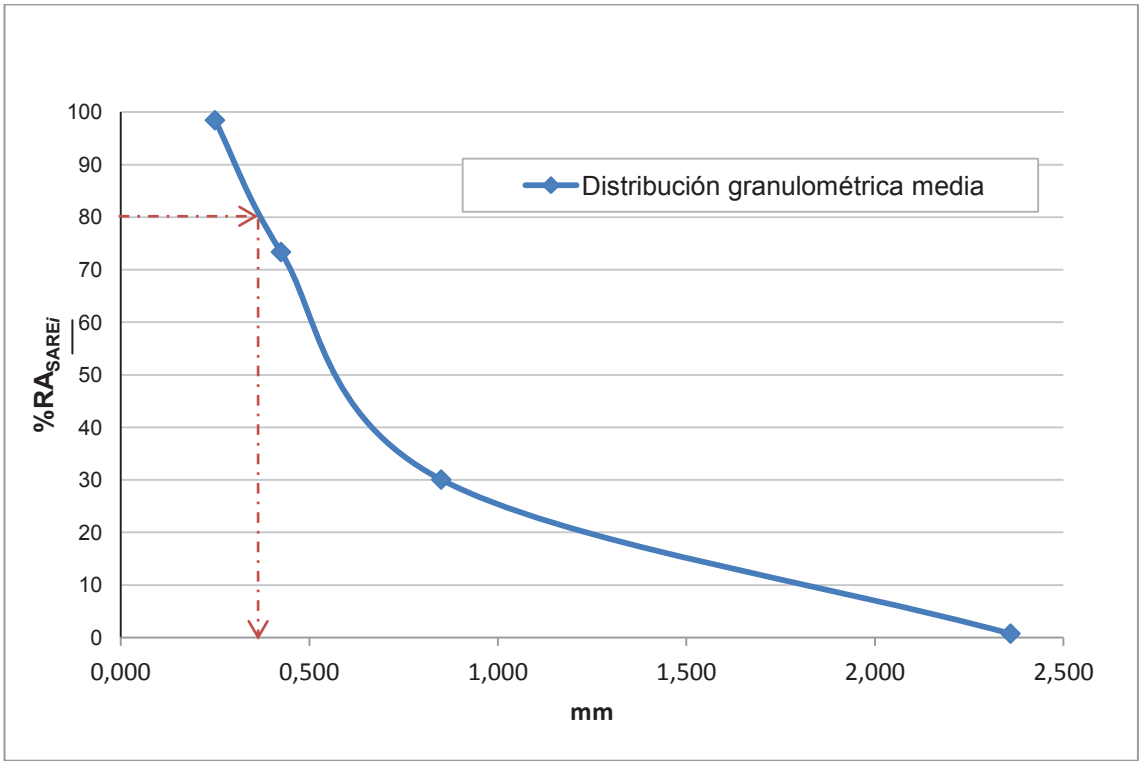



**Figura 3.5.** Retención acumulada media en cada tamiz *i* ($\%\overline{RA}_{SAREi}$) versus el tamaño de poro para la determinación gráfica del d80 del residuo SARE al ser triturado en el molino de malla 6 mm, d80 = 0,367 mm

Al considerar que el residuo SARE se trituró a un tamaño máximo de partícula de 6 mm, se concluye que el 80 % del residuo pertenece al rango de 6 a 0,367 mm.

Sin embargo, cabe destacar que apenas el 0,72 % del residuo está en el rango de 6 a 2,360 mm como se muestra en la Tabla 3.7. Por tanto se estima que el 80 % del residuo pertenece al rango de 2,360 a 0,367 mm.

A partir del valor del d80, se estimó que el residuo SARE tiene aproximadamente un área externa de 0,027 m2/g en seco, suponiendo que las partículas son esféricas, y en base a lo expuesto por Taherzadeh y Karimi (2008) el área superficial interna sería menor (p. 1625).

Acorde con Fan, Lee y Beardmore (1980), para incrementar el área interna se debe sumergir en agua, es por esta razón que se prefiere trabajar en húmedo para mejorar la hidrólisis de la celulosa (p. 194).

### 3.2.2. HUMEDAD EN EL RESIDUO SARE

La humedad del 5,61 % en el residuo SARE comparada con la humedad de la semilla de 7,51% indica que durante la extracción mecánica, en la que se alcanzó la máxima temperatura a la salida del residuo de 116 °C y en la cámara de extracción de 101 °C, como se mostró en la Figura 3.3, parte de la humedad se ha evaporado.

### 3.2.3. ACEITE EN EL RESIDUO SARE

Con un contenido de aceite del 13,05 % en el residuo SARE y con el 26,56 % en la semilla, que consta en la Tabla 3.1, se estimó que el rendimiento de la extracción del aceite con el expeller SARE es del 58,50 %, es decir que el 41,50 % del aceite se desecha con el residuo de la extracción.

El rendimiento de extracción obtenido es mayor al reportado por Brossard-González et al. (2010), del 51,49 % obtenido en un expeller a 100 °C y 85 rpm y congruente con el reportado por Proaño (2008) del 53,68 % obtenido en un extrusor. Por otro lado, Makkar, Francis y Becker (2008) reportan que puede alcanzarse rendimientos mayores del 81 %. El rendimiento de la extracción obtenido hace referencia al total del aceite extraído bajo las condiciones establecidas en la Tabla 3.4. y es una medida de la eficiencia de la extracción con el equipo SARE. (p. 298; p. 5, p. 1544).

Además, y debido al alto contenido ácidos grasos insaturados en el aceite, como se mostró en la Tabla 1.3, la interferencia durante la hidrólisis ácida sería importante ya que dichos ácidos grasos reaccionan fácilmente con el ácido sulfúrico para formar sulfonados, consecuentemente se reduce la eficiencia del ácido como catalizador (Brossard-González et al., 2010, p. 300; González, 2012a).

Debido a que la extracción mecánica no es completamente satisfactoria para alcanzar estos índices de recuperación, se debe considerar la extracción por solventes y se establece alcanzar un porcentaje de grasas residual en el residuo del 0,5 %, valor típico alcanzado en la extracción de aceite de semillas oleaginosas con n-hexano (Karnofsky, 2005, p. 53).

### 3.2.4. CERAS Y GRASAS EN EL RESIDUO SARE

Del contenido del 29,47 % de ceras y grasas y del 13,05 % de aceite remanente se determina que el 16,42 % corresponde a ceras y otras grasas de mayor punto de solidificación que el aceite, resinas, gomas, pigmentos y carbohidratos simples.

Esta porción, distinta al aceite representa el 56 % de las ceras y grasas totales. Al compararlo con el contenido inicial en la semilla del 16,82 %, que se discutió en la Sección 3.1.1.3, se determina que el 98 % de dichos compuestos se conservan luego de la extracción mecánica por prensado con el expeller.

Las ceras y grasas pueden reaccionar con el hidróxido de sodio formar emulsiones, mientras que las resinas se saponifican y pueden interferir con la acción del catalizador en la etapa de extracción de proteína cruda (Rojas, 2008).

De acuerdo al diseño del proceso físico de dilución de proteína cruda, que consta en la Figura 2.2, con bajas concentraciones de aceite y grasas en el residuo, la producción de material detergente y emulsiones, sería despreciable y pueden descartarse en las etapas subsecuentes de lavado.

Con la extracción de estos componentes grasos se espera minimizar las interacciones colaterales durante la sacarificación del residuo.

### 3.2.5. CELULOSA EN EL RESIDUO SARE

Un contenido del 15,64 % de celulosa representa que por cada 100 kg de residuo SARE hay 15,64 kg de celulosa y con la remoción de las ceras y grasas del 99,5 % puede incrementar su contenido al 22,08 %.

En la Tabla 3.8 se presenta comparativamente los contenidos de celulosa registrados en bibliografía.

**Tabla 3.8.** Contenido de celulosa en el residuo SARE junto con los registrados en bibliografía

| CARACTERÍSTICA | SARE | Proaño (2008, p. 18)* |
|---|---|---|
| Celulosa (%kg/kg*) | 22,08 | 23,14 |

*Respecto al residuo desengrasado

El contenido de celulosa determinado experimentalmente es congruente con la caracterización realizada por Proaño (2008), la misma que fue realizada sobre residuo de la extracción del aceite de Piñón originario de la provincia de Manabí empleando un extrusor.

La celulosa presente en el residuo es la principal fuente de azúcares reductores, concretamente de glucosa, cuando es hidrolizada con ácido o con enzimas.

### 3.2.6. PENTOSANOS EN EL RESIDUO SARE

Otra fuente de azúcares reductores son los pentosanos, provenientes principalmente de la hemicelulosa.

Un contenido del 5,15 % de pentosano, como consta en la Tabla 3.6, equivale al 7,29 % del residuo desengrasado y representa la cantidad de otros azúcares reductores diferentes a la glucosa, concretamente las

pentosas (xilosa y arabinosa, que generalmente se encuentra en los residuos lignocelulósicos).

Al compararlo con el contenido de celulosa del 22,08 %, principal fuente de glucosa, se estima que la composición de azúcares reductores corresponde al 75 % de glucosa y 25 % de pentosa.

Este resultado es congruente a la composición de dichos azúcares en la cáscara de la semilla del Piñón (*Jatropha curcas*) presentado por Visser, Filho, Tótolam Martins y Guamaraes (2011) donde el 66 % correspondería al glucano, carbohidrato formado por dos monómeros de glucosa y que se presentó en la Tabla 1.4 (p. 804).

### 3.2.7. LIGNINA EN EL RESIDUO SARE

Un contenido del 12,35 % de lignina en el residuo SARE representa un 17,47 % en el residuo desengrasado. Este rubro es importante y representa la principal barrera física para acceder a la celulosa, hidrolizarla y obtener los azúcares reductores, principalmente glucosa.

En la Tabla 3.9 se presenta comparativamente el contenido de lignina junto con los registrados en bibliografía.

**Tabla 3.9.** Contenido de lignina en el residuo SARE y el registrado en bibliografía

| CARACTERÍSTICA | SARE | CETEC (2006) |
|---|---|---|
| Lignina (%kg/kg*) | 17,47 | 14,23 |

*Respecto al residuo desengrasado

El contenido de lignina del residuo experimental está encima del reportado por CETEC (2006), con lo que se concluye que la variedad ecuatoriana presentará mayor dificultad a sacarificarse que la brasileña.

### 3.2.8. PROTEÍNA CRUDA EN EL RESIDUO SARE

Un contenido de 25,26 % de proteína en el residuo SARE representa un 35,81 % respecto al residuo totalmente desengrasado de la extracción del aceite del Piñón (*Jatropha curcas*) originario de la provincia de Manabí con el expeller SARE y es mayor al reportado por Lestari et al. (2008) del 26,2 % (respecto al residuo totalmente desengrasado) originario de Indonesia y al reportado por Makkar et al. (2008) de 25,9 % y congruente con el reportado por el CETEC (2006) del 38,38 % (p. 5).

El residuo SARE tiene un contenido de proteína cruda importante, que según Makkar et al. (2008), tiene la calidad alimenticia comparable con la recomendada por la FAO para niños de 3 a 5 años pero con alto contenido de compuesto tóxicos como ésteres de forbol, curcina, entre otros antinutrientes y bajo contenido de lisina (pp. 1542-1543).

Debido a la toxicidad del residuo, Lestari et al. (2008) sugieren se aplique a la industria no alimenticia, como materia prima para la elaboración de emulsificantes, adhesivos o para films, propiedades que fueron evaluadas (p. 10).

### 3.2.9. CENIZA EN EL RESIDUO SARE

Un contenido de cenizas del 7,64 % representa los componentes inorgánicos presentes en el residuo experimental y es congruente con el 7,36 % reportado por el CETEC (2006).

El contenido de ceniza varía en función del tipo de nutrientes inorgánicos que han sido absorbidos por la planta durante su crecimiento y maduración.

Finalmente, el residuo de la extracción de aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) tiene un contenido aceptable de celulosa, mayor contenido de

proteína en comparación con la variedad de Indonesia, importante cantidad de aceite y grasas residuales debido al método de extracción mecánica.

Dichos subproductos, no han sido aprovechados para ningún fin comercial, al contrario se descarta como desecho, por lo que justifica considerar a la torta de Piñón (*Jatropha curcas*) silvestre originario de la provincia de Manabí y obtenida por prensado, como fuente de azúcares reductores y otros productos con valor industrial.

## 3.3. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE PRETRATAMIENTO HIDROTÉRMICO PARA ABLANDAR LA MATRIZ ESTRUCTURAL DEL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) PREVIO A LA HIDRÓLISIS

En la Tabla 3.10 se resumen las condiciones de las tres etapas de pretratamiento al que es sometido el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) en el proceso físico químico propuesto en la Figura 2.5.

**Tabla 3.10.** Condiciones de las tres etapas de pretratamiento del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*)

| ETAPA | OPERACIÓN | MÉTODO | PARÁMETRO | |
|---|---|---|---|---|
| I | Extracción de ceras y grasas | Extracción con solvente por lixiviación continua | Solvente | Etanol, 95 % (GL 15 °C) |
| | | | Tiempo de extracción (min) | 60 |
| | | | Aceite remanente en el residuo (%) | 0,5 |
| II | Extracción de proteína cruda en medio básico | Precipitación isoeléctrica | Temperatura* (°C) | 60 |
| | | | Tiempo de extracción* (h) | 1 |
| | | | pH* | 11 |
| | | | Dosificación de NaOH 1 M** (mL) | 19,30 ± 2,91 |
| | | | Tiempo de sedimentación (min) | 30 |
| | | | Rendimiento de recuperación (%) | 51,55 |

**Tabla 3.10.** Condiciones de las tres etapas de pretratamiento del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) (continuación…)

| ETAPA | OPERACIÓN | MÉTODO | PARÁMETRO | |
|---|---|---|---|---|
| III | Ablandamiento de la matriz estructural del residuo | Pretratamiento Hidrotérmico | Temperatura (°C) | 190 |
| | | | Tiempo de pretratamiento (min) | 15 |

*Condiciones establecidas por Makkar et al. (2008) para solubilizar las proteínas
**por cada 40 g de residuo, $\bar{X} \pm \sigma \ (n = 18)$

### 3.3.1. EXTRACCIÓN DE CERAS Y GRASAS RESIDUALES CON SOLVENTE POR LIXIVIACIÓN CONTINUA

Con el afán de remover las ceras y grasas presentes en el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) y evitar su interferencia en la extracción de las proteínas y en la hidrólisis ácida para la producción de azúcares reductores, como se discutió en las Secciones 3.2.3 y 3.2.4, se aplicó la metodología presentada en la Sección 2.3.1.

A continuación se analizan los resultados que llevaron a la conclusión de establecer las condiciones de extracción de las ceras y grasas residuales:

#### 3.3.1.1. Solvente

Para el desarrollo del presente trabajo se evaluó la extracción con etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$, en contraste al extracto obtenido por los solventes n-hexano y benceno: etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ (2:1, en volumen) cuyos resultados se muestran en la Tabla 3.11.

Es evidente, que utilizando n-hexano, la extracción es selectiva, es decir que únicamente se extrae aceite debido a la característica no polar del solvente. En cambio con el etanol, debido a su característica polar, puede solubilizar otros componentes como carbohidratos no estructurales y pigmentos provenientes de la cáscara (Brossard-González et al., 2010, p. 301).

**Tabla 3.11.** Ceras y grasas extraídas al cabo de 6 horas empleando como solventes: benceno: etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ (2:1 en volumen), etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ y n-hexano respectivamente

| CARACTERÍSTICA | Etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ | n-Hexano* | Benceno: etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ (2:1 en volumen)* |
|---|---|---|---|
| Ceras y grasas (%kg/kg) | 28,92±1,32 | 13,05±1,15 | 29,47±1,73 |

*Acorde a la caracterización del residuo SARE que se muestra en la Tabla 3.6
$\bar{X} \pm \sigma\ (n = 3)$

En la Figura 3.6 se muestra la evidencia visual recogida después de la extracción con los respectivos solventes.

**Figura 3.6.** Evidencia visual al cabo de 6 horas de extracción con n-Hexano (A), Benceno: etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ (2:1) (B) y etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ (C)

La mayor diferencia entre los extractos obtenidos con los solventes: n-hexano (A), benceno: etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ (2:1) (B) y etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ (C), es su coloración, esto corrobora que, con los solventes con base de etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$, se extraen los pigmentos de la cáscara y, como se muestra en la Figura 3.7, una gran cantidad de material graso de mayor punto de solidificación.

En la Figura 3.7 se observa que mientras el solvente, etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$, está a temperatura de reflujo (~78 °C) el extracto obtenido es completamente soluble (A), sin embargo cuando se enfría a temperatura ambiental incrementa su

turbidez (B), debido a que gran cantidad del extracto precipita y que se evidencia en (C).

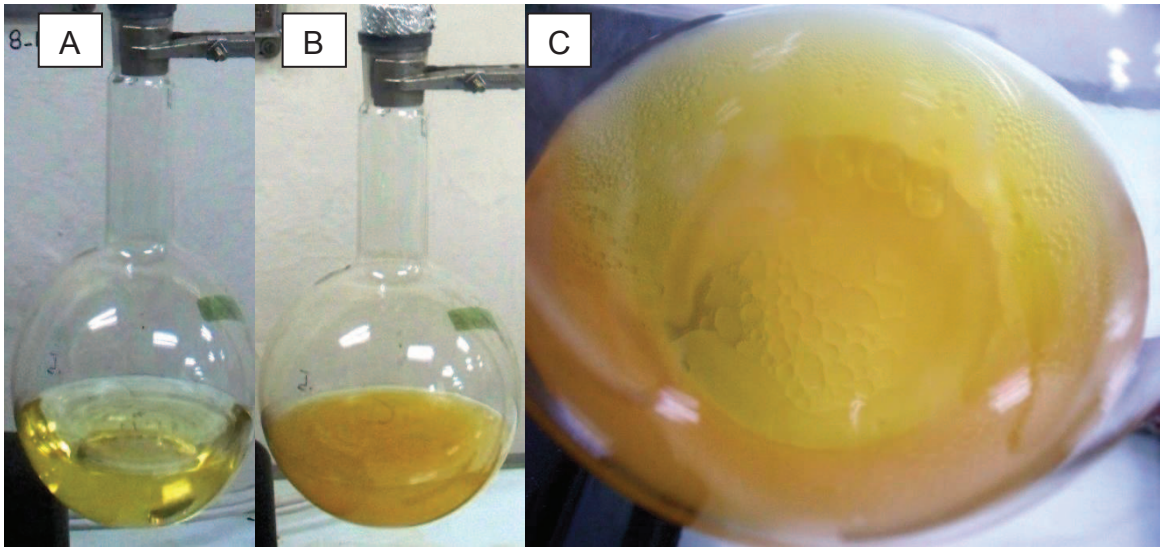



**Figura 3.7.** Extracto obtenido empleando etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ a: temperatura de reflujo (~78 °C) (A), al cabo del enfriamiento a temperatura ambiente (B) y material graso precipitado a temperatura ambiente (C)

Este comportamiento se observó tanto para el extracto obtenido con etanol 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$, así como con el benceno: etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ (2:1). Además, el comportamiento de esta fracción grasa al cambio de temperatura presenta una gran ventaja en cuanto al costo de su recuperación industrial, ya que se lo puede lograr con una separación física por simple decantación.

Con base en el porcentaje de diferencia relativa del 1,88 % entre los resultados obtenidos con los solventes benceno: etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ y etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$, la incidencia del benceno es mínima, lo que implica que esta pequeña diferencia corresponde a la presencia de ciertas resinas y gomas solubles exclusivamente en benceno y que la gran parte de este material corresponda a ceras y grasas (Rojas, 2008).

Consecuentemente, no hay una apreciable diferencia en la capacidad de extraer el material graso presente en el residuo por lo que, se puede usar indistintamente cualquiera de los dos solventes en base a etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$.

Por otro lado, la manipulación y uso del benceno implica altos riesgos para la salud del operario, debido a su naturaleza cancerígena en presencia de altas concentraciones y tiempos de exposición prolongados (ATSDR, 2011).

Con base en lo expuesto, se concluye que el solvente para extraer aceite y otros materiales grasos es el etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ por su carácter de baja toxicidad y origen renovable.

### 3.3.1.2. Tiempo de extracción

En la Tabla 3.12 se presenta el contenido de ceras, grasas y del aceite remanente en el residuo evaluado al cabo de la extracción a 10, 30 y 60 minutos

**Tabla 3.12.** Composición de aceite, ceras y grasas y del aceite remanente en el residuo desengrasado con etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ a 10, 30 y 60 minutos

| TIEMPO (min) | CERAS Y GRASAS REMANENTE (%*) | ACEITE REMANETE (%*) |
|---|---|---|
| 0 | 29,47 ± 1,73 | 13,05 ± 1,15 |
| 10 | 12,33 ± 1,05 | 7,02 ± 1,24 |
| 30 | 3,51 ± 0,67 | 1,88 ± 0,93 |
| 60 | 0,89 ± 0,89 | 0,47 ± 0,53 |

$\bar{X} \pm \sigma\ (n = 3)$
*Respecto al residuo desengrasado en base seca a "t" minutos

En la Figura 3.8, se presenta el comportamiento de la extracción del aceite y grasas. El intervalo que se observa entre las curvas de ceras y grasas con la del aceite, indican la cantidad de material graso distinto del aceite. Con relación al comportamiento de la extracción, se observa que a partir de los 30 minutos, la velocidad de extracción tanto del aceite, así como, de ceras y grasas disminuye drásticamente.

Para alcanzar con la meta del 0,5 % de aceite se requieren 60 minutos y se establece como el tiempo mínimo de residencia.

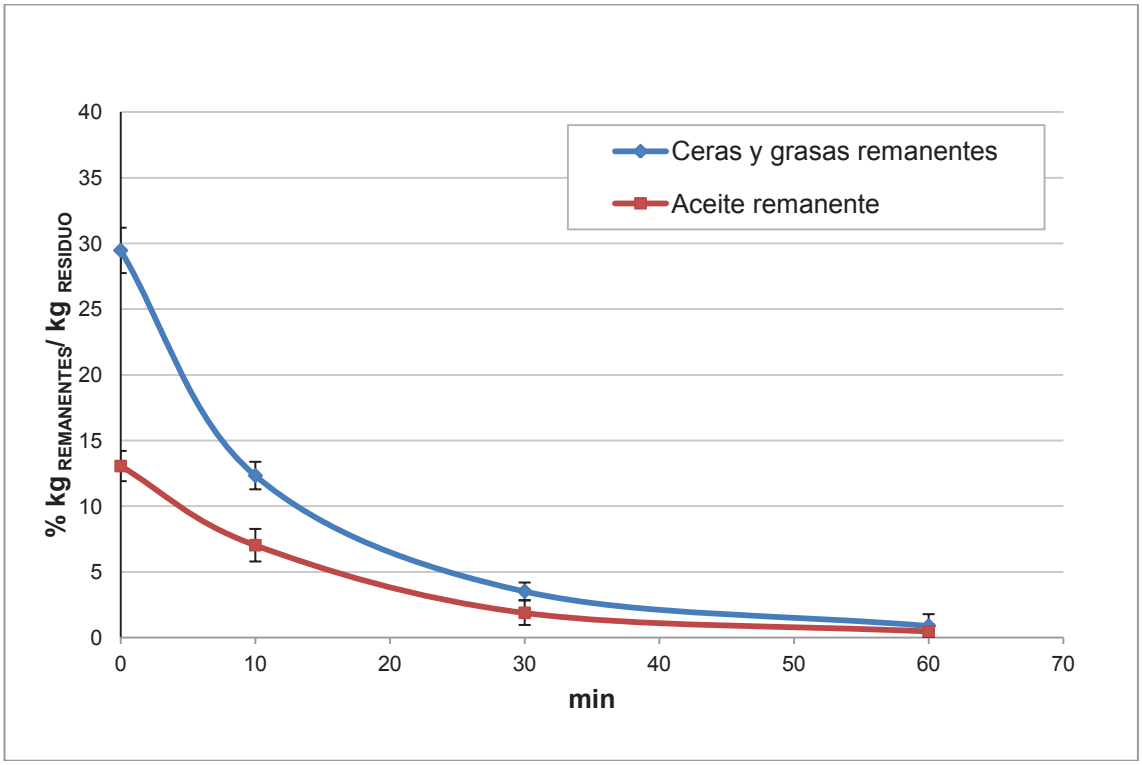



**Figura 3.8.** Comportamiento del aceite comparado con las ceras y grasas al desengrasar el residuo SARE con etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ durante 10, 30 y 60 minutos, $\bar{X} \pm \sigma$ $(n = 3)$

Al cabo de los 60 minutos se alcanza una extracción del 99,5 % de aceite del residuo y es congruente al recomendado por Brossard-González et al. (2010), quienes emplearon etanol anhidro y recomiendan 1 hora para alcanzar una extracción del 100,58 % del aceite, cuyo excedente se atribuye a gomas y carbohidratos presentes en la semilla (p. 301). Por lo tanto, extraer con etanol del 95 %$_{(GL\ 15\ °C)}$ no afecta apreciablemente en el rendimiento de la extracción. En la Figura 1.4, se mostró el esquema del equipo de extracción Butt utilizado para determinar el tiempo de extracción.

### 3.3.2. EXTRACCIÓN DE PROTEÍNA CRUDA SOLUBLE EN MEDIO BÁSICO

A continuación se presentan los resultados obtenidos de la extracción de la proteína cruda presente en el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) previamente desengrasado.

### 3.3.2.1. Dosificación de la solución de hidróxido de sodio 1 M

Se determinó que la dosificación de la solución de NaOH 1 M para que el pH se mantenga en 11 durante 1 hora, corresponde a 19,30 ± 2,91 mL por cada 40 g de residuo desengrasado, que se encuentra en agua destilada en relación sólido/líquido al 10 %.

### 3.3.2.2. Tiempo de sedimentación de los sólidos

A continuación se presenta el análisis de los resultados que llevaron a la conclusión de determinar el tiempo de sedimentación por decantación en 30 minutos.

En la Figura 3.9 se presenta el comportamiento de la sedimentación de los sólidos representado por la trayectoria del límite interfacial de los sólidos conforme decantaron en el tiempo.

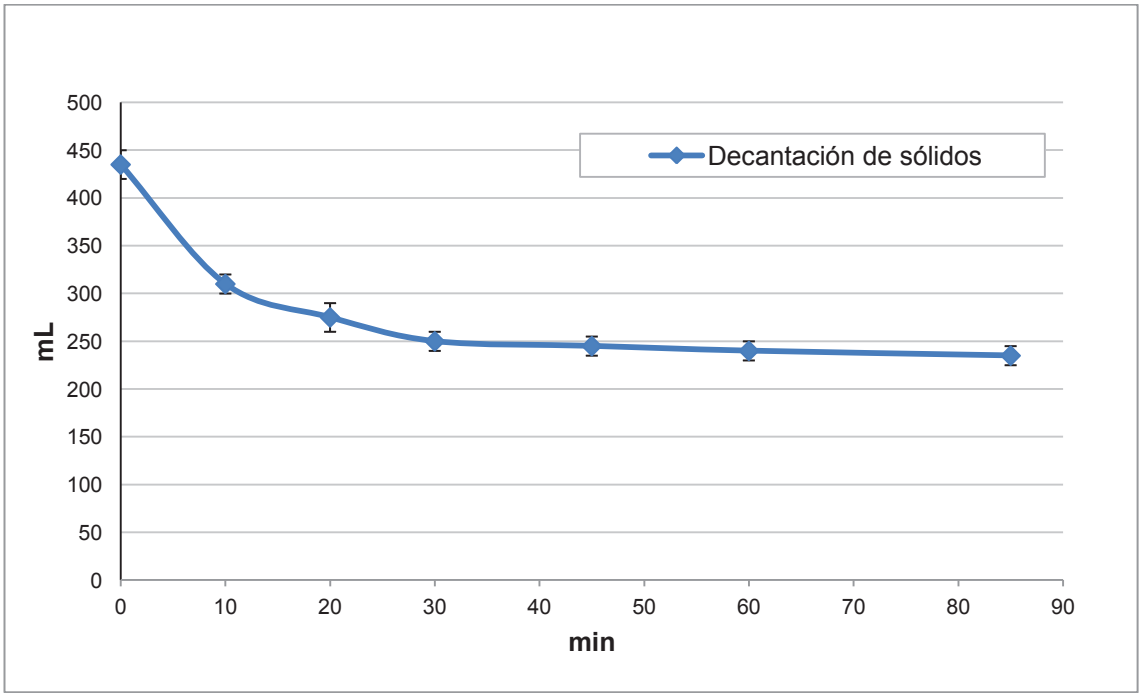



**Figura 3.9.** Trayectoria del límite interfacial de los sólidos durante la sedimentación al cabo de la extracción de proteína cruda, $\bar{X} \pm \sigma$ $(n = 3)$

El comportamiento de la sedimentación antes de los 30 minutos muestra una velocidad de sedimentación apreciable, mientras que después de los 30 minutos la velocidad de sedimentación es sumamente lenta.

En la Figura 3.10 se muestra la evidencia visual de la separación por decantación a los 30 minutos.

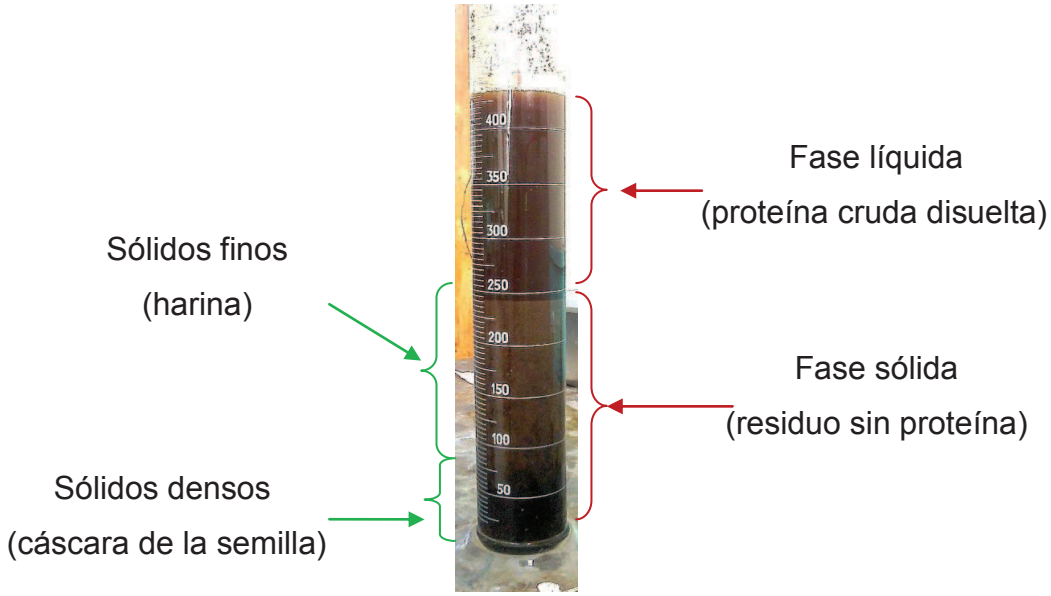



**Figura 3.10.** Separación por decantación del sólido

Para verificar la cantidad de sólidos que pueden haber suspendidos en la fase líquida al cabo de los 30 minutos de sedimentación, se tomaron 200 mL de la fase líquida y fueron centrifugados a 1 000 rpm durante 12 minutos y, como se muestra en la Figura 3.11, la cantidad de sólidos suspendidos es mínima. Por lo tanto, se seleccionan 30 minutos para la sedimentación.

En la Figura 3.12 se muestra la sedimentación al cabo de este tiempo y la fase sólida recuperada por decantación, para luego neutralizarla, lavarla, secarla al ambiente y continuar con el estudio del pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis con ácido sulfúrico al 5 $\%w_{ácido}/w_{residuo}$.

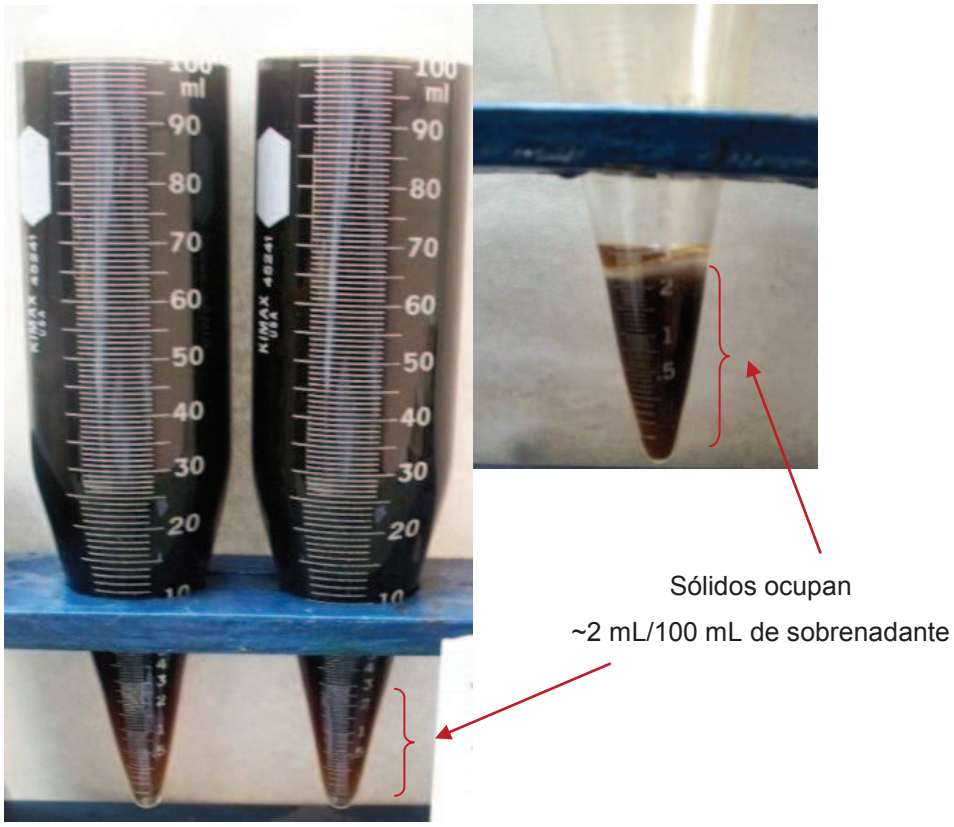



**Figura 3.11.** Sólidos suspendidos en la fase liquida al cabo de la decantación

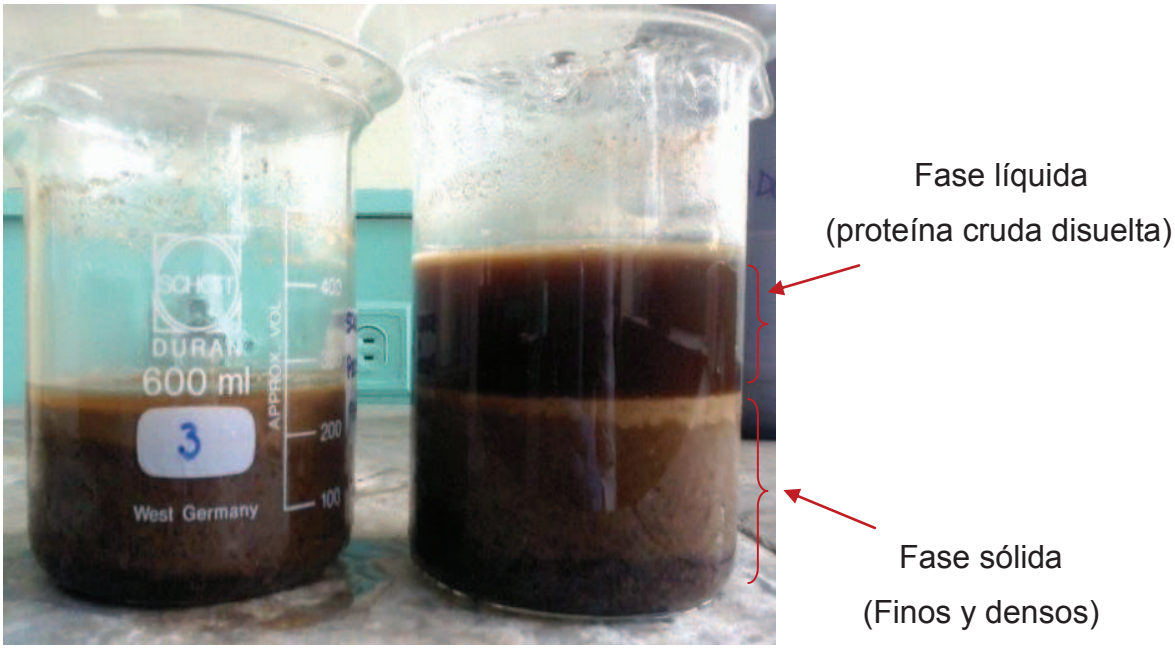



**Figura 3.12.** Pulpa al cabo de 30 minutos de sedimentación (derecha) y fase sólida recuperada luego de la decantación (izquierda)

### 3.3.2.3. Rendimiento de recuperación de proteína cruda

En la Tabla 3.13 se presentan los contenidos determinados de proteína cruda en el residuo antes y después de la dilución de la proteína.

**Tabla 3.13.** Proteína cruda en el residuo antes y después de su dilución al aplicar la metodología de la Figura 2.2

| CARACTERÍSTICA | Residuo inicial | Residuo final |
|---|---|---|
| Proteína cruda* (%kg/kg) | 19,71 ± 2,38E-01 | 10,91 ± 1,90E-01 |

$\bar{X} \pm \sigma \ (n = 3)$
*En base seca

Se estimó que el rendimiento de la recuperación de la proteína cruda disuelta en la fracción liquida es del 51,55 % y es congruente al reportado por Makkar et al. (2008) del 53 % (p. 1543).

## 3.3.3. PRETRATAMIENTO HIDROTÉRMICO

Acorde a la metodología de la Sección 2.3.3, se presenta, en primer lugar, el análisis de las características del reactor para fijar los parámetros de operación para el pretratamiento hidrotérmico, como, para la hidrólisis ácida.

Luego, bajo los parámetros recomendados por bibliografía, de la Tabla 2.3, y los que se establecieron por las características del reactor, que se mostrarán en la Tabla 3.14, se evaluó la influencia de la temperatura de pretratamiento hidrotérmico en la conversión de celulosa en azúcares reductores.

### 3.3.3.1. Características del reactor

El reactor que se empleó para evaluar el pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis ácida tiene forma cilíndrica de fondo esférico. En la Figura 3.13 y Figura 3.14 se

muestran los componentes externos del reactor y componentes internos de la tapa del reactor.

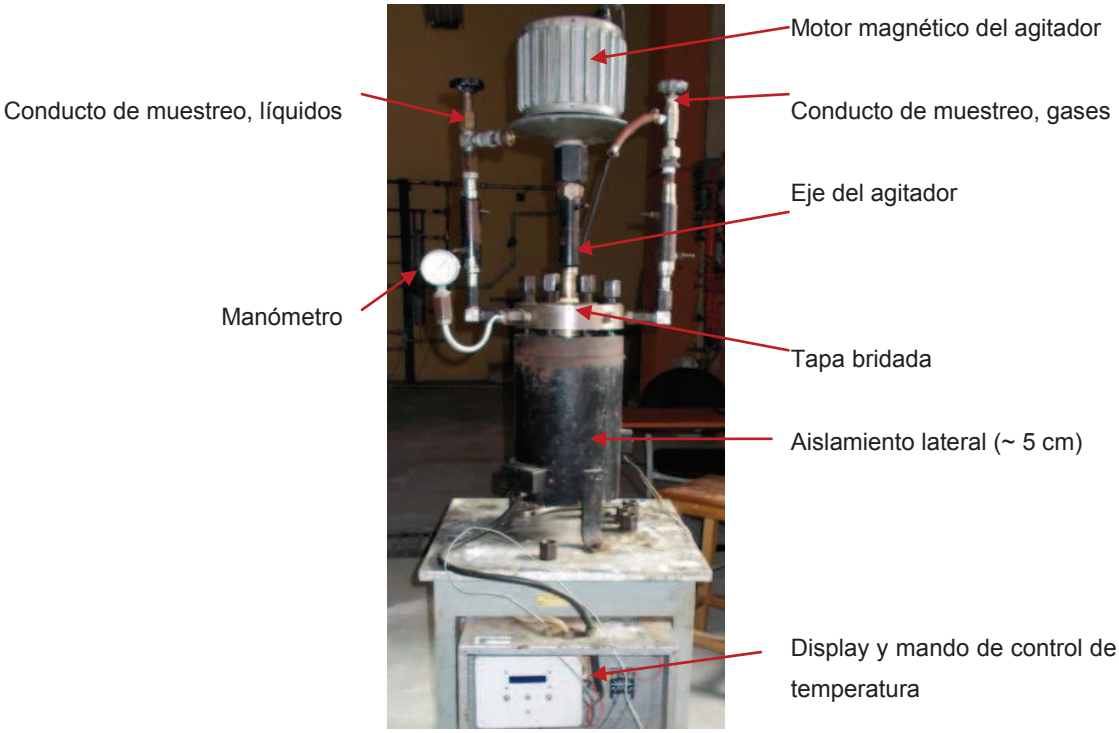



**Figura 3.13.** Componentes externos del reactor empleado para la evaluación del pretratamiento e hidrólisis ácida

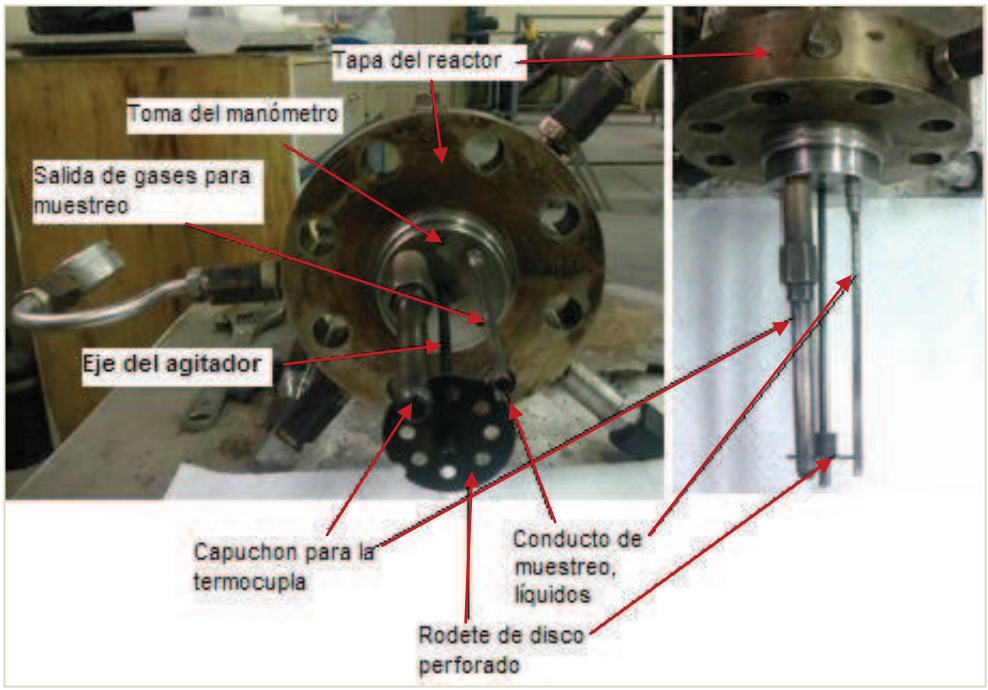



**Figura 3.14.** Componentes internos de la tapa del reactor

A continuación se describen las características del reactor:

- Modalidad de operación: Batch.
- Capacidad: 1 L.
- Temperatura y presión de diseño 350 °C y 400 atm.
- Material de construcción: acero inoxidable.
- Accesorios: manómetro tipo Bourdon de 15 a 600 psi y termocupla.
- Sistema de agitación: magnético, rodete tipo disco perforado de movimiento vertical.
- Sistema de calentamiento: resistencia eléctrica y control.
- Sistema de refrigeración: NO POSEE.
- Zonas con aislamiento térmico de aproximadamente 8 cm de espesor que comprenden las paredes y fondo del reactor.
- Válvulas en la tapa para toma de gases y líquidos, este último cuenta con un conducto que conecta al fondo y tiene 3 mm de diámetro aproximadamente.
- La carga y descarga del contenido del reactor se realiza destapando el reactor.

#### 3.3.3.2. Parámetros de operación: agitación, temperatura de alimentación del ácido y descarga de la solución hidrolizada

Los parámetros de operación establecidos para la evaluación del pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis ácida en función de las características del reactor y que se resumen en la Tabla 3.14.

**Tabla 3.14.** Parámetros para la evaluación del pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis ácida establecidos por la operación del reactor

| PARÁMETRO | VALOR |
|---|---|
| Agitación (ciclos/s) | 0,67 |
| Temperatura de alimentación del ácido sulfúrico al 98 % (°C) | 60 |
| Temperatura de descarga de la solución hidrolizada (°C) | 45 |

***Agitación***

Guarnizo, Marinez y Valencia (2009) indican que la agitación no influye apreciablemente en el pretratamiento de los materiales lignocelulósicos (p. 286).

Sin embargo, y por lo observado durante la sedimentación de los sólidos al cabo de la dilución de proteína cruda discutida en la Sección 3.3.2.2, se espera que durante el pretratamiento, así como en la hidrólisis, las partículas de mayor tamaño, y las procedentes de la cáscara tiendan a asentarse con mucha facilidad. Por lo tanto, se estableció que la agitación si es necesaria para mantener una suspensión homogénea.

Acorde a la metodología que consta en la Sección 2.3.3.1, se estableció que la velocidad de movimiento vertical es de 0,67 ciclos/s y es suficiente para mantener una suspensión homogénea dentro del reactor, esta velocidad corresponde al 75 % de la velocidad máxima del agitador.

***Temperatura de alimentación del ácido y descarga de la solución hidrolizada***

Debido a que la suspensión “residuo/agua” está en relación sólido/líquido del 10 % en peso, se puede aproximar su comportamiento al del sistema “agua destilada” y se espera que el perfil de temperatura discutido en esta sección se asemeje al comportamiento del sistema durante el pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis. Por dicha razón, cualquier anomalía, se puede atribuir exclusivamente al comportamiento del sistema en cuestión.

Debido a que el reactor no cuenta con un sistema de refrigeración, es necesario mejorar el enfriamiento mediante una ventilación externa del reactor.

En la Figura 3.15 se muestran los perfiles de temperatura del sistema de agua destilada, al ser enfriado al ambiente y por ventilación externa del reactor.

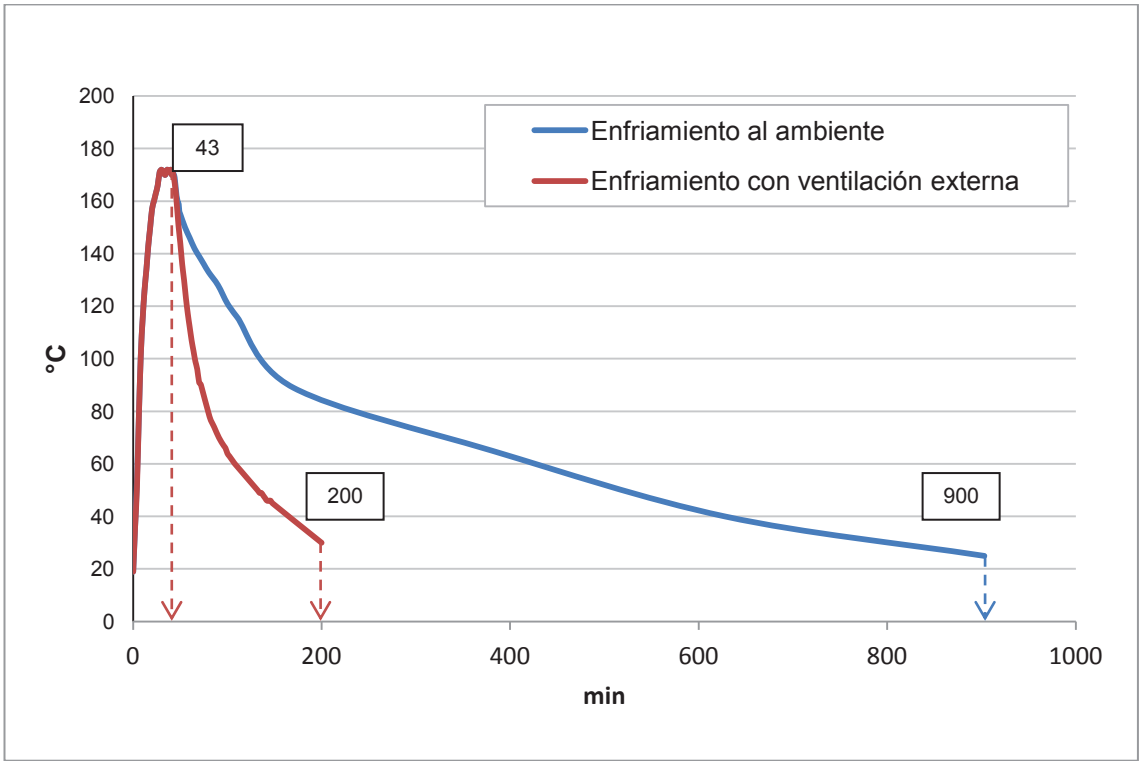



**Figura 3.15.** Perfiles de temperatura del sistema de 100 mL de agua destilada a $T_{set}$ = 170 °C durante 15 minutos enfriado al ambiente y ventilación externa y tiempos de enfriamiento a (~25 °C)

Las temperaturas de alimentación del ácido y de descarga deben permitir la manipulación de la tapa, minimizar las pérdidas por evaporación al destapar la misma y evitar una exposición innecesaria del contenido del reactor.

Se determinó que el tiempo de enfriamiento por ventilación externa disminuye 5,5 veces el tiempo que tarda al enfriarse al ambiente y se establece como perfil base de agua destilada para el estudio del pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis, como se muestra en la Figura 3.16.

A pesar de que por este método se consiguió mejorar el tiempo de enfriamiento aún no es suficiente para alcanzar rápidamente temperaturas donde la evaporación sea mínima (~ 25 °C).

Por tanto, para evitar la evaporación al momento de alimentar el ácido y descargar del reactor se coloca una tapa provisional con un orificio que permita el

acceso de la pipeta con el ácido y de la manguera de descarga (tipo catéter) y se establece la temperatura de alimentación del ácido en 60 °C y la descarga del reactor en 45 °C para minimizar al máximo cualquier evaporación innecesaria de vapores ácidos.

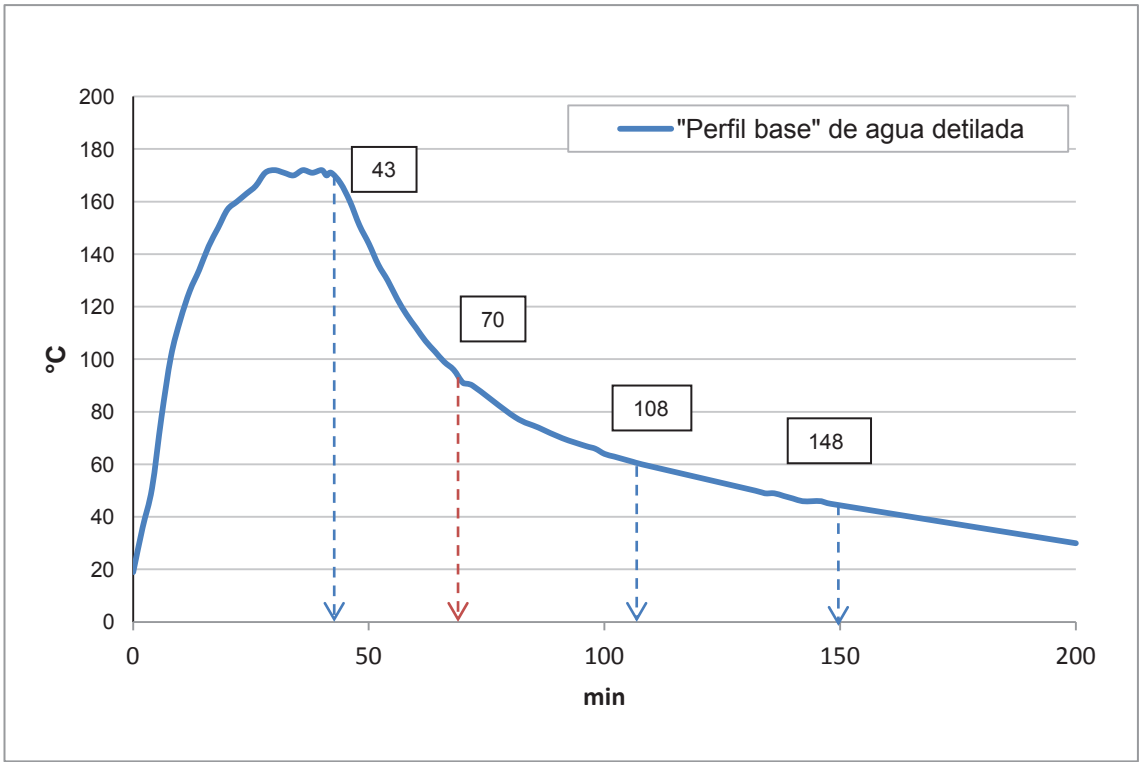



**Figura 3.16.** Perfil base de temperatura del sistema 100 mL de agua destilada a $T_{set}$ = 170 °C durante 15 minutos y tiempos de enfriamiento a 92, 60 y 45 °C

Se identificó experimentalmente el tiempo que tarda el enfriamiento del reactor hasta las temperaturas de alimentación del ácido y descarga de la solución hidrolizada que se dividió en tres etapas:

- Enfriamiento isocórico desde la temperatura de saturación hasta la temperatura de ebullición a presión atmosférica (~92 °C a 0,72 atm), se tarda 27 minutos.
- Enfriamiento isobárico desde la temperatura de ebullición a presión atmosférica (~92 °C a 0,72 atm) hasta alcanzar 60 °C, se tarda 38 minutos.
- Enfriamiento isobárico desde la temperatura de ebullición a presión atmosférica (~92 °C a 0,72 atm) hasta alcanzar 45 °C, se tarda 78 minutos.

El tiempo de enfriamiento isocórico desde la temperatura de saturación fluctuaría según la temperatura desde la cual se pretenda enfriar.

Por otro lado, enfriar isobáricamente desde ~92 a 60 °C, así como de ~92 a 45 °C, son condiciones que se mantendrán constantes en todos los ensayos, además se puede apreciar que enfriar hasta la temperatura de descarga (45 °C) tarda casi el doble que enfriar a la temperatura de alimentación del ácido (60 °C).

#### 3.3.3.3. Evaluación de la eficacia del pretratamiento hidrotérmico e influencia de la temperatura

En la Tabla 3.15, se muestra la conversión de celulosa en azúcares reductores del residuo hidrolizado a 121 °C durante 15 minutos con ácido sulfúrico 0,5 $\%w_{ácido}/w_{residuo}$ que fue pretratado hidrotermicamente a 121, 150, 170, 190 y 230 °C durante 15 minutos y del residuo que no fue pretratado (SP) que se realizaron por triplicado.

**Tabla 3.15.** Conversión de celulosa en azúcares reductores obtenidos a 121, 150, 170, 190 y 230 °C durante 15 minutos y sin pretratamiento (SP)

| **15 min** | **Temperatura de pretratamiento hidrotérmico (°C)** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento *i* | *1* | *2* | *3* | *4* | *5* | *6* |
| Repetición $n_j$ | **S P*** | **121** | **150** | **170** | **190** | **230** |
| 1 | 0,08813 | 0,3225 | 0,2082 | 0,2431 | 0,4593 | 0,05200 |
| 2 | 0,07574 | 0,2862 | 0,1598 | 0,1903 | 0,4858 | 0,06301 |
| 3 | 0,08338 | 0,2385 | 0,1336 | 0,2298 | 0,4414 | 0,03831 |
| $\overline{Y}_{i\cdot}$ | **0,0824** | **0,2824** | **0,1672** | **0,2211** | **0,4622** | **0,0511** |
| $\hat{\tau}_{i\cdot}$ | -0,1286 | 0,0713 | -0,0439 | 0,0100 | 0,2511 | -0,1600 |

*SP: sin pretratamiento

Al comparar la conversión media de celulosa en azúcares reductores de un residuo hidrolizado que no fue pretratado hidrotermicamente ($\overline{Y}_{1\cdot}$) con la máxima conversión alcanzada por el residuo pretratado hidrotermicamente a 190 °C durante 15 minutos ($\overline{Y}_{5\cdot}$), se concluye que el pretratamiento hidrotérmico es

eficaz sobre la conversión y necesario para alcanzar conversiones aceptables, mejorándola hasta 5,6 veces.

En la Figura 3.17 se muestra el efecto de los tratamientos sobre la media global de la conversión del diseño experimental de la Tabla 3.15.

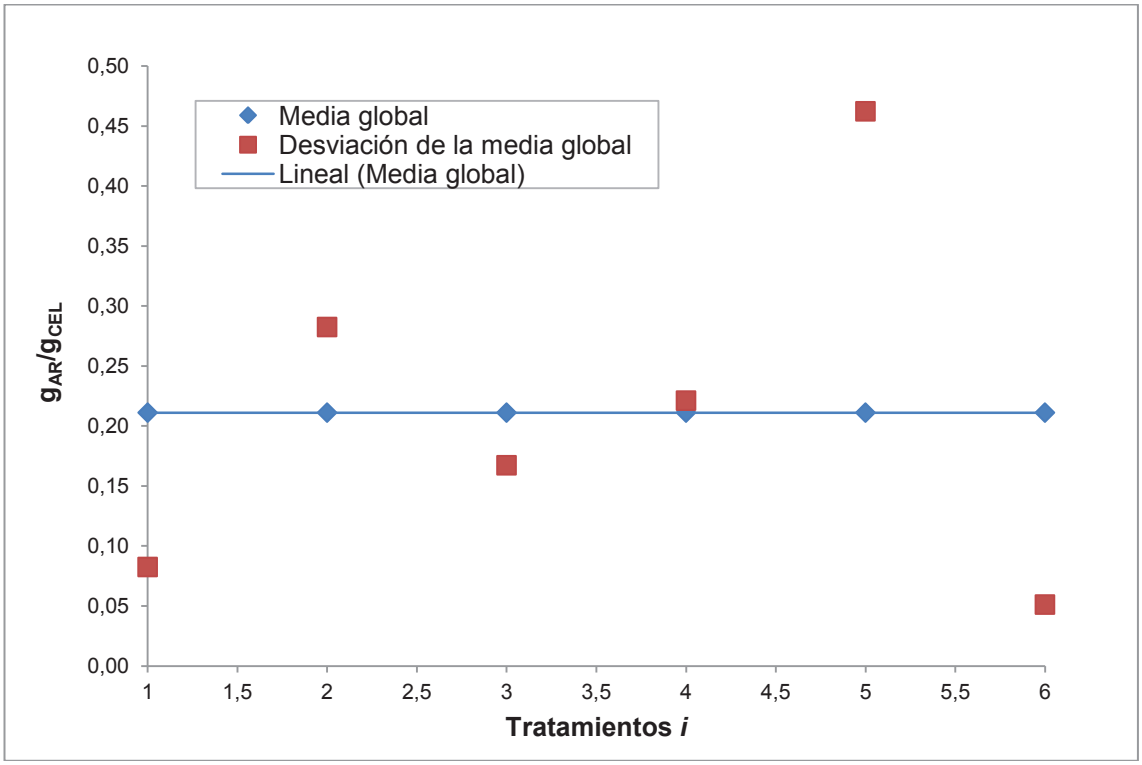



**Figura 3.17.** Efecto de la temperatura de pretratamiento hidrotérmico sobre la media global de la conversión de celulosa en azúcares reductores

Se determina que el tratamiento 2 (121 °C durante 15 minutos) y tratamiento 5 (190 °C durante 15 minutos) tiene mayor efecto sobre la media global, que corresponde a mayor conversión alcanzada.

En la Tabla 3.16 se presenta la tabla del análisis de varianza (ANOVA) para el experimento de un factor: temperatura del pretratamiento hidrotérmico.

Debido a que el estadístico de prueba F es mayor que $F_{(0,05\%,\ 2,15)}$, se contradice la hipótesis nula $(H_o: \tau_1 = \tau_2 = \cdots = \tau_k = 0)$, y por tanto se determinó

estadísticamente que los tratamientos evaluados tienen efecto sobre la conversión de celulosa en azúcares reductores.

**Tabla 3.16.** Resumen ANOVA para el experimento de un factor: temperatura de pretratamiento hidrotérmico

| Factor de varianza (FV) | Suma de cuadrados (SC) | Grados de libertad (GL) | Cuadrados medios (CM) | Estadístico F | $F_{(0,05\%,\ 2,15)}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| **Temperatura** | 0,3369 | 5 | 0,0674 | 87 | 3,68 |
| **Error** | 0,0093 | 12 | 0,0008 | | |
| **Total** | 0,3462 | 17 | | | |

En la Tabla 3.17 se presenta la aplicación del estadístico de prueba de las diferencias en valor absoluto entre las medias muestrales con el método LSD para determinar la significancia de los tratamientos.

**Tabla 3.17.** Aplicación de la prueba LSD a las temperaturas de pretratamiento hidrotérmico

| Diferencia poblacional | Diferencia muestral en valor absoluto | Decisión |
|---|---|---|
| $\tau_{190\ °C} - \tau_{170\ °C}$ | 0,24 > 0,04 | Significativa |
| $\tau_{170\ °C} - \tau_{150\ °C}$ | 0,05 > 0,04 | Significativa |
| $\tau_{150\ °C} - \tau_{121\ °C}$ | 0,12 > 0,04 | Significativa |
| $\tau_{121\ °C} - \tau_{SP}$ | 0,20 > 0,04 | Significativa |
| $\tau_{190\ °C} - \tau_{SP}$ | 0,38 > 0,04 | Significativa |

Del análisis de la prueba LSD, se concluye que la diferencia entre la conversión alcanzada en todos los tratamientos es significativamente diferente entre sí.

En la Tabla 3.18 se muestra la media muestral de la conversión de celulosa en azúcares reductores junto con su desviación estándar.

Por lo tanto, se corrobora que a 190 °C durante 15 minutos se alcanza significativamente la mayor conversión de celulosa en azúcares reductores y se establecería como condiciones de pretratamiento del residuo de la extracción del

aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) previamente desengrasado con etanol y extraída la proteína soluble en medio básico.

**Tabla 3.18.** Media muestral de la conversión de celulosa en azúcares reductores y su desviación estándar en función de la temperatura de pretratamiento y sin pretratamiento

| Tratamiento *i* | Temperatura de pretratamiento (°C) | CONVERSIÓN (kg AR/kg CEL) |
|---|---|---|
| 1 | **SP** | 0,08 ± 3,50E-02 |
| 2 | **121** | 0,28 ± 3,50E-02 |
| 3 | **150** | 0,16 ± 3,50E-02 |
| 4 | **170** | 0,22 ± 3,50E-02 |
| 5 | **190** | 0,46 ± 3,50E-02 |
| 6 | **230** | 0,05 ± 3,50E-02 |

AR: Azúcares reductores
CEL: Celulosa
$\bar{X} \pm \sigma \ (n = 3)$

En la Figura 3.18, se muestra las medias de la conversión de celulosa en azúcares reductores obtenidas a las condiciones de pretratamiento.

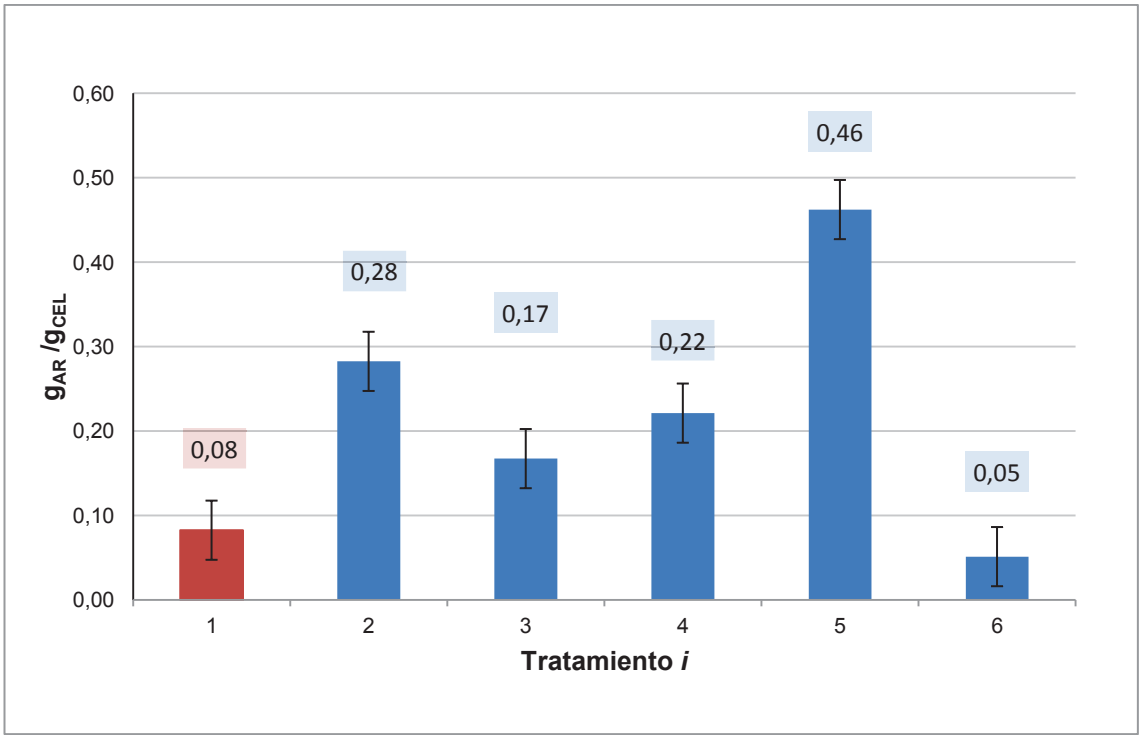



**Figura 3.18.** Medias de la conversión de celulosa en azúcares reductores, obtenidas por el método LSD en función de la temperatura de pretratamiento y sin pretratamiento

De la Figura 3.18, se toman todos los tratamientos *i* que fueron pretratados hidrotermicamente y se muestran en la Figura 3.19, con el fin de establecer la influencia de la temperatura de pretratamiento hidrotérmico en el ablandamiento de la matriz lignocelulósica.

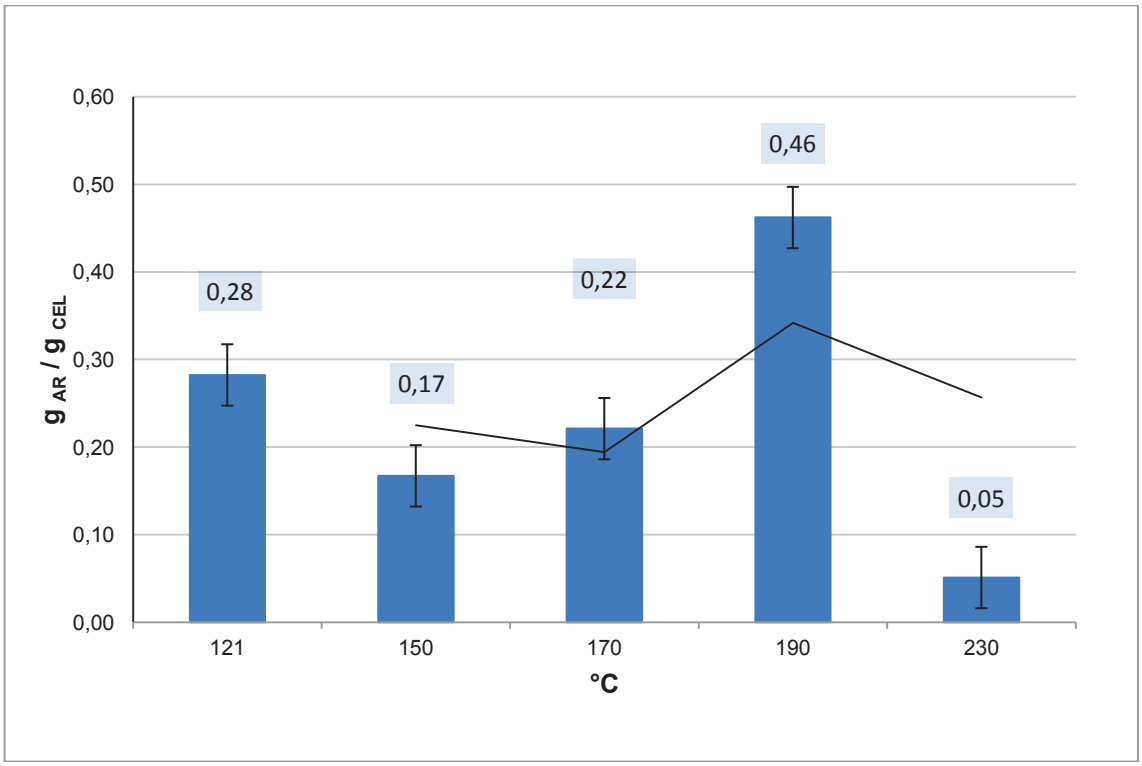



**Figura 3.19.** Influencia de la temperatura de pretratamiento hidrotérmico sobre la conversión de celulosa (CEL) en azúcares reductores obtenidos (AR)

A primera vista destaca la aparente inexistencia de una relación directa entre el incremento de la temperatura de pretratamiento hidrotérmico del residuo y la conversión de celulosa en azúcares reductores.

Se identifican dos tendencias de comportamiento de las conversiones con el incremento de la temperatura de pretratamiento hidrotérmico:

- Degradación de azúcares reductores con el incremento de la temperatura. En el rango de 121 a 150 °C y de 190 a 230 °C.
- Producción de azúcares reductores con el incremento de la temperatura. En el rango de 150 a 190 °C.

Con base en los perfiles de temperatura de los pretratamiento hidrotérmicos evaluados y del agua destilada como “perfil de base”, que se muestran en la Figura 3.20, sustentan el comportamiento observado en la Figura 3.19.

De los perfiles de pretratamiento hidrotérmico, se confirma que el sistema de estudio “residuo/agua” se comporta como el sistema “agua destilada”, sin embargo se identifican dos perturbaciones importantes en la velocidad de calentamiento por encima de los 150 °C.

En la Figura 3.21 y Figura 3.22 se amplían respectivamente dichas perturbaciones.

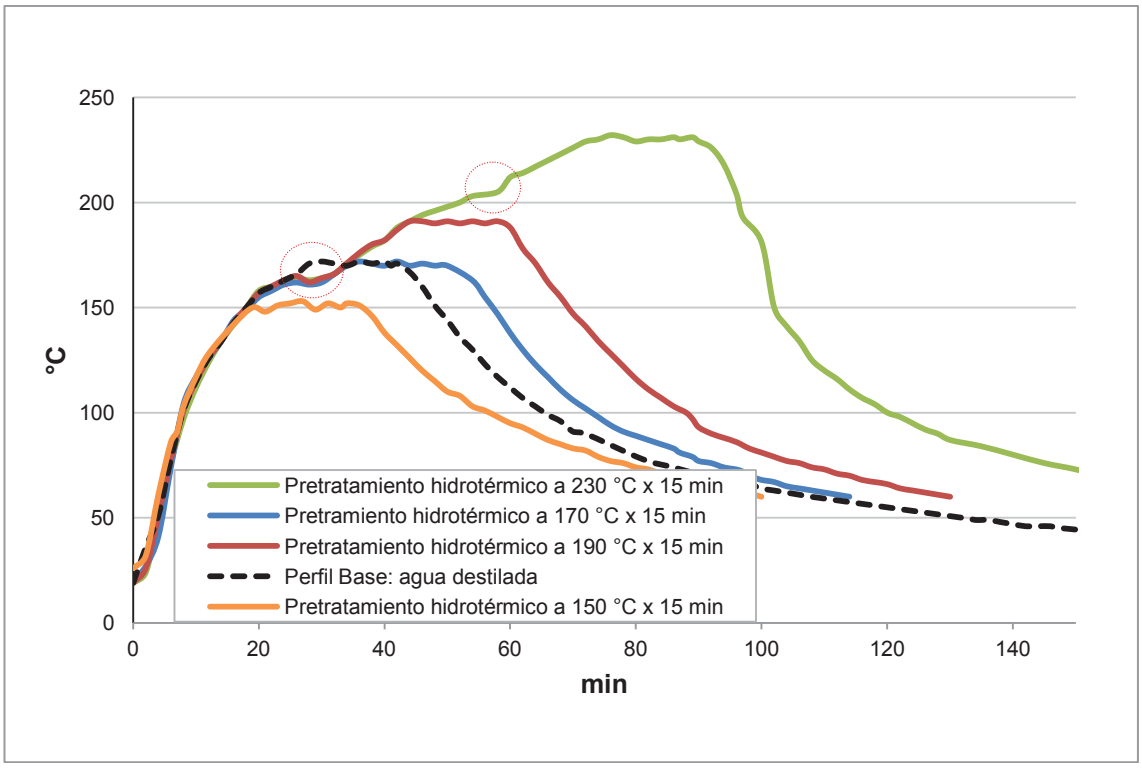



**Figura 3.20.** Perfil de temperatura durante los pretratamientos hidrotérmico a 150, 170, 190 y 230 °C y el perfil base de agua destilada (línea punteada)

En la Figura 3.21 se observa que las curvas correspondientes a los pretratamientos hidrotérmicos a 170, 190 y 230 °C, todos sin excepción, sufren la misma perturbación que tarda aproximadamente 8 minutos donde la temperatura oscila en 163 ± 2 °C para luego continuar el calentamiento con la misma

pendiente del perfil base sin importar la temperatura programada que deban alcanzar. Dicho comportamiento es comparable con el perfil base cuyo comportamiento está descrito con la línea punteada negra y corresponde al sistema agua destilada, la misma que no sufre dicha perturbación.

Por tanto, se establece esta perturbación particular como característica única del sistema estudiado y que está ligado a la temperatura de pretratamiento 163 ± 2 °C.

Este comportamiento sería atribuido al inicio del ablandamiento efectivo de la matriz estructural y que corrobora con el incremento progresivo de las conversiones correspondientes a los pretratamientos hidrotérmicos a 170 y 190 °C, como se mostró en la Figura 3.19.

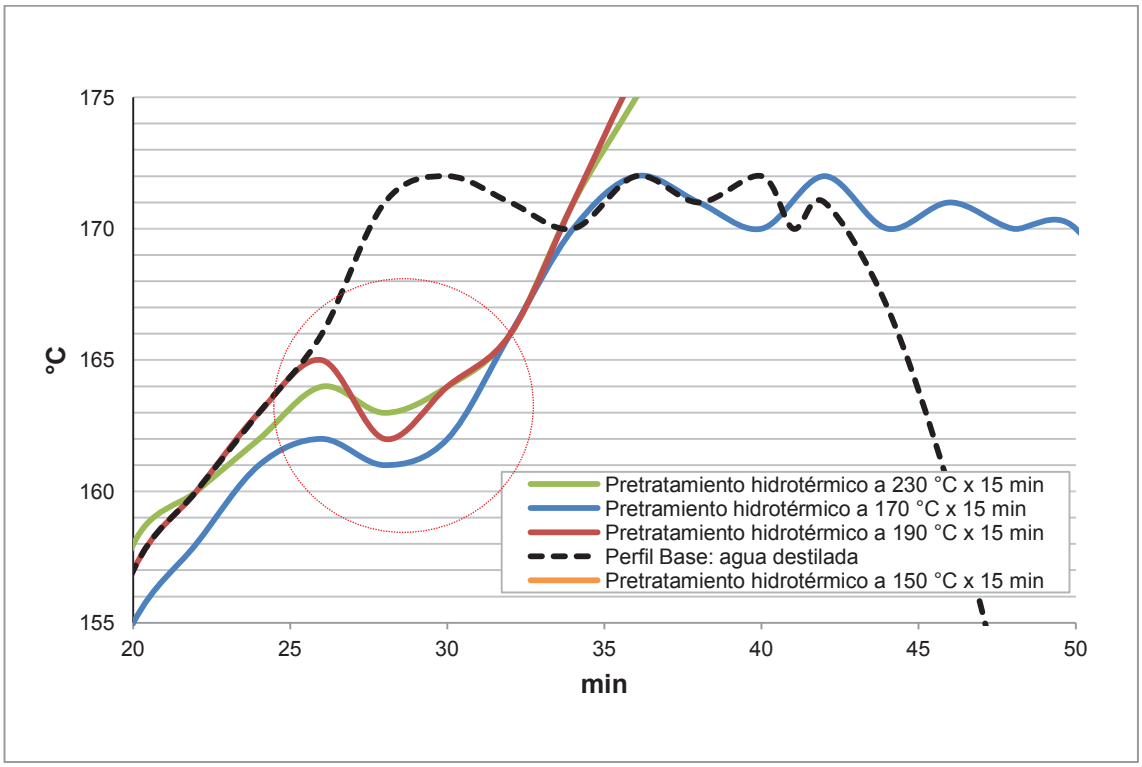



**Figura 3.21.** Acercamiento de la perturbación a l63 ± 2 °C

En la Figura 3.22 se observa que sobre los 203,5 ± 0,5 °C se produce otra perturbación de 5 minutos de duración que indica otra descomposición o desnaturalización del residuo, que a deferencia de la registrada a los 163 ± 2 °C,

perjudica a la conversión de azúcares reductores como se mostró en la Tabla 3.15.

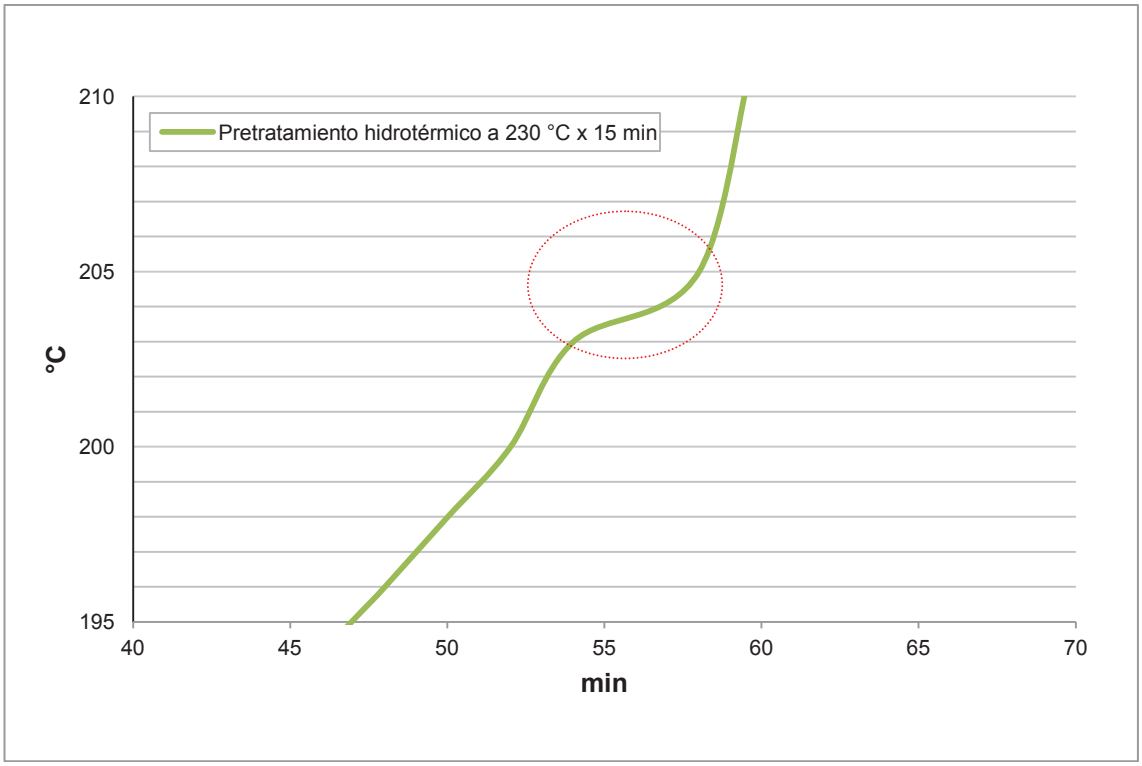



**Figura 3.22.** Acercamiento de la perturbación a 203,5 ± 0,5 °C

Por tanto, para el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) quedan descartados los pretratamientos hidrotérmicos sobre los 200 °C.

Se concluye que los efectos de ablandamiento del pretratamiento hidrotérmico sobre la matriz estructural lignocelulósica son apreciables sobre los 163 ± 2 °C durante 15 minutos, alcanzando la máxima conversión de celulosa en azucares reductores a los 190 °C durante 15 minutos.

Consecuentemente, se descarta cualquier efecto de ablandamiento apreciable sobre la matriz estructural lignocelulósica a 121 y 150 °C durante el período analizado.

Por otro lado, las conversiones registradas a 121 y 150 °C durante 15 minutos se atribuyen principalmente a la contribución de los azúcares reductores diluidos durante el pretratamiento y a los obtenidos por la hidrólisis de las zonas expuestas de la hemicelulosa y celulosa por efecto del corte de la matriz estructural como consecuencia de la trituración y por la parcial deslignificación como consecuencia indirecta de la dilución de la proteína cruda en medio alcalino.

Al comparar la conversión resultante del pretratamiento a 121 y 150 °C se observa que decrece de 0,28 a 0,17 respectivamente, este comportamiento se atribuye a la degradación de los azúcares reductores que se ven influenciados por la temperatura.

Según Ahuja (2011), las pentosas, xilosa y arabinosa, son altamente degradables a temperaturas superiores a los 125 °C, mientras que la glucosa no se degrada apreciablemente sino al superar los 150 °C (pp. 56-59).

Por tanto, el descenso de la conversión en 150 °C se debería principalmente a la degradación de las pentosas bajo las condiciones de pretratamiento.

Adicionalmente, si se analiza la conversión de celulosa en azúcares reductores del pretratamiento hidrotérmico a 121 °C durante 15 minutos de 0,28, con el obtenido sin haber sido pretratado hidrotermicamente de 0,08, se establece que un pretratamiento hidrotérmico leve generaría zonas amorfas en las partes expuestas de la matriz lignocelulósica que de otro modo no se sacarifican en la subsecuente etapa de hidrólisis ácida.

Se corrobora que emplear el pretratamiento hidrotérmico, aunque este sea leve, mejora 3,5 veces la conversión de celulosa en azúcares reductores.

En conclusión, se establece que las condiciones de pretratamiento hidrotérmico para ablandar la matriz estructural lignocelulósica y alcanzar la mayor conversión de celulosa en azúcares reductores, en su mayoría glucosa, corresponden a las condiciones de experimentación de 190 °C durante 15 minutos.

## 3.4. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE HIDRÓLISIS DEL RESIDUO DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE PIÑÓN (*Jatropha curcas*) CON ÁCIDO SULFÚRICO AL 5 %w/w PARA LA PRODUCCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES

En la Tabla 3.19, se muestran los datos para el diseño factorial 3 × 2, donde se determina la conversión de celulosa en azúcares reductores producidos a partir del residuo, previamente, pretratado hidrotermicamente a 190 °C durante 15 minutos y que fue hidrolizado a 121, 135 y 150 °C durante 5 y 15 minutos con ácido sulfúrico al 0,5 %$w_{ácido}/w_{residuo}$, respectivamente por triplicado.

**Tabla 3.19.** Conversión de celulosa en azúcares reductores obtenidos al hidrolizar a 121, 135 y 150 °C durante 5 y 15 minutos respectivamente por triplicado (Diseño factorial 3 × 2)

| **Factorial 3 × 2** | | | **B: Tiempo (min)** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | *B1* | *B2* | | |
| | | | **5** | **15** | $\boldsymbol{Total\ Y_{i..}}$ | $\boldsymbol{\overline{Y}_{i..}}$ |
| **A: Temperatura (°C)** | *A1* | **121** | 0,1886<br>0,3127 **0,7450**<br>0,2437 | 0,5083<br>0,4689 **1,3865**<br>0,4093 | 2,1315 | 0,3553 |
| | *A2* | **135** | 0,2914<br>0,2451 **0,7451**<br>0,2086 | 0,2797<br>0,2278 **0,7512**<br>0,2437 | 1,4963 | 0,2494 |
| | *A3* | **150** | 0,2795<br>0,2174 **0,7469**<br>0,2500 | 0,3221<br>0,2972 **0,9291**<br>0,3098 | 1,6760 | 0,2804 |
| | $\boldsymbol{Total\ Y_{.j.}}$ | | 2,2370 | 3,0668 | $\boldsymbol{Y_{...}}$ **= 5,3038** | |
| | $\boldsymbol{\overline{Y}_{.j.}}$ | | 0,2492 | 0,3408 | | $\boldsymbol{\overline{Y}_{...}}$ **= 0,2950** |

En la Tabla 3.20 se muestra la tabla de análisis de varianza (ANOVA) para el diseño factorial 3 × 2, en la Figura 3.23 y Figura 3.24, se observa la aplicación del estadístico LSD de la interacción de la temperatura vs. el tiempo (AB) y el tiempo vs. la temperatura (BA) sobre la conversión de celulosa en azúcares reductores.

**Tabla 3.20.** Resumen ANOVA del diseño factorial 3 × 2 para evaluar la influencia de la temperatura vs. el tiempo de hidrólisis en la conversión de celulosa en azúcares reductores

| Factor de varianza (FV) | Suma de cuadrados (SC) | Grados de libertad (GL) | Cuadrados medios (CM) | Estadístico F | $F_{(0,05\%,\ GL,12)}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| **Temperatura (A)** | 0,0356 | 2 | 0,0178 | 10,5623 | 3,89 |
| **Tiempo (B)** | 0,0377 | 1 | 0,0377 | 22,3962 | 4,75 |
| **Efecto combinado (AB)** | 0,0361 | 2 | 0,0180 | 10,7153 | 3,89 |
| **Error** | 0,0202 | 12 | 0,0017 | | |
| **Total** | 0,1295 | 17 | | | |

Debido a que el estadístico de prueba F, tanto para la temperatura, el tiempo y el efecto combinado de ambos, es mayor que $F_{(0,05\%,\ GL,\ 12)}$, se contradice las hipótesis nulas ($H_o$: $\alpha_i = \beta_j = (\alpha\beta)_{ij} = 0$).

Por lo tanto se determinó estadísticamente que las fuentes de varianza A, B y AB tienen efecto sobre la conversión de celulosa en azúcares reductores.

En la Tabla 3.21 se presenta la aplicación del estadístico de prueba de las diferencias en valor absoluto entre las medias muestrales del efecto combinado de la temperatura vs. el tiempo de hidrólisis ácida (AB) con el método LSD para determinar la significancia de los niveles de temperatura.

**Tabla 3.21.** Aplicación de la prueba LSD del efecto de la interacción de la temperatura vs. tiempo de hidrólisis ácida (AB)

| Referencia | Diferencia poblacional | Diferencia muestral en valor absoluto | Decisión |
|---|---|---|---|
| 121 °C – 135 °C (5 min) | $\bar{Y}_{B1(A1)} - \bar{Y}_{B1(A2)}$ | 0,00 < 0,073 | No significativa |
| 121 °C – 150 °C (5 min) | $\bar{Y}_{B1(A1)} - \bar{Y}_{B1(A3)}$ | 0,003 < 0,073 | No significativa |
| 135 °C – 150 °C (5 min) | $\bar{Y}_{B1(A2)} - \bar{Y}_{B1(A3)}$ | 0,003 < 0,073 | No significativa |
| 121 °C – 135 °C (15 min) | $\bar{Y}_{B2(A1)} - \bar{Y}_{B2(A2)}$ | 0,21 > 0,073 | Significativa |
| 121 °C – 150 °C (15 min) | $\bar{Y}_{B2(A1)} - \bar{Y}_{B2(A3)}$ | 0,15 > 0,073 | Significativa |
| 135 °C – 150 °C (15 min) | $\bar{Y}_{B2(A2)} - \bar{Y}_{B2(A3)}$ | 0,06 < 0,073 | No significativa |

No hay diferencia significativa sobre la conversión entre los tratamientos a 121, 135 y 150 °C durante 5 minutos.

Del mismo modo, al tiempo de 15 minutos, no hay significancia en la conversión entre las temperaturas de 135 y 150 °C. Finalmente se establece que la hidrólisis ácida realizada a 121 °C durante 15 minutos, es significativamente distinta a las realizadas a 135 y 150 °C durante 15 minutos, respectivamente.

Como resultado de la significancia de la fuente de variación AB, demostrada en la Tabla 3.20, se procede a evaluar los efectos combinados de la temperatura y el tiempo de hidrólisis ácida en la Figura 3.23 y Figura 3.24.

En la Figura 3.23 se aprecia de mejor manera que la conversión a 135 °C no se ve alterada con el tiempo y que incluso a los 5 minutos, ninguna de las temperaturas tiene efecto significativo sobre la conversión.

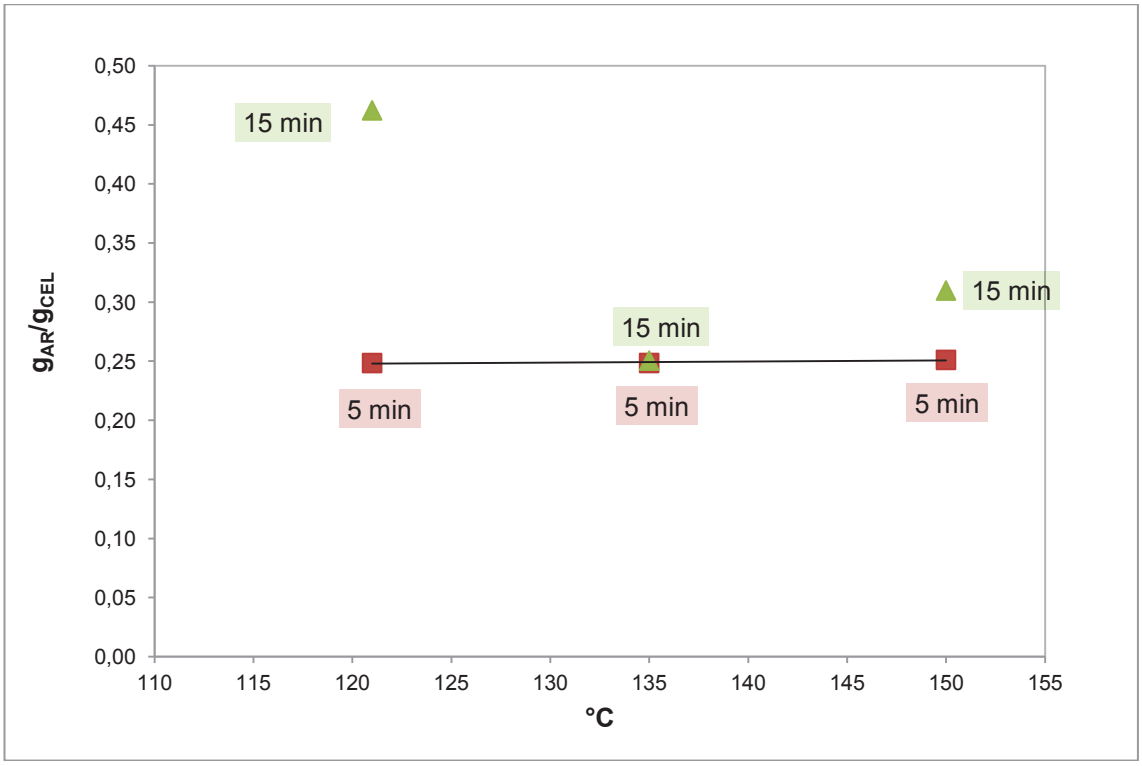



**Figura 3.23.** Efecto de interacción de la temperatura y tiempo de hidrólisis ácida sobre la conversión de celulosa en azúcares reductores

Se establece que a 5 minutos aún no es suficiente para que algún efecto de la temperatura se aprecie sobre la conversión.

Por lo que se concluye, para el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) luego de ser desengrasado, extraídas sus proteínas y pretratado hidrotermicamente a 190 °C durante 15 minutos, que el tiempo de hidrólisis ácida debe ser mayor a 5 minutos.

Por otro lado se observa un comportamiento no lineal entre las temperaturas de 121, 135 y 150 °C a los 15 minutos, que se explica debido a otro factor que influye en el incremento de la conversión y que se justifica con la comparación de los perfiles de temperatura obtenidos durante la hidrólisis ácida y el perfil base.

En la Tabla 3.22 se presenta la aplicación del estadístico de prueba de la diferencias en valor absoluto entre las medias muestrales del efecto combinado del tiempo vs. la temperatura de hidrólisis ácida (BA) con el método LSD para determinar la significancia de los niveles del tiempo.

**Tabla 3.22.** Aplicación de la prueba LSD del efecto de la interacción del tiempo vs. la temperatura de hidrólisis ácida (BA)

| Referencia | Diferencia poblacional | Diferencia muestral en valor absoluto | Decisión |
|---|---|---|---|
| 5 – 15 min (121 °C) | $\bar{Y}_{A1(B1)} - \bar{Y}_{A1(B2)}$ | 0,21 > 0,073 | Significativa |
| 5 – 15 min (135 °C) | $\bar{Y}_{A2(B1)} - \bar{Y}_{A2(B2)}$ | 0,002 < 0,073 | No significativa |
| 5 – 15 min (150 °C) | $\bar{Y}_{A3(B1)} - \bar{Y}_{A3(B2)}$ | 0,06 < 0,073 | No significativa |

Se confirma que la conversión alcanzada a 121 °C durante 5 y 15 minutos es significativamente diferente, mientras que a las otras temperaturas no hay una diferencia estadística significativa si tarda la hidrólisis 5 ó 15 minutos.

En la Figura 3.24 se grafica la interacción del tiempo vs. la temperatura de hidrólisis ácida (BA).

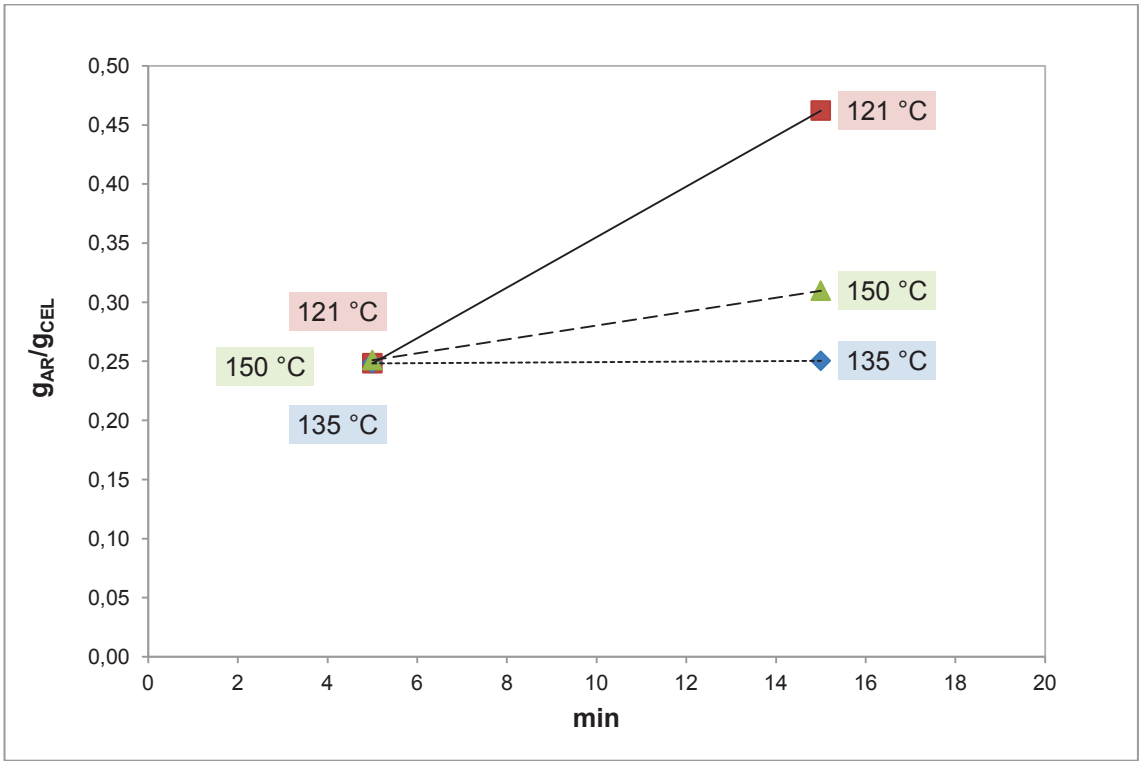



**Figura 3.24.** Efecto de interacción del tiempo vs. la temperatura de hidrólisis ácida sobre la conversión de celulosa en azúcares reductores

Se evidencia, por las pendientes que corresponden a 121 y 150 °C que tienen significancia sobre la conversión de celulosa en azúcares reductores en el tiempo y que para alcanzar la mayor conversión se debe optar por la condición de 121°C durante 15 minutos.

Sin embargo, se aprecia que a 135 °C, el tiempo no tiene influencia alguna en la conversión de celulosa en azúcares reductores, este comportamiento indica que si se opera en los extremos 121 y 150 °C se alcanzarán diferencias significativas y consecuentemente se tendrá mayor conversión.

En la Figura 3.25 se indica la media muestral y su desviación estándar donde se hace evidente que el efecto significativo del tratamiento a 121 °C durante 15 minutos en la conversión de celulosa en azúcares reductores.

Se apreciar que con las condiciones de hidrólisis ácida a 121 y 150 °C durante 15 minutos se alcanza significativamente las mayores conversiones de

0,46 y 0,31, respectivamente y que a 5 minutos la conversión levemente se altera con la temperatura, mientras que a los 15 minutos se aprecia dos tendencias de comportamiento en función del incremento de la temperatura:

- Degradación de azúcares reductores en el rango de 121 a 135 °C.
- Producción de azúcares reductores en el rango de 135 a 150 °C.

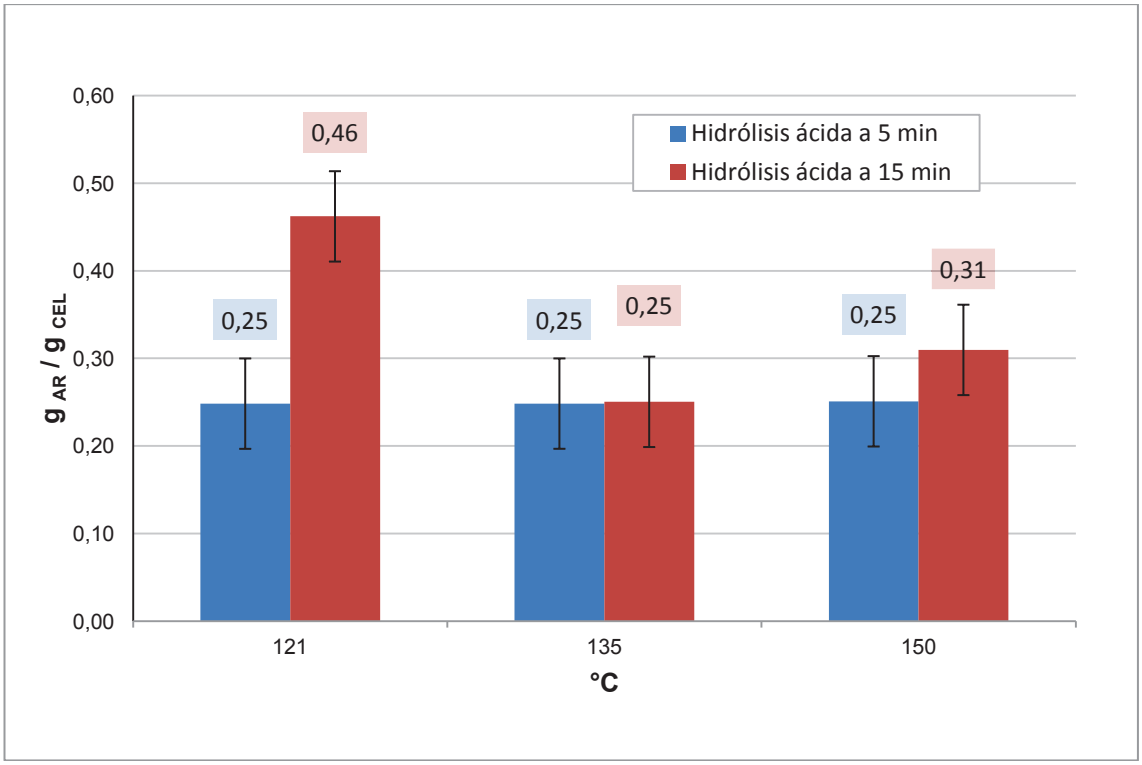



**Figura 3.25.** Medias de la conversión de celulosa en azúcares reductores, obtenidas por el método LSD del diseño factorial 3×2

La degradación de los azúcares reductores a 135 °C se atribuye a la degradación de las pentosas durante la hidrólisis ácida (Ahuja, 2011, pp. 55-59).

En la Figura 3.26 se muestra el perfil de temperatura correspondiente a la hidrólisis ácida a 150 °C durante 15 minutos, el perfil registrado durante el pretratamiento hidrotérmico a la misma temperatura y el perfil base que se presentaron en la Figura 3.20.

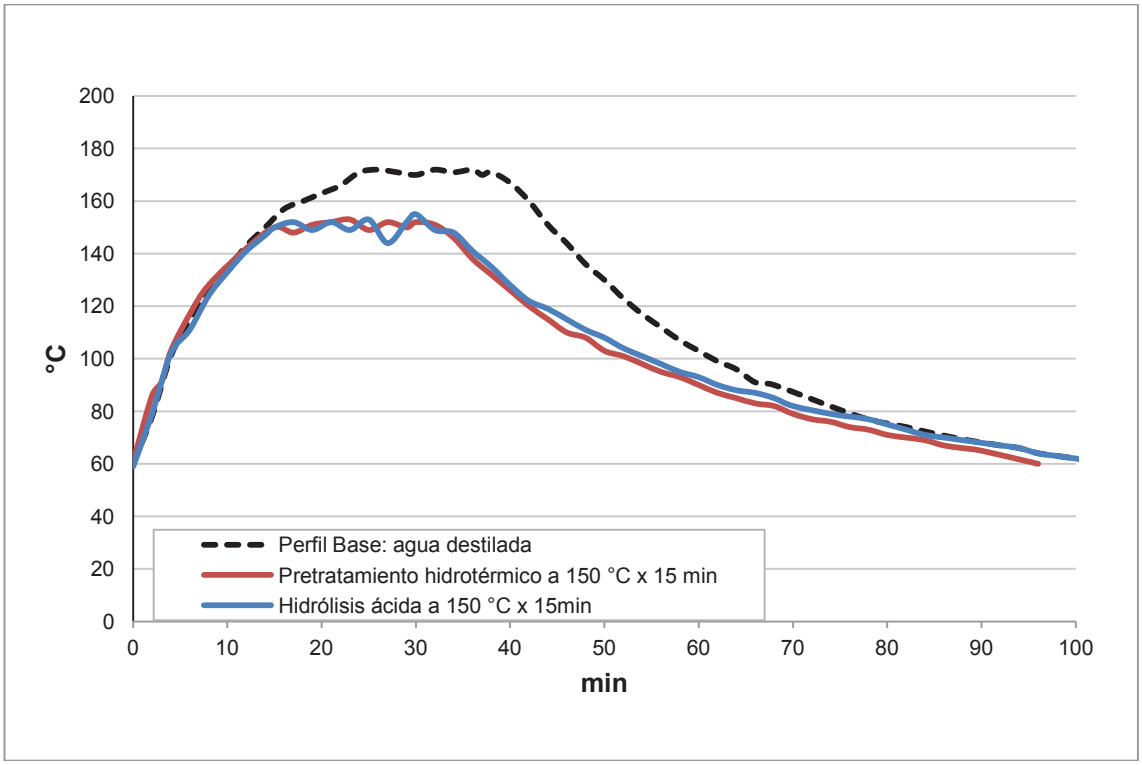



**Figura 3.26.** Perfil de temperatura de la hidrólisis ácida a 150 °C durante 15 minutos, del pretratamiento hidrotérmico registrado a la misma temperatura y del perfil base

Se observa que el comportamiento del perfil de temperatura de la hidrólisis ácida sufre una perturbación que durante el pretratamiento hidrotérmico a la misma temperatura no se presentó y se amplía en la Figura 3.27.

Cabe destacar que al comparar ambos perfiles se pretende determinar la influencia del efecto ácido ya que ambos habrían sido sometidos a las mismas condiciones de temperatura. La perturbación ocurre a partir de los 10 minutos de reacción y continúa hasta los 15 minutos donde se dio por finalizado el ensayo. Este comportamiento ocurre porque las condiciones de hidrólisis a 150 °C durante 15 minutos son cercanas a 163 ± 2 °C durante 15 minutos, en la que se demostró que la matriz estructural lignocelulósica sufre modificaciones que favorecen a la conversión de celulosa en azúcares reductores como se discutió en la Sección 3.3.3.3. Por tanto, el aparente incremento de la conversión a 150 °C durante 15 minutos se lograría por un efecto similar al pretratamiento durante la hidrólisis, considerando que el residuo ya ha sido previamente ablandado, haciéndolo más susceptible.

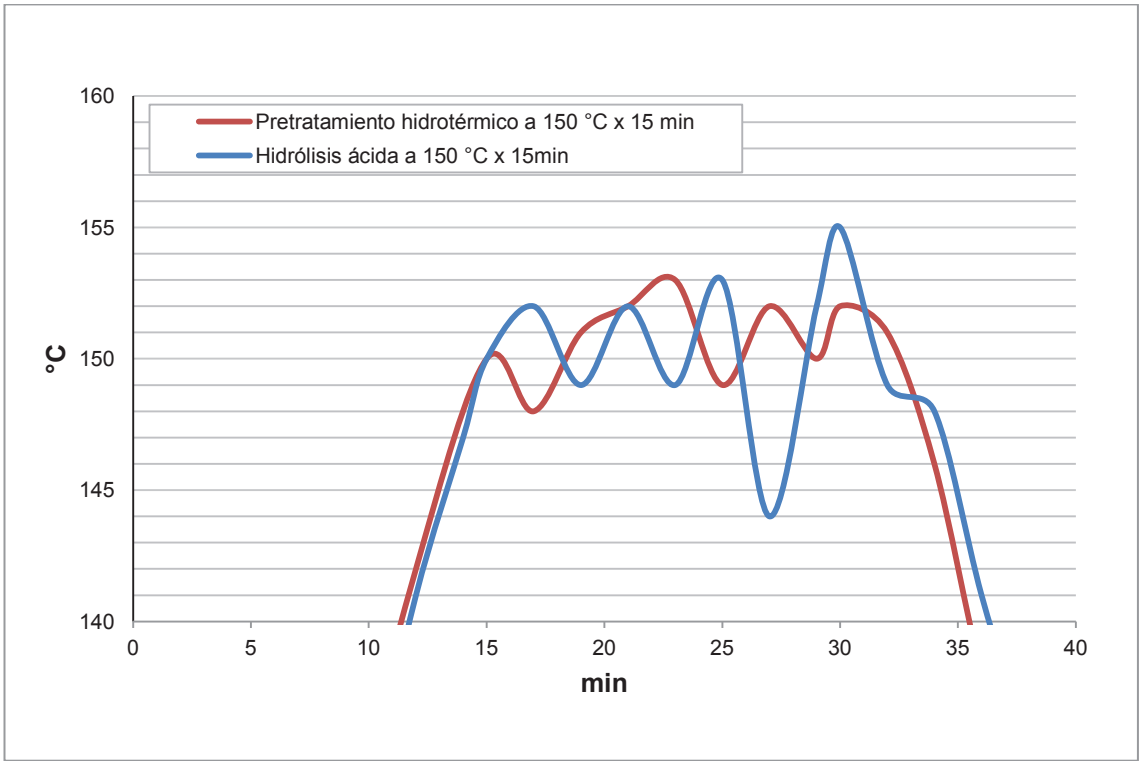



**Figura 3.27.** Acercamiento del perfil de temperatura de la hidrólisis con ácido sulfúrico al 5% $w_{ácido}/w_{residuo}$ a 150 °C durante 15 minutos y el prefil de temperatura durante el pretratamiento hidrotérmico registrado a 150 °C durante 15 minutos

En conclusión, se determinó que la mayor conversión significativa de celulosa en azúcares reductores, a partir del residuo pretratado hidrotermicamente a 190 °C durante 15min, se alcanza a los 121 °C durante 15 minutos de hidrólisis ácida con ácido sulfúrico al 5 $\%w_{ácido}/w_{residuo}$.

## 3.5. ANÁLISIS PRELIMINAR DE LOS COSTOS DEL PROCESO PROPUESTO

Para el desarrollo del análisis preliminar de costos del proceso físico químico para producir azúcares reductores a partir del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*), se presenta la descripción de la planta piloto de 185 TM/año en la que se fundamenta dicho análisis.

### 3.5.1. DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA PILOTO

En la Figura 3.28 se presenta el diagrama de flujo del proceso físico químico propuesto y en la Tabla 3.23 se presenta el balance de masa y energía que corresponde a una producción de 70 kg/h ó 185 TM/año (330 días/año y 8 h/día).

De acuerdo al producto que se recupera o se produce en cada etapa del proceso la planta piloto se dispuso en tres áreas de proceso:

- Área 200: Extracción de ceras y grasas
- Área 300: Dilución de proteína cruda
- Área 400: Sacarificación (pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis ácida)

De acuerdo a la función que desempeñan las áreas, se dispuso tres áreas auxiliares:

- Área 100: Almacenamiento (materia prima, reactivos y solvente)
- Área 500: Servicios (caldero y cuarto frío)
- Área 600: Equipamiento multiuso (centrífuga y tanques de neutralización)

Las áreas se enumeraron siguiendo el orden de aparición en la línea de proceso principal. Cada área cuenta con una o varias unidades que cumplen una función específica y están conformadas por uno o más equipos.

A continuación se describe el proceso físico químico para la producción de azúcares reductores a partir del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*), el mismo que se basó en las condiciones establecidas experimentalmente en el laboratorio y que hace referencia a la Figura 3.28:

- El residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) es apilado y almacenado en el galpón (G-110).
- El molino de martillos (MM-210) opera 8 h/día y 66 días al año, con un flujo de 350 kg/h para generar un stock de residuo triturado de 5 días.

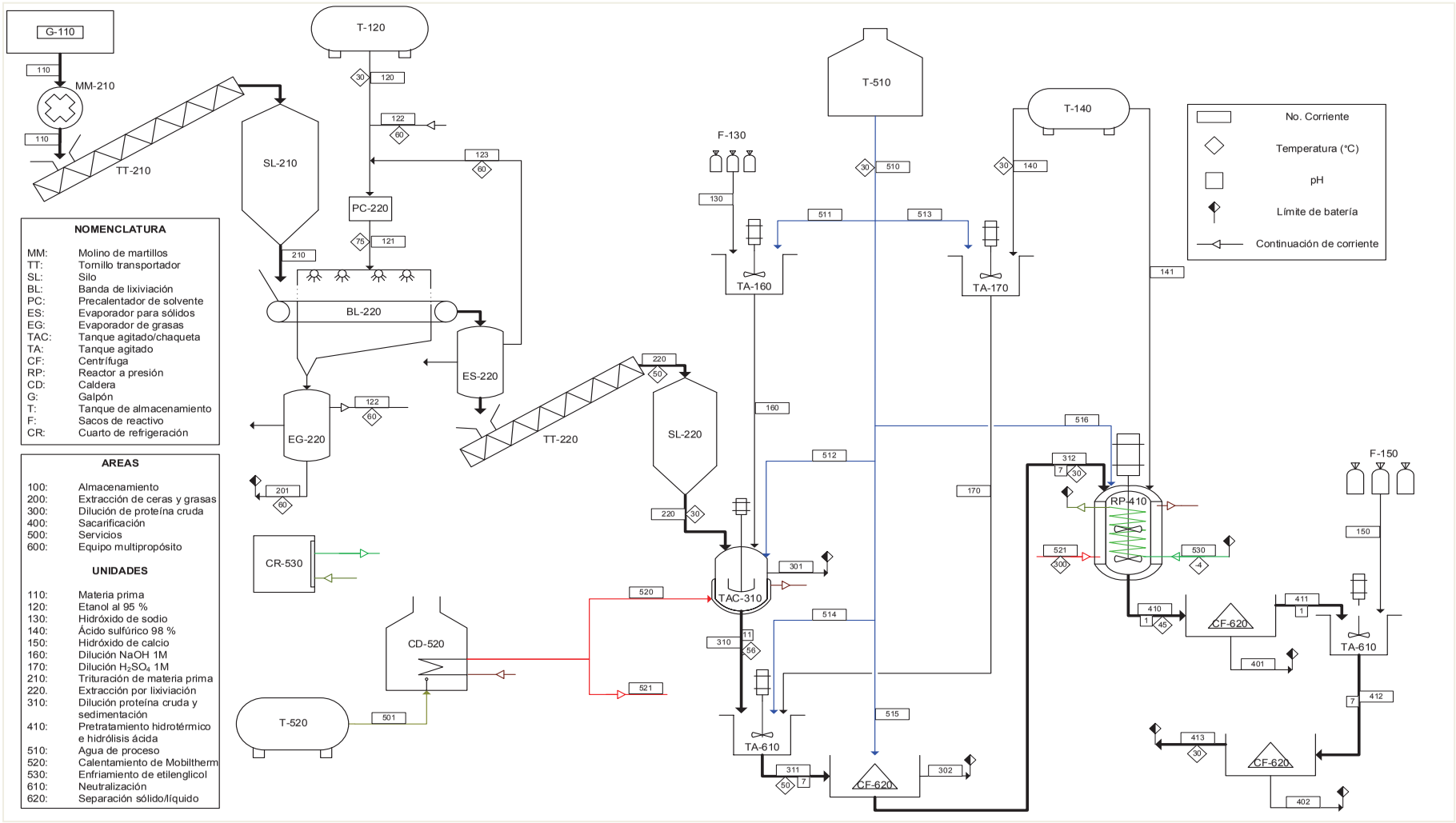



**Figura 3.28.** Diagrama de flujo del proceso físico químico para la obtención de azúcares reductores a partir del residuo de la extracción de aceite de Piñón (*Jatropha curcas*)

**Tabla 3.23.** Resumen del balance de materia y energía del proceso físico químico para la obtención de azúcares reductores a partir del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) para una planta piloto de 185 TM/año (70 kg/h)

| No. CORRIENTE | | 210 | 121 | 220 | 160 | 512 | 310 | 514 | 170 | 311 | 515 | 312 | 516 | 141 | 410 | 411 | 150 | 412 | 413 | 520 | 521 | 501 | 530 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **MATERIA PRIMA** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Residuo sólido | (kg/h) | 70,0 | | 51,4 | | | 44,8 | | | 44,8 | | 43,5 | | | 38,2 | 5,7 | | 5,7 | 0,86 | | | | |
| aceite | (kg/h) | 10,7 | | 0,18 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| otros productos grasos | (kg/h) | 8,1 | | 0,08 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| celulosa | (kg/h) | 11,3 | | 11,3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| lignina | (kg/h) | 9,0 | | 9,0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| pentosanos | (kg/h) | 3,7 | | 3,7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| cenizas | (kg/h) | 5,6 | | 5,6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| proteína cruda | (kg/h) | 18,3 | | 10,5 | | | 5,0 | | | 5,0 | | 4,9 | | | | | | | | | | | |
| **REACTIVOS** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ | (kg/h) | | 29,3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hidróxido de sodio | (kg/h) | | | | 0,99 | | 0,50 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ácido sulfúrico 98 % | (kg/h) | | | | | | | | 0,62 | | | | | 2,4 | 2,4 | 2,3 | | | | | | | |
| Hidróxido de calcio | (kg/h) | | | | | | | | | | | | | | | | 1,8 | | | | | | |
| **SERVICIOS** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Agua | (kg/h) | | | | 24,8 | 489 | 257 | 96,9 | 6,0 | 360 | 89,7 | 4,4 | 430 | | 435 | 422 | | 423 | 410 | | | | |
| Mobiltherm 600* | (kg/h) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 4905 | 8176 | | |
| Etilenglicol* | (kg/h) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1232 |
| Diesel | (gal/h) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0,42 | |
| **PRODUCTOS** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Azúcares reductores | (kg/h) | | | | | | | | | | | | | | 5,2 | 5,1 | | 5,1 | 4,9 | | | | |
| Sulfato de sodio | (kg/h) | | | | | | | | | 0,88 | | 0,13 | | | | | | | | | | | |
| Sulfato de calcio | (kg/h) | | | | | | | | | | | | | | | | | 3,2 | 0,48 | | | | |
| **TOTAL DE FLUJO** | **(kg/h)** | **70,0** | **29,3** | **51,4** | **25,8** | **489** | **302** | **96,9** | **6,6** | **406** | **89,7** | **48,0** | **430** | **2,4** | **481** | **435** | **1,8** | **437** | **416** | **4905** | **8176** | | **1232** |

**Tabla 3.23.** Resumen del balance de materia y energía del proceso físico químico para la obtención de azúcares reductores a partir del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) para una planta piloto de 185 TM/año (70 kg/h) (continuación…)

| No. CORRIENTE | | 210 | 121 | 220 | 160 | 512 | 310 | 514 | 170 | 311 | 515 | 312 | 516 | 141 | 410 | 411 | 150 | 412 | 413 | 520 | 521 | 501 | 530 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **PROPIEDADES**** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Temperatura | (°C) | | 75 | 30 | 30 | 30 | 56 | 30 | 30 | 50 | 30 | 30 | 30 | 30 | 45 | 35 | | | 30 | 300 | 300 | | -4 |
| Presión | (KPa) | | | | | | | | | | | 101 | 101 | 101 | 101 | | | | | | | | |
| Peso Molecular | (kg/kmol) | | 43 | | | | | | | | | | | 90 | | | 74 | | | | | | |
| Densidad | ($kg/m^3$) | 609 | 816 | | 1 041 | 996 | | 996 | 1 055 | 938 | 996 | 645 | 996 | 1 835 | 852 | | | | | 654 | 654 | | 1 130 |
| Capacidad calórica | (kJ/kg °K) | | | 2,09 | | 4,18 | | 4,18 | | | | | 4,18 | | | | | | | 2,28 | 2,28 | | 2,25 |
| pH | (-) | | | | | | 11 | | | 7 | | | | | 1 | 1 | | 7 | | | | | |
| Poder calórico | (MJ/gal) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 146 | |

*Se recircula: chaqueta – caldero y serpentín – cuarto de refrigeración. Se consideró reponer al año el 10 y 5 % del stock de fluido calefactor y refrigerante, respectivamente. Stock: el total requerido por día.

**Las propiedades físicas se obtuvieron de Perry, Green y Maloney (2001)

- El residuo triturado es transportado por el tornillo sin fin (TT-210), de 4 in de diámetro, 11 m de longitud y con una inclinación de 20 °, hacia el primer silo "pulmón" (SL-210), donde es alimentado continuamente mientras el molino está trabajando.
- Del silo (SL-210) se alimenta a flujo constante de 70 kg/h de residuo a la banda de lixiviación (BL-220) de 18 m de largo y 0,4 m de ancho. El solvente alimentado al equipo proviene por una parte del solvente fresco, y por otra de la recuperación de los evaporadores (ES-220) y (EG-22).
- El residuo desengrasado es transportado en otro tornillo sin fin de 4 in y 11 m con 20 ° de inclinación (TT-220) hacia un segundo silo "pulmón". Hasta aquí la operación es continua.
- El tanque agitado con chaqueta (TAC-310) se carga con el residuo desengrasado proveniente del silo (SL-220), con agua, luego es calentado hasta alcanzar los 60 °C, se mantiene el pH en 11 durante 1 hora con la solución de NaOH 1 M, al cabo de este tiempo la agitación se detiene e inicia la sedimentación durante 30 minutos, se descarga el fondo (fase sólida) y es descargada en el tanque agitado (TA-610) para su posterior neutralización y luego la fase líquida que es conducida fuera de la línea de proceso como subproducto semi-elaborado. El tiempo estimado de duración de la operación de dilución de proteínas 2,1 horas.
- Para la neutralización del residuo "sin proteínas", se alimenta al tanque (TA-610), agua y se dosifica una solución de $H_2SO_4$ 1 M hasta alcanzar pH 7 en la pulpa y luego es descargada hacia la centrífuga (CF-620), luego se lava la pulpa dentro de la centrífuga, donde la fase líquida (agua/sulfato de sodio) sale de la línea de proceso como producto semi-elaborado y la fase sólida es alimentada al reactor de alta presión (RP-410). Tiempo estimado de neutralización y lavado 1,1 horas.
- En el reactor de alta presión (RP-410) se lleva a cabo el pretratamiento hidrotérmico e hidrólisis ácida. Se alimenta agua, se calienta el sistema hasta alcanzar los 190 °C para residir 15 minutos, es enfriado por un serpentín

interno de acero inox. 316 hasta alcanzar la temperatura de alimentación del ácido, el ácido es alimentado y nuevamente se calienta a 121 °C, reside 15 minutos, y es enfriado hasta alcanzar la temperatura de descarga de la pulpa que es separada en la centrífuga (CF-620). Tiempo estimado de sacarificación 4,2 horas.

- La fase sólida (residuo sacarificado) se recupera como subproducto semi-elaborado y sale de la línea de proceso.
- La fase líquida (solución hidrolizada) se recupera y es alimentada al tanque (TA-610) para ser neutralizada con hidróxido de calcio hasta pH 7, luego es nuevamente centrifugada y se recupera como producto semi-elaborado el sólido ($CaSO_4$ o Gypsum) mientras que el hidrolizado se recupera como producto final.
- Como fluido de calefacción se empleó aceite térmico y se tomó las propiedades del “Mobiltherm 600”, aceite térmico comercial que es precalentado a 300 °C en el caldero de 30 BHP (CD-520) que funciona a diesel.
- Como fluido de refrigeración se empleó etilenglicol a - 4 °C, el mismo que se alimenta al serpentín por lotes, los mismos que son refrigerados en un cuarto de refrigeración (CR-530). Se estableció de esta manera debido a que emplear amoníaco, refrigerante que se emplea en la industria para refrigerar entre el rango de - 45,5 a 4 °C resultó excesivamente costoso para el tamaño de la planta en cuestión, por tanto se decidió emplear etilenglicol, como lo recomienda Walas (1987, p. 80).
- Porque la capacidad de la planta piloto lo permite, la preparación de las soluciones de NaOH 1 M y H2SO4 1 M así como la dosificación de CaOH, se realizan manualmente. Además, los tanques de almacenamiento de los reactivos, no justifica un dimensionamiento.

Acorde a la metodología descrita en la Sección 2.5, se presentan en la Tabla 3.24 y Tabla 3.25, el resumen de la estimación de la inversión del capital fijo y los costos de producción, respectivamente, para la implementación y operación de una planta piloto de 185 TM/año de residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*).

**Tabla 3.24.** Estimación de la inversión del capital fijo para la implementación de una planta piloto de de 185 TM/año

| CONCEPTO | USD |
|---|---|
| Precio del equipamiento | 376 796,00 |
| Costo de la instalación de los equipos | 150 718,00 |
| Control e instrumentación | 135 647,00 |
| Tubería instaladas | 256 221,00 |
| Instalaciones eléctricas | 41 448,00 |
| Edificaciones | 37 680,00 |
| Adecuaciones y mejoras del terrero | 30 144,00 |
| **Costo directo de la planta** | **1 028 654,00** |
| Gastos de construcción | 116 807,00 |
| Gastos legales | 15 072,00 |
| **Costos directos e indirectos totales** | **1 160 532,00** |
| Contingencia | 11 605,00 |
| **INVERSIÓN DEL CAPITAL FIJO** | **1 172 138,00** |

**Tabla 3.25.** Estimación de los costos de producción para la implementación de una planta piloto de 185 TM/año

| CONCEPTO* | USD/kg AR |
|---|---|
| Materia prima, solvente, reactivos y subproductos | -0,29** |
| Mano de obra | 0,60 |
| Mantenimiento | 0,12 |
| Servicios | 2,05 |
| Insumos operativos | 0,02 |
| **Costos directos de producción** | **2,50** |
| Depreciación | 2,89 |
| **Costos indirectos de producción** | **2,89** |
| **COSTOS TOTALES DE PRODUCCIÓN** | **5,40** |

USD/kg AR: dólares americanos por kilogramo de azúcares reductores producidos
*Debido al tamaño de la planta algunos rubros han sido despreciados
**Ingreso a favor del proyecto

A continuación se presenta el análisis de los resultados que llevaron a establecer el costo total de producción así como la inversión del capital fijo para la instalación y operación de la planta piloto de 185 TM/año.

### 3.5.2. INVERSIÓN DEL CAPITAL FIJO

La inversión del capital fijo se estimó en función del precio del equipamiento principal, sin embargo, los precios en los que se basó esta estimación representan el precio de adquirirlos en Estados Unidos en el año 2013 e incluyendo los impuestos de importación al país. Por otro lado, los equipos que pueden construirse en el país también se han considerado.

Los equipos que no se construyen en el país como: centrífugas y equipos de extracción con solventes tiene un precio más alto al que tuvieran si construyera en el país debido a costos de importación.

Sin embargo, hay equipos que se construyen en el país: tanques, silos o calderos y que adquirirlos o ensamblarlos reduce la inversión en cuanto a equipamiento y consecuentemente la inversión del capital fijo para el proyecto. Con el fin de reducir el precio del equipamiento se consideró dos estrategias:

- Cotizar los equipos más costoso de segunda mano o reconstruidos cuyo precio se estimó en el 50 % del precio del equipo nuevo importado en el país.
- Maximizar el uso del equipamiento, como el tanque de agitación para neutralización y la centrífuga, que se emplean por breves momentos durante varias ocasiones durante el proceso, con el fin de minimizar adquisiciones innecesarias y costosas. Estos equipos son los denominados “multipropósito”.

Cabe destacar también que adquirir equipamiento a escala piloto es más costos que el proporcional si se tratase de una planta a escala industrial.

En la Tabla 3.26 se desglosa el precio de los equipos principales, capacidad, cantidad, procedencia y condición para su adquisición.

En la Figura 3.29 se muestra la participación por equipo en precio total del equipamiento de la planta piloto que procesaría 185 TM/año de residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*).

**Tabla 3.26.** Desglose del precio total de adquisición de los equipos principales para la implementación de una planta piloto de 185 TM/año

| EQUIPO | MATERIAL | CÓDIGO* | CAPACIDAD | CANTIDAD | CONDICIÓN | PROCEDENCIA | PRECIO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Molino de martillos | Acero al carbono | MM-210 | 10 q/h | 1 | Nuevo | Nacional | 3 214,00 |
| Tornillo sin fin | Acero al carbono | TT-210<br>TT-220 | 11 M | 2 | 2da. mano | Importado | 4 711,00 |
| Silo pulmón 1 | Acero al carbono | SL-210 | 6 $m^3$ | 1 | Nuevo | Nacional | 4 571,00 |
| Extractor de banda de para lixiviación | Acero inox. 316 | BL-220<br>ES-220<br>EG-220 | 18 M | 1 | 2da. mano | Importado | 10 303,00 |
| Silo pulmón 2 | Acero al carbono | SL-220 | 2 $m^3$ | 1 | Nuevo | Nacional | 2 286,00 |
| Tanque con chaqueta y agitador | Acero inox. 316 | TAC-310 | 1 500 gal | 1 | 2da. mano | Importado | 30 332,00 |
| Tanque con agitador | Acero inox. 316 | TA-610 | 1 000 gal | 1 | 2da. mano | Importado | 14 082,00 |
| Centrífuga de canasta (30 kW) | Acero inox. 316 | CF-620 | 10 000 L/h | 1 | 2da. mano | Importado | 143 922,00 |
| Reactor alta presión con chaqueta, serpentín y agitador | Acero inox. 316 | RP-410 | 1 500 gal | 1 | 2da. mano | Importado | 135 078,00 |
| Caldero a diesel | Acero al carbono | CD-520 | 30 BHP | 1 | 2da. mano | Importado | 24 636,00 |
| Cuarto de refrigeración ( -5 a -15 °C) | Acero inox. 316 | CR-530 | 2 $m^3$ | 1 | Nuevo | Nacional | 3 660,00 |
| **PRECIO TOTAL DE EQUIPAMIENTO** | | | | | | | **376 796,00** |

*Corresponde a la nomenclatura del diagrama de flujo del proceso que se presentó en la Figura 3.28. **Por semejanza con

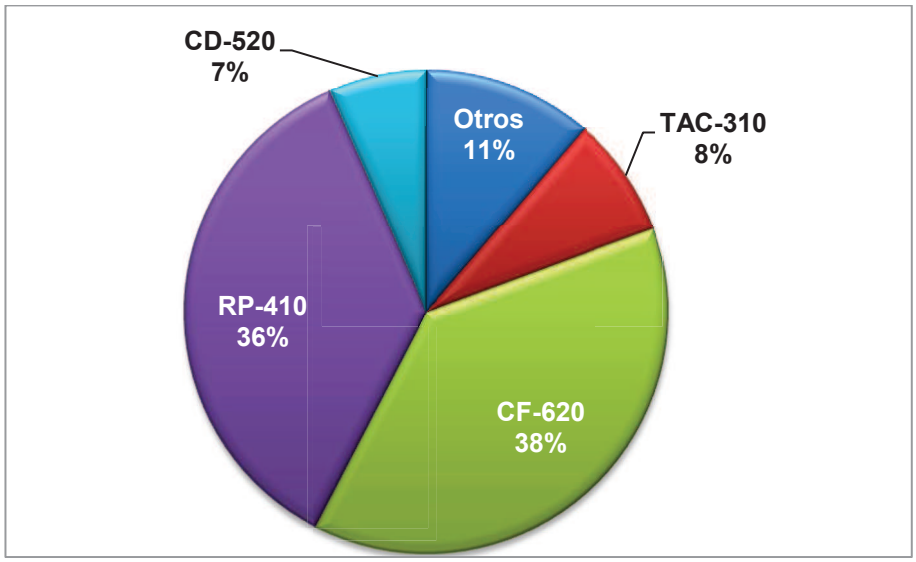



**Figura 3.29.** Participación de los equipos en el precio total de equipamiento de la planta piloto de 185 TM/año

Al analizar la participación del precio de los equipos, se identifica que los más elevados corresponden a la centrífuga (CF-620) y al reactor a alta presión (RP-410), ambos de acero inoxidable 316 para que soporten las condiciones de trabajo y que corresponden al área de sacarificación. Mientras que el tanque con agitación y chaqueta (TAC-310), que se emplearía para la dilución de la proteína representa apenas el 8 %, el caldero de 30 BHP (CD-520) el 7 % y los otros equipamientos el 11 %. Se determina por tanto, que indica que el proceso se encarece debido y exclusivamente al método de separación empleado para una efectiva separación sólido/líquido y del reactor batch con calentamiento y enfriamiento in-situ y que soporte las condiciones agresivas de reacción.

### 3.5.3. COSTOS TOTALES DE PRODUCCIÓN

En la Tabla 3.25 se resumió que el costo total de producción asciende a 5,40 USD por kilogramo de azúcares reductores producidos por el proceso propuesto.

Según CME GROUP (2013), para septiembre de 2013 estima que el precio de comercialización a nivel mundial del azúcar #11 o melaza, materia prima para la producción de etanol, corresponde a 0,35 USD por kilogramo, se concluye que el

costo total de producción de azúcares reductores por el método propuesto está muy por encima del precio de comercialización en el mercado (p.13).

El costo directo de producción se desglosa en la Tabla 3.27, basado en el diagrama de flujo de la planta piloto de 185 TM/año, que se mostró en la Figura 3.28, y los respectivos balances de masa y energía que se resumieron en la Tabla 3.23.

**Tabla 3.27.** Desglose de los costos directos de producción para el funcionamiento de una planta piloto de 185 TM/año

| CONCEPTO | CANTIDAD/kg AR | USD/kg AR | REFERENCIA |
|---|---|---|---|
| Materia prima, residuo de la extracción (kg) | 14,20 | 1,25 | Mercado local |
| Solvente, etanol 99% (kg)* | 1,85 | 3,69 | Mercado local |
| Reactivo, ácido sulfúrico 98% (kg) | 0,83 | 0,68 | Mercado local |
| Reactivo, hidróxido de calcio 100% (kg) | 0,35 | 0,07 | Mercado local |
| **Materia prima, solvente y reactivos** | | **5,69** | |
| Aceite (kg) | 2,13 | -1,55 | FEDAPAL (2013) |
| Material graso (kg) | 1,63 | -0,62 | FEDAPAL (2013) |
| Proteína soluble (kg) | 1,10 | -1,10 | Lestari et al. (2008) |
| Sulfato de sodio (kg) | 0,18 | -0,01 | Mercado local |
| Sulfato de calcio (kg) | 0,65 | -0,21 | Mercado local |
| Residuo sólido sacarificado (kg) | 7,76 | -2,48 | Mercado local |
| **Ingreso al proyecto por venta de subproductos** | | **-5,98** | |
| Reposición del refrigerante, etilenglicol (kg) | 0,10 | 0,20 | Mercado local |
| Reposición del calefactor, Mobiltherm 600 (gal) | 0,18 | 0,44 | Mercado local |
| Agua de proceso (kg) | 0,23 | 0,16 | EMAPAM |
| Electricidad (kWh) | 4,48 | 0,27 | Bayas et al. (2009, p. 63) |
| Diesel para caldera (gal) | 0,68 | 0,99 | EP Petroecuador |
| **Servicios** | | **2,05** | |
| **Mano de obra** | | **0,60** | MRL |
| **Mantenimiento** | | **0,12** | |
| **Insumos operativos** | | **0,02** | |
| **COSTO TOTAL DIRECTO DE PRODUCCIÓN** | | **2,50** | |

AR: azúcares reductores

*[+]Presentación disponible en el mercado y es equivalente al consumo de etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$

En la Figura 3.30 se muestra el desglose de la participación porcentual en los costos directos de producción una la planta piloto que procesaría 185 TM/año de residuo, basada en la Tabla 3.27.

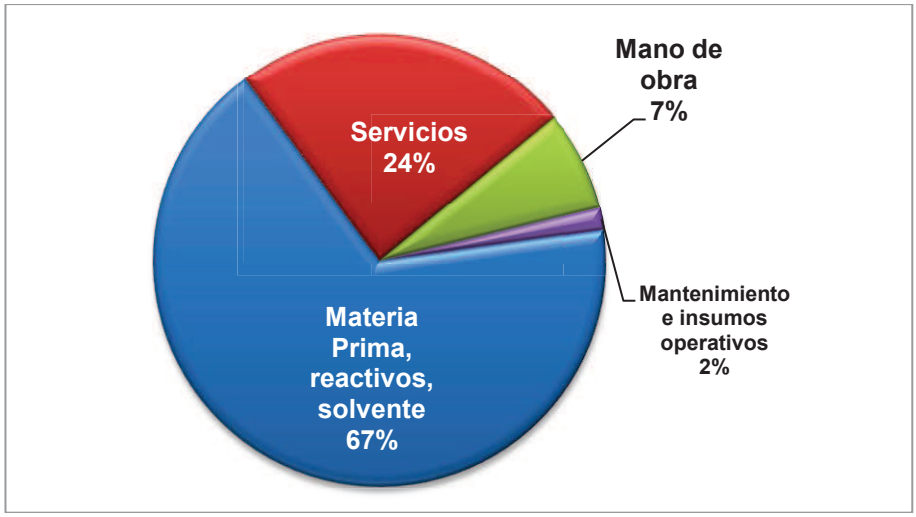



**Figura 3.30.** Desglose de los costos directos de producción de la planta piloto de 185 TM/año, sin considerar el ingreso por venta de los subproductos

Se identifica que los rubros más influyentes en el costo total directo de producción son los correspondientes a la materia prima, reactivos y solvente, así como los servicios, que juntos alcanzan el 91 % del costo directo de producción.

En la Figura 3.31 se muestra el desglose del costo de materia prima, reactivos y solvente, que juntos representan el 67 % del costo directo de producción.

El mayor costo se atribuye al etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$, que es el solvente para la extracción de ceras y grasas cuyo costo en el mercado nacional es de 2,00 USD/kg, y es congruente al estimado por CME Group (2013, p. 13).

Este rubro debe optimizarse ya que a escala laboratorio no se puede determinar con certeza el consumo necesario de dicho solvente, sin embargo se tomó como referencia la cantidad de etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ que se requiere para sumergir el residuo completamente. Además, queda abierta la posibilidad que el precio del solvente puede negociarse ya que la planta en cuestión produce la glucosa, materia prima para la producción de dicho solvente, etanol.

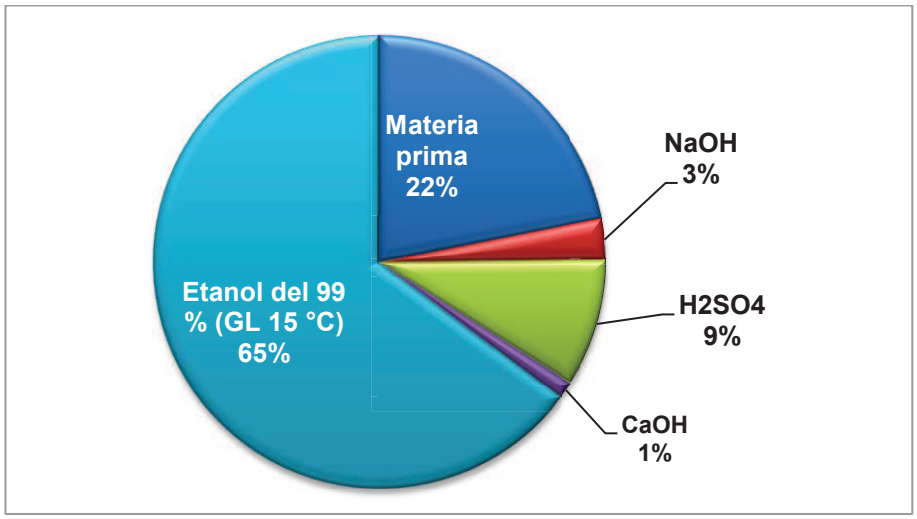



**Figura 3.31.** Desglose del costo de materia prima, reactivos y solvente de la planta piloto de 185 TM/año

El segundo rubro más importante, corresponde a la materia prima, residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) con el 22 % de la participación.

Mientras que los reactivos, que juntos representan el 13 % del costo de materia prima, reactivos y solvente, corresponden al consumo del proceso propuesto. Por tanto, este proceso resultaría más interesante para los productores del residuo.

En la Figura 3.32 se muestra el desglose del costo de servicios, que juntos representan el 24 % del costo directo de producción, basado en la Tabla 3.27.

En cuanto a los servicios, el rubro más importante corresponde al consumo de energía, que se traduce en diesel, reposición anual de fluido refrigerante y calefactor así como el consumo eléctrico, que juntos representan el 90 % del costo de los servicios, mientras que el agua de proceso corresponde apenas al 10 %, es decir que el consumo energético de la planta es clave en cuanto a la economía del proceso.

En cuanto al consumo energético, se identifica que el diesel tiene la mayor participación, del 48 %, seguida del costo de reposición del fluido calefactor, “Mobiltherm 600” y del fluido refrigerante, etilenglicol, esto debido a la gran cantidad de energía que se requiere para alcanzar las condiciones de

pretratamiento hidrotérmico a 190 °C durante 15 minutos y de hidrólisis ácida a 121 C durante 15 minutos y luego alcanzar la temperatura de descarga de 45 °C.

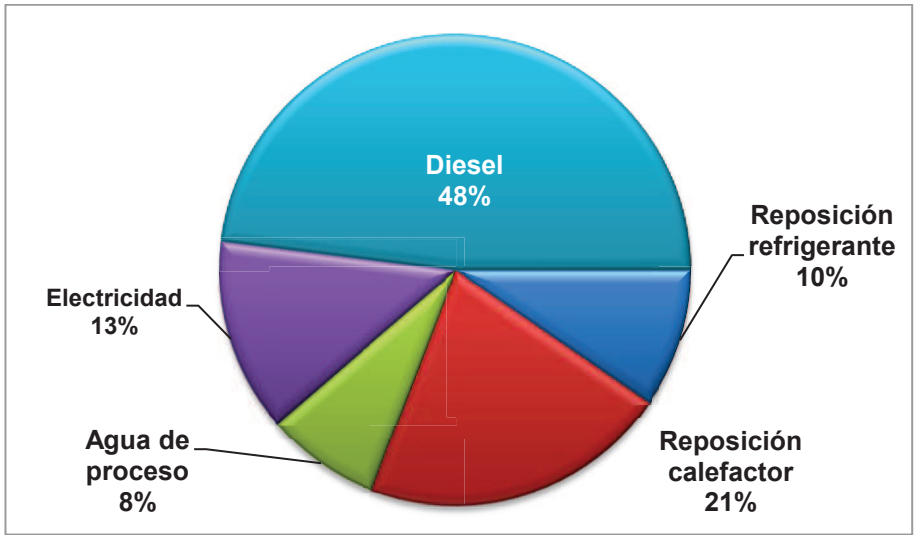



**Figura 3.32.** Desglose del costo de los servicios de la planta piloto de 185 TM/año

Debido a que el reactor batch cuenta con un sistema insitu de calentamiento y enfriamiento, reproduciendo las condiciones ensayas en laboratorio. Cabe destacar que el costo por concepto de refrigeración y calefacción puede reducirse si se considera precalentar la carga, empleando como fluido de calentamiento la descarga del reactor, sin embargo, para lograr esta condición se debería estudiar esta propuesta en un reactor continuo apropiado que permita evaluar los efectos de esta disposición en la conversión final de celulosa en azúcares reductores.

Por otro lado, la participación del consumo eléctrico también es importante y para identificar la sección del proceso que influye en el costo, se desglosa el consumo eléctrico por equipo en la Tabla 3.28.

Se evidencia que el cuarto frío, la centrífuga y la banda de lixiviación son los que consumen mayor cantidad de energía, esto independiente la potencia ya que es el tiempo de funcionamiento el que incrementa el costo. En la Figura 3.33 se muestra el desglose del consumo eléctrico de los equipos principales y equipos auxiliares, que juntos representan el 13 % del costo de los servicios, basado en la Tabla 3.28.

**Tabla 3.28.** Estimación del consumo eléctrico para una planta piloto de 185 TM/año

| EQUIPO | POTENCIA (kW) | CONSUMO ELÉCTRICO (kWh/kg AR) |
|---|---|---|
| Molino de martillo | 15,21 | 0,617 |
| 2 Tornillos transportadores | 0,08 | 0,006 |
| Banda de lixiviación continua* | 4,67 | 0,947 |
| Agitador TAC-310 (Turbina de 6 palas planas) | 2,87 | 0,090 |
| Agitador TA-600 (Turbina de 6 palas planas, 2 rodetes) | 2,45 | 0,005 |
| Agitador RP-410 (Turbina de 6 palas planas, 6 rodetes) | 5,61 | 0,525 |
| Centrífuga de canasta CF-600** | 28,34 | 1,076 |
| Cuarto de refrigeración | 1,49 | 1,217 |
| **CONSUMO ELÉCTRICO TOTAL (kWh/kg AR)** | | **4,483** |

*Aproximación por semejanza con equipo de 60 TM/d de 18 m, incluye evaporador de torta y aceites y precalentador de solvente, consumo 44,4 kW (Doing Group Yongle Oil Machinery Co. Ltd, 2013)
**Aproximación por semejanza centrífuga con Centrífuga Westfalia, Modelo RSE60, de 6000 L/h y 6500 rpm, consumo 22,5 kW

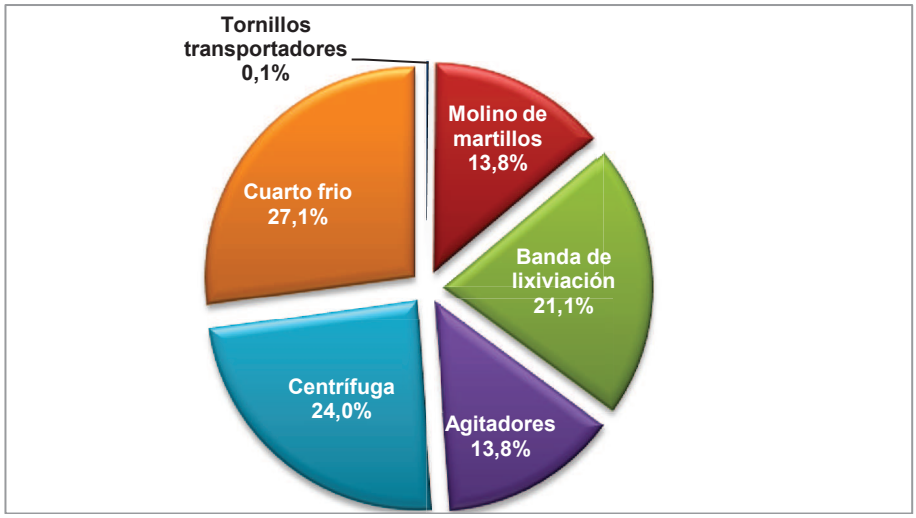



**Figura 3.33.** Desglose del consumo eléctrico de la planta piloto de 185 TM/año

En el caso del cuarto frío justifica su elevado consumo debido a que está funcionando las 24 horas durante los 330 días de operación, en cambio la etapa de separación sólido/líquido es un aspecto tecnológicamente costoso y que se debería estudiar otro método de separación en función de las características del sistema para mejorar los costos de servicios y del precio de adquisición de dicho equipamiento.

El consumo por concepto de molienda y agitación de los tanques de dilución de proteína cruda (TAC-310), el de neutralización (TA-600) y del reactor (RP-410), representan en conjunto el 28 % y en comparación al consumo de los otros equipos que corresponde al 72 %, no es influyente.

En la Tabla 3.29 se indica el desglose del costo total de producción considerando el aporte de la venta de los subproductos de valor industrial en los costos directos.

**Tabla 3.29.** Desglose del costo total de producción para una planta piloto de 185 TM/año

| CONCEPTO | USD/kg AR | (%) |
|---|---|---|
| COSTO DIRECTOS | 2,50 | 46,3 |
| COSTOS INDIRECTOS | 2,89 | 53,7 |
| **COSTOS TOTALES DE PRODUCCIÓN** | **5,40** | **100** |

En contraste al estudio preliminar de costos, se enfatiza que se ha descrito una ruta que si bien bajo estas condiciones ensayadas en el laboratorio tiene costos altos de producción y equipamiento se ha demostrado la eficacia del pretratamiento hidrotérmico y que se puede producir subproductos con valor industrial.

# 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

## 4.1. CONCLUSIONES

- El residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) obtenido con el expeller SARE perteneciente al DECAB tiene similares características al residuo obtenido por el INIAP de Portoviejo en cuanto a la compactación y forma. El rendimiento total de la extracción del aceite con el expeller SARE es del 58,50 % al procesar la semilla, precalentada a 60 °C durante 3 horas, con una abertura a la salida del residuo resultante de 2 mm y re-extrayendo el residuo 2 veces.

- Con base en los resultados de la caracterización de la semilla de Piñón (*Jatropha curcas*) silvestre originario de la provincia de Manabí se estableció que tiene 16 % de material graso de mayor punto de solidificación que el aceite y en mayor proporción que la variedad de Piñón (*Jatropha curcas*) estudiada por Brossard-González et al. (2010), originaria del Brasil.

- Se determinó que el contenido de ceras y grasas en el residuo obtenido en el expeller SARE es del 29,47 % respecto al residuo en base seca. Además, se recuperó el 0,991 $g_{ceras\ grasas}/g_{ceras\ y\ grasas\ en\ el\ residuo}$ que corresponde a las condiciones establecidas de 1 hora de lixiviación con etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$.

- Del análisis de la caracterización del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) obtenido con el expeller SARE se determinó que el que el contenido de aceite en corresponde a 0,440 $g_{aceite}/g_{ceras\ y\ grasas\ en\ el\ residuo}$.

- Se estableció que el contenido de proteína cruda en el residuo desengrasado al cabo de la extracción de ceras y grasas con etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ es del 19,71 % respecto al residuo desengrasado en base seca y que se alcanza una extracción por dilución a 60 °C y pH 11 durante 1 hora de

0,52 $g_{proteína\ extraída}/g_{proteína\ en\ el\ residuo\ desengrasado}$ con un consumo de 19,30 mL NaOH 1 M por cada 40 g de residuo desengrasado.

- Del estudio del pretratamiento hidrotérmico se determinó que con el pretratamiento hidrotérmico mejora significativamente la conversión de celulosa en azucares reductores y es necesario para alcanzar conversiones aceptables.

- Con el pretratamiento a 190 °C durante 15 minutos incrementa la conversión de celulosa en azucares reductores de 0,08 $g_{azúcares\ reductores}/g_{celulosa}$, sin pretratamiento, a 0,46 $g_{azúcares\ reductores}/g_{celulosa}$, con pretratamiento.

- Se estableció que, durante el pretratamiento hidrotérmico, el ablandamiento de la matriz lignocelulósica inicia a la temperatura 163 ± 2 °C y que superada la temperatura de 203,5 ± 0,5 °C la matriz se desnaturaliza y perjudica la conversión.

- Se estableció que el contenido de celulosa en el residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) con el expeller SARE es del 15,64 % en base seca y que bajo las condiciones establecidas, de 190 °C durante 15 minutos de pretratamiento hidrotérmico seguido de la hidrólisis con ácido sulfúrico al 5 $\%w_{ácido}/w_{residuo}$ a 121 °C durante 15 minutos, se alcanza significativamente la mayor conversión de celulosa en azúcares reductores de 0,46 $g_{azúcares\ reductores}/g_{celulosa}$. Además se estableció que una hidrólisis ácida significativa debería tardar más de 5 minutos.

- El proceso físico químico diseñado recupera aceite, ceras y grasa, extrae proteína cruda soluble, que pueden emplearse como subproductos de valor industrial.

- Se concluye del análisis preliminar de costos de una planta piloto semi-continua de 185 TM/año trabajando 330 días al año durante 8 h/día de acuerdo al proceso físico químico desarrollado que debido al alto

costo de equipamiento para la implementación de la planta, la inversión del capital fijo se eleva a 1 172 138,00 USD, y para el funcionamiento de la planta el costo total de producción de azúcares reductores asciende a 5,40 USD/$kg_{\text{azúcares reductores producidos}}$, debido principalmente al alto costo de los servicios.

## 4.2. RECOMENDACIONES

- Verificar las propiedades de las ceras y grasas extraídas con etanol del 95 $\%_{(GL\ 15\ °C)}$ y de la proteína cruda obtenida de la dilución en medio básico del residuo de la extracción del aceite de Piñón (*Jatropha curcas*) silvestre originario de la provincia de Manabí, con el fin de establecer sus aplicaciones industriales, no alimenticias, y definir el precio real que puede alcanzar en el mercado.

- Evaluar la fermentabilidad de la solución de azúcares reductores al cabo de la hidrólisis ácida con enzimas productoras de etanol.

- Evaluar otras alternativas de diseño del equipamiento para una planta de mayor capacidad con el fin de reducir los costos indirectos de producción e inversión del capital fijo. El diseño de los equipos debe considerar el máximo aprovechamiento de energía térmica y eléctrica para reducir los costos de producción.

# REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS


1. ATSDR (Agency for Toxic Substances & Disease Registry). (2011). *Benzene*. Recuperado de http://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsubstance.asp?toxid=14 (Noviembre, 2012)

2. Ahuja, J. (2011). *Degradación de Azúcares por Hidrólisis Ácida*. (Tesis para obtener el título de Ingeniero Químico no publicada). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, México.

3. Bayas, L., Jaramillo, M., Betancourt, E. y Reinoso, J. (2009). La tarifa horaria en el Ecuador como incentivo de eficiencia energética. *Revista politécnica, 30*(1), 53-68.

4. Beerens, P. (2007). *Screw-pressing of Jatropha seeds for fuelling purposes in less developed countries*. (Tesis de maestría no publicada). Eindhoven University of Technology, Eindhoven, Países Bajos.

5. Brossard-González, C., Ferrari, R., Pighinelli, A. y Park, K. (2010). Evaluación preliminar del etanol anhídro como solvente en la extracción del aceite de semilla de jatropha (*Jatropha curcas L.*). *Grasas y aceites, 61*(3), 295-302. doi: 10.3989/gya.087209

6. Brown, R. (2003). Cellulose Structure and Biosynthesis: What is in Store for the 21st Century?. *Journal of Polymer Science. Part A Polymer Chemistry*. *42*(1), 487-495. doi 10.1002/pola.10877

7. CETEC (Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais). (2006). *Composição Química da Torta de Pinhão-Manso*.

Recuperado de http://www.pinhaomanso.com.br/fotos/tabela23-propriedades.jpg (Mayo, 2012)

8. CME GROUP (2013). *Ethanol Outlook Report*. Recuperado de http://cmegroup.barchart.com/ethanol/archive/1378214235CME-Weekly-Ethanol-02-Sep-2013.pdf (Septiembre, 2013)

9. Constitución de la República del Ecuador. (2008). *Biósfera, ecología urbana y energías alternativas, Art. 413. TítuloVII, Sección Séptima*. (1era. ed.). Montecristi, Ecuador: Editorial Jurídica del Ecuador.

10. Cuervo, L., Folch, J. y Quiroz, R. (2009). Lignocelulosa como Fuente de Azúcares para la Producción de Etanol. *BioTecnología*. *13*(3), 11-25. Recuperado de http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2009_3/Lignocelulosa.pdf (Marzo, 2012)

11. Decker, S., Sheehan, J., Dayton, D., Bozell, J., Adney, W., Hames, B., Thomas, S., Bain, R., Czernik, S., Zhang, M. y Himmel, M. (2007). Biomass Conversion. En Kent, J. (Ed.). *Kent and Riegel`s Handbook of Industrial Chemestry and Biothecnology.* (pp. 1499-1548). New York, United States: Springer Science+Business Media.

12. ERGAL (Proyecto de Energías Renovables para Galápagos). (2011). *Biocombustibles*. Recuperado de http://www.ergal.org/cms.php?c=1272 (Mayo, 2012)

13. EMAPAM (Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Manta). (2013). *Boletín de Tarifas*. Recuperado de http://www.epam.gob.ec/index.php?option=com_content&view=article&id=7%3Aboletin-de-tarifas&catid=2%3Aslider-articulos-principal&Itemid=1 (Septiembre, 2013)

14. FAO. (1995). *Agricultural Services Bulletin: Quality assurance for small-*

*scalerural food industries*. Recuperado de http://www.fao.org/docrep/v5380e/V5380E07.htm (Agosto, 2012)

15. Fan, L., Lee, Y. y Beardmore, D. (1980). Mechanism of the enzymatic hydrolysis of cellulose: Effects of major structural features of cellulose on enzymatic hydrolysis. *Biotechnology Bioengineering*, *22*(1), 177-99. doi: 10.1002/bit.260220113

16. FEDAPAL (Fundación de Fomento de Exportaciones de Aceite de Palma y sus Derivados de Origen Nacional). (2013). *Reporte diario del 12 de septiembre de 2013*. Recuperado de http://fedapal.com/web/ (Septiembre, 2013)

17. Ganduglia, F. (IICA), León, J. (ECOPETROL), Gasparini, R. (YPF (Grupo RepsolYPF)), Rodriguez, M. (YPF (Grupo RepsolYPF)), Huarte, G. (ExxonMobil), Estrada, J. (PETROPERU) y Filgueiras, E. (IBP) (2010). *Manual de Biocombustibles*. Venezuela: Arpel e IICA

18. González, J. (2012a). *Curso de Biomoléculas: Ácidos grasos insaturados*. Recuperado de http://www.ehu.es/biomoleculas/lipidos/lipid31.htm#agi (Enero, 2013)

19. González, J. (2012b). *Curso de Biomoléculas: Hidratos de carbono: aspectos generales*. Recuperado de http://www.ehu.es/biomoleculas/hc/sugar1.htm (Enero, 2013)

20. González, J. (2012c). *Curso de Biomoléculas: Monosacáridos simples: aspectos generales*. Recuperado de http://www.ehu.es/biomoleculas/hc/sugar31a.htm (Enero, 2013)

21. Guarnizo, A., Martinez, P. y Valencia, H. (2009). Pretratamientos de la Celulosa y Biomasa para la Sacarificación. *Scientia et technica*, *1*(42),

284-289. Recuperado de http://www.redalyc.org/pdf/849/84916714053.pdf (Septiembre, 2012)

22. Gutiérrez, H. y De la Vara, R. (2008). *Análisis y diseño de experimentos*. (2da. ed.). México D.F, México: McGraw-Hill Interamericana.

23. Huerta, S. (2010). *Precipitación*. Recuperado de http://docencia.izt.uam.mx/sgpe/files/users/uami/sho/Precipitacion.pdf (Enero, 2013)

24. Karnofsky, G. (2005). Some time-tested tips for washing and leaching. *Chemical engineering. 12*(1), 52-55.

25. Katzen, R. y Othmer, D. (1942). Wood Hydrolysis: A continuous process. *Industrial and Engineering Chemistry. 34*(3). 314-322.

26. Lestari, D., Mulder, w., Weusthuis, R. y Sanders, J. (2008). *Jatropha protein products for technical applications*. Ponencia presentada en *Jatropha World 2008*, Hamburg, Alemania. Recuperado de http://jatropha.pro/PDF%20bestanden/Wageningen%20U.pdf (Julio, 2012)

27. Manual de operación del expeller marca SWANSON AGRICULTURE RESEARCH EQUIPMENT, modelo 6. (ND). Recuperado del Centro de Información del Departamento de Ciencias de Alimentos y Biotecnologia.

28. Makkar, H., Francis, G. y Becker, K. (2008). Protein concentrate from Jatrophacurcas screw-pressed seed cake and toxic and antinutritional factors in protein concentrate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. *88*(1), 1542-1548. doi: 10.1002/jsfa

29. Martinez, J., Martinez, A. y Dávila, G. (2009). *El Piñón Mexicano (Jatropha curcas L.) fuente de energía renovable*. Recuperado de

http://www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CB/EO/CBO-18.pdf (Julio, 2012)

30. MEER (Ministerio de Electricidad y Energías Renovables). (2012). *Proyecto Piñón*. Recuperado de http://www.meer.gob.ec/index.php?option=com_content&view=article&id=64&Itemid=209 (Mayo, 2012)

31. MRL (Ministerio de Relaciones Laborales). (2013). *Tabla de incremento y tarifas: Transformación de alimentos, rama: industrial aceites y grasas vegetales y animales*. Recuperado de http://www.relacioneslaborales.gob.ec/tablas-de-incremento-para-la-remuneracion-minima-sectorial-y-tarifas/ (Septiembre, 2013)

32. Normas TAPPI. Consultadas en el centro de información del Laboratorio de Pulpa y Papel del Departamento de Ciencias de los Alimentos y Biotecnología (DECAB) de la Escuela Politécnica Nacional.

33. NRI (Natural Resources Institute of the University of Greenwich). (1995). *Small Scale Vegetable Oil Extraction*. Recuperado de http://www.cd3wd.com/cd3wd_40/cd3wd/foodproc/nr18se/en/B981_5.HTM#B981_5_7 (Julio, 2012)

34. Olivo, A., Aguilar, C. y Montañez, Y. (2012). Uso del olote de maíz como sustrato microbiano para la obtención de xilanasas. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*. *4*(1). 1-6. Recuperado de www.postgradoeinvestigacion.uadec.mx/Documentos/AQM/AQM7/7 (Enero, 2013)

35. Pérez, F. (2006). Germinación y dormición de semillas. En Sánchez, A., Arroyo, M. y Navarro, R. (Ed.). *Material vegetal de reproducción: Manejo, conservación y tratamiento.* (pp. 177-200). Junta de Andalucía, España: Consejería de Medio Ambiente.

36. Perry, R., Green, D. y Maloney, J. (2001). *Manual del Ingeniero Químico.* (4ta. ed.). (Vol. 2). Madrid, España: McGraw-Hill.

37. Peters, M., Timmerhaus, K. y West, R. (2002). *Plant Design and Economics for Chemical Engineers.* (5ta. ed.). New York, United States: McGraw-Hill.

38. Pohjola, V. (1977). Dilute-Acid Hydrolysis of Cellulosic Materials I: Review on continuous processes. *Technical Research Centre of Finland: Material and Processing Technology*, *15*(1), 5-16.

39. Pohjola, V., Pulkkinen, M. y Perttilä, P. (1977). Dilute-Acid Hydrolysis of Cellulosic Materials III: Kinetics of a Lignocellulose Residue. *Technical Research Centre of Finland: Material and Processing Technology*, *17*(1), 5-12.

40. Proaño, O. (2008). *Propiedades y Procesamiento del Piñón para Biocombustibles*. Recuperado de http://www.epn.edu.ec/bio2008/Documentos/Oswaldo%20Proa%F1o%20-%20EPN.pdf (Marzo, 2012)

41. Rojas, V. (2008). *Diluyentes, bálsamos, trementinas legítimas, disolventes, barnices, resinas y ceras*. Recuperado de http://www.uchile.cl/cultura/grabadosvirtuales/apuntes/diluyentes.html#inicio (Diciembre, 2012)

42. Rudin, A. (1999). *The elements of polymer science and engineering*: *An Introductory Text and Reference for Engineers and Chemists*. (2da. ed).San Diego, Estados Unidos: Elsevier Science & Technology Books.

43. Sánchez, O. y Cardona, C. (2008). Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresource Technology*, *99*(1), 5270-5295. Recuperado de http://biotecnologia.ucaldas.edu.co/

publicaciones/Article-Trends%20in%20BT%20prdn%20of%20fuel%20EtOH%20from%20different%20feedst.pdf (Diciembre, 2012)

44. Sun, X. (2005). Plant Materials Formation and Growth. En Wool, R. y Sun, X. (Ed.). *Bio-Based Polymers and Composites.* (pp. 15-32). San Diego, Estados Unidos: Elsevier Science & Technology Books.

45. Taherzadeh, M. y Karimi, K. (2008). Pretreatment of lignocellulosic waste to improve ethanol and biogas production: a review. *Int. J. Mol. Sci, 9*(1), 1621-1651. doi: 10.3390/ijms9091621

46. Tomás, M. (2010). *Bioetanol de paja de trigo: estrategias de integración de las etapas del proceso*. (Disertación Doctoral no publicada). Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

47. Thiex, N., Manson, H., Anderson, Sh. y Persson, J. (2002). Determination of Crude Protein in Animal Feed, Forage, Grain, and Oilseeds by Using Block Digestion with a Copper Catalyst and Steam Distillation into Boric Acid: Collaborative Study. *Journal of AOAC International. 85*(2), 311-316.

48. Visser, E., Filho, D., Tótola, M., Martins, M. y Guimaraes, V. (2011). Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of *Jatropha curcas* shells: utilization of co-products from the biodiesel production process. *Bioprocess Biosystems Engineering, 35*(5), 801-807. doi: 10.1007/s00449-011-0662-4

49. Walas, S. (1987). Rules of Thumb Selecting and Designing Equipment. *Chemical Engineering,* 16(3), 75-81.

50. Wang, N. (2007). *Glucose Assay by Dinitrosalicylic Colorimetric Method*. Recuperado de http://terpconnect.umd.edu/~nsw/ench485/lab4a.htm (Diciembre, 2012)

51. Zeng, M., Mosier, N., Huang, C., Sherman D. y Ladisch M. (2007). Microscopic examination of changes of plant cell structure in corn stover due to hot water pretreatment and enzymatic hydrolysis. *Biotechnolo Bioeng. 97*(2), 265-278. Recuperado de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17163513 (Octubre, 2012)

# ANEXOS

# ANEXO I
# DATOS BIBLIOGRÁFICOS: DEGRADACIÓN DE LOS AZÚCARES REDUCTORES

## AI.1. INFLUENCIA DEL TIEMPO

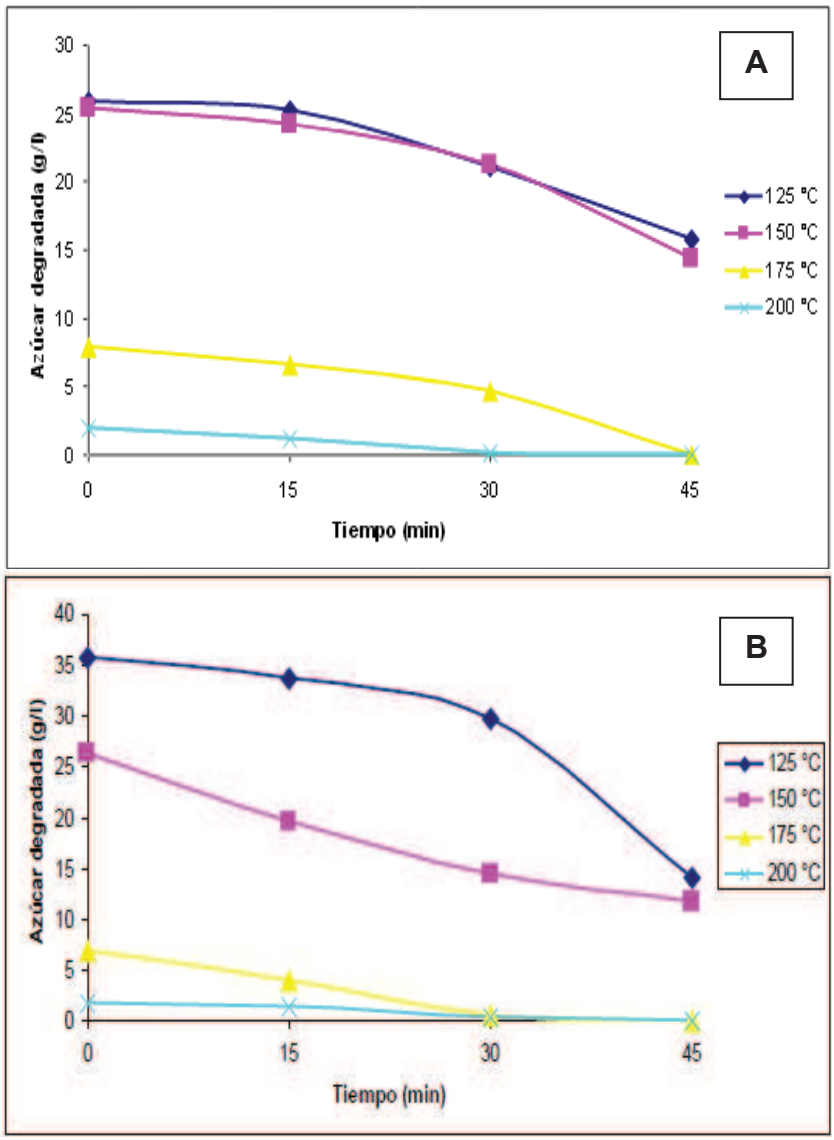



**Figura AI.1.** Efecto del tiempo de reacción en la concentración residual de glucosa (A), xilosa (B) y arabinosa (C) a diferentes temperaturas de reacción al 1 % de catalizador (Ahuja, 2011, p. 52, 54 y 55)

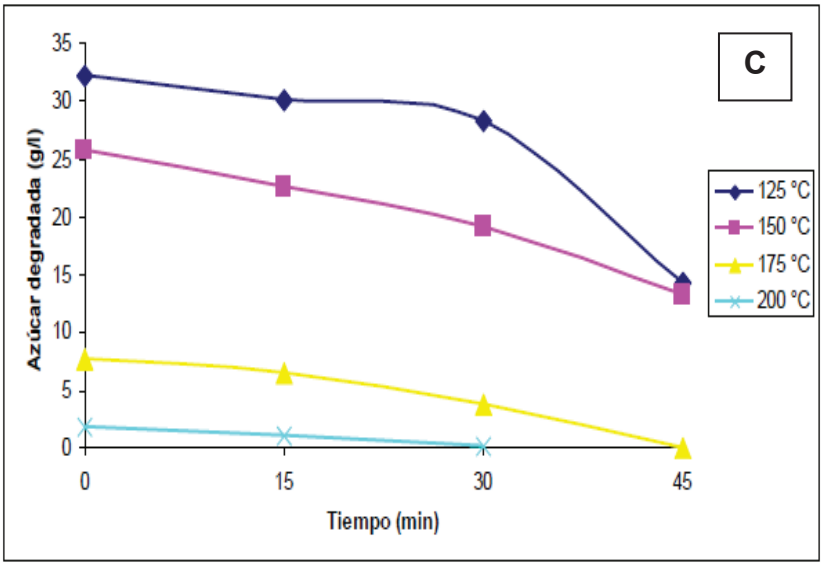



**Figura AI.1.** Efecto del tiempo de reacción en la concentración residual de glucosa (A), xilosa (B) y arabinosa (C) a diferentes temperaturas de reacción al 1 % de catalizador (continuación…)
(Ahuja, 2011, p. 52, 54 y 55)

## AI.2. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

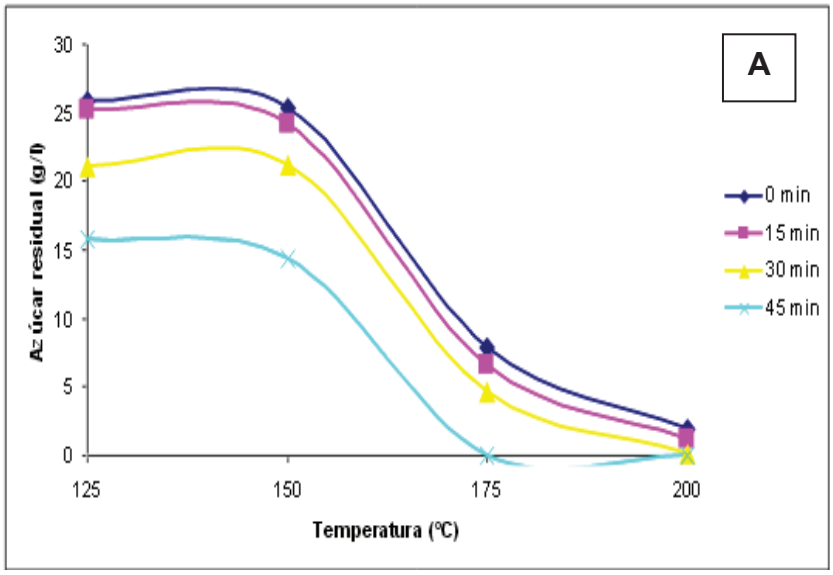



**Figura AI.2.** Efecto de la temperatura de reacción en la concentración residual de glucosa (A), xilosa (B) y arabinosa (C) a diferentes temperaturas de reacción al 1 % de catalizador
(Ahuja, 2011, p. 57, 58 y 59)

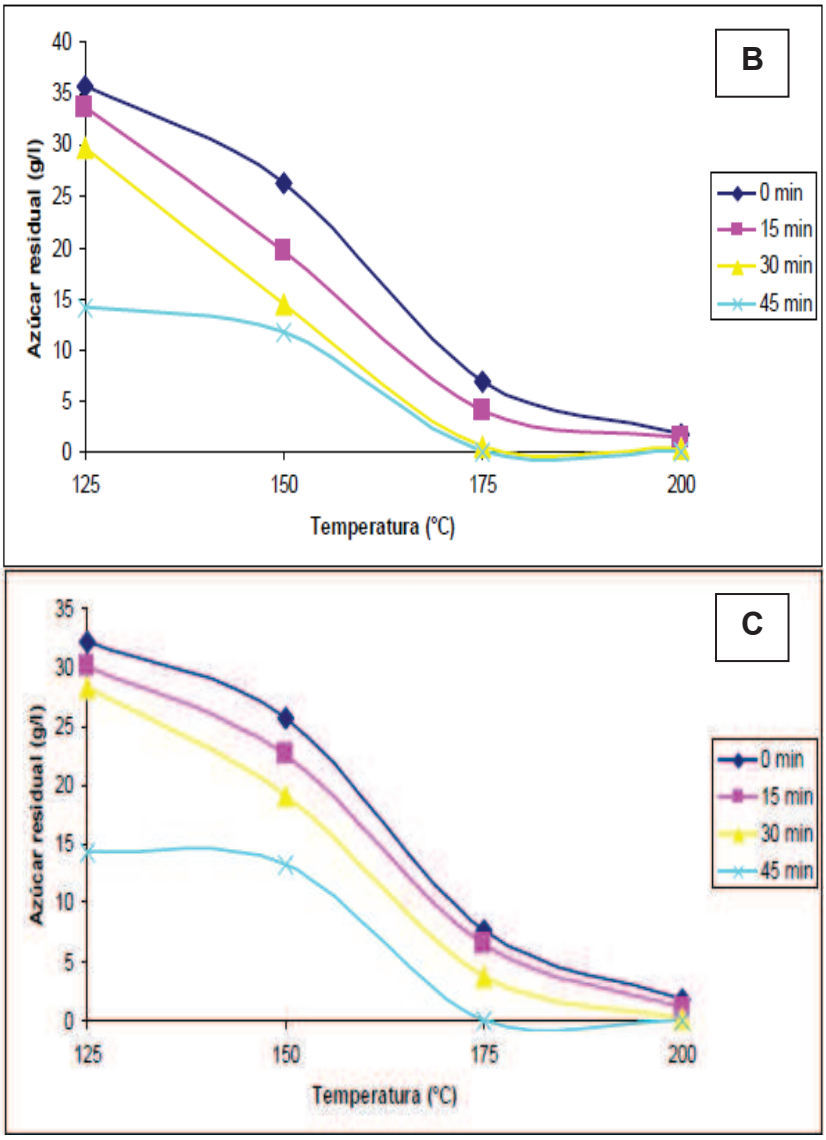



**Figura AI.2.** Efecto de la temperatura de reacción en la concentración residual de glucosa (A), xilosa (B) y arabinosa (C) a diferentes temperaturas de reacción al 1 % de catalizador (continuación…)

(Ahuja, 2011, p. 57, 58 y 59)

# ANEXO II
# EXTRACTO DE LAS NORMAS TAPPI

## AII.1. NORMA TAPPI T11 os-74: SAMPLING AND PREPARING WOOD FOR ANALYSIS

Se prepara una muestra representativa dentro del tamaño de malla 40 y 60, es decir de 0,40 a 0,25 mm de diámetro. Para ello, se requiere de un molino de cuchillas, un juego de tamices ASTM E-11 y un agitador eléctrico de tamices.

## AII.2. NORMA TAPPI T18 os-53: MOISTURE CONTENT OF PULPWOOD

Se prepara la muestra acorde a la Sección AII.1. Se requiere de una estufa y balanza digital analítica (0,0001 g).

Se pesa el crisol de 50 mL en la balanza analítica a temperatura ambiente, se somete a 105 ± 5 °C en una estufa hasta lograr peso constante y se registra como peso de crisol sin muestra.

Se pesa en el crisol 2 g de muestra a temperatura ambiente, se registra como peso inicial del crisol con muestra, y se somete a 105 ± 5 °C en una estufa por un período de al menos 2 horas hasta lograr peso constante, se registra como peso final del crisol con muestra.

El contenido de la humedad para la muestra *i* ($\%H_{mi}$) se calcula con la ecuación [AII.1].

$$\%H_{mi} = \left(\frac{P_{o(ci+m)} - P_{f(ci+m)}}{P_{omi}}\right) \times 100 \qquad \text{[AII.1]}$$

Donde:

$i$: secuencia de las repeticiones

$P_{o(ci+m)}$: peso inicial del crisol *i* con la muestra

$P_{f(ci+m)}$: peso final del crisol *i* con la muestra a peso constante, es decir cuando se alcanza ± 0,1 % del porcentaje de diferencia relativa, que se calcula con la ecuación [AV.3]

$P_{omi}$: peso inicial de la muestra, que se calcula con la ecuación [AII.2]

$$P_{omi} = P_{o(ci+m)} - P_{ci} \qquad \text{[AII.2]}$$

Donde:

$P_{ci}$: peso del crisol *i* sin muestra

Para calcular el contenido medio de humedad ($\%\overline{H}_m$) y su desviación estándar ($\sigma_{Hm}$) se utiliza las ecuaciones [AV.1] y [AV.2] respectivamente.

## AII.3. MODIFICACIÓN DE LA NORMA TAPPI T6 os-59: SOLUBILIDAD EN n-HEXANO

Se aplica el procedimiento de la norma TAPPI T6 os-59, que se muestra en la Sección AII.4, utilizando n-hexano como solvente.

El contenido del aceite para la muestra *i* ($\%A_{mi}$) se calcula con la ecuación [AII.3].

$$\%A_{mi} = \left(\frac{P_{f(bi+a)} - P_{obi}}{P_{omi\ bs}}\right) \times 100 \qquad \text{[AII.3]}$$

Donde:

$P_{f(bi+a)}$: peso final del balón *i* con el aceite extraído luego de evaporar el solvente

$P_{obi}$: peso inicial del balón *i*

$P_{omi\,bs}$: peso inicial de la muestra en base seca, que se calcula con la ecuación [AII.4]

$$P_{omi\,bs} = P_{omi} - \left(\frac{\%\bar{H}_m}{100} \times P_{omi}\right) \quad \text{[AII.4]}$$

Donde:

$P_{omi}$: peso inicial de la muestra, que se calcula con la ecuación [AII.2]

Para calcular el contenido medio del aceite ($\%\bar{A}_m$) y su desviación estándar ($\sigma_{Am}$) se utiliza las ecuaciones [AV.1] y [AV.2] respectivamente.

## AII.4. NORMA TAPPI T6 os-59: ALCOHOL-BENZENE SOLUBILITY OF WOOD

Se prepara la muestra acorde a la Sección AII.1 y se determina la humedad acorde a la Sección AII.2. Se requiere de un equipo Soxhlet y balanza digital (0,0001 g).

Se pesa 2 g de la muestra en el dedal de celulosa, se registra como peso inicial de muestra. Se pesa el balón de fondo plano de 250 mL vacío, se registra como peso inicial del balón *i*.

Se ensambla el balón al receptáculo, que contiene al dedal de celulosa, y al refrigerante del equipo Soxhlet. Se coloca en el balón 200 mL del solvente benceno/alcohol etílico en relación volumétrica 2:1. Se calienta a ebullición, durante 6 a 8 horas. Se evapora el solvente del balón hasta lograr peso constante a 105 ± 3 °C y se registra como peso final del balón con ceras y grasas extraídas.

El contenido de ceras y grasas para la muestra *i* ($\%CG_{mi}$) se calcula con la ecuación [AII.5].

$$\%CG_{mi} = \left(\frac{P_{f(bi+cg)} - P_{obi}}{P_{omi\ bs}}\right) \times 100 \qquad \text{[AII.5]}$$

Donde:

$P_{f(bi+cg)}$: peso final del balón *i* con las ceras y grasas extraídas luego de evaporar el solvente

$P_{obi}$: peso inicial del balón *i*

$P_{omi\ bs}$: peso inicial de la muestra en base seca, que se calcula con la ecuación [AII.4]

Para calcular el contenido medio de ceras y grasas ($\%\overline{CG}_m$) y su desviación estándar ($\sigma_{CGm}$) se utilizan las ecuaciones [AV.1] y [AV.2] respectivamente.

## AII.5. NORMA TAPPI T17 m-55: CELLULOSE IN WOOD

Se prepara la muestra acorde a la Sección AII.1, se determina la humedad acorde a la Sección AII.2 y se desengrasa acorde a la Sección AII.4. Se requiere de un baño maría, crisol filtrante de frita de vidrio de 50 mL, bomba de vacío y una balanza digital (0,0001 g).

Se pesan 2 g de muestra previamente desengrasada y se colocan en un Erlenmeyer con 50 mL de hipoclorito al 10 % y se deja por al menos 3 horas. Se prepara 50 mL de una solución de dióxido de azufre ($SO_2$) al 3 %w/w y 155 mL de una solución de sulfito de sodio ($Na_2SO_3$) al 2 %w/w, este último debe ser fresco.

Se filtra el contenido del Erlenmeyer en un crisol filtrante de 50 mL, previamente pesado y se registra como peso inicial.

Se lava con 50mL de la solución de dióxido de azufre, 50 mL de agua y 50 mL de la solución de sulfito de sodio. El contenido del crisol filtrante se pasa a un vaso de precipitación de 250 mL, se añade 105 mL de la solución de sulfito de sodio al

2 %w/w, se tapa con un vidrio de reloj y se deja en baño maría durante 30 minutos.

Se filtra el contenido del vaso de precipitación en el mismo crisol filtrante y se lava con 500 mL de agua caliente, cerca del punto de ebullición.

Finalmente, el crisol filtrante de seca en una estufa a 105 ± 3 °C hasta lograr el peso constante, se registra como peso final de crisol filtrante con la muestra.

El contenido de celulosa para la muestra *i* ($\%Cel_{mi}$) se calculó con la ecuación [AII.6].

$$\%Cel_{mi} = \left(\frac{P_{f(cfi+cel)} - P_{o(cfi)}}{P_{omi\ bs}}\right) \times 100 \qquad \text{[AII.6]}$$

Donde:

$P_{f(cfi+cel)}$: peso final del crisol filtrante *i* con celulosa

$P_{o(cfi)}$: peso inicial del crisol filtrante *i* sin la muestra

$P_{omi\ bs}$: peso inicial de la muestra en base seca, que se calcula con la ecuación [AII.7].

$$P_{omi\ bs} = \frac{P_{omi\ dg}}{1 - \frac{\%\overline{CG}_m}{100}} \qquad \text{[AII.7]}$$

Donde:

$P_{omi\ dg}$: peso inicial de la muestra desengrasada

Para calcular el contenido medio de celulosa ($\%\overline{Cel}_m$) y su desviación estándar ($\sigma_{Celm}$) se utilizan las ecuaciones [AV.1] y [AV.2] respectivamente.

## AII.6. NORMA TAPPI T450: PENTOSANS IN PAPER

Se prepara la muestra acorde a la Sección AII.1, se determina la humedad acorde a la Sección AII.2.

Se pesan aproximadamente 1 g de muestra, se calienta en 100 mL de ácido clorhídrico 3,5 N y se calienta. Cuando empieza a destilar se agregan en un embudo de separación 300 mL de ácido para compensar las pérdidas por evaporación. El destilado se debe recoger a un ritmo de 300 mL en 100 minutos.

Se agregan 50 mL de agua y 250 g de hielo picado al destilado, y cuando la temperatura es menor de 0 °C, se agregan 20 mL de la solución 0,2 N de bromuro-bromato y se agita bien la mezcla por 5 minutos en un frasco tapado.

Luego se agregan 10 mL de solución al 10 % de yoduro de potasio y se titula la mezcla con solución 0,1 N de tiosulfato de sodio con almidón como indicador. Se efectúa una prueba en blanco con una mezcla de 270 mL del ácido 3,5 N y 80 mL de agua.

El contenido de pentosanos para la muestra *i* ($\%Pnt_{mi}$) se calculó con la ecuación [AII.8].

$$\%Pnt_{mi} = \frac{7{,}5 \times N \times (v - v')}{W} - 1{,}0\ \% \qquad \text{[AII.8]}$$

Donde:

$N$: normalidad de la solución de tiosulfato

$W$: peso inicial de la muestra seca

$7{,}5$: es un factor para corregir la conversión incompleta de pentosanos en furfural bajo las condiciones citadas

$1{,}0$: es un factor para corregir la formación de hidroximetil furfural a partir de la celulosa en el caso de pulpa de madera

$v$: consumo de la solución de tiosulfato de sodio 0,1 N de la prueba en blanco

$v'$: consumo de la solución de tiosulfato de sodio 0,1 N del ensayo

Para calcular el contenido medio de pentosanos ($\%\overline{Pnt}_m$) y su desviación estándar ($\sigma_{Pntm}$) se utilizan las ecuaciones [AV.1] y [AV.2] respectivamente.

## AII.7. NORMA TAPPI T13 os-54: LIGNIN IN WOOD

Se prepara la muestra acorde a la Sección AII.1, se determina la humedad acorde a la Sección AII.2 y se desengrasa acorde a la Sección AII.4. Se requiere de un sistema de reflujo con plancha de calentamiento, crisol filtrante de frita de vidrio de 50 mL, bomba de vacío y una balanza digital (0,0001 g).

Se pesa 1 g de muestra previamente desengrasada, se registra como peso inicial de muestra desengrasada, se pone en un Erlenmeyer de 50 mL y 15 mL de ácido sulfúrico al 72 %w/w, se agita esporádicamente a 21 a 23 °C durante 2 horas.

El contenido del Erlenmeyer de pasa a un balón de 1000 mL con 560 mL de agua. Se mantiene en reflujo durante 4 horas.

Se filtra asistido con vacío el contenido del balón en el crisol filtrante previamente pesado, se registra como peso inicial del crisol sin muestra.

Se lava con 500 mL de agua caliente, cerca del punto de ebullición.

Finalmente, el crisol filtrante de seca en una estufa a 105 ± 3 °C hasta lograr el peso constante y se registra como peso final del crisol con muestra.

El contenido de lignina para la muestra *i* ($\%Lg_{mi}$) se calcula con la ecuación [AII.9].

$$\%Lg_{m\,i} = \left(\frac{P_{f(cfi+lg)} - P_{o(cfi)}}{P_{omi\,bs}}\right) \times 100 \qquad \text{[AII.9]}$$

Donde:

$P_{f(cfi+lg)}$: peso final del crisol filtrante *i* con lignina

$P_{o(cfi)}$: peso inicial del crisol filtrante *i* sin la muestra

$\mathrm{P_{omi\,bs}}$: peso inicial de la muestra en base seca, que se calcula con la ecuación [AII.7]

Para calcular el contenido medio de lignina ($\%\overline{Lg_m}$) y su desviación estándar ($\sigma_{Lgm}$) se utilizan las ecuaciones [AV.1] y [AV.2] respectivamente.

## AII.8. NORMA TAPPI T15 os-58: ASH IN WOOD

Se prepara la muestra acorde a la Sección AII.1 y se determina la humedad acorde a la Sección AII.2. Se requiere de una mufla, crisoles de cerámica de 50 mL y desecador.

Se pesa el crisol de 50 mL en la balanza analítica a temperatura ambiente y se somete a 575 ± 25 °C en la mufla hasta lograr peso constante y se registra como peso de crisol sin muestra. Luego, se pesan 2 g de muestra a temperatura ambiente y se registra como peso inicial del crisol con muestra y se somete a 575 ± 25 °C en una mufla por al menos 2 horas hasta peso constante y se registra como peso final de crisol con muestra.

El contenido de cenizas para la muestra *i* ($\%Cz_{mi}$) se calcula con la ecuación [AII.10].

$$\%Cz_{mi} = \left(\frac{P_{f(ci+cz)} - P_{o(ci)}}{P_{omi\,bs}}\right) \times 100 \qquad \text{[AII.10]}$$

Donde:

$P_{f(ci+cz)}$: peso final del crisol *i* con cenizas

$P_{o(ci)}$: peso inicial del crisol *i* sin la muestra

$P_{omi\ bs}$: peso inicial de la muestra en base seca, que se calcula con la ecuación [AII.4]

Para calcular el contenido medio de ceniza ($\%\overline{Cz}_m$) y su desviación estándar ($\sigma_{Czm}$) se utilizan las ecuaciones [AV.1] y [AV.2] respectivamente.

# ANEXO III

# EXTRACTO DE LA NORMA AOAC 2001.11

# DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA CRUDA EN ALIMENTO ANIMAL, FORRAJE, GRANOS Y SEMILLAS OLEAGINOSAS POR LA DIGESTIÓN CON CATALIZADOR DE COBRE Y DESTILACIÓN EN ÁCIDO BÓRICO

## (Thiex, N., Manson, H., Anderson, Sh. y Persson, J., 2002, pp. 311-316)

Se muele la muestra seca a 0,7 – 1 mm, el cual da una desviación estándar relativa (RSD) de ≤ 2,0 % para 10 determinaciones sucesivas de N en las muestras y se pesa aproximadamente 0,5 g de muestra, para materiales que tengan de un 25 – 50 % de proteína.

La digestión se realiza en un equipo Kjeldahl, a la muestra colocada en los balones se adiciona 2 tabletas de catalizador (3,5 g $K_2SO_4$ y 0,4 g $CuSO_4$ por tableta) y se añade 12 mL $H_2SO_4$ a cada tubo de digestión (250 mL) o 15 mL para materiales de contenido de grasas > 10%. La mezcla debe reposar toda la noche.

Si la mezcla hace espuma, lentamente adicione 3 mL de $H_2O_2$ del 30-50 %. Dejar que la reacción cese en ácido perclórico en una sorbona. El tiempo total de digestión es aproximadamente 1 hora. Se añaden 50 mL de una solución de NaOH al 40 % a cada uno de los balones de digestión y se procede a destilar.

En un Erlenmeyer de 500 mL se colocan 30 mL de la solución de ácido bórico (ver nota 1), y se adiciona el indicador. La destilación continúa hasta recoger ≥ 150 mL de destilado. Se titula el destilado con una solución 0,1 M HCl hasta el punto de viraje violeta.

El contenido de proteína para la muestra $i$ ($\%Pc_{mi}$) se calcula con la ecuación [AIII.1]

$$\%Pc_{m\,i} = \%\,Kjeldahl\,N\ \times F \qquad \text{[AIII.1]}$$

Donde:

$\%\,Kjeldahl\,N$: se calcula con la ecuación [AIII.2]

$F$: factor para convertir el nitrógeno en proteína, se toma 6,25

$$\%\,Kjeldahl\,N = \frac{(V_S - V_B) \times M \times 14{,}01}{W \times 10} \qquad \text{[AIII.2]}$$

Donde:

$V_S$: volumen molar del HCl usado para titular la prueba

$V_B$: volumen molar del HCl usado para titular el blanco

$M$: molaridad del HCl

$14{,}01$: peso atómico del nitrógeno

$W$: peso de la muestra *i*

$10$: factor para convertir a porcentaje de nitrógeno en la muestra

Para calcular el contenido medio de proteína ($\%\overline{Pc}_m$) y su desviación estándar ($\sigma_{Pcm}$) se utilizan las ecuaciones [AV.1] y [AV.2] respectivamente.

Nota 1:

La solución de ácido bórico 4 % (w/v) se prepara disolviendo 400 g de $H_3BO_3$ en 5 – 6 L de agua desionizada. Mezclar y añadir más agua hasta alcanzar un volumen sobre los 9 L. Se enfría a temperatura ambiente y se añaden 100 mL de la solución de verde de bromocresol (ver nota 2) y 70 mL de la solución del rojo de metilo (ver nota 2) y se diluye aun volumen final de 10 L.

Se ajusta para obtener un blanco positivo de 0,05 – 0,15 mL con 30 mL de la solución de $H_2BO_3$ usando 0,1 M NaOH (para incrementar) o 0,1 M de HCl (para reducir el blanco). Disponible comercialmente.

Nota 2:

La solución de indicador de verde de bromocresol se prepara con 100 mg de verde de bromocresol en 100 mL de metanol.

La solución de indicador de rojo de metilo se prepara con 100 mg de rojo de metilo en 100 mL de metanol.

# ANEXO IV
# EXTRACTO DEL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DEL ÁCIDO 3,5 DI NITRO SALICÍLICO (3,5 DNSA) PARA LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE AZÚCARES REDUCTORES
# (Wang, 2007)

Se prepara el reactivo DNS 1%, que consiste en:

- Ácido dinitrosalicílico: 10 g
- Fenol: 2 g (opcional, ver Nota 1)
- Sulfito de sodio: 0,5 g
- Hidróxido de sodio: 10 g
- Adicionar agua a: 1 L

Se adiciona 3 mL del reactivo DNS a 3 mL de muestra de glucosa en un tubo ligeramente tapado (para evitas pérdidas del líquido debido a la evaporación, cubrir el tubo de prueba con un pedazo de film de parafina si un tubo sin rosca es utilizado).

Se calienta la mezcla a 90 °C durante 5 – 15 minutos para desarrollar el color marrón.

Se adiciona 1 mL de una solución de tartrato de sodio y potasio al 40 % para estabilizar el color.

Luego enfriar a temperatura ambiente en un baño de agua fría y se registra la absorbancia con un espectrofotómetro UV-Visible a 575 nm.

Nota 1:

El fenol, a 2 g/L, intensifica la densidad del color. Esto cambia la pendiente de la

curva calibración de absorbancia versus la concentración de glucosa pero no afecta la linealidad.

El procedimiento antes mencionado en ausencia de fenol rinde una absorbancia de 1 por 1 g/L de glucosa en la muestra original en lugar de una absorbancia de 2,5 por 1 g/L de glucosa en 2 g/L de fenolen la solución de 3,5 DNSA al 1 %.

Esta propiedad puede ser aprovechada para alcanzar la máxima sensibilidad para muestras diluidas.

# ANEXO V
# MÉTODOS ESTADÍSTICOS PARA EL ANÁLISIS DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

## AV.1. DETERMINACIÓN DE LA MEDIA ARITMÉTICA $\bar{X}$

Para el cálculo de la media aritmética $\bar{X}$ para un grupo de datos se aplica la ecuación [AV.1].

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^{n} X_i}{n} \qquad \text{[AV.1]}$$

Donde:

$X_i$: dato medido
$n$: número de datos

## AV.2. DETERMINACIÓN DE LA DESVIACIÓN ESTÁNDAR (σ)

Para el cálculo de la desviación estándar ($\sigma$) para un grupo menor de 25 datos se aplica la ecuación [AV.2]:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \qquad \text{[AV.2]}$$

Donde:

$\sigma$: desviación estándar (σ)
$\bar{X}$: media
$X_i$: dato medido
$n$: número de datos

## AV.3. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE DIFERENCIA RELATIVA (RPD)

Para el cálculo del porcentaje de la diferencia relativa (RPD), por sus siglas en inglés, *Relative percentage difference*, entre dos datos se aplica la ecuación [AV.3]:

$$RPD = \left(\frac{X_1 - X_2}{X_{media}}\right) \times 100 \qquad \text{[AV.3]}$$

Donde:

$RPD$: Porcentaje de la diferencia relativa de datos tomados en diferente tiempo para verificar si se ha alcanzado el peso constante

$X_1$: Dato medido 1

$X_2$: Dato medido 2

$X_{media}$ : Promedio entre dato medido 1 y 2

## AV.4. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

### AV.4.1. Para un diseño experimental al azar de con un factor

El objetivo del análisis ANOVA es demostrar la hipótesis de igualdad de los tratamientos con respecto a la media de la correspondiente variable de respuesta (Gutiérrez y De la Vara, 2008, pp. 66-69):

Hipótesis nula: $H_o: \tau_1 = \tau_2 = \cdots = \tau_k = 0$

Hipótesis alternativa: $H_1: \tau_i \neq 0$ para algún *i*

Donde:

$\tau_i$: es el efecto del tratamiento *i* sobre la variable de respuesta

En la Tabla AV.1 y Tabla AV.2 se muestran los detalles del cálculo para el desarrollo y la tabla resumen del ANOVA de un factor para un diseño completamente al azar.

**Tabla AV.1.** Detalles de cálculos para el ANOVA de un diseño completamente al azar y de un factor

| **FACTOR** | **OPERACIONES BÁSICAS** |
|---|---|
| Observaciones<br>1 \| 2 \| 3 \| …k<br>$Y_{11}$ \| $Y_{12}$ \| \| $Y_{1j}$<br>$Y_{21}$ \| $Y_{22}$ \| $Y_{2j}$ \|<br>.. \| … \| .. \| $Y_{ij}$ | Suma de los cuadrados de todas las observaciones o datos<br>$\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{n} Y_{ij}^2$ |
| Total por tratamiento ($Y_{i.}$) | Suma de los datos<br>$Y_{..} = \sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{n} Y_{ij}$ |
| Número de datos en cada tratamiento ($n_i$) | Total de las mediciones<br>$N = \sum_{i=1}^{n} n_i$ |
| Media muestral por tratamiento ($\bar{Y}_{i.}$) | Media global<br>$\bar{Y}_{..} = \frac{Y_{...}}{N}$ |
| Desviación respecto a la media global ($\hat{\tau}_i$) | Efecto estimado del método *i*<br>$\hat{\tau}_i = \bar{Y}_{i.} - \bar{Y}_{..}$ |

**Tabla AV.2.** Detalles de la tabla de ANOVA de un diseño completamente al azar y de un factor

| **Factor de varianza (FV)** | **Suma de cuadrados (SC)** | **Grados de libertad (GL)** | **Cuadrados medios (CM)** | **Estadístico F** | **F (0,05%, k-1,n-K)** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Tratamientos** | $SC_{TRAT} = \sum_{i=1}^{k} \frac{\bar{Y}_{i.}^{\,2}}{n_i} - \frac{\bar{Y}_{..}^{\,2}}{N}$ | k-1 | $CM_{TRAT} = \frac{SC_{TRAT}}{k-1}$ | $F = \frac{SC_{TRAT}}{CM_E}$ | |
| **Error** | $SC_E = SC_T - SC_{tRAT}$ | N-k | $CM_E = \frac{SC_E}{N-k}$ | | |
| **Total** | $SC_T = \sum_{i=1}^{k}\sum_{j=1}^{n} Y_{ij}^2 - \frac{\bar{Y}_{..}^{\,2}}{N}$ | N-1 | | | |

### AV.4.2. Para un diseño experimental al azar de dos factores

El objetivo del análisis ANOVA es demostrar la hipótesis de igualdad de los tratamientos con respecto a la media de la correspondiente variable de respuesta (Gutiérrez y De la Vara, 2008, pp. 134-142):

Hipótesis nula: $H_o: \alpha_i = \beta_j = (\alpha\beta)_{ij} = 0$

Hipótesis alternativa: $H_1: \alpha_i \neq 0$ para algún *i*

$H_1: \beta_j \neq 0$ para algún *j*

$H_1: (\alpha\beta)_{ij} \neq 0$ para algún *ij*

Donde:

$\alpha_i$: efecto debido al *i*-ésimo nivel del factor A

$\beta_j$: efecto debido al *j*-ésimo nivel del factor B

$(\alpha\beta)_{ij}$: efecto debido a la interacción de la combinación *ij*

En la Tabla AV.3 y Tabla AV.4, se muestra los detalles del cálculo para el desarrollo y la tabla resumen del ANOVA de dos factores para un diseño completamente al azar.

**Tabla AV.3.** Detalles de cálculos para el ANOVA de un diseño completamente al azar y de dos factores

| **FACTORES A Y B** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Observaciones | | | | |
| n | B1 | B2 | B*j* | Suma Total por factor A ($Y_{i..}$) |
| A1 | $\bar{Y}_{11}$ | $\bar{Y}_{12}$ | $\bar{Y}_{1j}$ | |
| A2 | $\bar{Y}_{21}$ | $\bar{Y}_{22}$ | $\bar{Y}_{2j}$ | |
| A*i* | … | .. | $\bar{Y}_{ij}$ | |
| Suma Total por factor B ($Y_{.j.}$) | | | | Media global $\bar{Y}_{...} = \frac{Y_{...}}{N}$ |

**Tabla AV.4.** Detalles de la tabla de ANOVA de un diseño completamente al azar y de dos factores

| Factor de varianza (FV) | Suma de cuadrados (SC) | Grados de libertad (GL) | Cuadrados medios (CM) | Estadístico F | F (0,05%, k-1,n-K) |
|---|---|---|---|---|---|
| **Factor (A)** | $SC_A = \sum_{i=1}^{a} \frac{Y_{i..}{}^2}{b \times n} - \frac{Y_{...}{}^2}{N}$ | a-1 | $CM_A = \frac{SC_A}{a-1}$ | $F = \frac{SC_A}{CM_E}$ | |
| **Factor (B)** | $SC_A = \sum_{j=1}^{b} \frac{Y_{.j.}{}^2}{a \times n} - \frac{Y_{...}{}^2}{N}$ | b-1 | $CM_B = \frac{SC_B}{b-1}$ | $F = \frac{SC_B}{CM_E}$ | |
| **Interacción (AB)** | $SC_{AB} = \sum_{j=1}^{b} \frac{Y_{ij.}{}^2}{n} - \frac{Y_{...}{}^2}{N} - SC_A - SC_B$ | (a-1)( b-1) | $CM_{AB} = \frac{SC_{AB}}{(a-1) \times (b-1)}$ | $F = \frac{SC_{AB}}{CM_E}$ | |
| **Error** | $SC_E = SC_T - SC_A - SC_B - SC_{AB}$ | a × b× (n-1) | $CM_E = \frac{SC_E}{\mathrm{a} \times \mathrm{b} \times (\mathrm{n}-1)}$ | | |
| **Total** | $SC_T = \sum_{i=1}^{a} \sum_{j=1}^{b} \sum_{k=1}^{n} Y_{ijk}{}^2 - \frac{\bar{Y}_{...}{}^2}{N}$ | a × b× n-1 | | | |

a: niveles del factor A
b: niveles del factor B

## AV.5. MÉTODO LSD (*Less significant difference* o diferencia mínima significativa)

### AV.5.1. Para un diseño experimental al azar de con un factor

Una vez que se rechaza la hipótesis nula en el ANOVA, se calcula la diferencia absoluta de las medias muestrales $|\bar{Y}_{i.} - \bar{Y}_{j.}|$, se dice que es significante un par de datos si cumplen con la ecuación [AV.4] (Gutiérrez y De la Vara, 2008, pp. 74-76):

$$|\bar{Y}_{i.} - \bar{Y}_{j.}| > t_{(\alpha/2),N-k} \times \sqrt{CM_E \times \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j}\right)} = LSD \qquad \text{[AV.4]}$$

Y para la construcción de las graficas de la media obtenida por el método LSD se obtiene con la ecuación [AV.5]:

$$\bar{Y}_{i.} \pm t_{(\alpha/2),N-k} \times \sqrt{\frac{CM_E}{n_i}} \qquad \text{[AV.5]}$$

Donde:

$\bar{Y}_{i.}$: media muestral de las observaciones del *i*-ésimo tratamiento

$\bar{Y}_{j.}$: media muestral de las observaciones del *j*-ésimo tratamiento

$\alpha$ : probabilidad de la distribución del 95 %

$n_i$: número de observaciones del *i*-ésimo tratamiento

$CM_E$: cuadrado medio del error

### AV.5.2. Para un diseño experimental al azar de con dos factores

Para hacer comparaciones múltiples de medias de un factor, tomando en cuenta el efecto de interacción, se realizan de manera separada en cada nivel del otro factor. Se calcula la diferencia absoluta de las medias muestrales $\left|\bar{Y}_{B1(A1)} - \bar{Y}_{B1(A2)}\right|$, se dice que es significante un par de datos si cumple con la ecuación [AV.6] (Gutiérrez y De la Vara, 2008, pp. 140-142):

$$\left|\bar{Y}_{B1(A1)} - \bar{Y}_{B1(A2)}\right| > t_{(\alpha/2),\ \mathrm{a\times b\times (n-1)}} \times \sqrt{CM_E \times \left(\frac{2}{n}\right)} = LSD \qquad \text{[AV.6]}$$

Donde:

$n$: número de replicas de los tratamientos a comparar

Y para la construcción de las graficas de la media obtenida por el método LSD se obtiene con la ecuación [AV.7]:

$$\bar{Y}_{ij.} \pm t_{(\alpha/2),\mathrm{a\times b\times (n-1)}} \times \sqrt{\frac{CM_E}{n}} \qquad \text{[AV.7]}$$

# ANEXO VI
# PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN GRANULOMÉTRICA

A continuación se detallan las ecuaciones que se emplearon para el cálculo de la distribución granulométrica de la muestra para su caracterización:

$$M_T = \sum P_{fi} - \sum P_{oi} \qquad \text{[AVI.1]}$$

Donde:

$M_T$: peso de la muestra corregida total

$i$: secuencia de los tamices empleados, *i* ≥ 1

$P_{fi}$: peso del tamiz *i* con la respectiva muestra retenida

$P_{oi}$: peso del tamiz *i* sin muestra

$$\%R_i = \frac{P_{fi} - P_{oi}}{M_T} \times 100 \qquad \text{[AVI.2]}$$

Donde:

$\%R_i$: porcentaje de retención en cada tamiz *i*

$$\%RA_i = \sum_{i=1}^{i=n} \%R_i \qquad \text{[AVI.3]}$$

Donde:

$\%RA_i$: porcentaje de retención acumulada en cada tamiz *i*

$n$: ordenamiento de la serie de tamices empleados, empezando con el tamiz 1, de mayor diámetro de poro acorde a la Tabla AVI.1.

**Tabla AVI.1.** Tamaño de poro acorde al número de tamiz ASTM E-11

| TAMIZ ASTM E - 11* (#) | TAMAÑO DE PORO (mm) |
|---|---|
| 8 | 2,36 |
| 20 | 0,850 |
| 40 | 0,425 |
| 60 | 0,250 |
| 80 | 0,180 |

*(Especificación estándar Norteamericana de tamices de prueba ASTM E-11)

# ANEXO VII
# PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN FÍSICA DEL ACEITE

A continuación se detallan las ecuaciones que se emplearon para el cálculo:

$$\%\eta_{Aceite} = \frac{M_{A\,e}}{M_{A\,s}} \times 100 \qquad \text{[AVII.1]}$$

Donde:

$\%\eta_{Aceite}$: rendimiento del aceite extraído

$M_{A\,s}$: masa del aceite en la semilla silvestre con cáscara, que se calcula con la ecuación [AVII.2].

$M_{A\,e}$: masa del aceite extraído con el expeller SARE, que se estima con la ecuación [AVII.3].

$$M_{A\,s} = P_{os\,bs} \times \frac{\%\bar{A}_s}{100} \qquad \text{[AVII.2]}$$

Donde:

$P_{os\,bs}$: peso inicial de la semilla en base seca, que se calcula con la ecuación [AII.4].

$\%\bar{A}_s$: contenido medio del aceite en la semilla.

$$M_{A\,e} = P_{os\,bs} \times \frac{(\%\bar{A}_s - \%\bar{A}_{SARE})}{(100 - \%\bar{A}_{SARE})} \qquad \text{[AVII.3]}$$

Donde:

$\%\bar{A}_{SARE}$: contenido medio del aceite en el residuo resultante de la extracción con el expeller SARE en base seca, determinado en la Sección 2.2.2.

# ANEXO VIII
# PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN DE PROTEÍNA CRUDA

A continuación se detallan las ecuaciones que se emplearon para el cálculo:

$$\%\eta_{Proteína\ cruda} = \frac{M_{Pc\ e}}{M_{Pc\ o}} \times 100 \qquad \text{[AVIII.1]}$$

Donde:

$\%\eta_{Proteína\ cruda}$: rendimiento de la extracción de proteína cruda

$M_{Pc\ o}$: masa de proteína cruda en el residuo desengrasado, que se calcula con la ecuación [AVIII.2].

$M_{Pc\ e}$: masa de proteína cruda extraída, que se estima con la ecuación [AVIII.3].

$$M_{Pc\ o} = P_{or\ dg\ bs} \times \frac{\%\overline{Pc}_{r\ dg}}{100} \qquad \text{[AVIII.2]}$$

Donde:

$P_{or\ dg\ bs}$: peso inicial del residuo desengrasado en base seca.

$\%\overline{Pc}_{r\ dg}$: contenido medio de proteína cruda en el residuo desengrasado

$$M_{Pc\ e} = M_{Pc\ o} - M_{Pc\ r} \qquad \text{[AVIII.3]}$$

Donde:

$M_{Pc\ r}$: masa de proteína cruda residual, que se calcula con la ecuación [AVIII.4]

$$M_{Pc\,r} = P_{or\,dg\,bs} \times \left( \frac{a - b \times \frac{\%\overline{Pc}_{r\,dg}}{100}}{(c - b)} \right) \qquad \text{[AVIII.4]}$$

$$a = \left( \frac{100 - \%\overline{Pc}_{r\,dg}}{100} \right)$$

$$b = \left( \frac{100 - \%Pc_e}{\%Pc_e} \right)$$

$$c = \left( \frac{100 - \%\overline{Pc}_r}{\%\overline{Pc}_r} \right)$$

Donde:

$\%Pc_e$ *:* contenido de proteína cruda en el pellet, acorde a Makkar et al. (2008, p. 1543) corresponde a 82 %

$\%\overline{Pc}_r$ *:* contenido de proteína cruda residual, residuo final