

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, MANAGUA
RECINTO UNIVERSITARIO “RUBÉN DARÍO”
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN
QUÍMICA INDUSTRIAL



TÍTULO: OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE LA CORONTA (OLOTE) DEL MAÍZ VARIEDAD HS-5, POR EL MÉTODO DE HIDRÓLISIS ÁCIDA DILUIDA - FERMENTACIÓN SEPARADA, LABORATORIOS DE QUÍMICA UNAN-MANAGUA, I-II SEMESTRE 2015

Autoras:

Bra. Kiara Yanibeth Montiel Centeno

Bra. Leticia del Carmen Romero Castro

Tutor:

PhD. Danilo López Valerio

Asesora Metodológica:

MSc. María Nathalia Gutiérrez Arias

Managua, Diciembre 2015

ÍNDICE

DEDICATORIAS	i
AGRADECIMIENTOS	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
OPINIÓN DEL TUTOR Y ASESOR METODOLÓGICO	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
CAÍTULO I: ASPECTOS GENERALES	
1.1 Introducción	1
1.2 Objetivos	2
1.2.1 Objetivo general	2
1.2.2 Objetivos específicos	2
1.3 Planteamiento del problema	3
1.4 Justificación	4
1.5 Antecedentes	5
CAPÍTULO II: MARCO DE REFERENCIA	
2. MARCO DE REFERENCIA	
2.1 Origen	7
2.2 Generalidades de la planta del maíz (<i>Zea Mays, L</i>)	8
2.3 Producción de maíz en ciclo agrícola 2014/15	8
2.3.1 Producción mundial en el ciclo agrícola 2014/15	8
2.3.2 Producción de Centroamérica en el ciclo agrícola 2014/15	9
2.3.3 Producción de maíz en Nicaragua, ciclo agrícola 2014/15	9
2.4 Generalidades de la variedad de maíz HS-5	10
2.4.1 Factores edafoclimáticos para el cultivo de maíz variedad HS-5	10
2.4.2 Métodos de siembra	11
2.4.3 Crecimiento y fases de desarrollo	11
2.4.4 Descripción botánica	12
2.4.4.1 Taxonomía	12

2.4.4.2 Morfología	13
2.4.5 Requerimientos nutricionales del maíz	16
2.4.6 Malezas que afectan el cultivo de maíz	17
2.4.7 Insectos y plagas	17
2.4.8 Enfermedades	18
2.4.9 Cosecha	18
2.5 Residuos agroindustriales generados en la post- cosecha del maíz	19
2.6 Estructura y composición química del olote del maíz	20
2.6.1 Componentes del material lignocelulósico del olote del maíz	21
2.6.1.1 Componentes estructurales	21
2.6.1.2 Componentes secundarios	25
2.7 Bioetanol	26
2.7.1 Clasificación de acuerdo al tipo de materia prima	27
2.7.2 Producción mundial de bioetanol	27
2.7.3 Proceso para la obtención de bioetanol	29
2.7.3.1 Reducción del tamaño	30
2.7.3.2 Pretratamiento	30
2.7.3.2.1 Pretratamientos físicos	31
2.7.3.2.1.1 Pretratamiento mecánico	31
2.7.3.2.1.2 Pretratamiento térmico	31
2.7.3.2.2 Pretratamientos físico-químicos	32
2.7.3.2.3 Pretratamiento químico	33
2.7.3.2.4 Pretratamientos biológicos	34
2.7.4 Hidrólisis ácida	35
2.7.5 Fermentación	39
2.7.5.1 Mecanismo de fermentación	42
2.7.5.2 Microorganismos relacionados con la producción de bioetanol	43
2.7.5.2.1 Levaduras	44
2.7.5.2.1.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	46
2.7.5.2.1.2 <i>Pichia stipitis</i>	47

2.7.5.3 Factores que afectan el desempeño de los microorganismos en la producción de bioetanol	47
2.7.6 Características físico-químicas del bioetanol	49
2.7.7 Usos y aplicaciones del etanol lignocelulósico	49
2.7.7.1 Combustible	50
2.7.7.2 Uso industrial	51
2.7.7.3 Industria de bebidas	51
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS	
Hipótesis	53
CAPÍTULO IV: DISEÑO METODOLÓGICO	
4. DISEÑO METODOLÓGICO	53
4.1 Descripción del ámbito de estudio	53
4.2 Tipo de estudio	53
4.3 Población y muestra	54
4.3.1 Población	54
4.3.2 Muestra	54
4.3.2.1 Criterios de Inclusión	55
4.3.2.2 Criterios de exclusión	55
4.4 Variables y operacionalización	55
4.4.1 Variables independientes	55
4.4.2 Variables dependientes	55
4.4.3 Operacionalización de las variables	56
4.5 Material y método	58
4.5.1 Materiales para recolectar información	58
4.5.2 Materiales para procesar la información	59
4.5.3 Método	60
CAPÍTULO V: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	
5. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	70
5.1 Caracterización fisicoquímica de la coronta del maíz Variedad HS-5	70
5.2 Variables operacionales	72
5.2.1 Hidrólisis ácida diluida	72

5.2.2	Fermentación separada	74
5.2.3	Análisis del proceso general	77
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES		80
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES		81
BIBLIOGRAFÍA		82

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Zonificación ecológica del cultivo del maíz	1
Anexo 2	Características agronómicas de variedades de maíz recomendados en Nicaragua	2
Anexo 3	Métodos de siembra en Nicaragua	3
Anexo 4	Morfología de la planta de maíz	5
Anexo 5	Requerimientos nutricionales del maíz	7
Anexo 6	Principales malezas que afectan el cultivo del maíz	9
Anexo 7	Plagas y enfermedades que atacan el cultivo del maíz	13
Anexo 8	Enfermedades que afectan el cultivo del maíz HS-5	16
Anexo 9	Características que debe presentar la mazorca para la recolección mecanizada	18
Anexo 10	Estructura y composición química del material lignocelulósico	22
Anexo 11	Características del etanol de primera y segunda generación	26
Anexo 12	Ventajas y desventajas de los diferentes tipos de pretratamiento para materiales lignocelulósicos	27
Anexo 13	Métodos físicos y químicos para la detoxificación de sustancias inhibidoras	32
Anexo 14	Ruta metabólica de la producción de etanol en <i>S. Cerevisiae</i>	34
Anexo 15	Entrevista realizada a productores de finca Montiel	35
Anexo 16	Sistema de muestreo	38
Anexo 17	Método Taguchi	42
Anexo 18	Método de análisis para la caracterización físico química de coronta de maíz	43
Anexo 19	Cuantificación de azúcares reductores totales según el método Miller ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS)	54
Anexo 19.1	Cuantificación de la concentración de azúcares reductores totales en las muestras hidrolizadas	71
Anexo 20	Proceso de obtención de bioetanol a escala de laboratorio	76

Anexo 21	Usos de la lignina	78
Anexo 22	Resultados de los análisis en la caracterización físico química de la coronta de maíz variedad HS-5	80
Anexo 23	Variables operacionales	83
Anexo 23.1	Resultados del análisis del porcentaje de alcohol mediante análisis cromatográfico	94
Anexo 24	Glosario	120

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1	Estructura de la coronta de maíz	15
Figura 2.2	Alcoholes cinamílicos	24
Figura 2.3	Fermentación alcohólica	42
Figura 2.4	Las tensiones medioambientales potenciales en la <i>S. cerevisiae</i> durante la fermentación para producir etanol	45
Flujograma 4.1	Proceso de obtención de Bioetanol a partir de la coronta de maíz variedad HS-5	68

FIGURAS DE ANEXOS

Figura 4.1	Morfología de la planta de maíz	5
Figura 4.2	Hojas de la planta de maíz	6
Figura 4.3	Pedúnculo de maíz	6
Figura 4.4	Bráctea o tuza de maíz	6
Figura 4.5	Coronta (olote)	6
Figura 4.6	Granos de maíz	6
Figura 9.2.1	Recolección del maíz después de separarlo de la planta	19
Figura 9.2.2	Residuos de maíz que quedan en el campo después de la recolección de la mazorca	19
Figura 9.2.3	Extracción manual de la tuza	19
Figura 9.2.4	Extracción manual del grano de maíz	20
Figura 9.2.5	Residuo agroindustrial (olote) que es generado después de la extracción manual del grano de maíz	20
Figura 9.2.6	Extracción mecánica del maíz	21
Figura 9.2.7	Residuos generados (tuza y olote) en la extracción mecánica	21
Figura 10.1.1	Vista general de la estructura y composición química de la biomasa	22
Figura 10.1.2	Estructura primaria de la celulosa	22

Figura 10.1.3	Unidad de celulosa mostrando los grupos más voluminosos en posición ecuatorial y los hidrógenos en la axial	23
Figura 10.1.4	Fibrilla elemental o micela	23
Figura 10.1.5	Estructura de una microfibrilla	23
Figura 10.1.6	Representaciones de Hawort de las principales hexosas presentes en la hemicelulosa	24
Figura 10.1.7	Representaciones de Hawort de las principales pentosas presentes en la hemicelulosa	24
Figura 10.1.8	Representaciones de Hawort de las principales pentosas presentes en la hemicelulosa	24
Figura 10.1.9	Subestructuras de la lignina donde muestran enlaces tipo éter β -O-4 y formas condensadas	25
Figura 14.1	Ruta metabólica de la producción de etanol en <i>S. cerevisiae</i>	34
Figura 16.2.1	Tipo de envase y material anexo	41
Figura 16.2.2	Selección y recolección de la coronta	41
Figura 16.2.3	Recolección final	41
Figura 18.1	Muestras de coronta en desecación para determinar humedad	43
Figura 18.2	Cenizas de coronta	44
Figura 18.3.1	Sistema de reflujo para extracción de la muestra líquida	45
Figura 18.3.2	Medición de pH	45
Figura 18.4.1	Etapa inicial de la extracción Soxhlet ½ h	47
Figura 18.4.2	Etapa Final de la extracción con Soxhlet 5 h	47
Figura 18.4.3	Sistema de filtración al vacío	47
Figura 18.4.4	Secado de las muestras a Temperatura ambiente	47
Figura 18.5	Cenizas sin extractivos	48
Figura 18.6.1	Extracción a reflujo	50
Figura 18.6.2	Celulosa húmeda	50
Figura 18.6.3	Celulosa seca	50

Figura 18.7.1	Extracción a reflujo con H ₂ SO ₄	51
Figura 18.7.2	Reposo durante 12 h	51
Figura 18.7.3	Filtración en Gooch	53
Figura 18.7.4	Lignina seca	53
Figura 19.1	Reactivo DNS	56
Figura 19.2	Solución Stock de Glucosa [1g/L]	56
Flujograma 19.1	Preparación de las soluciones para la curva de calibrado	57
Flujograma 19.1.1	Procedimiento para la cuantificación de la concentración de los azúcares reductores totales en las muestras hidrolizadas	71
Flujograma 20.1	Proceso de obtención de bioetanol a escala de laboratorio	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1	Principales países productores de Maíz a nivel mundial en el ciclo agrícola 2014/15	8
Tabla 2.2	Producción de maíz en Centroamérica en el ciclo agrícola 2014/15	9
Tabla 2.3	Producción de maíz en Nicaragua, ciclo agrícola 2014/15	9
Tabla 2.4	Taxonomía de la planta de maíz	12
Tabla 2.5	Elementos nutritivos necesarios para el maíz	16
Tabla 2.6	Enlaces aromáticos en las cadenas poliméricas de la lignina	25
Tabla 2.7	Datos de investigaciones realizadas sobre componentes principales de la estructura de la coronta de maíz	26
Tabla 2.8	Porcentajes de Azúcares Reductores en coronta de maíz	36
Tabla 2.9	Comparación de las propiedades físico-químicas del bioetanol y la gasolina	49
Tabla 4.1	Diseño de experimento (Método Taguchi)	61
Tabla 4.2	Valores de las Variables operacionales con niveles alto y bajo	61
Tabla 5.1	Caracterización físico-química de materia prima coronta de maíz variedad HS-5	72
Tabla 5.2	Porcentajes de Azúcares Reductores Totales	74
Tabla 5.3	Porcentajes de conversión de azúcares reductores totales y rendimiento de bioetanol	77
Tabla 5.4	Porcentaje de rendimiento y conversión para el proceso global	79

TABLAS DE ANEXO

Tabla 1.1	Zonificación ecológica del cultivo del maíz (<i>Zea Mays</i> L)	1
Tabla 2.1	Características agronómicas de variedades de maíz recomendados en Nicaragua	2
Tabla 6.1	Principales malezas que afectan el cultivo de maíz	9

Tabla 6.2	Control químico de malezas en el cultivo de maíz	11
Tabla 7.1	Plagas del suelo que afectan el cultivo de maíz	13
Tabla 11.1	Características del etanol de primera y segunda generación	26
Tabla 12.1	Ventajas y desventajas de los diferentes tipos de pretratamiento para materiales lignocelulósicos	27
Tabla 12.2	Tipos de inhibidores y sus efectos sobre el proceso	31
Tabla 13.1	Métodos físicos y químicos para la detoxificación de sustancias inhibitoras	32
Tabla 16.1	Ficha Informativa de las etiquetas en las muestras	39
Tabla 19.1	Volúmenes y concentraciones para la curva de calibración	56
Tabla 19.2	Longitud de onda en rango 588.0 a 413.0 nm con sus respectivas absorbancias	60
Tabla 19.3	Datos espectroscópicos usados para construir la curva de calibración	63
Tabla 19.4	Datos estadísticos usados para la determinación de las incertidumbres asociadas a la recta de calibración con Ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) para la Glucosa	65 70
Tabla 19.5	Distribución <i>t</i> de Student	
Tabla 19.1.1	Resultados de las lecturas para los ocho experimentos	72
Tabla 19.1.2	Error en las concentraciones para los 8 Experimentos	75
Tabla 22.1.1	Porcentaje de humedad	80
Tabla 22.1.2	Porcentaje de Cenizas con extractivos	80
Tabla 22.1.3	pH	80
Tabla 22.1.4	Extractivos Totales	81
Tabla 22.1.5	Porcentaje de Cenizas sin extractivos	81
Tabla 22.1.6	Porcentaje de Celulosa	81
Tabla 22.1.7	Porcentaje de Lignina	82
Tabla 22.1.8	Porcentaje de Hemicelulosa	82
Tabla 23.1	Datos experimentales en el proceso de Hidrólisis ácida diluida y fermentación separada	84
Tabla 23.2	Diseño de experimento Taguchi	86

Tabla 23.3	Totales de los factores y sus niveles	87
Tabla 23.4	Análisis de varianza (ANOVA)	88
Tabla 23.5	Análisis de varianza para los factores significantes en la variable respuesta	90
Tabla 23.6	Promedio del nivel 1 y 2 en cada factor	91
Tabla 23.7	Efecto de cada factor significativo	92
Tabla 23.8	Variables respuestas con su valor promedio estimado	93

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfico 2.1	Desarrollo del mercado mundial de etanol	28
Gráfico 2.2	Distribución regional de la producción y el uso mundial de bioetanol en 2022.	28
Gráfica 5.1	Efecto de los factores sobre el porcentaje de los azúcares reductores	75
Gráfica 5.2	Efectos de los factores sobre el porcentaje de conversión de los azúcares reductores en Bioetanol	78
Gráfica 5.3	Efecto de los factores sobre el porcentaje de conversión en el proceso global	80
Gráfica 5.4	Efecto de los factores sobre el porcentaje de Rendimiento en el proceso global	80
Gráfica 19.1	Curva de Absorbancia para definir la longitud de onda de trabajo	63
Gráfica 19.2	Curva de Calibración de la glucosa	64

ÍNDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama 2.1	Producción de Bioetanol a partir de biomasa	29
Diagrama 4.1	Diagrama de equipos para la obtención de bioetanol a partir de la coronta de maíz	69

ABREVIATURAS

ACS: Grado reactivo analítico

ADP: Adenosin difosfato

AFEX: Explosión de fibra con amoníaco

AGROMER: Agropecuaria Mercantel S.A. Es una empresa fundada en 2005. Joven, dinámica y profesional dedicada a la asistencia y ejecución de una amplia variedad de servicios agrícolas.

ANOVA: Análisis de varianza

ATP: Adenosin trifosfato

CA: Concentración de ácido

CO: Monóxido de carbono

CO₂: Dióxido de carbono

DEKALB: Es un programa que proporciona al agricultor semilla de maíz híbrido para la producción.

DNS: Ácido 3,5-dinitrosalicílico

EF: Efecto

EFMC: Efecto en masa de coronta

EFT⁰: Efecto en la temperatura

EFtH: Efecto en tiempo de hidrólisis

e1: Error uno

e2: Error dos

E-1: Experimento uno

E-2: Experimento dos

E-3: Experimento tres

E-4: Experimento cuatro

E-5: Experimento cinco

E-6: Experimento seis

E-7: Experimento siete

E-8: Experimento ocho

E5: Mezcla de 5 % de etanol y 95 % de gasolina

E10: Mezcla de 10 % de etanol y 90 % de gasolina

E20: Mezcla de 20 % de etanol y 80 % de gasolina

E95: Mezcla de 95 % de etanol y 5 % de gasolina

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

G.L: Grados de libertad

ha: Hectáreas

H₂SO₄: Ácido sulfúrico

HS-5: Híbrido del surco número cinco.

HMF: Hidróximetil furfural

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno

HRP: Horseradish peroxidasa

INTA: Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria

Kg: Kilogramo

LHW: Agua líquida a alta temperatura

Lb: libras

Lip: Lignina peroxidasa

MAGFOR: Ministerio Agropecuario y Forestal.

MC: Masa de coronta

MC₁: Promedio de masa de coronta uno

MC₁: Masa de coronta uno

MC₂: Promedio de masa de coronta dos

MC₂: masa de coronta dos

MmL: miles de millones de Litros

MnP: Manganese peroxidasa

mL: Mililitros

ML: Masa de levadura

MTBE: Metil terbutil éter

mz: Manzana

m/v: Relación masa-volumen

N1: Nivel uno

N2: Nivel dos

NAD+ : Nicotinamida Adenina Dinucleótido (forma abreviada)

NADH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido

OCDE: Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos

Om-85: Método organizado en 1985

Om-88: Método organizado en 1988

Om-90: Método organizado en 1990

PFK: Fosfofructoquinasa

pH: Potencial de hidrógeno

Pi: Piruvato o fósforo inorgánico

qq: Quintales

RED: Directiva de Energía Renovable

RFS2: Renewable Fuel Standard

SSMC: Sumatoria de cuadrados en masa de coronta

SSe1: Sumatoria de cuadrados error uno

SSe2: Sumatoria de cuadrados error dos

T⁰: Temperatura

tH: Tiempo de hidrólisis

tF: Tiempo de fermentación

TAPPI: Asociación técnica de la industria de la celulosa y el papel, (Technical Assosiation of the pulp and paper industry)

1G: Primera Generación

2G: Segunda Generación

% p/p: Porcentaje peso-peso

% R: Porcentaje de rendimiento

% X: Porcentaje de conversión

% AR: Porcentaje de azúcares reductores

% AR est: Porcentaje de azúcares estimado



DEDICATORIA

A Dios:

Por ser mi fuerza, mi guía e iluminarme como el sol, con sabiduría y gracia, para atravesar esta trayectoria de mi vida, culminando con la realización de este trabajo, en el que aprendí a superar los altibajos y a forjarme con la armadura de la fe, hoy puedo ver los frutos del arduo trabajo realizado en mi formación profesional, por eso afirmo: *Del poder de tus hechos estupendos hablan los hombres, y yo publicaré tu grandeza. Salmos 145:6.*

A mis padres:

Sr. Javier Montiel Salinas y Sra. Arely Centeno Hudiel, por su apoyo incondicional en todas las áreas de mi vida, nunca olvidaré sus palabras de ánimo, han marcado en su hija el mejor ejemplo a seguir, mis logros son sus logros, los amo.

A mis hermanas:

Mayela y Ariana Montiel, quienes me llenan de afecto incondicional y son mi inspiración para alcanzar mis metas.

Kiara Yanibeth Montiel Centeno



DEDICATORIA

A Dios:

Por brindar salud, inteligencia, sabiduría a mi familia y a mí, por darme fuerzas en el quehacer diario y permitirme culminar una de mis metas, como es ser licenciada en Química Industrial.

Familiares:

Por su confianza y apoyo incondicional. Sobre todo, a mis padres Pablo Romero y Reyna Isabel Castro, por instruirme desde mi infancia en mi educación, pues por ellos tuve la oportunidad de penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber. A mis hermanas Yaritza y Arelis a las que siempre he tratado de darles un buen ejemplo.

Profesores:

Los que me han transmitido el pan de la enseñanza, mismos que a la vez me inculcaron valores éticos, cívicos y morales desde mi preescolar hasta culminar mi carrera.

Amig@s:

A tod@s mis amigos y amigas que siempre estuvieron en las buenas y las malas a mi lado, por sus ánimos, alegrías y conocimientos compartido. En especial a Fátima Leiva, Escarleth Sequeira, Kiara Montiel e Ixzel Olivas Siles, pues más que amigas son cómo hermanas para mí.

Leticia del Carmen Romero Castro



AGRADECIMIENTO

Estoy infinitamente agradecida con *Dios* por darme sabiduría, guiarme por el camino de la rectitud y ayudarme hacer este sueño una realidad.

Mis padres que estuvieron en todo momento brindándome su infinito apoyo.

Mi abuelita Edelía Centeno, mi segunda madre, siempre me extendió su mano para apoyarme y sus palabras las llevo marcadas en mi mente y corazón.

Mi tutor Dr. Danilo López Valerio por haberme apoyado, no solo en la realización de esta investigación, sino que a lo largo de mi formación profesional, cambiando mis esquemas y ayudándome a encontrar el verdadero sentido de mi carrera, más que mi profesor del que he aprendido los paradigmas de la vida es mi amigo.

Mi asesora metodológica MSc. María Nathalia Gutiérrez por ayudarnos con la estructuración metodológica de este trabajo y por brindarnos sus conocimientos desde segundo año.

Mi compañera de tesis Leticia Romero Castro quien más allá que una amiga es mi hermana.

Mis familiares y amigos por sus palabras de ánimo que fueron determinantes en esta labor, sobretodo a mi primo Luis Armando.

Docentes del departamento de Química quienes me brindaron el pan de la enseñanza.

Don Alejandrito, profesor Omar, profesor Jorge Pitty, César Canizales e Irving por su contribución en el desarrollo de esta investigación.

En fin todas las personas que de una forma u otra contribuyeron en la realización de este trabajo y formación profesional.

Kjara Yanibeth Montiel Centeno



AGRADECIMIENTO

En primera instancia agradezco a DIOS por la vida, por todo lo que he recibido y por lo que aún está por llegar, por dirigir mis pasos, por esos momentos de tristeza, angustia, desesperación, donde parecía que todas las puertas se cerraban pero tú siempre me distes la fuerza para levantarme. Te agradezco por este anhelo, por tu palabra y por tu perdón. A nuestra madre santísima por estar siempre intercediendo ante su hijo amado por mí y por cada uno de sus hijos.

Pablo Romero, Reyna Isabel Castro gracias por ser siempre seres ejemplares, por ser no solo mis padres sino también mis amigos, por su amor incondicional, por apoyarme siempre en mis metas. A mis hermanas Arelis y Yaritza por su apoyo, por sus palabras de aliento, por tener siempre la confianza en su hermana mayor y por ser una de mis mayores fuerzas. Y a mis demás familiares les agradezco por cuidarme, apoyarme, quererme porque yo sé que la alegría de este logro no es solo mi alegría sino que de todos ustedes también.

A los profesores por transmitirme sus conocimientos a lo largo de mi formación académica, por el apoyo científico y moral que recibí de todos aquellos que desde un inicio confiaron en mí, en especial a:

PhD. Danilo López Valerio, por su apoyo incondicional y desinteresado en el transcurso de mi carrera y en esta investigación, por su amistad, por ser esa persona que siempre me da ánimos y por mostrarme el ser de mi carrera.

MSc. María Natalia Gutiérrez por su asesoramiento metodológico no solo en esta investigación sino en otros trabajos realizados en el transcurso de mi carrera.

MSc. Rosa María por que cómo directora del departamento de Química siempre nos mostró su apoyo, por sus consejos como persona y porque siempre ha creído en nosotras.

Gracias también a los profesores Omar, Alejandro y Cesar Canizales por brindarnos su ayuda en esta investigación. MSc. Gerardo Mendoza por instruirme, por sus consejos, por su cariño y por apoyarme siempre.

A mis amig@s y demás personas, por sus palabras de ánimo, sobre todo a Irvin Alemán por su tiempo y a mi compañera de tesis mi hermana, mi amiga Kiara Montiel porque a pesar de los obstáculos no nos dimos por vencida.

Leticia del Carmen Romero Castro



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, MANAGUA
RECINTO UNIVERSITARIO RUBÉN DARÍO
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Kiara Yanibeth Montiel Centeno y Leticia del Carmen Romero Castro, con número de carnet 10-04505-6 y 10-04398-9, respectivamente; estudiantes de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua (UNAN-Managua), al haber cursado y aprobado el pensum de la carrera Licenciatura en Química Industrial, declaramos en honor que el trabajo monográfico titulado: “**Obtención de bioetanol a partir de la coronta (olote) del maíz variedad HS-5, por el método de Hidrólisis ácida diluida-fermentación separada, laboratorios de Química UNAN-Managua, I-II semestre 2015**”, escrito aquí es de nuestra autoría, no ha sido previamente presentado por ningún otro autor con o sin nivel académico o profesional y hemos consultado y citado las referencias bibliográficas que se incluyeron en el documento.

Kiara Yanibeth Montiel Centeno
Bra. Aspirante al título Lic. Química Industrial

Leticia del C. Romero Castro
Bra. Aspirante al título Lic. Química Industrial

Managua, Noviembre del 2015



OPINIÓN DEL TUTOR Y ASESOR METODOLÓGICO

Managua, Noviembre de 2015

MSc. Rosa María González
Dir. Dpto. de Química
UNAN-MANAGUA

El trabajo realizado por las Bachilleres Kiara Yanibeth Montiel Centeno y Leticia del Carmen Romero Castro, titulado “Obtención de bioetanol a partir de la coronta (olote) del maíz variedad HS-5, por el método de hidrólisis ácida diluida- fermentación separada, laboratorios de Química UNAN-Managua, I-II semestre 2015”, para optar al título de Licenciatura en Química Industrial, se ha llevado a cabo con autonomía investigativa, iniciativa y liderazgo.

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

Por tanto hacemos constar que las Bras. Montiel y Romero, han realizado esta investigación, fortaleciendo sus habilidades de análisis, además de invertir recursos económicos y horas de trabajo. Por tanto avalamos a las Bras. antes mencionadas para que realicen los trámites de presentación y defensa del trabajo.

Sin más le saludamos cordialmente.

PhD. Danilo López Valerio. Ing
Tutor

MSc. María Nathalia Gutiérrez
Asesora



RESUMEN

Palabras Claves: coronta, hidrólisis, azúcares reductores, fermentación, bioetanol.

El presente trabajo tuvo como objetivo obtener bioetanol a partir de la coronta del maíz variedad HS-5, ésta fue recolectada en la finca Montiel, municipio de El Jícaro, departamento de Nueva Segovia, posteriormente se caracterizó mediante análisis fisicoquímico, siguiendo los procedimientos de la norma TAPPI. La coronta presenta en su composición 0.2020 % de humedad, 0.1140 % de cenizas, 0.3627 % de extractivos totales, 36.7052 % de celulosa, 19.7272 % de lignina y 43.5676 % de hemicelulosa respectivamente.

La implementación del diseño experimental Taguchi con arreglo ortogonal L8, permitió la combinación y optimización de las variables en los procesos de hidrólisis y fermentación, teniendo como resultado: 20 gramos de celulosa, 7% concentración de ácido sulfúrico, 1.5 horas y 100 °C para el tiempo y temperatura en la hidrólisis. El efecto sobre la variable repuesta fue 38 % de azúcares reductores totales cuantificados mediante el método espectrofotométrico DNS.

Así mismo, en la etapa de fermentación se optimizaron las variables masa de levadura 12% y tiempo de fermentación 8 días, generando el producto final Bioetanol que se identificó mediante análisis Cromatográfico, las variables repuestas fueron de 24 % de conversión y 30 % de rendimiento para el proceso general.



ABSTRACT

Keywords: cob, hydrolysis, reducers sugars, fermentation, ethanol

The goal of This reseach was to obtain bioethanol from the cob corn type HS-5. This type of cob corn was collected on Montiel farm which is located in El Júcaro municipality Nueva Segovia deparment. Then, it was characterized through a physicochemical taking into account the procedure of TAPPI. Each cob corn contains 0.2020% of moisture, 0.1140 % of ash, 0.3627 % of extracts, 36.7052 % of cellulose, 19. 7272 % % and 43.5676 % of lignin and respectively hemicellulose.

The implement of the experimental design in accordance with L8 orthogonal Taguchi allowed the combination and optimization of the variables in the hydrolysis and fermentation process; getting as a result 20 grams of cob corn, 7 % sulfuric acid concentration, 1.5 hours and 100 °C for time and temperature hydrolysis. The effect on response variable was 38 % of the total reducing sugars quantified through the spectrophotometric DNS method.

Similary, in the fermentation stage the variables were optimzad yeast dough 12 % and fermentation time 8 days. As a result, it was obtained the final product bioethanol which was identified through the chromatographic analysis; the variables responses were 24 % of conversion and 30 % of yield overall process.

CAPÍTULO 1:

ASPECTOS GENERALES





1.1 INTRODUCCIÓN

La dependencia y uso irracional de los combustibles fósiles, se han convertido en temas de preocupación a nivel mundial, dado que estos son recursos no renovables tendientes a agotarse, además los precios de las tecnologías de extracción son altos, de igual forma los precios son volátiles en el mercado internacional y la contaminación ambiental provocada por los gases de efecto invernadero es indiscriminada.

Ante tal situación, la comunidad científica busca alternativas para solucionar esta problemática, mediante el uso de materias primas agroindustriales para la producción de biocombustibles. Cabe mencionar que Nicaragua, caracterizado por ser un país agroindustrial genera toneladas de diversos residuos sin valor agregado. Tal es el caso de la coronta (olote) de maíz que se ha utilizado únicamente como combustible artesanal.

Por lo tanto, en esta investigación se presenta la alternativa de obtener bioetanol a partir de la coronta de maíz variedad HS-5, mediante el método de hidrólisis ácida, fermentación separada, que consiste en el uso de ácido sulfúrico para la destrucción del material lignocelulósico. El procedimiento a seguir desde la primera etapa es el siguiente: selección y recepción de materia prima, lavado, secado, pesado, reducción del tamaño, tamizado, hidrólisis ácida, neutralización, filtración, fermentación, desgasificación, destilación y almacenamiento.

Mediante el diseño de experimento Taguchi, se controlaron las condiciones óptimas de las variables operacionales en dicho proceso, siendo estas: masa de coronta 20 g, concentración de H_2SO_4 7 %, temperatura 100 °C, tiempo de hidrólisis 1.5 h, masa de levadura 12 % y tiempo de fermentación 8 días, teniendo como variable respuesta 24 % de Conversión, con lo que se producirían 5, 783, 834.59 barriles anuales de bioetanol, capaz de cubrir la demanda energética anual de Nicaragua en 53%, favoreciendo la economía nacional con mejoras en las divisas e incremento en el producto interno bruto.



1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo general

- Obtener Bioetanol a partir de la coronta (olote) del maíz variedad HS-5, por el método de hidrólisis ácida diluida - fermentación separada, laboratorios de Química UNAN-Managua, I-II semestre 2015.

1.2.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar la coronta del maíz variedad HS-5 mediante análisis físico-químico de humedad, cenizas, extractivos totales, pH, porcentaje de celulosa, lignina y hemicelulosa, para la obtención de bioetanol.
2. Determinar las condiciones óptimas de las variables operacionales, masa de coronta, concentración de ácido Sulfúrico, temperatura, tiempo de hidrólisis, cantidad de levadura *saccharomyces cerevisiae* y tiempo de fermentación, en el proceso de hidrólisis ácida diluida - fermentación separada para la obtención de bioetanol.
3. Identificar el etanol obtenido en el proceso de fermentación mediante el análisis cromatografía de gases.
4. Calcular el porcentaje de conversión y rendimiento del bioetanol obtenido a partir de la coronta del maíz variedad HS-5.



1.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad, Nicaragua presenta serios problemas económicos, en relación a los precios transitorios de los combustibles fósiles, causados por el desajuste entre la oferta y la demanda, especulación financiera y condiciones geopolíticas y militares de los países productores del petróleo, dado que estos tienen el dominio de los precios. Por lo tanto los países dependientes, deben regirse de acuerdo al mercado internacional con el fin de solventar sus necesidades.

Cabe señalar que el petróleo es un recurso no renovable, tendente a agotarse por el incremento de la demanda de los países industrializados y nuevas economías emergentes, lo que conlleva a polémicas financieras y volatilidad en los precios del crudo y sus derivados. Además el uso irracional de los combustibles fósiles causa daños en la salud y al medio ambiente, por las emisiones de gases de combustión, que contribuyen al efecto invernadero, lluvia ácida, daños en la capa de ozono y al aumento del calentamiento global.

Hoy día la comunidad científica trabaja en la sustitución parcial del petróleo y sus derivados. Tal es el caso del bioetanol obtenido a partir de materias primas con alto porcentaje de celulosa y azúcares como los residuos agroindustriales del maíz, caña de azúcar, paja de trigo, entre otros.

En relación con el sector agrícola, Nicaragua se ha visto afectada por la generación de cantidades de biomasa sin valor agregado. Tal es el caso del olote de maíz que se estima aproximadamente en 3, 207,050 toneladas producidas anualmente (MAGFOR, Censo Agrícola 2014/2015, 2015), por lo tanto es importante considerar la transformación de ésta en bioetanol como alternativa para la generación de combustibles sustituto de la gasolina usado en un porcentaje 90/10, 90/5.



1.4 JUSTIFICACIÓN

Basados en la idea de sustituir combustibles fósiles como fuente de energía “verde”, surge la utilización de nuevas materias primas tales como los residuos agroindustriales, que no compitan con la seguridad alimentaria, para la transformación en combustible como, el bioetanol, surgiendo como base energética de la bioeconomía, el cual brinda parcialmente independencia en la producción de energía, lo cual no ocurre con el petróleo, materia prima no disponible en la mayoría de los países del mundo.

Por otro lado, el uso de los residuos del maíz como el olote (coronta), le dará valor agregado a esta materia prima que durante años no ha sido utilizada, más que para combustible en los hogares, donde la generación de utilidades es mínima en comparación con la alternativa de producir bioetanol, además contribuye a disminuir la contaminación ambiental generada por la combustión de estos.

En lo que se refiere a la selección de la coronta variedad HS-5 como parte de los residuos del maíz que se generan en el ciclo agrícola, se ha considerado la opinión de productores, con respecto a la utilidad de los residuos, tales como el aprovechamiento de la tuza, en alternativa para alimentar el hato ganadero y la elaboración de artesanías, así mismo la caña distribuida en la parcela, se transforma en abono orgánico. Con respecto a la variedad es una de las que ha tenido mayor auge agronómico en los últimos años por los altos rendimientos.

El desarrollo de esta investigación es necesario e importante, porque dará valor agregado a una materia prima residual utilizándola para la obtención de biocombustible amigable con el medio ambiente. Este proceso tecnológico requiere de equipos de menor costo en comparación con los utilizados en la explotación petrolera. La producción de bioetanol mejorará el nivel económico del país generando empleos y ahorrando divisas que pueden destinarse a diversos proyectos económicos y sociales.



1.5 ANTECEDENTES

Los estudios científicos realizados a los residuos agroindustriales del maíz (*Zea Mays L*) para la obtención de bioetanol están limitados, las investigaciones se han centrado al análisis de otras biomásas como cáscaras de frutas, paja de trigo, bagazo de caña, aserrín, entre otros. Es importante mencionar, que algunos países industrializados como Estados Unidos, Brasil y la India han iniciado operaciones en industrias dedicadas a la producción de bioetanol obtenido a partir del grano de maíz, pero sin considerar la seguridad alimentaria.

En el 2010 el grupo de investigadores: Clarence S. Yah, Sunny E. Iyuke, Emmanuel I. Unuabonah, de la universidad de Witwatersrand Sudáfrica, escuela de ingeniería química y metalurgia trabajaron en **“Optimización de Temperatura para la producción de Bioetanol de olote de maíz usando levaduras mixtas”**. Los resultados obtenidos señalaron que la temperatura y tiempo óptimo para la fermentación de azúcares fue aproximadamente de 25 °C y 50 h, y con la combinación de (*S. Cerevisiae* y *P. Stipitis*) se obtuvo 1 mL de Bioetanol por 11.9 mg de masa alimentada (Yah, Sunny, & Unuabonah, 2010).

Tres años más tarde, Bellido Díez Carolina, trabajó en la universidad de Valladolid España, escuela Ingeniería Industrial, en la tesis doctoral titulada **“Obtención de bioetanol 2G a partir de hidrolizados de paja de trigo; fermentación de los penta y hexa carbohidratos con pichia stipitis”**. Encontró a partir de la paja de trigo, según la secuencia pretratamiento (explosión de vapor/ozonólisis), sacarificación y fermentación separadas (SHF) rendimientos en etanol sobre el teórico de 86,9% y 79,7 % y productividades de etanol en 120 horas de 0,11 g/L·h y 0,10 g/L·h para el material explotado y ozonizado (Bellido, 2013).

En 2013 los investigadores: Jhon Alexander Córdoba, Eduardo Salcedo, Ramón Rodríguez y Ezequiel Delgado, de la universidad de Guadalajara-México, estudiaron **“Caracterización y valoración química del olote”**. Siguiendo las siguientes normas



de la Technical Assosiation of the pulp and paper Industry (TAPPI) encontraron: 2.0 % de Cenizas (TAPPI 211, 1993), 15.8 % de lignina klason (TAPPI 222, 1998), 45 % de hemicelulosas (Timell, 1961) y 50 % de α -Celulosa (TAPPI 9m, 1954) (Córdoba, Salcedo, Rodríguez , & Delgado, 2013).

En el mismo estudio, también se determinó el contenido de carbohidratos a partir de hidrolizados hidrotérmicos de hemicelulosa mediante cromatografía HPLC, con una columna Aminex HPX-87P, 300 mm x 7.8 mm. En el proceso hidrolítico se trataron muestras de 0.5 g de olote a 160, 230 y 300°C en tiempos de 30, 45 y 60 min. Los resultados de las lecturas fueron: glucosa (41%), xilosa (35%) y en menor proporción arabinosa (Córdoba, Salcedo, Rodríguez , & Delgado, 2013).

En el mismo año, los investigadores Juliana da Silva, Rubens Chaves y Vanessa Cunha, de la Universidad Federal de Viçosa Minas Gerais Brasil, trabajaron en: **“Extracción, Adición y Caracterización de hemicelulosas de mazorcas de maíz para desarrollo de las propiedades de los papeles”**. La composición de carbohidratos de coronta se estableció mediante cromatografía de intercambio aniónico de alta resolución, después de hidrólisis con H_2SO_4 al 3% en autoclave (100 ° C, 3 h). Se encontró Glucosa 47.1 %, Xilosa 28 %, Arabinosa 5.4 %, Galactosa 2.2 % y Manosa 0.2 % (Da Silva, Chaves , & Cunha, 2013).

En Nicaragua los registros de investigaciones que señalan la temática en la obtención de bioetanol están limitados, excepto la empresa Nicaragua Sugar Estates Limited (NSEL) del ingenio San Antonio, que se dedica a la producción y exportación de bioetanol a partir de jugo de caña de azúcar y melaza, desde 2006, actualmente cuenta con capacidad instalada de producción de 340,000 Litros al día (Pellas, 2014).

CAPÍTULO 11:

MARCO DE REFERENCIA





2. MARCO DE REFERENCIA

2.1 Origen

La historia del maíz se pierde en el tiempo, desde cuándo se ha cultivado y cuál es su origen, son temas sujetos a especulación, lo que confirman los investigadores es que la planta de maíz es conocida desde tiempos antiguos y es originaria de América de donde se considera nativa, algunas referencias que evidencian la antigüedad de la planta se sustentan en descubrimientos arqueológicos encontrados en México, como el descubrimiento de mazorcas de maíz de dos centímetros de longitud a la que se le atribuye antigüedad de 5 mil años y polen fosilizado con una edad de 80 mil años (Beadle, 2000).

Se han mencionado dos lugares como posible origen del maíz, estos son: a) Los valles altos del Perú, Ecuador y Bolivia, b) La región Sur de México y América Central, según (Valvoliv & Spender, 2000) señalan como centro primario las áreas de México y Centro América y como secundario Brasil, Perú y Bolivia. Contrario a esto (Reaves, 2001) considera que los centros primarios están en Sur América y los secundarios en México y Centro América.

En el marco regional, no se encontraron datos que muestren el origen del maíz en Nicaragua, pero si se encontraron datos que hacen referencia al mejoramiento de este cultivo, los cuales muestran que a partir de los años cincuenta se comienza a experimentar en el cultivo para su manejo agronómico por su importancia en la dieta nacional (Alvarado, 2003).

Los datos que reporta el origen del maíz variedad HS-5 están limitados, lo que se sabe hasta ahora es que esta variedad es un híbrido cultivado por primera vez en Guatemala y luego fue distribuido a los países Centro Americanos destacándose por tener altos rendimientos en la producción (Quiroz, 2011).



2.2 Generalidades de la planta del maíz (*Zea Mays, L*)

El maíz (*Zea Mays, L*), es una planta monocotiledónea que pertenece a la familia de las Poáceas (Gramíneas), tribu *Maydeas*, a la subespecie *Zea*. En Nicaragua este cultivo se siembra todo el año, en cinco épocas; la primera (Mayo-Junio), postrerón (Julio), postrera (Agosto-Septiembre), apante (Noviembre-Febrero) y riego (Noviembre-Diciembre) en la etapa postcosecha se obtienen residuos agroindustriales como el tallo, olote o coronta, hojas, pedúnculo, eje de espiga y la bráctea conocida como tuza (INTA, 2015).

2.3 Producción de maíz en ciclo agrícola 2014/15

La mayoría de los países a nivel mundial producen maíz, por ser un cultivo que forma parte de la dieta alimentaria, pero hay que tener en cuenta que las producciones anuales no son constantes por diversos factores como; el clima, plagas, enfermedades entre otros.

2.3.1 Producción mundial en el ciclo agrícola 2014/15

A nivel mundial son cinco los países que alcanzaron la mayor producción de maíz, en la cosecha 2014/15, a la vanguardia se encontró EE.UU que superó a China con una diferencia significativa del 60 %. En la siguiente tabla se muestran los principales países productores del maíz a nivel mundial.

Tabla 2.1 Principales países productores de maíz a nivel mundial en el ciclo agrícola 2014/15

Principales productores (Miles de T.M) ¹				
EE.UU 1	China 2	Brasil 3	U. Europea 4	Ucrania 5
361,091,000	215,500,000	75,000,000	74,160,000	28,450,000

Fuente: (Bonilla, 2015)

¹ (T.M) Toneladas Métricas



2.3.2 Producción de Centroamérica en el ciclo agrícola 2014/15

A nivel centroamericano, el Salvador obtuvo la mayor producción de maíz en la cosecha 2014/15, con una diferencia de 1% con relación a Guatemala que obtuvo el segundo lugar, en tanto Nicaragua, tuvo una producción baja con una diferencia notable de 13.5%, dato que se explica por la afectación fenómeno del niño el cual provocó la sequía y la pérdida de miles de hectáreas, tal producción se muestra en la tabla 2.2 (FAO, 2015).

Tabla 2.2 Producción de maíz en Centroamérica en el ciclo agrícola 2014/15

Principales productores (quintales)				
Salvador 1	Guatemala 2	Nicaragua 3	Honduras 4	Costa Rica 5
20,000,000	19,000,000	2,700,000	2,000,000	1,985,457

Fuente: (FAO, 2015)

2.3.3 Producción de maíz en Nicaragua, ciclo agrícola 2014/15

Según, el censo que realizó el ministerio Agroforestal (MAGFOR) por cada región del país, en área de siembra de primera, se mostró que la región atlántica obtuvo los mayores rendimientos de producción, seguido por la región norte central, quedando en último lugar la región del pacífico, tal como se muestra en la tabla 2.3.

Tabla 2.3 Producción de maíz en Nicaragua, ciclo agrícola 2014/15

Regiones	Área (mz)	Producción (qq)
Pacífico	12,954	745,615
Norte Central	22,330	958,485
Atlántico	20,941	995,900
Total del país	916,225	2,700,000

Fuente: (MAGFOR, 2015)

Se observa en la tabla 2.3 las variaciones en cuanto a la producción de una región con otra. En Anexo 1 se presenta la aptitud de siembra por región y época del año.



2.4 Generalidades de la variedad de maíz HS-5

La variedad de maíz HS-5 es el híbrido con mayor auge agronómico actual en Nicaragua, por los beneficios que ofrece al agricultor, por ejemplo, el rendimiento marca la tendencia para la elección de esta semilla, así también la resistencia a plagas y enfermedades. En Anexo 2 se presenta comparación con otras variedades nacionales.

2.4.1 Factores edafoclimáticos para el cultivo de maíz variedad HS-5

2.4.1.1 Adaptación y suelo

Se siembra en latitudes que oscilan desde los 55° norte a los 40° sur y alturas entre 0 y 1,800 metros sobre el nivel del mar. Es un cultivo intermediario de 110 a 115 días para cosecharlo (INTA, 2015). El maíz HS-5 se adapta a una amplia variedad de suelos donde puede producir buenas cosechas si se emplean técnicas de cultivo apropiadas. En general, los suelos idóneos son los de textura media (francos), fértiles, bien drenados, profundos y con elevada capacidad de retención para el agua (Flores, 2012).

El maíz HS-5 crece bien en suelos con pH entre 5.5 y 7.8 fuera de estos límites suele aumentar o disminuir la disponibilidad de ciertos elementos y se produce toxicidad o carencia. Cuando el pH es inferior a 5.5 a menudo hay problemas de toxicidad por aluminio y manganeso, además carencia de fósforo y magnesio; con un pH superior a 8 (o superior a 7 en suelos calcáreos) tiende a presentarse carencia de hierro, manganeso y zinc. Los síntomas en el campo de un pH inadecuado, en general se asemejan a bajos rendimientos de la producción (Flores, 2012).

2.4.1.2 El agua

La demanda de agua para este cultivo es de 500 a 800 mm de lluvia, bien distribuidos para un crecimiento normal. La reducción del rendimiento de grano en los



primeros 30 días depende de diferentes variables, germinación y humedad superficial del suelo. Las etapas críticas del cultivo de maíz van de la floración masculina a la etapa de grano lechoso. En esta etapa, la mazorca se puede perder por marchitamiento de la planta y falta de agua hasta en 50% del potencial de rendimiento (INTA, 2010).

2.4.1.3 El Clima

El maíz HS-5 requiere una temperatura de 25 a 30 °C, necesita bastante luminosidad, en climas húmedos su rendimiento es más bajo. Para que se produzca la germinación en la semilla, la temperatura del suelo debe situarse entre los 15 a 20 °C. A partir de los 30 °C pueden aparecer problemas serios debido a mala absorción de nutrientes minerales y agua. Las plantas de la variedad HS-5 presentan buena superficie foliar que se traduce en una gran capacidad para la fotosíntesis, pero también para la evapotranspiración, por eso es una planta muy sensible a altas temperaturas y a la falta de humedad en el suelo (Ortas, 2008).

2.4.2 Métodos de siembra

La variedad de maíz HS-5 se puede sembrar en cinco épocas al año: la primera, postrerón, postrera, apante y Riego, en cada una de estas se pueden implementar los métodos de siembra manual, mecanizada o con tracción animal y tracción motriz (Anexo 3).

2.4.3 Crecimiento y fases de desarrollo

2.4.3.1 Fase vegetativa

Las semillas de la variedad HS-5 germinan y se forman las plántulas; se expande el follaje e inicia la capacidad fotosintética del cultivo, la cual controla la producción de biomasa y el tamaño final de la mazorca, que ocupa el 40% del peso total (INTA, 2010).



2.4.3.2 Fase reproductiva

El período va de uno o dos días, entre la emisión de polen y la salida de los estigmas en la floración, ambos aspectos hacen que la polinización y la producción de polen sea sensitiva al estrés ambiental (INTA, 2015).

2.4.3.3 Fase llenado de grano

Comienza después de la polinización y determina el peso final del grano de la mazorca. El peso del grano está relacionado con la duración y la cantidad de radiación interceptada durante esta fase y es afectada por falta de agua. El llenado tiene tres fases:

1. Fase de arresto el grano comienza a formarse, dura de 12 a 20 días
2. Fase lineal de acumulación de materia seca, tiene una duración de 35 días
3. Fase de acumulación lenta, tiene una duración de 7 a 14 días y concluye con la aparición de la capa negra y la madurez fisiológica (INTA, 2015).

2.4.4 Descripción botánica

2.4.4.1 Taxonomía

Tabla 2.4 Taxonomía de la planta de maíz

Taxonomía de la planta maíz (<i>Zea Mays</i> , L)	
Reino	Plantae
Sub Reino	Tracheobionta
Clase	Liopsida
Sub Clase	Commelinidae
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Sub Familia	Panicoideae
Tribu	Maydeae
Género	Zea
Especie	Mays

Fuente: (Valladares, 2010)



2.4.4.2 Morfología

La forma general de la planta es inconfundible y está constituida por un eje central o tallo, sostenida por un sistema radicular fibroso y compacto, del eje pueden producirse brotes basales, presenta ramificaciones laterales que forman la mazorca la cual constituye la inflorescencia masculina y en la parte superior se encuentra dispuesta la espiga siendo esta la inflorescencia femenina (Salgado & Murillo, 2012) en Anexo 4 figura 4.1 se observa imagen con la morfología completa de la planta de maíz.

- **Sistema radicular**

El sistema radicular para la variedad HS-5 es abundante y fibroso, está constituido por tres tipos de raíces; las seminales que tienen su punto de partida en la misma semilla, son temporales y desaparecen al ser reemplazadas por las permanentes; siendo estas las responsables de la nutrición de la planta durante todo su ciclo vegetativo, las raíces principales, laterales y capilares, son unicelulares de vida corta y no reemplazables, finalmente existe un sistema de raíces aéreas que surge de los lados del tallo más cercanos a la superficie del suelo, este se conoce con el nombre de raíces nodales, emergen después del surgimiento de la panoja (Bonique, 2012).

- **Tallo**

El tallo es el eje central de la planta, son cilíndricos en la base y ovalados hacia el ápice, su longitud va desde 0.5 hasta los 3 metros, un tamaño óptimo con resistencia al vuelco. Es importante mencionar que el tallo está formado por una sucesión de nudos y entrenudos que puede tener entre 8 y 24, en dirección opuesta y alterna se encuentran las yemas, cada yema representa potencialmente una mazorca de la que normalmente para la variedad HS-5 se desarrollan de dos a tres dando como resultados mayores rendimientos del grano entero y de residuos agroindustriales (Sandoval & Alvarado, 2011).



▪ Hojas

Surgen del nudo y envuelve al tallo, está compuesta por: la vaina que envuelve el entrenudo del tallo, la lígula que es una estructura en forma de collar y ejerce función de protección, se encuentra situada entre la vaina y la lámina donde esta puede medir hasta 1.5 m de longitud y 0.1 m de ancho. En anexo 4 figura 4.2 se muestra la hoja. Además están dispuestas a lo largo del tallo en posición alterna, son sésiles y de forma lanceolada. La primera hoja que emite la planta es en forma redondeada y no se considera una hoja verdadera (Conde, 2005).

La variedad HS-5 tiene de 5-15 hojas, pero a medida que esta crece puede perder de tres a cinco por diversos factores, como enfermedades foliares las cuales se presentan de la parte baja hacia el ápice de la planta, provocando bajos niveles de azúcar, seguido de la susceptibilidad de la planta (Rojas, 2003).

▪ Flores

La planta de maíz es monoica y tiene sus flores dispuestas en inflorescencias separadas, la masculina o panoja y la femenina o espiga. Las flores masculinas tienen una apariencia más o menos compacta, según esta variedad, se encuentra ubicada en la parte superior del tallo y aparecen antes que las femeninas, en cambio las femeninas se encuentran dispuestas sobre un eje esponjoso que forma la espiga.

La panoja está formada por un raquis central y presenta ramificaciones, donde están dispuestas en pares las espiguillas, una es sésil y la otra pedicelada. Antes de aparecer la panoja, la última hoja toma una posición vertical, cada panoja bien desarrollada puede producir de 2 a 5 millones de granos de polen.

La inflorescencia masculina (mazorca) es una ramificación lateral modificada, compuesta por un raquis central esponjoso, donde están insertas las flores femeninas. Al momento de la fertilización solo una es fecundada y la otra es abortada. De cada óvulo, se proyecta un estigma, los cuales aparecen frescos hasta el momento de la



fecundación que se marchitan y se desprenden de la mazorca en formación, cada mazorca bien formada puede producir de 600-1000 granos. La mazorca está formada por tallo corto lateral que presenta una zona de nudos y entrenudos de donde surge la bráctea o cobertura de la mazorca (Bucardo, 2008).

▪ Fruto

El fruto o mazorca está constituido por cuatro partes: pedúnculo, brácteas, olote (coronta) y granos o carióspsides.

1. Pedúnculo: también conocido como pedicelo, es lo restante del órgano de adhesión del grano de maíz con el olote o coronta, constituye aproximadamente el 1 % del peso seco del grano. Está compuesto de células en forma de estrellas, arregladas en una estructura esponjosa bien adaptada para una rápida absorción de humedad. Entre la punta y la base del germen hay un tejido azul conocido como hilar, que aparentemente funciona como mecanismo de sellado cuando el grano llega a su madurez fisiológica (Trevor, 2000) (Anexo 4 figura 4.3).

2. Brácteas: Es la envoltura del fruto también conocida como tuza, de color amarillento y consistencia fibrosa, la mazorca de maíz variedad HS-5 contiene hasta cincuenta unidades de tuza, que miden 12 cm de ancho, 22 cm de largo y 0.1 mm de diámetro, esto favorece el grano y la coronta de la pudrición por exceso de agua (Anexo 4 figura 4.4).

3. Coronta: Es el centro de la mazorca, también conocido como olote, como puede

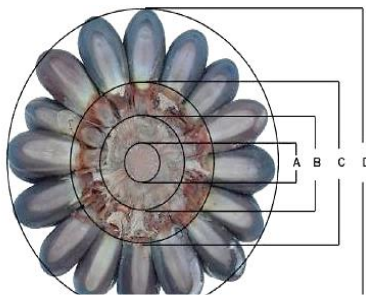


Figura 2.1 Estructura de la coronta de maíz

observarse en la imagen 2.1, está formado por la médula (A) de color blanco, su consistencia no es tan rígida y es rica en azúcares, el raquis (B) está después de la médula, su consistencia es rígida y fibrosa, el color de esta variedad es blanco, contiene celulosa, hemicelulosa y lignina, (C) es la coronta a la que se suma A y B, luego está (D) que es toda la mazorca.



4. Granos o cariósides: Se encuentran a razón de 600 – 1,000 unidades por mazorca, dispuestos en hileras en la coronta, con un promedio de 14 y pueden ser dentados o semi dentados, también cristalinos u opacos para esta variedad. Están constituidos por cuatro partes principales que son el endospermo, pericarpio (cáscara), germen y piloriza (Anexo 4 figura 4.6).

2.4.5 Requerimientos nutricionales del maíz

El maíz de variedad HS-5 es una planta con capacidad de crecimiento rápido y alta producción que requiere cantidades considerables de nutrientes. En el cuadro siguiente se presentan las necesidades de algunos elementos nutritivos para lograr altos rendimientos de grano entero, así también, residuos agroindustriales aprovechables como la coronta.

Tabla 2.5 Elementos nutritivos necesarios para el maíz

Elemento	Kg/Ha
² Nitrógeno	187
² Fósforo	38
² Potasio	192
² Calcio	38
² Magnesio	44
² Azufre	22
Zinc	0.3
Boro	0.2
Hierro	1.9
Magnesio	0.3
Molibdeno	0.001

Fuente: (Flores, 2012)

² Nutrimientos que se absorben en mayores cantidades (macroelementos) y elementos secundarios.



La demanda de Nitrógeno, Fósforo, Azufre y en general de los macroelementos para la planta, está en dependencia de la edad, también de la cantidad que se aplique en función de la fertilidad que tenga el suelo, ligado a las veces que han sembrado y aplicaciones anteriores (Anexo 5).

2.4.6 Malezas que afectan el cultivo de maíz

Una maleza es cualquier planta que constituye un peligro, molestia o causa daños al hombre, animales o, en este caso, al cultivo de maíz. El desarrollo del cultivo de maíz en los primeros 30 días es crítico, por lo que se debe asegurar que crezca libre de la competencia de malezas, pues se estima que éstas son causantes del 10 al 84% de la reducción en su rendimiento. Es importante distinguir entre malezas de hojas anchas y gramíneas porque difieren en su reacción a herbicidas y métodos de control. En el cuadro 6.1 Anexo 6 se muestran algunas malezas que afectan al cultivo de maíz y los métodos para combatirlas (Flores, 2012).

2.4.7 Insectos y plagas

Desde el momento de la siembra, el maíz está expuesto a los ataques de numerosas insectos y plagas, entre los factores principales que favorecen o dificultan la aparición de plagas y enfermedades en el cultivo están: condiciones de clima, labores preparatorias del terreno, rotación de cultivos y el control de malas hierbas, entre otros.

La variedad de maíz HS-5 en su caracterización se considera que es tolerante a la reacción ante las plagas, sin embargo existe diversidad de insectos y plagas que atacan el cultivo; así se tiene el grupo de los gusanos cortadores, barrenadores, etc y son los que causan más daño; luego están los gusanos, gallinas ciegas, barrenadores del grano y gorgojos. en orden de importancia, les sigue el grupo de insectos que actúan como vectores de virus, microplasma, bacterias y hongos; en algunas zonas del país pueden provocar la pérdida completa del cultivo, (Anexo 7) (Mendoza, 2012).



2.4.8 Enfermedades

La variedad de maíz HS-5 se ve principalmente afectada por enfermedades foliares que generalmente aparecen después del periodo de fructificación, dentro de estas se encuentran: la roya común, mancha foliar y mancha café, (Anexo 8). Por otro lado, si se hace referencia a la planta en general, la enfermedad a la que esta variedad es susceptible, es al achaparramiento, de tal forma que si la planta es pequeña la mazorca y el olote materia prima para la obtención de bioetanol también se verá afectados por el tamaño.

2.4.9 Cosecha

En Nicaragua los agricultores implementa dos métodos para preparar la mazorca antes del corte con fines de reducir la humedad del grano, primero doblan la mitad de la planta y después cortan aproximadamente la mitad de la misma, dejando 0.20 m entre la mazorca y el extremo final, práctica conocida como despunte, con el objetivo de reducir porcentaje de humedad en la mazorca, lo que permite el desgrane y almacenamiento sin causar deterioro en su calidad. En la mayoría de los casos, el maíz se deja doblado en el campo por más tiempo, especialmente cuando el clima favorece el secado de grano.

Para realizar la práctica de dobla y corte denominada tapisca puede variar dependiendo de las condiciones climáticas de cada localidad, del ciclo vegetativo del cultivo, como del establecimiento innato del cultivo de relevo. Por lo general entre los 110 a 115 días del cultivo. La cosecha se debe realizar lo antes posible, después de la madurez fisiológica, para evitar pérdidas por pudrición, causadas por hongos; infestación por plagas (gorgojos, termitas, etc) o cualquier otro factor que perjudique la producción.

En el momento de la cosecha, los agricultores sacan de forma manual la mazorca, reuniendo varios grupos en toda la parcela. En la planta quedan algunos



residuos como la caña, hojas y bráctea. Los granos se retiran de la mazorca manualmente o mecanizado. En el Anexo 9 sección 9.1 se muestran algunas características que debe tener la mazorca para la recolección mecanizada y en la sección 9.2 se muestran detalles de la extracción del grano manual y mecanizada.

2.5 Residuos agroindustriales generados en la post- cosecha del maíz

Se conoce como residuos agroindustriales del maíz a los desechos que se generan a partir de la producción de dicho grano, siendo estos: coronta (olote), bráctea (tuza), pedúnculo, tallo y hojas. Al final de la producción el punto de interés para los agricultores es el grano, pero la biomasa no tiene valor agregado, en la actualidad, la bráctea y los restrojos que quedan dispersos en la parcela son utilizados como alimento bovino, sin embargo, es importante señalar que esto no provee las condiciones nutricionales ideales para el hato ganadero.

Así mismo de un 100 % de coronta generada, únicamente el 10 % se ha utilizado como combustible en los hogares, donde las mujeres campesinas recogen la coronta en la postcosecha y la almacenan para todo el año, el otro 90 % tiene dos destinos finales, el primero es combustión a cielo abierto en el campo si el agricultor implementa la técnica de limpieza y quema, en segunda instancia está la descomposición orgánica (Salgado S. , 2013).

En consecuencia el residuo coronta se ha convertido en un problema para el medio ambiente, porque el proceso de combustión a cielo abierto se generan gases como el CO₂ y el CO causantes del efecto invernadero, por otro lado, si no se implementa la técnica de quema, al final dejan el residuo para su posterior descomposición, la cual tarda hasta tres años para la humificación y compostaje, pero en el transcurso de este tiempo provoca algunas plagas como el gusano y la gallina ciega que afectan las futuras plantaciones.



Anualmente en Nicaragua se siembran aproximadamente 916,300 mz de maíz de diferentes variedades, cabe señalar que no hay un registro que tipifique la cantidad de maíz de cada variedad sembrada por región, se conoce que la mayoría de los agricultores prefieren la variedad HS-5 por su alto rendimiento.

En una manzana de terreno, se siembran como máximo 40,000 plantas de maíz, de las que se obtienen 1.1 toneladas de grano y 17.5 toneladas de residuo seco, incluyendo hojas, bráctea (tuza), coronta, pedúnculo y tallo. La diferencia en grano producido con residuo generado es notable con 63% respectivamente (Salgado S. , 2013).

Con respecto a la coronta (olote) del maíz, este representa el 15 % del peso total de la biomasa generada para la variedad HS-5. Cada planta tiene hasta tres mazorcas e igual unidades de olote, con un peso promedio de 26.2 g, por lo tanto cada planta genera 78.6 g, una manzana de siembra equivale a 3.5 toneladas y de manera general en Nicaragua se generan 3, 207,050 toneladas de coronta por cada ciclo agrícola.

2.6 Estructura y composición química de la coronta del maíz

La biomasa o residuo agroindustrial coronta del maíz es rico en material lignocelulósico, biopolímero más abundante de la corteza terrestre. La estructura y composición química de los materiales lignocelulósicos son el factor clave que afecta la eficiencia de la producción de bioetanol durante los procesos de conversión. Es importante señalar que la composición típica de la biomasa lignocelulósica se puede definir con una proporción en peso del 48% C, 6% H y 45% O₂, siendo la materia inorgánica el componente minoritario (Galbe & Salvetti, 2012).

La industria de la producción del etanol utiliza el término biomasa celulósica, porque es la materia prima para la obtención de la glucosa de cuya fermentación se obtiene el etanol, pero la celulosa no es un material fácilmente accesible como es el



almidón o el azúcar, porque se encuentra íntimamente unida a otras materias como la lignina o las sustancias pécticas.

La celulosa se encuentra en las paredes de las células de la coronta, ampliamente distribuida en el raquis y la médula. Pero dentro de su composición química también se encuentra el material que no lignifica, estos presentan paredes pectocelulósicas (Casillas, 2010).

Las paredes lignocelulósicas son estructuras de mayor complejidad y difícil accesibilidad a algunos componentes como se observa en la figura 10.1.1 del anexo 10, estas forman los materiales lignocelulósicos el cual está constituido por los tejidos del raquis y la médula de la coronta. Además presentan una pared celular constituida por un entramado de microfibrillas de celulosa formando capas recubiertas de hemicelulosa y sobre las que se deposita la lignina.

2.6.1 Componentes del material lignocelulósico de la coronta del maíz

Los componentes de los materiales lignocelulósicos se clasifican en: componentes estructurales y componentes secundarios.

2.6.1.1 Componentes estructurales

Los componentes estructurales forman tres polímeros, la celulosa, la lignina y la hemicelulosa. Del total de compuestos que forman los materiales lignocelulósicos casi la mitad son celulosa y un 20 % lignina. Cabe señalar que la unión entre celulosa y lignina puede producirse generalmente a través de la hemicelulosa como se muestra en la figura 10.1.1 del anexo 10. En paredes no lignocelulósicas aparece otro componente formado por sustancias pécticas (pectina).



▪ Celulosa

La celulosa es un homopolímero lineal de elevado peso molecular y grado de polimerización; entre 200 y hasta 10,000 unidades en estado nativo de β -D-glucopiranosas unidas por enlace glicosídico o de tipo éter entre el carbono 1 y 4 (β , 1 \rightarrow 4). Así mismo la celulosa es el componente principal de las paredes celulares de los vegetales y el polímero mayoritario del planeta, tiene una estructura fibrosa, es blanca, muy estable y resistente al ataque químico, también a la tracción mecánica (Bidlack, Malonge, & Benson, 2000).

Debido al carácter asimétrico de este enlace, también puede considerarse a la celulosa como un poliacetal del dímero celobiosa (4-O- β -D-glucopiranosil- β -D-glucosa), que no existe de forma natural, solo puede obtenerse por la hidrólisis parcial de la celulosa. El enlace glicosídico se forma por la reacción del grupo -OH hemiacetálico del carbono anomérico (el carbón 1) de la β -D-glucopiranososa con el grupo -OH del carbono 4 de otra β -D-glucopiranososa. Uno de los extremos de cada cadena presenta en este carbono 1 un grupo aldehídico de carácter reductor, en la figura 10.1.2 del Anexo 10 se presenta la estructura primaria de la celulosa.

La conformación piranososa, donde los carbonos y oxígeno son tetraédricos y la forma más estable es la de silla, presenta los grupos -CH₂OH, -OH y los enlaces glicosídicos en posición ecuatorial y los hidrógenos en posición axial. El hecho de que los grupos -OH salgan lateralmente, permite a la celulosa formar uniones inter e intramoleculares por puentes de hidrógeno dando lugar a las fibrillas elementales, figura 10.1.3 en anexo 10.

Las fibrillas elementales o micelas están formadas entre unas 40 y 100 cadenas de celulosa donde se presentan zonas con una estructura cristalina, que le confiere a la celulosa alta resistencia y otras regiones amorfas que le otorgan elasticidad. La presencia de regiones amorfas en la fibrilla elemental permite mejor penetración de reactivos químicos, por tanto mayor reactividad. Los disolventes penetran mejor en el



material y las enzimas del tipo de las celulosas trabajan mejor si aumenta la proporción de estas zonas. A esta pérdida de zonas cristalinas y aumento de regiones amorfas se le suele distinguir como “pérdida de cristalinidad” (anexo 10 figura 10.1.4).

Las microfibrillas que forman las paredes celulares de los vegetales y que se orientan de distinta forma, según las capas están formadas a partir de las fibrillas elementales. Además, esta estructura que presenta los grupos –OH formando puentes de hidrógeno en estructura con forma de cinta presenta los hidrógenos en su superficie, resultando hidrofóbica como se observa en la figura 10.1.5 del anexo 10. (Bidlack, Malonge, & Benson, 2000).

▪ **Hemicelulosa**

La hemicelulosa forma cadenas ramificadas de menor grado de polimerización que la celulosa, por lo tanto no tienen zonas cristalinas. Además, los puentes de hidrógeno son menos eficaces, haciendo de la hemicelulosa polisacáridos más accesibles al ataque de reactivos químicos. Los monómeros que constituyen la hemicelulosa son principalmente monosacáridos y derivados de las osas como los ácidos urónicos. Los monosacáridos que se encuentran principalmente en la celulosa son cinco: tres hexosas: glucosa, manosa y galactosa y dos pentosas: xilosa y arabinosa, (anexo 10 figura 10.1.6). (Bidlack, Malonge, & Benson, 2000).

▪ **Lignina**

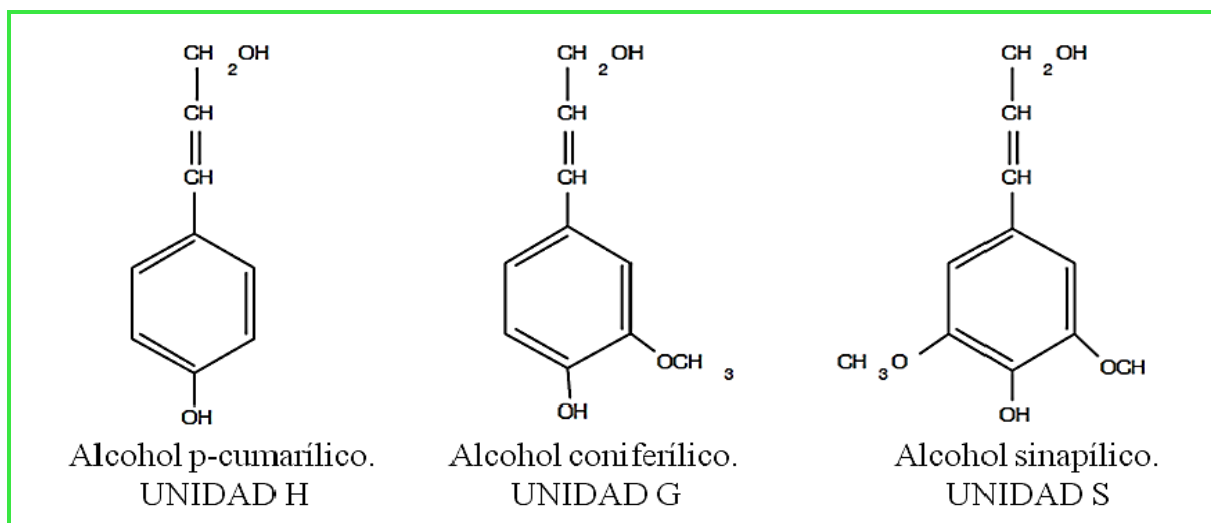
La lignina es un polímero aromático de estructura tridimensional bastante compleja, muy ramificada y amorfa, formada por la condensación de precursores fenólicos unidos por diferentes enlaces, dicho polímero presenta las siguientes funciones:

- Proteger a la celulosa del ataque microbiano
- Conferir resistencia e impermeabilidad al material
- Mantener unidas las fibras celulósicas



La síntesis de lignina es un proceso de polimerización cuyos precursores son los alcoholes p-hidroxicinamílicos, como se observa en la figura 2.2.

Figura 2.2 Alcoholes cinamílicos



Los alcoholes p-hidroxicinamílicos se distinguen por los sustituyentes del anillo aromático, tal que: El alcohol p-cumarílico no presenta sustituyentes del anillo aromático y forma las unidades de hidroxifenilo o unidades H. El alcohol coniferílico con un metoxilo en la posición tres del anillo aromático forma las unidades de guayacilo o unidades G. Por último el alcohol sinapílico con metoxilos en las posiciones 3 y 5 forma las unidades de siringilo o unidades S. (Bidlack, Malonge, & Benson, 2000).

La polimerización de la lignina ocurre mediante una etapa enzimática donde los alcoholes p-hidroxicinamílicos se oxidan por la acción de peroxidasas en la pared celular dando radicales fenóxido. Cabe señalar que la variedad de enlaces y estructuras del polímero lignina son debidas a la diversidad de reacciones de acoplamiento (al azar) entre las distintas formas resonantes de los radicales fenóxido.

En los anillos aromáticos como en las cadenas propílicas de la estructura de la lignina se encuentran tres enlaces principales, en la tabla 2.6 se presentan.



Tabla 2.6 Enlaces aromáticos en las cadenas poliméricas de la lignina

Enlace tipo éter	Enlace carbono-carbono	Enlace tipo Ester
Forman grupos de tipo no condensado. Son las más frecuentes, el 40-60% de las unidades de lignina están formadas por enlace β -o-4, (imagen 10.1.9 en anexo 10)	Van a conducir a una lata condensación de la lignina, que no pueden producirse en el anillo aromático de las unidades tipo S (por los grupos metoxilos). Los más frecuentes (5-20%) son las uniones de los carbonos de la posición 5 del anillo aromático.	Se producen en la cadena propílica y son poco frecuentes.

Fuente: estructurada por autoras

2.6.1.2 Componentes secundarios

Son componentes generalmente de menor proporción y se clasifican en dos tipos; por un lado componentes de bajo peso molecular, hidrosolubles o extraíbles en solventes orgánicos que se denominan extractos y por otro materias minerales que en los análisis se estiman como cenizas (Bidlack, Malonge, & Benson, 2000).

De igual forma en su estructura molecular la lignina del olote de maíz presenta diversos componentes solubles en agua y disolventes orgánicos denominados extractivos, tales como: terpenos, resinas y fenoles etc.

- **Terpenos:** se consideran polímeros del isopreno y están relacionados con los alcoholes terpénicos y algunas cetonas
- **Resinas:** Amplia variedad de compuestos no volátiles como grasas, ácidos grasos, alcoholes, resinas ácidas, fitoesteroides y otros compuestos neutros
- **Fenoles:** como los taninos que son polifenoles derivados de ácido gálico y de la catequina



- **Otros:** Entre los que se encuentran hidratos de carbono de bajo peso molecular, alcaloides y lignina soluble.

Cabe mencionar que en la estructura de la lignina también se encuentran componentes insolubles como las cenizas que son principalmente carbonatos, oxalatos y minerales.

En la tabla 2.7 se presentan componentes principales de coronta según diversos investigadores.

Tabla 2.7 Datos de investigaciones realizadas sobre componentes principales de la estructura de la coronta del maíz

Refencias	% Celulosa	% Hemicelulosa	% Lignina
(Negret & Cheng, 2010)	36.8	30.6	23.1
(Syawala, Wardiyati, & Maghfoer, 2013)	29.85	32.67	12.74
(Ramírez, 2009)	36	23	17
(Cuervo, Folch, & Quiroz, 2009)	45	35	15
(Córdoba, Salcedo, Rodríguez , & Delgado, 2013)	50	33.6	15.8

Fuente: Estructurada por autoras

2.7 Bioetanol

El bioetanol o alcohol tiene como fórmula química $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, denominado etanol de biomasa. Esto es combustible líquido compuesto por alcohol etílico anhídrido desnaturalizado, obtenido por la destilación del producto de fermentación de materias primas vegetales ricas en azúcares, almidones o biomasa (material lignocelulósico).



2.7.1 Clasificación de acuerdo al tipo de materia prima

El bioetanol, se clasifica en primera y segunda generación, se representan por las siglas (1G, 2G), el primero es obtenido a partir de materias primas que poseen alto contenido de azúcares simples y fermentables, como la glucosa, fructosa, galactosa y sacarosa, entre las más importantes incluyen caña de azúcar, melazas y azúcar de remolacha (Balat, 2014), mientras que el bioetanol de segunda generación (2G) es el producido a partir de biomasa lignocelulósica.

En efecto, el uso del bioetanol 2G ha tenido creciente interés global por muchos factores, uno de los principales es el aprovechamiento de la materia prima residual, entre otros que lo diferencian del 1G (Anexo 11).

2.7.2 Producción mundial de bioetanol

La producción mundial de etanol 1G se vio afectada en 2012, por primera vez desde el año 2000, debido a las disminuciones en Estados Unidos de América y Brasil. Con la reducción de los precios de maíz y azúcar prevista en 2013-2014, se anticipa el aumento de la producción en ambos países. (OCDE/FAO, 2013).

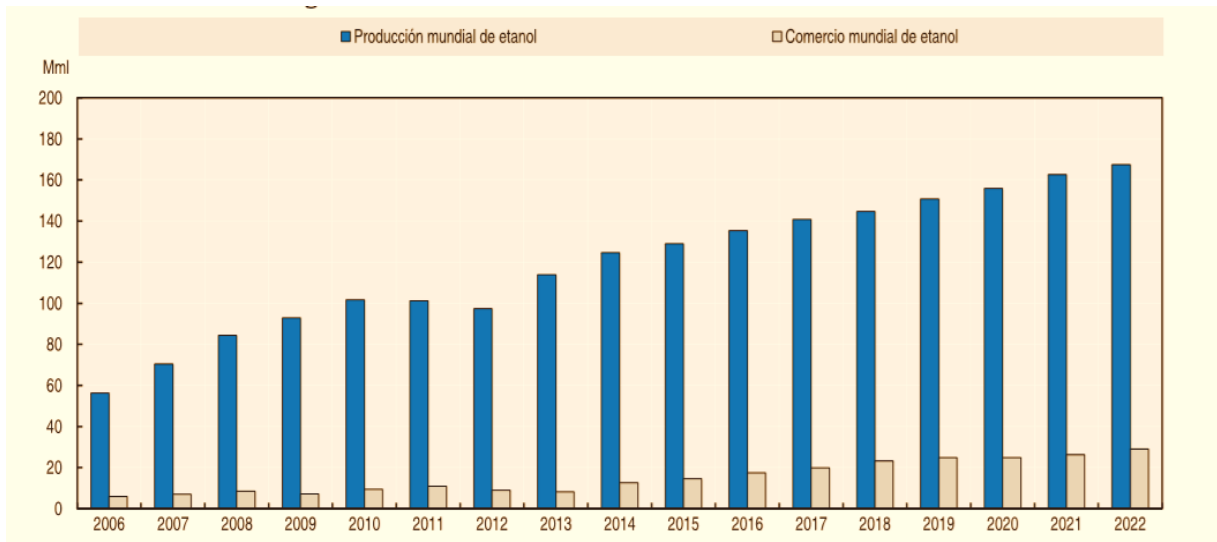
En 2022, se prevé que la producción mundial de etanol aumente en casi 70% respecto a la media de 2010-2012 y llegue a 168 miles de millones de Litros (MmL) (Gráfica 2.1). Se espera que Estados Unidos de América, Brasil y la Unión Europea sigan siendo los tres principales productores (Gráfica 2.2). La producción y el uso en Estados Unidos de América y la Unión Europea están impulsados principalmente por las políticas vigentes (es decir, RFS2 y la Directiva de Energía Renovable RED, respectivamente). (OCDE/FAO, 2013).

El creciente uso del etanol en Brasil está relacionado con el desarrollo de la industria de combustible flexible y la demanda de importaciones de Estados Unidos de



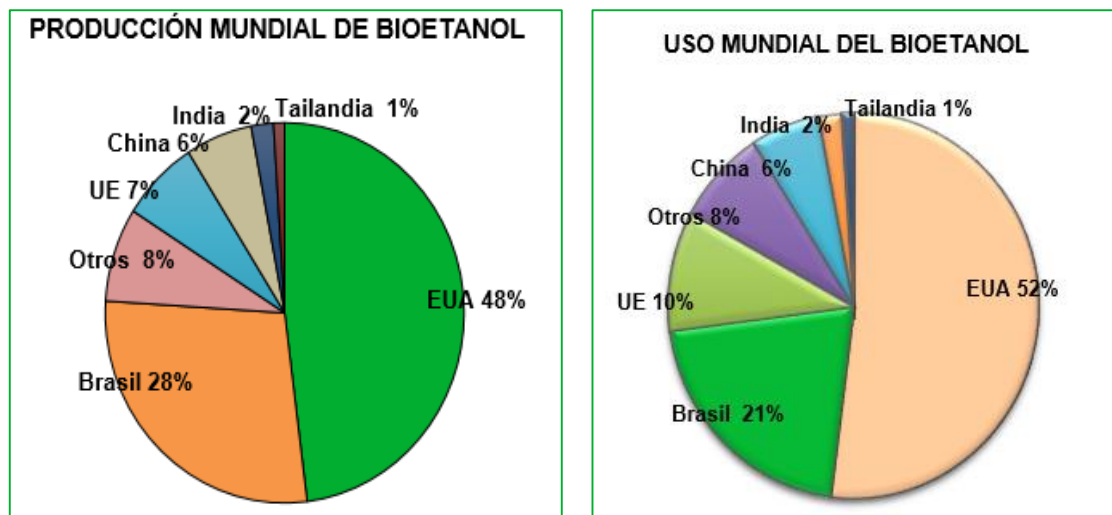
América para cumplir el mandato de biocombustible avanzado, así como para su aumento en los mínimos de mezcla. (OCDE/FAO, 2013).

Gráfica 2.1 Desarrollo del mercado mundial de etanol



Fuente: (OCDE/FAO, 2013).

Gráfica 2.2 Distribución regional de la producción y el uso mundial de bioetanol en 2022.



Fuente: (OCDE/FAO, 2013).



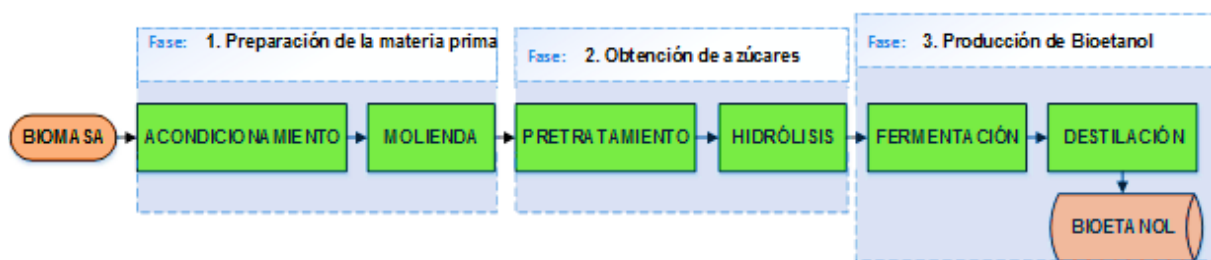
Cabe señalar que en 2012, la producción de etanol se vio estancada en los países en desarrollo, debido a la reducción de la oferta en Brasil, pero parcialmente compensada por otros países en desarrollo, en los que se observaron aumentos (Argentina, India, África y otros países de América del Sur). (OCDE/FAO, 2013).

Se proyecta que la producción de etanol en los países en desarrollo aumente de 42 Mml en 2012 a 72 Mml en 2022, con Brasil representando 80% de este aumento de la oferta y una gran parte del resto proveniente de China, en donde menos de la mitad de su producción de etanol se consume en el mercado de los combustibles, el resto se consume en forma de alcohol en muchos productos alimentarios y no alimentarios. El crecimiento en China seguramente provendrá de la yuca y el sorgo, ya que no se permite el uso de maíz para la producción de etanol. (OCDE/FAO, 2013).

2.7.3 Proceso para la obtención de bioetanol

Por lo que se refiere al proceso de obtención de bioetanol de segunda generación, mantiene la consecución de las siguientes etapas: reducción de tamaño, pretratamiento, hidrólisis de celulosa y hemicelulosa, fermentación, recuperación y purificación del bioetanol. Estas etapas pueden llevarse a cabo mediante distintas configuraciones de proceso y dentro de cada una de ellas existen múltiples alternativas (Benito, 2013). El siguiente diagrama representa de manera general la forma de producir etanol a partir de biomasa.

Diagrama 2.1 Producción de etanol a partir de biomasa



Fuente: Propio



2.7.3.1 Reducción del tamaño

Este procedimiento se realiza con un molino, para reducir el tamaño de la muestra, lograr la apertura del material fibroso y aumentar el área de contacto entre el material lignocelulósico y los reactantes que se emplean en el pretratamiento e hidrólisis de la muestra.

2.7.3.2 Pretratamiento

El pretratamiento es una etapa crucial en el proceso de obtención de bioetanol, debido a la compleja estructura de la biomasa lignocelulósica. La finalidad es mejorar la digestibilidad de los materiales lignocelulósicos. Las propiedades fisicoquímicas y el comportamiento de cada materia prima es diferente, por lo que es necesario aplicar el pretratamiento adecuado, dependiendo del tipo de biomasa (Hendriks, 2009), (Karagoz, 2012).

Un tratamiento considerado bueno y efectivo debe cumplir con los siguientes objetivos:

- Provocar la solubilización o redistribución de la lignina
- Disociar el revestimiento que la lignina y la hemicelulosa forman alrededor de la celulosa con el fin de aumentar la accesibilidad del ácido.
- Alterar las características estructurales de la celulosa como la cristalinidad y el grado de polimerización
- Ser efectivo para una variedad de materias primas
- Asegurar la recuperación de los componentes de la biomasa lignocelulósica: celulosa, hemicelulosa y lignina
- Evitar la formación de productos de degradación y compuestos potencialmente inhibitorios
- Evitar la degradación de azúcares
- Evitar la necesidad de pasos previos de preparación de la materia prima
- Ser efectivo para grandes cargas de sólido



- Tener un coste moderado, tanto en la inversión como en la operación, ya que se ha estimado que el pretratamiento representa aproximadamente el 33 % del coste total del proceso. (Alvira, 2010), (Lynd, 2000), (Sun, 2002).

Así mismo, se han propuesto y desarrollado variedad de tecnologías de pretratamiento de biomasa lignocelulósica que pueden ser clasificadas en cuatro grupos: métodos físicos: mecánico y térmico, físico-químicos, químicos y biológicos. (Sun, 2002).

2.7.3.2.1 Pretratamientos físicos

2.7.3.2.1.1 Pretratamiento mecánico

a) Trituración mecánica: Molienda para reducción de partícula del tamaño de malla inferior a 40 mm, tiene un efecto mínimo en los rendimientos de la hidrólisis, así como la tasa de hidrólisis de la biomasa (Chang, 2000).

b) Ultrasonido: Es una técnica empleada para extraer lignina y hemicelulosa, en estudios realizados, emplearon este método a 25 °C y diferentes períodos de tiempo entre 10 a 60 min, donde el mejor tiempo de residencia fue de 30 min, sin embargo, el efecto sobre la biomasa es muy superficial comparado con métodos como el pretratamiento con peróxido de hidrógeno H₂O₂.

2.7.3.2.1.2 Pretratamiento térmico

En este tipo de pretratamiento, la materia prima es calentada en un rango de 150-180 °C, donde la hemicelulosa y la lignina son solubilizadas (Bobleter, 2000). Temperaturas superiores a 180 °C solubiliza la hemicelulosa (Beall, 2002). Durante los procesos térmicos una parte de la hemicelulosa es hidrolizada y forma ácidos, estos son asumidos como catalizadores para hidrolizar la hemicelulosa (J.N, 2003). Las clasificaciones para este pretratamiento son la explosión por vapor y agua líquida a alta temperatura.



a) Explosión por vapor: La materia prima se somete a temperaturas entre 160-260 °C, mediante la inyección directa de vapor saturado, por un intervalo de tiempo entre 1 y 10 minutos, seguidamente se lleva el producto a una rápida descompresión hasta presión atmosférica, como resultado se obtiene biomasa con alteraciones físicas (desagregación y ruptura de las fibras), químicas (despolimerización y rotura de enlaces) y una celulosa más accesible a la hidrólisis. Las variables a controlar en este tipo de procedimiento son la temperatura, el tiempo de residencia, el tamaño de partícula y la humedad (Duff S.J.B., 2004).

b) Agua líquida a alta temperatura (LHW): En este proceso se somete la biomasa al efecto de agua caliente a una temperatura entre 170-230 °C por un tiempo de 46 min. El objetivo de este pretratamiento es solubilizar la hemicelulosa de la celulosa para hacerla más accesible y evitar la formación de inhibidores, el pH debe mantenerse entre 4 y 7 para minimizar la formación de monosacáridos y productos de degradación que pueden seguir catalizando la hidrólisis del material celulósico durante el pretratamiento (Kohlmann, 2004).

2.7.3.2.2 Pretratamientos fisicoquímicos

a) Proceso de explosión de fibra con amoníaco (AFEX): El pretratamiento con amoníaco se realiza con cargas de amoníaco en torno a 1:1 (amoníaco kg/kg peso de biomasa seca) a temperaturas que van desde la temperatura ambiente con una duración de 10 a 60 días, hasta temperaturas de 120 °C, con una duración de varios minutos (Alizadeh, 2005). También se da un aumento de seis veces para la hidrólisis y un rendimiento de 2,5 veces para el etanol.

b) Explosión con CO₂: Se lleva a cabo con alta presión y altas temperaturas de hasta 200 °C, con duración de varios minutos. Este pretratamiento produce líquidos que pueden ser ácidos, los cuales hidrolizan especialmente la hemicelulosa. El CO₂ también se aplica como CO₂ supercrítico (35 °C, 73 bares), este incrementa el rendimiento de glucosa en 50-70% para el bagazo de caña de azúcar (Zheng, 2000),



el 14% de pino amarillo y el 70% de álamo (Kim, 2001). Esto es probablemente causado por el aumento del tamaño de poros.

2.7.3.2.3 Pretratamiento químico

a) Oxidación húmeda: Un pretratamiento oxidativo consiste en la adición de un compuesto oxidante, como el peróxido de hidrógeno o ácido peracético a la biomasa que está sumergida en el agua. Durante el pretratamiento oxidativo puede tener lugar reacciones como sustitución electrofílica, el desplazamiento de cadenas laterales, rompimientos de vínculos de alquil, aril, éter o de núcleos aromáticos (Hon, 2001).

b) Tratamientos con ozono: El ozono ha sido utilizado para degradar la lignina y la hemicelulosa. Se lleva a cabo a condiciones de presión y temperatura ambiente. La degradación es esencialmente limitada a atacar la lignina y hemicelulosa aunque la celulosa también es afectada (Sun y Cheng, 2002).

c) Prehidrólisis con álcalis: Se lleva a cabo con NaOH diluido donde se sumerge el material lignocelulósico a 60 °C por 24 horas, en esta etapa tienen lugar reacciones como solvatación y saponificación, esto provoca un estado de inflamación de la biomasa, lo que la hace más accesible para enzimas y bacterias. Disoluciones de álcalis fuertes dan lugar a hidrólisis alcalina, degradación y descomposición de polisacáridos y rompimiento de radicales finales. Es importante señalar que la pérdida de polisacáridos es causada principalmente por el rompimiento de radicales finales y reacciones hidrolíticas (Fengel, 2000).

d) Tratamiento con solventes orgánicos: En el proceso, un compuesto orgánico o acuoso se mezcla con un ácido inorgánico que pueden ser HCl o H₂SO₄, este se utiliza para romper el interior de la lignina y puentes de hemicelulosa. Se emplean disolventes orgánicos como metanol, etanol, acetona, etilenglicol, trietilenglicol y alcohol tetrahidrofurfurílico, así también ácidos orgánicos como oxálico, acetilsalicílico y salicílico puede ser utilizados como catalizadores en el proceso. Cabe



mencionar que a temperaturas altas por encima de 185 °C, el uso de catalizadores es innecesario para la deslignificación (Sánchez O. C., 2005).

2.7.3.2.4 Pretratamientos biológicos

En este tratamiento el material lignocelulósico se somete a la acción de determinadas enzimas o microorganismos, como los hongos de la podredumbre blanca, marrón o blanda. El objetivo es degradar la lignina y la hemicelulosa, eliminando las barreras que protegen la celulosa, haciéndola más accesible al posterior ataque enzimático, por lo que generalmente se hace necesario hacer primero un tratamiento con hongos y posteriormente con las enzimas.

a) Tratamiento con hongos: Utiliza microorganismos como hongos de podredumbre marrón, blanco y suave para degradar lignina y hemicelulosa en los materiales de desecho. La podredumbre marrón ataca la celulosa, mientras que la podredumbre blanca y suave ataca tanto la celulosa como la lignina. Hongos de pudrición blanca (*basidiomicetos*) son los más eficaces para el pretratamiento biológico de materiales lignocelulósicos (Fan L.T., 2000) .

b) Tratamiento con biosolventes orgánicos: Emplea solventes orgánicos y hongos, el primero para permitir la acción de hidrólisis en la hemicelulosa y el segundo para la descomposición de la red de lignina. Se han realizado estudios con etanol como solvente y podredumbre blanca para la degradación de lignina en madera, los hongos usados fueron *Ceriporiopsis subvermispora*, *Dichomitus squalens*, y *Coriolus versicolor*. Así pues el pretratamiento biológico puede ahorrar el 15% de la electricidad necesaria en la hidrólisis, el etanol puede ser reutilizado y es amigable con el medio ambiente (Itoh, 2003).

En Anexo 12 se muestra una tabla con las ventajas y desventajas de los pretratamientos.



2.7.4 Hidrólisis ácida

La hidrólisis ácida es un proceso químico en el que se utiliza un ácido prótico que puede ser ácido sulfúrico o ácido clorhídrico para catalizar la escisión de los enlaces químicos de la hemicelulosa a través de una reacción de sustitución nucleófila con la adición de agua, este método tiene por objetivo convertir la masa viscosa obtenida en el pretratamiento en azúcares en forma de oligómeros para después convertir los azúcares oligoméricos en azúcares monoméricos como la glucosa y xilosa.

a) Hidrólisis ácida diluida

Proceso químico útil para la conversión del material hemicelulósico en azúcares reductores, en estas condiciones de presión y temperatura son altas y el tiempo en el que se da la reacción es en un rango de 1 a 4 horas lo que facilita el proceso continuo. Se emplea una solución de ácido mineral que puede ser H_2SO_4 o HCl con concentraciones de 1-10 % en un reactor de flujo continuo, con relación m/v 1:10 - 1:30 y temperaturas de aproximadamente 50 - 215 °C (Balat, 2010).

La hidrólisis ácida diluida ocurre en dos fases con el fin de aprovechar las diferencias entre la celulosa y la hemicelulosa. La primera fase se realiza a bajas temperaturas para aumentar al máximo el rendimiento de la hemicelulosa, en la segunda fase se incrementa la temperatura para lograr la hidrólisis de la celulosa, los rendimientos experimentales actuales para estas dos son de 89% para la manosa, 82% para el galactosa y tan solo el 50% para la glucosa cuando el rendimiento teórico máximo es de 90% en la conversión a bioetanol (Jorgensen, Kristensen, & Felby, 2007).

El desafío consiste en proponer métodos de hidrólisis ácida que incrementen el porcentaje de rendimiento de la glucosa a por lo menos un 70%. Para permitir una adecuada penetración del ácido en los procesos continuos rápidos, deben reducirse el tamaño de la partícula de la materia prima en rango de 2-6 milímetros. En la tabla



2.9 se muestran referencias del porcentaje de azúcares reductores en coronta del maíz, obtenido por el método de hidrólisis ácida diluida.

Tabla 2.8 Porcentajes de azúcares reductores en coronta del maíz

Porcentajes (%)			
Componente	(Da Silva, Chaves , & Cunha, 2013)	(Córdoba, Salcedo, Rodríguez, & Delgado, 2013)	(Dongen & Delgado, 2010)
Glucosa	47.1	41	34
Xilosa	28.0	35	28
Arabinosa	5.4	No reporta	2.4
Galactosa	2.2	No reporta	0.8
Manosa	0.2	No reporta	0.1

Fuente: Recopilado por autoras

b) Hidrólisis ácida concentrada

Este proceso emplea H_2SO_4 concentrado en el rango de 10-30% en el pretratamiento, para liberar la hemicelulosa, en la fase subsecuente la biomasa se seca empleando ácido sulfúrico concentrado (70-90%). Los tiempos de la reacción son generalmente más largos que los de la hidrolización ácida diluida (Tahezadeh & Karimi, 2007). Este proceso proporciona una conversión completa y rápida de la celulosa y la hemicelulosa, los factores que hacen viable este proceso consisten en perfeccionar la recuperación de los azúcares y los ácidos empleados.

Comparado con el método de hidrólisis ácida diluida la degradación de la glucosa ofrece un porcentaje de rendimiento cercano al 100%; este proceso ofrece más potencial para reducir costos, sin embargo, el ambiente y problemas de corrosión y el alto de consumo ácido son las principales desventajas del método (Tahezadeh & Karimi, 2007).



Cabe señalar que la hidrólisis ácida es uno de los métodos más empleados en la industria de producción de bioetanol, porque tiene la ventaja de separar los azúcares monoméricos de las hemicelulosas, pero tiene la desventaja de generar algunos compuestos inhibidores, por lo que se hace necesario someter el hidrolizado a un proceso posterior de detoxificación para eliminar todas las sustancias que pudieran formarse por las concentraciones del ácido y altas temperaturas, de igual manera se busca como evitar la formación de otras sustancias durante el proceso de fermentación que afecte el proceso de producción de etanol.

Existen distintas clasificaciones que agrupan este tipo de sustancias inhibidoras: productos de la degradación de azúcares, productos de la degradación de la lignina, componentes derivados de la estructura lignocelulosa y por último iones de metales pesados (Cantarella, Cantarella, & Gallifuoco, 2004).

Por otro lado (Oliva , 2014) los clasifica en tres grupos: derivados del furano (generados a partir de la hidrólisis de hemicelulosa), ácidos alifáticos de bajo peso molecular (degradación de furanos) y derivados fenólicos (provenientes de la degradación de la lignina). Cualquiera de estas clasificaciones es válida, ya que reúnen todos los compuestos tóxicos conocidos en este tipo de proceso.

Es importante señalar que el más reconocidos es el furfural, formado a partir de la degradación de las pentosas (xilosa y arabinosa) y el hidroximetil furfural (HMF), formado como consecuencia de la degradación de las hexosas (glucosa, manosa y galactosa) (Oliva, 2014). En la tabla 12.2 del anexo 12 se presentan los efectos negativos que provocan los compuestos tóxicos sobre los microorganismos fermentadores y el proceso.

A causa de los daños que pueden provocar las sustancias inhibidoras en el proceso de fermentación, se han estudiado métodos de detoxificación que están clasificados según el tipo de sustancias y acciones que las constituyen, por lo cual



varios autores los agrupan en físicas, químicas y biológicas (Oliva, 2014) (Mussatto & Robeto, 2004).

Si bien es cierto, existen diversas opciones de detoxificación, sin embargo la elección del mismo depende de factores como: a) tipo de hidrolizado para la hidrólisis, b) pretratamiento empleado para la hidrólisis, c) organismo fermentador, d) costo de operación de la técnica de detoxificación elegida (Mussatto & Robeto, 2004).

Haciendo referencia para los métodos biológicos, estos involucran el uso de enzimas y microorganismos específicos que actúan sobre los compuestos tóxicos cambiando su composición (Mussatto & Robeto, 2004). Para el caso de la detoxificación con enzimas se encuentran principalmente el uso de peroxidasas y lacasas. Las primeras transforman primordialmente fenoles y aminas aromáticas, estas son de gran efectividad e incluyen enzimas tales como horseradish peroxidasa (HRP), lignina peroxidasa (LiP) manganeso peroxidasa (MnP), entre otras y son producidas por distintos microorganismos en especial de tipo fúngico.

En cuanto a los microorganismos empleados para la detoxificación se encuentran tanto de tipo bacteriano como fúngico. Para el caso de los fúngicos existen investigaciones como (Nichols, Sharma, & Mowery, 2008), donde emplean una cepa aislada de *Coniochaeta* de maíz después de pretratamiento ácido- diluido. En el caso del uso de bacterias (Okuda, Soneura , & Nimoniya, 2008) utilizan una cepa de *Ureibacills thermosphaericus*, para detoxificar hidrolizados de madera pretratado con ácido diluido.

Por otro lado, se tienen los métodos de detoxificación físicos y químicos como: tratamientos con hidróxidos, Overliming, evaporación, carbón activado, resinas de intercambio iónico, extracción, nanofiltración y electrodiálisis, sin embargo los de mayor difusión son el overliming y los tratamientos de neutralización con hidróxidos, no sólo por sus resultados exitosos en reducción de inhibidores y altos rendimientos en fermentación, sino por su costo que resulta bajo frente a metodologías como la



nanofiltración y resinas de intercambio iónico (Mussatto & Robeto, 2004), en el anexo 13 se muestran detalles sobre los métodos.

2.7.5 Fermentación

La fermentación consiste en transformar los azúcares liberados en la etapa de hidrólisis ácida en etanol y dióxido de carbono, por medio de microorganismos adecuados, principalmente levaduras. Estos microorganismos pueden ser cepas naturales que metabolizan azúcares de seis carbonos, cepas naturales que consumen tanto azúcares de seis como de cinco carbonos. En esta etapa se consideran tres factores importantes que garantizan la obtención de altos rendimientos de producto y estos son: el sustrato, las condiciones de operación y el microorganismo fermentador (M.E, 2010).

Así pues el sustrato se describe como el resultado de un pretratamiento que se efectúa sobre la materia prima original. En esta etapa, una alta cantidad de azúcares asimilables son liberados de los componentes principales de la materia prima convirtiéndose en el sustrato que ha de consumir el microorganismo fermentador. Para materiales lignocelulósicos, este hidrolizado está compuesto principalmente por pentosas (en mayor medida xilosa) y por hexosas (en mayor medida glucosa) (M.E, 2010).

Las condiciones de operación son de mucha importancia para que aseguran la reproducción del microorganismo de forma más eficiente. Los factores importantes en esta parte del proceso son la temperatura, el medio de fermentación, el pH y la velocidad de agitación. A pesar que en muchos casos las condiciones de operación y de crecimiento microbiano son parecidas entre varias cepas, algunos microorganismos como los genéticamente modificados pueden tolerar condiciones más extremas que las cepas convencionales haciendo de estos casos excepcionales y mucho más difíciles de adquirir (M.E, 2010).



Cabe señalar que la fermentación puede llevarse a cabo de dos maneras: simultánea a la sacarificación de los materiales celulósicos -Sacarificación y Fermentación Simultánea- (SFS) (Wingren & Roslander, 2005) o de manera independiente a la hidrólisis -Hidrólisis y Fermentación Separada- (HFS) (Pejo, 2009).

a) Sacarificación y Fermentación Simultánea (SFS)

Uno de los avances más importantes relacionados con el proceso global de producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica ha sido la implementación y desarrollo del proceso conocido como sacarificación y fermentación simultáneas (SFS), en el que la hidrólisis y la fermentación tienen lugar simultáneamente en un mismo reactor.

En el proceso de SFS la glucosa liberada durante la hidrólisis es directamente metabolizada a etanol por las levaduras. Esta continua eliminación de la glucosa del medio minimiza la inhibición por producto final sobre la actividad de las celulasas (Ballesteros, 2006) lo que se refleja en rendimientos de hidrólisis más altos, necesidad de menores dosis de enzima o ácido, reducción del tiempo total de proceso y productividades de etanol más altas (Alfani & Gallifuoco, 2000).

Así pues, el proceso de SFS se presenta como un método viable y eficiente para la producción de etanol celulósico ya que puede ser empleado con gran variedad de materias primas y con diferentes tecnologías de pretratamiento. no obstante también muestra algunos inconvenientes, puesto que las condiciones óptimas de pH y temperatura en las etapas de hidrólisis y fermentación son diferentes, se deben fijar unas condiciones de compromiso entre ambas.

Es importante señalar, que el pH óptimo para la hidrólisis se encuentra alrededor de 1 - 4. En cambio, el pH para la fermentación, dependiendo del microorganismo,



suele ser 5 o superior. En cuanto a la temperatura óptima, la de la hidrólisis se encuentra alrededor de 50 °C, mientras que la mayoría de microorganismos fermentadores tiene su óptimo de temperatura entre los 30-37 °C. En este contexto, el empleo de levaduras termotolerantes como *Kluyveromyces marxianus* capaces de crecer y fermentar a temperaturas superiores a 40 °C, más cercanas a la temperatura óptima de la hidrólisis, aparece como una alternativa muy prometedora (Pejo M. E., 2010).

b) Hidrólisis y Fermentación Separada (HFS)

La configuración comúnmente empleada en el proceso de producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica implica un proceso secuencial en el que la hidrólisis de la celulosa y la fermentación de la glucosa se realizan en dos reactores diferentes. En este proceso, denominado hidrólisis y fermentación separadas (HFS), la fracción rica en celulosa es primeramente hidrolizada a glucosa. Una vez completada la hidrólisis y separado el residuo de lignina, la glucosa resultante es fermentada y convertida a etanol. La utilización de un medio líquido rico en glucosa hace posible la recirculación de los microorganismos tras la fermentación.

Por lo tanto, la principal ventaja en este tipo de procesos es que cada etapa puede ser llevada a cabo en sus condiciones óptimas de pH y temperatura. Esto permite realizar la hidrólisis a temperaturas alrededor de 50 °C, posteriormente se realiza la fermentación a temperaturas entre 30-37 °C, donde se encuentra el óptimo para la mayoría de microorganismos etanologénicos (Jørgensen & Kristensen, 2007).

La principal desventaja en la HFS se debe a que la acumulación de la glucosa y celobiosa en la etapa de hidrólisis inhibe a las celulasas implicadas en el proceso, obteniéndose, por lo tanto, bajos rendimientos de sacarificación cuando es un proceso hidrolítico enzimático (Stenberg & Bollók, 2000).



2.7.5.1 Mecanismo de fermentación

La glucólisis es la primera etapa de la fermentación (Reacción 2.1), lo mismo que en la respiración celular y al igual que esta necesita de enzimas para su completo funcionamiento. A pesar de la complejidad de los procesos bioquímicos una forma esquemática de la reacción química de la fermentación alcohólica puede describirse como una glicólisis de tal forma que se ve como participa inicialmente una molécula de hexosa:

Reacción (2.1)



La fermentación alcohólica, desde el punto de vista energético, es una reacción exotérmica, libera cierta cantidad de energía y produce gran cantidad de CO₂. El producto es un piruvato según la siguiente reacción.

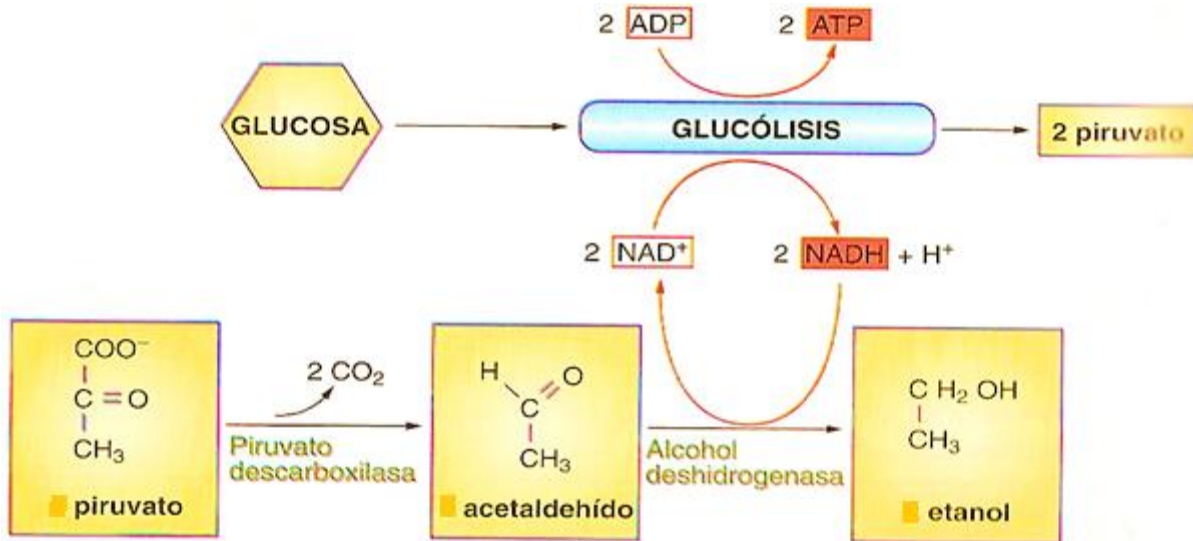
Reacción (2.2)



La reacción química se describe como la reducción de dos moléculas de Nicotinamida Adenina Dinucleotido (NAD⁺) de NADH (forma reducida del NAD⁺) con un balance final de dos moléculas de ADP, que se convierten en ATP (adenosin trifosfato). También se encuentran en trazas el ácido succínico, el glicerol y el ácido fumárico.



Figura 2.3 Fermentación alcohólica



Fuente: (S.A, 2015)

En primer lugar el piruvato se descarboxila mediante la acción de la piruvato descarboxilasa para dar como producto final acetaldehído, liberando por ello dióxido de carbono (CO₂) a partir de iones del hidrógeno (H⁺) y electrones del NADH. Tras esta operación el NADH sintetizado en la reacción bioquímica catalizada por el GADHP se vuelve a oxidar por el alcohol deshidrogenasa, regenerando NAD⁺ para la continuación de la glucólisis y síntesis al mismo tiempo de etanol.

Además se considera que el etanol va aumentando de concentración durante el proceso de fermentación y debido a que es un compuesto tóxico, cuando su concentración alcanza aproximadamente un 12% de volumen, las levaduras tienden a morir (C.F, 2010).

2.7.5.2 Microorganismos relacionados con la producción de bioetanol

En muchos procesos de fermentación, la oxidación de azúcares simples bajo condiciones anaerobias involucra dos fases: la oxidación de la glucosa y el



metabolismo de piruvato. El metabolismo de la glucosa ocurre de la misma manera en la respiración aeróbica y anaeróbica, sin embargo, si el oxígeno no está disponible para su uso como aceptor externo de electrones (como ocurre en la aerobiosis) o el microorganismo no tiene la capacidad de utilizar componentes inorgánicos, la molécula portadora de electrones NAD^+ debe ser regenerada donando electrones hacia componentes orgánicos intermediarios (Bai, 2008).

Teniendo en cuenta las diferentes alternativas bioquímicas para la fermentación de los azúcares, se presenta a continuación una descripción de la ruta de biosíntesis de producción de etanol mediante dos tipos de levaduras.

2.7.5.2.1 Levaduras

Las levaduras son cuerpos unicelulares, generalmente de forma esférica, con tamaño entre los 2 a 4 μm . La principal vía metabólica de este tipo de microorganismo en la producción de etanol es la glucólisis o vía EMP, a través de la cual una molécula de glucosa es metabolizada y dos moléculas de piruvato son producidas. Bajo condiciones anaerobias, el piruvato es posteriormente reducido a etanol con emisiones de CO_2 obteniéndose un rendimiento estequiométrico teórico de 0.511g de etanol y 0.489g de CO_2 por 1g de glucosa metabolizada (Kosaric, 2001).

En la glucólisis se producen dos moléculas de ATP, los cuales son empleados para llevar a cabo la biosíntesis de las células de la levadura, lo cual involucra una variedad de biorreacciones que requieren energía. Además, la producción de etanol está estrechamente ligada al crecimiento celular del microorganismo, lo que significa que la biomasa se obtiene como un subproducto (Chandraraj, 2004).

Es importante mencionar que sin el consumo continuo de ATP por parte del microorganismo que está en crecimiento, el metabolismo glucolítico se vería interrumpido inmediatamente, debido a la acumulación intracelular de ATP, causando



una inhibición a la fosfofructoquinasa (PFK), una de las enzimas de regulación más importantes en la glucólisis. El mecanismo de producción de etanol a partir de glucosa en las levaduras se presenta en Anexo 14, figura 14.1 (Chandraraj, 2004). El microorganismo tradicional más usado para la fermentación alcohólica es la *Saccharomyces cerevisiae*.

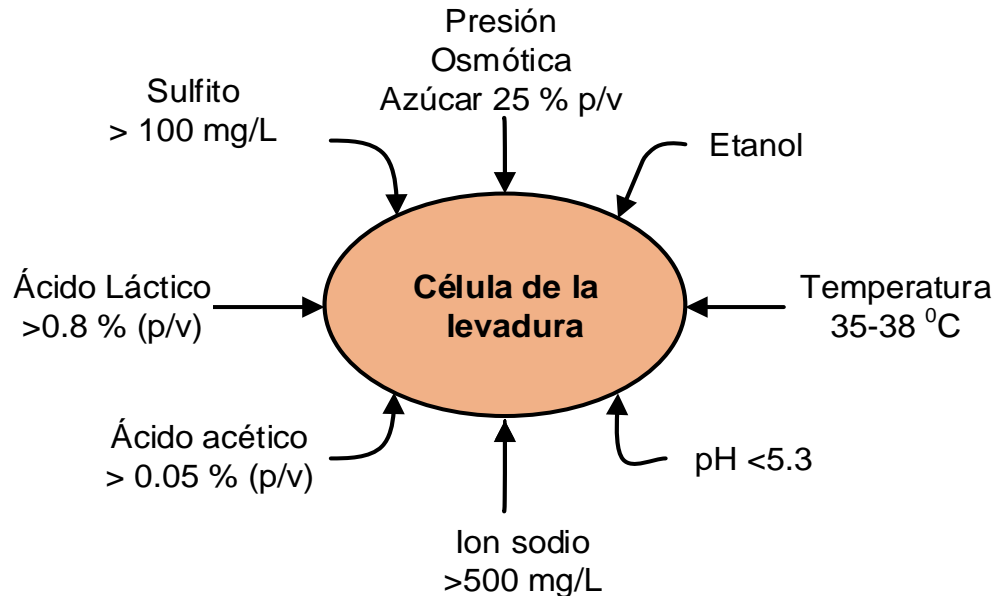
Cabe señalar que además del etanol y CO₂ se producen también varios derivados durante la fermentación, produciendo glicerol a un nivel aproximado de 1.0 % (p/v), también se producen otros derivados como ácidos orgánicos y alcoholes pesados a bajos niveles. La producción de estos derivados así como el crecimiento de células de levadura, junto con la inevitable generación de algunos intermedios glicolíticos en las rutas metabólicas correspondientes, disminuyen el rendimiento de etanol en alguna magnitud (Ingledew, 2000).

En la industria, el rendimiento del etanol es calculado respecto al total del azúcar en el sistema de fermentación sin la deducción del azúcar residual, puede ser tan alto como su valor teórico (90-93%) (Ingledew, 2000). Por consiguiente, el azúcar residual debe controlarse a niveles muy bajos; por ejemplo, no más de 2 g/L y 5 g/L son empleados para reducir el azúcar residual y el azúcar total, respectivamente, en la producción de etanol de materiales lignocelulósicos.

Durante la fermentación del etanol, las células de levadura padecen varias tensiones. Algunas son medioambientales como la deficiencia de nutrientes, temperatura alta y contaminación, mientras los otros son del metabolismo celular de la levadura como la acumulación de etanol y su inhibición correspondiente al crecimiento celular y producción de etanol en la levadura. La figura 2.5 resume algunas de estas tensiones.



Figura 2.4 Las tensiones medioambientales potenciales en la *S. cerevisiae* durante la fermentación para producir etanol



Fuente: Propio

2.7.5.2.1.1 *Saccharomyces cerevisiae*

Es el microorganismo usado frecuentemente para fermentar azúcares a bioetanol en los procesos industriales, ha demostrado ser robusta en la fermentación de los hidrolizados lignocelulósicos (Galbe & Zacchi, 2002). La *S. cerevisiae* puede fermentar hexosas fácilmente, pero apenas la xilosa en el hidrolizado de la lignocelulosa, porque a la *S. cerevisiae* le faltan enzimas que convierten la xilosa a xilulosa (Tian, Zang, Pan, & Yuan, 2008). Sin embargo, esta levadura puede fermentar la xilulosa (Shi & Jeffries, 2010).

Es importante mencionar que la masa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* necesaria para optimizar el proceso fermentativo, corresponde a un rango de 12-14% del 100 % de azúcares Reductores presentes en el sustrato, de acuerdo a lo indicado por (Hidalgo, 2010), no puede haber un exceso ni carencia de la misma, porque incurre



en costos para el primer caso y bajos rendimientos para el segundo. Así mismo el tiempo de fermentación es de 5 a 15 días de acuerdo a la cantidad de sustrato presente en la muestra.

2.7.5.2.1.2 *Pichia stipitis*

Contrariamente a la *S. cerevisiae* la *P. stipitis* puede utilizar L-arabinosa y D-xilosa naturalmente y fermenta eficazmente la xilosa a etanol, ha sido considerada para la fermentación de los hidrolizados de hemicelulosa a etanol. Se han desarrollado varios mutantes con las capacidades de fermentación más altas y la utilización de xilosa mejorada. Sin embargo La *P. stipitis* es incapaz de crecer en condiciones anaeróbicas y es más sensible al etanol e inhibidores que la *S. cerevisiae* (Hahn-Hagerdal, Galbe, & Gorwa-Grauslud, 2006).

2.7.5.3 Factores que afectan el desempeño de los microorganismos en la producción de bioetanol

Los procesos fermentativos, requieren de condiciones de operación que garanticen el buen desempeño de los microorganismos. El manejo de estos presenta ciertas dificultades, específicamente en las condiciones de medios de cultivos y del proceso de fermentación a nivel industrial. Así mismo los factores más importantes que afectan el desempeño de una cepa en un proceso de fermentación y la manera como a partir de estos fenómenos se generan criterios en la selección de microorganismos que optimicen la producción de etanol, son: inhibición por producto, temperatura y aireación.

a) Inhibición por producto

A raíz del interés generado en la producción de etanol a altas concentraciones, se ha visto como este factor afecta el desempeño de los microorganismos fermentadores causando inhibición en el crecimiento microbiano y la reducción en el



rendimiento producto/sustrato. En general, una concentración de etanol mayor al 6% (p/v) tiene un efecto inhibitorio sobre todos los microorganismos. La mayoría de las cepas toleran una concentración de 5.5 % de etanol en el medio de cultivo (Sridhar , 2004).

b) Temperatura

La composición y la estructura de la membrana plasmática y la concentración de fosfolípidos se obstruyen cuando la bacteria alcanza una temperatura de 40 °C, lo cual conlleva a una pérdida de la integridad de la membrana. Posteriormente, la elevada temperatura resulta en la acumulación de etanol dentro de la célula, lo cual tiene un significativo efecto en la viabilidad de las células (Sridhar , 2004).

En el caso de levaduras como las especies del género *Saccharomyces* la velocidad de producción de alcohol incrementa de forma estable hasta los 30 °C y de forma suave hasta los 36 °C, pero disminuye a temperaturas superiores a los 37 °C. Algunas cepas son capaces de crecer a temperaturas por encima de los 37 °C y son comúnmente nombradas como termofílicas, mientras que otras tienen una temperatura máxima superior a los 45 °C y son comúnmente llamadas termotolerantes.

c) Condiciones de aireación

Muchos microorganismos, tanto levaduras como bacterias, crecen en condiciones anaeróbicas y el oxígeno en exceso tiene un efecto negativo sobre la producción de etanol porque inhibe el consumo de sustrato y el crecimiento microbiano. A bajas concentraciones de sustrato, las velocidades de crecimiento y el rendimiento de biomasa son independientes de la presencia de oxígeno. De forma opuesta, a altas concentraciones de sustrato, decrecen los parámetros de crecimiento (Chandraraj, Concise Encyclopedia of bioresource, 2004).



2.7.6 Características fisicoquímicas del bioetanol

Por sus propiedades físico-químicas, el bioetanol se considera un sustituto de la gasolina en los motores de ciclo Otto, en la tabla 2.9 se muestran las características físico químicas que hacen posible la utilización del bioetanol y se compara con la gasolina.

Tabla 2.9 Comparación de las propiedades físico-químicas del bioetanol y la gasolina

Parámetro	Unidad	Etanol	Gasolina
Fórmula	-	CH ₃ -CH ₂ OH	C _n H _m (n=4/12)
Peso molecular	Kg/mol	46.07	100/105
Estado de agregación	-	Líquido	Líquido
Oxígeno	% en peso	34.80	0
Densidad	kg/m ³	789	720/780
Solubilidad en agua	%	100	0.1
Calor latente de vaporización	kJ/kg	850	330
Temperatura de ebullición	°C	78	30/215
Temperatura de fusión	°C	-114	-
Poder calorífico inferior	KJ/kg	28.225	43.500
Relación aire/combustible estequiométrica	-	9.0	14.5
Presión de vapor	kPa	15-17	49-65
Temperatura de ignición	°C	420	220
Acidez	pK _a	15.9	NP
Punto de inflamabilidad	°C	13	-43
Límite de explosividad	%	3.3 a 19	1.2 a 7.6

Fuente: Recopilado por autoras

2.7.7 Usos y aplicaciones del etanol lignocelulósico

El bioetanol lignocelulósico, tiene múltiples aplicaciones, así pues, el mercado del alcohol puede subdividirse en tres, de acuerdo a sus destinos fundamentales como: combustible, uso industrial y bebidas alcohólicas.



2.7.7.1 Combustible

- **Usos del etanol como biocarburante**

Existen tres formas de utilizar el etanol como biocarburante. La más utilizada de estas es cuando el bioetanol se emplea en mezclas con gasolina convencional para sustituirla como carburante en mayores o menores proporciones; no sustituye totalmente a la gasolina, ya que esta le da a la mezcla estabilidad y resta volatilidad. Las mezclas pueden ser E5, E10, E20 y hasta E95 (PC., 2012), indicando en número el porcentaje de etanol empleado en la mezcla: en medida que se aumenta el contenido de etanol en la mezcla se reduce el impacto contaminante, ya que libera menos CO₂.

Otra manera de poder utilizar bioetanol como combustible es modificar las características del motor del vehículo para usar mezclas con mayor contenido de etanol. La tercera estrategia es utilizar el bioetanol como aditivo sustituyendo el metil terbutil éter (MTBE) que es un aditivo utilizado para incrementar el nivel de octanaje en la gasolina común pero que es altamente contaminante.

Brasil es el principal país pionero en la producción y utilización de bioetanol como combustible carburante, en 1975 el gobierno brasileño inició el programa Pro-alcohol para desarrollar el uso de alcohol etílico como combustible, así podía ser utilizado para reemplazar MTBE, a diferencia de este, el etanol es menos agresivo con el medio ambiente ya que hace que la gasolina aumente su grado de biodegradabilidad.

De 1,975 a 2,000 Brasil produjo aproximadamente 5.6 millones de vehículos con motores a prueba de etanol, aparte de los automóviles con motor capaz de aceptar etanol, el gobierno aprobó la mezcla de etanol con gasolina en un 25% en cada litro de gasolina (Moawad, 2012). El aspecto positivo de esta mezcla es que se evita la emisión de 110 millones de toneladas de dióxido de carbono en la atmósfera.



De acuerdo con la Agencia para el Aceite de Brasil, en 2007, se han producido 492 toneladas de caña de azúcar y una porción de este material se utilizó para generar 8.4 mil millones de litros de etanol puro y 13.9 millones de litros de etanol hidratado. Es así como Brasil está a la vanguardia de desarrollo de biocombustibles como fuente de energía alternativa renovable, así como Estados Unidos y algunos países asiáticos (Masiero, 2011).

2.7.7.2 Uso industrial

- Se usa como principio activo en la industria farmacéutica y de cosméticos, es un buen disolvente puede usarse como anticongelante y en la fabricación de medicamentos. (s.a, Industria del etanol, s.f). (s.a, Alcohol Etílico, 2015)
- Disolvente industrial. (s.a, Los principales usos y aplicaciones del alcohol etílico , 2011)
- En la industria química como compuesto de partida en la síntesis de diversos productos, como disolvente de barniz y pinturas. (s.a, Industria del etanol, s.f)
- En la industria de elaboración de perfumes, como materia prima para la elaboración de los mismos. (s.a, Industria del etanol, s.f). (s.a, Los principales usos y aplicaciones del alcohol etílico , 2011).
- Antiséptico: Se usa en toallitas médicas comunes y en la mayoría de los geles antibacterianos desinfectantes para manos a una concentración de aproximadamente 62% v / v como un antiséptico. Es eficaz contra la mayoría de bacterias, hongos y virus, pero no es eficaz contra las esporas bacterianas. (s.a, Alcohol Etílico, 2013)
- En la medicina. (J. E. Álvarez Gómez., 2011)

2.7.7.3 Industria de bebidas

Es el principal constituyente psicoactivo en las bebidas alcohólicas, con efectos depresivos sobre el sistema nervioso central. Tiene un modo de acción complejo y afecta múltiples sistemas en el cerebro. Es metabolizado por el cuerpo como un nutriente que aporta energía. (s.a, Alcohol Etílico, 2013).

CAPÍTULO III:

HIPÓTESIS





HIPÓTESIS

El porcentaje de conversión y rendimiento de bioetanol obtenido a partir de la coronta de maíz variedad HS-5 podría ser más efectivo, mediante la optimización y control de las variables operacionales: masa de coronta, concentración de ácido, temperatura, tiempo de hidrólisis, masa de levadura y tiempo de fermentación.

CAPÍTULO IV:

DISEÑO METODOLÓGICO





4. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Descripción del ámbito de estudio

El estudio para la obtención de bioetanol a partir del olote del maíz, se desarrolló en los laboratorios 101, 107 y Tecnología Farmacéutica del departamento de química, laboratorios ubicados en el pabellón nº 1 y 11 de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Así mismo, se realizaron ensayos para la cuantificación de azúcares reductores en el laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos LAFQA, ubicado en el pabellón nº 3 de la misma. Por otro lado, se desarrollaron pruebas cromatográficas para la cuantificación de alcohol, en el laboratorio de operaciones unitarias, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Ingeniería (UNI).

4.2 Tipo de estudio

La presente investigación es descriptiva y experimental (Piura, 2008), la cual tiene como propósito fundamental establecer relaciones entre dos o más variables, se desarrolla con el tipo de diseño experimental cuantitativo, permitiendo la manipulación y control de las condiciones operacionales en el proceso de hidrólisis ácida diluida y fermentación separada para la obtención de bioetanol, lo que da lugar a la cuantificación de azúcares reductores mediante espectrofotometría Uv-Vis, así como la identificación de bioetanol con la técnica analítica cromatografía de gas, así mismo este estudio pertenece al área tecnológica procesos industriales y a la línea de investigación energías renovables.



4.3 Población y muestra

4.3.1 Población

Para determinar la población se realizó una entrevista a nueve productores de la finca Montiel ubicada en el municipio de El Jícaro departamento de Nueva Segovia, de acuerdo a los resultados de la entrevista (Anexo 15), se seleccionó la producción del agricultor número 1 por altos rendimientos que obtuvo en la cosecha, por tal razón, se considera como población 408,600 gramos de residuo agroindustrial olote del maíz variedad HS-5, generados de 1.5 manzanas sembradas en el ciclo agrícola 2014/2015 de dicho productor.

4.3.2 Muestra

Las muestras se seleccionaron por medio del muestreo aleatorio simple (anexo 16), el cual consistió en la selección al azar de 8 muestras de 60 gramos de coronta de maíz variedad HS-5, que se encontraron a granel después de la extracción mecanizada del grano, se almacenaron en bolsas de polietileno y se transportaron al laboratorio en donde se tomaron 35 gramos de cada una de las 8 muestras, se trituraron y tamizaron para luego tomar 138 gramos para la caracterización físico-química y 120 gramos para desarrollar el proceso de obtención de bioetanol.

Cabe mencionar que las 8 muestras representan las ocho corridas experimentales que resultaron mediante el diseño de experimento Taguchi, tomando un porcentaje representativo de 58.3 % de cada muestra para hacer una mezcla y partir de ahí para la toma de las diferentes proporciones para las etapas posteriores (caracterización y proceso).



4.3.2.1 Criterios de Inclusión

- Coronta (olote) del maíz variedad HS-5
- Coronta (olote) del ciclo agrícola 2014-2015

4.3.2.2 Criterios de exclusión

- Pudrición del olote (coronta) por *Nigrospora*, *Stenocarpella maydis*, *Micoplasma helicoidal* o *Spiroplasma*.
- Coronta (olote) de maíz con perforaciones provocadas por Gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*).
- Muestras que presentaban suciedad y materia extraña
- Tiempo de permanencia del olote en el campo después de la cosecha (mayor de 3 meses).

4.4 Variables y operacionalización

4.4.1 Variables Dependientes

- Porcentaje de rendimiento (% R)
- Porcentaje de conversión (% X)

4.4.2 Variables Independientes

- Cantidad de materia prima (coronta de maíz)
- Concentración de ácido sulfúrico
- Temperatura de hidrólisis
- Tiempo de hidrólisis
- Cantidad de levadura
- pH de la fermentación
- Tiempo de fermentación

4.4.3 Operacionalización de las variables

Variables	Concepto	Indicadores	Valores
Dependientes			
Porcentaje de conversión	Masa en gramos de bioetanol obtenido experimentalmente, dividido entre la masa en gramos de coronta alimentada, multiplicada por cien.	$\%X = \frac{\text{masa de ROH experimental}}{\text{masa alimentada}} \times 100$	20-90%
Porcentaje de rendimiento	Masa en gramos de bioetanol obtenido experimentalmente, dividido entre la masa teórica de bioetanol teórico, multiplicado por cien.	$\%R = \frac{\text{masa de ROH experimental}}{\text{masa teórica de ROH}} \times 100$	20-90%
Independientes			
Cantidad de materia prima (coronta de maíz)	Masa en gramos de coronta del maíz, variedad HS-5 tomando diferentes proporciones de acuerdo al diseño de experimento.	Masa	10 y 20 gramos
Concentración de ácido sulfúrico H₂SO₄	Porcentaje de ácido sulfúrico presente en un volumen de solución capaz de provocar el rompimiento en la estructura del material lignocelulósico y la posterior conversión en azúcares reductores.	Porcentaje volumen	4,7 %



Temperatura de hidrólisis	Nivel Térmico al cual se someten los residuos de coronta de maíz para acelerar el proceso de hidrólisis.	Grados Celsius (°C)	90,100 °C
Tiempo de hidrólisis	Momento necesario para provocar el rompimiento de los enlaces químicos del material lignocelulósico con el efecto de la concentración del ácido y la temperatura.	Horas	1.5, 2 horas
Cantidad de Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Medio de cultivo de Sustancia fermentada unicelular que produce enzimas capaces de provocar la fermentación alcohólica de la glucosa hidrolizada.	Porcentaje masa volumen	12, 14 %
pH de la fermentación	Coeficiente que mide el grado de acidez o basicidad para controlar la actividad microbológica de la <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en el proceso fermentativo	Ácido	5.5-6.5
Tiempo de fermentación	Magnitud física que permite medir la duración con la cual se da la conversión de azúcares reductores en alcohol.	Días	6, 8 días



4.5 Material y método

4.5.1 Materiales para recolectar información

Para la elaboración de este documento se llevó a cabo revisión bibliográfica, fundamentada en artículos científicos, tesis de grado, libros de texto, todos ellos enfocados en la obtención de bioetanol y temas afines a la materia prima coronta del maíz (olote).

De la revisión bibliográfica se realizaron resúmenes de artículos científicos y otros documentos relacionados al tema, sin dejar de mencionar el uso de las fichas de contenido: cita textual y paráfrasis, éstas necesarias para el enfoque de antecedentes y marco teórico. También se estructuraron tablas e ilustraciones, con el fin de explicar y presentar un documento técnico científico donde se presentan los principales países productores de maíz, descripción botánica, componentes de la estructura del olote, propiedades físico-químicas del bioetanol y gasolina, elementos nutritivos necesarios para el maíz, así también los tipos de inhibidores y sus efectos sobre el proceso.

Por lo que se refiere a las figuras, están representadas en el documento con mayor frecuencia en el marco de referencia en donde se muestran ilustraciones como la fermentación alcohólica, las tensiones medioambientales potenciales en la *S. Cerevisiae* durante la fermentación para producir etanol, por otro lado dentro del marco de referencia y anexos también se muestran una serie de figuras que muestran la estructura del olote de maíz, plagas y enfermedades, hasta una galería de fotografías que muestran el proceso agronómico para tener la materia prima utilizada en esta investigación.

Se utilizaron censos agrícolas a nivel mundial, Centroamérica y Nicaragua divulgados por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y el Ministerio Agroforestal (MAGFOR), los que fueron de interés, puesto que permitieron interpretar la producción de maíz en el ciclo agrícola 2014/15.



Los gráficos de barra y de pastel también fueron de utilidad para la representación resumida de la cuantificación y cualificación de la producción mundial de bioetanol, según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (OCDE/FAO). Por otro lado también se realizó la entrevista para recolectar información, puede observarse en anexo 15 y diseño metodológico en selección de la población y muestras del estudio.

También se usaron etiquetas y libreta de campo para anotar los datos de muestreo, así mismo se elaboraron tablas para recopilar los datos de experimentación, en el proceso de hidrólisis, cuantificación de azúcares reductores y fermentación. De igual forma fueron necesarias curvas de calibración para la cuantificación de los azúcares reductores y etanol.

4.5.2 Materiales para procesar la información

Para el procesamiento de los datos se utilizó tablas para resumir los resultados experimentales, como los de referencia bibliográfica. Por otro lado se usaron también las siguientes herramientas informáticas:

- **Minitab 16:** Programa utilizado para realizar el diseño de experimentos y procesamiento de los datos experimentales
- **Office Word 2010:** Software utilizado para el procesamiento de textos, elaboración y edición del documento
- **Office Excel 2010:** Software para la realización de cálculos de resultados y elaboración de gráficos, curva de calibración y cálculo de errores
- **Office Paint 2010:** Necesario para realizar modificaciones en algunas ilustraciones del marco teórico y anexos
- **Office Visio 2010:** Herramienta para elaborar los diagramas de bloques y equipos.



4.5.3 Método

Para el desarrollo de las etapas de esta investigación, se realizaron ensayos analíticos de acuerdo a los objetivos planteados; la primera parte es la caracterización de la materia prima, la cual se efectuó bajo las referencias de las Normas TAPPI (Technical Association of the pulp and paper Industry). La Asociación Técnica de la Industria de la Celulosa y el papel, sociedad no gubernamental fundada en 1915 con sede en Atlanta EEUU. TAPPI cubre tres campos principales: celulosa y papel, empaques de corrugado y empaques de papel sintético, institución reconocida por la estandarización de métodos en este campo.

Cabe mencionar que la materia prima en estudio (coronta del maíz) en su estructura química está constituida principalmente por material celulósico, lo que hace que los métodos estandarizados por las normas TAPPI sean los indicados para la realización de los análisis con resultados confiables.

Los parámetros que se consideraron en la cuantificación analítica para la caracterización físico química de la coronta de maíz son los siguientes; Determinación de: Humedad (TAPPI T 211 om-85), Cenizas con extractivos (TAPPI T 211 om-85), pH (TAPPI T 252om-90), Extractivos Totales (TAPPI, 264 om-88), Cenizas sin extractivos (TAPPI T 211 om-85), % Celulosa (Método de Kurschner y Hoffer) y % Lignina Klason (TAPPI T 222 om-88). (Procedimientos en Anexo 18).

Respecto a la obtención de bioetanol a partir de la coronta de maíz variedad HS-5, se utilizó el método de hidrólisis ácida diluida y fermentación separada, el cual puede resumirse en tres etapas fundamentales: pretratamiento de la muestra, hidrólisis ácida donde el material lignocelulósico es convertido en azúcares reductores totales, cuantificados mediante el método de Miller ácido 3,5- dinitrosalicílico (DNS) (procedimiento en Anexo 19), luego se sometió a un proceso fermentativo para convertir los azúcares reductores en alcohol, seguido de análisis Cromatográfico para la determinación y cuantificación de etanol.



Cabe señalar que este método se desarrolló a escala de laboratorio. Se implementó el diseño de experimento Taguchi, (Anexo 17) reconocido en investigaciones de alto nivel por estudiar todas las interacciones entre factores. Por lo que respecta a este estudio, se relacionaron todas las variables operacionales del proceso definiendo dos niveles, uno bajo y otro alto, las corridas experimentales fueron ocho, a continuación se muestra el diseño de experimento.

Tabla 4.1 Diseño de experimento (Método Taguchi)

Nº	A	B	C	D	E	F	% AR
1	1	1	1	1	1	1	32
2	1	1	1	2	2	2	29
3	1	2	2	1	1	2	36
4	1	2	2	2	2	1	32
5	2	1	2	1	2	1	36
6	2	1	2	2	1	2	35
7	2	2	1	1	2	2	35
8	2	2	1	2	1	1	36

Fuente: Propia (elaborado en Minitab 16)

Tabla 4.2 Valores de las Variables operacionales con niveles alto y bajo

Variables operacionales		Unidad de medida	Niveles	
			Alto (2)	Bajo (1)
A	Masa de coronta	Gramos (g)	20	10
B	Concentración de ácido sulfúrico	Porcentaje (%)	7	4
C	Temperatura de hidrólisis	Grados Celsius (°C)	100	90
D	Tiempo de hidrólisis	Horas (H)	2	1.5
E	Porcentaje en masa de levadura	% m/v	14	12
F	Tiempo de fermentación	Días	6	8

Fuente: propia



▪ **Materiales**

Materiales	Marca	Capacidad/Tamaño	Clase/Tolerancia
Matraces Volumétricos	Pyrex®	500 mL	Clase A/ ± 0.40 mL
Matraces Volumétricos	Pyrex®	250 mL	Clase A/±0.12 mL
Matraces Volumétricos	Pyrex®	100 mL	Clase A/±0.10 mL
Pipetas Volumétricas	Pyrex®	10 mL	Clase A/±0.1 mL
Pipetas Volumétricas	Pyrex®	5 mL	Clase A/±0.05 mL
Probetas volumétricas	Pyrex®	5 mL	Clase A/±0.1 mL
Micro pipetas	Comecta	100 µL	Cod.5904017/±0.8 µL
Micro pipetas	Comecta	500 µL	Cod.080942 /±0.8 mL
Micro pipetas	Comecta	5000 µL	Cod.5904015/±0.8 µL
Probetas volumétricas	Pyrex®	25 mL	Clase A/± 0.02 mL
Probetas volumétricas	Pyrex®	50 mL	Clase A/± 0.5 mL
Probetas volumétricas	Pyrex®	100 mL	Clase A/± 1.0 mL
Buretas	Pyrex®	50 mL	Clase A/±0.05 mL
Beakers	Pyrex®	50 mL	Clase A/± 0.05 mL
Beakers	Pyrex®	100 mL	Clase A/± 0.05 mL
Beakers	Pyrex®	250 mL	Clase A/± 0.05 mL
Beakers	Pyrex®	600 mL	Clase A/±0.05 mL
Beakers	Pyrex®	1,000 mL	Clase A/±0.05 mL
Matraz erlenmeyer	Pyrex®	500 mL	Clase A/±0.05 mL
Matraz erlenmeyer	Pyrex®	1000 mL	Clase A/±0.05 mL
Kitazato	Pyrex®	250 mL	±0.05 mL
Termómetro	Fisher	-10 a 260 °C	±1 °C
Kits de destilación	Pyrex®	24/40	Cod. 6949
Tubos de ensayo	Pyrex®	16 x 150 mm	-
Vidrio reloj	Pyrex®	5 cm de diámetro	-
Agitadores de vidrio	-	20 cm	-
Espátulas Stainless	Fisher	10 cm	-
Embudo Buchner	POBEL	250 mL	-
Tamiz	-	# 3	-
Tapones de hule	-	# 4, 5, 6,8, 9	-
Papel filtro	Fisher		-
Papel kraft	-	-	-
Guantes de nitrilo	CAPLIN POINT	Talla mediana	-
Papel Aluminio	Fans	-	-
Papel toalla	Nevax	100 hojas dobles	-
Tijera	-	Mediana	-
Libreta de campo	Scribe	Mediana	-
Bolsas de polietileno	Ziploc	26.8 x 24.1 x 6.6	-



▪ **Equipos**

Nombre	Modelo	Marca
Horno	Conterrm	J.P.Selecta
Mufla	F62735	Thermolyne
Planchas de calentamiento	29064	BUNSEN
Baño María	3000916	J.P SELECTA
Campana de gases	OR-ST 1200	Burdinola
Centrífuga	Digicen 21	Ortoalresa
Balanza Analítica	Adventure AR0640	Ohaus
Desecadores de Vidrio	-	Pyrex
pHmetro	Basic 20+	Crison
Bomba	KNF	391629
Frigorífico Industrial	Stocklow G	J.P.Selecta
Espectrofotómetro	Lambda EZ 201	Perkin Elmer
Cromatógrafo de gases	7890	Agilent
Laptop	INSPIRON 14R	DELL

▪ **Reactivos**

Nombre del Reactivo	Fórmula Química	Grado	Marca
Ácido Sulfúrico 96.7 %	H ₂ SO ₄	ACS, para análisis de metales trazas	J.T. Baker
Ácido Clorhídrico HCl 10 %	HCl	Pureza media	Fisher
Levadura	–	Puro	Fleischmann
Hidróxido de amonio	NH ₄ OH	ACS	Merck
Agua destilada	H ₂ O	–	–



▪ Procedimiento

1. Selección y recepción de materia prima

La coronta del maíz variedad HS-5 se recolectó en el campo, donde se realiza la extracción mecanizada del grano, se seleccionó de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión y al sistema de muestreo establecido (Anexo 16).

2. Lavado de materia prima

Las muestras de coronta se sometieron a un sistema de lavado con agua del grifo, para eliminar impurezas y material extraño.

3. Secado

Después de lavarse las muestras se procedió a eliminar el exceso de humedad, utilizando un horno eléctrico con un nivel térmico de 70 °C durante 6 horas.

4. Reducción del tamaño

La coronta de maíz lavada y seca se trituró en un molino de discos hasta un tamaño de partícula de 3 mm, con el fin de aumentar la superficie de contacto, favoreciendo los rendimientos en la hidrólisis, porcentaje de azúcares reductores y producto terminado, en este punto se tomaron las muestras para la caracterización físico química.

5. Pesado

Como punto de control se pesó la cantidad de material que entró al proceso, haciendo uso de balanza analítica, se pesaron cantidades de muestra de acuerdo a lo indicado en el diseño de experimento (10 y 20 gramos), los datos de la masa sirven como referencia para la determinación de porcentajes de rendimiento y conversión.



6. Hidrólisis ácida diluida

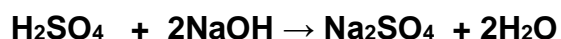
Las muestras de coronta se trataron con ácido sulfúrico al 7 y 4 % según el nivel de trabajo en relación al diseño de experimento, estos se sometieron a temperaturas de 90 y 100 °C durante 1.5 y 2 horas, la cantidad de H₂SO₄ adicionado a la biomasa fue en relación 1:15 m/v.

Este proceso correspondió a hidrólisis ácida diluida, utilizando bajas concentraciones de ácido y altas temperaturas, el producto de la reacción es el desdoblamiento en la estructura del material hemicelulósico en monómeros como la D-glucosa y Xilosa principalmente. En el hidrolizado se obtiene un líquido que corresponde a los azúcares reductores y un sólido que es la lignina y celulosa que no reaccionó, los sólidos se separan del extracto azucarado mediante filtración con fibra de vidrio. La lignina se destina para otros fines de interés que se detallan en anexo 21.

7. Neutralización

Las muestras hidrolizadas se neutralizaron (reacción 4.1) con solución de hidróxido de sodio al 7 y 4 % para regular el pH a un nivel ≤ 5.3 y luego iniciar el proceso fermentativo, esto favorece el metabolismo celular de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, de igual modo la producción de etanol.

En esta etapa finalizó el proceso de hidrólisis, por lo tanto se tomaron muestras del hidrolizado para realizar análisis de azúcares reductores totales, mediante el método espectrofotométrico de Miller Ácido 3,5 – dinitrosalicílico (DNS) (Anexo 19.1).



Reacción (4.1)



8. Fermentación

La fermentación se efectuó separada de la hidrólisis, para esto fue necesario preparar un cultivo de levadura patata Dextrosa (YPD) al 12 y 14 % del peso total de los azúcares reductores totales cuantificados en cada muestra. El medio se preparó con levadura *saccharomyces cerevisiae* (microorganismo capaz de metabolizar la glucosa en alcohol) y como medio nutritivo peptona y glucosa, todos disueltos en agua destilada, la relación masa de levadura, peptona, glucosa fue (1:2:2), luego las muestras se esterilizaron en el autoclave a 121°C por 15 minutos, en seguida se colocaron en una plancha de agitación magnética a 220 rpm por 18 horas (Correa & Mendoza, 2015).

El hidrolizado se sometió a fermentación anaeróbica tomando en cuenta condiciones operacionales en el proceso como: porcentaje de inóculo de levadura 12 y 14 %, tiempo de fermentación 6 y 8 días de acuerdo a los niveles postulados en el diseño experimental, así mismo las muestras se agitaron cuatro veces al día durante 10 minutos para liberar el CO₂, el proceso fermentativo se realizó a temperatura ambiente.

9. Desgasificación

Uno de los productos en la reacción de fermentación es el CO₂, teóricamente 100 gramos de glucosa produce aproximadamente 50.4 g de bioetanol y 48.8 g de Dióxido de Carbono (Kosaric, 2001), el cual tiene que ser separado del sistema en el proceso fermentativo y aprovecharlo para otros fines. Para lo cual se colocó una manguera en la parte superior del montaje de fermentación, el CO₂ se depositó en un Becker con agua.

10. Destilación

Pasados los 6 y 8 días se detuvo el proceso fermentativo, luego mediante destilación simple se procedió a separar el bioetanol producido del material hidrolizado



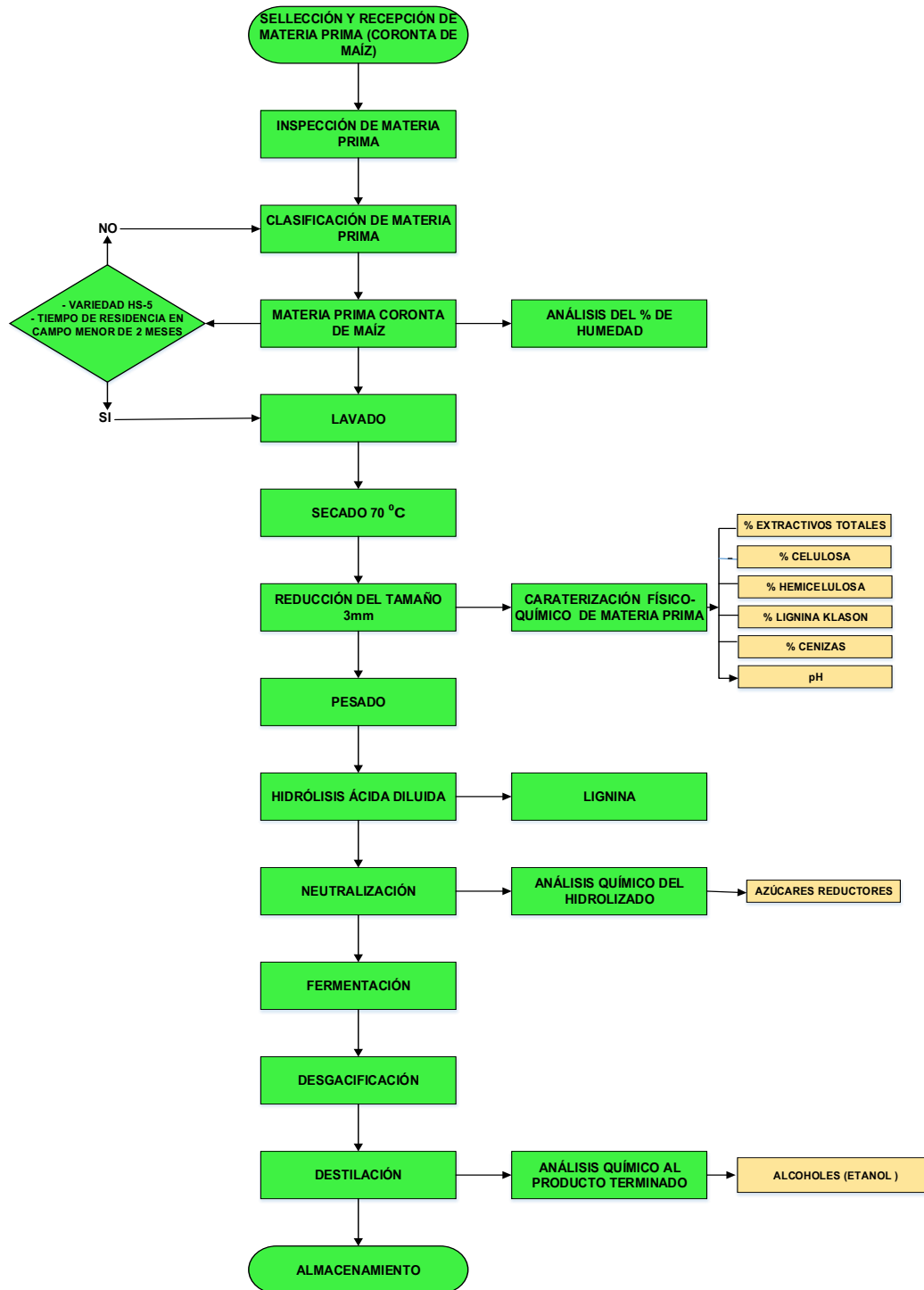
que no reaccionó, en esta operación se controló cuidadosamente la temperatura, teniendo en cuenta el punto de ebullición del bioetanol (78 °C). En Anexo 20 diagrama ilustrativo del proceso a escala de laboratorio.

11. Almacenamiento

Finalmente el producto terminado se almacenó en frascos de plásticos, asegurando que estuvieran bien sellados, para evitar volatilización del producto. En este punto se tomaron muestras de bioetanol para analizarlas mediante cromatografía de gases, para identificación y cuantificación del alcohol etílico.



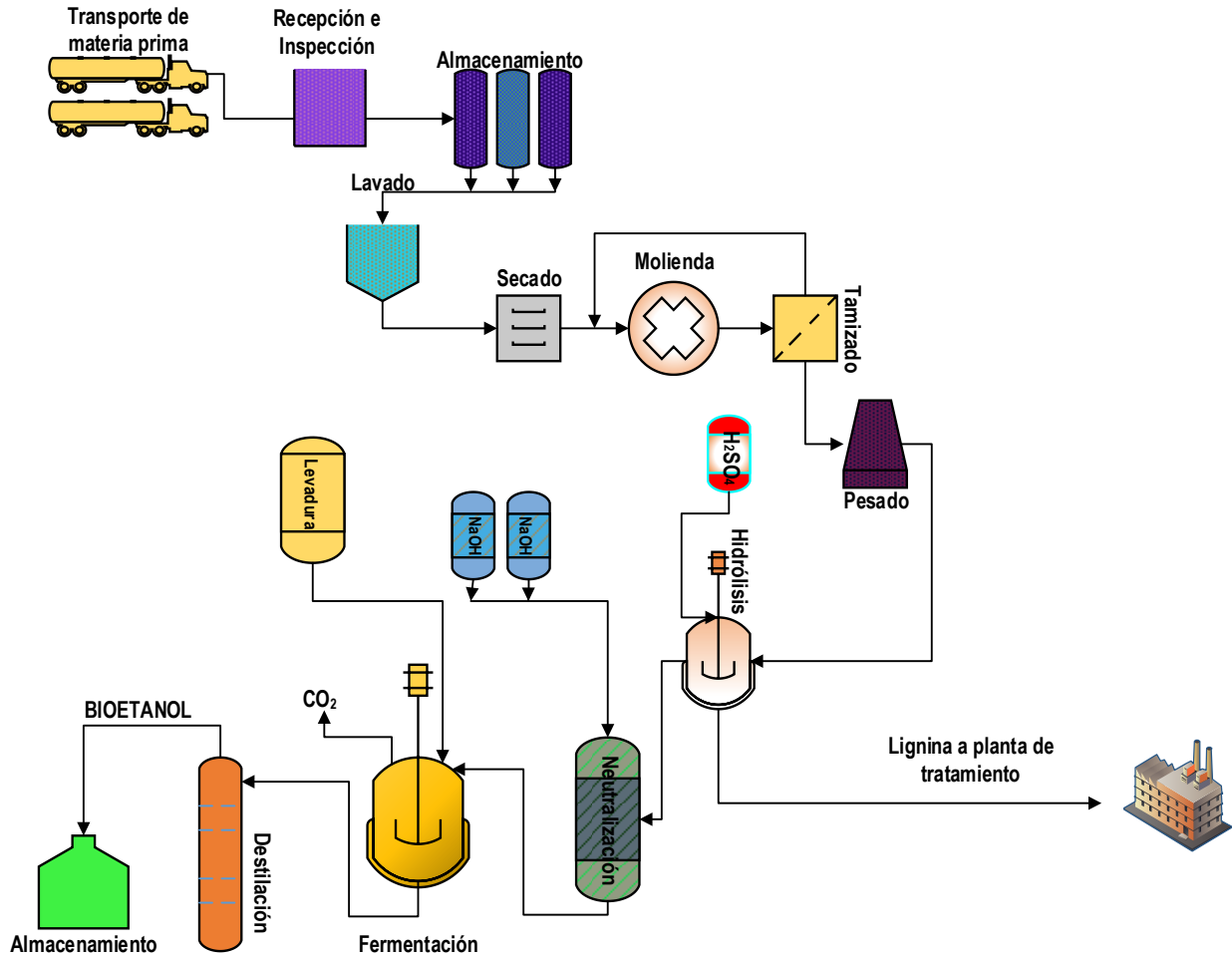
Flujograma 4.1 Proceso de obtención de bioetanol a partir de la coronta de maíz



Fuente: Propia



Diagrama 4.1 Diagrama de equipos para la obtención de bioetanol a partir de la coronta de maíz



Fuente: Propia

CAPÍTULO V:

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS





5. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La organización y análisis de los resultados se fundamentan en los objetivos de estudio.

5.1 Caracterización fisicoquímica de la coronta del maíz variedad HS-5

La caracterización de la materia prima, coronta del maíz variedad HS-5, se llevó a cabo usando la metodología mostrada en la sección 4.4.2, anexo 18. Para cada análisis se realizaron cinco réplicas, los resultados promedios se presentan en la tabla 5.1 y las repeticiones en anexo 22.

Tabla 5.1 Caracterización físico-química de materia prima coronta del maíz variedad HS-5

Nº	Característica	Valor promedio	Desviación estándar
1	% Humedad	0.2020	0.0084
2	% Cenizas con extractivos	1.9560	0.0328
3	pH	5.5660	0.1053
4	% Extractivos totales	0.3627	0.0301
5	% Cenizas sin extractivos	0.1140	0.0054
6	% Celulosa	36.7052	1.4954
7	% Lignina	19.7272	0.9000
8	% Hemicelulosa	43.5676	2.0575

En la tabla 5.1 se observa que la composición de la coronta, corresponde en mayores porcentajes a la celulosa y hemicelulosa, estos resultados tienen una diferencia de 10 % con los observados por (Negret & Cheng, 2010), esta se debe probablemente a la variedad de maíz y a las labores agronómicas, cabe esperar que este porcentaje contribuya a la mayor obtención de azúcares reductores tales como glucosa y xilosa, por tanto mayores cantidades de alcohol.



Así mismo (Cuervo, Folch, & Quiroz, 2009) reporta 80 % de material hemicelulósico, similar al 80.3 % obtenido de la coronta del maíz variedad HS-5; se espera resultados de azúcares reductores similares.

Por otro lado, se encontró que la cantidad de lignina, polímero aromático de estructura tridimensional compleja, ramificada y amorfa coincide con los registrados por (Ramírez, 2009) quien reporta 17 %, de igual manera son semejantes a los datos publicados por (Córdoba, Salcedo, Rodríguez , & Delgado, 2013) con una diferencia del 1.2 % en comparación con los reportados en este estudio, a diferencia de lo que reporta (Syawala, Wardiyati, & Maghfoer, 2013) con una diferencia significativa de 6.3 %, esto se atribuye a la variedad de coronta.

Con respecto a la composición de la coronta de *zea Mays L* referente a su contenido de Celulosa (36.7052 %), Hemicelulosa (43.5676 %) y Lignina (19.7272 %), permite establecer, que este residuo agroindustrial tiene concentraciones adecuadas en estas fracciones, siendo las dos primeras fuentes importantes de carbohidratos, hidrolizables para obtener azúcares simples, útiles como sustrato en procesos biotecnológicos orientados a la producción de alcohol, por encontrarse dentro del rango (25-60% de celulosa, 1-45 % de hemicelulosa, 1-25% de lignina) de materiales lignocelulósicos según (Negret & Cheng, 2010).



5.2 Variables operacionales

5.2.1 Hidrólisis ácida diluida

a) Efectos de los factores sobre el porcentaje de azúcares reductores totales

Los factores analizados mediante la aplicación del diseño de experimento Taguchi, con arreglo ortogonal L8, en el proceso de hidrólisis ácida diluida fueron: masa de coronta, concentración de ácido sulfúrico, temperatura y tiempo de hidrólisis, la variable repuesta de estos factores es el porcentaje de azúcares reductores y totales, determinados mediante el método Ácido 3,5 – dinitrosalicílico (DNS), estos se muestran en la tabla 5.2

Tabla 5.2 Porcentajes de azúcares reductores totales

Nº Experimento	g/g de Azúcares Reductores Totales ³	% de Azúcares Reductores Totales ³
E-1	2.5350	32
E-2	2.2950	29
E-3	2.9280	36
E-4	2.5760	32
E-5	5.8482	36
E-6	5.6118	35
E-7	5.6661	35
E-8	5.7188	36
Porcentaje de azúcares reductores totales estimado= 38 ⁴		

El % promedio de los azúcares reductores totales estimado corresponde a 38, este valor presenta diferencia significativa del 45 % en relación con lo que reporta (Da Silva, Chaves , & Cunha, 2013) y 38 % a lo presentado por (Córdoba, Salcedo, Rodríguez, & Delgado, 2013), esta diferencia se atribuye a la optimización y control

³ Procedimiento de Cálculo en Anexo 19.1, método espectrofotométrico DNS (valores finales en Anexo 23 Tabla 23.1)

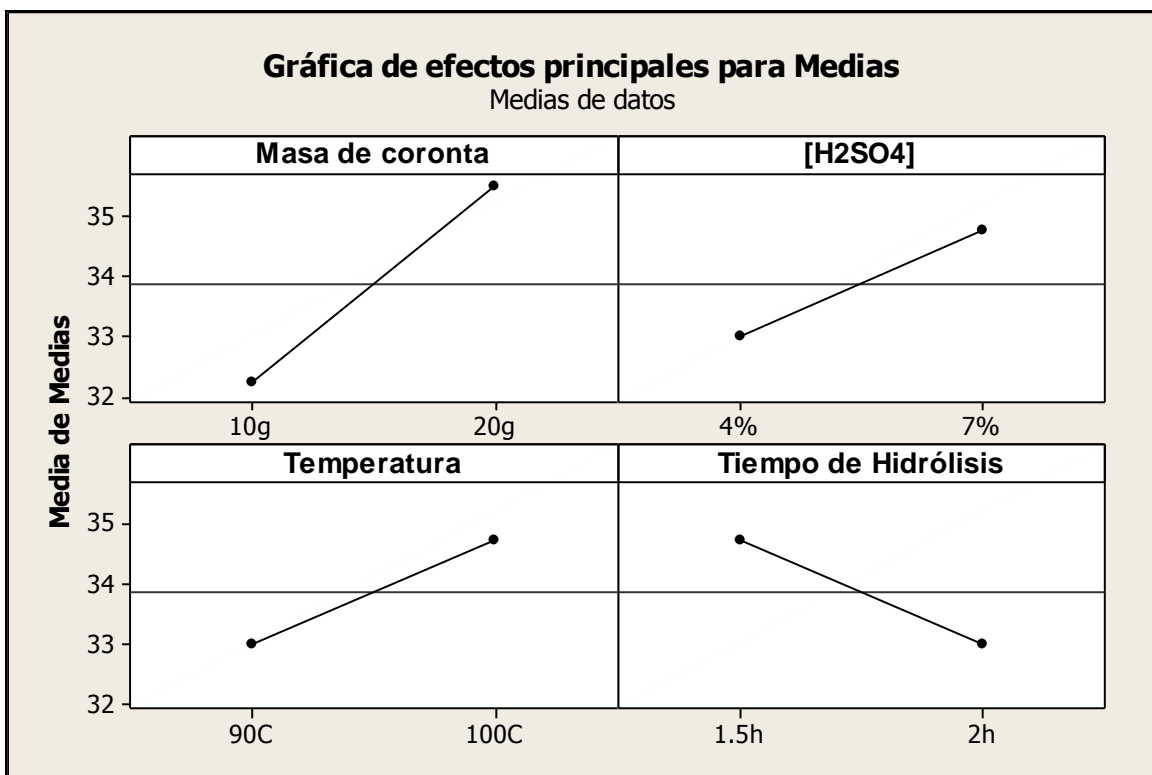
⁴ % Azúcares reductores totales estimado, usando ANOVA en anexo 23 (sección 23.1.1)



de las variables operacionales en el proceso hidrolítico, sin embargo hay similitud con el 34 % publicado por (Dongen & Delgado, 2010).

En la gráfica 5.1 se muestran los efectos de los factores sobre la conversión de azúcares reductores en el proceso hidrolítico, sometidos a proceso fermentativo para la producción de Bioetanol.

Gráfica 5.1 Efecto de los factores sobre el porcentaje de los azúcares reductores



En la gráfica 5.1 se observa, que los factores masa de coronta, concentración de ácido sulfúrico, temperatura y tiempo de hidrólisis tienen mayor inclinación, por lo tanto mayor efecto sobre la variable respuesta % de azúcares reductores totales.

Para la optimización de la masa de coronta se considerará el nivel 2 correspondiente a los 20 gramos que representan el 80.2728 % del peso total del material hemicelulósico, que se ve afectado positivamente con la influencia del



factor temperatura en el nivel 2 (100 °C), provocando el rompimiento de los enlaces β -1,4-O- glucosídicos de los polímeros del material hemicelulósico degradándose en monómeros de glucosa, xilosa, arabinosa (Azúcares Reductores Totales).

Por otro lado se considera trabajar con el nivel bajo (1.5 h) para el factor tiempo de hidrólisis, puesto que la reacción química de la degradación del material hemicelulósico se da en tiempos cortos, en caso contrario los azúcares reductores se degradan en subproductos como furfural e hidroximetilfurfural que causan efectos negativos en el proceso fermentativo (Oliva, 2014).

Con respecto al factor concentración de ácido sulfúrico se observa que tiene efecto sobre la variable respuesta, pero con el fin de reducir costos e impacto ambiental, puede fijarse un valor intermedio del nivel 1 y 2 estimado como el 5 %.

5.2.2 Fermentación separada

b) Efectos de los factores sobre el porcentaje de conversión y rendimiento de bioetanol

La conversión y el rendimiento de bioetanol son las variables respuesta en el proceso fermentativo, se consideran todas las condiciones operacionales: masa de coronta, concentración de ácido, temperatura y tiempo de hidrólisis, como variable respuesta el porcentaje de azúcares reductores totales, por lo cual, en la fermentación entran los azúcares reductores. Se manipulan las variables masa de levadura *saccharomyces cerevisiae* y tiempo de fermentación para tener como respuesta la producción de bioetanol. En la tabla 5.3 se presentan los resultados del % de conversión y rendimiento.



Tabla 5.3 Porcentajes de conversión de azúcares reductores totales y rendimiento de bioetanol

Nº Experimento	Porcentaje de Conversión (%X) ⁵	Porcentaje de Rendimiento (%R) ⁶
E-1	42	84
E-2	28	56
E-3	46	91
E-4	31	61
E-5	39	78
E-6	35	70
E-7	39	77
E-8	32	64
Porcentaje de Conversión estimado= 39⁷		
Porcentaje de Rendimiento estimado= 79⁷		

En la tabla 5.3 se observa que el experimento tres en comparación con los demás experimentos tiene mayor porcentaje de rendimiento y conversión de azúcares reductores totales en alcohol, esto confirma el alto contenido de azúcares obtenidos en el proceso de hidrólisis.

En la gráfica 5.2 se representan los efectos de los factores sobre el porcentaje de conversión de azúcares reductores en bioetanol en la etapa de fermentación.

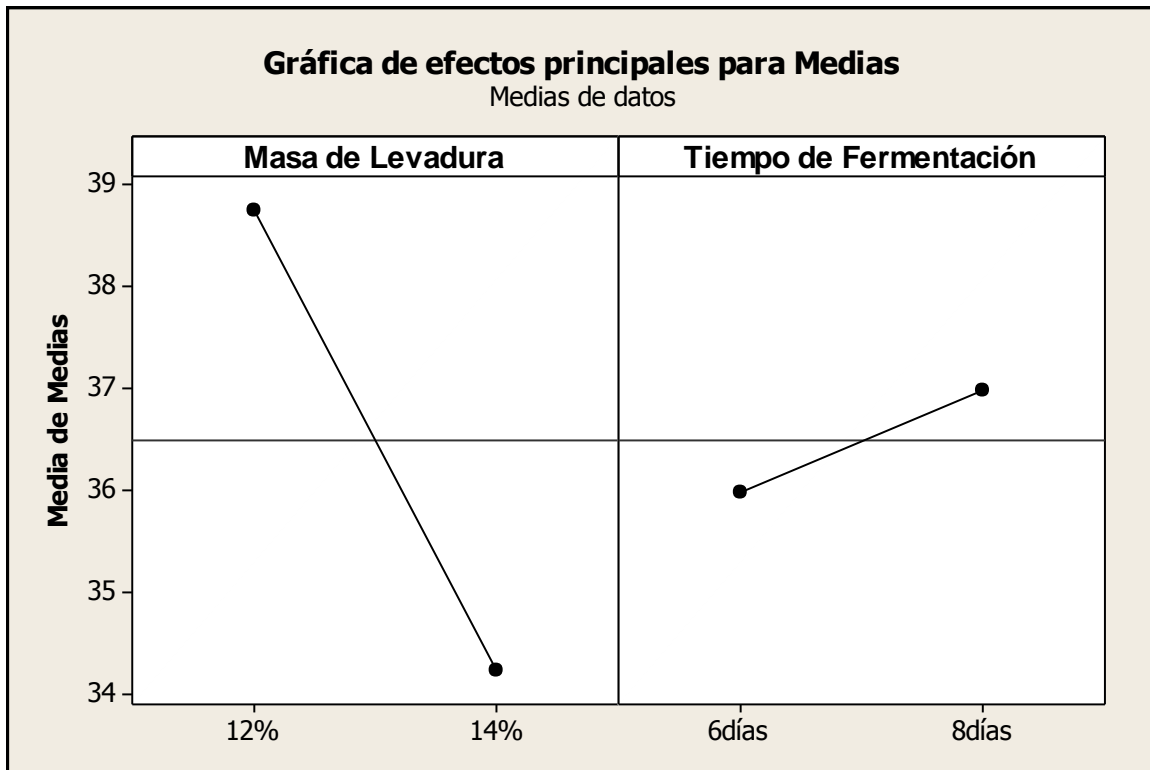
⁵ % X=masa experimental de Bioetanol / masa de azúcares reductores x100 (valores en anexo 23 tabla 23.1)

⁶ % R= masa experimental de Bioetanol / masa teórica de bioetanol referente a los azúcares reductores totales x 100 (valores en anexo 23 tabla 23.1)

⁷ % X, % R estimado en la etapa de fermentación, procesado con ANOVA en anexo 23 (sección 23.1.2)



Gráfica 5.2 Efectos de los factores sobre el porcentaje de conversión de los azúcares reductores en bioetanol



La gráfica 5.2 indica que el nivel bajo (12%) del factor masa de levadura *saccharomyces cerevisiae* ejerce efecto positivo sobre la conversión de azúcares reductores en bioetanol, dado que el aumento en la masa del inóculo representa mayor cantidad de células, utilizando azúcares reductores a un ritmo constante, resultando un aumento general en la velocidad de utilización de estos, los que pueden transformarse en ácido acético (Pejo M. E., 2010), por lo tanto el tiempo óptimo de fermentación corresponde al nivel 2 (8 días).

Por otro lado la optimización de los factores masa de levadura nivel 1 (12 %) y tiempo de fermentación (8 días), se resume en términos económicos.



5.2.3 Análisis del proceso general

c) Efecto de los factores sobre la conversión y rendimiento del proceso global

El porcentaje de conversión y el porcentaje de rendimiento son las variables repuestas en el proceso general (hidrólisis ácida – fermentación separada) para la obtención de bioetanol, a partir de la coronta de maíz variedad HS-5, los resultados se muestran en la tabla 5.4.

Tabla 5.4 Porcentaje de rendimiento y conversión para el proceso global

Nº Experimento	Porcentaje de Conversión (%X) ⁸	Porcentaje de Rendimiento (%R) ⁹
E-1	11	13
E-2	6	8
E-3	13	17
E-4	8	10
E-5	11	14
E-6	10	12
E-7	11	14
E-8	9	12
Porcentaje de Conversión estimado= 24 ¹⁰		
Porcentaje de Rendimiento estimado= 30 ¹⁰		

En la tabla 5.4 se observa que el experimento 3 presenta mayor porcentaje de conversión y rendimiento en relación a los demás experimentos. Esto se debe principalmente al arreglo de las variables operacionales para la optimización y control del proceso global. En las gráficas 5.3 y 5.4 se presentan los efectos de los factores sobre el porcentaje de conversión y rendimiento.

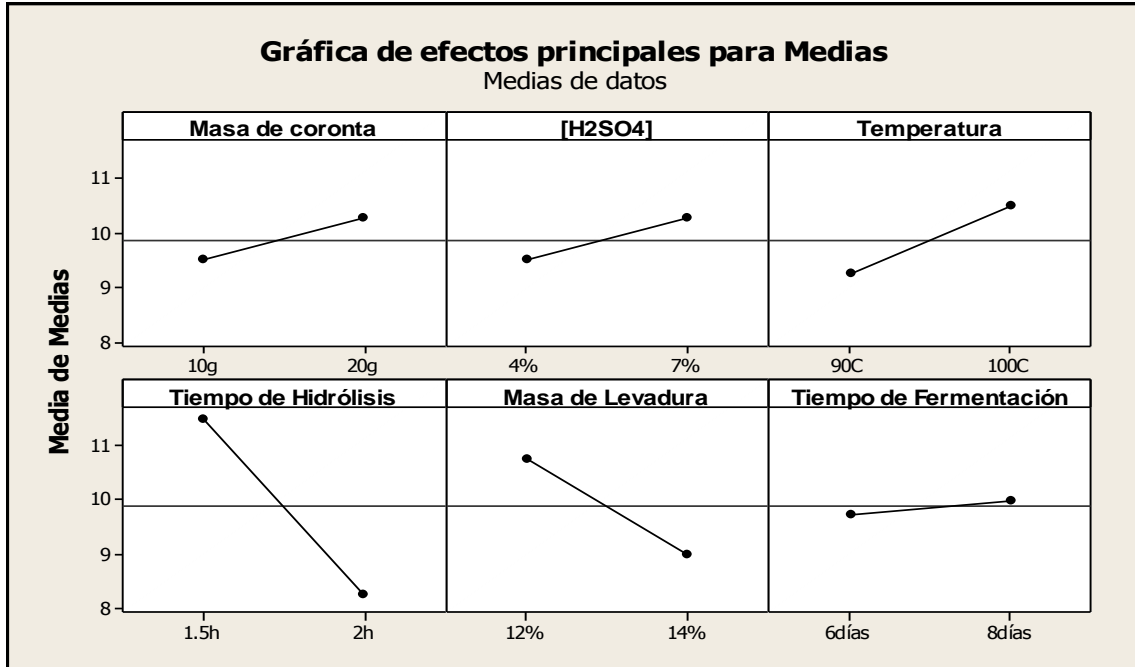
⁸ % X=masa experimental de bioetanol / masa de coronta alimentada x100 (valores en anexo 23 tabla 23.1)

⁹ % R= masa experimental de bioetanol / masa teórica de bioetanol (referente al porcentaje de material hemicelulósico) x 100 (valores en anexo 23 tabla 23.1)

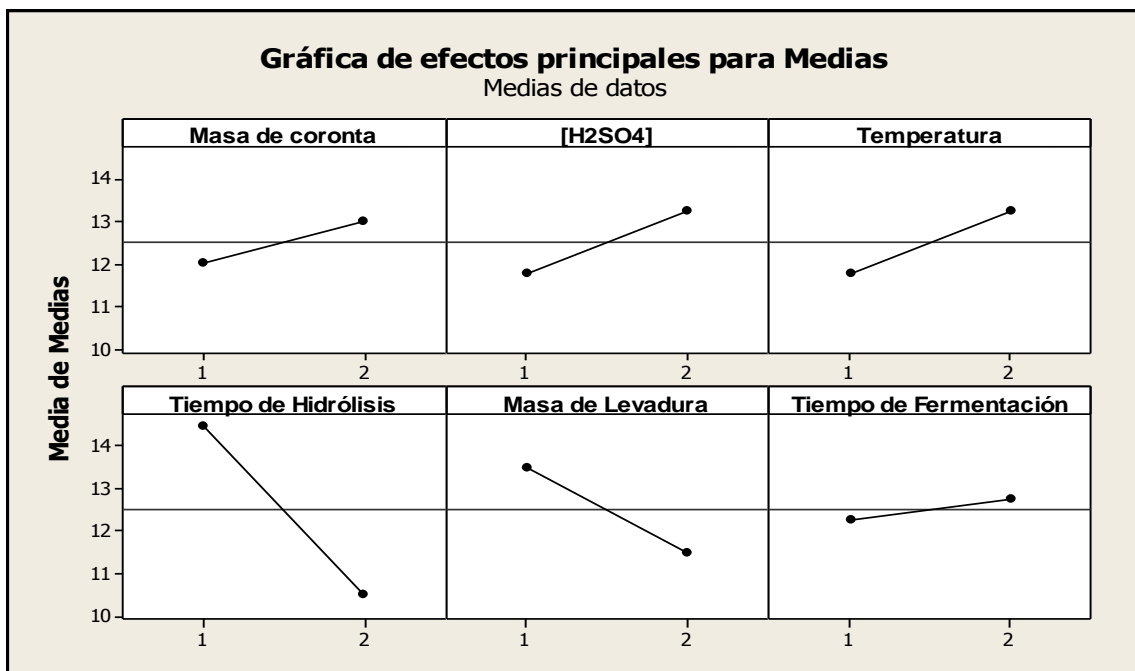
¹⁰ % X, % R estimado en la etapa de fermentación, procesado con ANOVA en anexo 23 (sección 23.1.2)



Gráfica 5.3 Efecto de los factores sobre el porcentaje de conversión en el proceso global



Gráfica 5.4 Efecto de los factores sobre el porcentaje de rendimiento en el proceso global





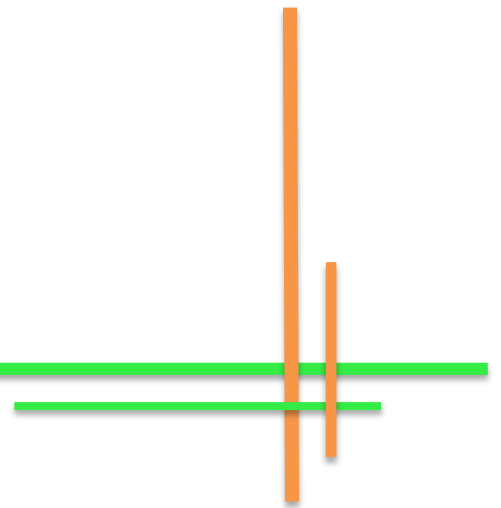
En las gráficas 5.2 y 5.3 se observa que los factores, masa de coronta, masa de levadura, concentración de ácido sulfúrico, tiempo y temperatura de hidrólisis, son los que presentan mayor incidencia en las variables respuestas porcentaje de conversión y rendimiento en el proceso global, para la obtención de bioetanol, a diferencia del tiempo de fermentación, que tiene menor significancia. Mismos efectos observados en el control de las etapas individuales del proceso.

Se establecen las condiciones óptimas de las variables operacionales en la obtención de bioetanol a partir de la coronta de maíz variedad HS-5 por el método de hidrólisis ácida diluida-fermentación separada: masa de coronta 20 g, concentración de ácido sulfúrico 7%, temperatura de hidrólisis 100 °C, tiempo de hidrólisis 1.5 h, masa de levadura 12 % y tiempo de fermentación 8 días.

Así mismo, mediante análisis de varianza se determinó el ajuste de dichas variables, teniendo como resultado 24 % de conversión y 30 % de rendimiento para el proceso global, destacando que el porcentaje de conversión superó el 8.40 % reportado por (Yah, Sunny, & Unuabonah, 2010), con diferencia significativa de 15.6 %, sin embargo el porcentaje de rendimiento es menor en comparación con el 86.9 % y 79.7% publicado por (Bellido, 2013), esto probablemente por los pretratamientos de explosión de vapor y ozonólisis que recibió la muestra de Bellido, también por el uso de levadura *Pichia Stipitis* capaz de fermentar hexosas y pentosas en dicha muestra.

CAPÍTULO VI:

CONCLUSIONES



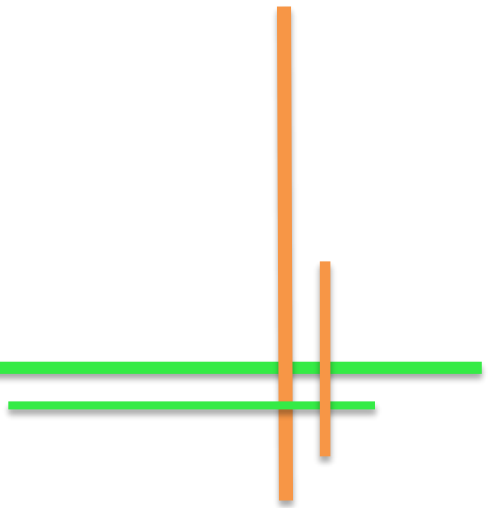


Con base al análisis de resultados de la caracterización de la coronta y la transformación de esta a bioetanol, se observaron los principales efectos de los procesos de hidrólisis ácida-fermentación separada resultando que:

1. Las características fisicoquímicas de la coronta del maíz variedad HS-5 son: % humedad 0.2020, % cenizas 0.1140, % extractivos totales 0.3627, pH 5.5660, % celulosa 36.7052, % lignina 19.7272, % hemicelulosa 43.5676.
2. Las condiciones óptimas de las variables operacionales son: masa de coronta 20 g, concentración de H_2SO_4 7 %, temperatura 100 °C, tiempo de hidrólisis 1.5 h, masa de levadura 12 % y tiempo de fermentación 8 días.
3. Mediante análisis Cromatográfico se identificó la presencia de bioetanol con tiempo de retención de 2.413 minutos.
4. Con la optimización de las variables se obtiene 24 % de conversión y 30 % de rendimiento para el proceso global, equivalente a producir 5, 783,834.59 barriles de bioetanol anuales con los 3, 207,050 toneladas de residuo generado, esto compensa en 53 % la demanda anual de hidrocarburos en Nicaragua.

CAPÍTULO VII:

RECOMENDACIONES





Con base a las conclusiones de este estudio se recomienda:

1. Incrementar los niveles de temperatura por encima de los 100 °C en la etapa de hidrólisis para aumentar el porcentaje de conversión y rendimiento.
2. Usar cultivo de levaduras mixtas (*Pichia Stipitis*, *Saccharomyces Cerevisiae*) en el proceso de fermentación, para convertir todos los azúcares reductores en alcohol.
3. Cuantificar los azúcares reductores específicos (glucosa, xilosa, manosa, arabinosa)
4. Evaluar otros tipos de hidrólisis (térmicas a condiciones supercríticas) con el fin de mitigar la contaminación ambiental provocada por la hidrólisis ácida.
5. Utilizar la lignina generada en el proceso para obtener otros productos de interés industrial (hidrocarburos aromáticos).
6. Realizar este estudio a todos los residuos agroindustriales del maíz (bráctea, hoja y caña).

BIBLIOGRAFÍA





- Alfani, A., & Gallifuoco, F. (2000). Comparison of SHF and SSF process for the bioconversion of steam-exploded wheat straw. *Industrial Microbiology and Biotechnology* 25, 184-192.
- Alizadeh, H. T. (2005). *Pretreatment of switchgrass by ammonia fiber explosion (AFEX)*. Applied Biochemistry and Biotechnology.
- Alvarado, M. (15 de 08 de 2003). Producción de maíz en Nicaragua. Managua, Nicaragua.
- Alvarado, S. (2007). Control de plagas y enfermedades que atacan el cultivo de maíz. San Salvador .
- Alvira, P.-P. E. (2010). *Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis*. Bioresource Technology.
- Bai, F. W. (2008). *Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks*. *Biotechnology Advances*. Nueva York.
- Balat, M. (2010). Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway. *Bioenergy*, 25.
- Balat, M. (2014). Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway. *Energy conversion and Management*, 14.
- Balat, M., & Purwadi, R. (2010). Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway. *Bioenergy*, 25.
- Ballesteros , M. (2006). Carburantes sin petroleo: Bioetanol . *Investigación y Ciencia* 362, 78-85.
- Ballesteros, I., Negro, M., & Oliva, J. (2006). Biochemistry and Biotechnology. Madrid: Hallar.
- Beadle, G. (2000). Teosinte and the origin of maize. En G. Beadle, *Teosinte and the origin of maize* (págs. 245,247). Nueva York: Hered.
- Beall, F. y. (2002). *Thermal degradation of wood components: a review of the Literature*. Madinson-USA: research paper FPL 130.
- Bellido, C. (2013). Obtención de Bioetanol 2G a partir de hidrolizados de paja de trigo. *Tesis Doctoral*. Madrid , España: Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del medio ambiente.



- Benito, G. G. (2013). *Obtención de Bioetanol 2G a partir de Hidrolizados de la paja de trigo. Fermentación conjunta de los penta y hexa carbohidratos con Pichia Stipitis*. Valladolid: Univall.
- Bidlack, J., Malonge, M., & Benson, R. (2000). *Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants*. Oklahoma: Academy.
- Bobleter, O. (2000). *Hydrothermal degradation of polymers derived from plants*. Prog.Polym.Sci.
- Bonilla, A. (2015). *Producción Mundial de Maíz*. Informa.
- Bonique, L. (2012). *Morfología de Zea Mays, L*. México : Prentice .
- Bucardo, I. (2008). *Morfología del maíz (Zea Mays, L)*. Managua.
- C.F, T. (2010). *Producción de etanol a partir de residuos provenientes del cultivo de café*.
- Cantarella, M., Cantarella, L., & Gallifuoco, A. (2004). *Coparision of different detoxification methods for steam-exploded paplar wood as a substrate for the bioproduction of ethanol in SHF and SSF*. Process Biochemestry.
- Cardoza, G. C. (2006). *El maíz: Origen Composición química y morfología*. México: UNAM.
- Casillas, M. B. (2010). *Pretratamiento de Biomasa Celulósica para la obtencion de etanol en el marco de una refinería*. Madrid : Madrid.
- Castillo, Á. (13 de septiembre de 2012). *Aprovechamiento integral de los materiales lignocelulósicos*. Recuperado el 04 de Agosto de 2015, de: <http://www.ehu.eus/reviberpol/pdf/SEP12/alvarez.pdf>
- *Censo Agrícola 2014-2015 MAGFOR* . Managua.
- Chandraraj, K. (2004). En *Concise Encyclopedia of bioresource* (págs. 327-333).
- Chandraraj, K. (2004). Bacterial Alcoholic fermentation. En *Concise Encyclopedia of bioresource* (págs. 327-333).
- Chang, V. y. (2000). *Fundamental factors affecting enzymatic reactivity*. . Applied Biochemistry and Biotechnology.



- *Ciclo del maíz*. (03 de 2012). Recuperado el 14 de 04 de 2014, de <http://euospeneeds.over-blog.com/article-2012-03-ciclo-del-maiz-103252042.html>
- Clarence S. Yah, S. E. (2010). *Temperature Optimization for Bioethanol Production from Corn Cobs Using Mixed Yeast Strains*. Science Publications.
- Conde, S. (2005). Botánica de la planta del maíz y variedades. En S. Conde, *Botánica de la planta del maíz y variedades* (págs. 175, 180). Lima.
- Córdoba, J. A., Salcedo, E., Rodríguez, R., & Delgado, E. (2013). Caracterización y valoración química del olote: degradación hidrotérmica bajo condiciones subcríticas. *SCIELO*, 14.
- Córdoba, J. A., Salcedo, E., Rodríguez, R., & Delgado, E. (2013). Caracterización y Valoración Química del Olote. *SCIELO*, 14.
- Correa, C., & Mendoza, A. (27 de 11 de 2015). *Evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antitoposomerasa I y/o II cepas mutadas de Saccharomyces cerevisiae de plantas de la ecorregión cafetera de Colombia*. Obtenido de <https://www.google.com.ni/webhp?sourceid=chromeinstant&ion=1&espv=2&ie=UTF-8#q=cultivo+de+levaduras+patata+dextrosa+YPD>
- Cuervo, L., Folch, J., & Quiroz, R. (2009). Lignocelulosa como Fuente de Azúcares para la producción de Etanol. *Biotecnología*, 14.
- Da Silva, J., Chaves, R., & Cunha, V. (2013). Extracción, Adición y Caracterización de hemicelulosas de mazorcas de maíz para el desarrollo de las propiedades de los papeles. *SAM/CONAMET*, 9.
- Domine, M. C. (Diciembre de 2013). *Lignina, estructura y aplicaciones: Métodos de Despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial*. Recuperado el 10 de Agosto de 2015, de: *Lignina, estructura y aplicaciones: Métodos de Despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial*. : http://www.exeedu.com/publishing.cl/av_cienc_ing/2013/Vol4/Nro4/3-ACI1184-13-full.pdf
- Dongen, V., & Delgado, F. (2010). Azúcares reductores en olote de maíz. *Ecologist*, 12.



- Duff S.J.B., y. M. (2004). *Bioconversion of forest products industry waste cellulosics to fuel ethanol*. A review: Bioresource Technology.
- Fan L.T., G. M. (2000). *Cellulose Hydrolysis*. Berlín, Alemania: Springer-Verlag.
- FAO. (2015). *Estadísticas de la organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (FAO)*.
- Fengel, D. y. (2000). *Wood: Chemistry, Ultrastucture, reactions*. . Berlín: Walter de Gruyter.
- Flores, H. D. (2012). Guía Técnica. El cultivo del maíz. *Cultsalv*, 10,11.
- Galbe, F., & Salvetti, J. (2012). *bundancia de la biomasa lignocelulósica* . Buenos Aires : Kier.
- Galbe, M., & Zacchi, G. (2002). A review of the production of ethanol from softwood. *Microbiol Biotechnol*, 28.
- Gregg, D., & Saddler , J. (2000). A technoeconomic assessment of the pretreatment and fractionation steps of a biomass-to-ethanol process. *Biochem. Biotech*, 11-12.
- Hägerdal, H., Jeppsson, H., & H, S. (2003). *Bochemistry and physiology of xylose fermentatio by yeast Enzyme Microb Technol*. New York: Readers.
- Hahn-Hagerdal, B., Galbe, M., & Gorwa-Grauslud, M. (2006). ioethanol – the fuel of tomorrow from the residues of today. *Trends Biotechnol* , 24.
- Hendriks, A. Z. (2009). *Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass*. Bioresource Technology.
- Hidalgo , J. (2010). *Tratado de enología* . Madrid, España: Mundi-Prensa.
- Hon, D. y. (2001). *Wood and Cellulosic Chemistry*,. New york: Dekker.
- Imas, P. (15 de 02 de 2012). El potasio: Nutriente del rendimiento de los cultivos. Bogotá, Colombia.
- INE. (27 de 11 de 2015). *Instituto Nicaraguense de Energía. Dirección General de Hidrocarburos* . Obtenido de http://www.ine.gob.ni/DGH/estadisticas/2014/ConsumoNacional_Departamentos_2014_actMay15.pdf



- Ingledew, W. M. (2000). Alcohol production by *Saccharomyces cerevisiae*: a yeast primer, in the alcohol. *Nottingham University Press*, 16-18.
- INTA. (13 de 04 de 2015). *Guía Tecnológica del maíz* . Obtenido de <http://www.inta.gob.ni/biblioteca/images/pdf/guias/GUIA%20MAIZ%202010%202DA%20EDICION.pdf>
- Itoh, H. (2003). *Bioorganosolve pretreatments for simultaneous saccharification and fermentation of beech wood by ethanolysis and white rot fungi* . *Journal of Biotechnology*.
- J. E. Álvarez Gómez., M. S. (19 de Mayo de 2011). *Alcohol etílico (Etanol) Proceso Artesanal*. Recuperado el 02 de Mayo de 2015, de Alcohol etílico (Etanol) Proceso Artesanal.
- J.N, G. D. (2003). *A techno-economic assessment of the pretreatment and fractionation steps of a biomass-to-ethanol process*. *Appl.Biochem.Biotech.*
- Jørgensen, H., & Kristensen, J. (2007). Enzymatic conversion of lignocellulose. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 1, 119-134.
- Jorgensen, H., Kristensen, J., & Felby, C. (2007). Enzymatic conversion of lignocelluloses into fermentable sugars: challenges and opportunities. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*.
- Karagoz, P. R. (2012). *Alkaline peroxide pretreatments of rapeseed straw for enhancing bioethanol production by same vessel saccharification and co-fermentation*. *Bioresource Technology*.
- Kim, K. y. (2001). *Supercritical CO2 pretreatment of lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis*. *Bioresource Technology*.
- Kohlmann, K. W. (2004). *Enhanced enzyme activities on hydrated lignocellulosic substrates*. American Chemical Society National Meeting.: ACS Symposium.
- Kosaric, N. (2001). *Microbiology and Biochemistry of Ethanol Formation. The Biotechnology of ethanol: Clasical and future applications*. WILEY-VCH.
- Lamac, B., & Brush, C. (2002). *Química de la producción del papel*. Bolivia.
- Loasiga, J. L. (2007). *Zonificación del maíz en Nicaragua* . Managua.



- Lynd, L. (2000). *Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: technology, economics, the environment, and policy*. Annual Review of Energy and the Environment.
- M.E, T. (2010). Tesis doctoral. Bioetanol de paja de trigo: Estrategias de integración de las etapas del proceso. Madrid.
- Madrigal, R. (2005). *Caracterización de Bioetanol*. (Mausa, Ed.) México.
- MAGFOR. (2015). *Censo Agrícola del plan Nacional de Producción 2014/2015*. Managua.
- *MAGFOR, Censo Agrícola 2014/2015*. Managua.
- Masiero, G. (2011). *Developments of biofuels in Brazil and East Asia: experiences and dallenges*. Recuperado el 02 de Mayo de 2015, de Developments of biofuels in Brazil and East Asia: experiences and dallenges.:
<http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/33928/1/mohenodelacruzmarina.pdf>
- Marengo, R. (2010). Nutrientes esenciales de las plantas. Brasil . Planeta do Brasil.
- Mendoza, A. E. (2012). Plagas y enfermedades que afectan el cultivo de maíz. San Salvador .
- Miller, J. N., & Miller, J. C. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Anlítica*. Madrid: Prentice Hall.
- Moawad, E. (2012). *Optimizing bioethanol production by regulating yeast growth energy*. Recuperado el 02 de Mayo de 2015, de Syst synth Biol.:
<http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/33928/1/mohenodelacruzmarina.pdf>
- Molina, A. (2010). Evaluación de seis híbridos de maíz . En A. Molina, *Evaluación de seis híbridos de maíz* (págs. 46,47,48). Ecuador: Cuenca.
- *Morfología del maíz* . (2012). Recuperado el 15 de 04 de 2014, http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema2/2_5monocot.htm



- Mussatto, S., & Roberto, I. (2004). Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative process. *Bioresource Technology*, 1-10.
- Negret, C., & Cheng, B. (2010). Caracterización de material lignocelulósico . *ciencia y tecnología* , 7.
- Nichols, N., Sharma, I., & Mowery, R. (2008). Fungal metabolism of fermentation inhibitors present in corn stover dilute acid hydrolysate. *Enzyme and Microbial Technology*, 42.
- OCDE/FAO. (2013). *OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2013-2022*., Recuperado el 03 de Mayo de 2015, de OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2013-2022,: <http://www.fao.org/docrep/018/i3307s/i3307s.pdf>
- Okuda, N., Soneura , M., & Nimoniya, K. (2008). Biological Detoxification of Waste House Wood Hydrolysate Using *Ureibacillus thermosphaericus* for Bioethanol Production. *Bioscience And Bioengineering*, 128-133.
- Oliva , J. M. (30 de 04 de 2014). *Efecto de Productos de degradación originados en la explosión por vapor de biomasa de Chopo Kluyveromyces Marxianus (Tesis Doctoral)*. Obtenido de Tesis Doctoral: <http://www.ucm.es/BUCM/tesis/bio/ucm-t26833.pdf>
- Ortas, L. (2008). El Cultivo del maíz. Fisiología y Aspectos Generales . *AGRICAN, S.A*, 3.
- PC., H. (2012). *Advanced Bioethanol Production Microbial Technologies*. Recuperado el 02 de Mayo de 2015, de Advance Biofuels Production: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/33928/1/mohenodelacruzmarina.pdf>
- Pejo, M. E. (2009). Bioetanol de paja de trigo: estrategias de integración de las etapas del proceso. En *Tesis de doctorado* . Madrid España : Universidad Complutense de Madrid.
- Pejo, M. E. (2010). Bioetanol de paja de trigo: Estrategias de integración de las etapas del proceso. Madrid.
- Pellas, G. (S.F de S.F de 2014). *SER, San Antonio*. Recuperado el 12 de 02 de 2015, de <http://www.nicaraguasugar.com/>



- Piura, J. (2008). *Metodología de la Investigación Científica. Un enfoque Integrador*. Managua: Xerox.
- Quiroz, J. L. (05 de 2011). Evaluación en la producción de chilote variedad HS-5. Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria (UNA).
- Ramírez, R. Q. (2009). Biocombustibles. Lignocelulósicos: Estado del Arte. SEMARNAT, 5.
- Reaves. (2001). Arqueología del maíz. En Reaves, *Arqueología del maíz* (págs. 35,40). México: Prentice.
- Rojas, M. C. (2003). Botánica y composición química del maíz. Venezuela .
- S.A. (03 de 05 de 2015). *Metabolismo celular*. Obtenido de https://www.google.com.ni/search?q=esquema+general+de+la+fermentacion+alcoholica+mecanismo+de+reaccion&espv=2&biw=1366&bih=667&site=webhp&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=oftGVeTzD4HDggT50YDACQ&ved=0CAYQ_AUoAQ#imgrc=bYlby1voJHsl2M%253A%3BxFwaTf5sAWUgGM%3Bhttp
- S.A (Mayo,2007). Scientia et Technica Año XIII, No 34. *Universidad Tecnológica de Pereira*.
- J. E. Álvarez Gómez., M. S. (19 de Mayo de 2011). *Alcohol etílico (Etanol) Proceso Artesanal*. Recuperado el 02 de Mayo de 2015, de Alcohol etílico (Etanol) Proceso Artesanal.
- Masiero, G. (2011). *Developments of biofuels in Brazil and East Asia: experiences and dallenges*. Recuperado el 02 de Mayo de 2015, de Developments of biofuels in Brazil and East Asia: experiences and dallenges.: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/33928/1/mohenodelacruzmarina.pdf>
- Moawad, E. (2012). *Optimizing bioethanol production by regulating yeast growth energy*. Recuperado el 02 de Mayo de 2015, de Syst synth Biol.: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/33928/1/mohenodelacruzmarina.pdf>



- OCDE/FAO. (2013). *OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2013-2022*,. Recuperado el 03 de Mayo de 2015, de OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2013-2022,: <http://www.fao.org/docrep/018/i3307s/i3307s.pdf>
- PC., H. (2012). *Advanced Bioethanol Production Microbial Technologies*. Recuperado el 02 de Mayo de 2015, de Advance Biofuels Production: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/33928/1/mohenodelacruzmarina.pdf>
- s.a. (11 de Noviembre de 2008). *Etanol como combustible vehicular*. Recuperado el 02 de Mayo de 2015, de Etanol como combustible vehicular: <http://www.bioetanoldecanadeazucar.org/es/download/cap2.pdf>
- s.a. (06 de Diciembre de 2011). *Los principales usos y aplicaciones del alcohol etílico* . Recuperado el 02 de Mayo de 2015, de Los principales usos y aplicaciones del alcohol etílico : <http://www.quiminet.com/articulos/los-principales-usos-y-aplicaciones-del-alcohol-etilico-2643852.htm>
- s.a. (06 de Diciembre de 2011). *Los principales usos y aplicaciones del alcohol etílico* . Recuperado el 02 de Mayo de 2015, de Quiminet: <http://www.quiminet.com/articulos/los-principales-usos-y-aplicaciones-del-alcohol-etilico-2643852.htm>
- s.a. (19 de Marzo de 2013). *Alcohol Etílico*. Recuperado el 02 de Mayo de 2015, de yasalud: <http://yasalud.com/alcohol-etilico/>
- s.a. (03 de Mayo de 2015). *Alcohol Etílico*. Recuperado el 04 de 2015 de 2015, de EcuRed: http://www.ecured.cu/index.php/Alcohol_Et%C3%ADlico
- Salgado, F., & Murillo, A. (2012). *Botánica del maíz* . México: Prentice Hill.
- Salgado, S. (15 de 09 de 2013). Residuos de maíz de la post-cosecha . *Residuos del maíz*. Managua, Nicaragua : INTA.
- Sánchez , O. J., & Cardona, C. A. (2008). Producción biotecnológica de alcohol carburante I: obtención a partir de diferentes materias primas. *Interciencia*, 30.
- Sánchez, A., Gitierrez, I., Muñoz, J., & Rivera, C. (2010). Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *UMBAGA*, 15.



- Sánchez, O. C. (2005). *Producción Biotecnológica de alcohol carburante I: obtención a partir de diferentes materias primas*. Interciencia.
- Sandoval, R., & Alvarado, J. (2011). *Botánica de Zea Mays, L.* México: Prentice Hill.
- Shi, X. Q., & Jeffries, T. W. (2010). Anaerobic growth and improved fermentation of *Pichia stipitis* bearing a URA1 gene from *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 45.
- Sierra, F. E., Contreras, I., & Guerrero, C. A. (2012). Etanol lignocelulósico: Energético obtenido de procesos fermentativos de la biomasa presente en el Jacinto de Agua. Bogotá: UNC.
- Sridhar, N. (2004). hermotolerant and osmotolerant yeast for alcoholic fermentations. En *Encyclopedia in Bioresource Technology*. (pág. 57).
- Stenberg, K., & Bollók, M. (2000). Effect of substrate and cellulase concentration on simultaneous saccharification and fermentation of steam steampretreated. *Biotechnology and Bioengineering* 68, 205-210.
- Sun y Cheng, J. (2002). *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production*. a review. *Bioresource Technology*.
- Sun, Y. C. (2002). *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production*. A review: *Bioresource Technology*.
- Syawala, D. S., Wardiyati, T., & Maghfoer, M. D. (2013). Production of Bioethanol from corncob and sugarcane Bagasse with Hydrolysis process Using *Aspergillus niger* and *Trichoderma vidide*. *Science, Toxicology And Technology (IOSR - JESTFT)*, 3.
- Taherzadeh, M. J., & Karimi, K. (2007). Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials. *BioResources*, 99.
- Tian, S., Zang, J., Pan, Y., & Yuan, Y. (2008). Construction of a recombinant yeast strain converting xylose and glucose to ethanol. *Front Biol China*, 9.
- Trevor, A. (2000). Botánica y Fisiología del maíz. En A. Trevo. Buenos Aires.
- Trujillo, A. (2013). Plagas mas comunes en el maíz. *Agricult*, 7,8.
- Valladares, C. A. (07 de 2010). Taxonomía y Botánica de los cultivos del grano. *Producción Vegetal*. Tegusigalpa, Honduras: UNAH.



- Valvoliv , J., & Spender , R. (2000). Origen del maíz . En J. Valvoliv, & R. Spender, *Origen del maíz* (págs. 120,134). México: Prentice.
- *Variedades y razas del maíz* . (18 de 10 de 2014). Obtenido de Citlamagazine: <http://citlalired.com/index.php/288-los-hombres-del-maiz-variedades-y-razas-de-maiz>
- Wenga, Y., & Tsai, T. (2009). Separation of acetic acid from xylose by nanofiltration. Separation and Purification Technology. *Technoday*, 15-20.
- Wingren, A., & Roslander, C. (2005). Effect of reduction in yeast and enzyme concentrations in simultaneous- saccharification-and-fermentation-based bioethanol process: technical and economic evaluation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*,, 121-124.
- Yah, S. C., Sunny, E. I., & Unuabonah, I. E. (2010). Optimización de Temperatura para la obtención de bioetanol a partir de la mazorca de maíz. *Biological Sciences*, 1.
- Zheng, Y.-Z. L.-M. (2000). *Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion*. Biotechnology Progress.

ANEXOS





Anexo: 1

1.1 Zonificación ecológica del cultivo de maíz

Tabla 1.1 Zonificación ecológica del cultivo del maíz (*Zea Mays* L)

Región	Aptitud	Localidad	Época de siembra
I	Óptima	Jalapa, Jícaro, Quilalí	Primera
	Buena	San Fernando, Estelí, Pueblo Nuevo, Casa Blanca	Primera y Postrera
	Regular	Condega, Somoto, Ocotal, Yalí	Primera
II	Buena	Chichigalpa, Posoltega, El Viejo, Chinandega	Primera
	Regular	La paz Centro, El Sauce, Nagarote, Somotillo	Primera
III	Regular	Zambrano	Primera
IV	Óptima	Masaya, Nindirí, Las pilas, Los Altos, Cofradía	Primera
	Buena	Nandaime, Tola, Diriamba, Nancimí, Veracruz, Ometepe, San Marcos	Primera
V	Buena	Nueva Guinea, El Caracol, Yolaina	Postrera y Apante
VI	Óptima	Pantasma, Sucalí, Samulalí, San Dionicio, Wiwilí.	Primera

Fuente: (Loasiga, 2007)



Anexo: 2

2.1 Características agronómicas de variedades de maíz en Nicaragua

Tabla 2.1 Características agronómicas de variedades de maíz recomendados en Nicaragua

Variedades e híbridos	Días a flor	Días a cosecha (ciclo vegetativo)	Rendimiento qq/mz	Región recomendada	Procedencia
Mejoradas					
NB-100	45	95	40-50	II,III,IV	P.N.M
NB-6	56	110	60-70	II, III, IV	P.N.M
NB-12	56	110	55-65	II,III,IV,IV	P.N.M
NB-30	50	100	45-50	II,III, IV	P.N.M
Híbridos					
B-833	65	130	70-80	I, V, VI	DEKALB
HS-5	57	115	80-85	I, V, VI	AGROMER

Fuente: (Loasiga, 2007)



Anexo: 3

3.1 Métodos de Siembra en Nicaragua

Esta práctica agrícola se hace de acuerdo al sistema de producción que tiene cada región. Es importante mantener la estructura física, química y biológica del suelo, que determinan la fertilidad, erosión, infiltración y almacenamiento de agua, así como el desarrollo y proliferación de las malezas y el crecimiento del sistema. La labranza se puede realizar de forma manual, al espeque, con animales de tiro e implementos sencillos o de forma motorizada, con tractores e implementos más complejos en su construcción y operación (INTA, 2015).

3.1.1 Labranza Manual o con espeque

Esta se efectúa especialmente en terrenos con pendientes mayores al 20%, utilizando para ello el chuzo o espeque para hacer un hueco en el suelo y depositar la semilla. El distanciamiento entre surco oscila entre 0.80 a 0.90 cm y; entre posturas, 0.40 a 0.50 m, depositando 2 semillas en cada una de ellas, para obtener una densidad de 50,000 plantas por hectárea (43,750 plantas/mz). La población óptima para una producción satisfactoria es 65,000 plantas/ ha (45,000 plantas/mz) que se obtiene con un distanciamiento entre surco de 0.8 m a 0.40 cm entre postura y dos plantas por postura (INTA, 2015).

3.1.2 Mecanizada o con tracción animal

Este método se utiliza en terrenos de topografía plana a semiplana, donde tanto la preparación del suelo como la siembra pueden ser mecanizadas. Se puede también realizar la preparación de suelo (arado, rastra) con maquinaria; luego, surcar con bueyes y sembrar en forma manual, dejando un distanciamiento entre surco de 0.80 a 0.90 cm, y 0.40 a 0.50 cm entre postura, depositando 2 semillas en cada una.

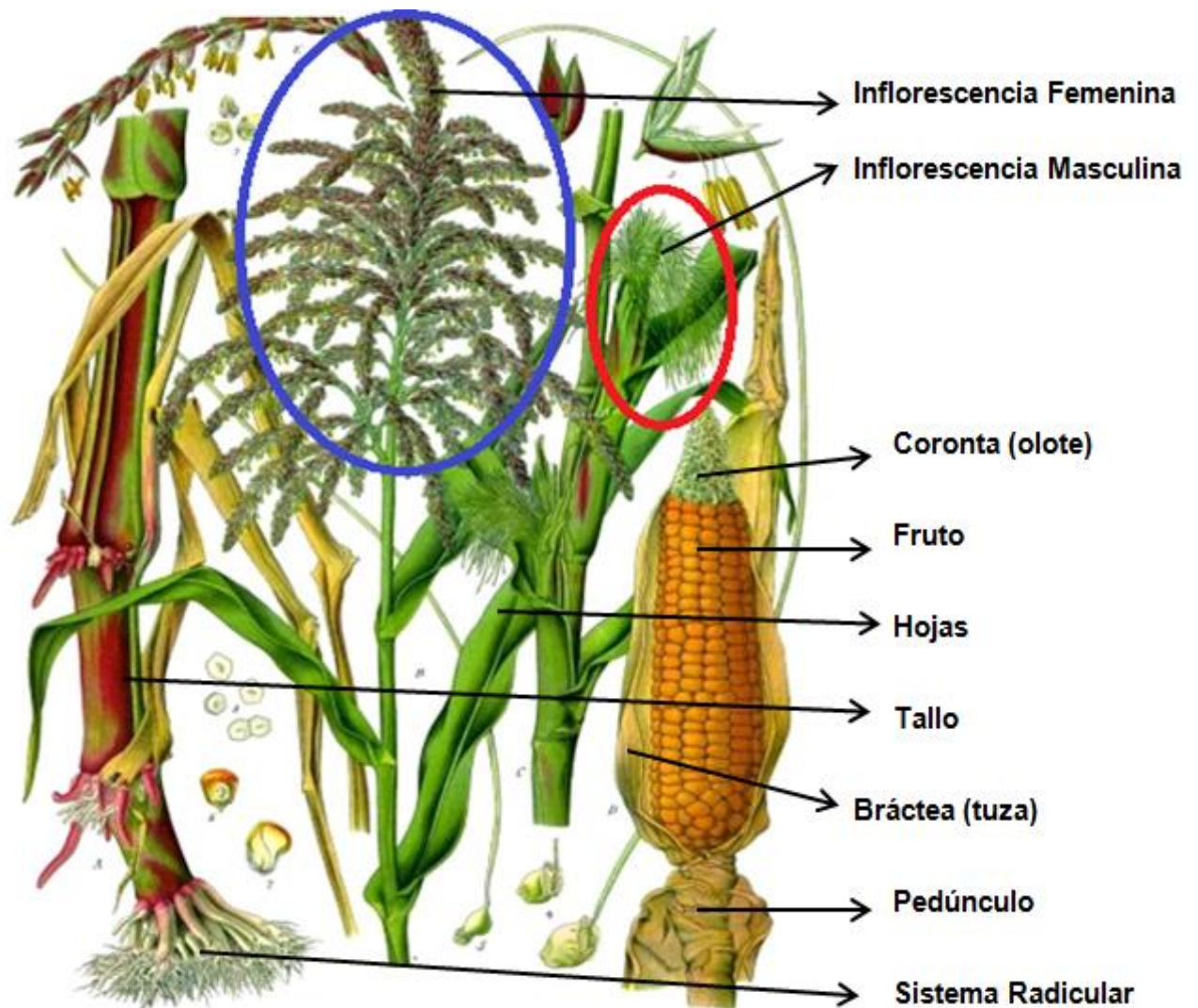


Cuando las áreas son más grandes, la siembra se efectúa con maquinaria, con un distanciamiento entre surco igual que el anterior, la sembradora deposita de 10 a 12 semillas por metro lineal, efectuando posteriormente un raleo para dejar un distanciamiento entre plantas de 0.20 a 0.25 cm. En ambos sistemas, la densidad puede variar entre 50,000 a 60,000 plantas por hectárea (35,000-40,000 plantas/mz).

Anexo: 4

4.1 Morfología del maíz

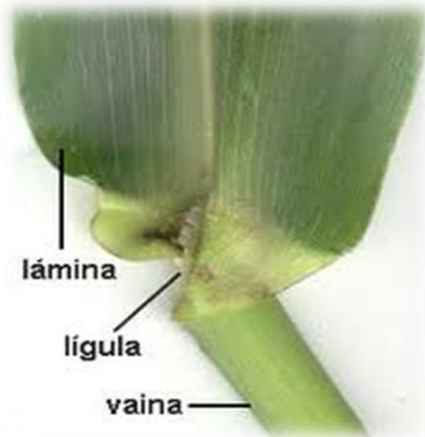
Figura 4.1 Morfología de la planta de maíz



Fuente: Estructurado por autoras

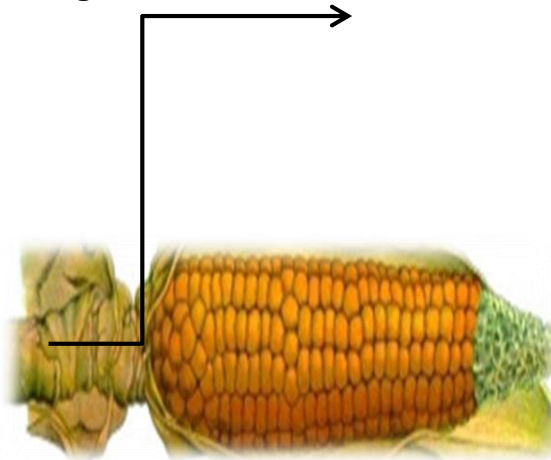


Figura 4.2 Hojas de la planta de maíz



Fuente: (Morfología del maíz , 2012)

Figura 4.3 Pedúnculo de maíz



Fuente: (Ciclo del maíz, 2012)

Figura 4.4 Bráctea o tuza de maíz



Fuente: (Montiel, Fotografía tomada en Finca Montiel, 2015)

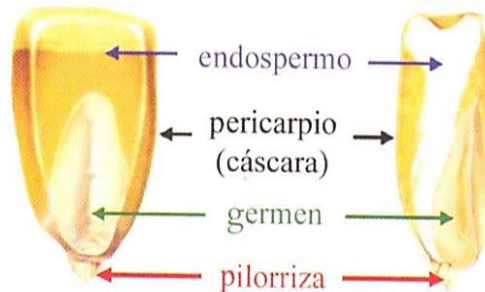
Figura 4.5 Coronta (olote)



Figura 4.6 Granos de maíz



Fuente: (Variedades y razas del maíz , 2014)



Fuente: (Cardoza, 2006)



Anexo: 5

5. Requerimientos Nutricionales del Maíz

5.1 Nitrógeno

La demanda de Nitrógeno aumenta conforme la planta se desarrolla; cuando se aproxima el momento de la floración, la absorción de este elemento crece rápidamente, en tal forma que al aparecer las flores femeninas, la planta ha absorbido más de la mitad del total extraído durante todo el ciclo. Los híbridos de alto rendimiento en grano necesitan unos 30 kilogramos de Nitrógeno por cada tonelada de grano producida (Marenco, 2010).

5.2 Fósforo

Aunque la cantidad de Fósforo en la planta de maíz es baja en comparación con el Nitrógeno y el Potasio, este es un elemento importante para la nutrición del maíz y las mayores concentraciones se presentan en los tejidos jóvenes. También este elemento es importante para el desarrollo radicular. La cantidad de Fósforo extraída por las plantas en condiciones normales de cultivos es aproximadamente 10 kilogramos por tonelada de grano cosechado (Marenco, 2010).

5.3 Potasio

Este micronutriente es esencial en los procesos metabólicos, juega un rol clave en la fotosíntesis, promueve la síntesis, translocación y el almacenamiento de carbohidratos y optimiza la regulación hídrica en los tejidos vegetales. Estas múltiples funciones del potasio hacen que sean numerosos los efectos positivos de la fertilización potásica: promoción del crecimiento radicular, aumento en la resistencia a la sequía y bajas temperaturas, disminución a la incidencia de plagas



y enfermedades, reducción de la tendencia al vuelco, todos estos efectos explican por qué el potasio aumenta el rendimiento y la calidad del cultivo (Imas, 2012).

5.4 Fertilización

El maíz es muy exigente en elementos nutritivos, comparado con otros cultivos, por lo que en un plan de fertilización se debe tomar en cuenta los resultados del análisis químico del suelo y su recomendación, esto le garantiza suplir de los elementos nutritivos necesarios a la planta y evitar gastos innecesarios. El método de aplicación del fertilizante más recomendable es por postura e incorporado; aunque existen otros, tales como: postura superficial y en banda. Para mejores es indispensable que exista buena humedad en el suelo. De no contar con el análisis de suelo se recomienda uno de los planes siguientes (Imas, 2012).

5.4.1 Para suelos de textura fina (francos y franco-arcilloso)

Aplicar 325 kg/ha de fórmula 16-20-0 (5 qq/mz) a la siembra, u ocho días después de siembra, como primera fertilización: la segunda, hacerla con 253 kg/ha (4 qq/mz) de Sulfato de Amonio o 116 kg/ha (180 lb/mz) de Urea, a los 30 días después de siembra.

5.4.2 Para suelos de textura gruesa (arenosos)

Aplicar como primera fertilización, 325 kg/ha de fórmula 16-20-0 (5 qq/mz) a la siembra, o hasta ocho días después de la siembra. Una segunda fertilización a los 30 días después de siembra con 130 kg/ha (2 qq/mz) de Sulfato de Amonio. En una tercera fertilización, 45 días después de la siembra, se deben aplicar 65 kg/ha (1 qq/mz) de Urea.



Anexo: 6

6.1 Principales malezas que afectan el cultivo de maíz

Tabla 6.1 Principales malezas que afectan el cultivo de maíz

Tipo de maleza	Género y Especie	Nombre Común
Hoja ancha	<i>Baltimore recta</i>	Flor amarilla
	<i>Bidens pilosa</i>	Mozote, mozote negro
	<i>Melampodium divaricatum</i>	Flor amarilla, hierba de chucho
	<i>Physalis sp</i>	Tomatillo, farolito
	<i>Amaranthus spinosus</i>	Bledo o güisquilite
	<i>Ageratum conyzoides</i>	Santa Lucía, mejorana
	<i>Euphorbia hirta</i>	Golondrinilla, hierba de sapo
	<i>Boerhavia erecta</i>	Palo de leche
	<i>Ipomoea sp</i>	Campanilla
	<i>Portulaca oleracea</i>	Verdolaga
	<i>Sida sp</i>	Escobilla
Hoja angosta (gramíneas)	<i>Eleusine indica</i>	Zacate amargo, pasto de gallina
	<i>Digitaria sanguinalis</i>	Salea
	<i>Ixophorus unisetus</i>	Zacate de agua
	<i>Cynodon dactylon</i>	Pasto bermuda, barrenillo
	<i>Sorghum halepense</i>	Zacate Johnson

Fuente: (Flores, 2012)



6.2 Control de malezas

6.2.1 Mecánico

Consiste en realizar labores manualmente (con cuma, azadón) o mecanizada (con cultivadora adaptada a un tractor), dependiendo del tipo de terreno. Si las malezas se combaten mecánicamente, se deben efectuar dos limpiezas durante los primeros 30 días de crecimiento del cultivo, en forma superficial, sin dañar el sistema radicular del cultivo (Flores, 2012).

6.2.2 Químico

Consiste en aplicar herbicidas solos o mezclados inmediatamente después de la siembra (pre siembra) o pos emergencia, cuando las malezas tengan dos o tres hojas. Este control tiene la ventaja de evitar daños al sistema radicular de las plantas (Flores, 2012).

En la siguiente tabla se presentan algunos herbicidas con sus respectivas dosis, que pueden ser utilizados en el control de malezas en el maíz, con sus respectivas dosis. Al aplicar estos productos, se debe tener cuidado, ya que sus dosis varían con la edad de las malezas, tipo de suelos, contenido de materia orgánica, así como de las condiciones climáticas del lugar (temperatura, viento y otras) (Flores, 2012).



Tabla 6.2 Control químico de malezas en el cultivo de maíz

Herbicida o mezcla	Dosis Producto Comercial	Época de aplicación	Malezas controladas	Observación
Diuron	0.5-1.0 kg/mz	Pre emergente a cultivos y malezas	Dicotiledóneas y gramíneas anuales	Aplicar antes que emerja el cultivo y malezas. Su acción es menor en suelos con alto contenido de P ₂ O ₅ . No usar en suelos livianos tiene acción total.
Alachlor (4 EC)	0.7-1.0 L/mz	Pre emergente a cultivos y malezas	Dicotiledóneas y gramíneas anuales	Aplicar antes que emerja el cultivo y malezas. Su acción es menor en suelos con alto contenido de P ₂ O ₅ . No usar en suelos livianos y percola. Tiene acción total.
Alachlor (4EC)	1.5-2.5 L/mz	Pre emergente y pre siembra incorporada	Gramíneas anuales	Actúa por vía al suelo. Tiene residualidad en el suelo por un período de 6 a 10 semanas.
Pendimethalin 500	1.5-2.5 L/mz	Pre emergente	Gramíneas difíciles de controlar y algunas dicotiledóneas	Tiene acción residual en el suelo; se requiere de humedad de campo en el suelo para activarse. Preferible usar solo en el sistema convencional.
Basagran	1.5-2.5 L/mz	Post emergente a	Ciperáceas y Dicotiledóneas	Actúa por vía al follaje, efectivo en estados tempranos de dicotiledóneas.



		cultivos y malezas		
Glifosato 35.6%	1.0-2.0 L/mz	Post emergente a la maleza y Pre al cultivo	Todo tipo de malezas	Actúa por vía del follaje. Es sistémico, efectivo en cero labranzas y se deben esperar cinco días para sembrar.
Glifosato 24%	1.5-3.0 L/mz	Idem Glifosato	Idem Glifosato	Idem Glifosato
2,4-D Amina	0.25-1.0 L/mz	Post emergente	Dicotiledóneas y Ciperáceas	Cuando las malezas estén pequeñas y el maíz tenga una altura de 15 cm, dirigir la aplicación dentro de surco para evitar contacto con el cultivo. Evitar acarreo por el viento hacia cultivos susceptibles. Evitar el uso del equipo de aspersión del 2,4-D para aplicaciones de insecticidas y fungicidas en cultivos susceptibles.
2,4-D +Dicamba	1.0-1.5 L/mz	Post emergente a cultivos y malezas	Dicotiledónea y Ciperáceas	Idem 2,4-D Amina
Fenoxiacético 80 SP	1.0 kg/ha	Post emergente	Dicotiledónea, Ciperáceas, Ipomoea (Bejucos)	Idem 2,4-D Amina

Fuente: (Flores, 2012)



Anexo: 7

7.1 Plagas y enfermedades que atacan el cultivo de maíz

Tabla 7.1 Plagas del suelo en el cultivo de maíz

Nombre común	Nombre científico	Daño	Control
<ul style="list-style-type: none"> - Gallina ciega - Chorontoco - Oruga, gusano blanco - Joboto 	<ul style="list-style-type: none"> - Phyllophaga spp - Anomala spp - Ciclocephala spp - Lygirus sp 	Se alimentan de las raíces y base del tallo por lo que causan la marchitez y muerte de la planta	Tratar la semilla con insecticidas como: carbosulfan en dosis de 225 gramos/25 libras de semilla
<ul style="list-style-type: none"> - Gusano de alambre 	<ul style="list-style-type: none"> - Metanotus sp Aeolus sp 	Se alimentan de las raíces y base del tallo, causan la marchitez y muerte de la planta	Imidacloprid en dosis de 136 g/30 Libras de semilla Thiodicard 1 L/46 kg de semilla. 250 cc/25 lb de semilla
<ul style="list-style-type: none"> - Piojo de zope 	<ul style="list-style-type: none"> - Blapstinus sp - Ulus sp - Epitragus sp 	Daña los granos próximos a germinar y las raíces de las plántulas se doblan y mueren	Los productos anteriores son específicos para usarse en tratamiento a la semilla, pero puede utilizarse productos granulados al suelo como foxim, 64/ha (100 lb/mz)
<ul style="list-style-type: none"> -Gusano - Cuerudo - Tierreros, hacheros y cortadores 	<ul style="list-style-type: none"> - Agrotis sp - Feltia sp 	Se alimentan de las raíces y base del tallo, causan la muerte de la planta	12 a 18 kg/ha. Clorpirifos, 9-13 kg/ha (15-20 lb/mz)

Fuente: (Alvarado, 2007)



7.2 Insectos y plagas de follaje

A continuación, se presentan los principales insectos y plagas que atacan el follaje y que son de interés económico en el cultivo de maíz variedad HS-5

7.2.1 Gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*)

Es una plaga universal de importancia económica, dependiendo de algunos factores como la edad de la planta, estadio de plaga, condición del clima, así es la severidad del ataque. Cuando el clima es caliente y seco, las larvas completamente desarrolladas, que han caído al suelo antes de convertirse en pupas, empiezan a alimentarse en la base de la planta, cercenando el tallo tierno. En períodos de sequía su presencia y acción puede ser fatal.



Daño: corta el tallo cuando las plantas recién emergen y cuando están bien desarrolladas, la desfolian; puede atacar la flor masculina, lo cual provoca interrupción del proceso normal de polinización. También ataca perforando la mazorca tierna por lo que se conoce como gusano elotero.

Fig 7.1¹¹ (Trujillo, 2013)

7.2.2 Tortuguillas (*Diabrotica* sp, *Acalymma* sp, *Cerotoma* sp, *Colaspis* sp)



Dependiendo de su densidad poblacional puede tener poca o mucha importancia, especialmente como adultos en las plántulas y como larvas en las raíces.

Fig 7.2¹² (Trujillo, 2013)

¹¹ Daños causados en el follaje por los gusanos cogolleros llegan hacer muy evidentes

¹² Larvas de tortuguilla



Fig 7.3¹³ (Trujillo, 2013)

Daño: Los adultos comen el follaje, pueden dañar los estigmas de la flor femenina (jilote), afectando la polinización, lo cual provoca un mal llenado de grano en la mazorca; las larvas o gusanos pueden taladrar las raíces, lo que puede resultar en tallos deformados (curvos o inclinados).

7.2.3 Chicharrita del maíz, cigarrita (*Dalbulus maydis*)



Fig 7.4¹⁴ (Trujillo, 2013)

Daño: Los adultos y ninfas chupan la savia en la base de las hojas y pueden causar amarillamiento, pero su principal afectación estriba en que son transmisores de los virus que provocan el achaparramiento y el rayado fino del maíz. La mayor incidencia de estos problemas se da en zonas bajas.

7.2.4 Gusano medidor (*Mocis latipes*), falso medidor (*Trichoplusia ni*)

Esta plaga tiene importancia relativa, ya que su aparición es esporádica y localizada; cuando aparece puede provocar serios daños al follaje como perforaciones.

¹³ Tortuguilla alimentándose de los márgenes foliares

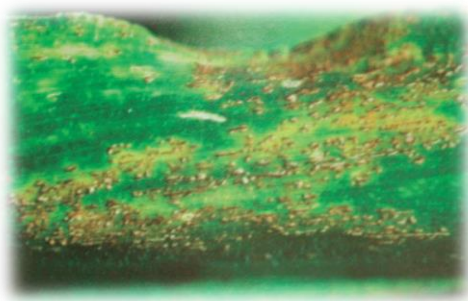
¹⁴ Chicharrita adulta (*Dalbulus maidis*) transmisora del virus de achaparramiento



Anexo: 8

8.1 Enfermedades que afectan el cultivo de maíz Variedad HS-5

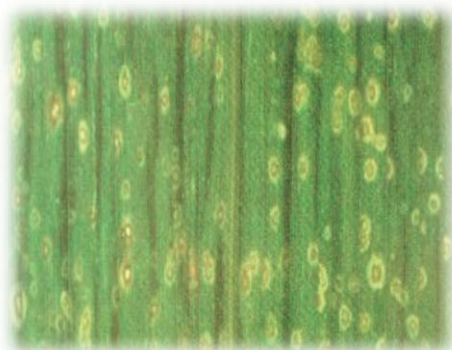
8.1.1 Roya común (*Puccinia sorghi*)



Enfermedad ampliamente difundida, alcanza mayor importancia cuando las plantas se acercan a la floración. Se le puede reconocer por las pústulas pequeñas y pulverulentas, en ambos lados de la hoja (Mendoza, 2012).

Fuente: (Mendoza, 2012).

8.1.2 Mancha foliar por *Curvularia* (*Curvularia lunata*)



Enfermedad causada por hongos, los cuales producen manchas pequeñas necróticas o cloróticas con una aureola de color claro. La enfermedad está generalizada en las zonas maiceras, cálidas y húmedas, donde puede causar daños considerables en la variedad en estudio (Mendoza, 2012).

Fuente: (Mendoza, 2012).

8.1.3 Mancha café (*Physoderma maydis*)



Ocurre en lugares con precipitación pluvial y temperaturas altas; ataca las hojas, los tallos y algunas veces hasta las brácteas de la mazorca. El control para esta enfermedad no se ha establecido; aunque se han realizado investigaciones para ello, sólo se tienen trabajos relacionados con la resistencia genética. (Mendoza, 2012).



8.1.4 Achaparramiento del maíz (*Micoplasma helicoidal* o *Spiroplasma*)



Es una enfermedad transmitida por la chicharrita del maíz (*Dalbulus maydis*), cuyo síntoma se manifiesta, como su nombre lo indica, por el enanismo o achaparramiento de la planta.

Esta enfermedad provoca también el acortamiento de los entrenudos, ramificación excesiva de las raíces, proliferación de mazorcas estériles lo que reduce la producción y en casos severos, la planta muere. Se recomienda sembrar híbridos resistentes a la enfermedad (Mendoza, 2012).

8.1.5 Pudrición de mazorca por *Nigrospora*



La variedad en estudio es resistente a esta enfermedad, sin embargo en la siguiente imagen se muestran los daños que causa en otras variedades de maíz por ejemplo el maíz amarillo. Las mazorcas se disecan (momifican) y tienen poco peso; los granos se manchan y se desprenden fácilmente del olote. Esta enfermedad es una de las que afecta directamente la coronta.



Anexo: 9

9.1 Características que debe presentar la mazorca para la recolección mecanizada

1. Altura de inserción de la mazorca no debe ser muy alta. Si esta es muy alta, los rodillos de la máquina deberán de recorrer una gran longitud de tallos, pudiendo producir atascos
2. Homogeneidad en la altura de inserción
3. Dureza del tallo en la región donde se asienta la mazorca, lo que facilita su ruptura
4. Espesor y cobertura de las brácteas
5. Grosor de la mazorca.

9.2 Extracción del grano manual y mecanizado

9.2.1 Extracción manual

Esta operación consta de dos etapas, la primera consiste en la extracción manual de la tuza con la ayuda de un cuchillo hacen una inserción desde la capa externa de la mazorca atravesando la bráctea (tuza) hasta la capa más interna de esta, luego ejercen fuerza y extraen la tuza y algunos residuos de pelaje, de tal forma que la mazorca queda lista para la segunda etapa.

La segunda etapa consiste en la aporrea de la mazorca para finalmente extraer el grano, es esta operación física se hace uso de una hamaca de nylon la cual es sujeta de cuatro extremos firmes y dentro de la hamaca se introducen las mazorcas y con un pedazo de madera firme dan golpes a las mazorcas, y por los orificios de la hamaca salen los granos que caen en una tela, en la hamaca quedan únicamente las corontas que luego los almacenan en sacos de polietileno o son desechados. En las imágenes siguientes se ilustra esta operación.



Figura 9.2.1 Recolección del maíz después de separarlo de la planta



Fuente: Capturada por autoras en Finca Montiel

Figura 9.2.2 Residuos de maíz que quedan en el campo después de la recolección de la mazorca



Fuente: Capturada por autoras en Finca Montiel

Figura 9.2.3 Extracción manual de la tuza de maíz



Fuente: Capturada por autoras en Finca Montiel

Figura 9.2.4 Extracción manual del grano de maíz



Fuente: Capturada por autoras en Finca Montiel

Figura 9.2.5 Residuo agroindustrial (coronta) que es generado después de la extracción manual del grano de maíz



Fuente: Capturada por autoras en Finca Montiel

9.2.2 Extracción mecanizada

Esta forma de recolección del maíz, es realizada por los grandes productores que siembran en terrenos planos, los cuidados que se deben tener son: que el grano haya alcanzado la madurez fisiológica, que tenga el 20% de humedad o menos, plantío limpio de malezas; ambiente seco a fin de que la tuza se separe fácil y no transmita humedad al grano, en las siguientes imágenes se presenta el desgrane mecánico.

Figura 9.2.6 Extracción mecánica del maíz



Fuente: Capturada por autoras en Finca Montiel

Puede observarse en las imágenes que hay diferencia entre la extracción manual y mecanizada, en la primera los residuos tuza y olote se separan en dos cúmulos, mientras que en la mecanizada la mazorca se deposita en la tolva del tractor y hay una separación, por la parte inferior sale el grano de maíz y por un tubo superior salen los residuos tuza y olote.

Figura 9.2.7 Residuos generados (tuza y olote) en la extracción mecánica



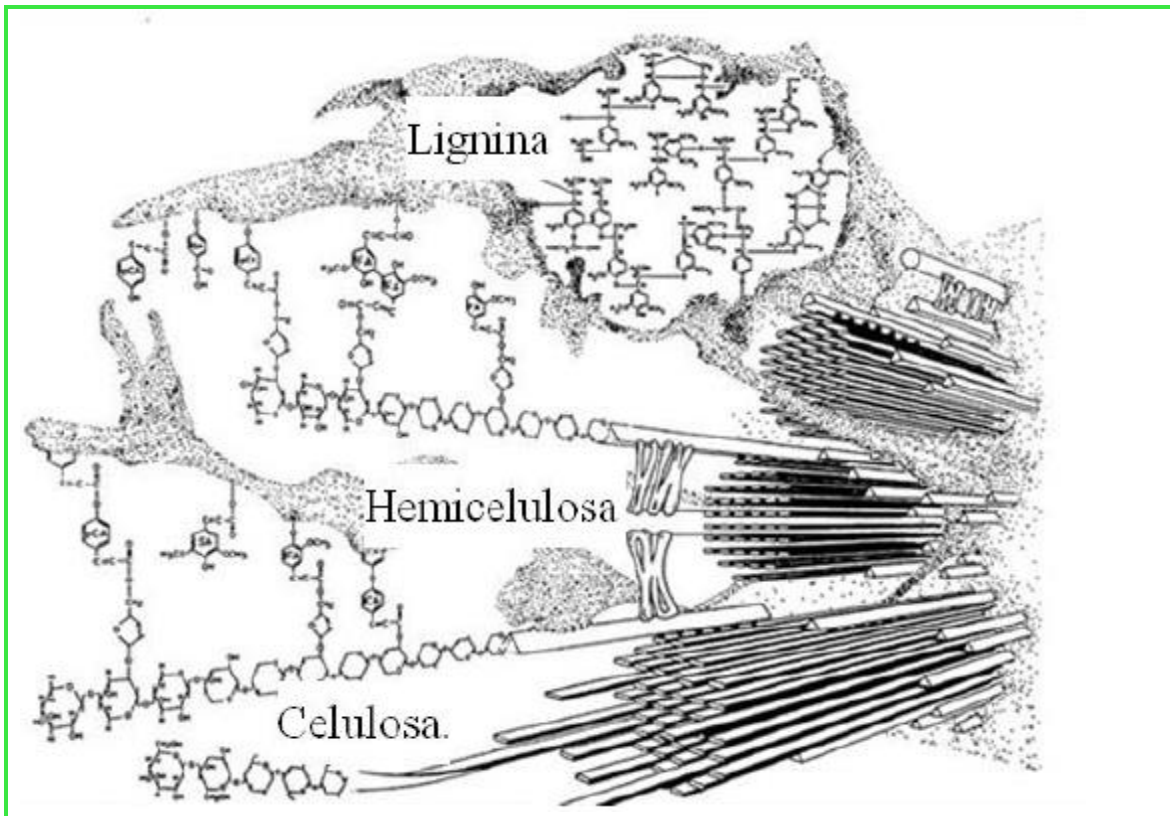
Fuente: Capturada por autoras en Finca Montiel



Anexo: 10

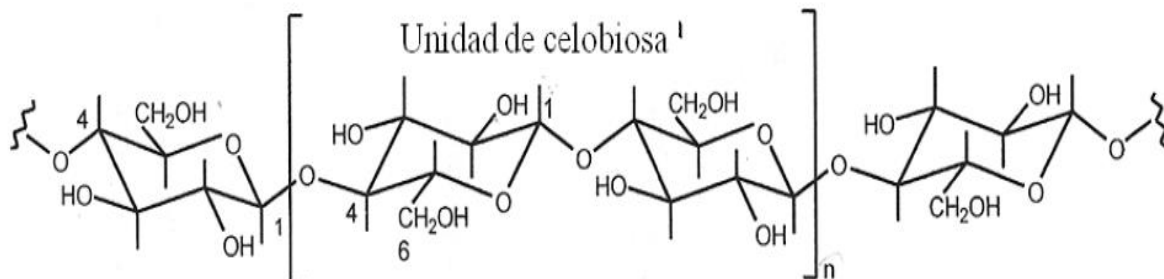
10.1 Estructura y composición química del material lignocelulósico

Figura 10.1.1 Vista general de la estructura y composición química de la biomasa



Fuente: (Bidlack, Malonge, & Benson, 2000)

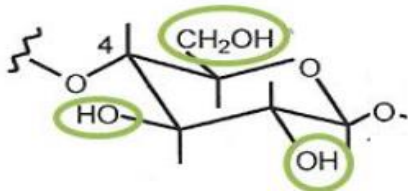
Figura 10.1.2 Estructura primaria de la celulosa



Fuente: (Bidlack, Malonge, & Benson, 2000)

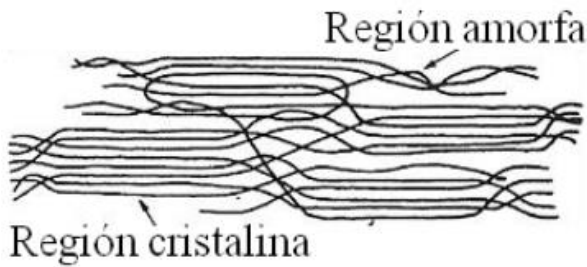


Figura 10.1.3 Unidad de celulosa mostrando los grupos más voluminosos en posición ecuatorial y los hidrógenos en la axial



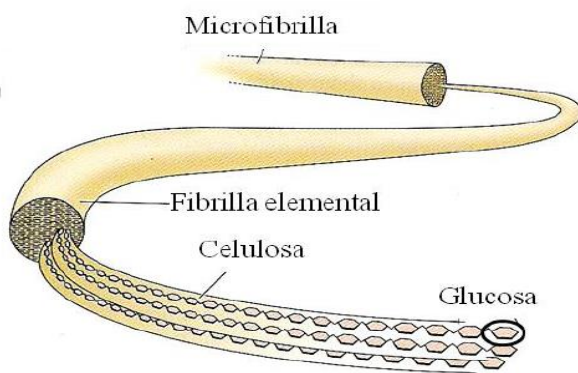
Fuente: (Bidlack, Malonge, & Benson, 2000)

Figura 10.1.4 Fibrilla elemental o micela



Fuente: (Bidlack, Malonge, & Benson, 2000)

Figura 10.1.5 Estructura de una microfibrilla



Fuente: (Ballesteros, Negro, & Oliva, 2006)



Figura 10.1.6 Representaciones de Haworth de las principales hexosas presentes en la hemicelulosa

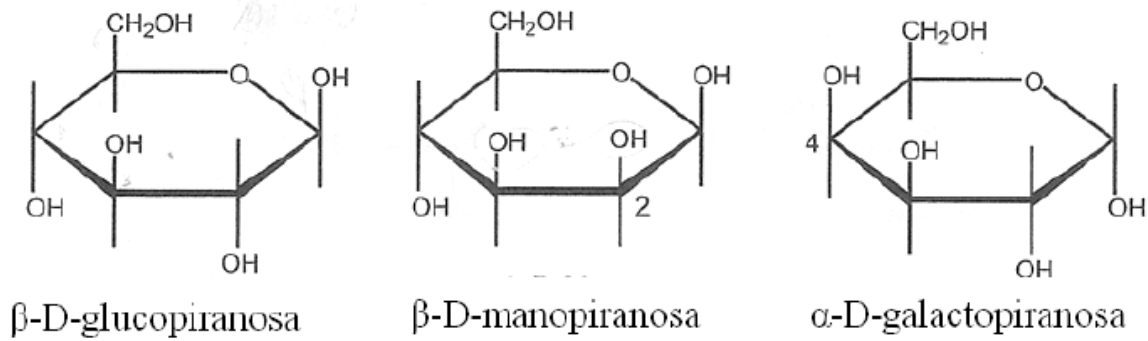


Figura 10.1.7 Representaciones de Haworth de las principales pentosas presentes en la hemicelulosa

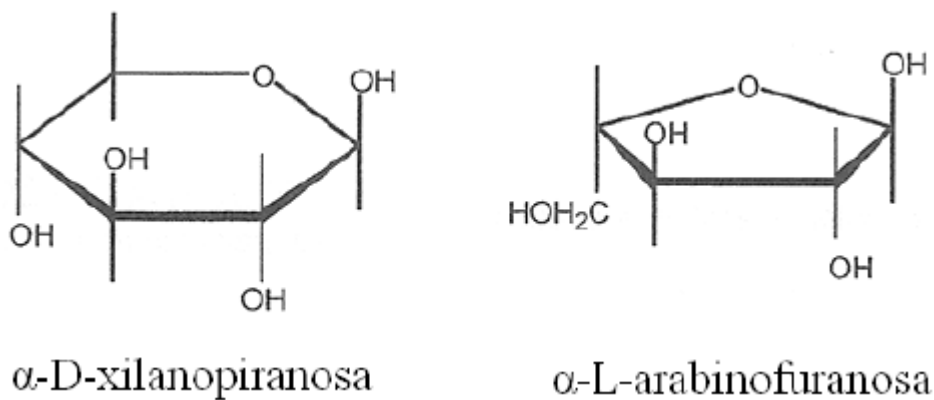
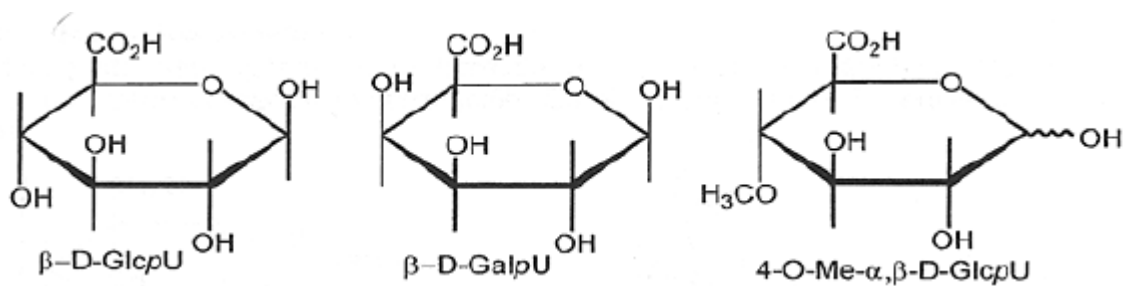


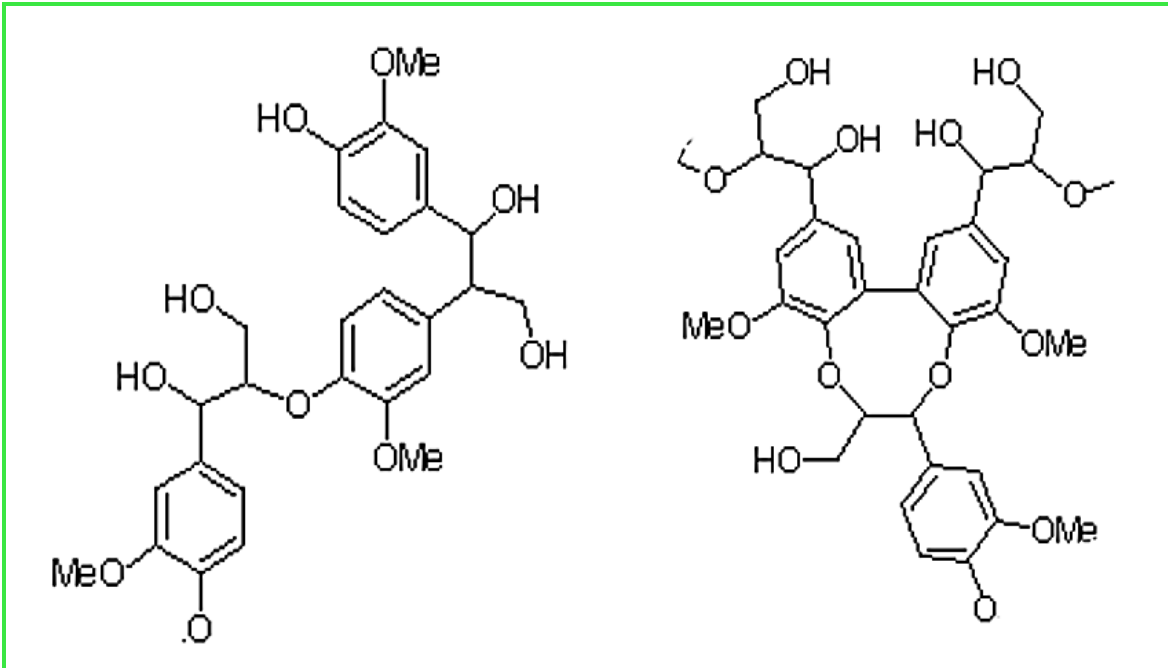
Figura 10.1.8 Representaciones de Haworth de las principales pentosas presentes en la hemicelulosa



Fuente: (Bidlack, Malonge, & Benson, 2000)



Figura 10.1.9 Subestructuras de la lignina donde muestran enlaces tipo éter β -O-4 y formas condensadas



Fuente: (Bidlack, Malonge, & Benson, 2000)



Anexo: 11

11.1 Características del etanol de primera y segunda generación

Tabla 11.1 Características del etanol de primera y segunda generación

Primera Generación (1G)	Segunda Generación (2G)
Almidones (papa, yuca, maíz y trigo) y azúcares (caña de azúcar, melazas, remolachas y sorgo dulce)	Celulosas (madera, aserrín, pastos y residuos agrícolas como la coronta de maíz)
Características	Características
Pueden utilizarse mezclados con un bajo porcentaje de combustibles convencionales	Es una de las materias primas más prometedoras para la producción de biocombustibles
Es la forma más sencilla para el sector del transporte	La productividad de la biomasa es más elevada en un entorno tropical y los costos de producción de biocombustibles, son comparativamente bajos en algunos países en desarrollo
Los consumidores sufren consecuencias importantes en el precio de su canasta familiar a menos que se planifique adecuadamente la producción de biocombustibles	El uso de cosecha de material celulósico no compite con los precios de la alimentación, son bajos los costos de la materia prima; el uso de tierras marginales para el crecimiento de la materia prima, menos fertilizante y menos uso de agua
El etanol producido de los jugos de la caña de azúcar o del maíz reduce los gases efecto invernadero en un 14%	El etanol celulósico reduce los gases de efecto invernadero en 89%.

Fuente: (Madrigal, 2005)



Anexo: 12

12.1 Ventajas de los tipos de pretratamientos

Tabla 12.1 Ventajas y desventajas de los diferentes tipos de pretratamiento para materiales lignocelulósicos

PRETRATAMIENTO FÍSICO		
PRETRATAMIENTOS MECÁNICOS		
Método	Ventajas	Desventajas
Trituración mecánica	<p>La reducción de tamaño de partículas lleva a un aumento de superficie específica y una reducción del grado de polimerización (DP).</p> <p>El incremento del área superficial específica, reduce DP, este es un factor que incrementa los rendimientos de la hidrólisis entre el 5–25% (dependiendo de la clase de biomasa, clase y duración de la molienda).</p> <p>Así mismo disminuye el tiempo de digestión entre el 23–59% donde se incrementa la velocidad de la hidrólisis</p>	<p>A pesar de no producirse inhibidores (como furfural y HMF), la molienda es ideal para la producción de bioetanol, sin embargo, esta operación requiere de alto consumo energético por lo tanto económicamente no es viable (Fan L.T. G. M., 2000).</p> <p>Teniendo en cuenta las necesidades de alta energía de molienda y el continuo aumento de los precios de la energía, es probable que la molienda no sea el pretratamiento más viable.</p>
Ultrasonido		El efecto sobre la biomasa es muy superficial.
PRETRATAMIENTOS TÉRMICOS		
Explosión de vapor	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aumenta la hidrólisis de la celulosa de 80 al 100% ▪ Alta concentración de sólido ▪ Reducción del tamaño con menor gasto energético 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Destrucción de una parte de los xilanos de las hemicelulosas ▪ Incompleta rotura de la matriz lignina-carbohidratos



	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Despolimerización baja de la celulosa y recuperación fácil de esta por lavado ▪ La lignina inalterada se puede extraer, reporta un incremento en la digestibilidad enzimática de la biomasa después de este pretratamiento. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Generación de inhibidores que afectan el proceso de fermentación ▪ Debe combinarse con H₂SO₄, SO₄ o CO₂ para mejorar la eficiencia ▪ Existe el riesgo de producción de compuestos fenólicos soluble ▪ Puede darse la condensación y precipitación de compuestos soluble de lignina haciendo la biomasa menos digestible, reduciendo la producción de etanol (Hendriks, 2009).
Agua caliente líquida presurizada (LHW)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Se recuperan la mayoría de las pentosas ▪ Hidrólisis de la hemicelulosa de 80 al 100% ▪ Baja o nula formación de inhibidores ▪ Respecto al pretratamiento con vapor, este tiene la ventaja de solubilizar productos de hemicelulosa y lignina en concentraciones más bajas. 	Debido a las bajas concentraciones se reduce el riesgo de degradación de productos como furfural y la condensación y la precipitación de compuestos de lignina (Hendriks, 2009).
PRETRATAMIENTOS FÍSICO-QUÍMICOS		
Proceso de explosión de fibra con amoníaco (AFEX)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ No se producen inhibidores ▪ No requiere pequeños tamaños de partícula para aumentar su eficiencia. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ No se solubiliza la hemicelulosa ▪ La composición del material sometido a este proceso prácticamente no cambia ▪ Sólo es aplicable y efectivo hasta un 90% en materiales con contenidos de lignina menores a 15% ▪ Requiere recuperación del amoníaco.
Explosión con CO₂	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Es más barato que la explosión con amoníaco ▪ No origina los compuestos inhibitorios que se originan 	Rendimientos relativamente bajos comparados con la explosión por vapor y el proceso AFEX.



	durante la explosión por vapor (Zheng Y. Z., 2000).	
PRETRATAMIENTOS QUÍMICOS		
Prehidrólisis ácida	<p>Ácidos concentrados: se obtienen rendimientos de hidrólisis superiores al 90%.</p> <p>Ácidos diluidos: bajo consumo de ácidos; hidrólisis del 80-100% de la hemicelulosa; la temperatura alta favorece la hidrólisis de la celulosa.</p>	<p>Ácidos concentrados:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Requiere altos volúmenes de ácido ▪ Altos costos de la recuperación del ácido ▪ Los efectos corrosivos de los ácidos concentrados conllevan a altas inversiones en los equipamientos ▪ Es necesaria una costosa etapa de neutralización antes de la fermentación ▪ Existe el riesgo de formación de inhibidores. <p>Ácidos diluidos:</p> <p>Requiere altas temperaturas para alcanzar rendimientos aceptables de conversión de celulosa a glucosa.</p> <p>A pesar de las temperaturas altas y tiempos de residencia cortos que generan máximos rendimientos en glucosa, tan sólo han logrado el 60% en torno al rendimiento teórico.</p>
Tratamientos con ozono	<ul style="list-style-type: none"> ▪ La eliminación efectiva de la lignina ▪ No origina productos inhibidores 	Altos costos por la cantidad de ozono requerido.
Oxidación húmeda	No genera productos de degradación como el furfural, y HMF.	Durante un pretratamiento oxidativo se pierden cantidades considerables de azúcares, porque no es un proceso



		selectivo. Así también se forman los compuestos solubles de lignina, lo que puede dar lugar a la inhibición en la conversión posterior de hemicelulosa en etanol (Hendriks, 2009).
Tratamiento con solventes orgánicos	Solubilización de la lignina e hidrólisis de la hemicelulosa casi total.	Para reducir costos y evitar problemas en la posterior etapa de fermentación, se deben reciclar los solventes.
PRETRATAMIENTOS BIOLÓGICOS		
Tratamiento con hongos	Bajo requerimiento energético, producción del proceso a condiciones ambientales.	La tasa de hidrólisis es demasiado lenta.

Fuente: (Fan L.T., 2000)



Tabla 12.2 Tipos de inhibidores y sus efectos sobre el proceso

Clasificación	Efectos	Observaciones
Furfural e hidroximetilfurfural (HMF)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Reducción de la tasa específica de crecimiento ▪ Disminución de la productividad volumétrica y específica de etanol ▪ Disminución de la producción de biomasa ▪ Producen daños en la membrana plasmática celular ▪ Inhiben la acción de enzimas. 	<p>Los efectos producidos por el HMF son menores que el furfural, pero son los mismos. El furfural inhibe la alcohol deshidrogenasa, induciendo la formación de acetaldehído.</p> <p>En anaerobiosis el furfural se degrada a alcohol furfurílico y furoico.</p>
Ácidos alifáticos: <ul style="list-style-type: none"> - Ácido 4-hidroxibenzoico - Ácido vainílico - Ácido siringico - Ácido acético 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Descenso del rendimiento del etanol ▪ Disminución de la producción de biomasa ▪ Reducción de la tasa específica de crecimiento ▪ Muerte celular. 	<p>El mecanismo de inhibición de estos es aún confuso. Existen teorías tales como:</p> <p>Del acoplamiento acumulación intracelular de aniones.</p>
Compuestos fenólicos: <ul style="list-style-type: none"> - Vainillina - Siringaldehído - Guayacol 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Daño en la membrana plasmática celular ▪ Descenso del rendimiento en etanol ▪ Disminución de la producción de biomasa ▪ Reducción de la tasa específica de crecimiento ▪ Muerte celular 	<p>Son los más tóxicos para los microorganismos. Su efecto inhibitorio es aún desconocido; al parecer afecta la célula alterando su especificidad. Se cree que actúan de manera similar que los alifáticos.</p>

Fuente: (Sánchez, Gitiérrez, Muñoz, & Rivera, 2010)



Anexo: 13

13.1 Métodos físicos y químicos para la detoxificación de sustancias inhibidoras

Tabla 13.1 Métodos físicos y químicos para la detoxificación de sustancias inhibidoras

Método	Descripción	Componentes que degrada	Microorganismos que degrada
Tratamiento con hidrólisis	Emplea hidróxidos de cualquier tipo, por ejemplo Hidróxido de Sodio e Hidróxido de Potasio, con la adición de estas bases se regula el pH para la fermentación cuyo valor es de 5-6	Furfural, HMF, ácido acético. En baja proporción los azúcares fermentables	<i>E. Colli</i> , <i>Z. mobilis</i> , <i>P. Stipitis</i> , <i>S. cereviceae</i>
Overliming	Ca(OH) ₂ , pH= 9-10.5, luego el pH es ajustado a 5.5-6.5 con H ₂ SO ₄ o HCl	Ácido acético, furfural y compuestos fenólicos	<i>S. cereviceae</i> recombinante y <i>E. coli</i> recombinante
Evaporación	Debe realizarse a pH bajo. Es poco efectivo	Furfural, ácido acético y ácido fórmico. No elimina HMF, ácido levunílico y compuestos fenólicos	<i>S. cereviceae</i> ; <i>P. stipitis</i>
Carbón activado	Su efectividad depende del tipo de material a tratar	Algunos iones de metales y compuestos orgánicos	<i>S. cereviceae</i>
Carbón vegetal	Obtenido a partir de madera de abeto a 600 °C	Furfural, HMF y derivados fenólicos	<i>S. cereviceae</i>
Resinas de intercambio iónico	Se emplean tanto catiónicas como aniónicas (mejores a pH 10). Tienen alto costo.	Fenoles, seguido de furanos y ácidos alifáticos.	<i>Z. mobilis</i> , Recombinante Y <i>S. Cereviceae</i> .



Utilización de zeolitas	Son minerales naturales o sintéticos, de estructura tridimensional. Poseen alto intercambio iónico, notable superficie específica y lugares activos que permiten actividad catalítica.	Metales tóxicos: cromo, cobalto, Níquel.	
Extracción	Solventes Orgánicos (dietil éter, etil acetato, 3:1 Fase orgánica: Tasa fase acuosa volumétrica	Ácido acético, furfural, vainillina, ácido hidroxibenzoico, y compuestos fenólicos de bajo peso molecular. Remoción de furanos	<i>S. cereviceae</i> ; <i>P. stipitis</i>
Nanofiltración	Emplea membranas (NF o NK), operadas bajo presión y retienen solutos de bajo peso molecular (1000 daltons).	Ácido acético	<i>P. stipitis</i>

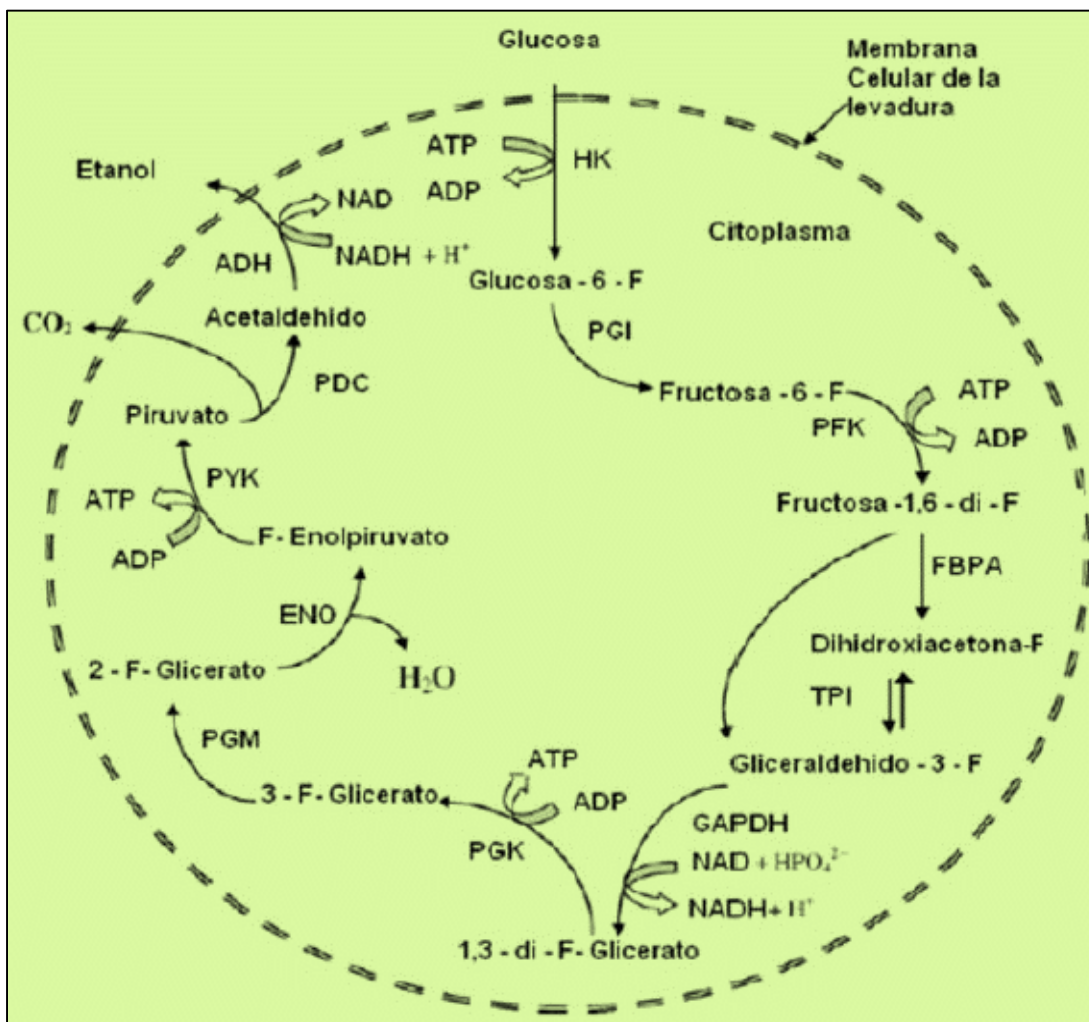
Fuente: (Lamac & Brush, 2002)



Anexo: 14

14.1 Ruta metabólica de la producción de etanol

Figura 14.1 Ruta metabólica de la producción de etanol en *S. cerevisiae*



Fuente: (Sierra , Contreras , & Guerrero, 2012)



Anexo: 15

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, MANAGUA
UNAN-MANAGUA
RECINTO UNIVERSITARIO RUBÉN DARÍO
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**



15.1 Entrevista realizada a productores de Finca Montiel

En pro de la realización del trabajo monográfico estudiantes de la carrera Química Industrial de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN-Managua, le solicitan responder las siguientes preguntas, en base a su experiencia como productor en el ciclo agrícola 2014/2015 y los ciclos anteriores.

1. ¿Qué cantidad de maíz sembró y en cuánto espacio de terreno?
2. ¿Qué semilla eligió para la siembra?
3. ¿De acuerdo a qué criterios seleccionó la semilla?
4. ¿En qué mes del año inició la siembra?
5. ¿Cuáles fueron las plagas y enfermedades que afectaron el sistema de siembra?
6. ¿Qué insecticidas utilizó en todo el proceso productivo? Explíquelo por etapas
7. ¿Cuál fue el sistema de fertilización que usó?
8. ¿Qué parte de la planta resultó más afectada por las plagas y enfermedades?
9. ¿Se redujo la producción de este año en relación a los años anteriores?
10. ¿Qué cantidad de maíz cosechó en este ciclo agrícola?
11. ¿Qué tipo de extracción del grano realizó: (manual o mecánica)?



Tabla 15.1 Resultados de la entrevista realizada a productores de Finca Montiel

Nº	Característica	Productor 1	Productor 2	Productor 3	Productor 4	Productor 5	Productor 6	Productor 7	Productor 8	Productor 9
1	Cantidad de maíz sembrada/espacio de terreno	70 lb/1.5 mz ^{15*}	8 lb/1/4 mz	18 lb/3/4 mz	10 lb/1/4 mz	20 lb/0.5mz	20 lb/1/4 mz	40 lb/1.5 mz	15 lb/0.5 mz	30lb/0.5mz
2	Tipo de semilla	HS-5	HS-5 2G	HS-5	HS-5	Catacama	HS-5	HS-5	HS-5	HS-5
3	Criterios de selección de semilla	Rendimiento	Rendimiento Altura baja	Rendimiento	Rendimiento	A su alcance no tuvo prioridad	Rendimiento Altura baja	Rendimiento	Rendimiento	No hubo criterio
4	Mes de siembra	Finales Mayo	15 de Mayo	Finales Mayo	18 de Mayo	Mediados de Mayo	10 de Junio	Inicio Junio	Finales Mayo	15 de Mayo
5	Plagas y enfermedades que afectaron el cultivo	Gusano	Gusano	Gusano	Gusano	Gusano	Gusano Aves Hormigas	Gusano medidor	Gusano	Gusano
6	Insecticidas	1.Gramoxone, Glifosato (preparación del terreno) 2. Cipermitrina (plaga).	1.glifosato y herbalade (preparación del terreno) 2.MTD (plaga) 3.Carben-dazim (hongo)	1.Gramoxone, herbicida (preparación del terreno) 2.Cipermitrina (plaga)	1.Gramoxone, herbicida (preparación del terreno) 2.Cipermitrina (plaga)	1. (2,4-D) 2,4-diclorofenoxia cético. (Preparación del terreno). 2.Cemebín (hormiga) 3. Cipermitrina (gusano).	1.Gramoxon, Glifosato (preparación del terreno) 2. Cipermitrina (plaga).	1.Herbicida, Glifosato (preparación del terreno) 2.Cambín (semilla hormiga)	1.Gramoxone, Glifosato (preparación del terreno) 2. Cipermitrina (plaga).	1.Gramoxone, herbicida (preparación del terreno) 2.Cipermitrina (plaga)

¹⁵ mz= manzanas unidad de medida de terreno



7	Fertilización	1. Completo 2. Urea	1. Completo 2. Urea	1.Inicio 2.Refuerzo 3.Urea	1.Inicio 2.Refuerzo 3.Urea	1.Inicio 2.Refuerzo 3.Nitro Extén	1. Completo 2. Urea	1.Inicio 2.Refuerzo 3.Nitro Extén	1. Completo 2. Urea	1.Inicio 2.Refuerzo 3.Urea
8	Parte de la planta con mayor afectación	Mazorca (grano).	Olote, tallo, raíz	Mazorca (grano)	Tallo	Mazorca (tuza)	Tallo, mazorca (olote)	Mazorca (grano)	Mazorca (grano)	Olote
9	Comparación de Producción ciclo (2014/2015) (2014/2013)	75 qq* ¹⁶ (2014/2015) 80 qq (2014/2013)	8 qq (2014/2015) 10 qq (2014/2013)	10 qq (2014/2015) 30 qq (2014/2013)	12 qq (2014/2015) 20 qq (2014/2013)	14 qq (2014/2015) 25 qq (2014/2013)	6 qq (2014/2015) 17 qq (2014/2013)	60 qq (2014/2015) 100 qq (2014/2013)	14 qq (2014/2015) 35 qq (2014/2013)	10 qq (2014/2015) 18 qq (2014/2013)
10	Tipo de extracción del grano	Mecánica	Manual	Manual	Manual	Manual	Manual	Manual	Manual	Manual

¹⁶ qq= quintales equivalente a 100 libras



Anexo: 16

16.1 Sistema de muestreo

16.1.1 Sistema de muestreo aleatorio simple

16.1.1.1 Objetivo de muestreo

Recolectar muestras de olote (coronta) de maíz variedad HS-5, considerado como un residuo agrícola de la finca Montiel en el ciclo agrícola 2014/2015.

16.1.1.2 Razón para efectuar el muestreo

Las muestras se recolectaron para obtener bioetanol a partir de material lignocelulósico de la coronta del maíz, la materia prima y el producto obtenido se sometió a diversas pruebas analíticas y de control de calidad como porcentaje de material lignocelulósico, azúcares reductores, rendimiento y conversión.

16.1.1.3 Características a evaluar

El proceso para la obtención de bioetanol es controlado en todas las etapas, se inicia con el control de calidad desde el muestreo, considerando la recolección de la materia prima, posteriormente el producto obtenido es sometido a pruebas analíticas y de control de calidad, como la determinación de azúcares reductores, conversión y rendimiento etc.

16.1.1.4 Punto de muestreo

Departamento de Nueva Segovia, municipio El Jícaro, comarca El Natoso, Finca Montiel, productor número 1.

16.1.1.5 Número de Muestras

Se recolectaron 8 muestras de coronta de 60 gramos cada una, el número 8 corresponde a las corridas experimentales a realizar de acuerdo al diseño de experimento por el Método Taguchi.



16.1.1.6 Tipo de envase

Bolsas de polietileno de baja densidad y colorantes, de tamaño 16.5 cm x 14.9 cm.

16.1.1.7 Material anexo

Para coleccionar las muestras se utilizó: una tijera metálica con agarre de hule para cortar los restos de tuza que tenía la coronta, pana plástica para depositar las muestras recolectadas, etiquetas, balanza, marcadores, cinta métrica. Así también el equipo de protección para el muestreador fue: gabacha, botas, guantes de látex, y mascarilla.

16.1.1.8 Instrucciones para la toma de muestras

En primera instancia se preparó las bolsas para el muestreo con las etiquetas, dejando libre el espacio para marcar en el campo la hora del muestreo. La información de las etiquetas de muestreo se presenta a continuación.

Tabla 16.1 Ficha Informativa de las etiquetas en las muestras	
Identificación	CO-1 (Coronta, muestra 1)
Fecha de muestreo	10/01/2015
Lugar de muestreo	Finca Montiel, Natoso, Jicaro, Nueva Segovia
Hora de muestreo	4:06 pm
Descripción genética	Coronta HS-5 de <i>Zea Mays L</i>
Nº de experimento	1
Temperatura de toma de muestra	25 °C
Parámetros analizar	Caracterización Química y proceso hidrolítico y fermentativo
Nombre y firma del muestreador	Kiara Yanibeth Montiel Centeno

Fuente: Propio

Para realizar el muestreo se hizo una entrevista a nueve agricultores de la Finca Montiel considerada como la población en estudio, de acuerdo a los



resultados de la entrevista, se eligió al productor número 1 con las mejores condiciones de calidad y rendimiento en la producción para realizar el estudio. De 70 libras de maíz variedad HS-5 que sembró este agricultor en 1.5 mz de terreno, obtuvo aproximadamente 10, 125 libras de residuo sólido seco y 900 lb de coronta que representan el 8.8 % del peso total de residuos sólido.

En un área de 10 m², donde se encontraba la población coronta de maíz se recolectaron las 8 muestras aleatoria de varias posiciones del área y a profundidades de 5, 50, 100 y 200 centímetros, las muestras se tomaron con las manos las cuales estaban protegidas con guantes de látex y se depositaron en las bolsas de polietileno con contenido de 60 gramos cada una de las 8 muestras.

16.1.1.9 Preservación y transporte de la muestra

Colocar la muestra en una caja de cartón a temperatura ambiente.

15.1.1.10 Análisis de la muestra

- % Celulosa
- % Hemicelulosa
- % Lignina
- % Humedad
- % Azúcares Reductores
- pH
- % Rendimiento
- % Conversión a Bioetanol

16.1.1.10 Desecho de la muestra

Del 100 % de la muestra quedó un remanente de 54 % (el cual se almacenó en sobres de celulosa para posteriores análisis).

16.2 Muestreo de coronta de maíz

Figura 16.2.1 Tipo de envase y materia anexo



Figura 16.2.2 Selección y recolección de la coronta



Figura 16.2.3 Recolección final





Anexo: 17

17.1 Método Taguchi

La idea de diseñar productos y procesos cuyo desempeño sea insensible a las condiciones ambientales (robustez del sistema) y realizar esto en las etapas de diseño a través del uso de Diseño de Experimentos ha sido la piedra angular de la metodología Taguchi (s.a, Mayo,2007). Las fortalezas de la metodología de Taguchi son las siguientes:

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

El modelo de Taguchi enfatiza la importancia de evaluar el desempeño bajo condiciones de campo como parte del proceso de diseño y el hecho que la variación funcional en el desempeño está influenciada por los factores de ruido los cuales varían en el ambiente en el que los procesos o productos están funcionando (s.a, Mayo,2007).

La filosofía Taguchi está basada en un modelo aditivo de los efectos principales para la cual, la presencia de interacciones es algo indeseable y en caso que en el proceso se encuentre una relación de este tipo esta es tomada como parte del error experimental (s.a, Mayo,2007).



Anexo: 18

18.1 Métodos de análisis para la caracterización físico química de coronta de maíz variedad HS-5

18.1.1 Determinación del porcentaje de Humedad (TAPPI T 211 om-85)

a) Materiales

- Balanza analítica 0.1 mg
- Horno $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$
- Desecador

b) Método

- Lavar las cápsulas de porcelana y llevarlas a peso constante
- Pesar 1 g de coronta en las cápsulas el peso se anota como P_h
- Secar la muestra en un horno a 105°C durante 24 horas
- Dejar enfriar en el desecador
- Cuando las cápsulas y muestras estén frías, anotar el peso como P_s

c) Expresión de los resultados

Se expresa como gramos de agua/gramos de materia húmeda

Ecuación 18.1

$$H = \frac{P_h - P_s}{P_h}$$

Donde:

Ph: Peso húmedo

Ps: Peso seco

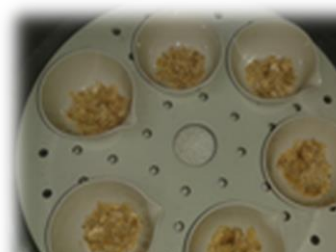


Fig 18.1. Muestras de coronta en desecación para determinar humedad



18.1.2 Determinación del porcentaje de Cenizas con Extractivos (TAPPI T 211 om-85)

a) Materiales

- Crisol de cerámica
- Mufla
- Balanza analítica de 0.1 mg

b) Método

- Pesar 2 gramos de coronta en un crisol de peso conocido P_0
- Introducir la muestra en una mufla calentándose lentamente hasta $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, aumentar la temperatura paulatinamente hasta $575 \pm 25^{\circ}\text{C}$ para carbonizar toda la muestra
- Cuando el residuo cese de carbonizarse déjese que se calcine durante 3 h más, hasta que no haya partícula negra en el residuo
- Enfriar el crisol a temperatura ambiente en un desecador
- Pesar y anotar el peso P_c .

c) Expresión de los resultados

El contenido de cenizas se calcula como:

Ecuación 18.2

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_c}{P_0} \times 100$$

Dónde:

P_c = Peso de las cenizas (g)

P_0 = peso anhidro de la muestra (g)



Fig. 18.2 Cenizas de coronta



18.1.3 pH (TAPPI T 252 om-90)

El potencial de iones Hidrógeno se determina en las muestras de coronta con extractivos.

a) Materiales

- Matraz de ebullición de 250 mL Pyrex® 24/40
- Vidrio reloj
- Balanza analítica 0.1 mg
- Espátula
- Refrigerante Pyrex® 24/40
- Mangueras
- Manta calefactora
- Termostato
- Perlas de ebullición



Fig 18.3.1 Sistema de reflujo para extracción de la muestra líquida

b) Método

Método de Agua Caliente.

- Pesar 10 g de muestra (coronta de maíz)
- Colocar los 10 g de muestra dentro de un matraz de ebullición de 250 mL
- Adicionar 100 mL de agua destilada y mezclar
- Montar el equipo de reflujo y someterlo a este proceso durante 3 horas
- Al finalizar las 3 horas, remover y tapar la solución dejándola enfriar hasta $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Medir el pH con el pHmetro durante 3 minutos.



Fig 18.3.2 Medición de pH



18.1.4 Preparación de la muestra determinación de porcentaje de extractivos totales (TAPPI, 264 om-88)

a) Materiales

- Balanza analítica
- Vidrio de reloj
- Beacker de 100 mL Pyrex®, Clase A/±0.05 mL
- Probeta de 100 mL Pyrex®, Clase A/±1.0 mL
- Balón de fondo redondo de 500 mL Pyrex®, 24/40
- Soxhlet BOWEL 24/40: balón, refrigerante, mangueras, pinzas, soporte universal
- Embudo Buchner
- Matraz Kitazato de 250 mL Pyrex®
- Bomba succionadora al vacío
- Mangueras

b) Reactivos

- Agua destilada
- Etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) 99.8 % ACS Merck
- Benceno (C_6H_6) 99.7 % ACS Merck

c) Método

- Pesar 10 gramos de muestra molida y tamizada
- Medir en una probeta 100 mL de etanol y 300 mL de benceno.
- Depositarlos en un balón de 500 mL
- Extraer solubles en Soxhlet por 6 horas con 400 mL de etanol-benceno (1:2 v/v) → 100 mL de etanol y 300 mL de benceno.



- Armar el montaje del equipo, depositando los 10 gramos en el dedal, iniciar la extracción durante 6 horas, con un sifoneo cada hora.
- Cambiar el balón por otro de 500 mL que contenga 400 mL de etanol
- Iniciar la extracción con etanol durante 5 horas
- Cambiar el balón por otro de 500 mL que contenga 500 mL de agua destilada caliente e iniciar la extracción por una hora
- Sacar la muestra y realizarle un lavado al vacío con 500 mL de agua destilada caliente
- Se observará que habrá un cambio de color del agua que sale del lavado esta debe ser casi transparente
- Dejar secar la muestra al aire libre.

Fig 18.4.1 Etapa inicial de la extracción Soxhlet ½ h



Fig 18.4.2 Etapa final de la extracción con Soxhlet 5 h después



Fig 18.4.3 Sistema de filtración al vacío



Fig 18.4.4 Secado de las muestras a temperatura ambiente





18.1.5 Cenizas sin Extractivos (TAPPI T 211 om-85)

a) Materiales

- Vidrio reloj
- Espátula
- Balanza analítica
- Mufla
- Crisoles de porcelana

b) Método

- Pesar 2 gramos de coronta sin extractivos en un crisol de peso conocido P_0
- Introducir la muestra en una mufla calentándose lentamente hasta $100\text{ }^\circ\text{C}$, aumentar la temperatura paulatinamente hasta $575 \pm 25^\circ\text{C}$ para carbonizar toda la muestra
- Cuando el residuo cese de carbonizarse déjese que se calcine durante 3 h más, hasta que no haya partícula negra en el residuo
- Enfriar el crisol a temperatura ambiente en un desecador
- Pesar y anotar el peso P_c .

c) Expresión de los resultados

El contenido de cenizas se calcula como:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_c}{P_0} \times 100 \quad \text{Ecuación 18.3}$$

Dónde:

P_c = Peso de las cenizas (g)

P_0 = peso anhidro de la muestra (g)



Fig 18.5 Cenizas sin extractivos



18.1.6 Determinación de Celulosa (Método de Kurschner Y Hoffer)

a) Materiales

- Balanza analítica
- Vidrio de reloj
- Espátula
- Beacker de 100 mL Pyrex® Clase A/ ± 0.05 mL
- Matraz Erlenmeyer Pyrex® de 250 mL, Clase A/ ± 0.05 mL
- Probeta de 25 mL Pyrex®, Clase A/ ± 0.02 mL
- Plancha de calentamiento
- Condensador
- Mangueras
- Termómetro -10 a 210 °C ± 1 °C
- Crisoles Gooch

b) Reactivos

- Etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) 99.8 % ACS Merck
- Ácido nítrico (HNO_3) 65 % para análisis
- Acetato de sodio ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$) 99.5 % Merck
- Agua destilada

c) Método

- Se toma 1 gramo de materia anhidra libre de extractos, luego se coloca en un matraz, al mismo añadir 20 mL de etanol y 5 mL de ácido nítrico concentrado
- Hervir en baño maría a reflujo durante 30 minutos. La solución se pasa por un filtro Gooch de porosidad media y peso conocido



- Desechar el líquido y el sólido someter a una segunda digestión durante 30 minutos con 25 mL de etanol-ácido nítrico
- Realizar una decantación como en la etapa anterior y efectuar una tercera digestión con 100 mL de agua destilada por una hora. La muestra se filtra en el Gooch, se lava con agua destilada caliente y posteriormente con 100 mL de solución saturada de acetato de sodio y por último con 500 mL de agua destilada caliente
- El residuo se seca en un horno eléctrico a una temperatura de 105 ± 3 °C
- Cuando el residuo se seca se procede a enfriarlo en un desecador de cristal sobre sílica gel
- Pesar el residuo.

d) Expresión de los Resultados

El porcentaje de celulosa se calcula con la siguiente ecuación:

Ecuación 18.4

$$\% \text{ Celulosa} = \frac{P_{OR}}{P_o} \times 100$$

Dónde:

P_{OR} = Peso seco del residuo (g)

P_o = Peso anhidro de la muestra (g)



Fig 18.6.1 Extracción a reflujo



Fig 18.6.2 Celulosa húmeda



Fig 18.6.3 Celulosa seca



18.1.7 Determinación de lignina (TAPPI T 222 om-88)

a) Materiales

- Balanza analítica 0.1 mg
- Probeta 250 mL Pyrex®
- Balón aforado 250 mL Pyrex® Clase A/±0.12 mL
- Termómetro -10 a 210 °C ± 1 °C
- Beacker 100 mL Pyrex® Clase A/± 0.05 mL
- Vidrio reloj
- Matraz Erlenmeyer 250 mL Pyrex®
- Varilla de agitación
- Plancha de calentamiento
- Refrigerante 24/40
- Balón de fondo plano 250 mL Pyrex® 24/40
- Mangueras
- Crisoles Gooch
- Horno



b) Reactivos

- Ácido sulfúrico 96.7% ACS J.T Baker
- Hielo
- Agua destilada

c) Método

- Pesar 1g de coronta anhídrido
- Preparar una solución de ácido sulfúrico al 72 %
- A una muestra de 1 gramo del material libre de extractos se le agrega 15 mL de ácido sulfúrico al 72 %, manteniéndose en agitación en baño maría a 20 ± 1 °C
- Transferir a un matraz con 360 mL de agua destilada para diluirlo hasta alcanzar una concentración de ácido del 3 %
- Hervir a reflujo por 4 horas para asegurar un volumen constante de agua
- Decantar la solución manteniendo el matraz en una posición inclinada hasta que el material esta finalmente dividido. Durante 12 horas
- Se filtra a través de un crisol tipo Gooch de porosidad fina
- Lavar con agua caliente para eliminar el ácido
- Secar en un horno eléctrico a 105 ± 3 °C hasta alcanzar un peso constante.

d) Expresión de los resultados

$$\% \text{ Lignina} = \frac{\text{peso seco de lignina (g)}}{\text{Peso anhidro de la muestra (g)}} \times 100$$

Ecuación 18.5



Fig 18.7.1 Extracción a reflujo con H₂SO₄



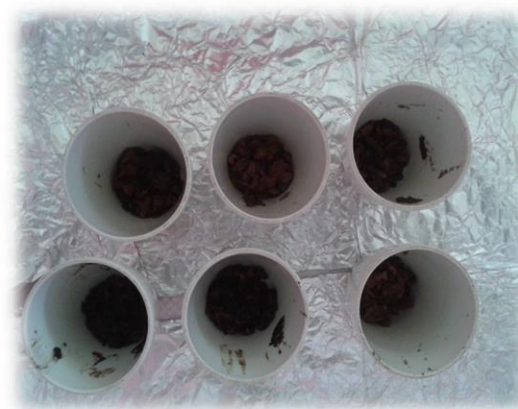
Fig 18.7.2 Reposo durante 12 h



Fig 18.7.3 Filtración en Gooch



Fig 18.7.4 Lignina seca



18.1.8 Hemicelulosa

Para la determinación del contenido de hemicelulosa es necesario haber calculado el porcentaje de celulosa y lignina, sustituir en la siguiente ecuación.

Ecuación 18.6

$$\% \text{ Hemicelulosa} = 100 - (\% \text{ celulosa} + \% \text{ lignina})$$



Anexo: 19

19.1 Cuantificación de azúcares reductores totales según el método Miller ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS)

a) Reactivos

- Tartrato de sodio y potasio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)/ sal de Rochelle 99.8 % ACS Merck
- Hidróxido de sodio (NaOH) 99 % Merck
- Ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) 99.9% MERCK
- Agua destilada

b) Materiales y equipos

- 1 matraz volumétrico de 100 mL Pyrex® con tapón Clase A/ ± 0.10 mL
- 1 micro pipeta de 100 μl , 200 μl , 500 μl , 1000 μl , 5000 μl
- Frasco de vidrio ámbar
- Papel Kraft
- 2 Vasos precipitado de 100 mL y 250 mL Pyrex® Clase A/ ± 0.05 mL
- 15 Vasos de precipitado de 50 mL Pyrex® Clase A/ ± 0.05 mL
- 1 Baño María
- Hielo
- 1 Gradilla plástica forrada con plástico negro
- 1 Espátula
- 40 Tubos de ensayo de 16 x 150 mm
- 1 Plancha de calentamiento
- 1 Plancha de agitación
- 1 Espectrofotómetro
- Centrífuga
- Varilla de agitación
- Cronómetro



c) Procedimiento

▪ Preparación de la solución de DNS

1. Se disolvieron 1.6 g de NaOH en 20 mL de agua destilada en un vaso precipitado de 250 mL, se disolvió con agitación magnética, posteriormente se adicionó 30 mL de agua destilada y se procedió a disolver en intervalos 43.8 g de tartrato de sodio y potasio.
2. Luego se disolvieron 1 g de DNS en 20 mL de agua destilada en un vaso de precipitado de 100 mL previamente forrado con papel kraft. Se tapó y se mantuvo en agitación por 16 horas aproximadamente.
3. Se mezcló la solución del tartrato de sodio y potasio con la solución de DNS y se aforó a 100 mL con agua destilada. La solución presentó color naranja translucido.
4. Se trasvasó la solución a un frasco de vidrio ámbar previamente forrado con papel Kraft y se mantuvo en un lugar fresco y protegido de la luz, la solución se usó después de las 14 horas de preparada. La vigencia del reactivo es aproximadamente dos meses.

▪ Curva de Calibración

1. Se preparó una solución Stock de glucosa a una concentración de 1g/L en un balón aforado de 100 mL
2. Se preparó una serie de diluciones de concentraciones 0.02 g/L, 0.04 g/L, 0.06 g/L, 0.08 g/L, 0.10 g/L en tubos de ensayo, dispuestos en una gradilla previamente forrada con plástico negro, con el objetivo de que la reacción se haga en la oscuridad, en cada tubo se depositó solución madre de Glucosa, más agua y el reactivo generador de color DNS en relación 1:1 hasta completar 1 mL, agitar con agitación centrifuga con 900 rpm 2 minutos, los volúmenes son los siguientes:



Tabla 19.1 Volúmenes y concentraciones para la curva de calibración

[g/L] Glucosa \ Vol (mL)	Blanco	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10
Glucosa	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Agua	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0
DNS	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Proceso	Paso 3					
H ₂ O (paso 4)	4	4	4	4	4	4
(Aforo final)	5	5	5	5	5	5

Fuente: Propia

- Se colocaron los tubos con las soluciones durante 5 minutos en baño maría e inmediatamente, se pasaron los tubos a un baño de hielo durante 5 minutos (la soluciones transparentes cambiaron a un color amarillento hasta rojizo)
- Posteriormente se adicionó 4 mL de agua destilada, se agitó en la centrífuga a 900 rpm por 2 minutos y se dejó en reposo durante 10 minutos
- Luego se procedió a leer la absorbancia a 540.5 nm
- Se graficó la absorbancia en función de la concentración (g/L). Mediante regresión lineal se encuentra la ecuación correspondiente a la gráfica elaborada. Se utilizó esta curva estándar para determinar la concentración de glucosa en las muestras problema.



Figura 19.1 Reactivo DNS

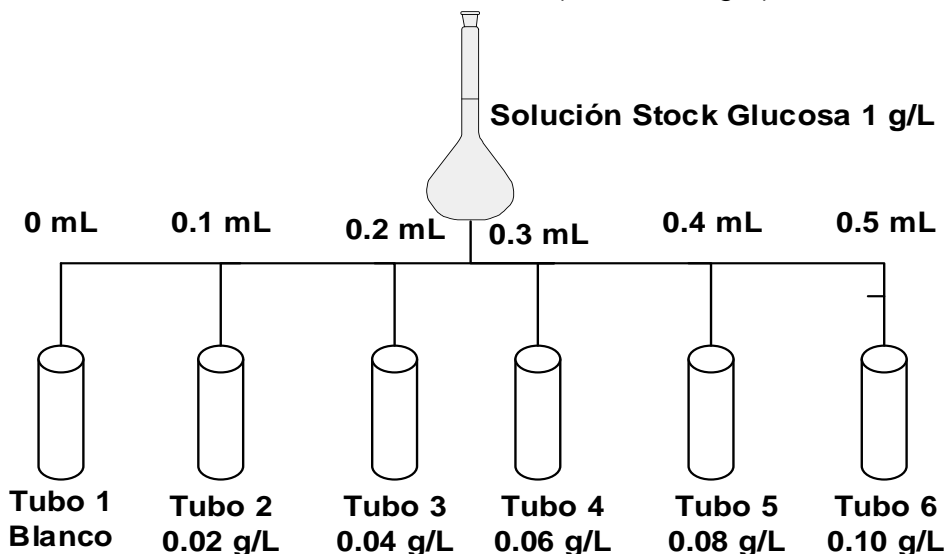


Figura 19.2 Solución Stock de Glucosa [1g/L]



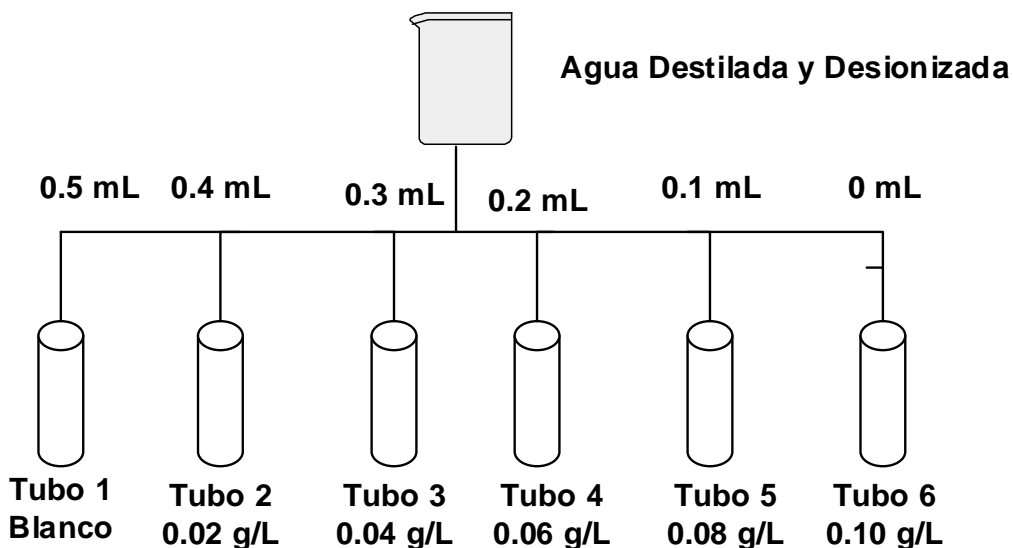
Flujograma 19.1 Procedimiento en la preparación de las soluciones en los tubos de ensayo para la curva de calibrado

Paso N° 1: Adición de la Solución Stock (Glucosa 1 g/L)



Fuente: Propia, elaborado con ChemSketch y Visio 2013

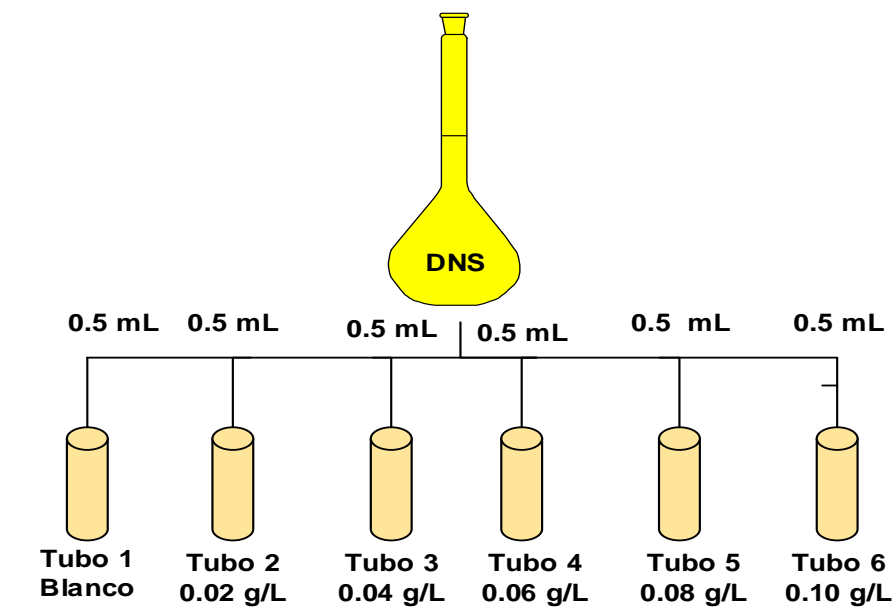
Paso N° 2: Adición de Agua Destilada y Desionizada



Fuente: Propia, elaborado con ChemSketch y Visio 2013



Paso N° 3: Adición de Reactivo desarrollador de color Ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS)



Fuente: Propia, elaborado con ChemSketch y Visio 2013

Paso N° 4: Agitación Centrífuga (900 rpm 2 minutos)



Paso N° 5: Baño María (5 minutos)

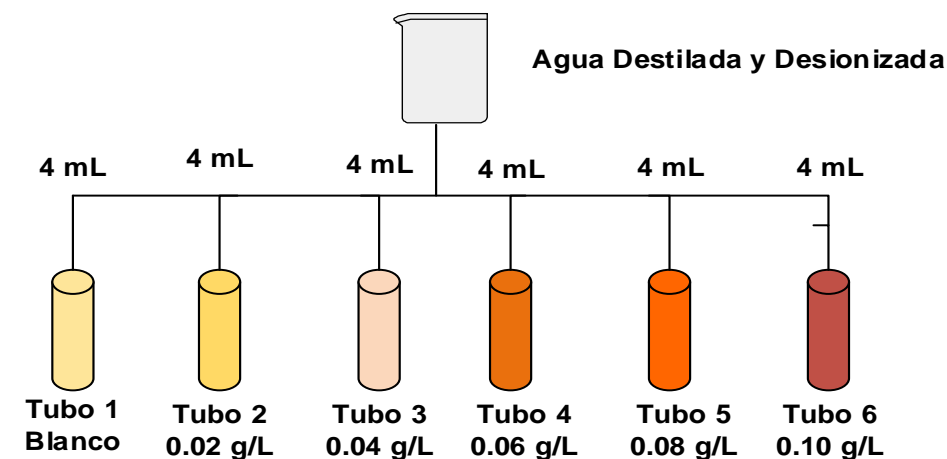




Paso N° 6: Baño de hielo (5 minutos)



Paso N° 7: Adición de Agua Destilada y Desionizada (Aforo final)



Fuente: Propia, elaborado con ChemSketch y Visio 2013

Paso N° 7, 8, 9, 10: Agitar con la centrífuga (900 rpm 2 minutos), Distinguir la gama de tonalidades, dejar en reposo por 10 minutos, Leer con el espectrofotómetro





▪ Curva de Absorbancia

Antes de realizar la curva de calibrado fue necesario encontrar la absorbancia de trabajo en el espectrofotómetro Perkin Elmer para el método DNS, para lo cual se tomó la solución preparada de mayor concentración 0.10 g/L, los datos obtenidos fueron los siguientes.

Tabla 19.2 Longitud de onda en rango 588.0 a 413.0 nm con sus respectivas absorbancias

Longitud de onda (λ)	Absorbancia (nm)	Longitud de onda (λ)	Absorbancia (nm)
588.0	0.660	549.0	1.845
587.0	0.680	548.0	1.863
586.0	0.698	547.0	1.876
585.0	0.720	546.0	1.889
584.0	0.741	545.0	1.898
583.0	0.762	544.0	1.904
582.0	0.786	543.0	1.911
581.0	0.810	542.0	1.914
580.0	0.836	541.0	1.916
579.0	0.863	540.0	1.916
578.0	0.892	539.0	1.915
577.0	0.920	538.0	1.910
576.0	0.950	537.0	1.908
575.0	0.982	536.0	1.903
574.0	1.012	535.0	1.897
573.0	1.045	534.0	1.890
572.0	1.078	533.0	1.881
571.0	1.111	532.0	1.872
570.0	1.146	531.0	1.859
569.0	1.181	530.0	1.847
568.0	1.214	529.0	1.836
567.0	1.251	528.0	1.822
566.0	1.288	527.0	1.807
565.0	1.323	526.0	1.791
564.0	1.361	525.0	1.772
563.0	1.400	524.0	1.752



562.0	1.436	523.0	1.732
561.0	1.475	522.0	1.708
560.0	1.514	521.0	1.683
559.0	1.552	520.0	1.657
558.0	1.589	519.0	1.624
557.0	1.626	518.0	1.593
556.0	1.660	517.0	1.560
555.0	1.694	516.0	1.519
554.0	1.726	515.0	1.479
553.0	1.753	514.0	1.439
552.0	1.781	513.0	1.389
551.0	1.806	512.0	1.341
550.0	1.826	511.0	1.291
510.0	1.230	468.0	0.000
509.0	1.173	467.0	0.001
508.0	1.113	466.0	0.002
507.0	1.042	465.0	0.001
506.0	0.974	464.0	0.000
505.0	0.902	463.0	0.000
504.0	0.817	462.0	-0.001
503.0	0.738	461.0	0.000
502.0	0.653	460.0	0.000
501.0	0.558	459.0	0.001
500.0	0.470	458.0	0.001
499.0	0.382	457.0	0.001
498.0	0.290	456.0	0.000
497.0	0.206	455.0	0.000
496.0	0.133	454.0	0.000
495.0	0.075	453.0	0.001
494.0	0.009	452.0	0.002
493.0	-0.076	451.0	0.002
492.0	0.068	450.0	0.001
491.0	0.029	449.0	-0.001
490.0	0.019	448.0	0.003
489.0	0.012	447.0	0.001
488.0	0.008	446.0	0.002
487.0	0.005	445.0	0.002
486.0	0.005	444.0	0.001
485.0	0.005	443.0	0.003

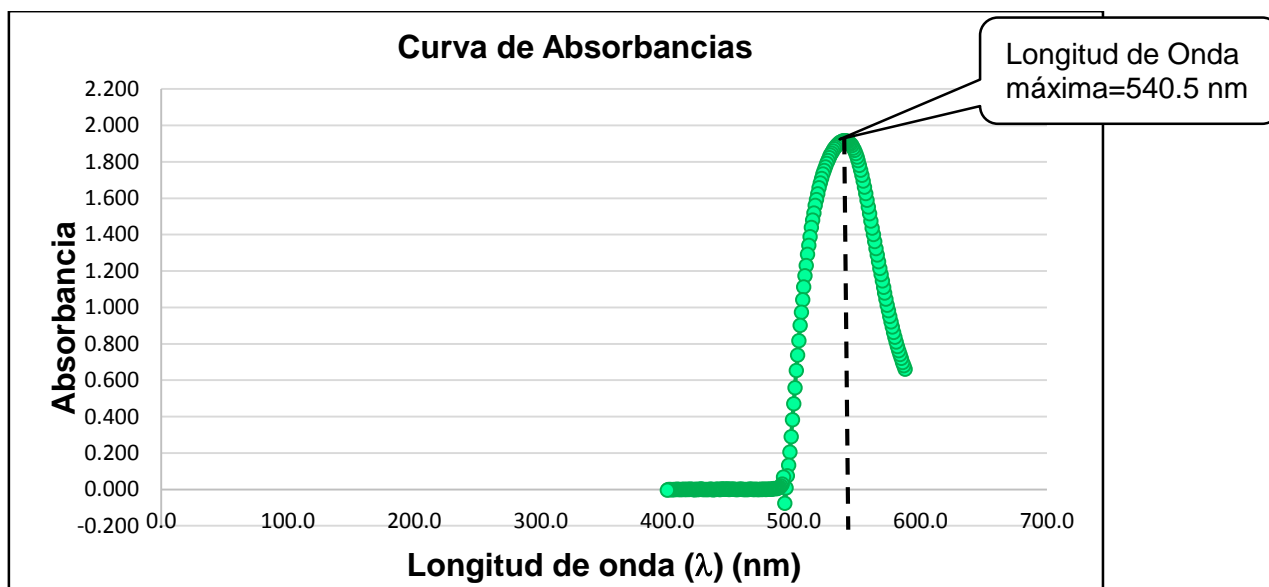


484.0	0.004	442.0	-0.001
483.0	0.002	441.0	0.000
482.0	0.002	440.0	0.001
481.0	0.001	439.0	0.001
480.0	0.001	438.0	-0.001
479.0	0.002	437.0	0.000
478.0	0.000	436.0	-0.002
477.0	0.001	435.0	0.001
476.0	0.002	434.0	0.001
475.0	0.000	433.0	-0.001
474.0	0.002	432.0	-0.001
473.0	0.000	431.0	0.000
472.0	0.000	430.0	-0.001
471.0	0.000	429.0	0.000
470.0	0.002	428.0	0.000
469.0	0.000	427.0	0.003
426.0	0.002	412.0	0.000
425.0	0.000	411.0	0.000
424.0	-0.001	410.0	-0.001
423.0	0.001	409.0	-0.001
422.0	-0.003	408.0	0.001
421.0	0.000	407.0	0.000
420.0	0.000	406.0	-0.001
419.0	0.001	405.0	-0.001
418.0	0.001	404.0	-0.002
417.0	0.000	403.0	0.000
416.0	0.001	402.0	-0.001
415.0	0.000	401.0	0.000
414.0	0.000	400.0	-0.004
413.0	0.002		

Fuente: Propia



Gráfica 19.1 Curva de Absorbancia para definir la longitud de onda de trabajo



Fuente: Propia

De acuerdo a lo observado en el gráfico se tomó la decisión de trabajar con la longitud de onda de 540.5 nm, puesto que es la longitud de onda mayor.

▪ **Curva de Calibración**

Las lecturas de las absorbancias se realizaron por cuadruplicado obteniendo los siguientes resultados.

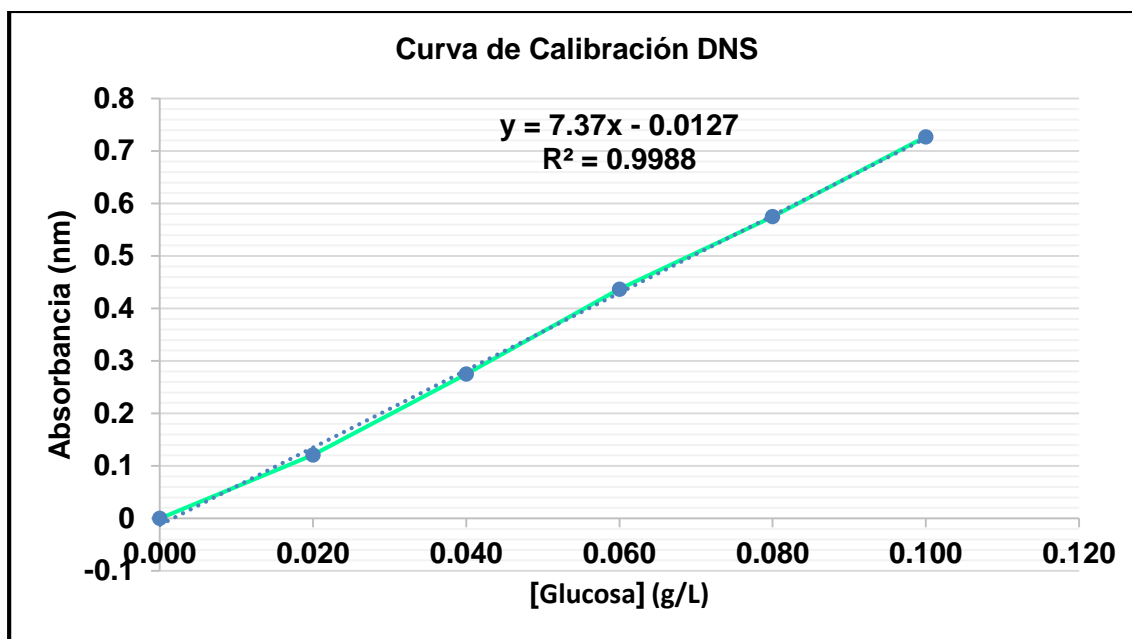
Tabla 19.3 Datos espectroscópicos usados para construir la curva de calibración

[Glucosa] g/L	Absorbancias				
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	Lectura 4	\bar{x}
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.020	0.121	0.121	0.121	0.121	0.121
0.040	0.257	0.257	0.257	0.257	0.257
0.060	0.437	0.437	0.437	0.437	0.437
0.080	0.575	0.574	0.574	0.575	0.575
0.100	0.727	0.727	0.727	0.727	0.727

Fuente: Propia



Gráfica 19.2 Curva de Calibración de la Glucosa



Fuente: Propia

A continuación se muestran los datos estadísticos usados para la determinación de las incertidumbres asociadas a la recta de calibración con Ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) para la Glucosa.



Tabla 19.4 Datos estadísticos usados para la determinación de las incertidumbres asociadas a la recta de calibración con Ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) para la Glucosa

[g/L] x_i	y_i	$x_i y_i$	x_i^2	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	$y_i - \bar{y}$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$
0.000	0.000	0.0000	0.0000	-0.0500	0.0025	-0.3558	0.1266	0.0178
0.020	0.121	0.0024	0.0004	-0.0300	0.0009	-0.2348	0.0551	0.0070
0.040	0.257	0.0110	0.0016	-0.0100	0.0001	-0.0808	0.0065	0.0008
0.060	0.437	0.0262	0.0036	0.0100	0.0001	0.0812	0.0066	0.0008
0.080	0.575	0.0460	0.0064	0.0300	0.0009	0.2192	0.0480	0.0066
0.100	0.727	0.0727	0.0100	0.0500	0.0025	0.3712	0.1378	0.0186
Σ 0.30	2.135	0.1583	0.0220	-0.1300	0.0070	-0.9462	0.3806	0.0516
\bar{x} 0.050	\bar{y} 0.3558	0.0264	0.0036	-0.0216	0.0012	-0.1577	0.0634	0.0086

Fuente: Propia



▪ **Fórmulas estadísticas para tratamiento de datos (Miller & Miller, 2002)**

- Media Aritmética
$$\bar{x} = \sum \frac{x_i}{n}$$
 Ecuación 19.1

- Desviación estándar
$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$
 Ecuación 19.2

- Límite de confianza de la media
$$LC_{\bar{x}} = \bar{x} \pm \frac{t_{n-1} s}{\sqrt{n}}$$
 Ecuación 19.3

▪ **Métodos de Mínimos Cuadrados**

- Ecuación de la recta
$$y = a + bx$$
 Ecuación 19.4

- Pendiente de la recta
$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$
 Ecuación 19.5

- Ordenada en el origen
$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$
 Ecuación 19.6

- Coeficiente de correlación
$$r^2 = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]\}^{1/2}}$$
 Ecuación 19.7

- Errores aleatorios en y
$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y}_i)^2}{n - 2}}$$
 Ecuación 19.8



- Desviación estándar de la pendiente

$$s_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

Ecuación 19.9

- Desviación estándar del intercepto

$$s_a = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

Ecuación 19.10

- Desviación estándar de la concentración de la muestra X_0

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

Ecuación 19.11

- Límite de confianza de la pendiente

$$\pm LC_{b(95\%)} = t_{(n-2)} s_b$$

Ecuación 19.12

- Límite de confianza de ordenada en el origen

$$\pm LC_{a(95\%)} = t_{(n-2)} s_a$$

Ecuación 19.13

- Límite de confianza para un valor X_0

$$\pm LC_{x_0(95\%)} = t_{(n-2)} s_{x_0}$$

Ecuación 19.14



Donde:

Abreviatura	Significado
a	Intercepto
b	Pendiente de la recta
x	Concentración de la muestra
\bar{y}	Puntos sobre la recta de regresión calculada correspondientes a los valores individuales de x, es decir los valores de y "ajustados"
S_{y/x}	Desviación de la absorbancia
S_b	Desviación de la pendiente
S_a	Desviación del intercepto
r	Coefficiente de regresión
t	se obtiene para un nivel de confianza deseado y (n-2) grados de libertad
n	Número de muestras
m	Análisis replicados

▪ **Cálculos**

Ecuación de la recta de calibrado

- Coeficiente de Correlación

$$r^2 = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]}^{1/2}$$

$$r^2 = \frac{0.0516}{(0.0070)(0.3806)^{1/2}}$$

$$r^2 = 0.9988$$

- Pendiente

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

$$b = \frac{0.0516}{0.0070}$$

$$b = 7.37$$



- Intercepto

$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$

$$a = 0.3558 - 7.37(0.050)$$

$$a = -0.0127$$

▪ **Cálculo de los errores asociados a la recta de calibrado**

- Errores aleatorios en y

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y}_i)^2}{n-2}}$$

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{0.3806}{4}}$$

$$s_{y/x} = 0.3085$$

- Desviación estándar de la pendiente

$$s_b = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$s_b = \frac{0.3085}{\sqrt{0.0070}}$$

$$s_b = 3.6873$$

- Desviación estándar del intercepto

$$s_a = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$s_a = 0.3085 \sqrt{\frac{0.0220}{6(0.0070)}}$$

$$s_a = 0.2233$$



Límites de confianza de la recta de calibrado

- Límite de confianza de la pendiente

$$\pm LC_{b(95\%)} = t_{(n-2)} S_b$$

$$\pm LC_{b(95\%)} = \pm(2.78)(3.6873)$$

$$\pm LC_{b(95\%)} = \pm 10.2507$$

$$b = 7.37 \pm 10.2507$$

- Límite de confianza de ordenada en el origen

$$\pm LC_{a(95\%)} = t_{(n-2)} S_a$$

$$\pm LC_{a(95\%)} = \pm(2.78)(0.2233)$$

$$\pm LC_{a(95\%)} = \pm 0.6208$$

$$a = -0.0127 \pm 0.6208$$

Tabla 19.5 Tabla Distribución *t* student

Valor de <i>t</i> para un intervalo de confianza de valor crítico de <i>t</i> / para valores de <i>P</i> de número de grados de libertad	90 % 0.10	95% 0.05	98% 0.02	99% 0.01
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.70	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.40	2.68
∞	1.64	1.96	2.33	2.58

Fuente: (Miller & Miller, 2002)



Anexo 19.1

19.1 Cuantificación de la concentración de azúcares reductores totales en las muestras hidrolizadas

El procedimiento que se siguió para cuantificar la concentración de los azúcares reductores totales fue el mismo con el cual se construyó la curva de calibrado, con la diferencia que se sustituyó la solución de Glucosa por cada una de las ocho muestras hidrolizadas, para la preparación de la muestra se midió un mililitro de los hidrolizados, se aforaron con agua destilada y desionizada en balones de 50 mL, el factor de dilución (FD) aplicado fue 1:50, la cuantificación se realizó por duplicado y las lecturas por triplicado.

Flujograma 19.1.1 Procedimiento para la cuantificación de la concentración de los azúcares reductores totales en las ocho muestras hidrolizadas

Imagen 19.1.1.1
Muestras Hidrolizadas



Imagen 19.1.1.2
Soluciones FD 1:50



Imagen 19.1.1.3
Preparación de la muestra



1. Hidrolizado 0.5 mL
2. DNS 0.5 mL

1. Agua 4 mL



Imagen 19.1.1.6
Adición de Agua



Imagen 19.1.1.5
Baño de hielo 5 min



Imagen 19.1.1.4
Baño María 5 min

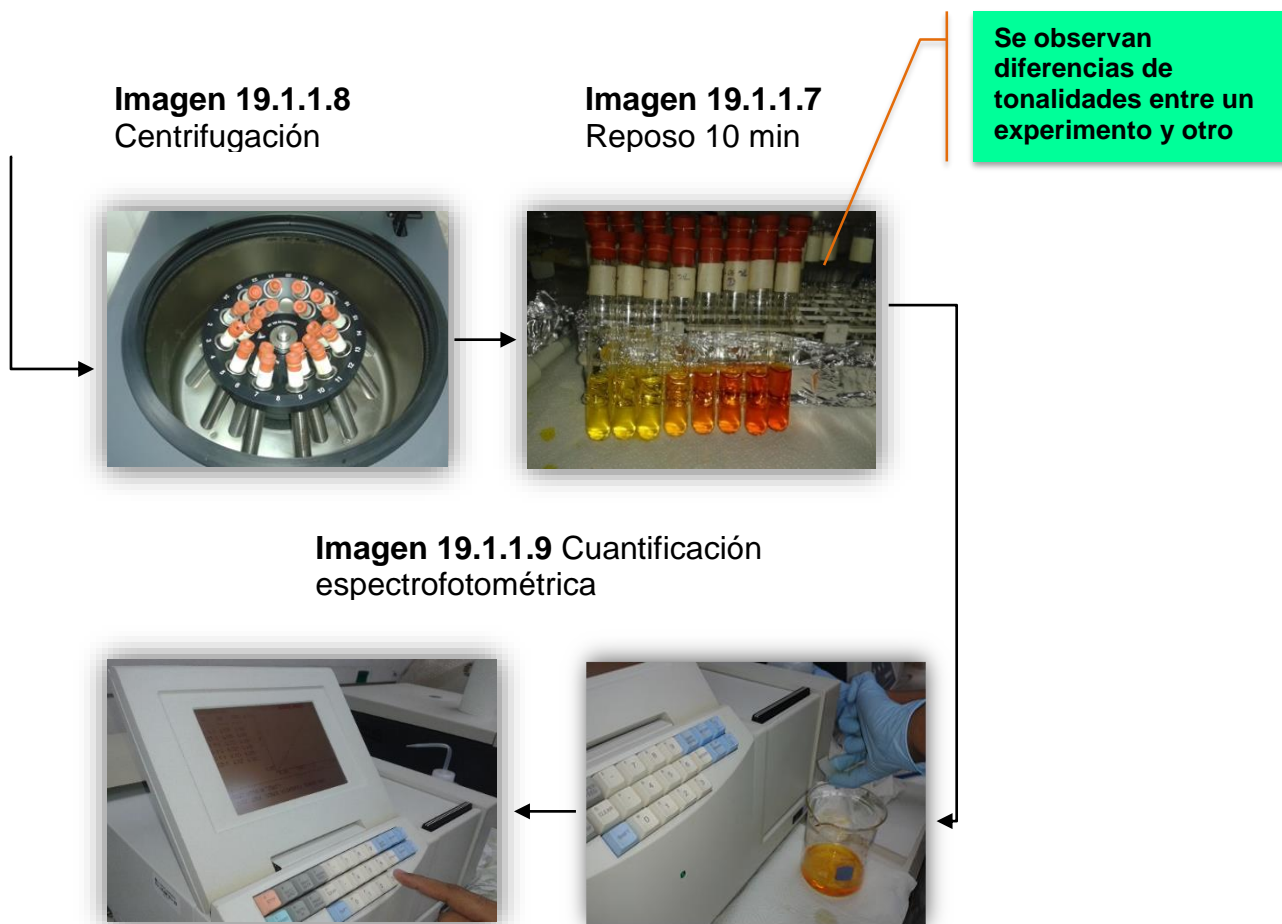


Tabla 19.1.1 Resultados de las lecturas para los ocho experimentos

Nº Exp.	Nº muestras	Absorbancias					[AR g/g]
		1	2	3	\bar{x}	\bar{X}	
Blanco	B.1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	B.2	0.000	0.000	0.000	0.000		
1	1.1	0.111	0.111	0.111	0.111	0.112	2.5350
	1.2	0.113	0.113	0.112	0.113		
2	2.1	0.119	0.119	0.119	0.119	0.120	2.2950
	2.2	0.120	0.121	0.121	0.121		
3	3.1	0.129	0.129	0.128	0.129	0.129	2.9280
	3.2	0.127	0.127	0.129	0.128		
4	4.1	0.123	0.123	0.123	0.123	0.123	2.5760
	4.2	0.122	0.123	0.122	0.122		



5	5.1	0.112	0.112	0.112	0.112	0.113	5.8482
	5.2	0.113	0.113	0.113	0.113		
6	6.1	0.125	0.134	0.126	0.128	0.126	5.6118
	6.2	0.123	0.123	0.123	0.123		
7	7.1	0.133	0.133	0.133	0.133	0.125	5.6661
	7.2	0.116	0.116	0.116	0.116		
8	8.1	0.117	0.117	0.117	0.117	0.122	5.7188
	8.2	0.126	0.126	0.126	0.126		

- **Cálculo de la concentración de azúcares reductores totales en las muestras hidrolizadas**

Ecuación 19.2.1 Concentración de azúcares Reductores

$$[\text{Azúcares Reductores Totales}] = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intercepto}}{\text{Pendiente}}$$

Ejemplo del cálculo para el experimento N° 1

$$[E-1] = \frac{0.112 + 0.0127}{7.37}$$

$$[E-1] = 0.0169 \text{ g/L}$$

La concentración calculada mediante el método de los mínimos cuadrados se multiplica por dos factores de dilución, el primero 1:50 corresponde a la preparación de la solución donde se diluyó 1 mL de muestra hidrolizada y se aforó a 50 mL con agua destilada y desionizada, el segundo factor corresponde a la preparación de la muestra en los tubos de ensayo, del cual se tomó 0.5 mL de la primera dilución y se aforó en 5 mL con la adición de los reactivos DNS y agua.

$$[E-1] = \left(0.0169 \text{ g/L} \right) \left(\frac{50 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) \left(\frac{5 \text{ mL}}{0.5 \text{ mL}} \right)$$

$$[E-1] = 8.4500 \text{ g/L}$$

A partir de esta concentración se calcula la concentración de azúcares reductores totales en los 300 mL de hidrolizados.



$$[E-1] = (0.3 \text{ L}) (8.4500 \text{ g/L})$$

$$[E-1] = 2.5350 \text{ g de azúcares reductores en todo el hidrolizado}$$

Gramos de azúcares reductores totales en 8.0273 g de material hemicelulósico = 2.5350 g.

De 10 gramos de coronta que entraron al proceso hidrolítico 8.0273 g corresponden al material hemicelulósico, de lo cual se obtuvieron 2.5350 g de azúcares reductores totales. Para realizar el cálculo porcentual se dividen los gramos de azúcares reductores totales presentes en cada muestra entre la masa del material hemicelulósico multiplicada por cien.

$$[E-1] = \frac{2.5350 \text{ g}}{8.0273 \text{ g}} \times 100 = 32\%$$

▪ Cálculo del error en las concentraciones

Ejemplo para el experimento N°1

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$s_{x_0} = \frac{0.3085}{7.37} \sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{6} + \frac{(3.7896 - 0.3558)^2}{(7.37)^2 (0.0070)}}$$

$$s_{x_0} = 0.1511$$

$$\pm LCs_{x_0(95\%)} = t_{(n-2)} s_{x_0}$$

$$\pm LCs_{x_0(95\%)} = (2.78)(0.1511)$$

$$\pm LCs_{x_0(95\%)} = 0.4201$$

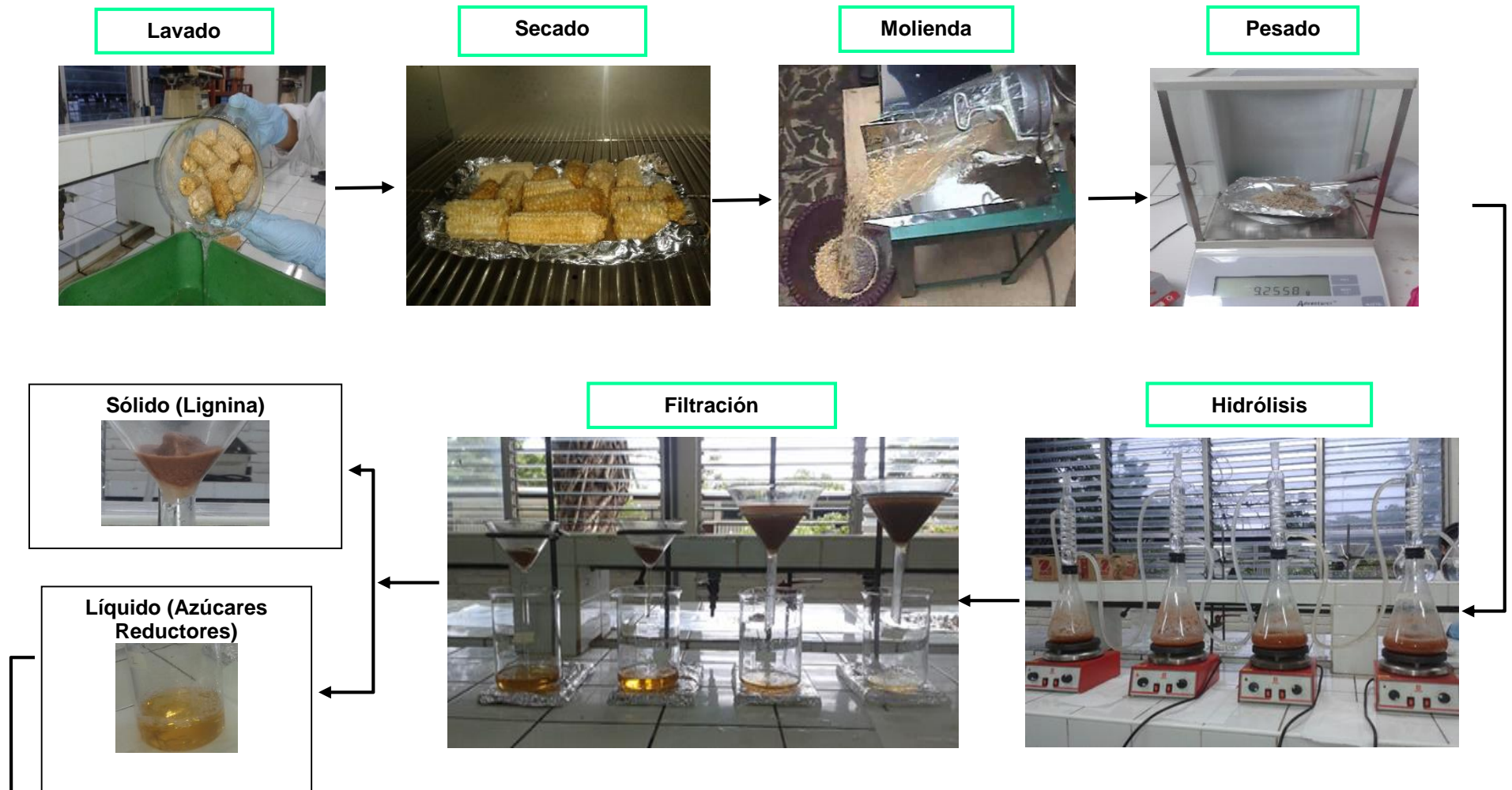


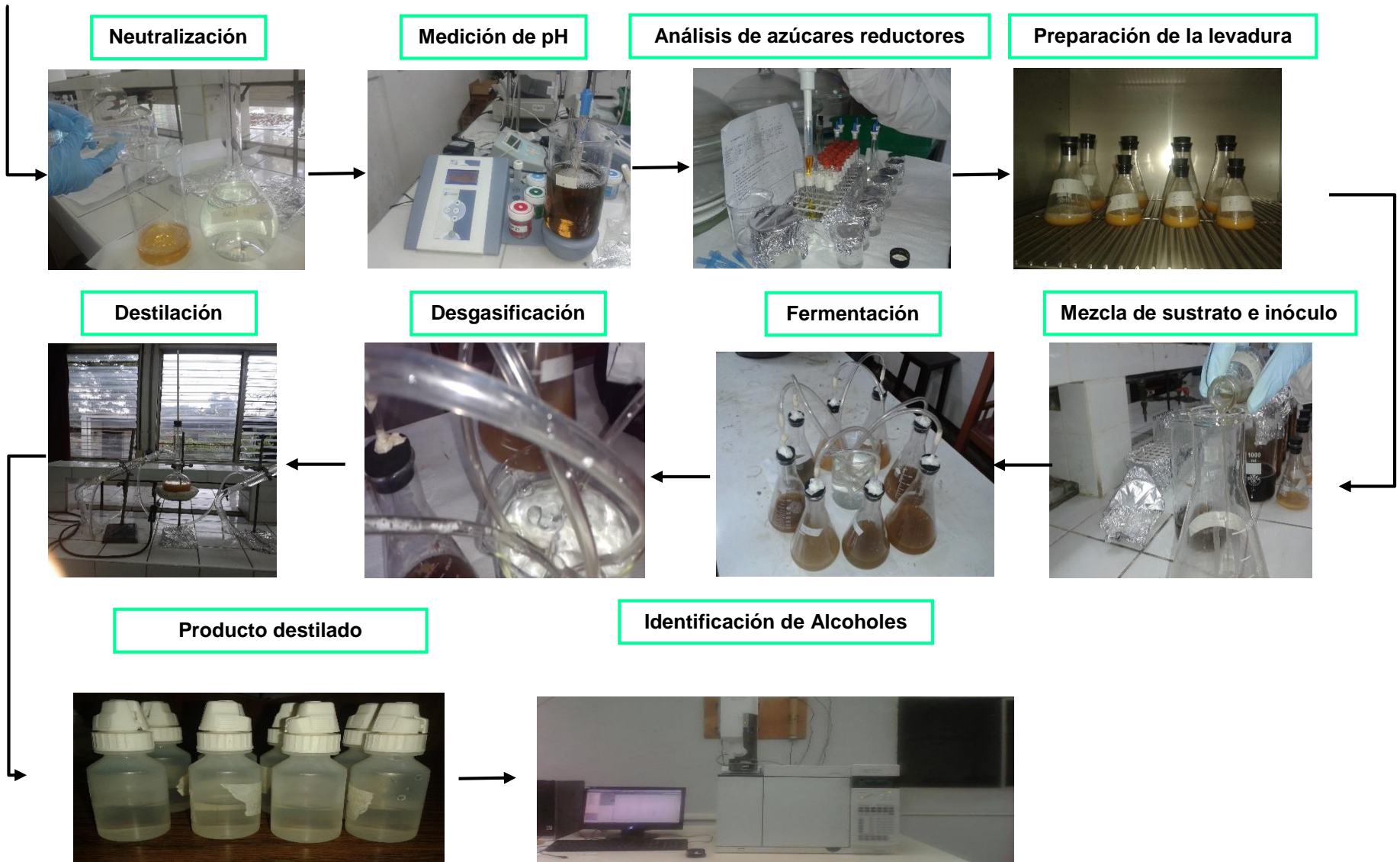
Tabla 19.1.2 Error en las concentraciones para los 8 experimentos

Nº Exp	[AR]	Sx₀	± LC 95%
1	2.5350	0.1511	0.4201
2	2.2950	0.1351	0.3755
3	2.9280	0.1773	0.4929
4	2.5760	0.1538	0.4276
5	5.8482	0.3744	1.0408
6	5.6118	0.3584	0.9964
7	5.6661	0.3621	1.0066
8	5.7188	0.3656	1.0164



20.1 Proceso de obtención de bioetanol a escala de laboratorio







Anexo: 21

21.1 Usos de la lignina

La lignina es actualmente una fuente renovable y valiosa de una gran variedad de compuestos aromáticos e hidrocarburos en general que pueden ser aprovechados de diversas maneras en la industria química (Domine, 2013). Aunque existen ciertas aplicaciones directas de la lignina para la producción de ligno-sulfonatos, carbones, resinas poliméricas y como aditivos en adhesivos, el uso de los compuestos aromáticos que poseen debería ser mucho mayor, siendo este un campo muy promisorio a nivel industrial y que seguramente crecerá aceleradamente en los próximos años. (Castillo, 2012)

Una de las fuerzas impulsoras de este crecimiento será sin duda el estudio y desarrollo de nuevos procesos químicos, catalíticos y biológicos de despolimerización de la lignina, con el objetivo de mejorar y optimizar la degradación selectiva de la lignina para producir de manera eficiente y competitiva los compuestos químicos deseados. (Castillo, 2012)

En general, existen tres tipos diferentes de lignina que provienen de los tres procesos químicos mayoritariamente utilizados para la producción de pasta de papel, y que son: lignina tipo sulfito, kraft y soda. A éstos puede añadirse un cuarto tipo que es la lignina tipo Organosolv, especialmente desarrollada en los últimos años. Cada uno de estos tipos de lignina posee sus propiedades específicas de resistencia a la temperatura y a los tratamientos ácidos, así como distintos contenidos de cenizas, azúcares y azufre, con sus ventajas y desventajas a la hora de utilizarlas como materia prima para nuevos productos. (Domine, 2013)

Existe lignina aislada y disponible para uso industrial, puede ser aprovechada para producir los correspondientes derivados aromáticos como productos químicos de alto valor añadido, o tras los correspondientes tratamientos de hidrogenación e



hidrodesoxigenación de sus derivados para llegar a la obtención de componentes, aditivos y fracciones de biocombustibles. (Domine, 2013)

Se han descrito distintos procesos de despolimerización de la lignina estudiados y en vías de desarrollo para la obtención de compuestos de interés. Cada uno posee sus ventajas competitivas, como por ejemplo el uso de catalizadores sólidos reciclables y recuperables, así también sus desventajas a nivel de aplicabilidad. (Domine, 2013)

En lo que destacan, por sus posibilidades de aplicación a gran escala la hidrólisis básica, la despolimerización oxidativa, la pirólisis catalítica, la hidrogenólisis/hidrogenación y la hidrodesoxigenación. Mientras que los dos primeros son más adecuados para la obtención de compuestos aromáticos específicos (vainilla, guayacol y derivados), los tres restantes apuntan a la producción directa de mezclas de compuestos que puedan ser mezclados (o utilizados) en combustibles de automoción.



Anexo: 22

22.1 Resultados de los análisis en la caracterización físico química de la coronta de maíz variedad HS-5

Tabla 22.1.1 Porcentaje de humedad

Muestra de coronta	% Humedad
Muestra 1	0.2000
Muestra 2	0.2100
Muestra 3	0.2100
Muestra 4	0.2000
Muestra 5	0.1900
\bar{x} - Media	0.2020
Desviación estándar	0.0084

Tabla 22.1.2 Porcentaje de cenizas con extractivos

Muestra de coronta	% cenizas con extractivos
Muestra 1	1.9500
Muestra 2	1.9700
Muestra 3	2.0000
Muestra 4	1.9100
Muestra 5	1.9500
\bar{x} - Media	1.9560
Desviación estándar	0.0328

Tabla 22.1.3 pH

Muestra de coronta	pH
Muestra 1	5.7400
Muestra 2	5.4900
Muestra 3	5.4800
Muestra 4	5.5400
Muestra 5	5.5800
\bar{x} - Media	5.5660
Desviación estándar	0.1053



Tabla 22.1.4 Extractivos totales

Muestra de coronta	% Extractivos Totales
Muestra 1	0.3105
Muestra 2	0.3638
Muestra 3	0.3782
Muestra 4	0.3844
Muestra 5	0.3767
X- Media	0.3627
Desviación estándar	0.0301

Tabla 22.1.5 Porcentajes de cenizas sin extractivos

Muestra de coronta	% Cenizas sin extractivos
Muestra 1	0.1100
Muestra 2	0.1200
Muestra 3	0.1200
Muestra 4	0.1100
Muestra 5	0.1100
X- Media	0.1140
Desviación estándar	0.0054

Tabla 22.1.6 Porcentaje de celulosa

Muestra de coronta	% Celulosa
Muestra 1	36.7044
Muestra 2	36.9456
Muestra 3	36.3184
Muestra 4	34.6900
Muestra 5	38.8678
X- Media	36.7052
Desviación estándar	1.4954



Tabla 22.1.7 Porcentaje de lignina

Muestra de coronta	% Lignina
Muestra 1	18.4938
Muestra 2	20.7528
Muestra 3	19.4250
Muestra 4	19.5102
Muestra 5	20.4542
X- Media	19.7272
Desviación estándar	0.9000

Tabla 22.1.8 Porcentaje de hemicelulosa (No experimental, cálculo mediante fórmula)

Muestra de coronta	% Hemicelulosa
Muestra 1	44.8018
Muestra 2	42.3016
Muestra 3	44.2566
Muestra 4	45.7998
Muestra 5	40.6780
X- Media	43.5676
Desviación estándar	2.0575



Anexo: 23

23.1 Variables operacionales

En la tabla 23.1 se presentan los resultados del proceso de hidrólisis ácida y fermentación separada

Tabla 23.1 Datos experimentales en el proceso de hidrólisis ácida diluida y fermentación separada

Caracteres	E-1	E-2	E-3	E-4	E-5	E-6	E-7	E-8
HIDRÓLISIS ÁCIDA DILUIDA								
[H ₂ SO ₄] (%)	4	4	7	7	4	4	7	7
Relación m/v	1:15	1:15	1:15	1:15	1:15	1:15	1:15	1:15
Tiempo de Hidrólisis (h)	1.5	2	1.5	2	1.5	2	1.5	2
Temperatura de Hidrólisis (°C)	90	90	100	100	100	100	90	90
Masa inicial de coronta (g)	10.0000	10.0000	10.0000	10.0000	20.0000	20.0000	20.0000	20.0000
Masa de Material hemicelulósico (g)	8.0273	8.0273	8.0273	8.0273	16.0546	16.0546	16.0546	16.0546
Masa de lignina (g)	1.9727	1.9727	1.9727	1.9727	3.9454	3.9454	3.9454	3.9454
Masa de corota después de hidrolizar (g)	5.0600	4.9000	5.1700	5.1000	11.0000	12.0800	10.6000	10.6800
Volumen de ácido antes de hidrolizar (mL)	150	150	150	150	300	300	300	300
Volumen de hidrolizado/filtrado (mL)	118	120	120	120	239	245	243	244
Rendimiento sólido (%) ¹⁷	51	49	52	51	55	60	53	53
Rendimiento líquido (%) ¹⁸	79	80	80	80	80	82	81	81
Volumen del NaOH (mL)	182	135	185	160	445	352	363	381
Volumen del neutralizado (mL)	300	255	305	280	684	597	606	625
Densidad del neutralizado (g/mL)	0.9804	0.9840	1.0148	1.0292	1.0614	0.9856	1.0040	1.1002

¹⁷ Rendimiento sólido (%) = (masa en gramos de coronta hidrolizada y seca/ masa en gramos de coronta cruda) x 100

¹⁸ Rendimiento líquido (%) = (volumen en mL de hidrolizado /volumen en mL inicial de ácido) x 100



g/g Azúcares Reductores Totales ¹⁹	2.5350	2.2950	2.9280	2.5760	5.8482	5.6118	5.6661	5.7188
% p/p Azúcares Reductores Totales	32	29	36	32	36	35	35	36
FERMENTACIÓN								
% de Levadura	12 %	14 %	12 %	14 %	14 %	12 %	14 %	12 %
Masa de Levadura (g) ²⁰	0.3042	0.3213	0.3514	0.3606	0.3987	0.3134	0.7933	0.6863
Volumen de destilado (mL)	7.98	2.02	3.83	2.77	6.40	8.25	10.35	5.67
% v/v Alcohol ²¹	17.05011	40.56842	44.67048	36.15134	43.76285	30.30662	26.85874	41.44589
Volumen experimental (mL) ²²	1.36	0.82	1.71	1.00	2.90	2.50	2.78	2.35
Masa de Bioetanol experimental (g) ²³	1.0730	0.6470	1.3492	0.7890	2.2881	1.9725	2.1934	1.8542
Masa de Bioetanol teórica (g) ²⁴	1.2776	1.1567	1.4757	1.2983	2.9475	2.8283	2.8557	2.8823
Volumen de Bioetanol teórico (mL) ²⁵	1.62	1.16	1.48	1.30	2.95	2.83	2.86	2.88
% Conversión en fermentación ²⁶	42	28	46	31	39	35	39	32
% Rendimiento en fermentación ²⁷	84	56	91	61	78	70	77	64
% Conversión general ²⁸	11	6	13	8	11	10	11	9
% Rendimiento general ²⁹	13	8	17	10	14	12	14	12

¹⁹ Base de cálculo método DNS en anexo 19.1

²⁰ Masa de levadura= (12 % o 14%) (Masa de Azúcares Reductores Totales)/100

²¹ Resultado mediante análisis Cromatográfico (anexo 23.1)

²² Se calcula aplicando la ecuación $v_{sto} = (\%v/v) (vdson)/100$; Donde: (%v/v)= Porcentaje de alcohol cuantificado mediante análisis Cromatográfico, (vdson)=Volumen del destilado

²³ Se cuantifica con la ecuación $m = (\rho) (v)$; Donde (ρ)= densidad del alcohol 0.789 g/mL, (v)= Volumen experimental (mL)

²⁴ Se calcula tomando como referencia que 100 gramos de azúcares producen 50.4 gramos de alcohol, por tanto para este cálculo se aplica la ecuación **masa de Bioetanol= (masa de azúcares reductores calculados experimentalmente por método DNS) (50.4 gramos de Alcohol) / 100 gramos de Azúcares Reductores**

²⁵ Se calcula mediante la ecuación $v = m/\rho$, donde (m)= masa de alcohol teórica y (ρ)=Densidad del alcohol 0.789 g/mL

²⁶ % X=masa experimental de Bioetanol / masa de azúcares reductores x100

²⁷ % R= masa experimental de Bioetanol / masa teórica de Bioetanol referente a los azúcares reductores totales x 100

²⁸ % X=masa experimental de Bioetanol / masa de coronta alimentada x100

²⁹ % R= masa experimental de Bioetanol / masa teórica de Bioetanol (referente al porcentaje de material hemicelulósico) x 100



En la tabla 23.2 se muestra el diseño experimental construido mediante la metodología Taguchi, esto implica que se ajustan 8 condiciones experimentales, por otra parte se dispone de 8 columnas, a cada una se le asignó un factor. Si en particular, se asignan los factores en orden a las 6 columnas, dejando libre las dos últimas, el arreglo queda.

Tabla 23.2 Diseño de experimento Taguchi

Nº Ex ³⁰	MC	CA	T ⁰	tH	ML	tF	e1	e2	MC (g)	CA (%)	T ⁰ (°C)	tH (h)	ML (%)	tF (días)	% AR
1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	4	90	1.5	12	6	32
2	1	1	1	2	2	2	2	2	10	4	90	2	14	8	29
3	1	2	2	1	1	2	2	2	10	7	100	1.5	12	8	36
4	1	2	2	2	2	1	1	1	10	7	100	2	14	6	32
5	2	1	2	1	2	1	1	2	20	4	100	1.5	14	6	36
6	2	1	2	2	1	2	2	1	20	4	100	2	12	8	35
7	2	2	1	1	2	2	2	1	20	7	90	1.5	14	8	35
8	2	2	1	2	1	1	1	2	20	7	90	2	12	6	36
Total = 271															

Se observa que en las columnas 7 y 8, se ha escrito la letra e₁ y e₂ respectivamente, para indicar que en ellas se evaluará el error aleatorio.

23.1.1 Análisis de Varianza (ANOVA) para el proceso de hidrólisis

1. Como primer paso, se obtienen los totales de la variable respuesta (azúcares reductores totales), para cada uno de los niveles de los factores. Para calcular los totales en cada nivel del factor masa de coronta, se observa que las primeras cuatro pruebas del arreglo se efectuaron con el factor a su nivel 1 (10 g) y las siguientes cuatro a su nivel 2 (20 g).

³⁰ (Nº Ex)= Número de experimento, (MC)=Masa de coronta, (CA)= Concentración de ácido Sulfúrico, (T⁰)= Temperatura de hidrólisis, (tH)= Tiempo de Hidrólisis, (ML)= masa de levadura, (tF)= tiempo de fermentación, (e1)= error aleatorio 1, (e2)= error aleatorio 2, (%AR)=Porcentaje de Azúcares Reductores Totales.



Los totales para el factor masa de coronta (MC) se calculan de la siguiente manera: $MC_1 =$ total del porcentaje de azúcares reductores que se tomaron con el factor MC a su nivel 1.

$$MC_1 = 23+26+36+32=129$$

$MC_2 =$ total del porcentaje de azúcares reductores que se tomaron con el factor MC a su nivel 2.

$$MC_2 = 36+35+35+36= 142$$

El procedimiento que se sigue para calcular los totales de los otros factores (CA, T^0 , tH, ML, tF, e1, e2), es el mismo que se aplicó para MC, teniendo como resultado los totales que se muestran en la tabla 23.3.

Tabla 23.3 Totales de los factores y sus niveles

Factores	MC	CA	T^0	tH	ML	tF	e1	e2
N1	129.00000	132.00000	132.00000	139.00000	139.00000	136	136.00000	134.00000
N2	142.00000	139.00000	139.00000	132.00000	132.00000	135	135.00000	137.00000
Σ N1,N2	271.00000	271.00000	271.00000	271.00000	271.00000	271.00000	271.00000	271.00000
Diferencia	13.00000	7.00000	7.00000	-7.00000	-7.00000	-1.00000	-1.00000	3.00000

Se observa en la tabla 23.3 que la suma de los dos niveles debe dar siempre el total de las ocho lecturas 271 que se denotó en la tabla 23.2.

2. Se procede a calcular la suma de cuadrados para cada factor mediante la siguiente ecuación

Ecuación 23.1 Suma de Cuadrados

$$SSX = (Total\ nivel\ 2 - Total\ nivel\ 1)^2 / n$$

Donde “n” representa el número total de experimentos



Así por ejemplo, para el factor MC, la sumatoria de cuadrados se calcula sustituyendo valores en la ecuación 23.1, donde n representa los 8 experimentos.

$$SSMC = (MC_2 - MC_1)^2 / 8$$

$$SSMC = (142.00000 - 129.00000)^2 / 8 = 21.12500 \text{ con 1 G.L}$$

Para el cálculo de la sumatoria de cuadrados de los demás factores se sigue la misma metodología, excepto para los errores, donde se toma la diferencia entre el nivel 1 y 2 se eleva al cuadrado y se divide entre el número de experimentos, expresándolos de la siguiente manera:

$$SSe1 = (\text{Diferencia e1})^2 / 8$$

$$SSe1 = (-1.00000)^2 / 8 = 0.12500$$

$$SSe2 = (\text{Diferencia e2})^2 / 8$$

$$SSe1 = (3.00000)^2 / 8 = 1.12500$$

$$SSe = SSe1 + SSe2$$

$$SSe = 0.12500 + 1.12500 = 1.25000 \text{ con 2 G.L}$$

3. Construcción de la tabla de ANOVA

Tabla 23.4 Análisis de Varianza (ANOVA)

Efecto	SS	G.L	V	Fexp
MC	21.12500	1	21.12500	33.80000
CA	6.12500	1	6.12500	9.80000
T ⁰	6.12500	1	6.12500	9.80000
tH	6.12500	1	6.12500	9.80000
ML	6.12500	1	6.12500	9.80000
tF	0.12500	1	0.12500	0.20000
Error	1.25000	2	0.62500	
Total	47.00000	7		



Bajo la columna SS se tienen las sumas de cuadrados, así mismo bajo la columna G.L. (grados de libertad), se muestra el número de columnas que se usaron para evaluar el factor, en este caso, sólo puede ser de uno para cada factor y más de uno únicamente para el caso del error. La columna V, se obtiene dividiendo el número bajo la columna SS, entre el número de la columna G.L.

Así por ejemplo, para el factor MC se tiene

$$V = \text{SSMC} / \text{G.L.}$$

$$V = 21.12500 / 1 = 21.12500$$

Por último, el valor de F_{exp} , se obtiene de dividir el valor de V de cada factor, entre el valor de V para la estimación del error.

$$F_{exp} \text{ de } X = V(X) / V(\text{error})$$

$$F_{exp} \text{ de MC} = 21.12500 / 0.62500 = 33.80000$$

4. Conclusiones

Los factores que tienen F_{exp} mayor que 2: Masa de coronta, concentración de ácido, temperatura y tiempo de hidrólisis, se consideran que afectan la variable repuesta % de Azúcares Reductores Totales, estos son llamados factores significantes, mientras que los que no resultaron significantes: masa de levadura y tiempo de fermentación se consideran como error aleatorio, a fin de obtener una mejor estimación (con mayor número de grados de libertad). Cabe mencionar que los factores masa de levadura y tiempo de fermentación no resultan significantes en esta etapa del proceso, porque son variables manipulables del proceso fermentativo.

Por lo tanto para mejor estimación de SSe se considera la sumatoria de cuadrados de masa de levadura (SSML) y tiempo de fermentación (SS_{tF}).



$$S_{Se} = SS_{ML} + SS_{tF} + S_{Se}$$

$$S_{Se} = 6.12500 + 0.12500 + 1.25000 = 7.50000$$

Con $1+1+2=4$ grados de libertad y $(V_e) = (S_{Se}) / 4 = 7.50000 / 4 = 1.87500$

En la tabla 23.5 del análisis de varianza solo se indican los factores que afectan la variable respuesta (% de azúcares reductores totales).

Tabla 23.5 Análisis de varianza para los factores significantes en la variable respuesta

Efecto	SS	G.L	V	Fexp
MC	21.12500	1	21.12500	6.20
CA	6.12500	1	6.12500	1.80
T ⁰	6.12500	1	6.12500	1.80
tH	6.12500	1	6.12500	1.80
Error	13.62500	4	3.40623	
Total	53.1250	7		

Ahora queda decir a que nivel habrá de fijar cada factor significativo y qué se puede esperar. Para tomar esta decisión, se obtienen los promedios de las lecturas que se tomaron a cada nivel para cada uno de los factores significantes.

Los promedios del porcentaje de azúcares reductores para cada nivel, se obtienen dividiendo cada uno de los totales entre 4, (cada total es la suma de cuatro experimentos).

$$\overline{MC}_1 = MC_1 / 4$$

$$\overline{MC}_1 = 129.00000 / 4 = 32.25000$$

$$\overline{MC}_2 = MC_2 / 4$$

$$\overline{MC}_2 = 142.00000 / 4 = 35.50000$$



El resto de los promedios se muestran en la tabla 23.6

Tabla 23.6 Promedio del nivel 1 y 2 en cada factor

Factor	Nivel 1	Nivel 2
MC	32.25000	35.5000
CA	33.00000	34.75000
T ^o	33.00000	34.75000
tH	34.75000	33.00000
ML	34.75000	33.00000
tF	33.75000	67.75000

El promedio general de la respuesta es:

$$\%AR = (32 + 29 + 36 + 32 + 36 + 35 + 35 + 36) / 8$$

$$\%AR = 271 / 8$$

$$\%AR = 34.00000$$

Los factores masa de coronta, concentración de ácido sulfúrico, temperatura y tiempo de hidrólisis que afectan el porcentaje de azúcares reductores en el proceso hidrolítico, deberán fijarse al nivel que aumente el porcentaje de la variable repuesta, esto es al nivel que se obtenga el promedio mayor, para lo cual MC₂, CA₂, T₂^o y tH₁, 20 gramos de masa de coronta, concentración de ácido 7 %, 100 °C de temperatura y 1.5 h de hidrólisis.



▪ **¿Cuál será el nivel esperado de % de Azúcares Reductores Totales bajo los nuevos porcentajes propuestos en el estimado?**

Para contestar esta interrogante, en cada efecto significativo se calcula una resta que se denomina el efecto de cada factor respecto al promedio general.

$$EF = (\text{promedio bajo la condición propuesta del factor} - \text{promedio general})$$

$$EFMC = 35.5000 - 34.0000$$

$$EFMC = 1.50000$$

Siguiendo la misma metodología del efecto en el factor masa de coronta, se calculan los factores temperatura y tiempo de hidrólisis, los resultados se muestran en la tabla 23.7

Tabla 23.7 Efecto de cada factor significativo

Factor	Efecto
EFMC	1.50000
EFCA	0.75000
EFT ⁰	0.75000
EFtH	0.75000
% AR est	

Finalmente, el resultado esperado bajo las condiciones MC₂, T₀² y tH₁, denotado como % de Azúcares reductores Totales estimado, se calculó sumando al promedio general % AR y todos los efectos de los factores significantes, por lo tanto teniendo mayor porcentaje de azúcares reductores totales se espera que incremente el rendimiento de bioetanol.

$$\% \text{ AR est} = \% \text{ AR} + EFMC + EFCA + EFT^0 + EFtH$$

$$\% \text{ AR est} = 34.00000 + 1.50000 + 0.75000 + 0.75000 + 0.75000$$

$$\% \text{ AR est} = 37.75 \approx 38$$



23.1.2 Análisis de varianza (ANOVA) para la fermentación y proceso general

El procedimiento para el cálculo de los porcentajes de conversión y rendimiento en la etapa de fermentación y proceso general, es el mismo que se empleó en el análisis de varianza para azúcares reductores totales, los resultados se presentan en la tabla 23.8.

Tabla 23.8 Variables respuestas con su valor promedio estimado

Variable Respuesta	Valor estimado
Porcentaje de conversión en fermentación	39
Porcentaje de rendimiento en fermentación	79
Porcentaje de conversión proceso general	24
Porcentaje de rendimiento proceso general	30



Anexo: 23.1

23.1.1 Resultados del análisis del porcentaje de alcohol mediante análisis Cromatográfico

Calibración del equipo y especificaciones para la cuantificación del porcentaje de Alcohol etílico

```
=====
                          Calibration Table
=====

Etanol percents

Calib. Data Modified   :      9/23/2015 12:06:16 PM

Rel. Reference Window :      5.000 %
Abs. Reference Window :      0.000 min
Rel. Non-ref. Window  :      5.000 %
Abs. Non-ref. Window  :      0.000 min
Uncalibrated Peaks    :      not reported
Partial Calibration    :      Yes, identified peaks are recalibrated
Correct All Ret. Times:      No, only for identified peaks

Curve Type             :      Linear
Origin                 :      Included
Weight                 :      Equal

Recalibration Settings:
Average Response       :      Average all calibrations
Average Retention Time:      Floating Average New 75%

Calibration Report Options :
  Printout of recalibrations within a sequence:
    Normal Report before Recalibration
    Calibration Report before Recalibration
    Calibration Table after Recalibration
    Normal Report after Recalibration
  If the sequence is done with bracketing:
    Results of first cycle (ending previous bracket)

Signal 1: FID1 A, FID1A, Front Signal

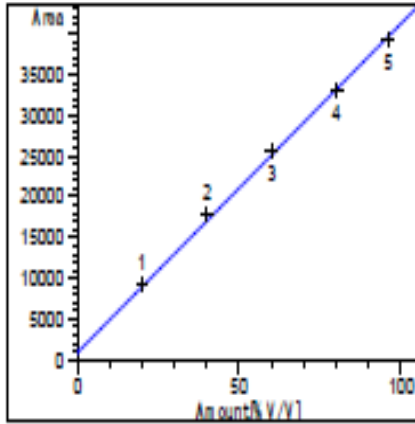
RetTime  Lvl  Amount      Area      Amt/Area  Ref Grp Name
 [min] Sig  [% V/V]
-----|---|-----|-----|-----|-----|-----
  2.452  1  1  20.00000  9343.78125  2.14046e-3      Etanol %
          2  40.00000  1.78468e4  2.24130e-3
          3  60.00000  2.56402e4  2.34007e-3
          4  80.00000  3.29616e4  2.42707e-3
          5  96.00000  3.91706e4  2.45082e-3
=====
                          Peak Sum Table
=====

***No Entries in table***
=====
```



Curva de Calibración

=====
Calibration Curves
=====



Etanol 4 at exp. RT: 2.452
FID1 A, FID1A, Front Signal
Correlation: 0.99901
Residual Std. Dev.: 731.77651
Formula: $y = mx + b$
m: 403.97513
b: 897.72257
x: Amount
y: Area



Especificaciones para el análisis del experimento 1

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20002.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M1

```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canisales      Seq. Line :    1
Acq. Instrument : Instrument 1                 Location  : Vial 101
Injection Date  : 9/23/2015 12:50:43 PM       Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canisales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

```
Name | Value
-----|-----
=====
```

```
=====
Module          Type   Firmware rev.  Serial number
-----|-----|-----|-----
Agilent Agilent 7890A      7890A  A.01.09      CN10831132
=====
```

Software Revision: Rev. B.04.01 SP1 [647] Copyright © Agilent Technologies

```
=====
Column Description : HP-5 5µ Phenyl Methyl Siloxan
Product#           : 19091J-413      Batch#: Agilent
Serial#            : 1000.50742
Diameter           : 320.00 µm      Length : 30.0 m
Film thickness     : 0.25 µm        Void time : 1.284 min
Maximum Pressure   : 0 bar          Maximum pH : 0
Maximum Temperature: 325 °C
Comment            :
=====
```

Run Logbook

```
=====
Method      Method started: (F) line# 1 at 101 inj# 2      12:47:23 09/23/15
Method      Instrument running sample Vial 101 (front)   12:47:23 09/23/15
Method      Instrument run completed                   12:59:43 09/23/15
Method      Saving Method ETANOLPERCENTSCAL.M         12:59:43 09/23/15
Method      Saving Method RUN.M                       12:59:43 09/23/15
CP Macro    Analysing rawdata EtolKiaLet20002.D       12:59:43 09/23/15
=====
```



Cromatograma experimento 1

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\STOKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20002.D
 Sample Name: ETOH KiaLet2 M1

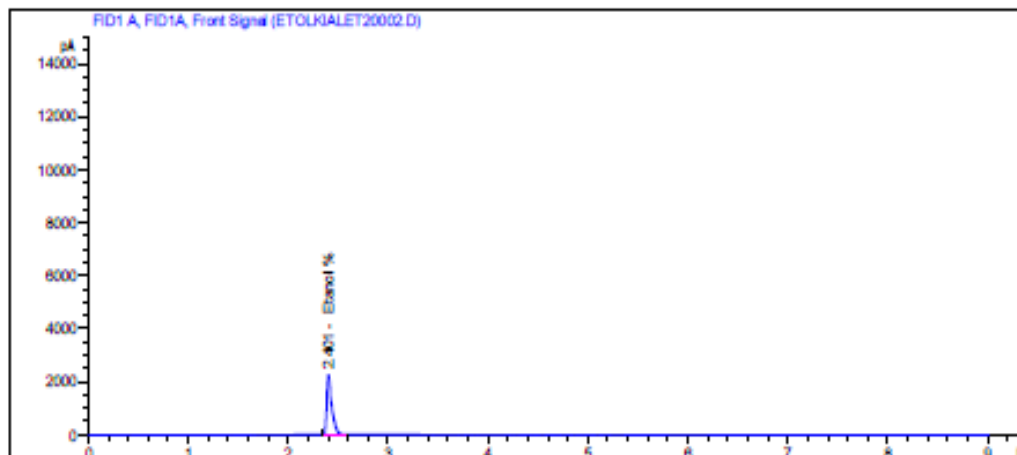
```

=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales   Seq. Line :    1
Acq. Instrument : Instrument 1                 Location  : Vial 101
Injection Date  : 9/23/2015 12:50:43 PM      Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\STOKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\STOKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
    
```

Sample-related custom fields:

Name	Value



External Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 9/23/2015 12:06:16 PM
Multiplier:    : 1.0000
Dilution:      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID1 A, FID1A, Front Signal

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Ant/Area	Amount [% V/V]	Grp	Name
2.401	BB	7785.54248	2.18997e-3	17.05011		Etanol %
Totals :				17.05011		



Curva de calibrado para el experimento 1

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20002.D

Sample Name: ETOH KiaLet2 M1

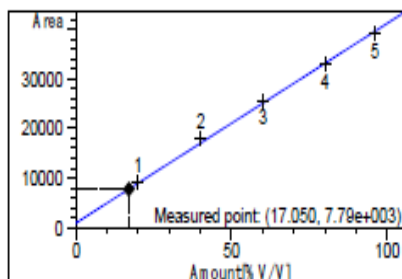
```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    1
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 101
Injection Date  : 9/23/2015 12:50:43 PM        Inj       :    2
                                                    Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----

Calibration Curves



```
=====
Etanol % at exp. RT: 2.452
FID1 A, FID1A, Front Signal
Correlation:          0.99901
Residual Std. Dev.:  731.77851
Formula: y = mx + b
m: 403.97513
b: 897.72257
x: Amount
y: Area
=====
```

*** End of Report ***



Especificaciones para el análisis del experimento 2

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20004.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M2

```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canisales      Seq. Line :    2
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 102
Injection Date  : 9/23/2015 1:15:07 PM          Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canisales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----

```
=====
Module          Type      Firmware rev.  Serial number
-----|-----|-----|-----
Agilent Agilent 7890A      7890A  A.01.09      CN10831132
=====
```

Software Revision: Rev. B.04.01 SP1 [647] Copyright © Agilent Technologies

```
=====
Column Description : HP-5 5µ Phenyl Methyl Siloxan
Product#           : 19091J-413      Batch#: Agilent
Serial#            : 1000.50742
Diameter           : 320.00 µm      Length : 30.0 m
Film thickness     : 0.25 µm        Void time : 1.284 min
Maximum Pressure   : 0 bar          Maximum pH : 0
Maximum Temperature: 325 °C
Comment           :
=====
```

Run Logbook

```
=====
Method      Method started: (F) line# 2 at 102 inj# 2      13:11:58 09/23/15
Method      Instrument running sample Vial 102 (front)  13:11:58 09/23/15
Method      Instrument run completed                    13:24:07 09/23/15
Method      Saving Method ETANOLPERCENTSCAL.M         13:24:07 09/23/15
Method      Saving Method RUN.M                       13:24:07 09/23/15
CP Macro    Analyzing rawdata EtolKiaLet20004.D       13:24:08 09/23/15
=====
```



Cromatograma experimento 2

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20004.D
 Sample Name: ETOH KiaLet2 M2

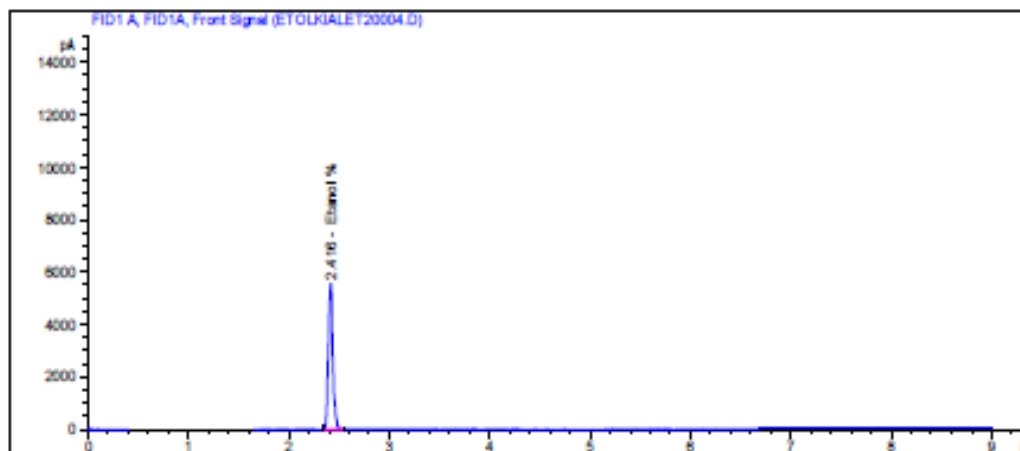
```

=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    2
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 102
Injection Date  : 9/23/2015 1:15:07 PM         Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
    
```

Sample-related custom fields:

```

Name           |Value
-----|-----
    
```



External Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 9/23/2015 12:06:16 PM
Multiplier:    : 1.0000
Dilution:      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID1 A, FID1A, Front Signal

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Ant/Area	Amount [% V/V]	Grp	Name
2.416	BB	1.72864e4	2.34685e-3	40.56842		Etanol %

Totals : 40.56842



Curva de calibrado para el experimento 2

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20004.D
Sample Name: EtOH KiaLet2 M2

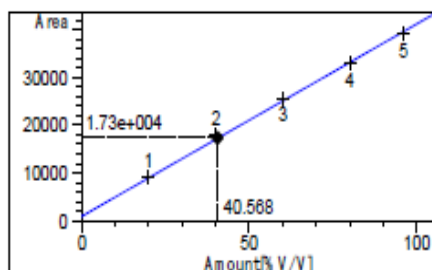
```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    2
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 102
Injection Date  : 9/23/2015 1:15:07 PM         Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----
=====	=====

Calibration Curves



```
Etanol % at exp. RT: 2.452
FID1 A, FID1A, Front Signal
Correlation:          0.99901
Residual Std. Dev.:  731.77851
Formula: y = mx + b
m: 403.97513
b: 897.72257
x: Amount
y: Area
```

*** End of Report ***



Especificaciones para el análisis del experimento 3

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20006.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M3

```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canisales      Seq. Line :    3
Acq. Instrument : Instrument 1                 Location  : Vial 103
Injection Date  : 9/23/2015 1:39:34 PM         Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canisales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

```
Name | Value
-----|-----
=====
```

```
=====
Module          Type      Firmware rev.  Serial number
-----|-----|-----|-----
Agilent Agilent 7890A      7890A  A.01.09      CN10831132
=====
```

Software Revision: Rev. B.04.01 SP1 [647] Copyright © Agilent Technologies

```
=====
Column Description : HP-5 5µ Phenyl Methyl Siloxan
Product#           : 19091J-413      Batch#: Agilent
Serial#            : 1000.50742
Diameter           : 320.00 µm      Length : 30.0 m
Film thickness     : 0.25 µm        Void time : 1.264 min
Maximum Pressure   : 0 bar          Maximum pH : 0
Maximum Temperature: 325 °C
Comment            :
=====
```

Run Logbook

```
=====
Method      Method started: (F) line# 3 at 103 inj# 2      13:36:24 09/23/15
Method      Instrument running sample Vial 103 (front)  13:36:24 09/23/15
Method      Instrument run completed                    13:48:33 09/23/15
Method      Saving Method ETANOLPERCENTSCAL.M         13:48:33 09/23/15
Method      Saving Method RUN.M                       13:48:33 09/23/15
CP Macro    Analysing rawdata EtolKiaLet20006.D     13:48:33 09/23/15
=====
```



Cromatograma experimento 3

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20006.D
 Sample Name: ETOH KiaLet2 M3

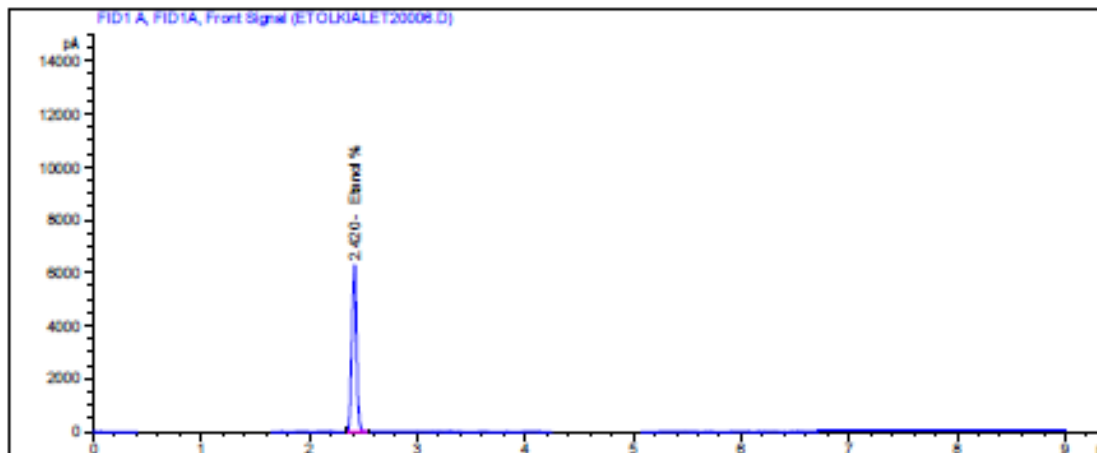
```

=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    3
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 103
Injection Date  : 9/23/2015 1:39:34 PM        Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
    
```

Sample-related custom fields:

```

Name | Value
-----|-----
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 9/23/2015 12:06:16 PM
Multiplier:    : 1.0000
Dilution:      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID1 A, FID1A, Front Signal

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Ant/Area	Amount [% V/V]	Grp	Name
2.420	BB S	1.89435e4	2.35809e-3	44.67048		Etanol %

Totals : 44.67048



Curva de calibrado para el experimento 3

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20006.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M3

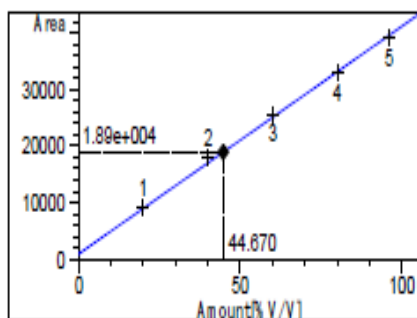
```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    3
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 103
Injection Date  : 9/23/2015 1:39:34 PM         Inj       :    2
                                                    Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----

Calibration Curves



```
Etanol % at exp. RT: 2.452
FID1 A, FID1A, Front Signal
Correlation:          0.99901
Residual Std. Dev.:  731.77851
Formula: y = mx + b
m: 403.97513
b: 897.72257
x: Amount
y: Area
=====
```

*** End of Report ***



Especificaciones para el análisis del experimento 4

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20008.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M4

```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canisales      Seq. Line :    4
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 104
Injection Date  : 9/23/2015 2:04:10 PM          Inj       :    2
                                                Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canisales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----

```
=====
Module          Type      Firmware rev.  Serial number
-----
Agilent Agilent 7890A      7890A A.01.09      CN10831132
=====
```

Software Revision: Rev. B.04.01 SP1 [647] Copyright © Agilent Technologies

```
=====
Column Description : HP-5 5µ Phenyl Methyl Siloxan
Product#           : 19091J-413      Batch#: Agilent
Serial#            : 1000.50742
Diameter           : 320.00 µm      Length : 30.0 m
Film thickness     : 0.25 µm        Void time : 1.284 min
Maximum Pressure   : 0 bar          Maximum pH : 0
Maximum Temperature: 325 °C
Comment            :
=====
```

Run Logbook

```
=====
Method      Method started: (F) line# 4 at 104 inj# 2      14:00:57 09/23/15
Method      Instrument running sample Vial 104 (front)  14:00:57 09/23/15
Method      Instrument run completed                    14:13:10 09/23/15
Method      Saving Method ETANOLPERCENTSCAL.M         14:13:10 09/23/15
Method      Saving Method RUN.M                       14:13:10 09/23/15
CP Macro    Analysing rawdata EtolKiaLet20008.D       14:13:10 09/23/15
=====
```



Cromatograma experimento 4

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20008.D
 Sample Name: ETOH KiaLet2 M4

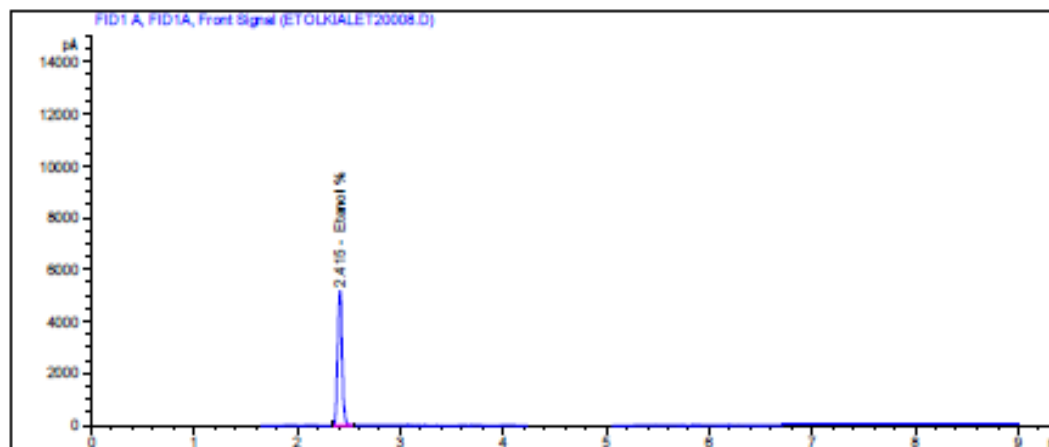
```

=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    4
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 104
Injection Date  : 9/23/2015 2:04:10 PM         Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
    
```

Sample-related custom fields:

```

Name           |Value
-----|-----
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      :      Signal
Calib. Data Modified : 9/23/2015 12:06:16 PM
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID1 A, FID1A, Front Signal

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Ant/Area	Amount [% V/V]	Grp	Name
2.415	BB	1.55020e4	2.33205e-3	36.15134		Etanol %

Totals : 36.15134



Curva de calibrado para el experimento 4

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20008.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M4

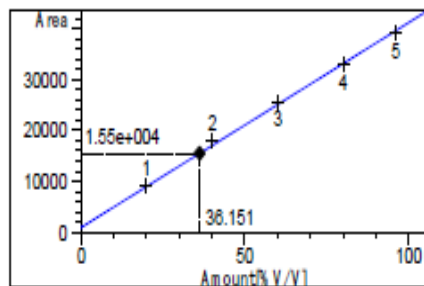
```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    4
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 104
Injection Date  : 9/23/2015 2:04:10 PM         Inj       :    2
                                                    Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----
=====	=====

Calibration Curves



```
Etanol % at exp. RT: 2.452
FID1 A, FID1A, Front Signal
Correlation:      0.99901
Residual Std. Dev.: 731.77851
Formula: y = mx + b
      m: 403.97513
      b: 897.72257
      x: Amount
      y: Area
=====
```

*** End of Report ***



Especificaciones para el análisis del experimento 5

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20010.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M5

```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canisales      Seq. Line :    5
Acq. Instrument : Instrument 1                 Location  : Vial 105
Injection Date  : 9/23/2015 2:28:32 PM         Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canisales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

```
Name | Value
-----|-----
=====
```

```
=====
Module          Type   Firmware rev.  Serial number
-----|-----|-----|-----
Agilent Agilent 7890A      7890A  A.01.09      CN10831132
=====
```

Software Revision: Rev. B.04.01 SP1 [647] Copyright © Agilent Technologies

```
=====
Column Description : HP-5 5µ Phenyl Methyl Siloxan
Product#           : 19091J-413      Batch#: Agilent
Serial#            : 1000.50742
Diameter           : 320.00 µm      Length : 30.0 m
Film thickness     : 0.25 µm        Void time : 1.284 min
Maximum Pressure   : 0 bar          Maximum pH : 0
Maximum Temperature: 325 °C
Comment           :
=====
```

Run Logbook

```
=====
Method   Method started: (F) line# 5 at 105 inj# 2      14:25:22 09/23/15
Method   Instrument running sample Vial 105 (front)    14:25:22 09/23/15
Method   Instrument run completed                      14:37:31 09/23/15
Method   Saving Method ETANOLPERCENTSCAL.M           14:37:32 09/23/15
Method   Saving Method RUN.M                          14:37:32 09/23/15
CP Macro Analysing rawdata EtolKiaLet20010.D        14:37:32 09/23/15
=====
```




Cromatograma experimento 5

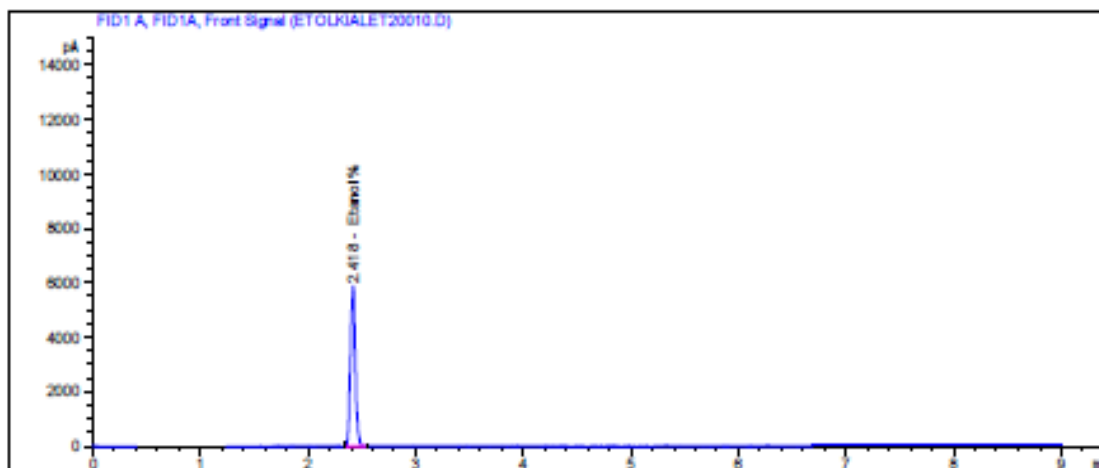
Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20010.D
 Sample Name: ETOH KiaLet2 MS

```

=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    5
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 105
Injection Date  : 9/23/2015 2:28:32 PM         Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
    
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----
-----	-----



External Standard Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 9/23/2015 12:06:16 PM
Multiplier:    : 1.0000
Dilution:      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID1 A, FID1A, Front Signal

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Ant/Area	Amount [% V/V]	Grp	Name
2.418	BB	1.85768e4	2.35578e-3	43.76285		Etanol %

Totals : 43.76285



Curva de calibrado para el experimento 5

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20010.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M5

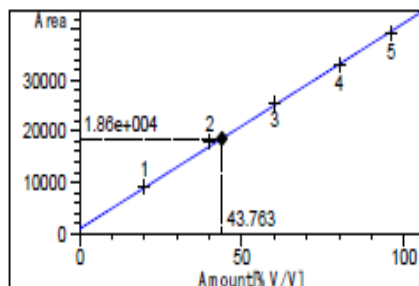
```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    5
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 105
Injection Date  : 9/23/2015 2:28:32 PM         Inj       :    2
                                                    Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----

Calibration Curves



```
Etanol % at exp. RT: 2.452
FID1 A, FID1A, Front Signal
Correlation:      0.99901
Residual Std. Dev.: 731.77851
Formula: y = mx + b
m: 403.97513
b: 897.72257
x: Amount
y: Area
=====
```

*** End of Report ***



Especificaciones para el análisis del experimento 6

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20012.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M6

```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canisales      Seq. Line :    6
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 106
Injection Date  : 9/23/2015 2:53:09 PM         Inj       :    2
                                                Inj Volume: 0.2 µl
Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canisales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

```
-----
Name                |Value
-----|-----
=====
```

```
-----
Module              Type   Firmware rev.  Serial number
-----|-----|-----|-----
Agilent Agilent 7890A      7890A  A.01.09      CN10831132
=====
```

Software Revision: Rev. B.04.01 SP1 [647] Copyright © Agilent Technologies

```
-----
Column Description : HP-5 5µ Phenyl Methyl Siloxan
Product#           : 19091J-413      Batch#: Agilent
Serial#            : 1000.50742
Diameter           : 320.00 µm      Length : 30.0 m
Film thickness     : 0.25 µm      Void time : 1.284 min
Maximum Pressure   : 0 bar      Maximum pH : 0
Maximum Temperature: 325 °C
Comment           :
=====
```

Run Logbook

```
-----
Method      Method started: (F) line# 6 at 106 inj# 2      14:49:48 09/23/15
Method      Instrument running sample Vial 106 (front)   14:49:48 09/23/15
Method      Instrument run completed                    15:02:08 09/23/15
Method      Saving Method ETANOLPERCENTSCAL.M          15:02:08 09/23/15
Method      Saving Method RUN.M                        15:02:09 09/23/15
CP Macro    Analysing rawdata EtolKiaLet20012.D        15:02:09 09/23/15
=====
```



Cromatograma experimento 6

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20012.D
 Sample Name: ETOH KiaLet2 M6

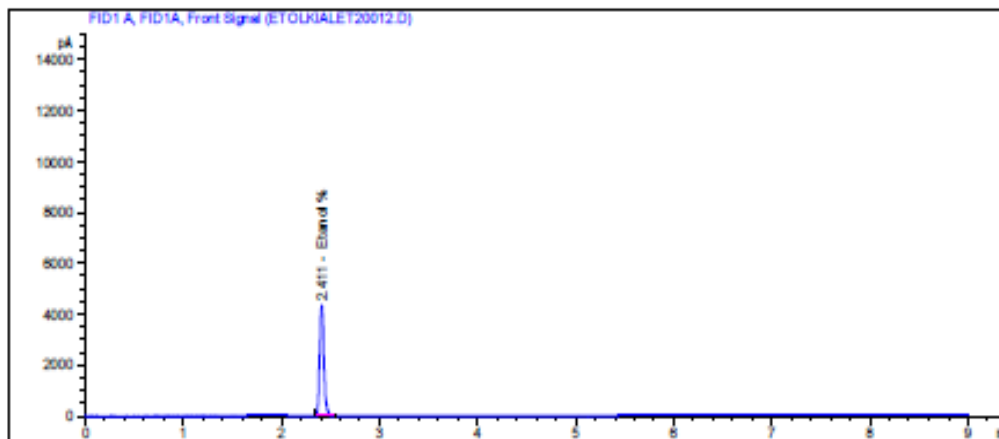
```

=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    6
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 106
Injection Date  : 9/23/2015 2:53:09 PM         Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
    
```

Sample-related custom fields:

```

Name           |Value
-----|-----
    
```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 9/23/2015 12:06:16 PM
Multiplier:    : 1.0000
Dilution:      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID1 A, FID1A, Front Signal

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [% V/V]	Grp	Name
2.411	BB	1.31408e4	2.30629e-3	30.30662		Etanol %

Totals : 30.30662



Curva de calibrado para el experimento 6

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20012.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M6

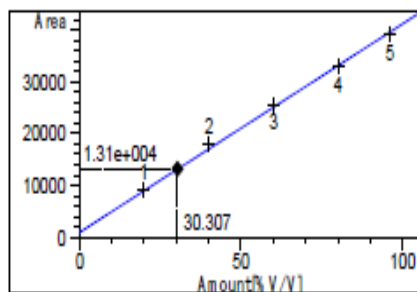
```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    6
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 106
Injection Date  : 9/23/2015 2:53:09 PM         Inj       :    2
                                                    Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----

Calibration Curves



```
Etanol % at exp. RT: 2.452
FID1 A, FID1A, Front Signal
Correlation:          0.99901
Residual Std. Dev.:  731.77851
Formula: y = mx + b
      m:  403.97513
      b:  897.72257
x: Amount
y: Area
=====
```

*** End of Report ***



Especificaciones para el análisis del experimento 7

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20014.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M7

```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canisales      Seq. Line :    7
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 107
Injection Date  : 9/23/2015 3:17:35 PM         Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canisales
Method Info     : Prueba alcoholica
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----

```
=====
Module          Type      Firmware rev.  Serial number
-----|-----|-----|-----
Agilent Agilent 7890A      7890A  A.01.09      CN10831132
```

Software Revision: Rev. B.04.01 SP1 [647] Copyright © Agilent Technologies

```
=====
Column Description : HP-5 5µ Phenyl Methyl Siloxan
Product#           : 19091J-413      Batch#: Agilent
Serial#            : 1000.50742
Diameter           : 320.00 µm      Length : 30.0 m
Film thickness     : 0.25 µm        Void time : 1.284 min
Maximum Pressure   : 0 bar          Maximum pH : 0
Maximum Temperature: 325 °C
Comment            :
```

Run Logbook

```
=====
Method      Method started: (F) line# 7 at 107 inj# 2      15:14:25 09/23/15
Method      Instrument running sample Vial 107 (front)  15:14:25 09/23/15
Method      Instrument run completed                    15:26:34 09/23/15
Method      Saving Method ETANOLPERCENTSCAL.M         15:26:34 09/23/15
Method      Saving Method RUN.M                       15:26:35 09/23/15
CP Macro    Analysing rawdata EtolKiaLet20014.D       15:26:35 09/23/15
=====
```



Cromatograma experimento 7

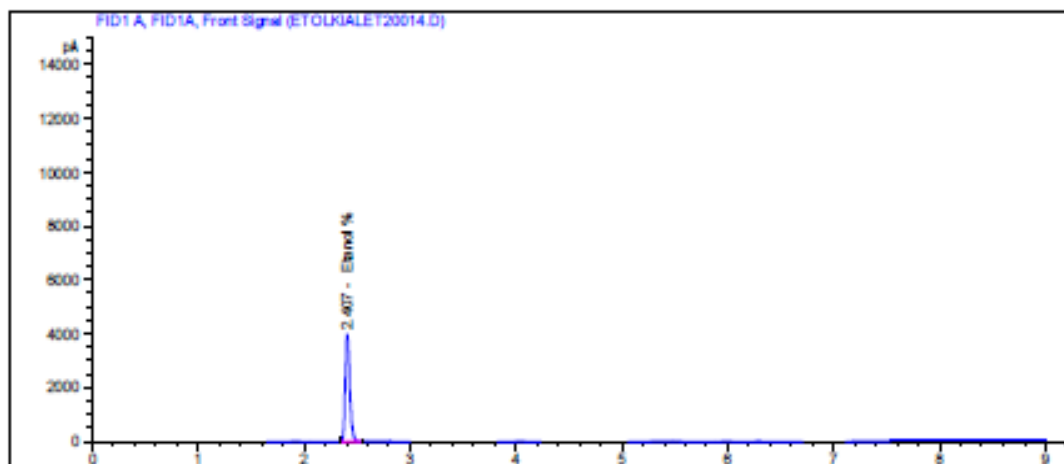
Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20014.D
 Sample Name: ETOH KiaLet2 M7

```

=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    7
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 107
Injection Date  : 9/23/2015 3:17:35 PM         Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
    
```

Sample-related custom fields:

Name	Value



External Standard Report

```

=====
Sorted By      :      Signal
Calib. Data Modified : 9/23/2015 12:06:16 PM
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID1 A, FID1A, Front Signal

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Ant/Area	Amount [% V/V]	Grp	Name
2.407	BB	1.17480e4	2.28624e-3	26.85874		Etanol %
Totals :				26.85874		



Curva de calibrado para el experimento 7

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20014.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M7

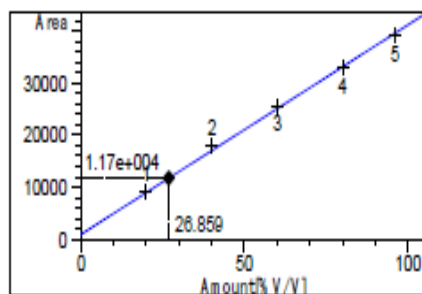
```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    7
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 107
Injection Date  : 9/23/2015 3:17:35 PM         Inj       :    2
                                                Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----
-----	-----

Calibration Curves



```
Etanol % at exp. RT: 2.452
FID1 A, FID1A, Front Signal
Correlation:          0.99901
Residual Std. Dev.:  731.77851
Formula: y = mx + b
      m:   403.97513
      b:   897.72257
x: Amount
y: Area
=====
```

*** End of Report ***



Especificaciones para el análisis del experimento 8

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20016.D
Sample Name: EtOH KiaLet2 M8

```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canisales      Seq. Line :    8
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 108
Injection Date  : 9/23/2015 3:41:57 PM          Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.8
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canisales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

```
Name                |Value
-----|-----
=====
```

```
=====
Module              Type   Firmware rev.  Serial number
-----|-----|-----|-----
Agilent Agilent 7890A  7890A  A.01.09      CN10831132
=====
```

Software Revision: Rev. B.04.01 SP1 [647] Copyright © Agilent Technologies

```
=====
Column Description : HP-5 5µ Phenyl Methyl Siloxan
Product#           : 19091J-413      Batch#: Agilent
Serial#            : 1000.50742
Diameter           : 320.00 µm      Length : 30.0 m
Film thickness     : 0.25 µm        Void time : 1.284 min
Maximum Pressure   : 0 bar         Maximum pH : 0
Maximum Temperature: 325 °C
Comment            :
=====
```

Run Logbook

```
=====
Method      Method started: (F) line# 8 at 108 inj# 2      15:38:50 09/23/15
Method      Instrument running sample Vial 108 (front)    15:38:50 09/23/15
Method      Instrument run completed                    15:50:57 09/23/15
Method      Saving Method ETANOLPERCENTSCAL.M          15:50:58 09/23/15
Method      Saving Method RUN.M                        15:51:01 09/23/15
CP Macro    Analysing rawdata EtolKiaLet20016.D        15:51:01 09/23/15
=====
```




Cromatograma experimento 8

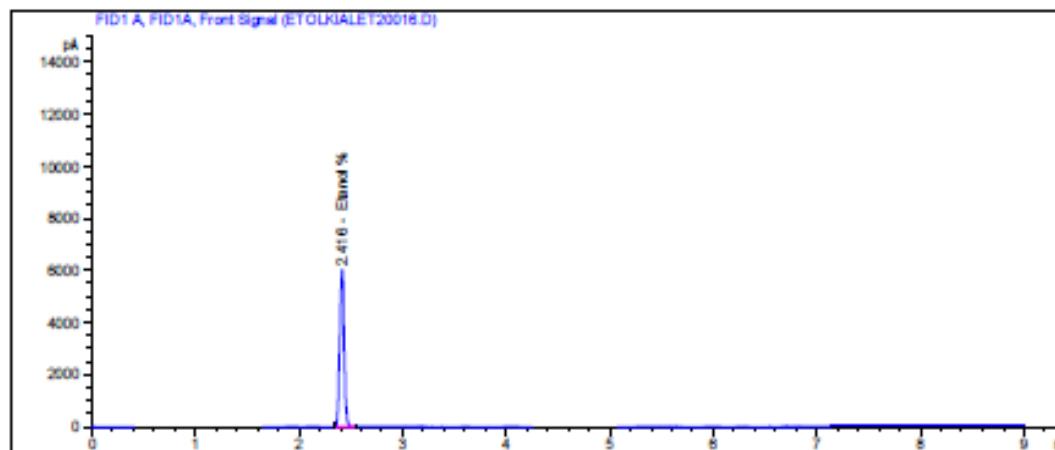
Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20016.D
 Sample Name: ETOH KiaLet2 MS

```

=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    8
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 108
Injection Date  : 9/23/2015 3:41:57 PM         Inj       :    2
                                           Inj Volume: 0.2 µl
Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
    
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----
-----	-----



External Standard Report

```

=====
Sorted By      :      Signal
Calib. Data Modified : 9/23/2015 12:06:16 PM
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:     :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: FID1 A, FID1A, Front Signal

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Ant/Area	Amount [% V/V]	Grp	Name
2.416	BB S	1.76408e4	2.34943e-3	41.44589		Etanol %

Totals : 41.44589



Curva de calibrado para el experimento 8

Data File C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOLKIALET20016.D

Sample Name: EtOH KiaLet2 M8

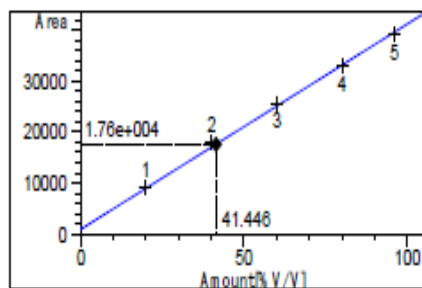
```
=====
Acq. Operator   : Cesar Quintero Canizales      Seq. Line :    8
Acq. Instrument : Instrument 1                  Location  : Vial 108
Injection Date  : 9/23/2015 3:41:57 PM         Inj       :    2
                                                    Inj Volume: 0.2 µl

Sequence File   : C:\Chem32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETOHKIALET2.S
Method          : C:\CHEM32\1\DATA\ETOH\ETOHKIALET2 2015-09-23 12-37-22\ETANOLPERCENTSCAL.M
Last changed    : 9/23/2015 12:36:35 PM by Cesar Quintero Canizales
Method Info     : Prueba alcoholica
=====
```

Sample-related custom fields:

Name	Value
-----	-----

Calibration Curves



```
Etanol % at exp. RT: 2.452
FID1 A, FID1A, Front Signal
Correlation:      0.99901
Residual Std. Dev.: 731.77851
Formula: y = mx + b
      m:  403.97513
      b:  897.72257
      x: Amount
      y: Area
=====
```

*** End of Report ***



Anexo: 24

24.1 Glosario

Acidez: Es la cualidad de un ácido. Pueden presentar características tales como sabor agrio, liberación de hidrógeno, o pH menor que 7 (a 25°C). La escala más común para cuantificar la acidez o la basicidad es el pH, que solo es aplicable para disolución acuosa. Sin embargo, fuera de disoluciones acuosas también es posible determinar y cuantificar la acidez de diferentes sustancias.

Ápice: m. Extremo superior o punta de una cosa.

Biosíntesis: s. f. Proceso celular mediante el cual los organismos vivos elaboran sustancias químicas complejas a partir de otras más sencillas, con el consecuente gasto de energía metabólica.

Biodegradable: Es el producto o sustancia que puede descomponerse en los elementos químicos que lo conforman, debido a la acción de agentes biológicos, como plantas, animales, microorganismos y hongos, bajo condiciones ambientales naturales.

Calor latente: Cantidad de calor que es absorbida o liberada por una sustancia al cambiar su estado sin sufrir un cambio de temperatura.

Ciperáceas: f. pl. bot. Familia de monocotiledóneas, herbáceas, con rizoma, tallos galte. Triangulares y sin nudos, hojas envainadoras, flores unisexuales y fruto monospermo. Los géneros más importantes son *Cyperus* y *Carex*.

Ciclo Otto: Es el ciclo termodinámico que se aplica en los motores de combustión interna de encendido provocado (motores de gasolina). Inventado por Nicolaus Otto en 1872. Se caracteriza porque en una primera aproximación teórica, todo el calor se aporta a volumen constante.



Coronta: Sinónimos: marlo, olote (México), zuro, tusa (Colombia). Mazorca del maíz después de desgranada.

Clorosis: f. Bot. Amarilleo de las partes verdes de una planta debido a la falta de actividad de sus cloroplastos.

Dentado, -da: adj. Que tiene dientes, o puntas parecidas a dientes.

Detoxificación: Liberación de toxinas de un sustrato. La exposición de vegetales y suelos a tóxicos químicos es una fuente gradual de aumento de la toxicidad en el organismo animal en general y del ser humano en particular. Las toxinas orgánicas en general y los productos químicos inorgánicos, entre otros, se depositan en los diversos órganos y tejidos, afectando su funcionamiento, lo que determina finalmente disfunciones o alteraciones del funcionamiento orgánico, generando graves trastornos orgánicos y enfermedades de tipo degenerativo.

Electrodiálisis: quim. Procedimiento de separación de los iones de una disolución en presencia de un campo magnético empleando para ello unas membranas que tienen la propiedad de permitir el paso de los iones de un signo y no los de signo contrario.

Espeque: Una barra o palanca, generalmente de madera, utilizado en un molinete o cabrestante, para el ancla agitado, y, en formas modificadas, para diversos fines.

El cogollero del maíz: (*Spodoptera frugiperda*) es una especie de lepidóptero ditrisio de la familia Noctuidae muy conocida en el ámbito agrícola por ser una plaga bastante importante atacando distintos cultivos.

Fermentación: bioquím. Proceso de transformación de un sustrato orgánico producido por enzimas de bacterias, levaduras u hongos en el cual se pueden liberar gases o no. La transformación se realiza mediante reacciones de oxidación-reducción catalizadas por enzimas a través de las cuales muchos microorganismos pueden obtener energía, como productos residuales, alcoholes y ácidos orgánicos.



Fosfofructoquinasa: bioquím. Cualquiera de un grupo de enzimas quinasas que convertir fosfatos de fructosa a bifosfatos.

Fosfolípido: s. m. Lípido complejo que forma parte de la membrana celular.

Fúngico, ca: adj. Pertenece o relativo a los hongos.

Glucólisis: f. bioquím. Proceso bioquímico de degradación de los glúcidos.

Hexosa: f. bioquím. Azúcar de seis átomos de carbono.

Hidrólisis: f. quím. Descomposición de compuestos químicos por acción del agua.

Lanceolado: adj. Se aplica a la hoja de una planta que tiene forma de punta de lanza.

Límite Inferior de Explosividad (LIE): Es la concentración mínima de gas en el aire por debajo de la cual una explosión no es posible.

Límite Superior de Explosividad (LSE): Es la máxima concentración de gas en el aire por encima de la cual una explosión no es posible.

Mollicutes o Tenericutes: Es un grupo inusual de bacterias que se distinguen por carecer de pared celular y comúnmente son llamados *micoplasmas*. Son parásitos primarios de varios animales y plantas viviendo dentro de las células huésped.

Monoico, -ca: adj. Se aplica a la planta espermatófito con flores de ambos sexos en un mismo pie.

Morfología: f. biol. Estudio de la forma externa y la estructura de los órganos u organismos.



Necrótico: Es el material seco, negro, correoso que resulta de la destrucción de las células.

Neutralización: quím. Reacción química de un ácido con una base; los productos formados son: la sal correspondiente de estos compuestos y agua.

Nigrospora spp: Hongo ampliamente distribuido en suelos, planta en descomposición y semillas. Es un contaminante común de laboratorios. Moho. Un crecimiento de diminutos hongos que se forman sobre materia vegetal o animal, habitualmente como una capa vellosa o peluda y asociado con la descomposición o la humedad.

Octanaje: Es la escala que permite calificar el poder antidetonante de los carburantes, cuando éstos son comprimidos en el cilindro que forma parte de un motor. Esta escala, también conocida como índice de octano, considera una determinada combinación de hidrocarburos como base para poder realizar la comparación correspondiente.

Panoja: s. f. Conjunto de espigas o racimos que nacen de un mismo tallo y que se ramifican a su vez en nuevos racimos: la mazorca del maíz es una panoja.

Pentosa: f. bioquím. Cada uno de los azúcares de cinco átomos de carbono.

Peso fórmula: El peso fórmula de una sustancia es la masa de los pesos atómicos de los elementos de la fórmula, tomados tantas veces como se indica en ella; es decir, el peso fórmula es la masa de la unidad fórmula en una. Los pesos fórmula, al igual que los pesos atómicos en los que se basan, son pesos relativos.

Pichia stipitis: (*Aka stipitis Scheffersomyces*) es una especie de levadura, que pertenece a la "CUG Clade" de levaduras ascomycetous. Este es un grupo de hongos que serina sustituto de leucina cuando se encuentra el codón CUG. *S. stipitis* es lejanamente relacionado con la levadura de cerveza, *Saccharomyces cerevisiae* y tiene la capacidad natural más alto conocido de cualquier levadura para fermentar



directamente xilosa, la conversión a etanol, un rasgo potencialmente valiosa económicamente.

Pilorriza: Extremo de la raíz cuya función es proteger el meristemo apical del roce contra el suelo. Se forma constantemente a partir de las células iniciales y se erosiona y desgasta constantemente al penetrar por entre los gránulos del suelo.

Poder calorífico: Es la cantidad de calor que entrega un kilogramo o un metro cúbico, de combustible al oxidarse en forma metro cúbico, de combustible al oxidarse en forma completa.

Punto de ebullición: Es la temperatura que se debe alcanzar para pasar una sustancia del estado líquido al estado gaseoso.

Punto de inflamabilidad: Es el conjunto de condiciones de entorno en que una sustancia combustible inflamable, está en condiciones de iniciar una combustión si se le aplica una fuente de calor a suficiente temperatura, llegando al punto de ignición.

Presión de vapor: Es la presión de la fase gaseosa o vapor de un sólido o un líquido sobre la fase líquida, para una temperatura determinada, en la que la fase líquida y el vapor se encuentra en equilibrio dinámico; su valor es independiente de las cantidades de líquido y vapor presentes mientras existan ambas.

Psicoactivo: Se considera a toda sustancia química de origen natural o sintético que al introducirse por cualquier vía, ejerce un efecto directo sobre el sistema nervioso central (SNC), ocasionando cambios específicos a sus funciones; que está compuesto por el encéfalo y la médula espinal, de los organismos vivos. Estas sustancias son capaces de inhibir el dolor, modificar el estado anímico o alterar las percepciones.

Raquis: bot. Nervio principal de una hoja.



Saccharomyces Cerevisiae: (*Saccharo* azúcar, *myces* hongo y *cerevisiae* cervecera) es un hongo unicelular, un tipo de levadura utilizado industrialmente en la fabricación de pan, cerveza y vino. En su ciclo de vida alternan dos formas, una haploide y otra diploide. Ambas formas se reproducen de forma asexual por gemación. En condiciones muy determinadas la forma diploide es capaz de reproducirse sexualmente.

Sésil: adj. BOT. Díc. De cualquier órgano que carece de pie o soporte.

Sustrato: m. biol. Lugar que sirve de asiento a una planta o animal fijo. bioquím. Materia o sustancia sobre la que actúa un fermento.

Taxonomía: Ciencia que trata de los principios, métodos y fines de la clasificación, generalmente científica; se aplica, en especial, dentro de la biología para la ordenación jerarquizada y sistemática de los grupos de animales y de vegetales. "la taxonomía se ocupa de la clasificación de los seres vivos, encuadrándolos en categorías como orden, familia o género".

Temperatura de fusión: Temperatura necesaria para la ocurrencia del cambio de estado sólido al líquido en una sustancia, cada sustancia ya sea pura o no posee un valor de temperatura de fusión propio.