



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Producción de etanol a partir de bagazo de caña panelera mediante un sistema híbrido de fermentación y pervaporación

Ethanol production from panelera cane bagasse using
a hybrid fermentation and pervaporation system

Diana Maria Aguilar Valencia

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ingeniería y Arquitectura
Departamento de Ingeniería Química
Manizales, Colombia

2011

Producción de etanol a partir de bagazo de caña panelera mediante un sistema híbrido de fermentación y pervaporación

Diana Maria Aguilar Valencia

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ingeniería Química

Director:

Ph.D. Javier Fontalvo Álzate

Codirector:

Ph.D. Miguel Angel Gómez García

Línea de Investigación:

Intensificación de procesos

Grupo de Investigación:

Grupo de investigación en aplicación de nuevas tecnologías

G.I.A.N.T

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ingeniería y Arquitectura,
Departamento de Ingeniería Química
Manizales, Colombia

2011

Agradecimientos

A Colciencias por el apoyo financiero a partir del programa Jóvenes Investigadores e Innovadores 2009 “Virginia Gutiérrez de Pineda”.

A todas las personas que de una u otra manera colaboraron con este proyecto. A los profesores Javier Fontalvo y Miguel Ángel Gómez por el apoyo, la confianza y por todo lo que me enseñaron. A Ana Catalina Duque, Miguel Duque y Jesus David Quintero por la compañía en los días de experimentos interminables. A Oscar Johnny Jaramillo por los consejos y a Victor Hugo Grisales porque gracias a él tuve membranas.

Especialmente a mi familia por todo el cariño que me han dado, gracias porque a ustedes les debo todo lo que soy.

Resumen

Este trabajo se enfoca en estudiar experimental y teóricamente el sistema híbrido de fermentación y pervaporación para la producción de etanol empleando membranas poliméricas de PDMS. Las membranas preparadas en el laboratorio se utilizaron para la evaluación de flux y la selectividad en dos sistemas de pervaporación, con y sin integración con fermentación. A partir del modelo de transporte desarrollado para la membrana y la cinética de fermentación, ambos ajustados usando información experimental, se realiza la simulación del sistema híbrido, el cual predice los resultados experimentales con errores menores al 10%. Se encuentra experimental y teóricamente que el sistema híbrido produce 1,1 g/L*h de etanol con una concentración en el permeato de 170 g/L. Permitiendo así mantener la concentración de etanol en el mosto aproximadamente constante y por debajo de niveles inhibitorios. Se utilizaron mostos procedentes de la hidrólisis ácida del bagazo de caña panelera, encontrando que con la membrana de PDMS es posible retirar también pequeñas cantidades de otros productos inhibidores en el mosto como el ácido acético, el furfural y el HMF con lo que se espera que la cantidad de productos tóxicos para las células se vean reducidos en el mosto, favoreciendo la fermentación.

Palabras clave: Etanol; Fermentación; Pervaporación; Bagazo de Caña; Membranas.

Abstract

This work focuses on an experimental and theoretical study of a hybrid fermentation and pervaporation system for ethanol production, using polymeric membranes of PDMS. Flux and selectivity of the home made membranes were evaluated in two pervaporation systems, with and without integration with fermentation. From the transport model developed for the membrane and the fermentation kinetics, both adjusted from experimental data, a simulation of the hybrid system is performed. This simulation predicts the experimental data with a deviation of 10%. It was found experimentally and theoretically that the hybrid system produces 1,1g/L*h of ethanol with a concentration in the permeate of 170g/L. Keeping the ethanol concentration constant and below the inhibitory levels. Also hybrid fermentations were performed with broths obtained from acid hydrolysis of sugar cane bagasse. With the PDMS membranes was also possible to remove small amounts of other inhibitors in the broth as acetic acid, furfural and HMF. Reducing the amount of toxic compounds in the broth, enhancing fermentation process.

Keywords: Ethanol; Fermentation; Pervaporation; Cane bagasse; Membranes.

Contenido

Contenido

1. Marco Teórico	3
1.1 Planteamiento del Problema.....	3
1.2 Estado del Arte	5
1.2.1 Pretratamientos del material lignocelulosico.....	5
1.2.2 Hidrólisis.....	6
1.2.3 Fermentación	7
1.2.4 Inhibidores.....	7
1.2.5 Separación	9
1.2.6 Integración de procesos.....	10
1.2.7 Remoción de etanol por medio de pervaporación	11
1.3 Bibliografía.....	13
2. Caracterización del bagazo de caña panelera	17
2.1 Introducción	17
2.2 Materiales y Métodos.....	17
2.2.1 Materia prima	17
2.2.2 Preparación de la muestra	18
2.2.3 Determinación de extractos	19
2.2.4 Determinación de sólidos totales	20
2.2.5 Determinación de cenizas.....	20
El porcentaje de cenizas se calcula con la ecuación 2-9.	21
2.2.6 Determinación de carbohidratos estructurales.....	21
2.3 Resultados y discusión	24
2.3.1 Preparación de la muestra	24
2.3.2 Determinación de extractos	26
Tabla 2-4. Concentración de azúcares en los extractos.	26
2.3.3 Determinación de sólidos totales	27
2.3.4 Determinación de cenizas.....	27
2.3.5 Determinación de Carbohidratos estructurales.....	28
2.3.6 Comparación con otros resultados	29
2.4 Conclusiones	31
2.5 Bibliografía.....	31
3. Desempeño de las membranas	33
3.1 Introducción	33
3.2 Modelo matemático del transporte de la membrana	34
3.3 Preparación de la membrana	36

3.4	Ajuste del modelo a partir de datos experimentales.....	37
Figura 3-1. Ajuste del modelo para la membrana de PDMS.		37
3.5	Remoción de etanol en sistemas de fermentación.....	38
3.6	Ensayos experimentales de las membranas empleadas	39
3.7	Conclusiones	45
3.8	Bibliografía.....	46
4.	Fermentaciones	49
4.1	Introducción	49
4.2	Hidrolizados.....	51
4.3	Modelo Cinético.....	52
4.4	Fermentación.....	53
4.4.1	Fermentación de Soluciones de Glucosa	53
4.4.2	Fermentación de Soluciones de Hidrolizados.....	54
4.5	Conclusiones	57
4.6	Bibliografía.....	57
5.	Sistema Híbrido	61
5.1	Introducción	61
5.2	Sistema Híbrido Experimental	62
5.2.1	Soluciones de Glucosa	63
5.2.2	Hidrolizados de Bagazo de Caña Panelera	66
5.3	Conclusiones	71
5.4	Bibliografía.....	71
6.	Conclusiones y recomendaciones.....	75
6.1	Conclusiones	75
6.2	Recomendaciones.....	76

Lista de figuras

Figura 1-1. Pasos requeridos para transformar la biomasa a etanol.	4
Figura 1-2. Clasificación de los pretratamientos.	6
Figura 1-3. Inhibidores formados en las etapas de pretratamiento, hidrólisis y fermentación.	8
Figura 1-4. Esquema de pervaporación.	11
Figura 2-1. Bagazo de caña panelera fresco.	18
Figura 2-2. Análisis diferencial para el bagazo de caña panelera.	26
Figura 3-1. Ajuste del modelo para la membrana de PDMS.	37
Figura 3-2. Resultados experimentales para la pervaporación a diferentes niveles de pH.	40
Figura 3-3. Resultados experimentales para la pervaporación a diferentes concentraciones de glucosa.	40
Figura 3-4. Resultados de la pervaporación de mosto de fermentaciones de glucosa. Membrana PDMS1.	42
Figura 3-5. Resultados de la pervaporación de mosto de fermentaciones de hidrolizados de bagazo de caña panelera. Membrana PDMS-2.	44
Figura 3-6. Pervaporación de la membrana con la solución patrón después de la pervaporación al mosto de fermentación de hidrolizados.	44
Figura 4-1. Concentraciones de etanol y glucosa para las fermentaciones de soluciones de glucosa.	54
Figura 4-2. Fermentación de hidrolizados de bagazo de caña panelera. CN: Con nutrientes, SN: Sin nutrientes; 1B:1g/L; 4B:4 g/L.	55
Figura 4-3. Concentraciones de etanol y glucosa para las fermentaciones de hidrolizados.	56
Figura 5-1. Diagrama del montaje para el sistema híbrido.	62
Figura 5-2. Resultados para la simulación del sistema híbrido para fermentaciones de soluciones de glucosa iniciando la pervaporación a concentraciones de 40g/L en etanol.	63
Figura 5-3. Resultados para la simulación del sistema híbrido para fermentaciones de soluciones de glucosa iniciando la pervaporación a concentraciones de 35g/L en etanol.	64
Figura 5-4. Concentración de etanol en el mosto para las fermentaciones de glucosa. ..	65
Figura 5-5. Selectividad y flux en función del tiempo para la pervaporación de mostos de glucosa.	65

Figura 5-6. Resultados para el sistema hibrido para fermentaciones de hidrolizados para bajas concentraciones de etanol en el mosto.....	66
Figura 5-7. Resultados experimentales de la concentración de etanol en el permeato. Sistema hibrido para fermentaciones de hidrolizados con concentraciones de etanol en el mosto de 40 g/L.	67
Figura 5-8. Desempeño de la pervaporación para concentraciones de etanol de 40 g/L.	67
Figura 5-9. Resultados para la simulación del sistema hibrido para fermentaciones de hidrolizados para concentraciones de etanol en el mosto de 60 g/L.	68
Figura 5-10. Resultados experimentales de la concentración de etanol en el permeato. Sistema hibrido para fermentaciones de hidrolizados con concentraciones de 60 g/L de etanol en el mosto.....	69
Figura 5-11. Desempeño de la pervaporación para concentraciones de etanol en el mosto de 60 g/L.....	69

Lista de tablas

Tabla 2-1. Longitud de onda recomendada para el bagazo y su correspondiente adsorptividad[5].	22
Tabla 2-2. Fracciones de finos y gruesos.	25
Tabla 2-3. Análisis del tamaño de partícula para el bagazo de caña panelera.	25
Tabla 2-4. Concentración de azúcares en los extractos.	26
Tabla 2-5. Porcentaje de extraíbles en el bagazo de caña panelera.	27
Tabla 2-6. Porcentaje de sólidos para diferentes muestras de bagazo de caña panelera.	27
Tabla 2-7. Porcentaje de cenizas para diferentes muestras de bagazo de caña panelera.	28
Tabla 2-8. % de residuo insoluble en ácido (AIR), % de lignina insoluble en ácido (AIL), % de lignina soluble en ácido (ASL), % de lignina libre de extractos y el % de lignina como se recibió.	28
Tabla 2-9. % de recuperación de azúcares.	28
Tabla 2-10. Concentración de azúcar polimérico, % azúcar libre de extractos y % de azúcar como se recibió.	29
Tabla 2-11. Composición del bagazo de caña panelera en base libre de extractos.	29
Tabla 2-12. Composición de diferentes materiales lignocelulósicos.	30
Tabla 2-13. Composición de diferentes tipos de bagazo de caña.	30
Tabla 3-1. Constantes ajustadas para la membrana de PDMS empleada.	38
Tabla 3-2. Presión de vapor del agua y el etanol en soluciones de etanol al 38% en peso [13].	41
Tabla 3-3. Flux y Selectividad para las diferentes pruebas de la membrana de PDMS-1.	43
Tabla 3-4. Especificaciones de la solución de nutrientes.	43
Tabla 3-5. Flux y Selectividad para las diferentes pruebas de la membrana de PDMS-2.	45
Tabla 4-1. Características de los microorganismos más empleados para la producción de etanol a partir de material lignocelulósico[9].	51
Tabla 4-2. Condiciones de la hidrólisis ácida.	51
Tabla 4-3. Concentraciones obtenidas en la hidrólisis ácida en g/L.	52
Tabla 4-4. Valores de la cinética tomados del estudio realizado por Ramos de Andrade [10].	53

Tabla 4-5. Parámetros ajustados para la fermentación de glucosa.....	54
Tabla 4-6. Velocidades de producción, productividades y conversión de glucosa para las fermentaciones de hidrolizados de bagazo de caña panelera.....	55
Tabla 4-7. Parámetros ajustados para la fermentación de hidrolizaos de bagazo de caña panelera.	56
Tabla 5-1. Cantidad removida para los compuestos inhibidores.	70

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término	Unidad SI	Definición
% <i>AIL</i>	Lignina insoluble en ácido		Ecuación 2-9
% <i>AIR</i>	Residuo insoluble en ácido		Ecuación 2-10
% <i>ASL</i>	Cantidad de lignina soluble en ácido.		Ecuación 2-10
<i>C</i>	Concentración	mol/m ³	Ecuación
<i>C_{AA,HPLC}</i>	Concentración del ácido acético determinado por HPLC	mg/mL	Ecuación 2-20
<i>C_{HPLC}</i>	Concentración de los azúcares determinada por HPLC	mg/mL	Ecuación 2-16
<i>C_x</i>	Concentración de un azúcar en la muestra hidrolizada después de la corrección, debido a las pérdidas por la hidrólisis ácida	mg/mL	Ecuación 2-16
<i>D_{ij}</i>	Difusividad de <i>i</i> en <i>j</i>	m ² /s	Ecuación 3-1
<i>D_{pi}</i>	Abertura del tamiz	mm	Ecuación 2-4
<i>D_{pi}</i>	Diámetro medio	mm	Ecuación 2-4
<i>E_D</i>	Energía de activación de difusión	J/mol	Ecuación 3-12
% <i>Extraíbles</i>	Porcentaje de extraíbles en una base de secado en horno a 105°C.		Ecuación 2-6
<i>H</i>	Constante de solubilidad de Henry	mol/m ³ *Pa	Ecuación 3-11
<i>J</i>	Flux	Kg/m ² *h	Ecuaciones 3-5 y 3-6
<i>k_i</i>	Parámetro de inhibición del sustrato	L/g	Tabla 4-4
<i>k_s</i>	Parámetro de saturación del sustrato	L/g	Tabla 4-4
<i>m</i>	Parámetro de inhibición celular.		Ecuación 4-4
<i>m_{i1}</i>	Masa inicial del recipiente y de la biomasa		Ecuación 2-7
<i>m_{f1}</i>	Masa final del recipiente y la biomasa después del secado a 105°C		Ecuación 2-7
<i>m_p</i>	Parámetro de crecimiento	g/(g*h)	Tabla 4-4
<i>m_t</i>	Masa tarada del recipiente		Ecuación 2-7
<i>m_x</i>	Parámetro de mantenimiento	g/(g*h)	Tabla 4-4
<i>n</i>	Parámetro de inhibición por producto.		Ecuación 4-4
<i>ODW</i>	Muestra libre de humedad		Ecuación 2-5
<i>P</i>	Concentración del etanol	g/L	Ecuación 4-4
<i>P_i</i>	Presión parcial componente <i>i</i>	Pa	Ecuaciones 3-3 y 3-4

Símbolo	Término	Unidad SI	Definición
Q	Calor de adsorción	(j/mol)	Ecuación 3-11
R	Constante de los gases	$\text{Pa}\cdot\text{m}^3/\text{Kmol}\cdot\text{K}$	Ecuaciones 3-11 y 3-12
r	Velocidad de reacción	$\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$	Ecuaciones 4-4, 4-5 y 4-6
$\%R_{\text{azúcar}}$	Porcentaje de recuperación del azúcar		Ecuación 2-15
$\%R_{\text{azúcar,prom}}$	Porcentaje promedio de recuperación del azúcar		Ecuación 2-15
S	Concentración del sustrato	g/L	Ecuación 4-4
T	Temperatura	K	
t	Tiempo	h	Ecuaciones 4-1, 4-2 y 4-3
\bar{T}	Porcentaje de sólidos totales en la muestra, determinados de acuerdo al procedimiento E 1756.		Ecuación 2-7
$\%T_{105}$	Porcentaje de masa de los sólidos totales basado en masa seca a 105°C.		Ecuación 2-7
UV_{abs}	Absorbancia UV-Vis promedio de la muestra a 240 nm		Ecuación 2-12
$Volumen_{\text{licorfiltrado}}$	Volumen de filtración,	mL	Ecuación 2-12
W_{ef}	Peso de extraíbles, recipiente y perlas de ebullición	g	Ecuación 2-6
W_{f}	Peso de tara del recipiente con las perlas de ebullición	g	Ecuación 2-6
W_{S}	Peso de la muestra y el cartucho	g	Ecuación 2-6
W_{t}	Peso del Cartucho que contiene la muestra en la extracción	g	Ecuación 2-5
X	Concentración de la biomasa	g/L	Ecuación 4-4
x	Fracción molar		Ecuación 3-2
Y_{PX}	Constante de la cinética de fermentación	$\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$	Tabla 4-5
Y_{X}	Rendimiento celular limite	g/g	Tabla 4-5
z	Dirección del transporte	m	Ecuación 3-1

Símbolos con letras griegas

Símbolo	Término	Unidad SI	Definición
ε	Absortividad de la biomasa a la longitud de onda específica	$\text{L}/(\text{g}\cdot\text{cm}^3)$	Tabla 2-1
μ	Potencial químico	j/mol	Ecuación 3-2
μ	Velocidad de crecimiento específica	h^{-1}	Tabla 4-5.

Subíndices

Subíndice	Término
<i>20/80</i>	Fracción tamiz-20/+80
<i>80</i>	Fracción de finos
<i>e</i>	Etanol
<i>i</i>	Componente i
<i>j</i>	Componente j
<i>M</i>	Membrana
<i>Max</i>	Máximo
<i>P</i>	Producto
<i>S</i>	Sustrato
<i>w</i>	Agua
<i>X</i>	Biomasa

Superíndices

Superíndice	Término
<i>ef</i>	Efectiva
<i>ef0</i>	Efectiva de activación
<i>0</i>	Estándar

Abreviaturas

Abreviatura	Término
NERL	National Renewable Energy Laboratory
PDMS	Polidimetilsiloxano
SRS	Azúcares estándares de recuperación
GRAS	Generally Recognized as Safe

Introducción

El incremento del uso de etanol como aditivo a la gasolina para ser empleado como combustible hace necesario que se estudien fuentes alternativas para la producción de este biocombustible, evitando así alterar la producción de alimentos. Actualmente el etanol se produce en su mayoría por fermentación de melazas, que pueden ser empleadas para la producción de azúcar. Una alternativa es emplear residuos agroindustriales como lo es el bagazo de caña panelera. La transformación de esta materia prima hasta etanol es más compleja pues requiere que el material lignocelulósico sea transformado primero hasta sus respectivos azúcares (Glucosa, xilosa, arabinosa) para poder ser fermentados. No obstante este material es más barato ya que es considerado un desecho y presenta la ventaja de no afectar la producción de alimentos.

La producción de bioetanol a partir de material lignocelulósico como lo es el bagazo de caña panelera, requiere de cuatro pasos: Pretratamiento., hidrólisis, fermentación y separación. Cada una de estas etapas involucra un gran desafío, puesto que todas deben funcionar adecuadamente para obtener los mejores rendimientos, permitiendo que el proceso sea económicamente viable.

En las fermentaciones convencionales las concentraciones de etanol alcanzadas son de aproximadamente el 10% debido a que los microorganismos encargados de la fermentación se inhiben a estas concentraciones. Para los hidrolizados estas concentraciones son incluso más bajas, alrededor del 5%, lo que conlleva a un mayor consumo energético en la etapa de separación.

Actualmente el bagazo de caña panelera es empleado por los productores de panela como combustible, al ser quemado en las pailas. No obstante un mejor aprovechamiento de este material es su uso como materia prima para la producción de bioetanol. Teniendo en cuenta además que la lignina obtenida como subproducto en la etapa de hidrólisis, puede también ser empleada como combustible gracias a su gran poder calorífico.

Alcances del trabajo

En el presente trabajo se propone un sistema, en el cual el etanol producido durante la fermentación de los hidrolizados de bagazo de caña panelera, sea removido mediante un sistema de pervaporación, con lo cual se reduce la concentración de etanol en el mosto, permitiendo así una mayor conversión de los azúcares hasta etanol. La remoción de

etanol se lleva a cabo a partir de un módulo de pervaporación, el cual está constituido por membranas selectivas que permiten el paso del etanol a través de ellas obteniendo una corriente más rica en etanol (aproximadamente el 17%), facilitando y disminuyendo los requerimientos energéticos de la purificación del alcohol.

Objetivo general

Investigar y desarrollar el proceso híbrido de fermentación y remoción de etanol por pervaporación de los hidrolizados de bagazo de caña panelera.

Objetivos específicos

1. Determinar experimentalmente condiciones adecuadas para llevar a cabo la fermentación de los hidrolizados de bagazo de caña panelera y obtener parámetros cinéticos necesarios para el modelamiento del sistema híbrido.
2. Evaluar la remoción de etanol de las membranas obtenidas.
3. Modelar y simular el sistema híbrido de fermentación y pervaporación para predecir el comportamiento del proceso y obtener condiciones adecuadas para la etapa de experimentación.
4. Establecer experimentalmente, y de acuerdo al objetivo 3, las condiciones adecuadas de operación del proceso híbrido de fermentación y pervaporación.

1. Marco Teórico

1.1 Planteamiento del Problema

Los combustibles fósiles representan el 80,3% de la energía primaria consumida en el mundo y 57,7% de esta cantidad es empleada en el sector de transporte [1]. Por tanto es posible pensar que los combustibles fósiles son responsables de una importante emisión de contaminantes a la atmósfera [1], es por esto que se plantea el uso de bioetanol producido a partir de material lignocelulósico, como aditivo a la gasolina para disminuir las emisiones de gases de invernadero. El etanol tiene ciertas ventajas cuando es usado como un oxigenante. Primero, tiene un contenido más alto de oxígeno que implica una menor cantidad de aditivo requerido, y el aumento en el porcentaje de oxígeno permite una mejor oxidación de los hidrocarburos en la gasolina con la consecuente reducción en la emisión de monóxido de carbono y compuestos aromáticos [2].

Biocombustibles es el término usado para describir la biomasa procesada a una forma más conveniente para ser usada como combustible. Los biocombustibles se queman más limpiamente en vehículos de motor y reducen las emisiones de productos indeseados, particularmente hidrocarburos sin quemar ó monóxido de carbono. Domésticamente la producción de biocombustibles también genera una reducción neta de las importaciones de petróleo, ayudando a reducir los desbalances del comercio algunas veces asociados con las importaciones de petróleo [3].

Grandes cantidades de residuos vegetales y agroindustriales son generados y acumulados anualmente en la naturaleza en forma sólida, ocasionando problemas de contaminación ambiental y pérdidas de fuentes potenciales de productos de alto valor agregado [4]. Estos problemas hacen necesario que se desarrollen nuevas tecnologías que permitan realizar los procesos necesarios para el aprovechamiento de los mismos [5]. De acuerdo a Singh [6] 73,9 Tg de los materiales de desperdicio de los cultivos pueden producir 49,1 GL/año de bioetanol. Aproximadamente 16 veces mayor que la actual producción de etanol en el mundo. La producción de bioetanol puede reemplazar 353 GL de gasolina.

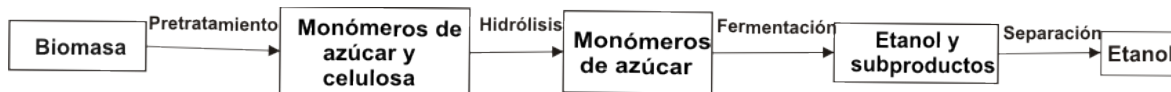
El bagazo de caña panelera forma parte importante de estos residuos sólidos. Este material representa el 25% del total de la caña procesada. Se obtiene en las centrales de producción de panela, en donde se emplea como combustible para el procesamiento de la misma, con un bajo rendimiento energético (30%) comparado con otros combustibles y un impacto ambiental considerable. Este material lignocelulósico puede ser aprovechado en la producción de etanol. El material lignocelulosico tiene algunas ventajas sobre la

producción de etanol, es más abundante y por tanto puede producir una mayor cantidad de etanol para suplir la demanda de gasolina, son materiales de desperdicio, se requiere menor energía fósil para colectar y convertir este material a etanol y no constituyen una fuente de alimento [3,7].

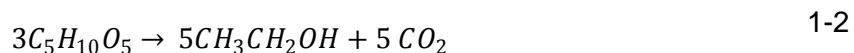
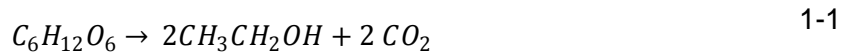
Actualmente Colombia produce 1,1 millón de litros diarios de etanol a partir de caña, cubriendo cerca del 70% de la demanda nacional [8]. Este consumo aumentará una vez entre en vigencia la ley que obliga a que todos los automóviles nuevos tengan motores flex-fuel (Los cuales funcionan con mezclas de hasta 85% de etanol), frente al consumo actual que es de 10% en etanol. Este mandato debe entrar en vigencia en el 2012. Sin embargo, la creciente demanda de alcohol carburante requiere nuevas fuentes a partir de las cuales es posible obtener este combustible sin afectar la producción de alimentos.

Como se muestra en la Figura 1-1, se requieren cuatro pasos para convertir los polisacáridos, celulosa y hemicelulosa en bioetanol. Primero se realiza un pretratamiento a la fibra para modificar la resistencia química de los polisacáridos debido a su estructura cristalina. Después la fibra del pretratamiento es convertida a los monosacáridos correspondientes por hidrólisis ácida o enzimática de los polisacáridos. Posteriormente los azúcares son fermentados a productos como etanol y por último el etanol es separado y purificado para cumplir con las especificaciones del combustible [9-11].

Figura 1-1. Pasos requeridos para transformar la biomasa a etanol.



Los monosacáridos obtenidos después del pretratamiento y la hidrólisis, son principalmente glucosa y xilosa. La fermentación de estos azúcares hasta etanol puede ser representada por las ecuaciones 1-1 y 1-2[12]:



Aproximadamente un 90% de la masa seca de la mayoría de las plantas es almacenada en forma de celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina. La presencia de lignina en el material lignocelulósico ofrece una barrera de protección que previene la destrucción de las células de la planta, ante el ataque químico o biológico para la conversión del material a etanol[11]. Las propiedades de los residuos de lignina indican que este material es adecuado para generación de calor y potencia, pero debido a que éste tiene un mayor poder calorífico que los gránulos de madera blanda, se requieren intercambiadores de calor más grandes. También presenta un riesgo potencial para la formación de óxidos de nitrógeno y dióxido de azufre, durante la combustión, que se atribuye a los altos niveles de nitrógeno y azufre en el residuo [9]. Sin embargo los biocombustibles ofrecen una alternativa más limpia para suplir las necesidades del sector del transporte. De acuerdo a Goh[11], su beneficio ambiental se observa en los motores de combustión, en los cuales las emisiones de CO₂ corresponden a la cantidad que ha sido tomada de la atmósfera durante el crecimiento de las plantas, resultando en un ciclo cerrado de carbono.

Es claro que la producción de etanol a partir de materiales alimenticios no es tan amigable ambientalmente como se quisiera si se tienen en cuenta las emisiones generadas durante el crecimiento, la cosecha y el procesamiento del material, por ejemplo caña de azúcar [13]. Sin embargo, los combustibles procedentes de residuos agroindustriales pueden eludir esta desventaja [14]. Estos residuos son económicos abundantes y no interfieren con la producción de alimentos.

1.2 Estado del Arte

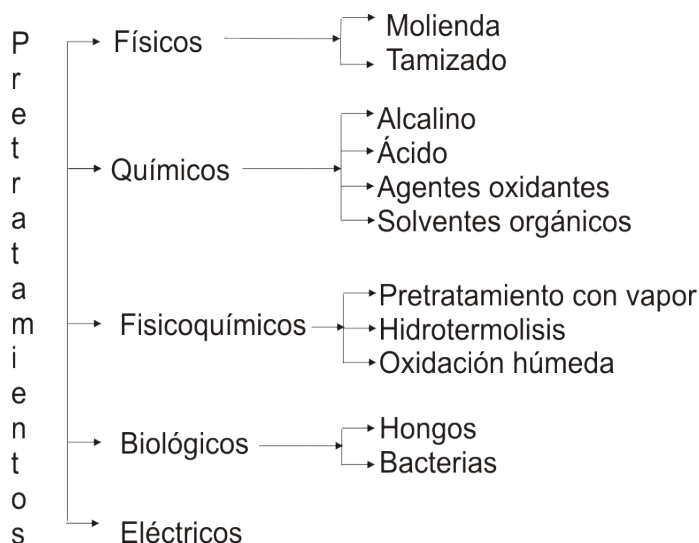
1.2.1 Pretratamientos del material lignocelulósico

Con el pretratamiento se busca remover la lignina y la hemicelulosa, reducir la cristalinidad de la celulosa, aumentar la porosidad y área de contacto de los materiales para facilitar la hidrólisis. Durante el pretratamiento de material lignocelulósico una fracción de hemicelulosa es hidrolizada [15].

La etapa del pretratamiento presenta el mayor desafío técnico, puesto que en esta etapa se producen los inhibidores para la fermentación. Sin embargo a través de un control adecuado de la temperatura y el pH la formación de productos inhibidores puede ser minimizada [16]. Por tanto esta etapa puede ser la más costosa en la conversión de biomasa a etanol y es la que está sujeta a una mayor investigación y desarrollo [17].

Las técnicas de pretratamiento pueden ser clasificadas en diferentes categorías. Estas se resumen en la Figura 1-2.

Figura 1-2. Clasificación de los pretratamientos.



1.2.2 Hidrólisis

El objetivo de la hidrólisis es romper el polímero de los polisacáridos, presentes en la fracción de sólidos insolubles en agua, que se producen en el pretratamiento. Este sólido está constituido principalmente por celulosa [9]. En la hidrólisis, la celulosa es transformada en glucosa. Esta reacción es catalizada por un ácido o enzimas (celulasa). Si se emplea la hidrólisis sin pretratar el material, el rendimiento es menor al 20%, mientras que si el material está pretratado, el rendimiento puede ser superior al 90% [7]. La hidrólisis puede ser ácida o enzimática.

▪ Hidrólisis ácida

La hidrólisis ácida, ha sido llevada a escala comercial desde 1909 en USA y otros países de Europa y Asia, para fermentar la glucosa en alcohol, utilizando madera como sustrato [18].

Bajo condiciones ácidas fuertes, es posible hidrolizar los enlaces de los polisacáridos a temperaturas superiores a 160°C [19], sin embargo los procesos comerciales típicos operan por debajo de 120°C, para minimizar la degradación de la fructosa y la glucosa. La glucosa y la fructosa se degradan a temperaturas superiores a 106°C y un pH menor a 2. Los principales productos de degradación son 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), el cual también se puede hidrolizar hasta degradarse a ácido fórmico y levulínico[20]. Para concentraciones de ácido bajas (0,5-1,5%), es posible emplear temperaturas entre 121 y

160°C. Para los procesos de hidrólisis los rendimientos del azúcar pueden ser de 70% e incluso mayores al 90% de acuerdo a las condiciones y el material [21]. La hemicelulosa es generalmente más susceptible a la hidrólisis ácida que la celulosa, se pueden obtener rendimientos de más del 85% con solo una pequeña conversión de celulosa a glucosa [22].

▪ Hidrólisis enzimática

Tres tipos de enzimas actúan sinérgicamente para hidrolizar la celulosa: endo- β -1,4-glucanasa esta enzima ataca la parte endógena de los canales de celulosa, celobiohidrolasas las cuales atacan el final del polímero, la celobiosa es hidrolizada hasta glucosa por las β -glucosidasas[4]. También se pueden adicionar otras enzimas como hemicelulasas y lignasas que faciliten el acceso a la celulosa.

Tanto las bacterias como los hongos pueden producir celulasas para la hidrólisis del material lignocelulósico. Estos microorganismos pueden ser aerobios o anaerobios, mesófilos o termófilos [23].

1.2.3 Fermentación

En el proceso de fermentación los monosacáridos obtenidos en los procesos de hidrólisis son transformados hasta etanol con microorganismos. Los microorganismos comúnmente empleados para la transformación de los azúcares presentes en los hidrolizados son la *E. Coli*, *Zymomonasmobilis*, *S. Cerevisiae* y *Pichiastipitis*.

Contrario a la producción de etanol a base de glucosa y almidón, la producción a partir de material lignocelulósico, genera una mezcla de azúcares fermentables en presencia de compuestos inhibidores (ácidos orgánicos de bajo peso molecular, derivados de furano, compuestos inorgánicos, compuestos fenólicos), los cuales se forman durante el pretratamiento y/o la hidrólisis del material [24].

Las pentosas (xilosa y arabinosa) obtenidas del material lignocelulosico no se pueden fermentar hasta etanol a partir de los microorganismos más comunes empleados en las fermentaciones industriales. Las bacterias anaerobias fermentan las pentosas pero se inhiben a bajas concentraciones de azúcar y etanol (32-35 g/L), con productividades cinco veces menores que para la *S. Cerevisiae*[25]. Por tanto la fermentación etanólica se lleva a cabo con una formación considerable de subproductos que reducen los rendimientos del etanol [24]. Los esfuerzos se concentran ahora en la obtención de microorganismos que puedan fermentar tanto las pentosas como las hexosas [26].

1.2.4 Inhibidores

En la Figura 1-3 se presentan los inhibidores que se forman en las etapas de hidrólisis y fermentación.

Figura 1-3. Inhibidores formados en las etapas de pretratamiento, hidrólisis y fermentación.



En los procesos actuales las corrientes líquidas deben ser recirculadas para minimizar los requerimientos de agua fresca y la producción de aguas de desecho. La consecuencia de la recirculación es la acumulación de compuestos inhibidores. La naturaleza de estos compuestos depende de la materia prima, del pretratamiento, del tipo de hidrólisis y de la extensión de la recirculación en el proceso [27].

Un proceso de desintoxicación por métodos químicos o físicos antes de la fermentación reduce la concentración de compuestos inhibidores y mejora el desempeño de la fermentación. Tratamientos con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e intercambio iónico aumentan los rendimientos significativamente [28]. Sin embargo el uso de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ no es favorable en procesos a escala industrial, debido a que la precipitación de las sales de calcio ensucian las columnas de destilación, evaporadores e intercambiadores de calor [29].

En la fermentación etanólica a partir de levaduras, cuando los compuestos carbonílicos, los furánicos y los fenólicos se reducen a sus correspondientes alcoholes se inhibe menos la fermentación [27].

1.2.5 Separación

El etanol obtenido durante la fermentación se encuentra en una mezcla de diversos compuestos, como biomasa, sales, agua e inhibidores. Este debe ser separado de la mezcla de reacción (mosto), para cumplir con las especificaciones que permitan su uso como combustible (99,5-99,9 % en etanol). El etanol y el agua presentan un azeótropo de punto de ebullición mínimo, lo que hace que su separación por encima de la composición azeotrópica requiera procesos especiales de separación, para remover el agua remanente y obtener etanol anhidro. A continuación se presentan varios procesos para la producción de etanol anhidro:

1. Proceso de deshidratación química. Se pone en contacto la solución con sustancias altamente hidrosfólicas como cal viva, cloruro de calcio y carbonato de calcio. Los cuales forman hidratos fijos con agua [3].
2. Deshidratación por un proceso de destilación al vacío. La concentración del etanol en el azeótropo del agua-etanol varía con la presión. Aumentando a medida que la presión disminuye. A 11.5 kPa el etanol y el agua no forman azeótropo y teóricamente pueden ser separados por una destilación convencional [3].
3. Proceso de destilación azeotrópica. Se altera el equilibrio por la adición de un tercer componente. El componente adicionado puede modificar el coeficiente de actividad de varios componentes alterando su volatilidad relativa [3].
4. Proceso de destilación extractiva. También se adiciona un componente que altera la volatilidad del etanol y el agua permitiendo su separación [3].
5. Procesos de membranas. Los procesos de membrana son unidades que emplean la transferencia de masa para separar corrientes de líquidos y gases. Una membrana es una barrera ultradelgada y semipermeable que separa dos fluidos y permite el transporte de ciertas especies a través de la barrera de un fluido a otro [3].
6. Proceso de adsorción. En este proceso se emplean tamices moleculares que adsorben selectivamente agua en base a la diferencia de tamaño molecular entre el agua y el etanol. Un tamiz molecular es un material que contiene poros de un tamaño preciso y uniforme (Zeolitas) [3].
7. Proceso de destilación difusión. Es un nuevo proceso para la separación de mezclas azeotrópicas. En este proceso un líquido es evaporado por debajo de la temperatura de ebullición difunde a través de una capa de gas inerte y es recondensado. La separación no solo depende de la volatilidad relativa sino también de la difusividad en el gas inerte [3].

1.2.6 Integración de procesos

Con la integración de procesos se busca reducir los consumos energéticos y de agua, a partir de integración energética y recirculación de corrientes de proceso. Como alternativas se presenta la unificación de unidades o etapas, con lo cual se reduce el número de equipos necesarios. Las alternativas más populares para la integración de procesos en fermentaciones de material lignocelulósico son: La sacarificación y fermentación simultánea, sacarificación y fermentación simultánea de pentosas y hexosas y el bioprocesamiento consolidado.

En el proceso separado de hidrólisis y fermentación (SHF), la celulosa se hidroliza primero hasta glucosa y luego la glucosa es fermentada hasta etanol. La ventaja de SHF es que tanto la hidrólisis como la fermentación ocurren en sus condiciones óptimas; la desventaja es que las enzimas de la hidrólisis se inhiben por producto, por tanto la velocidad de la hidrólisis se ve gradualmente disminuida cuando la concentración de glucosa aumenta[24]. Como resultado a este comportamiento se introduce el proceso de sacarificación y fermentación simultánea (SSF) de la celulosa. En SSF la hidrólisis y la fermentación se llevan a cabo simultáneamente en el mismo reactor, disminuyendo la inhibición por producto de las enzimas, debido a que los microorganismos fermentativos consumen inmediatamente los azúcares producidos. Esto incrementa la productividad global del etanol [30].

Una tecnología más reciente es la sacarificación con la fermentación simultánea de pentosas y hexosas (SSCF) [31]. Lo cual permite un mejor aprovechamiento de los azúcares disponibles en el proceso, o como lo presenta Diluccio[32] los azúcares que no se fermentan (fructosa y xilosa) por los microorganismos convencionales como la *S. Cerevisiae* pueden ser catalogados como subproductos de alto valor agregado, mejorando la economía del proceso.

Otra integración del proceso puede ser desarrollada, llevando a cabo la hidrólisis y la fermentación en un solo reactor, empleando una mezcla de microorganismos que produzcan todas las enzimas necesarias y fermente todos los azúcares. Esta integración se denomina bioprocesamiento consolidado (CBP)[33]. Sin embargo no se dispone de los microorganismos que puedan llevar a cabo este proceso, y el concepto es objeto de investigación [24]. Los mayores desafíos, sujetos a investigación son:

- Mejorar el desempeño de la hidrólisis enzimática desarrollando enzimas eficientes. Reduciendo los costos de producción de estas y permitiendo una carga de sólidos alta.
- Desarrollar organismos que permitan la fermentación siendo más tolerantes a los inhibidores y además permitan la fermentación de todos los azúcares presentes en el material lignocelulósico, con productividades altas y concentraciones de etanol elevadas.

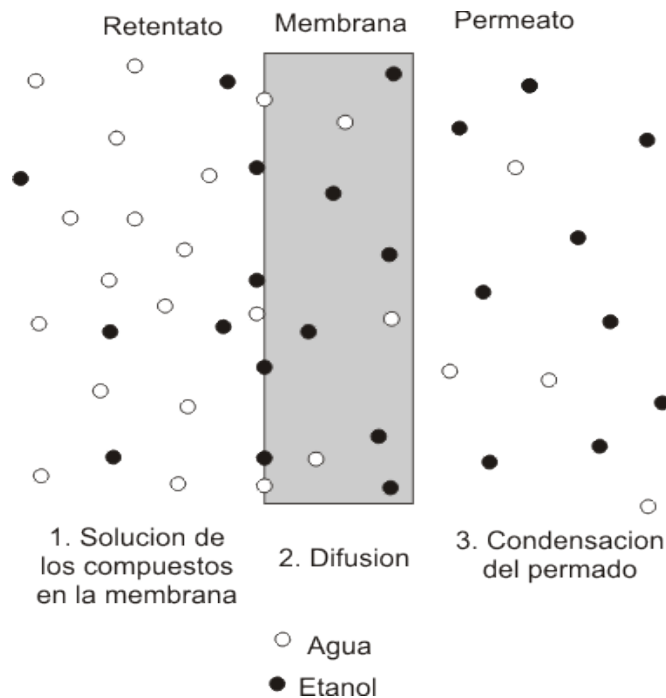
- Extensión de la integración de procesos que disminuya el número de etapas y la demanda energética. Permitiendo además la recirculación de corrientes con lo cual se disminuye el uso de agua fresca.

1.2.7 Remoción de etanol por medio de pervaporación

La pervaporación es un proceso en el cual se remueve uno o más compuestos de una mezcla, empleando membranas. El compuesto a remover en contacto con la membrana pasa a través de sus poros o para el caso de membranas no porosas es solubilizado en esta, seguido de una difusión a través de la membrana y recuperado por condensación en el lado del permeato de la membrana en el cual hay vacío. En este proceso ocurre un cambio de fase de líquido a vapor. Este mecanismo de transporte es denominado solución difusión. La efectividad de la separación en la pervaporación es cuantificada con dos parámetros: Selectividad que es la medida de la remoción selectiva de un compuesto orgánico y el flux que se refiere a la velocidad a la cual los componentes removidos pasan a través de la membrana por unidad de área de esta[34].

En la Figura 1-4 se presenta el esquema de un proceso de pervaporación.

Figura 1-4. Esquema de pervaporación.



En los procesos de fermentación convencionales, los microorganismos responsables de la fermentación se inhiben a concentraciones de etanol del 13% en peso, haciendo que

no sea posible una conversión alta de los azúcares a etanol. Este problema puede ser resuelto si se acoplan la etapa de fermentación con la de remoción de etanol, lo que permite reducir la concentración de este producto en el mosto y alcanzar mayores conversiones de glucosa, incrementando la productividad del fermentador, recuperando continuamente una corriente más concentrada de etanol [35,36].

La fermentación en continuo acoplada con la remoción simultánea del etanol es una tecnología prometedora, que cumple con los requerimientos de alta productividad y bajo costo [37]. La pervaporación es considerada como la mejor de varias técnicas como adsorción, ósmosis inversa y pertracción para remover etanol de mostos de fermentación, puesto que es simple, no es tóxica para los microorganismos fermentadores y es potencialmente menos costosa que la destilación [38].

Los mostos son mezclas de varios tipos de compuestos, cada uno de los cuales tiene efectos diferentes en las membranas, puede ocurrir ensuciamiento de esta por deposición de sustancias como sales o azúcares en la superficie de la membrana como lo propone Lipnizki[39] o la reducción de hidrofobicidad que postula Ikegami[40], o aumento en la selectividad y el flux como lo propone Nomura[41]. Por ello es muy importante realizar pruebas de pervaporación con diferentes tipos de membranas, que permitan definir que membrana es más adecuada para la remoción de etanol en el mosto, sabiendo que se debe tener en cuenta tanto la cantidad de etanol que es posible retirar como la estabilidad de la membrana, puesto que ambos son factores importantes e influyen directamente a la hora de realizar un análisis económico.

Cuando se acopla con la fermentación, la pervaporación puede mejorar los parámetros de la fermentación tales como la productividad y el rendimiento, debido a la reducción de la concentración de etanol que inhibe el proceso [34]. Además de acuerdo a algunos estudios [38] en el cual emplean una membrana de polidimetilsiloxano, la fermentación también puede mejorar los parámetros de la pervaporación incrementando la transferencia de masa hacia la membrana, con lo cual se incrementa tanto el flux como la selectividad. No obstante este comportamiento depende del tipo de membrana empleada, pues en el caso del estudio realizado por Ikegami[40] la cantidad de etanol recuperado se ve reducido con el paso del tiempo, lo cual es debido a la presencia de ácidos que disminuyen la hidrofobicidad de las membranas de silicalita.

Actualmente el proceso de destilación es el más comúnmente usado para concentrar el etanol fermentado, pero el proceso es costoso. La producción de etanol a partir de un proceso de pervaporación acoplado con fermentación, requiere emplear membranas selectivas hacia el etanol, que pueden ser acopladas directamente con el proceso de fermentación. Para ello se requieren membranas que sean hidrofóbicas. Se usan generalmente membranas de polidimetilsiloxano (PDMS), pero la selectividad hacia el etanol es baja, comparado con el de otras membranas como por ejemplo membranas de silicalita policristalina en las cuales se han reportado recuperaciones de etanol hasta del 85 % (v/v). Sin embargo, la concentración del etanol recuperado disminuye con el tiempo durante la fermentación. Una razón para este cambio puede ser que la hidrofobicidad de

la membrana de silicalitas modificada haciéndola hidrofílica, por la adsorción de componentes ácidos presentes en el mosto [40].

1.3 Bibliografía

- [1] J.C. Escobar, E.S. Lora, O.J. Venturini, E.E. Yáñez, E.F. Castillo, and O. Almazan, "Biofuels: Environment, technology and food security," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 13, Aug. 2009, pp. 1275-1287.
- [2] O.J. Sánchez and C. a Cardona, "Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks.," *Bioresource technology*, vol. 99, Sep. 2008, pp. 5270-95.
- [3] S. Kumar, N. Singh, and R. Prasad, "Anhydrous ethanol: A renewable source of energy," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, Sep. 2010, pp. 1830-1844.
- [4] R.K. Sukumaran, V.J. Surender, R. Sindhu, P. Binod, K.U. Janu, K.V. Sajna, K.P. Rajasree, and A. Pandey, "Lignocellulosic ethanol in India: Prospects, challenges and feedstock availability.," *Bioresource technology*, vol. 101, Jul. 2010, pp. 4826-33.
- [5] J.R. Ferrer, G. Páez, and L.A.D. Moreno, "Cinética de la hidrólisisácida de bagacillo de caña de Kinetics of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse pith Edited by Foxit Reader Copyright (C) by Foxit Software Company , 2005-2008 For Evaluation Only .," *Rev. Fac. Agron*, 2002, pp. 23-33.
- [6] A. Singh, D. Pant, N.E. Korres, A.-S.Nizami, S. Prasad, and J.D. Murphy, "Key issues in life cycle assessment of ethanol production from lignocellulosic biomass: Challenges and perspectives.," *Bioresource technology*, vol. 101, Jul. 2010, pp. 5003-12.
- [7] C. Hamelinck, G. Hooijdonk, and A. Faaij, "Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term," *Biomass and Bioenergy*, vol. 28, Apr. 2005, pp. 384-410.
- [8] "Biocombustibles," [Http://www.minagricultura.gov.co/02componentes/05biocombustible.aspx](http://www.minagricultura.gov.co/02componentes/05biocombustible.aspx).
- [9] A. Margeot, B. Hahn-Hagerdal, M. Edlund, R. Slade, and F. Monot, "New improvements for lignocellulosicethanol.," *Current opinion in biotechnology*, vol. 20, Jun. 2009, pp. 372-80.
- [10] J. Pérez, J. Muñoz-Dorado, T. de la Rubia, and J. Martínez, "Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview.," *International microbiology : the official journal of the Spanish Society for Microbiology*, vol. 5, Jun. 2002, pp. 53-63.
- [11] P. Kumar, D.M. Barrett, M.J. Delwiche, and P. Stroeve, "Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 48, Apr. 2009, pp. 3713-3729.
- [12] C.S. Goh, K.T. Tan, K.T. Lee, and S. Bhatia, "Bio-ethanol from lignocellulose: Status, perspectives and challenges in Malaysia.," *Bioresource technology*, vol. 101, Jul. 2010, pp. 4834-41.
- [13] B.E. Huber, G.W., Dale, "Grassoline at the Pump," *Scientific American*, 2009, pp. 40-47.
- [14] "Breaking the Chemical and Engineering Barriers to Lignocellulosic Biofuels," <http://www.ecs.umass.edu/biofuels/>.

- [15] Y. Sun and J. Cheng, "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review.," *Bioresource technology*, vol. 83, May. 2002, pp. 1-11.
- [16] J.R. Weil, B. Dien, R. Bothast, R. Hendrickson, N.S. Mosier, and M.R. Ladisch, "Removal of Fermentation Inhibitors Formed during Pretreatment of Biomass by Polymeric Adsorbents," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 41, Nov. 2002, pp. 6132-6138.
- [17] N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, and M. Ladisch, "Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosicbiomass.," *Bioresource technology*, vol. 96, Apr. 2005, pp. 673-86.
- [18] J.R. Ferrer, G. Páez, L. Arenas De Moreno, C. Chandler, Z. Mármol, and L. Sandoval, "Cinética de la hidrólisisácida de bagacillo de caña de Kinetics of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse pith Edited by Foxit Reader Copyright (C) by Foxit Software Company , 2005-2008 For Evaluation Only .," *Evaluation*, 2002, pp. 23-33.
- [19] C. L'homme, M. Arbelot, a Puigserver, and a Biagini, "Kinetics of hydrolysis of fructooligosaccharides in mineral-buffered aqueous solutions: influence of pH and temperature.," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 51, Jan. 2003, pp. 224-8.
- [20] S. Bower, R. Wickramasinghe, N.J. Nagle, and D.J. Schell, "Modeling sucrose hydrolysis in dilute sulfuric acid solutions at pretreatment conditions for lignocellulosicbiomass.," *Bioresource technology*, vol. 99, Oct. 2008, pp. 7354-62.
- [21] F.M. Gírio, C. Fonseca, F. Carvalheiro, L.C. Duarte, S. Marques, and R. Bogel-Łukasik, "Hemicelluloses for fuel ethanol: A review.," *Bioresource technology*, vol. 101, Jul. 2010, pp. 4775-800.
- [22] S. Brethauer and C.E. Wyman, "Review: Continuous hydrolysis and fermentation for cellulosic ethanol production.," *Bioresource technology*, vol. 101, Jul. 2010, pp. 4862-74.
- [23] S. Prasad, A. Singh, and H. Joshi, "Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues," *Resources, Conservation and Recycling*, vol. 50, Mar. 2007, pp. 1-39.
- [24] B. Hahn-Hägerdal, M. Galbe, M.F. Gorwa-Grauslund, G. Lidén, and G. Zacchi, "Bio-ethanol--the fuel of tomorrow from the residues of today.," *Trends in biotechnology*, vol. 24, Dec. 2006, pp. 549-56.
- [25] B.A. Hahnagerdal, B. Jeppsson, H. Skoog, K. Prior, "Biochemistry and physiology of xylose fermentation by yeasts*1," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 16, Nov. 1994, pp. 933-943.
- [26] B.S. Dien, M. a Cotta, and T.W. Jeffries, "Bacteria engineered for fuel ethanol production: current status.," *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 63, Dec. 2003, pp. 258-66.
- [27] L. Olsson and B. Hahnagerdal, "Fermentation of lignocellulosichydrolysates for ethanol production," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 18, Apr. 1996, pp. 312-331.
- [28] S. Larsson, A. Reimann, N.-O.Nilvebrant, and L.J. Jönsson, "Comparison of Different Methods for the Detoxification of Lignocellulose Hydrolyzates of Spruce," *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 77, 1999, pp. 91-104.
- [29] D. Schell, "A bioethanol process development unit: initial operating experiences and results with a corn fiber feedstock," *Bioresource Technology*, vol. 91, Jan. 2004, pp. 179-188.

- [30] C.E. Wright, J.D. Wyman, "saccharification and fermentation of lignocellulose: process evaluation.," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 18, 1988.
- [31] K. Ohgren, O. Bengtsson, M.F. Gorwa-Grauslund, M. Galbe, B. Hahn-Hägerdal, and G. Zacchi, "Simultaneous saccharification and co-fermentation of glucose and xylose in steam-pretreated corn stover at high fiber content with *Saccharomyces cerevisiae* TMB3400.," *Journal of biotechnology*, vol. 126, Dec. 2006, pp. 488-98.
- [32] M. Diluccio, C. Borges, and T. Alves, "Economic analysis of ethanol and fructose production by selective fermentation coupled to pervaporation: effect of membrane costs on process economics1," *Desalination*, vol. 147, Sep. 2002, pp. 161-166.
- [33] L.R. Lynd, W.H. van Zyl, J.E. McBride, and M. Laser, "Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: an update.," *Current opinion in biotechnology*, vol. 16, Oct. 2005, pp. 577-83.
- [34] A. Aroujalian and A. Raisi, "Pervaporation as a means of recovering ethanol from lignocellulosic bioconversions," *Desalination*, vol. 247, Oct. 2009, pp. 509-517.
- [35] D. O'Brien, L.H. Roth, and A.J. McAloon, "Ethanol production by continuous fermentation–pervaporation: a preliminary economic analysis," *Journal of Membrane Science*, vol. 166, Feb. 2000, pp. 105-111.
- [36] M.A. Noriega, "Remoción de etanol en sistemas de fermentación alcohólica mediante pervaporación," *Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia. Manizales*, 2010.
- [37] D. O'Brien, G.E. Senske, M.J. Kurantz, and J.C. Craig, "Ethanol recovery from corn fiber hydrolysate fermentations by pervaporation," *Bioresource Technology*, vol. 92, Mar. 2004, pp. 15-19.
- [38] Y. Wu, Z. Xiao, W. Huang, and Y. Zhong, "Mass transfer in pervaporation of active fermentation broth with a composite PDMS membrane," *Separation and Purification Technology*, vol. 42, Mar. 2005, pp. 47-53.
- [39] F. Lipnizki, S. Hausmanns, and R.W. Field, "Influence of impermeable components on the permeation of aqueous 1-propanol mixtures in hydrophobic pervaporation," *Journal of Membrane Science*, vol. 228, Jan. 2004, pp. 129-138.
- [40] T. Ikegami, H. Yanagishita, D. Kitamoto, H. Negishi, K. Haraya, and T. Sano, "Concentration of fermented ethanol by pervaporation using silicalite membranes coated with silicone rubber1," *Desalination*, vol. 149, Sep. 2002, pp. 49-54.
- [41] M. Nomura, "Selective ethanol extraction from fermentation broth using a silicalite membrane," *Separation and Purification Technology*, vol. 27, Apr. 2002, pp. 59-66.

2. Caracterización del bagazo de caña panelera

2.1 Introducción

La transformación de bagazo a etanol requiere el desdoblamiento de la celulosa y hemicelulosa (principales componentes del bagazo) hasta azúcares, como la glucosa, la xilosa y la arabinosa, para posteriormente ser fermentados hasta etanol. El diseño del proceso requiere la composición del bagazo, el cual está constituido principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina. La composición del material lignocelulósico depende no solo del tipo de material, sino también del área donde fue cultivado y de las condiciones de cultivo y cosecha. No obstante la caracterización permite establecer un aproximado de la composición de este material. La composición del bagazo puede hacerse más uniforme si se estandarizan las técnicas de recolección, secado de la muestra y almacenamiento.

Para la realización de la caracterización del bagazo de caña panelera, se emplearon las normas y procedimientos sugeridos por la *American Society for Testing and Materials* (ASTM) y la *National Renewable Energy Laboratory* (NREL). En la siguiente sección se presenta una breve descripción de cada una de las técnicas usadas para cada ensayo. Si es necesaria información más detallada, se sugiere al lector consultar las normas referenciadas en cada prueba.

2.2 Materiales y Métodos

2.2.1 Materia prima

El material lignocelulósico, el cual consiste de bagazo de caña panelera fue proporcionado por FEDEPANELA. Este bagazo fue cultivado y recolectado en el departamento de Neira Caldas y es de la variedad POJ28-78. Posterior a la recolección se realiza la extracción del jugo de la caña, obteniéndose el bagazo. Este es presentado en la Figura 2-1.

Figura 2-1. Bagazo de caña panelera fresco.



2.2.2 Preparación de la muestra

El bagazo se secó en un horno a 90°C, durante 24 horas. Posteriormente el material seco es sometido a un proceso de molienda con el fin de reducir su tamaño. Este proceso fue llevado a cabo en un molino de cuchillas, ubicando en el fondo del molino una malla de 1 mm.

El tamizado se realiza de acuerdo al procedimiento de la NERL “Preparation of Samples for Compositional Analysis” [1]. De acuerdo a este procedimiento se emplean solo las mallas 20 y 80. La muestra es ubicada en la malla 20, seguida de la malla 80 y en el fondo un recolector. Después del tamizado se obtienen dos fracciones, la retenida sobre la malla 80 y los finos que pasan a través de esta. Sobre la malla 20 no debe quedar ningún residuo, de ser así se debe volver a moler el material. Este reprocesamiento no fue necesario para el bagazo de caña. Con los valores obtenidos se calcula el porcentaje de la fracción de malla -20/+80, empleando la ecuación 2-1, para calcular la fracción de malla -80 se emplea la ecuación 2-2.

$$\% \text{Fracción}_{20/80} = \left(\frac{Wt_{20/80}}{Wt_{20/80} + Wt_{80}} \right) * 100 \quad 2-1$$

$$\% \text{Fracción}_{80} = \left(\frac{Wt_{80}}{Wt_{20/80} + Wt_{80}} \right) * 100 \quad 2-2$$

Además de este procedimiento se realizó un análisis del tamaño de partícula a una fracción del material seco y molido con el fin de determinar la distribución del tamaño de partícula. Con los valores de las masas retenidas se calcula la fracción másica y el diámetro medio de partícula como se presenta en las ecuaciones 2-3 y 2-4 .

$$\text{Fracción másica} = \left(\frac{\text{Masa retenida tamiz } i}{\text{Masa de la muestra}} \right) * 100 \quad 2-3$$

$$\overline{D}_{pi} = \frac{D_{pi-1} + D_{pi}}{2} \quad 2-4$$

El análisis del tamaño de partícula, se llevo a cabo para una alícuota de 201 g, a partir de un análisis diferencial, en el cual se determinó la fracción másica, por medio de la masa retenida en cada tamiz.

2.2.3 Determinación de extractos

Los extractivos son aquellas sustancias que se encuentran presentes en las diferentes fibras vegetales, pero que no son carbohidratos, tales como ácidos grasos, terpenos, fenoles y resinas. Muchos de estos compuestos son solubles en agua o disolventes orgánicos polares como el metanol, etanol o acetona, por lo que se eliminan rápidamente en procesos de extracción[2].

La determinación de extractos se realiza de acuerdo a la práctica de la NREL "Determination of Extractives in Biomass" [2]. Empleando un equipo de extracción soxhlet, para aproximadamente 7 g de muestra y 190 ml de solvente. Primero se realiza una extracción con agua, la cual permite determinar la cantidad de azúcares presentes en este material. Posteriormente se realiza una extracción con etanol para retirar los extractos que no son solubles en agua. El solvente obtenido en cada una de las extracciones se lleva a un rotaevaporador donde este es evaporado hasta obtener los extractos.

Con los datos obtenidos en esta prueba se debe calcular el peso de la biomasa libre de humedad denominado en las normas como peso seco de horno (ODW), por medio de la ecuación 2-5. El porcentaje de sólidos totales (\bar{T}) se determina a partir de la práctica "Determination of Total solids in Biomass" [3].

$$ODW = (W_{st} - W_t) * \frac{\bar{T}}{100\%} \quad 2-5$$

El porcentaje de extraíbles en una base libre de humedad se calcula con la ecuación 2-6.

$$\% \text{ Extraibles} = \frac{(W_{ef} - W_f)}{W_s} * 100\% \quad 2-6$$

2.2.4 Determinación de sólidos totales

Las muestras de material lignocelulósico están compuestas principalmente por dos fracciones: Los sólidos totales y la humedad. El porcentaje de humedad puede variar de acuerdo a las condiciones ambientales, haciendo que los resultados en las demás pruebas de caracterización se desvíen de su valor real. Es por este motivo que es más adecuado determinar la composición del bagazo para materiales libres de humedad. Este procedimiento se realizó a partir del método propuesto por la ASTM, a partir de la práctica "Determination of Total solids in Biomass" [3]. Se realizó por duplicado a muestras de finos (malla -80), gruesos (malla20/80) y bagazo después de la extracción.

Para esta práctica se tomaron aproximadamente 0,5 g de cada muestra y se pusieron en un horno a 105 °C por 62 horas. El tiempo de secado puede variar entre 3 y 72 horas. El material se deja en el horno hasta alcanzar peso constante, punto en el cual se ha retirado toda la humedad.

El porcentaje en masa de los sólidos totales obtenidos por secado a 105°C se calcula empleando la ecuación 2-7.

$$\% \bar{T}_{105} = \frac{(m_{f1} - m_t)}{(m_{i1} - m_t)} * 100\% \quad 2-7$$

2.2.5 Determinación de cenizas

Las cenizas son el resultado de la combustión del material, son minerales que prevalecen después de la calcinación y generalmente están compuestos por potasio, calcio y magnesio. La determinación de cenizas se realizó de acuerdo a la práctica "Determination of Ash in Biomass" de la NERL [4]. Y al igual que para la determinación de sólidos se realiza por duplicado a muestras de finos (malla -80), gruesos (malla20/80) y bagazo después de la extracción.

Se debe calcular el peso seco de horno (ODW) de la muestra, usando el contenido de sólidos totales promedio determinado por el procedimiento "Determination of Total Solids in Biomass"[3]. Para lo cual se emplea la ecuación 2-8.

$$ODW = \frac{\text{Peso}_{\text{muestra secada}} * \% \text{sólidos totales}}{100} \quad 2-8$$

El porcentaje de cenizas se calcula con la ecuación 2-9.

$$\% \text{Ceniza} = \frac{\text{Peso}_{\text{crisol + ceniza}} - \text{Peso}_{\text{crisol}}}{ODW_{\text{muestra}}} * 100 \quad 2-9$$

2.2.6 Determinación de carbohidratos estructurales

Los carbohidratos y la lignina constituyen la mayor porción de las muestras de biomasa. Los carbohidratos pueden ser estructurales o no estructurales. Los estructurales están enlazados en la matriz de la biomasa, mientras que los no estructurales pueden ser removidos usando extracción o lavados.

Este procedimiento se realiza de acuerdo a la práctica "Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass" de la NERL [5]. Para el material libre de extractos por duplicado.

Primero se realiza una hidrólisis ácida fuerte (Acido sulfúrico al 72% en peso, durante 60 minutos a 30°C) a una alícuota de 300mg del material, posteriormente se realiza a esta misma muestra una hidrólisis ácida diluida (Acido sulfúrico al 4%, durante 60 minutos a 121°C). El hidrolizado se filtra obteniéndose dos fracciones.

La fracción sólida es llevada a una mufla a 575°C, donde es calcinada. A partir de los resultados obtenidos es posible calcular el porcentaje en peso del residuo insoluble en ácido (AIR) y lignina insoluble en ácido (AIL) en base libre de extractos, empleando las ecuaciones 2-10 y 2-11. Se debe tener en cuenta que el sólido obtenido después de la calcinación también contiene las cenizas, por tanto es necesario descontar esta fracción.

$$\% \text{AIR} = \frac{\text{Peso}_{\text{crisol + AIR}} - \text{Peso}_{\text{crisol}}}{ODW_{\text{muestra}}} \quad 2-10$$

$$\% \text{AIL} = \frac{(\text{Peso}_{\text{crisol + AIR}} - \text{Peso}_{\text{crisol}}) - (\text{Peso}_{\text{crisol + ceniza}} - \text{Peso}_{\text{ceniza}})}{ODW_{\text{muestra}}} \quad 2-11$$

La fracción líquida es empleada para determinar la lignina soluble en ácido, a partir de un espectrofotómetro UV, midiendo la absorbancia a una longitud de onda adecuada. Los

valores de absorbancia adecuado y su correspondiente absortividad para el bagazo, son presentados en la Tabla 2-1.

Para el cálculo de la cantidad de lignina soluble en ácido (ASL) sobre la base libre de extractos se emplea la ecuación 2-12.

Tabla 2-1. Longitud de onda recomendada para el bagazo y su correspondiente adsorividad[5].

Material	Longitud de onda recomendada (nm)	Adsorividad a la longitud de onda recomendada (ϵ) (L/(g*cm))
Bagazo	240	25

$$\%ASL = \frac{UV_{abs} * Volumen_{filtrado} * Dilución}{\epsilon * ODW_{muestra}} * 100 \quad 2-12$$

Donde:

$$Dilución = \frac{Volumen_{muestra} + Volumen_{dilución\ solvente}}{Volumen_{muestra}}$$

La cantidad total de lignina sobre la base libre de extractos se calcula empleando la ecuación 2-13.

$$\%Lignina_{libre\ ext} = \%AIL + \%ASL \quad 2-13$$

Por medio de la ecuación 2-14 se calcula el valor de lignina total incluyendo los extractos. El cual es denominado en la norma porcentaje de lignina en la muestra como se recibió.

$$\%Lignina_{como\ se\ recibio} = (\%Lignina_{libre\ ext}) * \frac{(100 - \%Extractos)}{100} \quad 2-14$$

Donde:

$\%Extractos$ = porcentaje de extractos en la muestra de biomasa preparada, determinado por el procedimiento "Determination of Extractives in Biomass" [2].

La fracción líquida se emplea también para la determinación de los carbohidratos estructurales. Se toma una alícuota de 20 mL de la solución, y se lleva a un pH de 5-6, empleando carbonato de calcio. Se filtran y se analizan por HPLC para xilosa, arabinosa, glucosa y ácido acético.

Para esta prueba es necesario preparar una serie de azúcares estándares de recuperación (SRS), a los cuales se les realiza también una hidrólisis ácida. Estos son empleados para corregir las pérdidas debido a la destrucción de los azúcares durante la hidrólisis ácida diluida del bagazo.

Para los estándares de recuperación de los azúcares (SRS), se calcula la cantidad de cada azúcar recuperado después de la hidrólisis ácida diluida. Se promedian los valores de las replicas ($\%R_{azúcar}$) para cada azúcar y se reportan como $\%R_{azúcar, prom}$. Como se presenta en la ecuación 2-15.

$$\%R_{azúcar} = \frac{\text{conc. detectada por HPLC después de la hidrólisis, mg/mL}}{\text{conc. conocida del estándar antes de la hidrólisis, mg/mL}} * 100 \quad 2-15$$

Empleando los valores calculados con la ecuación 15, se corrigen los valores de concentración de los azúcares obtenidos por HPLC para cada muestra hidrolizada. Como se presenta en la ecuación 2-16.

$$C_x = \frac{C_{HPLC, bagazo \text{ hidrolizado}} * \text{factor de dilución}}{\%R_{azúcar, prom} / 100} \quad 2-16$$

A partir de la ecuación 2-17 se calcula la concentración de los azúcares poliméricos por medio de la concentración de los correspondientes azúcares monoméricos, usando una corrección anhidra de 0.88 ó 132/150 para los azúcares C-5 (Xilosa y arabinosa), una corrección de 0.9 o 162/180 para los azúcares C-6 (Glucosa, galactosa y manosa) y una corrección de 0,983 para el acetato[5].

$$C_{anhidra} = C_x * \text{corrección anhidra} \quad 2-17$$

Con la ecuación 2-18 se calcula el porcentaje de cada azúcar sobre la base libre de extractos.

$$\%Azúcar_{libre\ ext} = \frac{C_{anhidra} * V_{filtrado} * \frac{1g}{1000mg}}{ODW_{muestra}} * 100 \quad 2-18$$

Donde:

$V_{filtrado}$ =Volumen de filtrado. 87,00 mL.

El porcentaje de cada azúcar sobre la base de la biomasa como se recibió, se calcula empleando la ecuación 2-19.

$$\%Azúcar_{como\ se\ recibio} = (\%Azúcar_{libre\ ext}) * \frac{(100 - \%Extractos)}{100} \quad 2-19$$

El cálculo del porcentaje de los grupos acetilo sobre la base libre de extractos se realiza empleando la ecuación 2-20.

$$\%Acetato_{libre\ ext} = \frac{C_{AA,HPLC} * Volumen_{filtrado} * Factor\ conversión}{ODW_{muestra}} * 100 \quad 2-20$$

Para el cálculo del porcentaje de los grupos acetilo sobre la base de la biomasa como se recibió se emplea la ecuación 2-21.

$$\%Acetato_{tal\ como\ se\ recibio} = (\%Acetato_{libre\ ext}) * \left(\frac{100 - \%Extractos}{100} \right) \quad 2-21$$

2.3 Resultados y discusión

2.3.1 Preparación de la muestra

En la Tabla 2-2 se presenta la fracción de sólidos finos y gruesos.

Tabla 2-2. Fracciones de finos y gruesos.

Gruesos	% - 20/+80	25,1
Finos	%-80	74,9

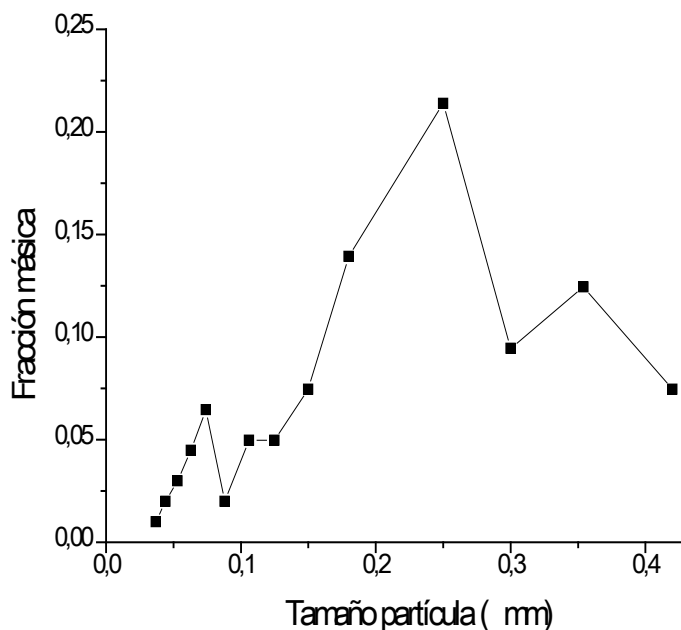
Para el análisis de tamaño de partícula se encuentra por ejemplo, para el tamiz 45 que el tamaño de partícula del bagazo de caña molido se encuentra entre 0,42 y 0,354 mm. Promediando estos valores se dice que el 12.43% del bagazo de caña tiene un tamaño de partícula de aproximadamente 0,387 mm. La serie de tamices empleados así como las masas retenidas y el diámetro medio son presentados en la Tabla 2-3.

Tabla 2-3. Análisis del tamaño de partícula para el bagazo de caña panelera.

Tamiz	Abertura del tamiz (mm)	Masa Tamiz vacío (g)	Masa Tamiz +bagazo (g)	Masa retenida (g)	Fracción másica	Diámetro medio (mm)
40	0,42	353	368	15	0,0746	
45	0,354	375	400	25	0,1243	0,387
50	0,3	374	393	19	0,0945	0,327
60	0,25	334	377	43	0,2139	0,275
80	0,18	314	342	28	0,1393	0,215
100	0,15	321	336	15	0,0746	0,165
120	0,125	360	370	10	0,0497	0,1375
140	0,106	317	327	10	0,0497	0,1155
170	0,088	337	341	4	0,0199	0,097
200	0,074	314	327	13	0,0646	0,081
230	0,063	306	315	9	0,0447	0,0685
270	0,053	309	315	6	0,0298	0,058
325	0,044	352	356	4	0,0199	0,0485
400	0,037	349	351	2	0,0099	0,0405
recolector		411	412	1	0,0049	0,0185

En la Figura 2-2 se representa la fracción másica en función del tamaño de partícula. De esta figura se puede observar como para el bagazo de caña el 21.39% de este material presenta un tamaño de partícula de aproximadamente 0.275 mm, siendo este el tamaño de partícula predominante.

Figura 2-2. Análisis diferencial para el bagazo de caña panelera.



2.3.2 Determinación de extractos

Los extractos obtenidos en la extracción con agua son analizados por HPLC, para determinar la cantidad de azúcares presentes en la muestra. Los azúcares detectados en la muestra así como su concentración son presentados en la Tabla 2-4.

Tabla 2-4. Concentración de azúcares en los extractos.

	Sacarosa	Glucosa	Fructosa
Masa determinada	0,074	0,399	0,585
Fración másica	0,013	0,073	0,107

Los resultados obtenidos en ambas extracciones son presentados en la Tabla 2-5.

Tabla 2-5. Porcentaje de extraíbles en el bagazo de caña panelera.

Masa muestra (g)	Masa azúcares (g)	% extraíbles agua	% extraíbles etanol	% extraíbles totales
7,3	1,058	19,5	3,4	23

El porcentaje de extractos obtenidos para el bagazo de caña panelera empleado en este estudio es muy alto en comparación con los reportados de otros estudios para material lignocelulósico (4%) [6]. No obstante teniendo en cuenta que la extracción del zumo del bagazo es poco eficiente en la industria panelera, este presenta un alto contenido de azúcares incluso después del secado. Estos azúcares son solubilizados en el proceso de extracción con agua, haciendo que el porcentaje de extraíbles aumente considerablemente.

2.3.3 Determinación de sólidos totales

Los resultados obtenidos en la prueba determinación de sólidos totales para las diferentes muestras son presentados en la Tabla 2-6.

Tabla 2-6. Porcentaje de sólidos para diferentes muestras de bagazo de caña panelera.

Muestra	% Sólidos
Finos	94,4
Gruesos	95,0
Libre extractos	75,4

2.3.4 Determinación de cenizas

En la Tabla 2-7 se presentan los valores de ODW y % de cenizas calculados para las diferentes muestras analizadas.

Tabla 2-7. Porcentaje de cenizas para diferentes muestras de bagazo de caña panelera.

Muestra	ODW	% Cenizas
Finos	0,59	3,0
Gruesos	0,594	2,6
Libre extractos	0,411	3,1

2.3.5 Determinación de Carbohidratos estructurales

En la Tabla 2-8 se presentan los resultados obtenidos para el residuo insoluble en ácido (%AIR), lignina insoluble en ácido (%AIL), lignina soluble en ácido (%ASL), %Lignina_{libre extractos} y el %Lignina_{como se recibió}

Tabla 2-8. % de residuo insoluble en ácido (AIR), % de lignina insoluble en ácido (AIL), % de lignina soluble en ácido (ASL), % de lignina libre de extractos y el % de lignina como se recibió.

%AIR	%AIL	%ASL	%Lignina _{libre extractos}	%Lignina _{como se recibió}
21,7	16,9	0,028	17,0	13,1

En la Tabla 2-9. Se presentan los resultados obtenidos para los porcentajes de recuperación de los azúcares (%R_{azúcar}).

Tabla 2-9. % de recuperación de azúcares.

Azúcar	%R _{azúcar}
Glucosa	91,6
Xilosa	87,6
Arabinosa	84,7

De acuerdo a los porcentajes de recuperación de los azúcares, se observa como los azúcares provenientes de la hemicelulosa (C-5) se degradan más fácilmente que los provenientes de la celulosa (C-6). Es decir son más susceptibles a la degradación con ácido.

Los resultados de los valores medios obtenidos a partir de la práctica de determinación de carbohidratos estructurales para $\%Azúcar_{libre\ extractos}$ y $\%Azúcar_{como\ se\ recibio}$ son presentados en la Tabla 2-10.

Tabla 2-10. Concentración de azúcar polimérico, % azúcar libre de extractos y % de azúcar como se recibió.

Azúcar polimérico	<i>$\%Azúcar_{libre\ ext}$</i>	<i>$\%Azúcar_{como\ se\ recibio}$</i>
Celulosa	35,7	27,5
Hemicelulosa	20,7	15,9
Acetilo	2,67	2

En la Tabla 2-11 se resumen los resultados obtenidos para la composición del bagazo de caña panelera en base libre de extractos, así como el % de extraíbles determinado.

Tabla 2-11. Composición del bagazo de caña panelera en base libre de extractos.

Compuesto	%
Celulosa	35,7
Hemicelulosa	20,7
Lignina	17
Acetato	2,67
cenizas	3,13
humedad	24,6
% Extractos	23,00

2.3.6 Comparación con otros resultados

En la Tabla 2-12 se presentan los resultados obtenidos por diferentes tipos de material lignocelulosico y en la Tabla 2-13 para bagazo de caña de diferentes regiones, incluidos los resultados obtenidos en este trabajo.

Tabla 2-12. Composición de diferentes materiales lignocelulósicos.

Material	Eucalipto [Hamelinck et al]	Fibra prensada palma [Gutiérrez et al]	Pino [Hamelinck et al]	Paja de trigo [Olson et al]
Celulosa	49,5	24	44,55	36
Hemicelulosa	21,9	14,4	21,90	28
Lignina	27,71	12,6	27,67	29
Acetato	4,19			
cenizas	1,26	3	0,32	
humedad		40		
Extractos	4,27		2,88	

Tabla 2-13. Composición de diferentes tipos de bagazo de caña.

Compuesto	Francia Caña azucarera [7]	Venezuela Caña azucarera [8]	México Caña azucarera [9]	Colombia Caña panelera [Caso estudio]
Celulosa	45	52,25	35,01	35,7
Hemicelulosa	26	19,27	23,0208	20,7
Lignina	20	12,86	23,9	17
Acetato				2,67
Cenizas	2,1	9,53		3,13
Humedad		7,5		24,6
Extractos		0,91		23,00

De acuerdo a los resultados presentados en las Tabla 2-12 y Tabla 2-13 es posible observar como la composición del bagazo de caña panelera es similar a la presentada en otros estudios para este tipo de material, excepto para los extractos, los cuales representan un 23% de este material. Este porcentaje significativamente más alto al reportado en otros estudios para bagazo de caña azucarera (1%) es debido a que la extracción del zumo de la caña panelera es menos eficiente que para la azucarera, por lo

cual el porcentaje de azúcar presente en los extractos para este material es mayor (19%), haciendo que el porcentaje de extractos totales se vea incrementado. No obstante el alto contenido de azúcar en los extractos puede ser aprovechado a la hora de realizar la etapa de fermentación, puesto que estos pueden ser transformados hasta etanol.

2.4 Conclusiones

Para el bagazo de caña panelera POJ28-78, empleado en este estudio se encuentra un porcentaje de celulosa de 35,7%, hemicelulosa 20,7%, lignina 17%, acetato 2,6%, cenizas 3,13% y 24,6 % de humedad todos en base libre de extractos los cuales representan el 23% de este material. La composición determinada para el bagazo de caña panelera es similar a la reportada para este tipo de material, no obstante el porcentaje de extractos es mayor (23%) al reportado para bagazo de caña azucarera (1%), puesto que la extracción del zumo de caña panelera es menos eficiente que para la caña de azúcar lo que produce que haya una mayor cantidad de azúcares en este bagazo. No obstante este mayor contenido de azúcar puede ser aprovechado en la etapa de fermentación donde estos azúcares pueden ser transformados hasta etanol.

2.5 Bibliografía

- [1] B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, A. Sluiter, J. Sluiter, and D. Templeton, "Preparation of Samples for Compositional Analysis," *National Renewable Energy Laboratory*, 2008.
- [2] A. Sluiter, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, and D. Templeton, "Determination of Extractives in Biomass," *National Renewable Energy Laboratory*, 2008.
- [3] "Determination of Total solids in Biomass," *Annual Book of ASTM Standards*, vol. 11.05, 2003, pp. 8-10.
- [4] A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, and D. Templeton, "Determination of Ash in Biomass," *National Renewable Energy Laboratory*, 2008.
- [5] A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, and D.C. Nrel, "Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass Determin,"
- [6] C. Hamelinck, G. Hooijdonk, and A. Faaij, "Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term," *Biomass and Bioenergy*, vol. 28, Apr. 2005, pp. 384-410.
- [7] H. Boussarsar, B. Rogé, and M. Mathlouthi, "Optimization of sugarcane bagasse conversion by hydrothermal treatment for the recovery of xylose.," *Bioresource technology*, vol. 100, Dec. 2009, pp. 6537-42.
- [8] J.R. Ferrer, G. Páez, L. Arenas De Moreno, C. Chandler, Z. Mármol, and L. Sandoval, "Cinética de la hidrólisisácida de bagacillo de caña de Kinetics of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse pith Edited by Foxit Reader Copyright (C) by Foxit Software Company , 2005-2008 For Evaluation Only .," *Evaluation*, 2002, pp. 23-33.
- [9] R. Aguilar, J.A. Ramirez, G. Garrote, and M. Vasquez, "Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse," *Journal of Food Engineering*, vol. 55, 2002, pp. 309-318.

3. Desempeño de las membranas

3.1 Introducción

La remoción de etanol a partir de un sistema híbrido de fermentación y pervaporación requiere emplear membranas que tengan la capacidad de remover el etanol de manera selectiva, manteniendo su desempeño y siendo económicamente viables. Teniendo en cuenta que las propiedades de las membranas se ven influenciadas por las condiciones de operación un factor a tener en cuenta son las condiciones a las cuales tanto la fermentación como la pervaporación presenten un desempeño adecuado. Estas condiciones afectaran tanto la productividad como la remoción de etanol [1,2].

La permeación de moléculas a través de membranas densas está generalmente gobernada por un mecanismo de adsorción y difusión. Mayores solubilidades de un componente en el material de la membrana, facilitaran su remoción generando selectividades altas. Además la diferencia de las velocidades de difusión de los componentes también ayuda a la separación, los compuestos con mayores difusividades se transportaran con mayor facilidad a través de la membrana [1].

El buen desempeño de las membranas selectivas al etanol en procesos de pervaporación es la clave en la realización de un sistema acoplado competitivo. El principal tipo de membranas empleadas para la remoción de etanol son las membranas de silicalita y polidimetilsiloxano (PDMS). Actualmente el PDMS es el material hidrofóbico más empleado para la remoción de alcoholes de soluciones acuosas[3]. Las condiciones de preparación de las membranas determinan su estructura y desempeño. Estas variaciones incluyen la adición de compuestos que aumenten la afinidad de la membrana por el compuesto a separar así como por ejemplo el caso de las membranas compuestas poliméricas y/o cerámicas.

Es posible encontrar gran variedad de membranas aptas para la remoción de etanol de soluciones acuosas. No obstante las propiedades de las membranas se pueden ver fuertemente afectadas por el mosto, incluso cambiando sus propiedades hasta completamente hidrofílicas, como se presenta más adelante.

3.2 Modelo matemático del transporte de la membrana

El desempeño de una membrana para pervaporación se expresa usualmente en términos del flux y selectividad. En el presente modelo se emplean las ecuaciones de Maxwell-Stefan para describir el transporte a través de las membranas. El transporte de una mezcla binaria de los componente i y j permeando a través de una membrana es descrito como una mezcla ternaria de los componentes i , j y M , donde M se refiere a la membrana. La ecuación de transporte para el componente i se basa en las fuerzas guías de ese componente, y la fricción de ese componente con la membrana y con el otro componente j en el sistema, como se presenta en la ecuación 3-1 y 3-2[4].

$$-\frac{1}{RT} \frac{d\mu_i}{dz} = \frac{x_j}{D_{ij}} \left(\frac{J_i}{C_i} - \frac{J_j}{C_j} \right) + \frac{x_M}{D_{iM}} \left(\frac{J_i}{C_i} \right) \quad 3-1$$

Como la fracción molar de la membrana no está bien definida x_M/D_{iM} se reemplaza por $1/D_{iM}$. Puesto que x_M tiende a 1. Ecuación 3-2.

$$-\frac{1}{RT} \frac{d\mu_i}{dz} = \frac{x_j}{D_{ij}} \left(\frac{J_i}{C_i} - \frac{J_j}{C_j} \right) + \frac{1}{D_{iM}} \left(\frac{J_i}{C_i} \right) \quad 3-2$$

Asumiendo que la concentración del componente i es proporcional a su presión de vapor local en la membrana, $C_i = H_i P_i$ [5] y teniendo en cuenta que $\mu_i = \mu_{i0} + RT \ln(P_i)$. Se obtienen las ecuaciones 3-3 y 3-4.

$$dP_w H_w = - \left(\frac{x_e}{D_{we}} + \frac{1}{D_{wM}} \right) J_w + \left(\frac{x_w}{D_{we}} \right) J_e \quad 3-3$$

$$dP_e H_e = - \left(\frac{x_w}{D_{we}} + \frac{1}{D_{eM}} \right) J_e + \left(\frac{x_e}{D_{we}} \right) J_w \quad 3-4$$

Solucionando las ecuaciones 3-3 y 3-4 se obtiene el flux de agua y el flux de etanol, como se presentan en las ecuaciones 3-5 y 3-6.

$$J_w = \frac{H_w M_w * P_w (x_w + D_{we} M_e) D_{we} M_w + x_w * H_e M_e * P_e * D_{we} M_e}{x_e * D_{we} M_e + x_w * D_{we} M_w + D_{we} M_w * D_{we} M_e} \quad 3-5$$

$$J_e = \frac{H_e M_e * P_e (x_e + D_{we} M_w) D_{we} M_e + x_e * H_w M_w * P_w * D_{we} M_w}{x_e * D_{we} M_e + x_w * D_{we} M_w + D_{we} M_w * D_{we} M_e} \quad 3-6$$

Donde:

$$M_w = D_{wM} \quad 3-7$$

$$M_e = D_{eM} \quad 3-8$$

$$M_e = \frac{1}{D_{eM}} \quad 3-9$$

$$M_w = \frac{1}{D_{wM}} \quad 3-10$$

De acuerdo al trabajo realizado por Noriega [5] la solubilidad de la membrana se puede describir por la ley de Henry, por tanto la constante de solubilidad se define por la ecuación 3-11[5].

$$H_i = H_i^0 * \exp\left(\frac{Q_i}{RT}\right) \quad 3-11$$

De acuerdo a Tenelshof[6] la variación de la difusividad efectiva de la membrana con la temperatura se puede presentar como una ecuación de tipo Arhenius. Ecuación 3-12.

$$D_i^{ef} = D_i^{ef0} * \exp\left(\frac{-E_D}{RT}\right) \quad 3-12$$

Reemplazando las ecuaciones 3-11 y 3-12 en las ecuaciones 3-7 a 3-10, se obtienen el modelo en función de 8 constantes como se presenta en las ecuaciones 3-13 a 3-16.

$$D_{ew}M_w = K_1 \exp\left(\frac{K_2}{T}\right) \quad 3-13$$

$$D_{ew}M_e = K_3 \exp\left(\frac{K_4}{T}\right) \quad 3-14$$

$$H_wM_w = K_5 \exp\left(\frac{K_6}{T}\right) \quad 3-15$$

$$H_eM_e = K_7 \exp\left(\frac{K_8}{T}\right) \quad 3-16$$

Donde:

$$K_1 = \frac{D_{we}^{ef0}}{D_{wM}^{ef0}} \quad K_2 = \frac{E_{wM}^D - E_{we}^D}{R} \quad K_3 = \frac{D_{we}^{ef0}}{D_{eM}^{ef0}} \quad K_4 = \frac{E_{eM}^D - E_{we}^D}{R}$$

$$K_5 = \frac{D_{wM}^{ef0} H_w^0}{L} \quad K_6 = \frac{Q_w - E_{wM}^D}{R} \quad K_7 = \frac{D_{eM}^{ef0} H_e^0}{L} \quad K_8 = \frac{Q_e - E_{eM}^D}{R}$$

Las constantes K_1 y K_3 son una relación de las difusividades efectivas de activación. K_2 y K_4 relacionan la energía de activación para la difusión de los compuestos en la membrana y de los componentes de la mezcla binaria, el signo indica la magnitud de la energía de activación de i en la membrana y de i en j . K_5 y K_7 relacionan el estado estándar del modelo de solución difusión y siempre deben ser positivas. K_6 y K_8 relacionan la energía de activación de la membrana, su signo indica la magnitud de la energía de activación de solubilidad de los componentes en la membrana respecto a la energía de activación de difusión [5].

3.3 Preparación de la membrana

La membrana de PDMS se preparo depositando sobre un soporte cerámico de 5 mm de diámetro externo, treinta centímetros de longitud, y tamaño de poro de 200 nm (Hyflux), tres capas de gamma alúmina mediante el procedimiento descrito por Peters et al [7], empleando la técnica denominada "dipcoating". El propósito de las capas de gamma alúmina es evitar el efecto de hinchamiento (*swelling*) en el polímero y aumentar la resistencia mecánica de la membrana. Sobre las capas de gamma alúmina se depositan las capas poliméricas de PDMS. El proceso de deposición se desarrolló a temperatura

ambiente también usando la técnica denominada “*dipcoating*”. Después de realizar la deposición, la muestra se seca a 80 °C. Se recomienda repetir varias veces el proceso de deposición para obtener una capa libre de defectos.

3.4 Ajuste del modelo a partir de datos experimentales

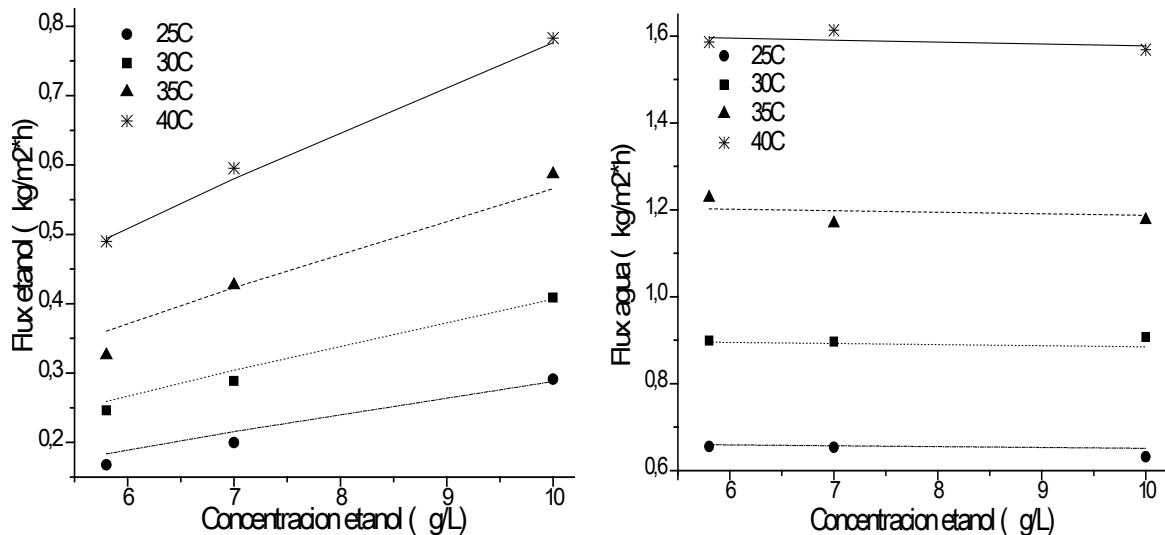
Con el objetivo de realizar el ajuste del modelo de la membrana, para lo cual es necesario determinar los valores de las constantes K_1 a K_8 , se hacen una serie de experimentos a tres concentraciones de etanol en agua (5, 7 y 10 g/L) y cuatro temperaturas (25°C, 30°C, 35°C y 40°C). Se emplean estas condiciones puesto que son las típicas de experimentos de fermentación. Con los resultados experimentales del flux de etanol y agua se realiza el ajuste de mínimos cuadrados empleando la función “*lsqcurvefit*” del software MATLAB R2008a.

Para estos experimentos se emplea una membrana de PDMS, la cual está conformada por cuatro capas de PDMS, sobre un soporte de gamma alúmina. Preparada como se presenta en la sección 3.3. Esta membrana se denomina PDMS-1.

Para la membrana de PDMS-1 se encuentra que el ajuste del modelo es satisfactorio obteniéndose que el error obtenido es menor al 2%. Los resultados se presentan en la Figura 3-1. En la

Tabla 3-1 se muestran los valores ajustados para las constantes.

Figura 3-1. Ajuste del modelo para la membrana de PDMS.



• Datos experimentales, — Ajuste.

Tabla 3-1. Constantes ajustadas para la membrana de PDMS empleada.

Constante	K1	K2 (K)	K3	K4 (K)	K5 $\left(\frac{mol}{m^2 * s * Pa}\right)$	K6 (K)	K7 $\left(\frac{mol}{m^2 * s * Pa}\right)$	K8 (K)
PDMS	62,5	98,4	1941,9	-2939,2	47,2	-239,4	2,2	1339,1

3.5 Remoción de etanol en sistemas de fermentación

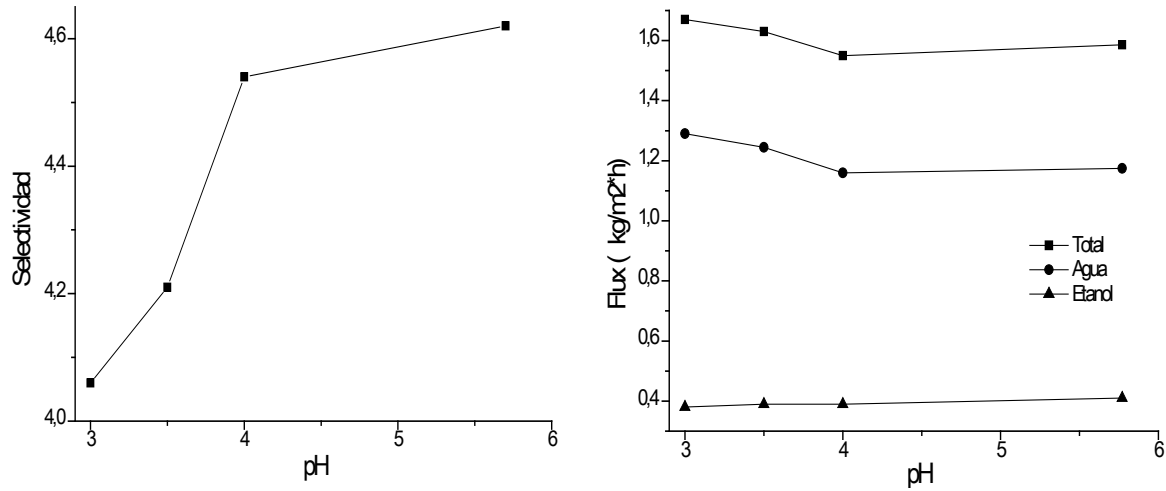
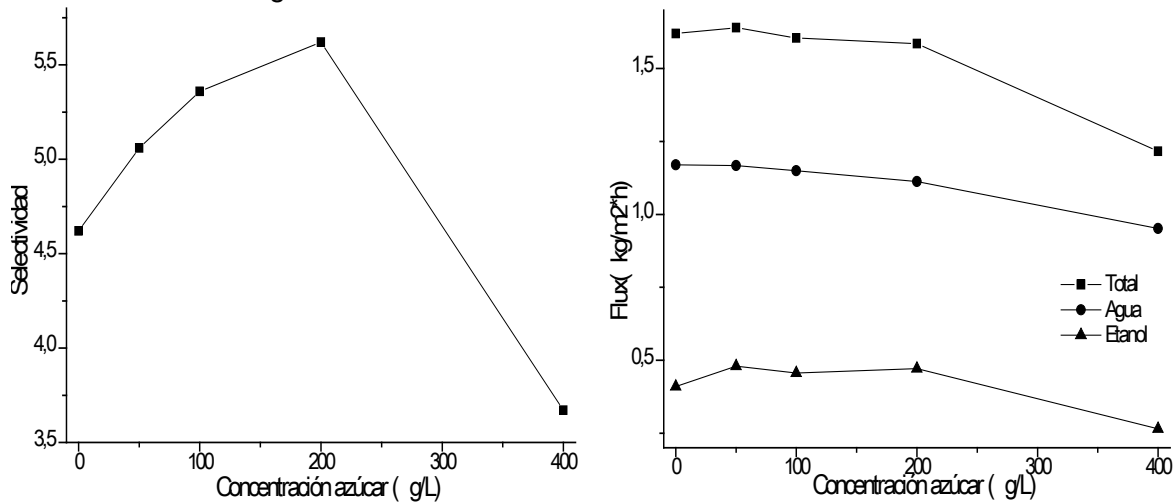
En los procesos de separación empleando membranas, es de vital importancia parámetros como la selectividad y el flux, además también el tiempo que le toma a la membrana estabilizarse. Los mostos son mezclas complejas de muchos componentes, incluyendo ácidos que pueden deteriorar las membranas. Algunos de estos componentes pueden modificar las propiedades de las membranas como lo señalan Wu[8], Ikegami[9], Lipnizki[10] y Nomura[11]. Estas modificaciones no necesariamente se refieren a disminuciones en el flux y la selectividad, pues algunos componentes pueden incluso favorecer la pervaporación como es el caso de los azúcares presentes en el mosto. Solutos como azúcares o sales disueltos en la solución a pervaporar disminuyen la presión de vapor del agua, mientras que la del etanol aumenta, lo cual indica que la selectividad debe aumentar, como lo presenta Lipnizki[10] para una membrana de PDMS y otra de PDMS con 40% de zeolita y Chovau[12] para dos membranas comerciales de PDMS. La reducción en la presión de vapor del agua en presencia de glucosa, se debe a las interacciones entre ambas moléculas. Los grupos hidroxilo de la glucosa interactúan formando puentes de hidrogeno con el agua de manera más fuerte que con el etanol, que solo tiene un solo polo para el puente de hidrógeno [9]. No obstante en el estudio realizado por Aroujalian[13] para membranas comerciales de PDMS, la selectividad disminuye en presencia de glucosa, lo cual es atribuido a una polarización en la concentración. En el estudio realizado por Chovau[12], analizan además la influencia que tienen los ácidos carboxílicos en las membranas, encontrando que la presencia de ácido fórmico y succínico aumenta el flux de agua reduciendo la selectividad de las membranas de PDMS. En el estudio realizado por Ikegami[14] para membranas de silicalita en presencia de ácidos, se observa un cambio en la estructura de la membrana, puesto que los grupos carboxílicos y carbonílicos deforman los grupos hidroxílicos de la membrana de silicalita, haciéndola hidrofílica. En el estudio realizado por Bowen[15], se investiga la estabilidad de membranas de zeolita compuestas con PDMS, para recuperar etanol de soluciones acuosas que contiene ácido acético. Para esta membrana se encuentra un cambio significativo en sus propiedades, disminuyendo tanto el flux como la selectividad. Mientras que para membranas de PDMS el cambio no es significativo. Chovau[12], encuentra que cuando el pH de la solución está por encima de la constante de disociación no ocurren cambios en las propiedades de la membrana, lo cual indica que la mayor presencia de iones afectan las propiedades de la membrana, haciéndola hidrofílica.

En el estudio realizado por Wu[8], se emplea una membrana de PDMS para remover etanol de mostos y se encuentra que tanto el flux como la selectividad aumentan en un 34% y 16% en promedio, en comparación con soluciones sin microorganismos. Indicando que la presencia de levadura favorece el proceso de pervaporación. Se atribuye este incremento a un aumento en el coeficiente global de transferencia de masa el cual se incrementa en un 44%. Para determinar si es el metabolismo de las células o las células en sí mismas las que favorecen la transferencia de masa, los autores realizaron experimentos con células inactivas, encontrando que la transferencia de masa también se ve favorecida con el aumento en la concentración de las células inactivas. De acuerdo a la teoría de flujo en dos fases, la turbulencia en fluidos que contiene líquidos y sólidos es mayor. Para la transferencia de masa a través de la membrana, fuertes perturbaciones disminuyen la resistencia de la película de líquido en la superficie de la membrana, favoreciendo la transferencia de etanol. Sin embargo este incremento está limitado porque las partículas se pueden depositar en la superficie de la membrana disminuyendo su área de contacto efectiva y por tanto la transferencia de masa puede disminuir incluso por debajo del alcanzado por una solución de etanol y agua [8].

3.6 Ensayos experimentales de las membranas empleadas

De acuerdo a lo presentado en la sección anterior es necesario estudiar el comportamiento de las membranas frente a condiciones típicas en los mostos de fermentación. Para ello las membranas son probadas en soluciones a diferentes concentraciones de glucosa y a varios pHs, con lo cual se desea definir la membrana que debido a su mejor desempeño puede ser empleada en el sistema híbrido de fermentación y pervaporación.

La membrana de PDMS-1 se probó a tres niveles de pH (4; 3,5 y 3) y cuatro concentraciones de glucosa (50, 100, 200 y 400 g/L). El pH se ajustó adicionando ácido acético. Para verificar si las propiedades de las membranas se veían modificadas en el transcurso de las pervaporaciones, se realizó una pervaporación con una solución patrón de etanol al 7% w/w a 35°C, en el intermedio de cada una de las pruebas. Obteniendo como resultado que para ningún ensayo las propiedades originales de la membrana se modificaron, es decir siempre retorna a las condiciones iniciales de flux ($1,5 \text{ kg/m}^2\cdot\text{h}$) y selectividad (5). Los resultados de estas pruebas se presentan en las Figura 3-2 y Figura 3-3. Donde el pH de 5,7 corresponde a la solución de etanol al 7% w/w sin adición de ácido (Solución patrón).

Figura 3-2. Resultados experimentales para la pervaporación a diferentes niveles de pH.**Figura 3-3.** Resultados experimentales para la pervaporación a diferentes concentraciones de glucosa.

De acuerdo a estos resultados es posible observar como la selectividad disminuye con el pH, mientras que el flux total aumenta. Esto es debido a que el flux de agua se ve favorecido a bajos pH, pero el de etanol se mantiene constante, como se observa en la gráfica derecha de la Figura 3-2. Lo cual puede ser debido a una interacción entre la membrana y los iones disociados del ácido, que aumentan su hidrofiliidad, como lo postula Chovau[12] para soluciones de ácidos carboxílicos, a niveles de pH por debajo de la constante de disociación, que para el caso del ácido acético corresponde a un pH de 4.7. Este valor se encuentra por encima de los niveles de pH empleados en el presente estudio, consecuentemente la presencia de iones es mayor, por tanto favorece la hidrofiliidad de la membrana. No obstante al realizar una pervaporación con la solución patrón la membrana retorna a sus propiedades originales mostrando que la interacción entre el ácido y la membrana es reversible.

Por otro lado para concentraciones de glucosa menores a 200 g/L la presencia de glucosa aumenta la selectividad, debido a un incremento en el flux de etanol y una reducción en el de agua. Este comportamiento se explica teniendo en cuenta las postulaciones de Chovau[12], según las cuales la glucosa presenta una preferencia para formar puentes de hidrogeno con el agua lo que ocasiona que la presión de vapor del agua disminuya mientras que la del etanol aumente, permitiendo así que el flux de etanol se favorezca y el del agua no. En el estudio relizado por Aroujalian[13], se muestra como efectivamente la presencia de azúcares reduce la presión de vapor del agua mientras que la del etanol aumenta, para bajas concentraciones de sacarosa como se presenta en la Tabla 3-2.

Tabla 3-2. Presión de vapor del agua y el etanol en soluciones de etanol al 38% en peso [13].

Concentración de Sacarosa (g/L)	Presión de vapor etanol (mbar)	Presión de vapor agua (mbar)
0	26,93	22,93
24,64	28,93	19,46

En la Figura 3-3 se observa como efectivamente el flux de agua disminuye a medida que se incrementa la concentración de glucosa. Sin embargo cuando la concentración de glucosa es muy alta como es el caso de 400 g/L, tanto el flux de agua como el de etanol y por tanto la selectividad se reducen. Esto puede ser debido a que las moléculas de glucosa se depositan sobre la membrana evitando el transporte tanto del etanol como del agua, lo cual es más evidente a altas concentraciones de azúcar. Esto puede ser debido a una polarización de la concentración que ocasiona que las moléculas de glucosa se depositan sobre la membrana evitando el transporte tanto del etanol como del agua, lo cual es más evidente a altas concentraciones de azúcar. En este caso la polarización de la concentración hace que la concentración de azúcar sobre la superficie de la membrana sea superior a la concentración de saturación del azúcar en la solución.

Posteriormente la membrana se pone en contacto con un mosto de fermentaciones de glucosa a 38,14 g/L en etanol y 150 g/L de glucosa, llevándose a cabo una pervaporación. Los resultados de esta pervaporación son presentados en la Figura 3-4. Donde es posible observar como la selectividad se reduce desde un valor de 2,9 hasta un valor de 0,6. Con lo cual la concentración de etanol permeado va disminuyendo con el tiempo, desde un valor de 105,7 g/L hasta 28,7 g/L. Indicando que evidentemente el mosto afecta las propiedades de la membrana haciéndola hidrofílica. Una posterior pervaporación realizada para la membrana a la solución patrón de etanol, muestra como las propiedades de la membrana se modificaron de manera permanente, puesto que su selectividad se vio reducida hasta un valor de 1,8 y su flux total aumento a un valor de 3 kg/m²*h. De acuerdo al estudio realizado por Fadeev[16], es posible restablecer la membrana a sus propiedades iniciales sumergiéndola en una solución de etanol al 95% en peso. En la Tabla 3-3 se presentan los resultados de flux y selectividad para estas

pruebas realizadas a la membrana de PDMS-1. Sin embargo la inmersión de la membrana en la solución de etanol no produjo los resultados esperados puesto que el flux y la selectividad para una pervaporación con la solución patrón de etanol a 7 % fueron de 4,64 y 1,29 respectivamente. Fadeev[16] y Lipnizki[10] proponen que las propiedades de las membranas se ven afectadas debido a la adsorción de las sales presentes en el mosto en la superficie e interior de la membrana. En el primer estudio se encuentra a partir de espectroscopia fotoelectrónica XPS que el NaCl está en la superficie de la membrana y penetra en su estructura en forma de iones. Los iones en solución acuosa forman hidratos que debido a su carácter hidrofílico pueden incrementar el flux de agua. Este efecto es conocido como "Saltingout" [10]. No obstante para la membrana de PDMS-1, el proceso de adsorción de las sales no es reversible sugiriendo que la interacción entre las sales y la membrana es mucho más fuerte.

Posteriormente se lleva a cabo una pervaporación de una membrana de PDMS de iguales características a la empleada en las pruebas anteriores, para una solución de nutrientes usados en la fermentación al 7% en peso de etanol en agua, con el objeto de comprobar si efectivamente las sales presentes en esta solución son los responsables del detrimento en el desempeño de la membrana. Las especificaciones de la solución son presentadas en la Tabla 3-4 y los resultados obtenidos para la pervaporación se enseñan en la Tabla 3-3, mostrando que efectivamente las propiedades de la membrana se ven modificadas permanentemente puesto que para la pervaporación de la solución patrón después de esta prueba el flux y la selectividad disminuyen. Estos resultados parecen indicar que las sales presentes en el mosto son responsables de la pérdida de selectividad de la membrana, no obstante la selectividad se reduce mas en presencia de mosto lo que indica que aunque los nutrientes afectan la membrana de PDMS-1, no son las responsables del total cambio de propiedades de la misma.

Figura 3-4. Resultados de la pervaporación de mosto de fermentaciones de glucosa. Membrana PDMS1.

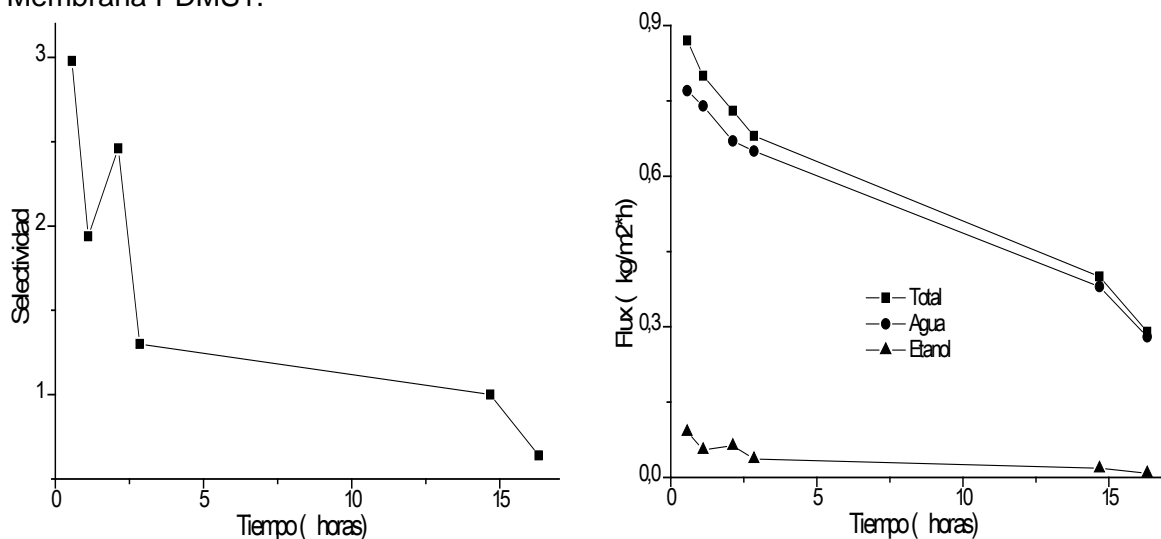


Tabla 3-3. Flux y Selectividad para las diferentes pruebas de la membrana de PDMS-1.

Prueba	Flux (kg/m²*h)	Selectividad
Solución Patrón (7% Etanol)	1,586	4,62
Solución nutrientes	0,78	2
Solución patrón después de Pervaporación de nutrientes	1	3,6
Mosto fermentación glucosa	0,293	0,641
Solución patrón después de Pervaporación del mosto	3	1,8
Solución patrón después de fermentación e inmersión en solución al 95% en etanol	4,64	1,29

Tabla 3-4. Especificaciones de la solución de nutrientes.

Componente	Masa (g)/1L agua
NH ₄ Cl	2,7
K ₂ HPO ₄	6,1
MgSO ₄	0,27
NaCl	1,1
CaCl ₂	0,013
Acido Cítrico	3,3
Glucosa	160
Etanol	70

De acuerdo a estos resultados se prepara una membrana con 6 capas de PDMS al doble de espesor de la de PDMS-1. Buscando reducir el deterioro de la membrana. Esta se denomina PDMS-2.

La membrana PDMS-2 se prueba en una solución de fermentación de hidrolizados de bagazo de caña panelera. Los resultados para esta pervaporación son presentados en la Figura 3-5 y los resultados obtenidos con la solución patrón después de este ensayo son presentados en la Figura 3-6. Los resultados para las pruebas realizadas a esta membrana se presentan en la Tabla 3-5.

Figura 3-5. Resultados de la pervaporación de mosto de fermentaciones de hidrolizados de bagazo de caña panelera. Membrana PDMS-2.

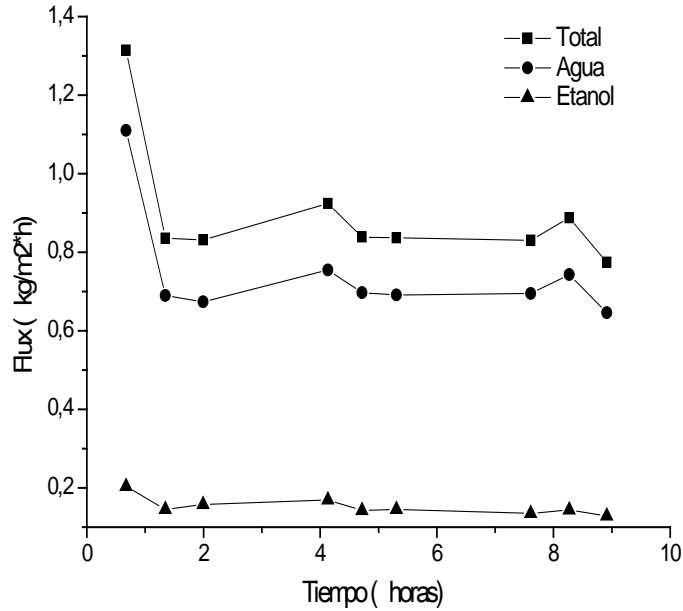


Figura 3-6. Pervaporación de la membrana con la solución patrón después de la pervaporación al mosto de fermentación de hidrolizados.

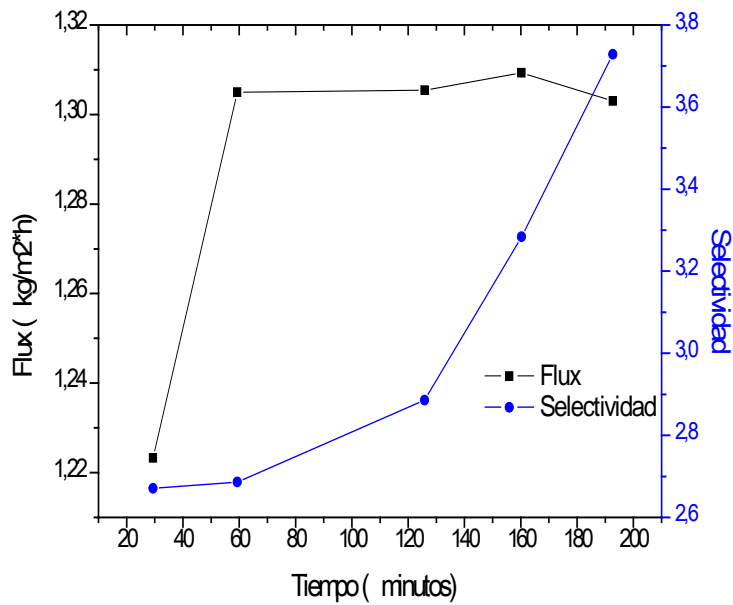


Tabla 3-5. Flux y Selectividad para las diferentes pruebas de la membrana de PDMS-2.

Prueba	Flux (kg/m ² *h)
Solución Patrón	1,41
Mosto fermentación hidrolizados	0,77
Solución patrón después de Pervaporación del mosto	1,3

De acuerdo a los resultados presentados en la Figura 3-5, se observa como el flux se mantiene aproximadamente constante, sugiriendo que la membrana no presenta un deterioro durante la pervaporación con el mosto. No obstante si se observan los resultados de la Tabla 3-5, tanto la selectividad como el flux se reducen para esta pervaporación en comparación con los valores iniciales para la solución patrón, presentados en esta misma tabla. Además no retorna a estas condiciones, pues para una posterior pervaporación a la solución patrón el flux y la selectividad se ven reducidos. Sin embargo el desempeño de la membrana frente a la remoción de etanol es satisfactorio, ya que permite la remoción de este compuesto y es estable en el transcurso de la pervaporación. Esta disminución en la selectividad y el flux puede ser debido a la deposición de las células o moléculas de glucosa en la superficie de la membrana como lo postula Wu[8] y Chovau[12]. Sin embargo la membrana no retorna a sus condiciones iniciales, sugiriendo que al igual que la membrana PDMS-1 ha sufrido un cambio. No es muy claro el tipo de interacción entre el mosto y las membranas, porque aunque es evidente, de la prueba con los nutrientes de fermentación, que estos generan un desgaste en la membrana, si estos se depositaran en la superficie de la membrana se esperaría que al introducir la membrana en agua estas sales se diluyeran y la membrana retornara a sus condiciones iniciales.

3.7 Conclusiones

Se ajustó un modelo empleando el modelo de transporte de Maxwell-Stefan y una ecuación de solubilidad del tipo Henry. Para este modelo los errores encontrados son todos menores al 2%.

Para la membrana de PDMS-1 empleada en este estudio se encuentra que la presencia de ácido acético aumenta el flux de agua disminuyendo la selectividad. La presencia de glucosa para concentraciones inferiores a 200 g/L aumenta la selectividad y para concentraciones de 400 g/L se reduce tanto el flux como la selectividad, por una posible deposición de la glucosa en la superficie de la membrana. Pero este cambio no es permanente, pues para pervaporaciones posteriores con la solución patrón la membrana retorna a sus condiciones iniciales. No obstante las propiedades de la membrana se ven modificadas de forma definitiva al ser empleada en mostos o solución de nutrientes para la fermentación. Posiblemente por un efecto de 'saltingout', el cual consiste en

deposición de los iones de las sales en la superficie de la membrana e incluso la introducción de estos en su estructura, favoreciendo el flux de agua, debido al carácter hidrofílico de los iones.

Sin embargo si se incrementa el número de capas hasta 6 y se usa el doble de espesor para cada capa en la membrana, es posible realizar la pervaporación en mostos de fermentación de hidrolizados con una selectividad y un flux aproximadamente constantes durante el proceso de pervaporación.

3.8 Bibliografía

- [1] A. Aroujalian and A. Raisi, "Pervaporation as a means of recovering ethanol from lignocellulosic bioconversions," *Desalination*, vol. 247, Oct. 2009, pp. 509-517.
- [2] C.E. Wright, J.D. Wyman, "saccharification and fermentation of lignocellulose: process evaluation.," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 18, 1988.
- [3] F. Xiangli, W. Wei, Y. Chen, W. Jin, and N. Xu, "Optimization of preparation conditions for polydimethylsiloxane (PDMS)/ceramic composite pervaporation membranes using response surface methodology," *Journal of Membrane Science*, vol. 311, Mar. 2008, pp. 23-33.
- [4] A.W. Verkerk, P.V. Male, M.A.G. Vorstman, and J.T.F. Keurentjes, "Description of dehydration performance of amorphous silica pervaporation membranes," *Journal of Membrane Science*, vol. 193, 2001, pp. 227-238.
- [5] M.A. Noriega, "Remoción de etanol en sistemas de fermentación alcohólica mediante pervaporación," *Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia. Manizales*, 2010.
- [6] J. Tenelshof, C. Abadal, J. Sekuli, S. Chowdhury, and D. Blank, "Transport mechanisms of water and organic solvents through microporous silica in the pervaporation of binary liquids," *Microporous and Mesoporous Materials*, vol. 65, Nov. 2003, pp. 197-208.
- [7] Peters T.A.; Fontalvo J.; Vorstman M.A.G., "Design directions for composite catalytic hollow fibre membranes for condensation reactions.," *Chemical Engineering Research and Design*, vol. 82, 2004, pp. 220-228.
- [8] Y. Wu, Z. Xiao, W. Huang, and Y. Zhong, "Mass transfer in pervaporation of active fermentation broth with a composite PDMS membrane," *Separation and Purification Technology*, vol. 42, Mar. 2005, pp. 47-53.
- [9] T. Ikegami, H. Yanagishita, D. Kitamoto, H. Negishi, K. Haraya, and T. Sano, "Concentration of fermented ethanol by pervaporation using silicalite membranes coated with silicone rubber1," *Desalination*, vol. 149, Sep. 2002, pp. 49-54.
- [10] F. Lipnizki, S. Hausmanns, and R.W. Field, "Influence of impermeable components on the permeation of aqueous 1-propanol mixtures in hydrophobic pervaporation," *Journal of Membrane Science*, vol. 228, Jan. 2004, pp. 129-138.
- [11] M. Nomura, T. Bin, and S.-ichiNakao, "Selective ethanol extraction from fermentation broth using a silicalite membrane," *Separation and Purification Technology*, vol. 27, Apr. 2002, pp. 59-66.

-
- [12] S. Chovau, S. Gaykawad, a J.J. Straathof, and B. Van der Bruggen, "Influence of fermentation by-products on the purification of ethanol from water using pervaporation.," *Bioresource technology*, Sep. 2010.
- [13] A. Aroujalian, K. Belkacemi, S. Davids, G. Turcotte, and Y. Pouliot, "Effect of residual sugars in fermentation broth on pervaporation flux and selectivity for ethanol," *Desalination*, vol. 193, May. 2006, pp. 103-108.
- [14] H. Ikegami, T., Kitamoto, D., Negishi, H., Haraya, K., Matsuda, H., Nitnai, Y., Koura, N., Sano, T., Yanagishita, "Drastic improvement of bioethanol recovery using a pervaporation separation technique employing a silicone rubber-coated silicalite membrane," *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 78, 2003, pp. 1006-1010.
- [15] T. Bowen, R. Meier, and L. Vane, "Stability of MFI zeolite-filled PDMS membranes during pervaporative ethanol recovery from aqueous mixtures containing acetic acid," *Journal of Membrane Science*, vol. 298, Jul. 2007, pp. 117-125.
- [16] A.G. Fadeev, S.S. Kelley, J.D. McMillan, Y.A. Selinskaya, V.S. Khotimsky, and V.V. Volkov, "Effect of yeast fermentation by-products on poly [1- (trimethylsilyl) -1-propyne] pervaporative performance," *Science*, vol. 214, 2003, pp. 229-238.

4. Fermentaciones

4.1 Introducción

Con la hidrólisis de material lignocelulósico se obtiene una mezcla de hexosas y pentosas que incluye glucosa, galactosa, xilosa, arabinosa y manosa [1]. Estos azúcares representan el sustrato para la producción de etanol a partir de material lignocelulósico. Para llevar a cabo la fermentación del material lignocelulósico se debe tener en cuenta que después de la etapa de hidrólisis se obtienen dos fracciones, una correspondiente a las hexosas y la otra a las pentosas [2]. Una producción económicamente más viable a partir de estos materiales, requiere el uso simultáneo de todos los azúcares producidos, por tanto, se requieren microorganismos que puedan consumir hexosas y pentosas simultáneamente o capaces de emplear pentosas efectivamente [1]. La fermentación de las pentosas es generalmente más lenta que la de la glucosa, por ende una levadura que pueda emplear xilosa tan eficientemente como glucosa es muy deseable. Se deben resolver varios problemas antes del desarrollo de un sistema eficiente de fermentación de los hidrolizados, uno entre ellos la baja productividad de etanol de los microorganismos que fermentan xilosa [3].

A pesar de muchos intentos de la ingeniería genética para producir organismos capaces de emplear tanto hexosas como pentosas, uno de los azúcares es preferido resultando en una represión catabólica, como para el caso de la *Pichiastipitis* que puede fermentar pentosas naturalmente a etanol, pero la hexosa se emplea de manera preferencial, por tanto la fermentación de pentosas es completamente inhibida por las hexosas. Entonces la fermentación de pentosas solo es posible a bajas concentraciones de glucosa [4]. Este asincrónico consumo de azúcar requiere largos tiempos de fermentación, para alcanzar la conversión de todos los azúcares. Además de otros inconvenientes, como por ejemplo para el caso de la *Saccharomyces Cerevisiae* genéticamente modificada para fermentar pentosas, se produce una alta cantidad de productos indeseados como xilitol y arabinotol, debido a la limitada actividad enzimática en la ruta metabólica de la pentosa [1]. Por esta razón se prefiere emplear dos microorganismos diferentes (Co-cultivo) que solo uno [1]. Además los microorganismos capaces de fermentar pentosas tienen una resistencia baja a los inhibidores presentes en los hidrolizados [5]. La *S. Cerevisiae* está bien adaptada para los procesos industriales, debido a su tolerancia a un amplio espectro de contaminantes [5], sin embargo no puede fermentar pentosas, porque carece de la xilosa isomerasa. Por tanto se propone la adición de esta enzima, para la isomerización de la xilosa a xilulosa y la fermentación de la xilulosa hasta etanol empleando levadura. Pero el equilibrio de esta isomerización no es favorable debido a que por cada molécula de xilulosa hay seis de xilosa [5].

La hidrólisis ácida del material lignocelulósico produce varios tipos de inhibidores para la fermentación. Métodos químicos de destoxificación como *overliming*, adsorción de intercambio iónico, adición de carbón activado, extracción de solventes o evaporación pueden mejorar la capacidad de los hidrolizados ácidos para fermentarse, pero estos pasos son costosos y pueden resultar en pérdidas de azúcar [4].

Los inhibidores como el furfural y el hidroximetilfurfural (HMF), son generados durante el pretratamiento y la hidrólisis ácida, como producto de la degradación de las pentosas y la hexosas, ocasionando daños en los microorganismos por reducción de sus actividades biológicas y enzimáticas, rompiendo el ADN, inhibiendo las proteínas y la síntesis de ARN [6]. La adaptación de la *Saccharomyces* con los inhibidores de los hidrolizados es una de las posibles estrategias para tratar con los problemas de inhibición [6].

En el estudio realizado por Tian[6] se prepara el inóculo de la *Saccharomyces* a 30°C. Hasta que se alcance la fase de crecimiento exponencial, entonces los microorganismos son transferidos a un medio fresco de adaptación con una concentración más alta de hidrolizados. La concentración se incrementa gradualmente a 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100%. La presencia de Furfural e HMF afecta principalmente la fase de latencia. Para 1 g/L de estos inhibidores el crecimiento no se ve afectado. Para 4 g/L la levadura adaptada crece con una fase estacionaria de 24 y 12 h para el furfural y el HMF, respectivamente [6].

Las condiciones de fermentación para un sistema de co-cultivo dependen principalmente de los microorganismos seleccionados. Cada par de microorganismos tiene sus valores óptimos de temperatura, pH, ambiente aerobio o anaerobio y tamaño del inóculo [7]. Para la co-fermentación de glucosa y xilosa, tanto la concentración inicial de estos azúcares como la relación entre ambas juegan un papel importante y afectan el desempeño de la fermentación [1]. Se debe considerar que las levaduras capaces de fermentar la xilosa como la *PichiaStipitis*, *Pachysolentannophilus* y *Candidashehatae* requieren regulación precisa de la oxigenación para una máxima producción de etanol [8] y la *Saccharomyces* es anaerobia para producir etanol.

Los microorganismos más empleados para las fermentaciones son la *E. Coli*, *Zymomonasmobilis*, *S. Cerevisiae* y *Pichiastipitis*. Estos microorganismos tienen características naturales diferentes que pueden ser convenientes o no en el proceso de producción de etanol [9]. En la Tabla 4-1 se presentan las principales características de estos microorganismos.

En este capítulo se desea a partir de experimentación definir las condiciones adecuadas a las cuales es posible realizar las fermentaciones, tanto de glucosa como de hidrolizados de bagazo de caña panelera. Ajustando los datos experimentales al modelo cinético propuesto por Ramos de Andrade [10]. Estos experimentos son de gran relevancia puesto que del ajuste realizado depende la posterior simulación del sistema

hibrido de fermentación y pervaporación. Permitiendo definir condiciones de operación tales como el área de la membrana necesaria y el volumen del reactor.

Tabla 4-1. Características de los microorganismos más empleados para la producción de etanol a partir de material lignocelulósico[9].

Características	Microorganismo			
	<i>E. Coli</i>	<i>Z. mobilis</i>	<i>S. Cerevisiae</i>	<i>P. stipitis</i>
Uso de D-Glucosa	+	+	+	+
Uso de otras hexosas	+	-	+	+
Uso de pentosas	+	-	-	+
Uso directo de hemicelulosa	-	-	-	D
Fermentación anaeróbica	+	+	+	-
Alta productividad de etanol (a partir de glucosa)	-	+	+	D
Tolerancia al etanol	D	D	+	D
Tolerancia a los inhibidores	D	D	+	D
Osmotolerancia	-	-	+	D
GRAS	-	+	+	+

+Positivo, - Negativo, D Debil.

4.2 Hidrolizados

Los hidrolizados del bagazo de caña panelera se realizaron a las condiciones presentadas en la Tabla 4-2.

Tabla 4-2. Condiciones de la hidrólisis ácida.

% V/V H ₂ SO ₄	Relación sólidos a solución	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Tamaño de partícula
10	1/10	121	60	Tamiz - 20/+80

Para los hidrolizados de hidrólisis ácida diluida, las concentraciones de glucosa son generalmente de 30 g/L y de xilosa 15g/L [8]. Por lo cual es necesario realizar una evaporación al vacío para concentrar los azúcares, con la consecuente adición de costos [4]. Para el presente estudio después de la hidrólisis se obtienen las concentraciones que se presentan en la Tabla 4-3.

Tabla 4-3. Concentraciones obtenidas en la hidrólisis ácida en g/L.

Glucosa	Xilosa	Arabinosa	Acido Fórmico	Acido acético	Acidolevulinico	Etanol	HMF	Furfural
11,173	23,472	0	2,545	3,359	1,435	0	0,763	2,322

Con el objetivo de realizar las fermentaciones y teniendo presente que la etapa de hidrólisis no es propósito de este trabajo, se adiciona glucosa a los hidrolizados hasta una concentración de 200 g/L. como lo presenta O'Brien [11].

4.3 Modelo Cinético

Para el ajuste de los datos experimentales con lo cual se pretende simular el sistema híbrido de fermentación y pervaporación se emplea la cinética propuesta por Ramos de Andrade [10], considerando la inhibición por producto y sustrato. Este modelo cinético es presentado en las ecuaciones 4-1 a 4-6.

$$\frac{dX}{dt} = r_X \quad 4-1$$

$$\frac{dS}{dt} = -r_s \quad 4-2$$

$$\frac{dP}{dt} = r_p \quad 4-3$$

$$r_X = \mu'_{\max} * \frac{S}{K_s + S} * \exp(-k_i * S) * \left(1 - \frac{P}{P'_{\max}}\right)^n * X \quad 4-4$$

$$r_p = Y_{pX} * r_X + m_p * X \quad 4-5$$

$$r_S = \frac{r_X}{Y_X} + m_X * X \quad 4-6$$

Se ajustan cuatro parámetros, los cuales son dependientes de la temperatura (μ'_{\max} , P'_{\max} , Y_{PX} y Y_X) para las fermentaciones con soluciones de glucosa y los hidrolizados de bagazo de caña panelera. Los demás parámetros se toman constantes del estudio realizado por Ramos de Andrade [10] para fermentaciones de soluciones de glucosa. Estos valores se toman también constantes para las fermentaciones de hidrolizados puesto que, aunque los hidrolizados tienen otros componentes su concentración es muy baja (menores a 20 g/L) y el único azúcar que se transforma a etanol es la glucosa. Estos valores son presentados en la Tabla 4-4.

Tabla 4-4. Valores de la cinética tomados del estudio realizado por Ramos de Andrade [10].

Parámetro	m_X	m_P	k_S	k_i
Valor	0,2	0,1	4,1	0,004

El ajuste de los parámetros, se realizó a partir de los resultados experimentales de las fermentaciones, para la concentración de etanol y glucosa en función del tiempo. Realizando un ajuste de mínimos cuadrados empleando la función "lsqcurvefit" del software MATLAB R2008a.

4.4 Fermentación

Se realizaron fermentaciones para soluciones de glucosa y de hidrolizados de bagazo de caña panelera con lo cual se desea comparar el desempeño de ambos sistemas. Las fermentaciones se realizaron empleando *Saccharomyces Cerevisiae*, debido a su mayor resistencia a los inhibidores. Las condiciones de la fermentación son 30°C, para una concentración inicial de glucosa de 200g/L. Los nutrientes empleados y sus concentraciones son iguales a los presentados en la Tabla 3-4.

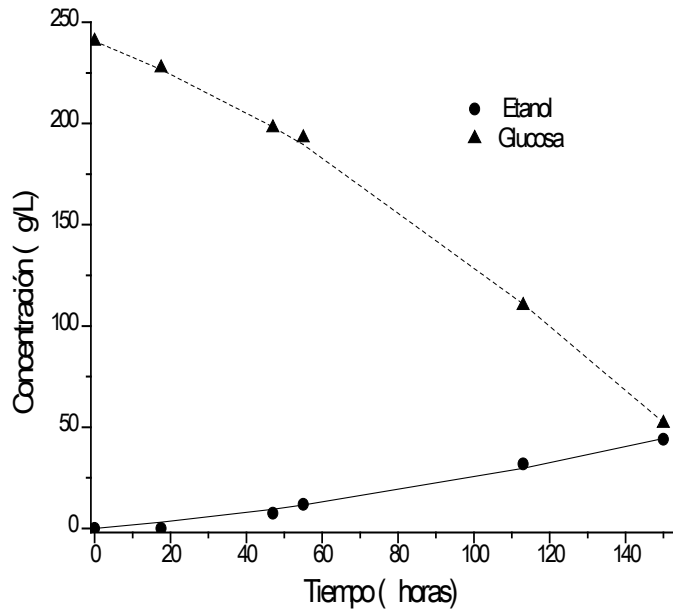
4.4.1 Fermentación de Soluciones de Glucosa

Para este ensayo se usó una concentración inicial de biomasa seca de 1 g/L. A partir de los resultados del experimento se ajustan los parámetros de la cinética de fermentación propuesta anteriormente. Encontrando los resultados que se presentan en la Tabla 4-5.

Tabla 4-5. Parámetros ajustados para la fermentación de glucosa.

Parámetro	μ'_{\max}	P'_{\max}	Y_{PX}	Y_X
Valor	0,1	80,35	0,0155	25,992

En la Figura 4-1 se muestran los resultados de los experimentos y los obtenidos a partir de los parámetros ajustados. Para el etanol el error obtenido es menor al 7% y para la glucosa menor al 5%.

Figura 4-1. Concentraciones de etanol y glucosa para las fermentaciones de soluciones de glucosa.

• Valores experimentales, — Valores ajustados.

4.4.2 Fermentación de Soluciones de Hidrolizados

Teniendo en cuenta que los hidrolizados son mezclas de muchos componentes se desea determinar si es necesario la adición de nutrientes para un buen desempeño de la fermentación, ya que los nutrientes ocasionan un deterioro en la membrana como se presentó en el capítulo anterior. Por tanto se realizan ensayos para hidrolizados con y sin nutrientes, cada uno para altas y bajas concentraciones de biomasa, con lo que se desea comprobar si altas concentraciones de biomasa reducen los problemas de inhibición e incrementan la velocidad de producción. Las concentraciones de biomasa empleadas

fueron de 1g/L y 4 g/L. En la Figura 4-2 se presenta el desempeño de la fermentación de hidrolizados para los experimentos planteados y en la Tabla 4-6 se presentan las velocidades de producción y la productividad alcanzadas en la etapa de crecimiento exponencial.

Figura 4-2. Fermentación de hidrolizados de bagazo de caña panelera. CN: Con nutrientes, SN: Sin nutrientes; 1B:1g/L; 4B:4 g/L.

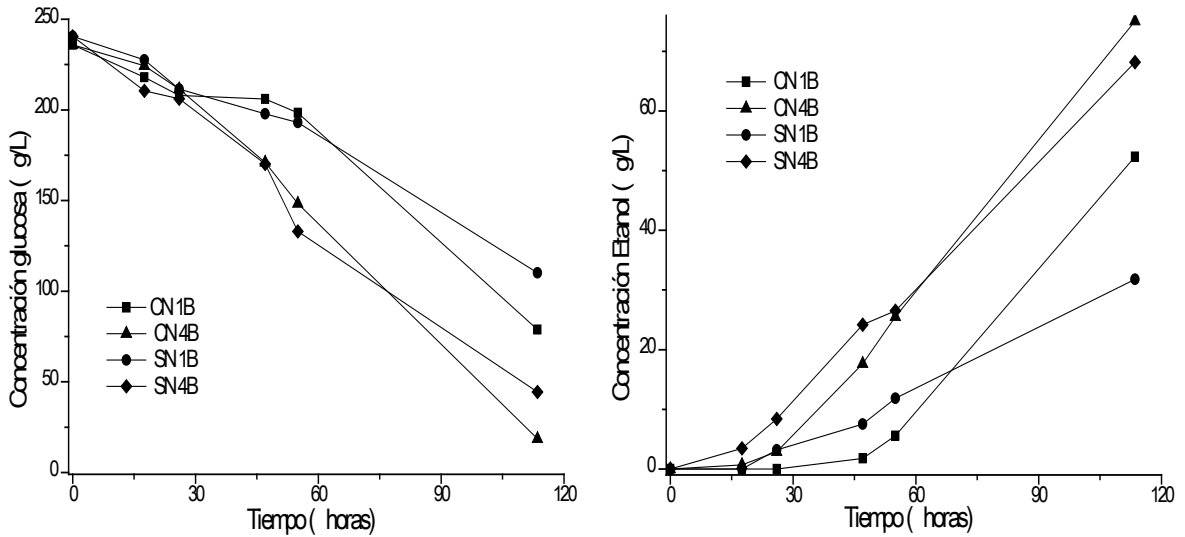


Tabla 4-6. Velocidades de producción, productividades y conversión de glucosa para las fermentaciones de hidrolizados de bagazo de caña panelera.

Especificaciones		Productividad (g/h*L)	Rendimiento g Etanol/g Glucosa	Conversión
Nutrientes	Biomasa (g/L)			
Con nutrientes	1	9,992	0,3329	0,66
Con nutrientes	4	10,577	0,3453	0,92
Sin nutrientes	1	4,255	0,243	0,54
Sin nutrientes	4	8,902	0,327	0,81

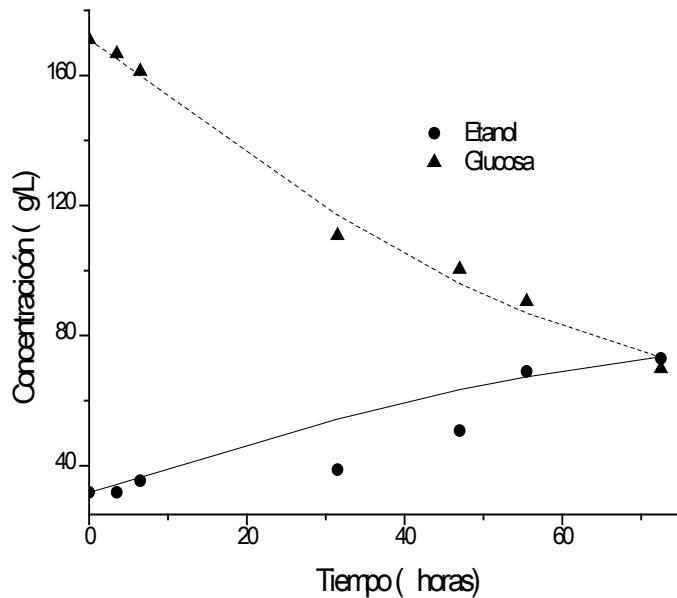
De acuerdo a estos resultados se observa como la mayor productividad, el mayor rendimiento y la mayor conversión de glucosa, corresponden al experimento en presencia de nutrientes con cuatro veces la concentración de biomasa a la empleada en

las fermentaciones de glucosa. Además en la gráfica derecha de la Figura 4-2 se observa como la fase de latencia para los experimentos con concentraciones bajas de biomasa es mayor, y la cantidad de etanol producido es menor. A partir de estos resultados se emplean los valores obtenidos en la fermentación con presencia de nutrientes y altas concentraciones de biomasa para ajustar los parámetros cinéticos de las ecuaciones 4-4 a 4-6. Los resultados de los parámetros ajustados se presentan en la Tabla 4-7 y en la Figura 4-3 se presenta una comparación entre los valores ajustados y los experimentales.

Tabla 4-7. Parámetros ajustados para la fermentación de hidrolizos de bagazo de caña panelera.

Parámetro	μ'_{\max}	P'_{\max}	Y_{PX}	Y_X
Valor	0,02174	79,9	0,0149	8,21

Figura 4-3. Concentraciones de etanol y glucosa para las fermentaciones de hidrolizados.



• Valores experimentales, — Valores ajustados.

En la Figura 4-3 se muestran los resultados de los experimentos y los obtenidos a partir de los parámetros ajustados para las fermentaciones de hidrolizados de bagazo de caña panelera. Para el etanol el error obtenido es menor al 6% y para la glucosa menor al 2%.

Para las posteriores simulaciones del sistema híbrido presentadas en el siguiente capítulo se encuentra que empleando las constantes ajustadas para la cinética y el modelo de la membrana obtenido en el capítulo 3 el error es de aproximadamente un 7%.

De acuerdo a los resultados de los parámetros ajustados en las Tabla 4-5 y Tabla 4-7, se observa como el valor encontrado para la velocidad específica de crecimiento máxima (μ'_{\max}) es mayor para las fermentaciones de glucosa, indicando que el crecimiento de biomasa es menor para fermentaciones de hidrolizados, posiblemente por la presencia de inhibidores. De igual modo el valor obtenido para el rendimiento del producto basado en el crecimiento de las células (Y_{PX}) es mayor un 68% para las fermentaciones de glucosa, indicando que para este sistema es posible obtener una mayor cantidad de etanol a partir de un misma cantidad de biomasa que para los hidrolizados. El valor hallado del crecimiento celular límite (Y_X) es un 3,8 % mayor para fermentaciones de glucosa mostrando que para este caso es posible obtener mayor cantidad de biomasa a partir de la misma cantidad de biomasa inicial.

4.5 Conclusiones

La fermentación de hidrolizados de bagazo de caña panelera se ve favorecida a concentraciones iniciales de biomasa altas. Además la adición de nutrientes favorece la velocidad de producción hacia el etanol en un 18% en comparación con la fermentación de hidrolizados sin adición de nutrientes. Para los hidrolizados la velocidad de fermentación es lenta, presentando una fase de latencia de aproximadamente 20 horas. Los mejores resultados se obtuvieron para concentraciones de biomasa altas en presencia de nutrientes. Para este experimento se obtuvo una conversión de glucosa de 0,92 en un periodo de 5 días. Para los experimentos de fermentaciones de glucosa y de hidrolizados de bagazo de caña panelera fue posible realizar un ajuste con la cinética propuesta por Ramos de Andrade [10] encontrando errores menores al 7%.

4.6 Bibliografía

- [1] P. Unrean and F. Srienc, "Continuous production of ethanol from hexoses and pentoses using immobilized mixed cultures of *Escherichia coli* strains.," *Journal of biotechnology*, vol. 150, Oct. 2010, pp. 215-23.
- [2] A. Abbi, Monisha; Chandler Kuhad, Ramesh; Singh, "Bioconversion of Pentose Sugars to Ethanol by Free and Immobilized Cells of *Candida shehatae*(NCL-3501): Fermentation Behaviour," *Science*, vol. 31, 1996, pp. 555-560.
- [3] M. Taniguchi, Masayuki; Itaya, Takahiro; Tohma, Toshihiro; Fujii, "Ethanol Production from a Mixture of Glucose and Xylose by a Novel Co-Culture System with Two Fermentors and Two Microfiltration Modules," *Journal of Fermentation And Bioengineering*, vol. 84, 1997, pp. 59-64.
- [4] S. Brethauer and C.E. Wyman, "Review: Continuous hydrolysis and fermentation for cellulosic ethanol production.," *Bioresource technology*, vol. 101, Jul. 2010, pp. 4862-74.

- [5] D. Yuan, K. Rao, P. Relue, and S. Varanasi, "Fermentation of biomass sugars to ethanol using native industrial yeast strains.," *Bioresource technology*, vol. 102, Feb. 2011, pp. 3246-53.
- [6] S. Tian, J. Zhu, and X. Yang, "Evaluation of an adapted inhibitor-tolerant yeast strain for ethanol production from combined hydrolysate of softwood," *Applied Energy*, vol. 88, May. 2011, pp. 1792-1796.
- [7] Y. Chen, "Development and application of co-culture for ethanol production by co-fermentation of glucose and xylose: a systematic review.," *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, Nov. 2010.
- [8] N.Q. Meinander, I. Boels, and B. Hahn-h, "engineered *Saccharomyces cerevisiae* strains expressing XYL1 and," *Technology*, vol. 68, 1999, pp. 79-87.
- [9] F.M. Gírio, C. Fonseca, F. Carvalheiro, L.C. Duarte, S. Marques, and R. Bogel-Łukasik, "Hemicelluloses for fuel ethanol: A review.," *Bioresource technology*, vol. 101, Jul. 2010, pp. 4775-800.
- [10] R. Ramos de Andrade, Rafael; Ccopa Rivera, Elmer; Costa, Aline C; Atalata, Daniel il.P; MaugeriFilho, Francisco; MacielFilho, "Estimation of Temperature Dependent Parameters of a Batch Alcoholic Fermentation Process," *Applied Biochemistry an Biotechnology*, vol. 136, 2007, pp. 753-764.
- [11] D. O'Brien, G.E. Senske, M.J. Kurantz, and J.C. Craig, "Ethanol recovery from corn fiber hydrolysate fermentations by pervaporation," *Bioresource Technology*, vol. 92, Mar. 2004, pp. 15-19.

5. Sistema Híbrido

5.1 Introducción

La fermentación etanólica puede convertir la biomasa en una fuente de energía útil como etanol puro, no obstante la producción de etanol por un proceso convencional de fermentación en batch empleando levadura, seguido por destilación para recuperar el etanol, continúa siendo económicamente inviable comparado con los combustibles fósiles. Los costos inaceptables del etanol a partir de biomasa, se atribuyen a la inhibición de los microorganismos en la fermentación [1].

El etanol producido debe ser concentrado, debido a que la concentración requerida como combustible es de más del 99,5 % v [2]. La destilación convencional es el proceso de separación comúnmente usado para purificar etanol de los mostos de fermentación, pero tiene algunas desventajas, que incluyen la operación en batch del fermentador y bajos rendimientos. La corriente que resulta de la fermentación, es una mezcla de células, agua y etanol. En esta corriente la concentración de etanol a partir de material lignocelulósico es alrededor de 5% w [3] y los requerimientos energéticos aumentan exponencialmente cuando la concentración de etanol en la solución de alimentación cae por debajo de este nivel [4]. Se han propuesto algunos métodos alternativos como adsorción, extracción, pertracción y pervaporación [5], para realizar la separación del etanol producido. De las tecnologías propuestas para la separación, la pervaporación tiene varias ventajas, debido a la simplicidad de la operación, no se adicionan químicos extra, bajos requerimientos energéticos y bajos costos operacionales. Además la unidad de pervaporación acoplada con fermentación puede mejorar el desempeño de la fermentación. Si se tiene en cuenta que los microorganismos responsables de la fermentación se inhiben con la presencia de etanol, un dispositivo para la separación *in situ* de etanol, puede minimizar la inhibición por el etanol, incrementando parámetros como la productividad, el rendimiento y la conversión de sustrato, debido a la reducción en los compuestos inhibidores [5]. La pervaporación remueve selectivamente el etanol, manteniendo su concentración por debajo de los niveles inhibitorios y reduciendo los costos del etanol al reemplazar la primera columna de destilación [4] como lo presenta Noriega [6] es posible lograr una reducción energética de un 35% y cuadruplicar la productividad de etanol respecto a una fermentación convencional empleando un sistema de fermentación y pervaporación en oscilatorio. Las ventajas de la pervaporación en biotecnología comprende:

- Ahorro energético en la separación de metabolitos sin uso de aditivos.

- No degradación de componentes sensibles a la temperatura debido a temperaturas de operación moderadas.
- Evitar la inhibición por producto.

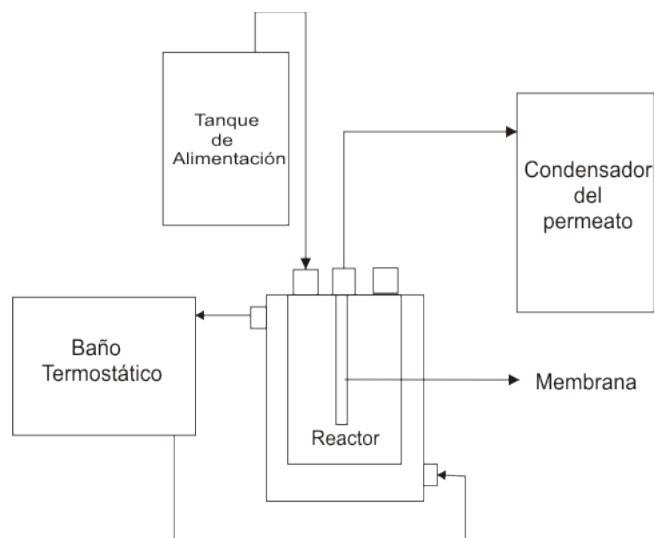
En el proceso convencional el primer paso para la separación es recuperar el etanol en una columna de destilación, donde la mayor parte del agua se queda con los sólidos. El producto (37% etanol) se concentra en una columna de rectificación, donde se obtiene etanol justo bajo el punto azeotrópico (95%). En Colombia la deshidratación final se realiza mediante la utilización de tamices moleculares mediante adsorción, aunque existen otras tecnologías como por ejemplo pervaporación [3].

A continuación se presenta el montaje experimental y las simulaciones realizadas para el sistema híbrido de fermentación de glucosa y de hidrolizados.

5.2 Sistema Híbrido Experimental

Los experimentos de fermentación acoplada con pervaporación, se realizan con remoción de etanol *in situ*, con la membrana en el interior del reactor donde ocurre la fermentación. El montaje (Figura 5-1) consiste de un reactor en el cual se mantiene la temperatura constante a 30°C a partir de un baño termostático. Constantemente se alimenta una solución de características similares a la solución inicial, pero sin biomasa y con una concentración de glucosa de 500 g/L, para mantener la concentración de sustrato en el interior del reactor aproximadamente constante. El área de membrana empleada es de 0,0015 m² para un volumen de reactor de 0,41 L.

Figura 5-1. Diagrama del montaje para el sistema híbrido.

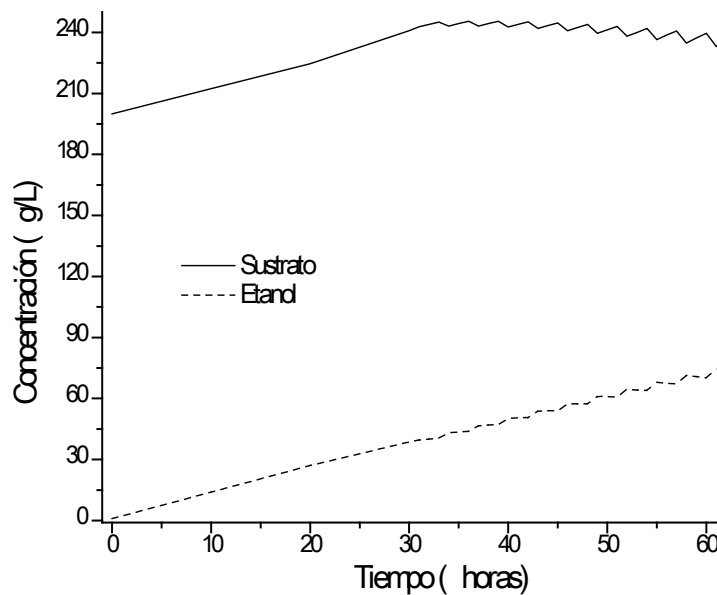


La pervaporación se inicia a la concentración a la cual la inhibición por producto empieza a ser apreciable. Se debe tener presente que si la concentración de etanol en el mosto es baja, la selectividad y flux para la membrana también lo será, con lo cual se incrementa el tiempo de pervaporación. Por tanto se realizan simulaciones que permiten definir las condiciones adecuadas tanto para la fermentación como para la pervaporación. Para realizar las simulaciones se emplea el modelo de la membrana obtenido en el capítulo 3 y la cinética del capítulo 4. Estas simulaciones se presentan a continuación para fermentaciones de soluciones de glucosa y de soluciones de hidrolizados.

5.2.1 Soluciones de Glucosa

La simulación de este sistema se realiza iniciando la pervaporación a una concentración de etanol de 40 g/L, obteniéndose los resultados presentados en la Figura 5-2.

Figura 5-2. Resultados para la simulación del sistema híbrido para fermentaciones de soluciones de glucosa iniciando la pervaporación a concentraciones de 40g/L en etanol.

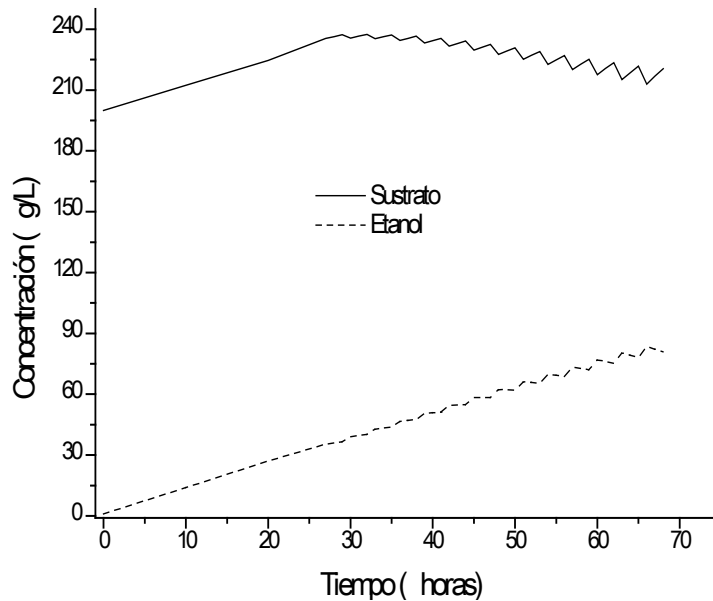


En la Figura 5-2, se observa como la concentración final de etanol, para 60 horas de operación es de 70 g/L, la cual es más alta que el valor esperado de 40 g/L, esto es debido a que la velocidad de generación es mayor que la de remoción, indicando que es necesario un área de membrana mayor o un volumen de reactor menor, para mantener la concentración de etanol a l interior del mosto constante a 40 g/L.

Teniendo en cuenta estos resultados se inicia el montaje experimental del sistema híbrido. De acuerdo a la simulación la pervaporación se inicia a las 28 horas de fermentación, sin embargo, a este tiempo la concentración de etanol en el mosto es solo de 27 g/L, por tanto se espera hasta que la concentración de etanol llegue hasta 35 g/L. A esta última concentración se inicia la pervaporación. De acuerdo a la simulación

(Figura 5-3) se espera que la concentración de etanol alcanzada para 65 horas de operación sea de 78 g/L.

Figura 5-3. Resultados para la simulación del sistema híbrido para fermentaciones de soluciones de glucosa iniciando la pervaporación a concentraciones de 35g/L en etanol.

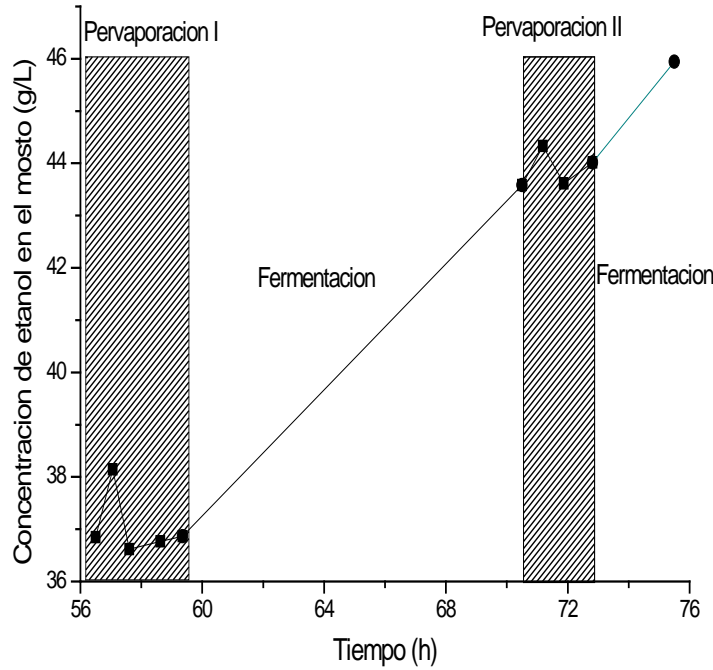


Para estos experimentos se emplea una membrana de PDMS, la cual está conformada por cuatro capas de PDMS, sobre un soporte de gamma alúmina (PDMS-1).

Durante la pervaporación se observa como la selectividad de la membrana se reduce con el tiempo (Figura 5-5), cayendo a un valor de 1,3 para este primer ciclo. Indicando que las propiedades de la membrana se han modificado. No obstante se realiza una segunda pervaporación a las 70 horas de operación para verificar si la selectividad de la membrana continua disminuyendo. La selectividad para este segundo ciclo cae a un valor de 0,6.

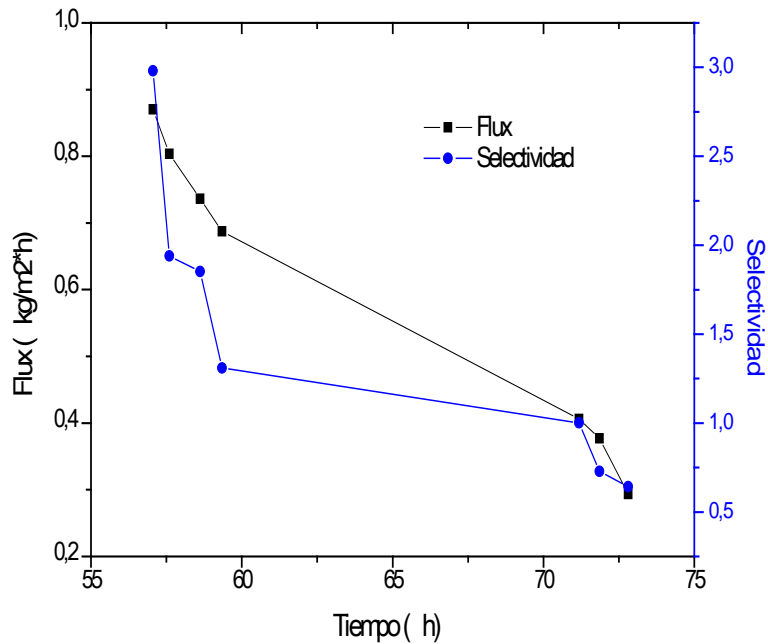
En la Figura 5-4, se presenta la concentración de etanol en el mosto durante todo el proceso. Observándose como la concentración final de etanol es menor a la esperada, pues para experimentos previos de fermentación la concentración a las 72 horas era de aproximadamente 80 g/L. Esta concentración más baja no se puede atribuir a la pervaporación, puesto que la cantidad de etanol removida es despreciable a causa del deterioro de la membrana. Esta reducción en la velocidad de producción se atribuye a estrés de los microorganismos presentados a la hora de realizar la alimentación, ya que para este experimento esta se realizó adicionando mayores cantidades aproximadamente cada hora. Por tanto para los experimentos posteriores la alimentación se realizó adicionando pequeñas cantidades durante todo el proceso.

Figura 5-4. Concentración de etanol en el mosto para las fermentaciones de glucosa.



En la Figura 5-5, se muestra el detrimento tanto del flux como de la selectividad en función del tiempo. De acuerdo a estos resultados se concluye que la membrana se ve fuertemente influenciada por el mosto, modificando su desempeño.

Figura 5-5. Selectividad y flux en función del tiempo para la pervaporación de mostos de glucosa.



5.2.2 Hidrolizados de Bagazo de Caña Panelera

Para estos experimentos y debido al deterioro de la membrana observado en el sistema híbrido de glucosa, se emplea una membrana de PDMS con 6 capas al doble de espesor de la membrana PDMS-1, con lo cual se reduce el deterioro de la membrana.

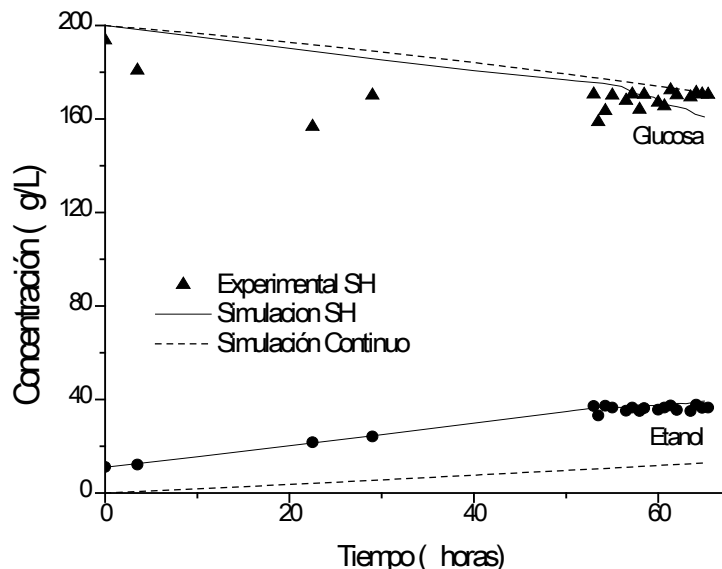
Se propone la realización de dos sistemas. El primero iniciando la pervaporación cuando la concentración de etanol en el mosto sea de aproximadamente 40 g/L y la segunda a una concentración de 60 g/L. A continuación se presentan las simulaciones y los resultados obtenidos para cada uno de los sistemas.

▪ Sistema Híbrido a concentraciones de etanol de 40 g/L

La simulación se realiza iniciando la pervaporación a una concentración de 37 g/L. Los resultados de esta simulación son presentados en la Figura 5-6, donde también se presentan los resultados experimentales. De acuerdo a la simulación la primera pervaporación se empieza a las 54 horas de iniciada la fermentación y la concentración de etanol alcanzada es de 39 g/L.

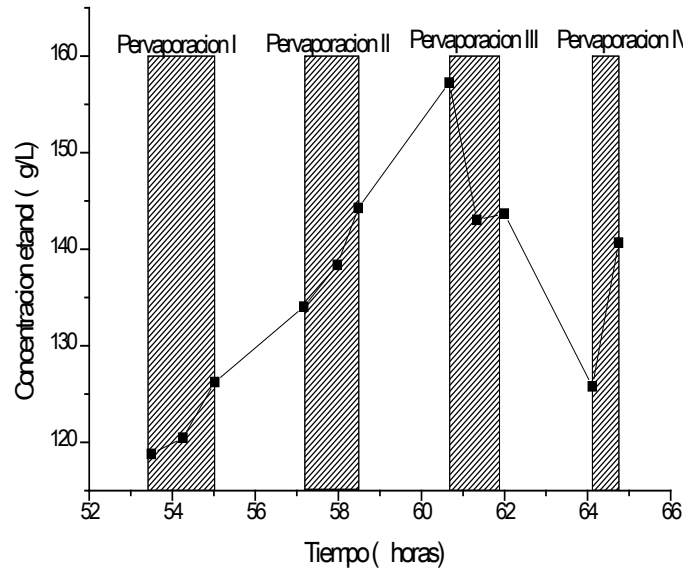
Para el experimento la pervaporación se empieza a las 53 horas de iniciada la fermentación a una concentración de etanol de 37 g/L. Después de la pervaporación la concentración de etanol alcanzada en el mosto es de 37,78 g/L. Los resultados presentados en la Figura 5-6 permiten establecer como la simulación ofrece una buena aproximación a los resultados experimentales presentando un error de aproximadamente un 7%.

Figura 5-6. Resultados para el sistema híbrido para fermentaciones de hidrolizados para bajas concentraciones de etanol en el mosto.



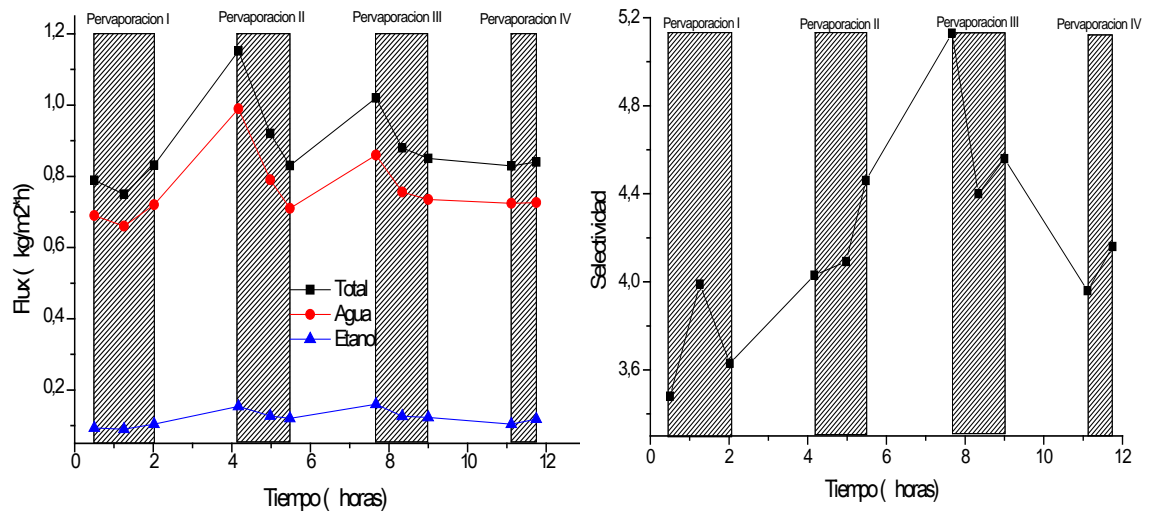
En la Figura 5-7 se presentan las concentraciones en el permeato obtenidas durante el experimento, presentando una tendencia a estabilizarse a medida que transcurren los ciclos de pervaporación.

Figura 5-7. Resultados experimentales de la concentración de etanol en el permeato. Sistema híbrido para fermentaciones de hidrolizados con concentraciones de etanol en el mosto de 40 g/L.



En la Figura 5-8 se presenta el desempeño de la pervaporación, para la cual los fluxes son aproximadamente constantes, permitiendo así la estabilidad del sistema, sin fluctuaciones en las concentraciones de etanol en el mosto.

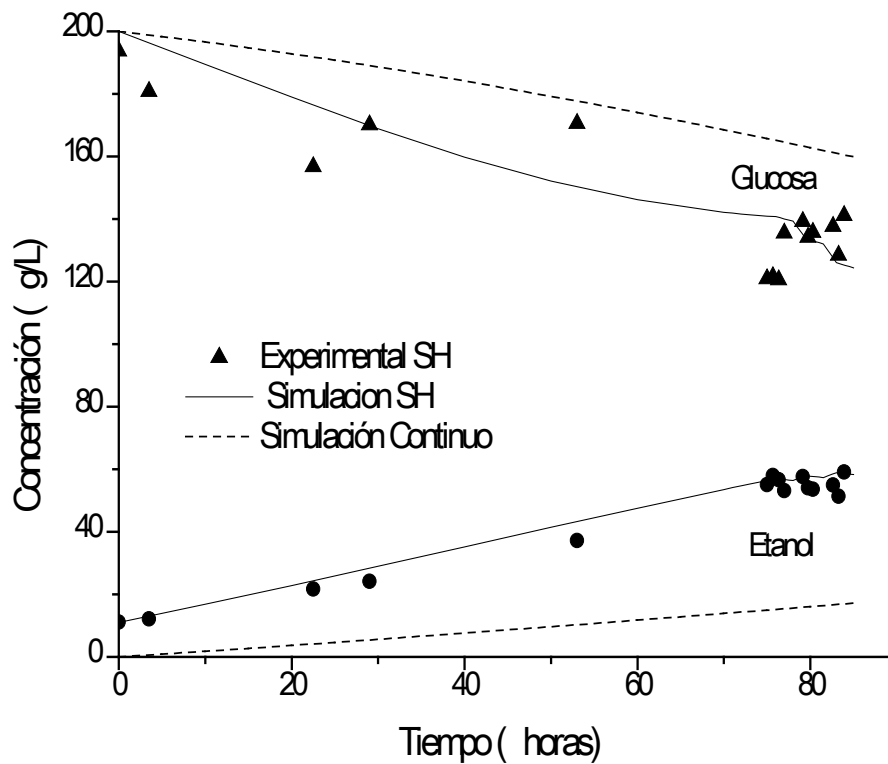
Figura 5-8. Desempeño de la pervaporación para concentraciones de etanol de 40 g/L.



▪ Sistema Híbrido a concentraciones de etanol de 60 g/L

La simulación se realiza iniciando la pervaporación a una concentración de 60 g/L. Los resultados de esta simulación son presentados en la Figura 5-9 al igual que los valores experimentales para este sistema. De acuerdo a la simulación la primera pervaporación se empieza a las 76 horas de iniciada la fermentación y la concentración de etanol alcanzada es de 58,29 g/L. Para este experimento el error es de aproximadamente un 10%.

Figura 5-9. Resultados para la simulación del sistema híbrido para fermentaciones de hidrolizados para concentraciones de etanol en el mosto de 60 g/L.



En la Figura 5-10 se presentan las concentraciones en el permeato obtenidas durante el experimento, observándose como estas tienden a estabilizarse al final del experimento y los resultados del desempeño de la pervaporación se presentan en la Figura 5-11.

Figura 5-10. Resultados experimentales de la concentración de etanol en el permeato. Sistema híbrido para fermentaciones de hidrolizados con concentraciones de 60 g/L de etanol en el mosto.

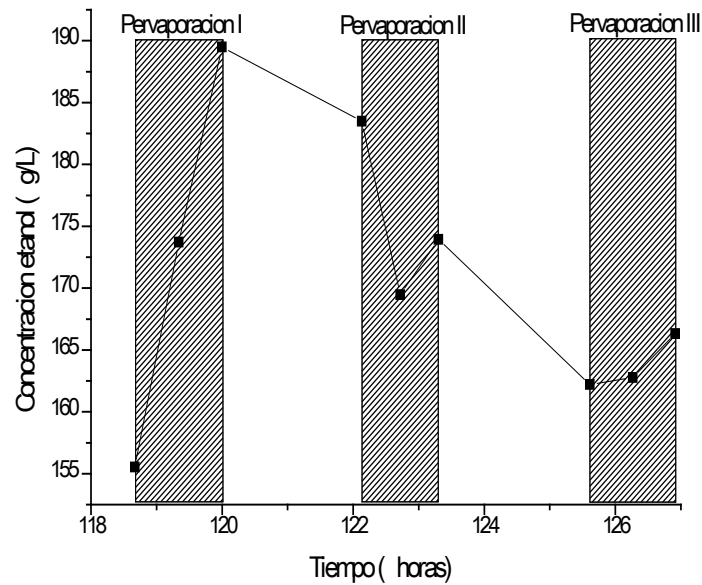
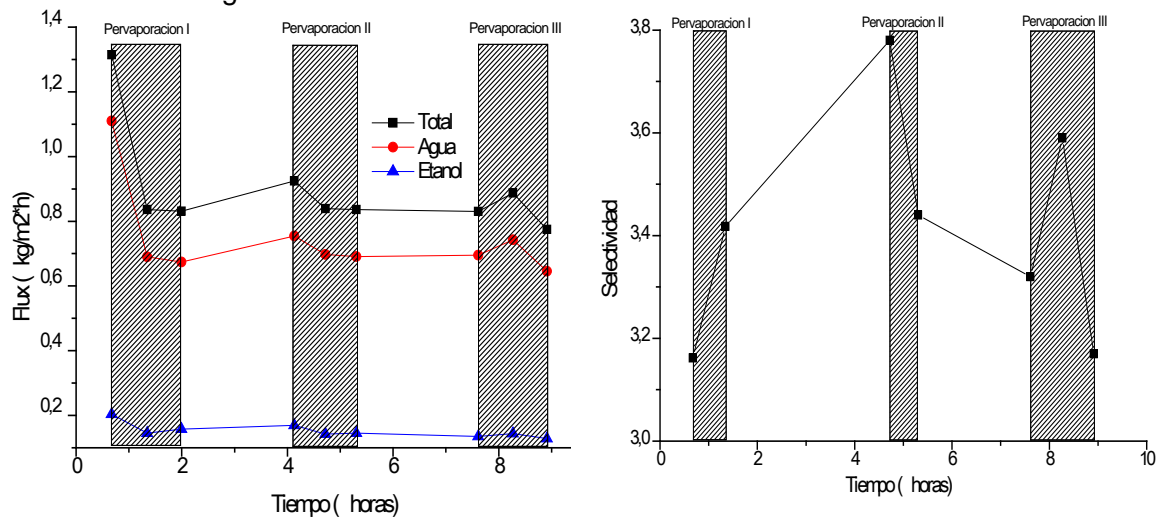


Figura 5-11. Desempeño de la pervaporación para concentraciones de etanol en el mosto de 60 g/L.



De acuerdo a los resultados experimentales, es posible mantener la concentración de etanol en el mosto constante y por debajo de niveles inhibitorios. La predicción de las simulaciones es muy acertada al comportamiento real del proceso con un error de aproximadamente un 10% para concentraciones de etanol de 40 y 60 g/L.

El desempeño de la pervaporación a concentraciones de etanol de 60 g/L al igual que para concentraciones de 40 g/L es bueno y estable en el transcurso del tiempo de la pervaporación. La cantidad de etanol removida por gramos de glucosa consumidos es de 0,26 y 0,25 gramos para bajas y altas concentraciones respectivamente, es decir la

diferencia entra ambos sistemas es de un 3,5 %. Sin embargo, las concentraciones de etanol permeado son más altas para el segundo sistema, 175 g/L para altas concentraciones en el mosto y 140 g/L para bajas. Es importante resaltar que estas concentraciones de producto son aproximadamente dos veces superiores a las concentraciones en los procesos de fermentación convencionales (80 g/L, aprox.) con lo cual serán marcadamente más bajos los consumos energéticos en su posterior purificación[6]. Por tanto se observa que es preferible iniciar los ciclos de pervaporación a concentraciones de etanol altas en el mosto. Evidentemente existirá una concentración óptima, no analizada en este estudio, en el cual los costos operativos del proceso son mínimos. A bajas concentraciones de etanol en el mosto se reduce la inhibición por producto, mejorando la producción, pero se reduce la concentración del etanol producido en el permeato; mientras a altas concentraciones se reduce la velocidad de producción de etanol pero se aumenta la concentración de éste en el permeato.

Para las fermentaciones convencionales en continuo a iguales condiciones que las presentadas para el sistema híbrido la productividad es de 0,67 g/L*h, mientras que para el sistema híbrido de hidrolizados de bagazo de caña panelera es de 1,1 g/L*h, es decir para el sistema híbrido la productividad se incrementa en un 39%. Se debe tener en cuenta que tanto el sistema híbrido como el sistema en continuo se realizaron sin recirculación de biomasa, para una concentración de biomasa inicial de aproximadamente 2 millones de células/mL. Al emplear un sistema con recirculación de biomasa, para los cuales la concentración de células es de aproximadamente 200 millones de células/mL, se esperaría que la productividad de ambos sistemas se incremente. No obstante, y puesto que ambos operarían al altas concentraciones de biomasa, la productividad del sistema híbrido sería mayor que para el sistema en continuo convencional.

Una ventaja adicional para el sistema híbrido encontrada en el trascurso de la experimentación es que a partir de la membrana de PDMS empleada, es posible remover además de etanol, pequeñas cantidades de otros inhibidores como es el caso de ácido acético, furfural e HMF. Aunque estas cantidades son muy pequeñas si se realizan varios ciclos de pervaporación es posible retirar cantidades más apreciables. Esperando que la cantidad de productos tóxicos para las células se vean reducidos en el mosto, favoreciendo la fermentación. En la Tabla 5-1 se presentan los valores aproximados de la masa removida de estos componentes.

Tabla 5-1. Cantidad removida para los compuestos inhibidores.

Compuesto	Masa removida (g/(h*L))
Etanol	0,141
Acido Acético	0,000925
Furfural	0,000137
HMF	0,00185

5.3 Conclusiones

Es posible realizar el montaje del sistema híbrido tanto para fermentaciones de glucosa como de hidrolizados de bagazo de caña panelera, manteniendo la concentración de etanol por debajo de niveles inhibitorios. Para el sistema de hidrolizados se realizó la pervaporación a concentraciones de etanol de 60 g/L y 40 g/L manteniendo la concentración en el mosto aproximadamente constante y retirando 1,1 g/L*h de etanol en cada caso. No obstante para concentraciones de 60 g/L en el mosto, el permeato presenta una mayor concentración de etanol, con lo cual se puede facilitar la posterior purificación. La predicción de las simulaciones es muy acertada al comportamiento real del proceso con errores menores al 10%. La productividad de etanol para el sistema híbrido de hidrolizados de bagazo de caña panelera es de 1,1 g/L*h, mientras que para un sistema en continuo convencional de acuerdo a las simulaciones es de 0,67 g/L*h, es decir para el sistema híbrido es posible aumentar la productividad en un 39%. Con la membrana de PDMS fue posible retirar también pequeñas cantidades de otros productos inhibidores en el mosto como el ácido acético, el furfural y el HMF con lo que se espera que la cantidad de productos tóxicos para las células se vean reducidos en el mosto, favoreciendo la fermentación.

5.4 Bibliografía

- [1] Y. Wu, Z. Xiao, W. Huang, and Y. Zhong, "Mass transfer in pervaporation of active fermentation broth with a composite PDMS membrane," *Separation and Purification Technology*, vol. 42, Mar. 2005, pp. 47-53.
- [2] M. Nomura, T. Bin, and S.-ichi Nakao, "Selective ethanol extraction from fermentation broth using a silicalite membrane," *Separation and Purification Technology*, vol. 27, Apr. 2002, pp. 59-66.
- [3] C. Hamelinck, G. Hooijdonk, and A. Faaij, "Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term," *Biomass and Bioenergy*, vol. 28, Apr. 2005, pp. 384-410.
- [4] S. Chovau, S. Gaykawad, a J.J. Straathof, and B. Van der Bruggen, "Influence of fermentation by-products on the purification of ethanol from water using pervaporation.," *Bioresource technology*, Sep. 2010.
- [5] A. Aroujalian and A. Raisi, "Pervaporation as a means of recovering ethanol from lignocellulosic bioconversions," *Desalination*, vol. 247, Oct. 2009, pp. 509-517.
- [6] M.A. Noriega, "Remoción de etanol en sistemas de fermentación alcohólica mediante pervaporación," *Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia. Manizales*, 2010.

6. Conclusiones y recomendaciones

6.1 Conclusiones

Para el bagazo de caña panelera POJ28-78 se determinó una composición que consta de 35% de celulosa, 20% de hemicelulosa, 17% de lignina, 2% de acetato, 3% de cenizas y 24 % de humedad todos en base libre de extractos los cuales representan el 23% de este material. La composición determinada para el bagazo de caña panelera es similar a la reportada para este tipo de material, no obstante el porcentaje de extractos es mayor (23%) al reportado para bagazo de caña azucarera (1%), puesto que la extracción del zumo de caña panelera es menos eficiente que para la caña de azúcar lo que produce que haya una mayor cantidad de azúcares en este bagazo. No obstante este mayor contenido de azúcar puede ser aprovechado en la etapa de fermentación donde estos azúcares pueden ser transformados hasta etanol.

La recuperación de etanol de los mostos de fermentación depende en gran medida de la membrana empleada para la remoción de etanol. Se requiere una membrana estable y que no se deteriore durante la operación. Se encontró que la membrana más resistente y estable es la de PDMS con seis capas (PDMS-2), ya que remueve el etanol selectivamente. Se realiza un estudio de la influencia de azúcares, ácido acético y nutrientes de fermentación a una membrana denominada PDMS-1 que consta de cuatro capas de PDMS a la mitad de espesor de película que la de PDMS-2. Se encontró como la presencia de ácido acético aumenta el flux de agua reduciendo la selectividad, mientras que la presencia de glucosa a concentraciones menores a 200 g/L favorece la selectividad. Sin embargo para concentraciones de glucosa de 400 g/L tanto el flux como la selectividad disminuyen posiblemente por deposición de la glucosa en la superficie de la membrana ocasionado por una polarización en la concentración. No obstante la membrana retorna a sus propiedades originales. Sin embargo al exponer esta misma membrana a mostos de fermentaciones de glucosa o soluciones de nutrientes de fermentación se reducen tanto el flux como la selectividad permanentemente. Por tanto se emplea la membrana de PDMS-2, debido a que ofrece mayor estabilidad. Las simulaciones del sistema híbrido se realizan a partir de un modelo basado en las ecuaciones de Maxwell-Stefan para describir el transporte a través de las membranas, una ecuación de solubilidad del tipo Henry y la cinética de fermentación propuesta por Ramos de Andrade teniendo en cuenta la inhibición por producto, sustrato y biomasa. Esta ecuación se ajustó con datos experimentales obtenidos en este trabajo. Se ajustan cuatro constantes cinéticas obteniendo errores menores al 7% para los casos estudiados. De acuerdo a estas simulaciones se realiza el montaje del sistema híbrido el cual predice el comportamiento de los experimentos con errores menores al 10% para las

fermentaciones de glucosa y las de hidrolizados de bagazo de caña panelera. Para el sistema híbrido con fermentaciones de hidrolizados se encuentra que es posible retirar 1,1 g/L*h de etanol, ya sea para concentraciones de etanol en el mosto de 60 g/L o de 40 g/L, manteniendo la concentración en el mosto constante y por debajo de niveles inhibitorios. No obstante para mayores concentraciones de etanol en el mosto la cantidad de etanol en el permeato también aumenta, facilitando la posterior purificación del mismo. La productividad de etanol para el sistema híbrido de hidrolizados de bagazo de caña panelera es de 1,1 g/L*h, mientras que para un sistema en continuo convencional de acuerdo a las simulaciones es de 0,67 g/L*h, es decir para el sistema híbrido es posible aumentar la productividad en un 39%. Adicionalmente a partir de la membrana de PDMS se encontró que es posible retirar pequeñas cantidades de otros compuestos inhibidores de la fermentación, como lo son el ácido acético el furfural y el hidroximetilfurfural.

6.2 Recomendaciones

Se recomienda llevar a cabo estudios más profundos sobre la etapa de hidrólisis, para obtener mayores cantidades de azúcar, que permitan la fermentación sin necesidad de adicionar glucosa. Además estudiar otros microorganismos en la fermentación, con los cuales se puedan fermentar también las pentosas, aumentando los rendimientos hacia la producción de etanol y logrando un mejor aprovechamiento de los azúcares producidos en la etapa de hidrólisis. Ajustar el modelo cinético propuesto empleando temperaturas diferentes, permitiendo además realizar pruebas del sistema híbrido a otras condiciones tanto de temperatura como de concentraciones iniciales de sustrato. Realizar un estudio más detallado que permita definir la concentración de etanol óptima en el mosto a la cual se pueda realizar la pervaporación. Así como realizar el montaje del sistema híbrido por un mayor periodo de tiempo para definir durante que periodo el sistema es estable. Realizar pruebas a la membrana con diferentes tipos de ácidos, como por ejemplo ácido láctico y ácido fórmico, permitiendo así definir la influencia que estos tienen sobre la membrana. Realizar pruebas experimentales aplicando esta tecnología para procesos de fermentación alcohólica con recirculación de biomasa, con el objetivo de aumentar de forma considerable la concentración celular del mosto.