



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTADO DEL ARTE DE LA CONVERSIÓN DE MATERIALES
VEGETALES PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO DE ALIMENTOS**

PRESENTA

ROBERTO FABIÁN CRUZ TAMAYO

MÉXICO, D.F.

2015





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: ARTURO NAVARRO OCAÑA

VOCAL: JOSÉ GUILLERMO DE JESÚS AGUILAR OSORIO

SECRETARIO: JORGE ARTURO ABURTO ANELL

1er.SUPLENTE: BERTHA JULIETA SANDOVAL GUILLEN

2° SUPLENTE: INÉS MARTÍNEZ MIRANDA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: INSTITUTO MEXICANO DEL PETRÓLEO

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Jorge Arturo Aburto Anell

SUSTENTANTE (S):

Roberto Fabián Cruz Tamayo

AGRADECIMIENTOS

A la máxima casa de estudios de nuestro país, la **Universidad Nacional Autónoma de México** por formarme como profesionista y ser humano, por aportarme las ganas de superación y acogerme desde mi vida preparatoria en la **hermosa prepa 6 Antonio Caso**, donde fue a amor a primera vista a mi **UNAM**, agradeciendo por supuesto a la querida y prestigiosa **Facultad de Química**, una perla brillante de la Ciudad Universitaria, siendo columna y corazón de la ciencia llamada química , donde pasé momentos de todo tipo, no solo académicos, momentos de satisfacción, tristeza, enojo , donde conocí muchas personas y verdaderos amigos.

A la **Ciudad Universitaria** patrimonio cultural de la humanidad y a todas sus instalaciones; laboratorios, salones de clase, auditorios, institutos y sin dejar de nombrar las instalaciones deportivas, la alberca, los gimnasios donde pude ser campeón, los campos de entrenamiento de americano donde conocí este bello deporte, donde fuimos campeones con el equipo **SABLES** en 2011 el **estadio de prácticas Roberto tapatío Méndez** nunca olvidaré ese momento.

Al **Dr. Jorge Aburto Anell** por aceptar el proyecto y dedicar tiempo para su revisión y aprobación, por el conocimiento adquirido de sus enseñanzas, espero que este documento le sea de gran ayuda a sus investigaciones y por supuesto al **IMP (Instituto Mexicano del Petróleo)**.

Al **Dr. Arturo Navarro Ocaña** y el **Dr. José Guillermo de Jesús Aguilar Osorio** por el tiempo dedicado a la revisión y aprobación de este trabajo.

DEDICATORIAS

Nunca existen logros individuales detrás de ellos siempre hay personas valiosas, increíbles, incondicionales, fundamentales, vitales que son como las columnas y los cimientos de ese gran logro, es cierto que algunas de ellas a lo mejor no son pilares o columnas pero son muros o ladrillos y todos en conjunto contribuyen a la formación de un gran logro.

Este trabajo va dirigido a mi padre el **Sr. Salvador Cruz** que admiro y amo demasiado siendo tu una de esas columnas inquebrantables de lo que hoy apenas se ha logrado, no tengo la forma de agradecer el esfuerzo que has hecho, para ser el sostén económico de nuestra familia , no solo el esfuerzo, el sacrificio de estar lejos de nosotros para hoy vernos profesionistas, déjame decirte papa lo hemos logrado y esto apenas va empezando, ahora cosechas lo que sembraste, agradezco tus consejos, el inculcarme el gusto por trabajar desde pequeño, tus regaños, tus desvelos, todo lo que hiciste por mí y nosotros, el educarnos, siendo tu un hombre que admiraré el resto de mi vida, tienes un gran corazón, una nobleza que en estos tiempos es difícil de encontrar, gracias papá sin ti esto no hubiera sido posible, espero la unión de nuestra familia de nuevo.

A mi madre la **Sra. Mercedes Tamayo** que es otra de las columnas de este logro, por darme la vida, por llevarme en tu vientre , por tus abrazos, tus desvelos, tu preocupación por nuestro bienestar toda la vida , por levantarte todas las mañanas para hacernos el mejor desayuno del mundo, por encontrar esa comida deliciosa preparada con tanto amor al llegar de la universidad, por esos consejos que son muy certeros, por tu constancia y preocupación para que llegáramos a terminar una carrera profesional, siempre preocupándote , buscando actividades para superarnos, no olvidaré las veces que me ayudabas a estudiar desde niño, tus regaños para hacer la tarea y estudiar para los exámenes, tú me inculcaste el deseo de superación , de no estancarme, de tratar de ser el mejor, tu eres la vela de este barco, vamos en la dirección correcta, gracias por todo mama, te amo hoy cosechas algo de lo que sembraste porque aún falta más.

A mi hermano **Edson**, por todos esos años de crecer juntos, aún recuerdo esos días de primaria en nuestro viejo Ecatepec, gracias por tus consejos, por tu apoyo, te admiro por todo lo que eres y haces, lucha siempre por lo que quieres sea lo que sea, jamás dejes de intentarlo, vive la vida de locura, nunca te quedes con las ganas de hacerlo, nunca es tarde para intentarlo y sigue así, haz lo que tu corazón te diga hazlo, gracias hermano.

A mi hermana mayor **Paulina**, por tomarse en serio el papel de hermana mayor, por preocuparte por nosotros, por tus regañones aunque a veces exagerados siempre van con la mejor intención, te amo hermana, casi colega, deseo sigas feliz así como lo eres hasta ahorita, me da gusto que haya llegado una persona especial a tu vida y recuerda la vida a veces va arriba y a veces abajo, y ahí abajo es cuando se sabe que puedes contar conmigo, gracias por ser mi hermana, espero estemos unidos para toda la vida

A aquellas personas que algunas vez fueron especiales y hoy simplemente ya no están pero te dejaron una lección de vida.

El tiempo pasa, la maquina imparable del tiempo sigue y seguirá su curso, en ese lapso momentos vienen y van al igual que las personas, es ahí donde vas descartando y solo quedan aquellos amigos que estarán toda tu vida, los verdaderos amigos, esta tesis va para ti amiga **Elsi Ideli**, gracias por brindarme tu amistad, por aceptarme como soy, por compartir todos esos momentos y aún faltan más, conmigo podrás contar toda la vida, eres una persona muy especial, y que no los amigos son la familia que uno escoge, para todos ustedes ;(**Cuchus, Andrea, Joel, La Jaz, Colín, Ángeles, Cristian, Kari, Mario**), conmigo pueden contar siempre, espero verlos crecer en todos los aspectos.

A el estimado **Champ Gabriel y al Home Boy**, gracias por su amistad, a todos los integrantes del refri, en especial a Erick Estrada, el Show, José Luis Leal y al Manuel (Sharpa) a pesar de la distancia serán amigos. A los integrantes del tronco en especial a Lalo (Ritter) un buen amigo.

A la vieja bandita de Ecatepec en especial a **Marco Gante, Geovanni Padilla (Moty) y Rubén Clark** siempre serán amigos, siempre los llevo presentes. A aquellas personas que se convertirán en alguien especial y aun no lo sabemos

Contenido.

Resumen	1-2
Objetivos	2
Metodología	3
Capítulo 1. Generalidades de bioetanol	4-13
Características del bioetanol y alternativa como combustible	5-7
Producción de bioetanol a nivel mundial	8-9
Producción de bioetanol en México	10-11
Generalidades de fermentación	12
Fermentación de pentosas	13
Capítulo 2. Carbohidratos solubles	14-25
Generalidades de Carbohidratos	15-16
Monosacáridos, estructura y reacciones principales	16-19
Disponibilidad de monosacáridos	19-20
Generalidades de disacáridos	21
Sacarosa	21-22
La caña de azúcar como fuente de carbohidratos fermentables	22-23
Disponibilidad de caña de azúcar en México y en el mundo	23-24
Obtención de Sacarosa a partir de caña de azúcar	24
Remolacha de azúcar como fuente de carbohidratos fermentables	25-26
Capítulo 3: Almidón como fuente de Carbohidratos	27-50
Generalidades de almidón	28-30
Amilosa	30-31
Amilopectina	31-32
Principales fuentes de almidón nivel mundial	33
Generalidades de la yuca	33-36
Mercado de la yuca en México	36
Generalidades del maíz como materia prima para la producción de almidón	37-39
Mercado del maíz en México	39-41
Generalidades de la papa como fuente de almidón	41-43
Mercado de la papa en México	43-44

Generalidades del trigo como materia prima para almidón	44-46
Mercado del trigo en México	46-47
Generalidades del cultivo de arroz para producción de almidón	47-48
Mercado del arroz en México	48-49
Fuentes alternativas de almidón a nivel mundial	49-50
Proceso de producción del almidón	50
Capítulo 4 : Lignocelulosa como materia prima para la producción de bioetanol	51-63
Generalidades de lignocelulosa	52
Generalidades de la celulosa	53-55
Madera una materia prima renovable y abundante	56
Hemicelulosa	56-57
Moléculas presentes en la hemicelulosa	57
Xilanos	57-58
Glucoronoxilano	58
Galactoglucomanano	59
arabinogluronoxilano	59
Xiloglucano	59-60
Arabinoxilano	60-61
Generalidades de la lignina	61-63
Capítulo 5: Fuente de sustancias pécticas	64-72
Características de las pectinas	65-66
Propiedades fisicoquímicas de las pectinas	66-68
Disponibilidad de las pectinas	68-69
Proceso de obtención de bioetanol a partir de pectinas	69-72
Capítulo 6: Procesos de obtención de etanol a partir de Materias primas de Primera generación	73-96
Producción de bioetanol a partir de materias primas que contiene almidón	74-75
Gelatinización del almidón	76-78
Sacarificación del almidón	78-82
Enzimas alfa amilasas	79-82

Enzimas beta amilasas	82-84
Enzimas gluco amilasas	84-86
Enzimas pululanases	86
Proceso general de hidrólisis ácida de almidón	86-87
Hidrólisis ácida en reflujo	87-90
Hidrólisis ácida de almidón con microondas y carbón activado	91
Producción de bioetanol a partir de caña de azúcar y remolacha	91-93
Obtención de bioetanol a partir de frutas	93-94
Proceso de obtención de bioetanol a partir de frutas	95-96
Capítulo 7:Proceso de obtención de bioetanol a partir de materia prima de segunda generación	97-116
Materias primas de Segunda Generación	98-101
Métodos físicos para la obtención de bioetanol	101-104
Explosión de vapor a auto hidrólisis	102-103
Método de explosión de fibra de Amoniaco	103-104
Métodos químicos para la obtención de bioetanol	104-111
Pretratamiento con ácidos	104-106
Hidrólisis alcalina	106-108
Pretratamiento con CO ₂ supercrítico	108-110
Pretratamiento con Ozono	110-111
Tratamientos biológicos de biomasa	111-116
Hidrólisis enzimática	111-115
Enzimas hemicelulasas	115-116
Enzimas ligninolíticas	116-117
Capítulo 8:Procesos de obtención de bioetanol a partir de materia prima de tercera y cuarta generación	118-134
Biomasa de tercera generación	119-121
Proceso de producción de bioetanol a partir de macroalgas	121-124
Macroalgas para la producción de bioetanol	124-125
Algas cafés	125-126
Sargassum spp	126-127

Euchema spp	127-128
Ulva fasciata	128-130
Algas Rojas	130-131
Gracilaria Verrucosa	130-131
Kappaphycus Alvarezii	132
Proceso de obtención de bioetanol a partir de macroalgas	132-133
Bioetanol de cuarta generación	133-134
Capítulo 9: Costos de producción de bioetanol	135-141
Panorama general de costos de producción de bioetanol	136-141
Costos de enzimas utilizadas para la producción de bioetanol	142
Capítulo 10: Conclusiones	143-148
Capítulo 11: Bibliografía	149-175

Índice de tablas	Pág.
Tabla 1.0. Características fisicoquímicas de bioetanol.....	5
Tabla 2.0. Composición de azúcares en gramos /100 mL de jugo de algunas frutas.....	20
Tabla 3.0. Composición de tallos y hojas de la caña de azúcar.....	23
Tabla 4.0. Principales países productores de caña de azúcar.....	24
Tabla 5.0. Composición de variedades de remolacha azucarera.....	26
Tabla 6.0. Características de distintos almidones de diferentes especies vegetales.....	28
Tabla 7.0. Composición de la yuca dulce y amarga en (%)......	35
Tabla 8.0. Composición promedio de estructuras y grano de maíz en (%) en de base seca.....	38
Tabla 9.0. Estadísticas de la producción anual y costos de maíz en 2012.....	41
Tabla 10.0. Estadística de producción de papa en 2012 en territorio nacional.....	44
Tabla 11.0. Principales países productores de trigo a nivel mundial en 2011.....	45
Tabla 12.0. Estadística de producción de trigo en 2012 en territorio nacional.....	46
Tabla 13.0. Composición química del arroz integral y arroz blanco en base seca.	48
Tabla 14.0. Estadísticas del cultivo de arroz en México 2012.....	49
Tabla 15.0. Contenido de pectina en algunos frutos y vegetales.....	66
Tabla 16.0. Características de las alfa amilasas más utilizadas y activas para hidrolisisde almidón.....	81

Tabla.17.0. Eficiencia de bioetanol a partir de frutas con mayor contenido de azúcares.....	94
Tabla 18.0. Contenido de celulosa, Hemicelulosa y lignina de las principales fuentes de materiales vegetales de segunda generación.....	99
Tabla 19.0. Condiciones de las etapas de pretratamiento en método de explosión de vapor en extrusor.....	102
Tabla 20.0. Condiciones de hidrólisis enzimática y pretratamientos de algunos tipos biomasa de segunda generación.....	114
Tabla 21.0. Principales hemicelulasas, sitio de acción y productos obtenidos de la hidrólisis de la hemicelulosa.....	116
Tabla 22.0. Contenido de almidón en Especies de microalgas con mayor potencial para la producción de bioetanol.....	120
Tabla 23.0. Comparación de rendimiento de carbohidratos hidrolizables y potencial para producción de bioetanol entre cultivos terrestres y macroalgas.....	123
Tabla 24.0. Composición de macroalgas de especie Eucheuma.....	126
Tabla 25.0. Composición química de Ulva fasciata en base seca.....	128
Tabla 26.0 Composición de gránulos de macroalgas de especie Eucheuma.....	131
Tabla 27.0. Estimación de costos para la producción de bioetanol.....	135

Índice de figuras	Pág.
Figura 1.0. Diagrama general de producción de bioetanol	7
Figura 2.0. Perspectivas de producción de bioetanol para el año 2021 en mil millones de litros	9
Figura. 3.0. Rendimiento de etanol de diferentes cultivos en México	11
Figura. 4.0. Costos de litro de etanol en base a materia prima y procesos considerados.	11
Figura 5.0. Diagrama general de fermentación de glucosa, por cada molécula de glucosa se producen 2 moléculas de etanol y dos de CO ₂ .	12
Figura 6.0. Estructura de aldosas con respecto al número de carbonos	17
Figura 7.0. Estructuras e isómeros de cetosas	18
Figura 8.0. Reacción de carbohidratos reductores con ácido dinitrosalicílico	19
Figura 9.0. Gránulos de almidón de maíz donde se observa la cruz de malta	29
Figura 10.0. Estructura lineal de la amilosa.	30
Figura 11.0. Estructura de los diferentes tipos de amilosa, tipo A y tipo B.	31
Figura 12.0. Estructura de la amilopectina en conformación de Fisher donde se observan enlaces α -(1-4) y ramificaciones α -(1-6)	32
Figura 13.0. Principales productores de yuca en el mundo en 2012	33
Figura 14.0. Fisiología del grano de maíz	37
Figura 15.0. Principales productores de Maíz en México 2010	40
Figura 16.0. Composición química de la papa	43
Figura 17.0. Estructura de la celulosa donde se observan los enlaces β -1,4.	54

Figura 18.0. Estructura y composición de la pared celular vegetal, donde se observa la distribución de la lignocelulosa.	55
Figura 19.0. Estructura del xilano, presente en la Hemicelulosa.	57
Figura 20.0. Estructura de glucoronoxilano, en conformación de Fisher, con enlaces tipo β	58
Figura 21.0. Estructura y composición de la molécula de xiloglucanos, donde se observa el orden de glucosa, xilosa, galactosa y fucosa	60
Figura 22.0. Monosacáridos presentes en la Hemicelulosa	61
Figura 23.0 Ruta sintética de la lignina en angiospermas, a partir de fenilalanina	63
Figura 24.0. Estructura de ácido poligalacturónico principal componente de las pectinas	68
Figura 25.0. Hidrólisis enzimática de pectinas	72
Figura. 26.0. Diagrama general de productos obtenidos de la hidrólisis enzimática de almidón	75
Figura 27.0. Evaluación microscópica de tratamiento térmico de almidón de tapioca a 115°C	76
Figura 28.0. Descripción del complejo de lípido amilosa y Vh hélice de amilosa	79
Figura 29.0. Diagrama general de productos obtenidos de la hidrólisis enzimática de almidón	85
Figura 30.0. Tipo de bioreactores utilizados para la hidrólisis ácida de almidón con control de variables.	88
Figuran 31.0. Variaciones de Equivalentes de dextrosa obtenidos a través del tiempo en minutos de la hidrólisis ácida de almidón de papa a diferentes proporciones respecto a los sólidos.	90
Figura 32.0. Diagrama de producción de bioetanol a partir de caña de azúcar	92

Figura 33.0. Pasto varilla “ Panicum Virgatum” de gran altura utilizado para la producción de bioetanol	100
Figura 34.0. Reactor AFEX convencional	104
Figura 35.0. Perfil de hidrólisis ácida (H ₂ SO ₄) de α-celulosa a diferentes concentraciones de ácido durante 4 horas y temperatura ambiente.	105
Figura 36.0. Efecto de la presión en pretratamiento con CO ₂ supercrítico, sometido a rastrojo de maíz durante 1 hora.	109
Figura 37.0. Efecto de la temperatura en pretratamiento con CO ₂ supercrítico, sometido a rastrojo de maíz durante 1 hora.	109
Figura 38.0. Imagen de algas microscópicas Chlorella vulgaris y Scenedesmus acutus	119
Figura 39.0. Molécula de laminarina donde se observan los enlaces β-(1,3) y β-(1,6).	125
Figura 40.0. Sargassum spp, macroalga con potencial para producción de bioetanol.	126
Figura 41.0. Ulva fasciata macroalga con potencial para producción de bioetanol	128
Figura 42.0. Metabolismo de cianobacterias para la producción de bioetanol	133
Figura 43.0. Distribución de costos de producción de etanol de yuca.	137
Figura 44.0. Disminución de costos de producción (Dólares/galón) de etanol celulósico a través del tiempo en ABENGOA BIOENERGY, comparado con etanol de maíz.	141

Abreviaturas utilizadas en el texto

acre	Medida de superficie equivalente a 4046.85 m^2
AFEX	Fibra de expansión de amoniaco
AOAC	Asociación de Comunidades Analíticas
ARPEL	Asociación Regional de Empresas de Petróleo y Gas Natural en Latinoamérica y el Caribe
BID	Banco Interamericano de Desarrollo
BNDES	Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico y Social
CANIMOLT	Cámara Nacional de la Industria Molinera de Trigo
CBU	Unidades de Celobiosa
CENER	Centro Nacional de Energías Renovables
CEPAL	Comisión Económica para América Latina y el Caribe
CGEE	Centro de Gestión y Estudios Estratégicos
CO₂	Dióxido de Carbono
COVECA	Comisión Veracruzana de Comercialización Agropecuario
DE	Equivalentes de Glucosa
DECC	Departamento de Energía y Cambio Climático
DMSO-LiBr	Bromuro de Litio en dimetil sulfóxido
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura
FPU	Unidades de papel filtro de actividad enzimática
FUNCOLSA	Fundación Colombia Solidaria
HMF	Hidroxi metil furfural
IEA	Agencia Internacional de Energía
IICA	Instituto Internacional de Comercialización Agropecuaria
INAP	Instituto Nacional de Administración Pública (México)
kGy	Kilo gray (Unidad de dosis Absorbida de Radiación Ionizante)
MXN	Pesos Mexicanos
NMX	Norma Mexicana
O₂	Oxígeno
OCDE	Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos

ODEPA	Oficina de Estudios y Políticas Agrarias
PAL	Fenilalanina Amonio Liasa (Enzima)
pH	Potencial de Hidrógeno
PROFECO	Procuraduría Federal del Consumidor
Psi	Libra sobre pulgada Cuadrada
RMNC	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono
RMNH	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
Rpm	Revoluciones por Minuto (Agitación)
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SENER	Secretaría de Energía
SSF	Sacarificación y Fermentación Simultánea
GTZ	Agencia de Cooperación Técnica Alemana
SMBB	Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería
STAT	Estadística
U/l	Unidades por litro
U/mg	Unidades por miligramo
U/mL	Unidades por mililitro
UFC	Unidades Formadoras de Colonia
UNS	Universidad Nacional del Sur
USDA	Departamento de Agricultura de Estados Unidos

RESUMEN

“Estado del arte de la conversión de materiales vegetales a jarabes ricos en azúcares fermentables”

La obtención de carbohidratos a partir de distintas materias primas de origen vegetal es una herramienta biotecnológica de gran utilidad para distintos fines, principalmente la obtención de sustratos para la fermentación alcohólica a partir de distintos microorganismos, principalmente levaduras y bacterias, dicha fermentación alcohólica es aprovechada por la industria a nivel mundial principalmente la industria de bebidas alcohólicas, en los últimos años se ha mencionado la obtención de Etanol como una alternativa a los combustibles fósiles debido a que es un combustible más limpio, aunque la utilización de Etanol como combustible no es algo nuevo.

Las materias primas vegetales utilizadas para la obtención de azúcares fermentables se clasifican en tres tipos.

- los azúcares, tal y como su nombre lo dice son principalmente disacáridos (sacarosa) y monosacáridos (glucosa, fructosa) que se encuentran presente principalmente en caña de azúcar, remolacha y pulpas de frutas.
- Amiláceas se encuentran principalmente en cereales (maíz, arroz, sorgo, cebada) y tubérculos (yuca, papa, camote) de los cuáles aportan almidón principalmente, además de otros polisacáridos que pueden ser fuente de carbohidratos reductores.
- Lignocelulósicos , son la materia primas más abundante y barata para la obtención de carbohidratos fermentables solo que el proceso de bioconversión es muy costoso y requiere de equipo especializado, los materiales que incluyen esta clasificación son pastos secos, restos vegetales, maderas en general, residuos de madererías como aserrín , residuos Agroindustriales (bagazo de caña, bagazo de agaves, malta gastada de cerveza), la molécula obtenida de este tipo de materiales vegetales es celulosa principalmente, hemicelulosa y lignina variando la composición en los distintos materiales.

El siguiente trabajo pretende hacer una recopilación de las características físicas y químicas de las distintas moléculas involucradas en la composición de los diferentes tipos de materiales vegetales, disponibilidad y costos de materias primas, además de tecnologías de pretratamiento para la obtención de carbohidratos fermentables, pudiendo ser dichos pretratamientos físicos, químicos, biológicos o mixtos. Englobará también ciencia y tecnología de sacarificación de polisacáridos presentes en los materiales vegetales y los distintos métodos de sacarificación.

Objetivos.

- Hacer una revisión bibliográfica de los distintos materiales vegetales en la actualidad como amiláceos, azúcares y Lignocelulósicos como fuente para la obtención de carbohidratos reductores o fermentables.
- Dar a conocer la composición fisicoquímica de dichos materiales así como características fisicoquímicas de macromoléculas (celulosa, hemicelulosa, lignina, almidón, sacarosa, glucosa, etc.) y proporción en las distintas materias primas, además de costos de las mismas.
- Conocer y hacer una revisión general de los distintos procesos de producción de bioetanol, ya sean físicos, químicos, biológicos o una mezcla de los mismos, teniendo como materia prima todas las clasificaciones de la misma, mencionando costos y factibilidad de los procesos.
- Generar un documento que sirva de apoyo a otros proyectos en donde se encuentren los distintos tipos de pretratamientos y tratamientos para la obtención de carbohidratos reductores a partir de las distintas macromoléculas involucradas en la composición de materiales vegetales, además de ciencia y tecnología de los mismos.

METODOLOGÍA.

La búsqueda de información se realizó en distintas bases de datos electrónicas como elsevier, way of knowledge y libros en general empleándose para la búsqueda palabras clave como; propiedades físicas y químicas de (almidón, sacarosa, maltosa, celulosa, hemicelulosa, lignina, pectinas y monosacáridos de los cuáles este trabajo solo se enfoca a pentosas y hexosas fermentables para la producción de bioetanol), además de las principales materias primas de origen vegetal que poseen en su composición las moléculas mencionadas anteriormente, así como sus costos y disponibilidad de dichas materias primas, en nuestro país y en el mundo. Se buscaran los principales tratamientos y pretratamientos de dichas materias primas para la bioconversión de carbohidratos a etanol., el criterio de selección de la información se basa principalmente en artículos de los últimos cinco años tomando la información más relevante y contundente y consultando referencias de los artículos revisados.

También se consultaron sitios electrónicos serios principalmente de organizaciones oficiales , además de utilizar también como material de apoyo tesis de licenciatura y maestría de universidades nacionales e internacionales, artículos de revistas científicas y de difusión general, resúmenes de congresos, manuales de procedimientos, monografías emitidas por instituciones de renombre nacionales e internacionales, así como también nomas oficiales mexicanas .

CAPÍTULO 1

GENERALIDADES DEL BIOETANOL

CARACTERÍSTICAS DEL BIOETANOL Y ALTERNATIVA COMO COMBUSTIBLE

La producción de Bioetanol se relaciona principalmente con materias primas como maíz, sorgo, cebada, malta gastada de cerveza , trigo, tubérculos, materiales Lignocelulósicos, residuos agrícolas, para ello se deben de llevar a cabo tratamientos previos para la obtención de los carbohidratos o sustratos presentes, como por ejemplo la molienda de los granos en donde existen dos tipos de molienda la molienda húmeda y la molienda seca, en contraste a la molienda húmeda produce solamente CO₂ como subproducto de la fermentación y la molienda seca conserva una mayor cantidad de nutrientes para el crecimiento de la levadura en la fermentación, generalmente proteínas, aminoácidos, péptidos, fosfatos inorgánicos y orgánicos , en general compuestos solubles en agua que son necesarios para obtener altos rendimientos de etanol, además de que la molienda húmeda requiere de mayores costos.(Dale and Tyner, 2006).

Las características fisicoquímicas del bioetanol son de suma importancia para la utilización del mismo como combustible (ver tabla 1.0) y una alternativa a los combustibles fósiles, debido a que es un combustible más limpio que reduce las emisiones de gases contaminantes que ocasionan el efecto invernadero entre ellos monóxido de carbono y dióxido de carbono, además de ozono, actualmente se realizan mezclas de etanol con la gasolina reduciendo emisiones contaminantes, además de que es oxigenante y antidetonante de la gasolina, existen mezclas de gasolina y bioetanol al 5% (E:5) ,al 10% (E:10) sin realizar ninguna modificación al motor del vehículo, se tienen reportes de vehículos que utilizan gasolina al 20% (E:20) de bioetanol, actualmente se han desarrollado vehículos que pueden operar con bioetanol casi puro utilizando mezclas al 85% de bioetanol E:85, este tipo de vehículos han sido diseñados por las grandes compañías productoras de vehículos (CONAE,2014).

Tabla 1.0. Características fisicoquímicas del bioetanol. Fuente:(BNDES y CGEE, 2008).

Parametros	Unidad	Bioetanol
Composición	-	
Poder calorífico inferior	KJ/Kg	28,225
	KJ/litro	22,350
Peso molecular	g/mol	46
Densidad	Kg/litro	0.792
Rango de ebullición.	°C, 1 atm.	78.17
Punto de inflamabilidad	°C	21.11
Octanaje RON (Research Octane Number)	-	102 - 130
Octanaje MON (Motor Octane Number)	-	89 - 96
Calor latente de vaporización	KJ/Kg	842 - 930
Relación aire/combustible estequiométrica	-	9
Presión de vapor	Kpa	15 - 17
Temperatura de ignición	°C	550
Contenido de azufre	% en peso	0
Solubilidad en agua	% en volumen	100
Grado alcohólico	% en volumen	99.5 - 95

La materia prima para la producción de bioetanol se clasifica en cuatro tipos dependiendo del carbohidrato que servirá como sustrato para el microorganismo directamente o que requiera de tratamientos previos para su hidrólisis como en el caso de la lignocelulosa y almidón, la clasificación es la siguiente (Maciel,2009):

Primera generación: Se compone principalmente de las partes comestibles de las plantas como frutos, caña de azúcar, cereales y tubérculos, los carbohidratos generalmente son más disponibles y los pretratamientos son los más económicos en comparación a las otras clasificaciones, los carbohidratos que se obtienen es almidón, sacarosa y monosacáridos como glucosa principalmente.

Segunda Generación: Los materiales vegetales que entran en esta clasificación son residuos agrícolas principalmente compuestos por celulosa y hemicelulosa, ejemplos de materiales de segunda generación son hojas secas, malta gastada de cerveza, bagazo de caña de azúcar, residuos agrícolas de trigo y maíz, en comparación a las de primera generación la hidrólisis y pretratamientos son más costosos.

Tercera Generación: No corresponden a residuos de especies vegetales alimenticias, generalmente restos vegetales de crecimiento rápido con una alta densidad energética, compuestos de lignocelulosa, algunas de los materiales vegetales de tercera generación son madera, restos de la industria maderera, pastos perennes y algunas especies de algas verdes y verdiazules.

Cuarta Generación: Es una clasificación generada a partir de la ingeniería genética y la biología molecular, la producción de etanol la realiza bacterias o levaduras genéticamente modificadas, utilizan alguna fuente de carbono como dióxido de carbono.

La producción de bioetanol puede utilizar cualquier materia prima ya mencionada anteriormente, el proceso general de la obtención de bioetanol es hidrólisis de la biomasa o materia prima ya sea enzimática o química, posteriormente la fermentación y destilación de bioetanol hasta obtener etanol anhidro, el siguiente diagrama nos muestra el proceso general de obtención de bioetanol.



Figura 1.0.Diagrama general de producción de bioetanol Fuente: (Diez y Garrido, 2014).

PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A NIVEL MUNDIAL

A lo largo del siglo veinte el incremento de la producción de etanol ha sido notable, en Latino América países como Brasil aprovecha la producción de etanol a partir de materiales vegetales, para el caso de Estados Unidos a partir de 1999 a siete años el número de refinerías de Etanol aumentó al doble su producción, convirtiéndose actualmente en el país que produce una mayor cantidad de bioetanol , Brasil y Estados Unidos producen cerca del 70% de la producción global de Etanol, seguido por la India, China, Francia y Rusia.(Mousdale, 2010).

La producción de bioetanol en 2006 a nivel mundial fue de 13.5 millones de galones, dicha producción aumenta promedio a 1 millón de galones por año , la mayoría de la producción de bioetanol a nivel mundial se lleva a cabo con materias primas de primera generación, alrededor del 60% del bioetanol producido a nivel mundial se realiza con caña de azúcar y el otro 40% con otros cultivos o materias primas , los principales productores de etanol a nivel mundial son Brasil utilizando la caña de azúcar y Estados Unidos el maíz.(Balat et ál., 2008). A pesar de que Estados Unidos es de los principales productores de bioetanol a nivel mundial, en 2010 solo un 3.3% de la energía consumida en 2010 provenía de combustibles renovables como bioetanol, se espera que para el año 2020 el 15% de la energía consumida provenga de combustibles renovables. (DECC, 2011).

Para el caso de la Unión Europea , existe una tendencia creciente hacia la producción de bioetanol, se espera que para el año 2021 la Unión Europea llegue a producir aproximadamente el 12% de la producción a nivel mundial utilizando materias primas de primera y segunda generación, para el caso de China, India y Tailandia se espera que la producción de bioetanol sea de 2 a 3% a nivel mundial, para Estados Unidos se espera que siga siendo el principal productor de bioetanol con un 44% utilizando también materias primas de primera y segunda generación, por el contrario Brasil se espera una producción del 29% manteniendo dicha producción en base a la caña de azúcar. (OCDE FAO, 2012).

Etanol: 2021

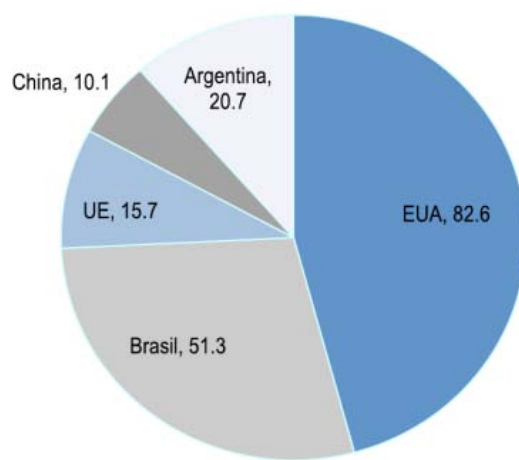


Figura 2.0. Perspectivas de producción de bioetanol para el año 2021 en mil millones de litros fuente (OCDE y FAO.2012).

Como se ha mencionado el bioetanol se produce a partir de materias primas renovables y algunas de bajo costo, la investigación para la producción de bioetanol se realiza en todo el mundo, incluyendo algunos países subdesarrollados de África y Asia , utilizándose materias primas de primera a tercera generación, algunas de residuos agrícolas endémicos como olivo para producción de aceite, variedades de bambú, y también se está investigando la producción de bioetanol con algas y micro algas , las alternativas para la producción de bioetanol son utilizadas en base al contenido de carbohidratos (Rojan et ál., 2011).La producción de bioetanol a partir de materias primas de origen no alimenticio, tales como paja, residuos agrícolas, papel ha tomado gran relevancia en países con una gran población y que por tanto ha ido aumentando el contenido de gasolina, tales como Brasil, Egipto, China e India , encontrándose gran potencial para la producción de bioetanol en materias primas de segunda generación, por ejemplo se estima que pueden producirse 3.9 millones de litros de bioetanol a partir de paja proveniente de arroz y bagazo solo de China e India (Yano et ál.,2009).

Los costos de bioetanol en 2012 en E.U.A. en promedio es de 2.46 dólares por galón, aunque dichos costos varían dependiendo del proceso y materia prima (Ziolkoska, 2013).

PRODUCCIÓN DE BIOETANOL EN MÉXICO.

Los usos de etanol en México vienen dados principalmente en bebidas alcohólicas, solvente y material de curación, la producción de etanol en México viene dada por la fermentación de melazas, principalmente de ingenios azucareros, en general materias primas de primera generación, en base a las demandas de gasolina a nivel nacional que es de aproximadamente cien millones de litros diarios de gasolina, México no es autosuficiente en la producción de oxigenantes para la gasolina, conviene mencionar que a partir de residuos de la industria azucarera genera 14.1 millones de toneladas de bagazo de caña una fuente lignocelulósica, del cual se pueden obtener 7.05 millones de litros de etanol por día oxigenando toda la gasolina consumida en México(Carreón et ál., 2009).

La producción de bioetanol en México se considera marginal dado que no se lleva a cabo a gran escala, pero se puede decir que México posee potencial para la producción de bioetanol, antes de pensar en la producción de bioetanol en México es necesario cumplir la demanda de alimentos, cumpliendo la demanda de alimentos para la población la producción de bioetanol beneficiaría en la creación de empleos, desarrollo de la economía rural, mejora de la seguridad energética, conservación de los recursos energéticos no renovables y un impulso al campo en general(Martínez et. ál., 2006).

Las materias primas aptas para la producción de bioetanol en nuestro país son maíz, trigo, sorgo, caña de azúcar y bagazo de la misma, remolacha, yuca, residuos agrícolas de las cuáles México importa principalmente maíz, sorgo y trigo, pero en el caso de la caña de azúcar México es exportador, en base a ello la caña de azúcar tiene un gran potencial en cuanto a superficie de siembra y tecnología, además del balance energético necesario para la producción de bioetanol, existen en nuestro país 58 ingenios azucareros, una parte de ellos posee destilerías con capacidad para producir 167,000 L de etanol y 33,000 L de etanol anhidro, en general la producción de bioetanol en México es en base a las cifras anteriores(SENER-BID-GTZ, 2006).

La siguiente figura nos muestra un estimado de rendimiento de bioetanol por hectárea, considerando que para la caña de azúcar se utiliza el jugo directo y para cereales la molienda en seco, los costos de litro de etanol fueron considerados a pretratamientos de materia prima, costos de la misma y balance energético

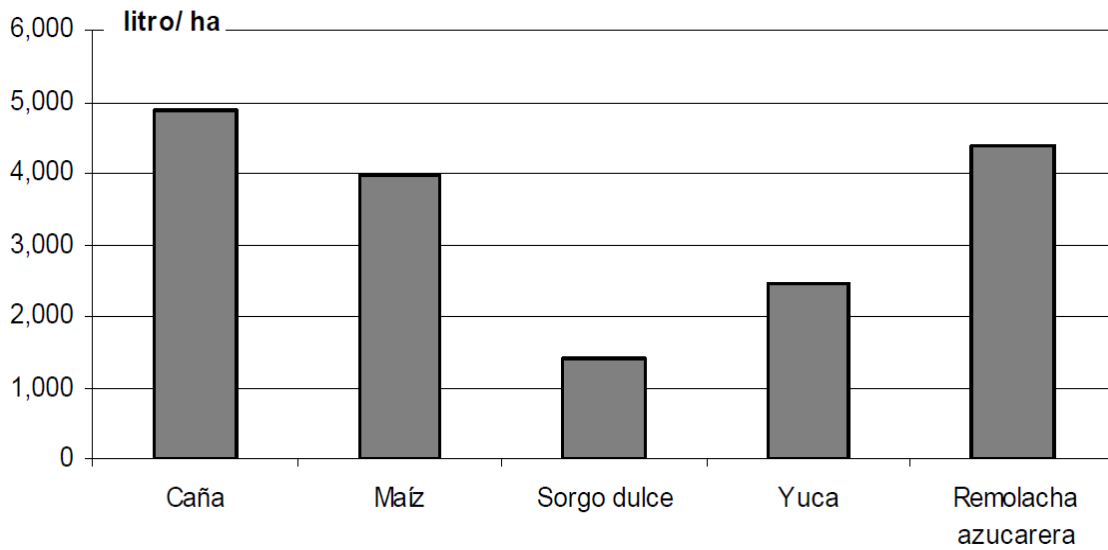


Figura. 3.0. Rendimiento de etanol de diferentes cultivos en México fuente (SENER GTZ, 2007).

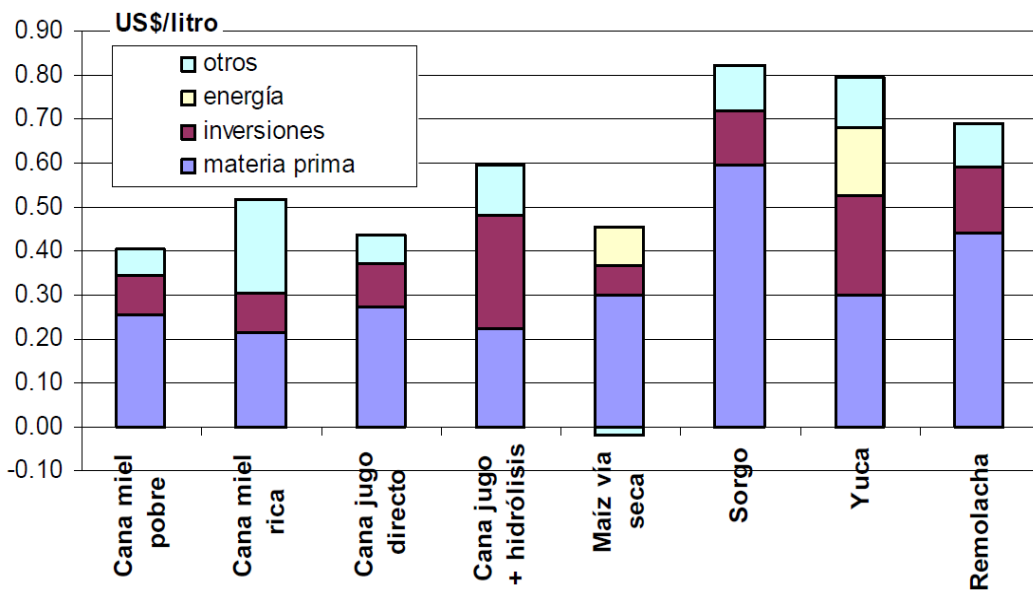


Figura. 4.0. Costos de litro de etanol en base a materia prima y procesos considerados fuente : (SENER GTZ, 2007).

GENERALIDADES DE FERMENTACIÓN

La producción de etanol se realiza por la fermentación con microorganismos a partir de materias primas hidrolizadas a sustratos para los microorganismos para la fermentación alcohólica en donde una molécula de glucosa obtenida de diversas materias primas de primera, segunda o tercera generación se convierte en dos moléculas de etanol y dos moléculas de dióxido de carbono, siendo el mismo proceso catabólico la glucólisis, pasando por piruvato (Bradley y Peter, 1982).

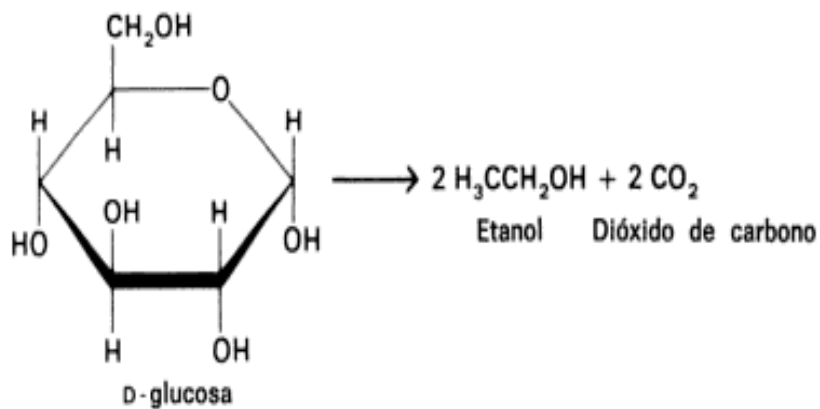


Figura 5.0. Diagrama general de fermentación de glucosa, por cada molécula de glucosa se producen 2 moléculas de etanol y dos de CO₂.

Generalmente las levaduras del género *Saccharomyces* son las que producen un mayor rendimiento de etanol, la cantidad de inóculo utilizada es de suma importancia para obtener buenos rendimientos de bioetanol, para el caso de *Saccharomyces cerevisiae* debe de cuidarse la cantidad de oxígeno en el medio, la concentración de inóculo puede variar dependiendo del tipo de levadura utilizada, generalmente se utiliza levadura liofilizada a concentraciones que no exceden los 3.0 g/L, las condiciones de temperatura oscilan entre 25°C a 35°C (Moctezuma y Román, 2007), aunque en este documento se describen las condiciones específicas de fermentación para cada materia prima y proceso.

Fermentación de pentosas

Generalmente en la mayoría de los procesos de bioconversión de biomasa de segunda generación no se utiliza la hemicelulosa, utilizándose solo la celulosa debido a que de la hidrólisis de ella solo se obtiene glucosa ,además de que el tipo de levaduras que se requiere para la fermentación es más accesible y que algunas no son capaces de fermentar pentosas, en general la fermentación podría ser económicamente viable solo si hexosas y pentosas son convertidas a bioetanol, las especies de levaduras más prometedoras identificadas hasta ahora que son capaces de fermentar las pentosas, son *Candida shehatae*, *Pichia stipitis* y *Pachysolen tannophilus*, por otro lado las bacterias que son capaces de fermentar pentosas a bioetanol son ; *Bacillus macerans*, *Bacillus polymyxa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Clostridium acetobutylicum*, *Aeromonas hydrophila*, *Aerobacter sp.*, *Erwinia sp.*, *Escherichia sp.*, *Leuconostoc sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*, y *Zymomonas Mobilis* , existen también hongos con capacidad de fermentar pentosas , principalmente de los géneros *Fusarium*, *Chalara*, *Rhizopus* , *Neurospora* , *Paecilomyces* y *Trichoderma*, pero tienen como desventaja que presentan rendimientos muy bajos de fermentación, requerimientos muy estrictos de oxígeno y baja tolerancia al etanol (Kuhad Ch. et ál., 2011).

Las modificaciones genéticas realizadas a los microorganismos para que presenten capacidad de fermentar pentosas es insertar plásmidos de bacterias que codifican xiluloquinasa, y xilosa isomerasa convirtiendo la xilosa en xilosa-5-fosfato, a partir de xilosa-5-fosfato mediante la inserción de genes los microorganismos genéticamente modificados codifican enzimas transaldolasa y transcetolasa y en consecuencia se metaboliza xilosa y arabinosa a etanol (US PATENT, 5514583).

Escherichia Coli K011 capaz de fermentar hexosas y pentosas como xilosa y arabinosa con buenos rendimientos de etanol y resistencia a compuestos de inhibición. La levadura *Pichia Stipitis* se ha utilizado para la fermentación de hidrolizados provenientes de materiales lignocelulósicos con rendimientos de bioetanol de hasta 45% (Kuhad Ch. et ál. 2011).

Las condiciones óptimas para la fermentación de pentosas son una concentración de inóculo en un rango 5-8 % v/v y las temperaturas oscilan entre 25 a 35°C.

CAPÍTULO 2

CARBOHIDRATOS SOLUBLES.

GENERALIDADES DE CARBOHIDRATOS

Al hidrolizarse los carbohidratos producen una gran cantidad de energía, los carbohidratos pueden clasificarse en base a el número de unidades en su estructura, existen monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, los monosacáridos no se pueden hidrolizar, dado que son la unidad mínima de los carbohidratos, los monosacáridos más simples se clasifican en aldosas y cetosas, difiriendo en los grupos funcionales, para el caso de aldosas contienen un grupo aldehído y las cetosas el grupo cetona, los aldehídos de cadena más larga se relacionan con la triosa gliceraldehído, contienen un átomo de carbono quiral más que las cetosas.(Conn, 2006).

Los monosacáridos se presentan en la naturaleza solo en pequeñas cantidades, más que como azúcares libres, están presentes como polisacáridos como celulosa y almidón siendo la D-glucosa el monómero más abundante en dichos polímeros

Las cetosas de cadena más larga están relacionadas con la dihidroxiacetona qué es la cetosa más sencilla compuesta por 3 carbonos, una cetosa contiene un átomo de carbono quiral menos que la aldosa, pero se compone de la misma fórmula empírica (Melo y Cuamatzi, 2006).

Los oligosacáridos contienen de dos a 6 moléculas de aldosas y cetosas, en la naturaleza los oligosacáridos más abundantes son los disacáridos y trisacáridos. Los polisacáridos generalmente son insolubles en agua, constando de cientos a miles de unidades de unidades de aldosas y cetosas, pudiendo ser de uno o varios tipos de carbohidratos

La notación D y L se utiliza para relacionar los grupos de carbohidratos en base a los isómeros que se pueden formar y la capacidad para desviar la luz polarizada, las figuras 1 y 2 nos muestran los distintos isómeros presentes de aldosas y cetosas (Conn, 2006).

La posición 4 y 5 de los átomos de carbono está en constante rotación por lo que esta rotación provoca que en grupo hidroxilo del carbono 5 pueda reaccionar con el grupo aldehído del carbono 1, formando un anillo hemiacetalico y diastereómeros con las formas α y β de la glucosa, para el caso del grupo hidroxilo del carbono 5 se forma un anillo de seis miembros una piranosa, Si el grupo hidroxilo del carbono 4 reacciona se forma un anillo de 5 miembros o forma un furano.(Conn, 2006).

En solución la forma furanosa es más reactiva que las piranosas, en la naturaleza existen formas combinadas de furanosa un ejemplo la sacarosa contiene furano de fructosa, las estructuras piranosa y furanosa han sido estudiadas por resonancia magnética nuclear, dichos estudios también nos indican la formación de anillos mayores o menores muy inestables debido a la tensión que soportan los enlaces. (Fennema R. 1993).

MONOSACÁRIDOS, ESTRUCTURA Y REACCIONES PRINCIPALES

Los monosacáridos son compuestos insolubles en etanol y en éter, muy solubles en agua debido a que la presencia de grupos Hidroxilo que pueden formar puentes de hidrógeno, hay numerosos tipos de monosacáridos , la clasificación de los mismos depende del número de carbonos presentes en su cadena, por ejemplo para los de tres carbonos se llaman triosas, los de cuatro carbonos de llaman tetrasas, cinco y seis carbonos corresponden a pentosas y hexosas que son los de mayor importancia como sustrato para la levadura en la fermentación, además de que son los monosacáridos más abundantes, los monosacáridos más abundantes son triosas o de tres carbonos. (Badui, 2006).

Las características de los monosacáridos es que poseen un mayor poder reductor en comparación a los disacáridos, dado que el enlace glicosídico participa en las funciones hemicetálicas, a partir de la capacidad reductora se pueden cuantificar ciertos monosacáridos construyendo una curva estándar del monosacárido a cuantificar y utilizando ácido dinitrosalicílico, la reacción que ocurre es que se aprovecha el poder reductor , considerando que en disolución alcalina los monosacáridos se hidrolizan, produciendo un compuesto que reduce al grupo nitro del ácido dinitrosalicílico y se forma un compuesto que se cuantifica por métodos espectrofotométricos UV-VIS A 540 nm, ver figura 8.0(Southgate,1991), los monosacáridos que poseen un grupo diferente del OH unidos a su carbono anomérico, como la sacarosa y la metilglucopiranososa dan negativo a la prueba de azúcares reductores.

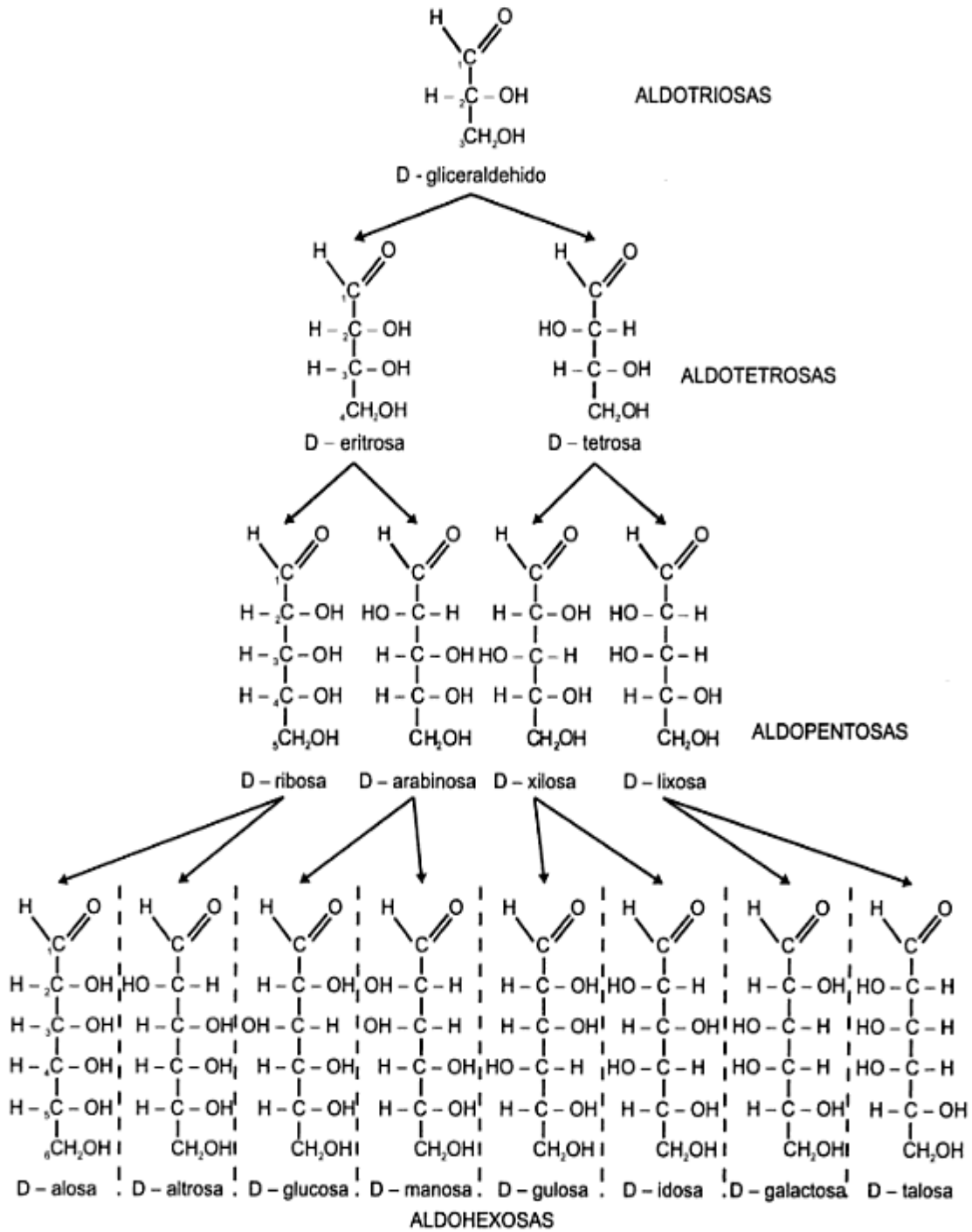


Figura 6.0. Estructura de aldosas con respecto al número de carbonos. Fuente: (Cuamatzi y Melo, 2006).

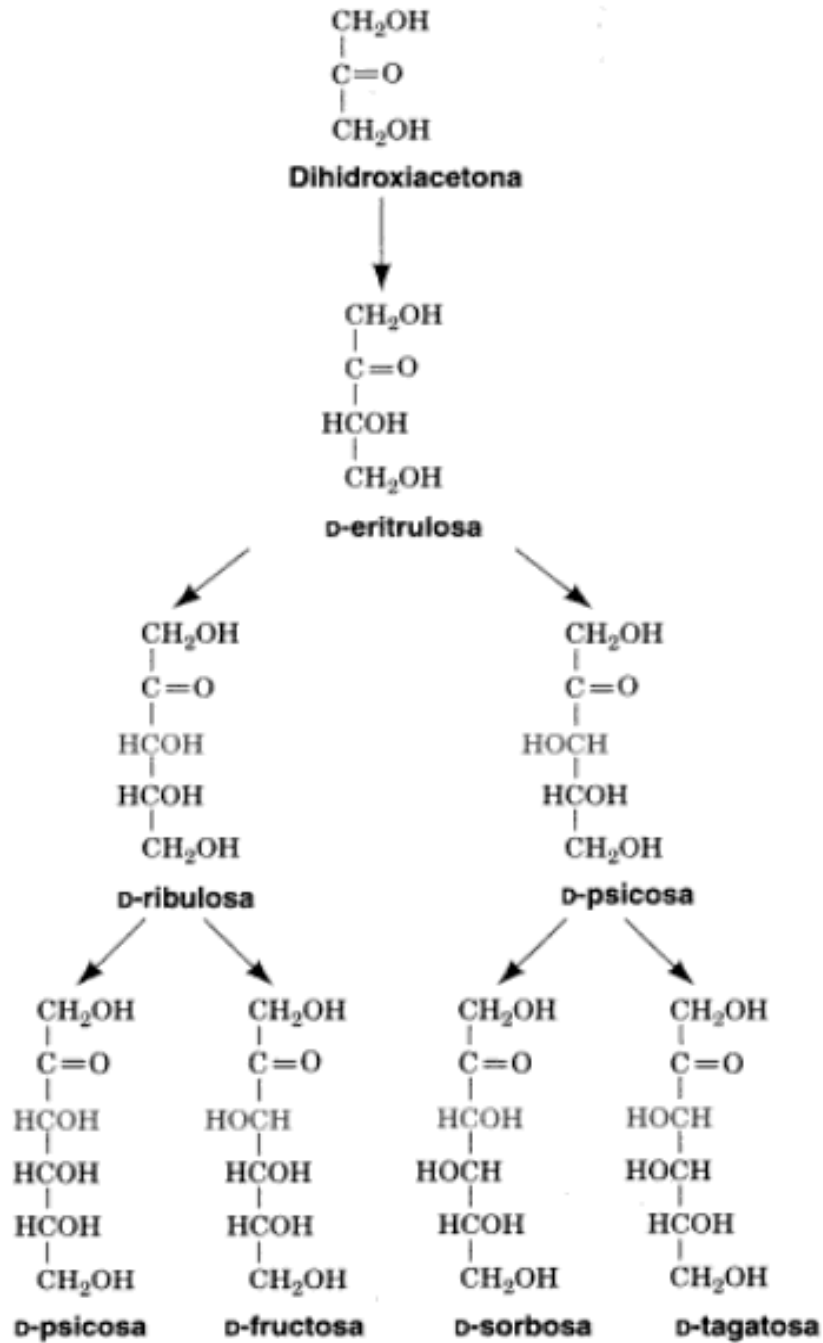


Figura 7.0. Estructuras e isómeros de cetosas. Fuente: (Voet, 2006).

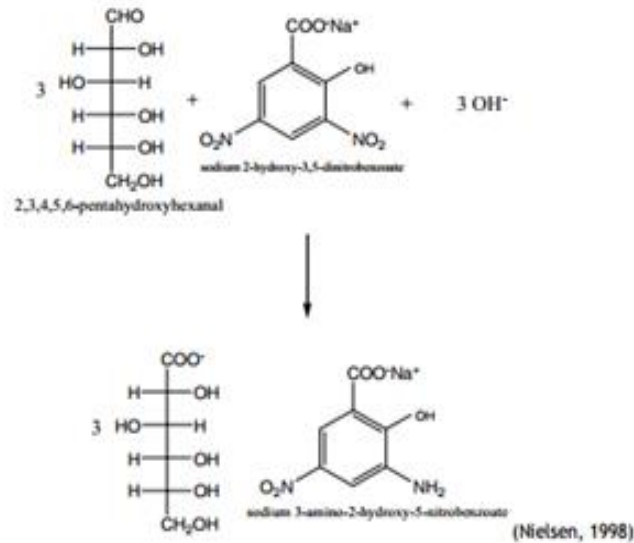


Figura 8.0. Reacción de carbohidratos reductores con ácido dinitrosalicílico. Fuente; (Sandoval, 2011).

En medio fuertemente ácido se forman derivados del furano, en disoluciones ácidas diluidas las hexosas forman productos anhidros con pérdidas de una molécula de agua, está pérdida depende del lado en que se encuentre el grupo hidroxilo en el carbono, es decir de la posición axial, existen casos donde se presentan impedimentos estéricos por lo tanto existen estructuras muy inestables y no es posible la formación del anhidro, en el caso de la D-glucosa, D-altrosa y D-idosa, la molécula asume una conformación más estable, dado que el C1-OH y el C6-OH tienen una orientación axial afectando los productos 1-6 anhidro, el % de 1,6 anhidrohexosa formado en una concentración de ácido sulfúrico 0.25 M a una temperatura de 100 °C de la D-Glucosa es 0.2 %, para la altrosa es 65.5% y la manosa es 0.8% (Dominic, 1995).

DISPONIBILIDAD DE MONOSACÁRIDOS

Las principales fuentes de monosacáridos obtenidos de forma directa en la naturaleza son las frutas, es por ello el sabor dulce de las mismas característico de azúcares y edulcorantes, en el mercado se pueden encontrar pulpas de frutas como materia prima para la fermentación alcohólica, dependiendo del fin biotecnológico o utilizarse de forma directa, la cantidad de carbohidratos presentes en algunas frutas depende del grado de madurez, dado que las frutas contienen sistemas enzimáticos que hidrolizan el almidón

forman monosacáridos, la siguiente tabla nos muestra la composición de las frutas con mayor contenido de monosacáridos.

Tabla 2.0.Composición de azúcares en gramos/100 mL de jugo de algunas frutas.
Fuente: (Dominic ,1995).

Fruta	Sacarosa	Glucosa	Fructosa	Sorbitol
Manzana	0.82 ± 0.13	2.14 ± 0.43	5.31± 0.94	0.20 ± 0.042
Cereza	0.08 ± 0.02	7.50 ± 0.81	6.83 ± 0.74	2.95 ± 0.33
Uva	0.29 ± 0.08	9.59 ± 1.03	10.53 ± 1.04	N.P.
Nectarina	8.38 ± 0.73	0.85 ± 0.04	0.59 ± 0.02	0.27 ± 0.04
Durazno	5.68 ± 0.52	1.68 ± 0.36	0.49 ± 0.01	0.09 ± 0.02
Pera	0.55 ± 0.12	4.28 ± 1.18	8.12 ± 1.56	4.08 ± 0.79
Caña de azúcar	8.0 a 15.0	1.50 ± 0.50	1.0 ± 0.50	N.P.
Kiwi	1.81 ± 0.72	6.94 ± 2.85	8.24 ± 3.43	N.P.
Fresa	0.17 ± 0.06	1.80 ± 0.16	2.18 ± 0.19	N.P.

Los monosacáridos son la primera fuente energética de los mamíferos por este motivo que se encuentran en gran cantidad en los alimentos, principalmente frutos y hortalizas, es por ello el sabor dulce de las frutas, siendo la glucosa el monosacáridos más abundante , la glucosa se encuentra en la sacarosa que es un monosacárido obtenido de la caña de azúcar, la cantidad y composición de carbohidratos en la fruta varía dependiendo del estado de madurez de la misma, en la fruta poco madura nos encontramos poco almidón, cabe destacar que la consistencia y dureza se relaciona también con la cantidad de pectinas la cual se hidroliza por sistemas enzimáticos presentes en la fruta , además del contenido de carbohidratos varía respecto al tiempo y tipo de fruta, los frutos poseen un porcentaje aproximado de carbohidratos entre el 5% y 18% el contenido de carbohidratos presentes.

GENERALIDADES DE DISACÁRIDOS

Los disacáridos consisten en dos unidades de monosacáridos condensadas , que al enlazarse producen una molécula de agua, estos disacáridos pueden ser homogéneos y heterogéneos por lo que se refiere a su composición en monómeros, la sacarosa es el monosacárido más abundante en esta clasificación, la maltosa, isomaltosa, gentiobiosa y trehalosa, son disacáridos homogéneos y reductores debido a que contienen un grupo hemiacetálico libre que puede reaccionar cumpliendo una función carbonílica y que en general por hidrólisis nos dan un rendimiento mayor a 99 por ciento de glucosa(Fennema R. 1993).

La sacarosa, lactosa, lactulosa , melibiosa son disacáridos homogéneos, la sacarosa es el disacárido más utilizado junto con la maltosa e isomaltosa como sustratos para microorganismos en base a los productos de su hidrólisis así generando sustratos para la fermentación, la sacarosa no es reductor debido a que no tiene grupos hemiacetálicos libres, en general los disacáridos se hidrolizan fácilmente en medio ácido dando los monosacáridos correspondientes, pero resisten a la acción hidrolítica de las bases (Cuamatzi et ál., 2006).

SACAROSA.

La sacarosa es el edulcorante más consumido a nivel mundial, se obtiene principalmente de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*)y de las remolachas azucareras propias de los países templados teniendo un porcentaje de 17% a 20% de su peso en azúcar, la miel de abeja también posee sacarosa parcialmente hidrolizada, la sacarosa es la principal fuente de carbohidratos reductores con distintos fines biotecnológicos, cabe destacar que la sacarosa no presenta poder reductor frente a los reactivos de Fehling y Tollens la sacarosa no es reductora porque no tiene grupos carbonilos disponibles, es el carbohidrato más consumido y el más accesible ya que se produce en la mayor parte del planeta, es un disacárido, por hidrólisis ácida produce una mezcla equimolar de D-Glucosa y D-Fructosa, ,no experimenta mutarrotación, por lo que los grupos carbonilo se hallan en forma cetel y hemicetel (Allinger et ál., 1984).

La sacarosa como ya se mencionó anteriormente es un disacárido de glucosa y fructosa unidos por enlace O-glucosídico, dicho enlace es dicarbonílico ya que son los dos de los carbonos reductores de ambos monosacáridos los que forman el enlace α -(1,2) de los monosacáridos.

La sacarosa presenta una gran solubilidad en agua solubilizándose aproximadamente una cantidad de 203.9 g en 100 mL a 20 °C, dicha solubilidad aumenta considerablemente con la temperatura sin afectarle la temperatura, es por ello que se obtienen grandes rendimientos por la fermentación de sacarosa en solución, al aumentar a 100°C la solubilidad aumenta a 478.2 g en 100 mL de agua.

El índice de refracción nos ayuda a cuantificar la concentración de sacarosa al igual que la rotación óptica basado en mediciones polarimétricas.

LA CAÑA DE AZÚCAR COMO FUENTE DE CARBOHIDRATOS FERMENTABLES

La sacarosa obtenida de la caña de azúcar es cultivada en más de 100 países, a pesar de ser un cultivo de zonas tropicales también se cultiva en zonas subtropicales, los rendimientos de la caña de azúcar varían dependiendo de las variedades genéticas, clima, suelo y nutrientes otorgados en su crecimiento, los requerimientos de temperatura varían de 27 °C a 33°C , en promedio se requieren de 1200 a 1500 mm anuales de lluvia, la demanda de agua va aumentando con el crecimiento de la planta, el pH óptimo del crecimiento de la caña de azúcar es de 5.0 a 8.0 , la especie *Saccharum officinarum* desde la antigüedad era empleada como fuente de calorías, la referencia más antigua es del siglo IV a.C. en la India fue el primer país donde se procesó la caña para la obtención de sacarosa, la caña de azúcar fue introducida a América por Cristóbal Colón en 1493.(Subirós,1995).

El género *Saccharum* corresponde a un complejo constituido por seis especies de las cuales cuatro son domesticadas (*S. officinarum*, *S.edule*, *S.barberi* y *S.sinensis*), las otras dos especies que no están domesticadas son (*S. spontaneum* y *S.robustum*).

La especie *Saccharum officinarum* es la principal materia prima para la producción de la sacarosa con un contenido de sacarosa de entre 9 y 13 %, contiene también en forma libre glucosa de 0.2 a 0.6%, fructosa 0.2 a 0.6%, las proporciones de los componentes varían en base a la edad, clima, método de cultivo, suelo, la caña de azúcar es bioquímicamente la planta que aprovecha la energía solar reaccionando el CO₂ y el agua.

La caña de azúcar es sumamente aprovechable ya que de sus jugos se obtiene la sacarosa, miel y melaza, sus tallos o bagazo son utilizados como combustible en los ingenios azucareros, aunque también pueden ser aprovechados como fuente materiales lignocelulósicos para la producción de biocombustibles.

Tabla 3.0. Composición de tallos y hojas de la caña de azúcar.

Componente	% en peso del tallo	% en peso de hojas
Materia Seca	29	26
Azúcares	15.43	2.18
Lignocelulosa	12.21	19.80
Materia Prima para Etanol	27.64	21.98

DISPONIBILIDAD DE LA CAÑA DE AZÚCAR EN MÉXICO Y EL MUNDO.

La caña de azúcar suministra el 70 % de la demanda internacional de azúcar, México se encuentra dentro de los principales productores de caña de azúcar, es por ello que la sacarosa es altamente accesible y disponible siendo Veracruz el estado que produce la mayor cantidad de caña de azúcar produciendo en 2010 la cantidad de 1,892,000 toneladas de azúcar seguido por San Luis Potosí 576,000 toneladas ,Jalisco 571,00 toneladas ,Oaxaca 306,000 y Chiapas 289,000 toneladas, la industria azucarera es de suma importancia para el país generando más de dos millones de empleos de forma directa e indirecta, los precios por bulto de 50 Kg de azúcar estándar oscilan entre 350 a 400 MXN , para el caso de la azúcar refinada los precios oscilan entre 370 a 420 MXN (SAGARPA, 2013).

Tabla 4.0. Principales países productores de caña de azúcar. Fuente:(COVECA caña, 2013).

PRINCIPALES PAISES PRODUCTORES DE CAÑA DE AZÚCAR
(Hectáreas)

PAISES	2004	2005	2006	2007	2008
Brasil	415,205,835	422,956,646	477,410,656	549,707,328	648,921,280
India	233,861,800	237,088,400	281,171,800	355,519,700	348,187,900
China	91,044,422	87,578,212	100,498,257	113,731,917	124,917,502
Tailandia	64,995,741	49,586,360	47,658,097	64,365,482	73,501,610
México	48,662,244	51,645,544	50,675,820	52,089,356	51,106,900
Pakistán	53,820,000	47,244,100	44,665,500	54,741,600	63,920,000
Australia	36,993,454	37,822,192	37,128,000	36,397,000	33,973,000
Colombia	40,100,000	39,849,240	31,000,000	32,000,000	38,500,000
Estados Unidos	26,320,160	24,136,570	27,033,200	27,750,600	27,603,000
Guatemala	18,283,000	23,454,030	18,721,415	25,436,764	25,436,764

Los rendimientos de caña de azúcar varían entre países y regiones en México es de 61 toneladas por hectárea, la cantidad de sacarosa o azúcar de mesa producida a partir de esta producción de caña de azúcar es de 5 millones de toneladas de azúcar de mesa o sacarosa, de las cuáles se pueden obtener 39 millones de litros de etanol, existen cerca de 58 ingenios azucareros en nuestro país (Arjona, 2006).

OBTENCIÓN DE SACAROSA A PARTIR DE CAÑA DE AZÚCAR. (SIAP MORELOS 2014)

COSECHA: Se realiza entre 6 a 12 meses de la siembra cuando la caña ha alcanzado la cantidad máxima de sacarosa para obtener altos rendimientos de bioetanol

MOLIENDA: Después de cosechar se pasa el cultivo a maquinas desfibradoras disminuyendo el tamaño de partícula para facilitar la extracción del jugo de caña

EXTRACCIÓN DE SACAROSA: En esta etapa se adiciona agua caliente a temperatura entre 60 a 85°C, el jugo obtenido es filtrado para eliminar sólidos insolubles, se realizan lavados en el filtrado para obtener mejores rendimientos de sacarosa.

EVAPORACIÓN: El jugo claro obtenido del filtrado es concentrado eliminado la mayor cantidad de agua posible, se realiza una purificación para poderla enviar a la cristalización.

CRISTALIZACIÓN: Se lleva a cabo sometiendo la melaza a vacío, los equipos utilizados para la cristalización utilizan 3 cocimientos para mayores rendimientos de sacarosa.

CENTRIFUGACIÓN, SECADO Y ENFRIAMIENTO: Se realiza la centrifugación para obtener los sólidos obtenidos de la cristalización, durante este proceso se realiza un último lavado para retirar los residuos de miel, secándose posteriormente cuidando no quemar la sacarosa obtenida.

REMOLACHA DE AZÚCAR COMO FUENTE DE CARBOHIDRATOS FERMENTABLES

La remolacha es otro cultivo con un gran contenido de sacarosa, a diferencia de la caña de azúcar la mayor parte de la sacarosa producida en Europa es a base de remolacha de azúcar, por lo que la sacarosa de remolacha presenta una mayor disponibilidad en este continente dependiendo de los fines biotecnológicos, los requerimientos de clima para la producción de azúcar es clima templado, soleado y húmedo para obtener buen rendimiento, desde el punto de vista químico producen la misma proporción de fructosa y glucosa al hidrolizarse. La remolacha es una hortaliza de raíz redonda perteneciente a la familia de las quenopodiáceas, es originaria de Asia, el cultivo se adapta a una gran variedad de suelos aunque se adapta a una amplia variedad de suelos, los requerimientos de temperatura para un óptimo crecimiento y rendimiento de la raíz es de 15-20° C la temperatura nocturna y la diurna de 20-25° C, el pH óptimo de crecimiento es mayor a 5.5, los requerimientos de agua son de 550-750 mm (ARPEL e IICA, 2006).

El proceso de obtención de la sacarosa a partir de la remolacha sigue el mismo proceso que el de la caña de azúcar consistiendo en recepción de materia prima, lavado, cortado de remolacha, extracción con agua caliente de sustancias solubles, colección de agua de extracción, prensado de la pulpa, los principales países productores de azúcar de remolacha son Rusia, Polonia, Francia, Alemania, Turquía, Estados Unidos y Canadá.

La composición de la remolacha de azúcar es variable dependiendo del tipo de la misma, tal y como su nombre lo dice tiene una mayor cantidad de carbohidratos de los

cuáles es sacarosa en un 95 % de la fracción de carbohidratos, el color de la raíz varía dependiendo de rojo, morado y para la variedad azucarera es de color blanco.

La industria azucarera de la remolacha ha tenido altos y bajos a lo largo de su historia, siendo Europa el principal productor , produciendo aproximadamente 120 millones de toneladas al año de las cuáles se procesan obteniéndose 16 millones de toneladas de azúcar blanca, por lo que se dice que el rendimiento de la remolacha azucarera es de 13 a 15 por ciento, cabe destacar que México se siembra remolacha y se produce azúcar a partir de la misma pero no está posicionado a nivel mundial(FAO e IICA,2013).

Tabla 5.0 Composición de variedades de remolacha azucarera. Fuente: (IICA. ,2013).

COMPUESTO	CONTENIDO	
	Remolacha de huerta	Remolacha azucarera
Calorías	43	336 –339
Agua	87.58 g	76.6 g
Carbohidratos	9.56 g	20.4
Grasas	0.17 g	0.1
Proteínas	1.61 g	1.1 g
Fibra	2.8 g	1.1 g
Cenizas	1.08 g	0.7 g
Calcio	16 mg	115-182 mg
Potasio	325 mg	2619-2638 mg
Fósforo	40 mg	259-323 mg
Sodio	78 mg	286-472 mg
Hierro	0.80 mg	5.5-8.7 mg
Tiamina	0.031 mg	0.08-0.24 mg
Riboflavina	0.040 mg	0.32-0.39 mg
Niacina	0.334 mg	1.64-3.15 mg
Ácido ascórbico	4.9 mg	23-79 mg

CAPÍTULO 3

ALMIDÓN COMO FUENTE DE CARBOHIDRATOS

GENERALIDADES DEL ALMIDÓN

El almidón es la molécula de reserva más abundante en la mayoría de las plantas ,posee un gran potencial biotecnológico ya sea para tecnología alimentaria o como fuente de carbohidratos fermentables, la fuente u origen del almidón varía a nivel mundial, en E.U.A. la principal fuente es el maíz, en la Unión Europea es el trigo, en Asia en el arroz y en las regiones tropicales que abarcan una gran parte de la superficie terrestre son tubérculos como papa, camote, yuca o mandioca, ñame entre otros endémicos, la palma de sago es otra especie vegetal originaria de Nueva Guinea también como un contenido considerable de almidón, dado que es una fuente no convencional de almidón no se cuenta con cifras de su producción (Wittcoff et ál., 2002).

El almidón es una molécula de reserva energética el sitio principal de síntesis de almidón y acumulación en cereales es el endospermo con gránulos de almidón que se localizan dentro de los amiloplastos (Moreno et ál., 1987).

Tabla 6.0.Características de distintos almidones de diferentes especies vegetales
Fuente: (Badui ,1999).

<i>Tipo</i>	<i>Amilopectina (%)</i>	<i>Amilosa (%)</i>	<i>Temperatura de gelatinización (°C)</i>	<i>Tamaño del gránulo (micras)</i>
Maíz	73	27	62-72	5-25
Maíz rico en amilosa	20-45	55-80	67-80	5-25
Papa	78	22	58-67	5-100
Arroz	83	17	62-78	2-5
Tapioca	82	18	51-65	5-35
Maíz céreo	99-100	0-1	63-72	5-25
Sorgo céreo	99-100	0-1	67-74	5-25
Trigo	76	24	58-64	11-41

Debido a que el almidón proviene de distintas fuentes, condiciones climáticas y condiciones de siembra es de esperarse que la composición del almidón en cada fuente varíe, es por ello que se han diseñado distintos métodos para la sacarificación del

mismo, dado que la proporción de amilosa y amilopectina no es constante todos las fuentes de almidón.

La composición del almidón es básicamente dos moléculas: amilosa y amilopectina, y varía dependiendo del tipo y edad de la planta, el almidón se encuentra en pequeños gránulos, estos adquieren un tamaño y forma prescrito por el sistema biosintético de las plantas, el tamaño del granulo es variable en cada especie.



Figura 9.0.Gránulos de almidón de maíz donde se observa la cruz de malta. Fuente: (UNS, 2013).

Dichos gránulos de almidón no son solubles en agua fría, sin embargo cuando se incrementa la temperatura las moléculas del almidón vibran rompiendo así los enlaces intermoleculares solvatando las moléculas y aumentando la capacidad de formar puentes de hidrógeno con el agua (Fennema, 1993).

Los gránulos de almidón varían en formas, pueden ser redondos, ovalados, esféricos, poligonales, e irregulares (Hoover, 2001).

Los almidones normales contienen alrededor del 25% de amilosa, siendo mayor la proporción la amilopectina, la amilosa es una molécula lineal es generalmente insoluble y poco soluble en agua, solo se puede disolver sometiéndola a condiciones drásticas tales como someterlo a altas temperaturas o disolventes básicos para romper los puentes de hidrógeno entre las moléculas. Existen variedades el almidón denominadas de alta amilosa con una proporción de 40% a 70% de amilosa, en cambio hay otras

variedades del almidón denominadas almidón céreos o cerosas con un porcentaje de 0 a 3% de amilosa (Hood, 1982).

El almidón posee una amplia gama de aplicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica, textil, papelera y en la actualidad un gran potencial para la producción de biocombustibles, principalmente etanol debido al auge existente de alternativas a combustibles fósiles.

AMILOSA

La amilosa está enlazada mediante enlaces glicosídicos α -D (1-4) de unidades glucosa con un peso molecular de 50,000 a 200,000 en comparación a la amilopectina posee un peso molecular menor, las cadenas de amilosa de 200 a 2500 unidades establecen largas cadenas, en comparación a la amilopectina la estructura de la amilosa es lineal.

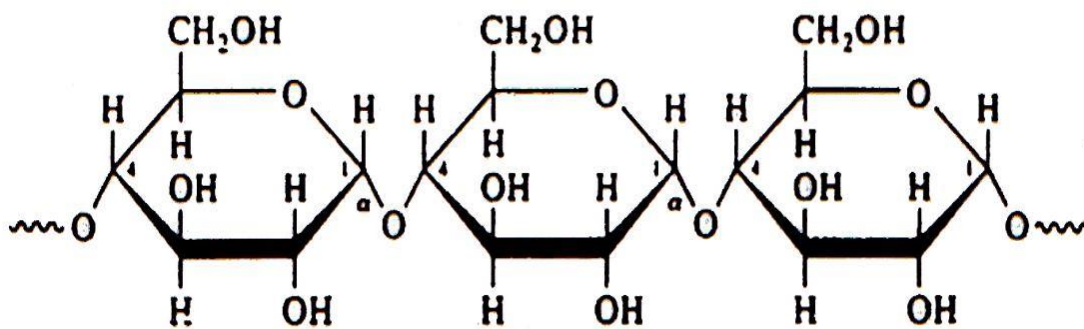


Figura 10.0 Estructura lineal de la amilosa. Fuente: (Belitz& Grosch, 1997).

La hidrólisis enzimática de la amilosa es llevada a cabo por α -amilasa, β -amilasa y glucoamilasa. La amilosa es insoluble en agua fría, pero es soluble en agua caliente formándose una suspensión coloidal. Los geles de amilosa tienen tendencia a sufrir retrogradación. Mediante análisis estructural por rayos X se han descubierto tres tipos de estructuras de amilosa en almidones nativos designadas A, B y C (Rodríguez et ál., 2001).

Almidón tipo A: Estructura cristalina encontrándose principalmente en almidones de cereales, posee una doble hélice, empaquetados de forma hexagonal antiparalela y un canal central el cual posee otra doble hélice en el centro de dicha estructura.

Almidón tipo B: Estructura cristalina, Posee una doble hélice también empaquetado de forma hexagonal antiparalela, pero a diferencia del tipo A esta tiene en el canal central agua, se encuentra presente en papa y tubérculos.

Almidón tipo C: Forma mixta de A y B presentes en mezclas de almidones.

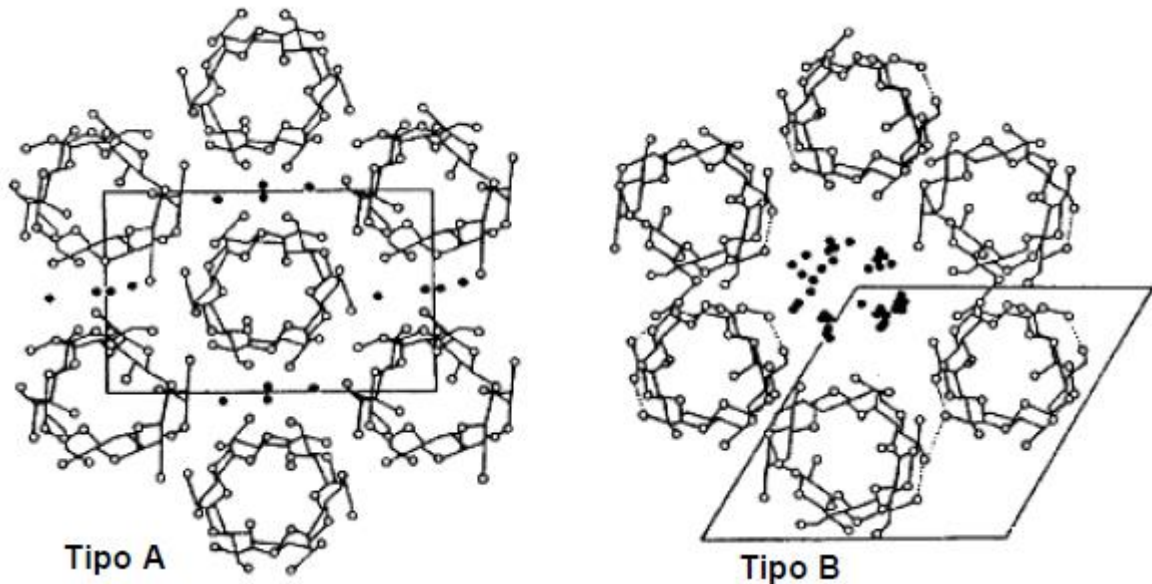


Figura 11.0. Estructura de los diferentes tipos de amilosa, tipo A y tipo B. Fuente: (Galliard y Bowler, 1987).

AMILOPECTINA.

La amilopectina básicamente posee una estructura ramificada, presenta cadenas de glucosa unidas por enlaces glicosídicos α -D(1-4) y estas moléculas de glucosa ramificadas mediante enlaces glicosídicos α -D(1-6), el porcentaje de ramificación es de 4-6% es una molécula irregular, de fácil fragmentación y el tamaño de esta es muy variado, el promedio de moléculas de glucosa por ramificación es aproximadamente de 15 a 30 restos de glucosa, el tamaño de la amilopectina es variado se tienen estimaciones dado que es una molécula de gran peso molecular (Yokohama et ál., 1998).

El peso molecular de la amilopectina es muy alto en comparación a la amilosa, la sacarificación se realiza por enzimas α -amilasa, la β -amilasa solo es capaz de hidrolizar hasta los puntos de ramificación, por lo que se requieren de dextrinasa límite para poder sacarificar a maltosa y glucosa. Para la hidrólisis de enlaces α -(1-6) se utilizan enzimas pululanazas o de desramificación (García G., 2004).

Al ser una molécula ramificada es una molécula muy inestable por lo que no está ordenada y es muy soluble en agua a temperatura ambiente, dado que puede formar puentes de hidrógeno y solvatar las moléculas de amilopectina, por ello la amilopectina proporciona soluciones claras y de alta viscosidad, a diferencia de la amilosa no tiene tendencia a la retrogradación y no forma geles a pesar de que la concentración sea muy alta. Tanto la amilopectina como la amilosa dan por hidrólisis total D-glucosa.

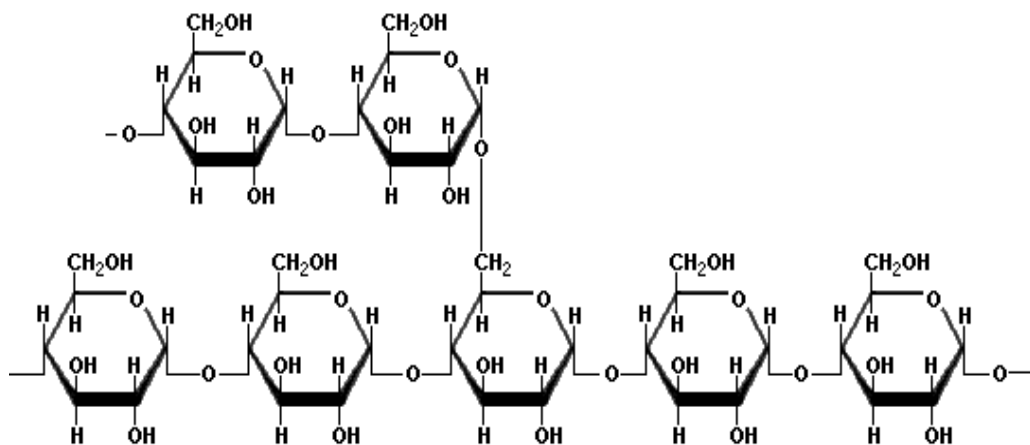


Figura 12.0. Estructura de la amilopectina en conformación de Fisher donde se observan enlaces α -(1-4) y ramificaciones α -(1-6). Fuente: (Belitz & Grosch, 1997).

Algunas evidencias sugieren que la amilosa también presenta ramificaciones, existen evidencias que las unidades de amilopectina se condensan en racimos llamados clusters, no existe una cantidad exacta de moléculas que componen los racimos, la cantidad de moléculas es muy variada de 4 a 34 cadenas que forman doble hélice.

PRINCIPALES FUENTES DE ALMIDÓN A NIVEL MUNDIAL

A nivel mundial las principales fuentes de almidón son plantas superiores, el almidón es un polisacárido de reserva, se encuentra en forma de gránulos y el tamaño del granulo varía dependiendo de la fuente, se deposita en los cereales, tubérculos y raíces de las plantas.

GENERALIDADES DE LA YUCA

La yuca es un tubérculo que pertenece a la familia *Euphorbiaceae* cuyo nombre científico es *Manihot Esculenta*, es originaria de climas tropicales y se cultiva ampliamente a lo largo de todo el mundo. Los principales países productores son Nigeria, Tailandia, Brasil, Indonesia, República Democrática del Congo, Ghana, Vietnam, India, Angola y Mozambique (Cock, 1989).

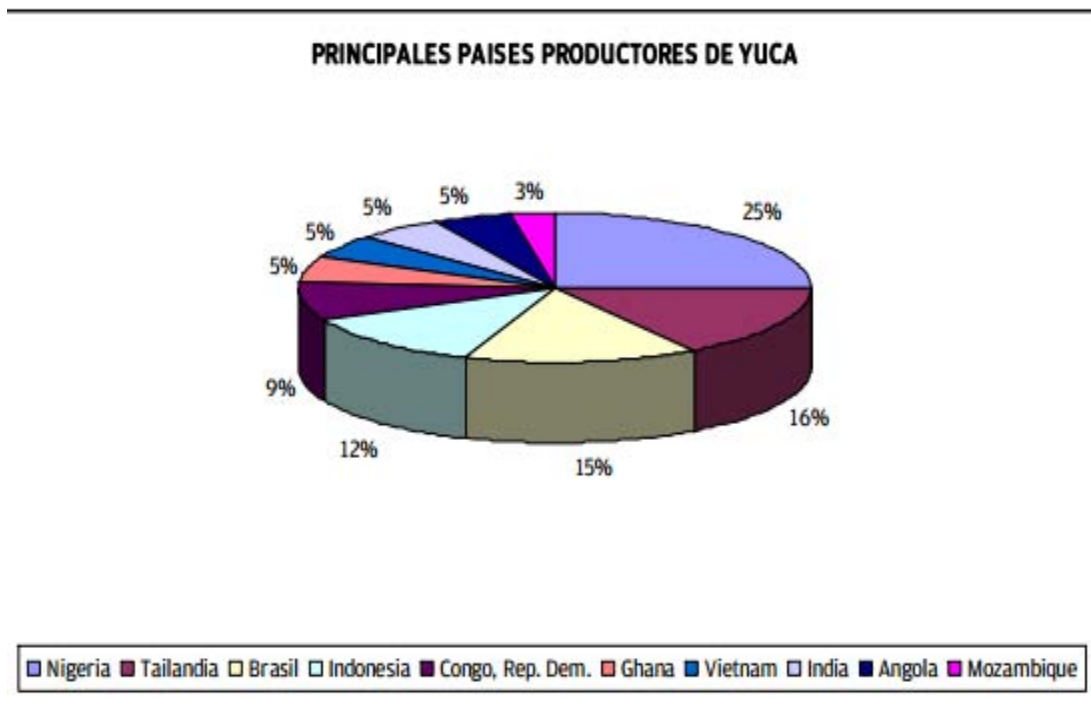


Figura 13.0. Principales productores de yuca en el mundo .Fuente: (COVECA Yuca, 2013)

México no se encuentra dentro de los principales productores de yuca a nivel mundial. La FAO la menciona como el cuarto cultivo más importante a nivel mundial en países en vías de desarrollo, con potencial biotecnológico para la producción de

biocombustibles y actualmente la fuente de almidón relativamente más barata por su contenido de carbohidratos de 28.0 a 35.0% en base húmeda, bajo contenido de proteína y de grasas (Montaldo, 1979).

Es un cultivo que no requiere de muchos cuidados durante la formación de la raíz, además de presentar resistencia a la sequía, tolerancia a suelos pobres prefiriendo suelos con un pH neutro.

La raíz que es la parte comestible de la planta se debe procesar inmediatamente después de ser cosechada, principalmente se debe de deshidratar para evitar la descomposición por bacterias.

Las condiciones ideales de crecimiento son a temperaturas mayores a 16 °C por debajo de ésta el crecimiento se detiene, siendo la temperatura óptima de 25-29 °C. Los rendimientos de la planta varían de 4 a 10 Kg de raíces en la cosecha dependiendo del tamaño de la planta, se tienen noticias de rendimientos mayores a 70 toneladas por hectárea en lotes experimentales (Cock, 1989).

La yuca es un cultivo que podría contribuir a proteger la seguridad alimentaria y energética de los países en vías de desarrollo. Se habla de seguridad alimentaria debido a que en países de economías emergentes representa el cuarto cultivo más importante después del arroz, maíz y caña de azúcar. Por su alto contenido de carbohidratos, las aplicaciones de la yuca principalmente como almidón de yuca son para las industrias alimentaria y farmacéutica en donde se han limitado como agentes estabilizadores en sopas y alimentos congelados, revestimiento para pastillas y papel, Tailandia es el principal productor de almidón de yuca(FAO,2006).

La composición de la yuca se puede observar en la tabla 7.0., se puede decir que es rentable para la producción de almidón dado que posee una mínima cantidad de grasa y proteína.

La yuca es una de las fuentes más ricas del almidón del cuál su raíces contiene más del 30% además de tener en su mayor proporción amilopectina, es la segunda fuente de almidón más abundante a nivel mundial dado que se extiende por toda la región tropical en el globo terrestre, se debe contar con infraestructura y maquinaria para la obtención del almidón de yuca.

Existe una tendencia creciente en América Latina de producción de almidón de yuca, produciéndose mayoritariamente almidones modificados e hidrolizados a precios más elevados, casi la totalidad del almidón de yuca en América Latina se elabora en fábricas pequeñas y medianas, con malas prácticas de fabricación, poca inocuidad, variedad de la materia prima y de producto terminado, además de escasas herramientas biotecnológicas como la mejora genética a variedades de yuca con mejores rendimientos.(FAO,2006)

Tabla 7.0. Composición de la yuca dulce y amarga en (%). Fuente:(Montaldo A., 1979)

Componentes	Raíz de yuca dulce	Raíz de yuca amarga
Valor energético, cal	132	148
Humedad, %	65,2	60,6
Proteína, %	1,0	0,8
Grasa, %	0,4	0,3
Carbohidratos totales, %	32,8	37,4
Fibra, %	1,0	1,0
Cenizas, %	0,6	0,9
Calcio, mg	40,0	36,0
Fósforo, mg	34,0	48,0
Hierro, mg	1,4	1,1
Vitamina A, Mcg. act.	tz	5,0
Tiamina, mg	0,05	0,06
Riboflavina, mg	0,04	0,04
Niacina, mg	0,60	0,70
Acido ascórbico, mg	19,00	40,00
Porción no comestible, %	32,00	32,00

Existen muchas clasificaciones de la yuca, muchas de ellas en base a su lugar de origen, el tipo de crecimiento o alguna característica de la planta pero la clasificación que se clasifica en dos especies diferentes dulce *Manihot aipi* y amarga *Manihot utilissima* .La presencia de glucósidos cianogénicos es la principal diferencia entre los dos tipos de la yuca, la dulce contiene niveles de glucósidos más bajos que es apta para el consumo humano y pueden ser eliminados mediante la cocción y la variedad amarga contiene niveles más elevados de glucósidos cianogénicos y se necesitan

procesos industriales para poder extraer dichos glucósidos, aunque cabe destacar que esta clasificación no siempre es precisa dado que la cantidad de glucósidos depende también de las condiciones edafoclimatológicas del cultivo (FAO, 2007).

MERCADO DE LA YUCA EN MÉXICO

México no se encuentra dentro de los principales productores de yuca a nivel mundial, pero si es productor de yuca, la tabla 3.0 nos muestra la producción nacional de Yuca en 2012, siendo Tabasco el principal estado productor, en realidad en México poco se sabe del potencial biotecnológico por lo que los usos de este cultivo son gastronómicos y culinarios, es decir consumido de forma directa ya sea por el ser humano o por el ganado. En México los principales estados productores son Tabasco, Veracruz, Yucatán, Michoacán, Jalisco, Guerrero y Morelos, aunque se da en menor proporción en el estado de Oaxaca. La producción nacional es insuficiente para satisfacer la demanda interna, lo anterior debido a que México importa almidón de yuca (Rivera H., et ál., 2012).

En 2012 en México se sembró una superficie de 1515.31 Ha, de las cuáles se cosecharon 18,532.81 toneladas, con rendimientos de 12.23 toneladas por Ha, el precio promedio por tonelada de yuca fue 2,699.93 pesos mexicanos, el costo por Kilo sería de 2.699 pesos mexicanos (SIAP SAGARPA, 2012).

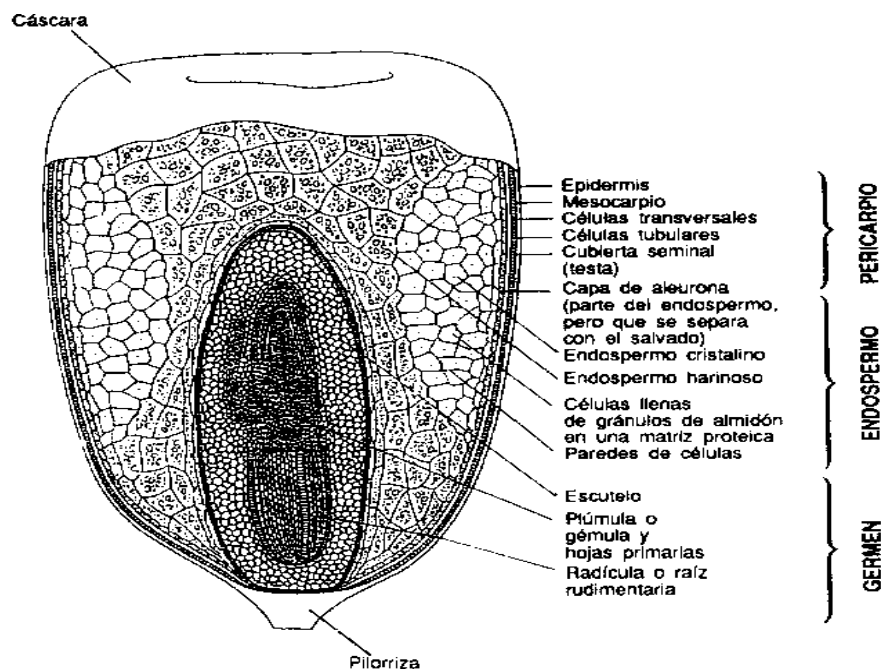
El precio de yuca promedio por Kg en el Distrito Federal es de \$20.00 en la central de Abasto y mercados populares como mercado de Jamaica, al no ser de los principales cultivos en México no existe una adecuada inspección por parte de SAGARPA y PROFECO para verificar la variabilidad y estandarización de los precios, se puede decir que la yuca no es de fácil acceso en el Distrito Federal, lo anterior se corrobora si se compra en estados productores, en donde sería rentable una planta productora de almidón.

Los costos del almidón de yuca son muy variados, a nivel mundial el costo de almidón de yuca oscila de 225 dólares hasta 350 dólares la tonelada, el principal productor de almidón de yuca a nivel mundial es Tailandia por lo que también es el principal exportador, los costos de almidón de yuca son muy variados esto depende de la época del año en que se adquiere y la disponibilidad de materia prima.

GENERALIDADES DEL MAÍZ COMO MATERIA PRIMA PARA PRODUCCIÓN DE ALMIDÓN.

El maíz es una planta de la familia de las gramíneas cuyo nombre científico es (*Zea Mays*), es un cultivo de gran relevancia a nivel mundial como a nivel nacional ya que en nuestro país es parte fundamental de la dieta, el cultivo más abundante a nivel mundial, no solo se le puede considerar fuente de energía también como fuente de proteína. Es una materia prima para la industria de la transformación, es utilizada para la producción de almidón, edulcorantes, bebidas alcohólicas y en la actualidad tiene suma importancia para la producción de biocombustibles. (FAO, 1993).

La estructura anatómica del grano de maíz se compone básicamente de cuatro estructuras que son pericarpio, endospermo, germen y cofia, las partes principales del grano difieren en su composición química (Allen, 1993).



(Facilitado por el Wheat Flour Institute, Chicago, Illinois, 1964)

Figura 14.0.Fisiología del grano de maíz. Fuente: (FAO, 1993)

El pericarpio es la estructura externa que protege al endospermo, comprende del 5 al 6% de la estructura total del grano compuesto por hemicelulosa (67%), celulosa (23%) y lignina (0.1%), básicamente su función es estructural y de protección.

El endospermo es básicamente la reserva energética de grano de maíz representa del 80-84% del peso total del grano, la composición del mismo básicamente el 90% de almidón, 9% de proteínas, 1% de lípidos, 0.5% de azúcares simples, 2% de fibra cruda y 0.3% de minerales.

El germen constituye la parte más baja del grano la cual ocupa del 9.5% al 12% del grano total, el germen almacena hormonas, se caracteriza por un gran contenido de grasa 34% y de proteína 20%, azúcares simples%, almidón 9%, minerales 10%, fibra cruda y hemicelulosa 14%(Aguilar N. J., 2009).

La composición del maíz es básicamente almidón del 72% al 73% del grano, es por ello que posee un gran potencial biotecnológico para la producción de biocombustibles, la composición puede variar dependiendo del tipo de maíz, la tabla 8.0 nos muestra el contenido promedio de bioelementos en el maíz.

Tabla 8.0. Composición promedio de estructuras y grano de maíz en (%) en de base seca Fuente: (Watson, 1987).

Porción de grano %	Proteína	Almidón	Lípidos	Azúcares	Cenizas	Fibra
G. entero	10.0	73.0	5.0	1.4	1.5	2.0
Endospermo	9.4	86.4	0.8	0.6	0.3	2.7
Germen	18.8	8.7	34.5	10.5	10.0	8.8
Pericarpio	3.7	7.3	1.0	0.3	0.9	86.7

El maíz requiere una temperatura de 25 °C a 30 °C, necesita una gran cantidad de luz solar, lo requerimientos de agua en forma de lluvia son muy necesarios durante el crecimiento de la planta en contenido de 40 a 65 cm. El maíz es un cultivo exigente en agua requiere de unos 5 mm al día.

Es un cultivo muy remoto de unos 700 años de antigüedad y es de origen americano, se desconoce a ciencia cierta el origen exacto del maíz, pero las variedades más antiguas se han encontrado en México y América Central. El maíz se divide en tres géneros americanos.

- Zea presenta una mayor importancia para la agricultura.
- Tripsacum: Presenta cierto valor como cultivo forrajero, pero no como cultivo de grano.
- Euchalena: Es el pariente más cercano del maíz.

El maíz es un cultivo ampliamente distribuido a lo largo del mundo, debido a los requerimientos de temperatura, por lo que se dice que es un cultivo de fácil acceso, presenta una tendencia de crecimiento en cuanto a producción se refiere, actualmente existen herramientas biotecnológicas y de ingeniería genética que han mejorado al maíz a especies con mayores rendimientos y resistencia a plagas. En 2008 el 80% de la producción se concentra en diez países: Estados Unidos el 1º con el 40%, China el 2º con el 20%, Brasil 3º con 6%, México el 4º con el 3% de la producción. Los otros seis países productores Argentina, Francia, India, Indonesia, Italia y Sudáfrica que en conjunto produjeron el 11% de la producción total (FAO, 2009).

Más del 80% del almidón que se produce a nivel mundial se obtiene del maíz, principalmente de Estados Unidos.

MERCADO DEL MAÍZ EN MÉXICO.

El maíz es un cultivo de suma importancia cultural, gastronómica, nutrimental y biotecnológica en el país, es el más cultivado en el país y la principal fuente de carbohidratos, México es el cuarto productor de maíz a nivel mundial, aunque en los últimos años México ha importado el maíz de Estados Unidos, no siendo autosuficiente debido a un aumento en el consumo humano y consumo animal (Ekboir et ál., 2004).

Las clasificaciones del maíz varían y pueden ser taxonómicas, botánicas, estructurales y comerciales, la clasificación comercial en México de acuerdo a la normatividad mexicana se clasifica en dos tipos, maíz blanco para la elaboración de tortillas y productos nixtamalizados (NMX-FF-034/1-SCF1-2002) y maíz amarillo para la elaboración de almidones (NMX-FF-034/2-SCF1-2002) .

El maíz blanco: presenta un porcentaje menor o igual al 5% de grano amarillo y un 5% de granos oscuros (azul, morado y rojo), este tipo de maíz es utilizado para la producción de tortillas, por lo que se de acuerdo a la composición del maíz blanco aunque tenga un menor contenido de grasa que el maíz amarillo posee un menor

contenido de almidón que el maíz amarillo, por lo que es más apto para la elaboración de tortillas que de almidón (González A.U., 1995).

Maíz amarillo: Tal y como su nombre lo dice, la norma mexicana lo define como aquel maíz que la mayoría de sus granos sean de color amarillo a rojizo, no rebasando el 6% de granos de otro color, el color amarillo de este maíz es impartido por carotenos. La industria almidonera utiliza este tipo de maíz para la producción de almidón debido a que el maíz amarillo tiene un mayor contenido de almidón no menor a 72% en base seca y debido a su color también se usa para la producción de frituras.

El maíz presenta una alta disponibilidad, es decir se puede adquirir con gran facilidad en todo el territorio nacional, esto es debido a que es el principal cultivo en México, cinco entidades federativas generan 6 de cada 10 Kg de la producción nacional, en general todos los estados de la república mexicana producen este cultivo(SIAP,SAGARPA 2013).

Los cinco grandes de México, 2010.

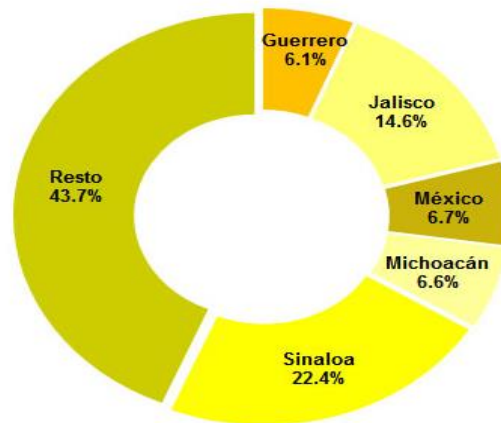


Figura 15.0. Principales productores de Maíz en México 2010. Fuente: (SIAP, SAGARPA 2013).

Los costos del maíz al ser un cultivo de alta disponibilidad en el país si existe una adecuada inspección que evita haya una variación de los precios, por ejemplo al estandarizarse el precio de la tortilla por la PROFECO la materia prima debe de mantenerse a un precio constante, es de suma facilidad adquirir el maíz y en 2012 las estadísticas de costos, superficie sembrada en el país de los diferentes tipos de maíz es la siguiente:

Tabla 9.0. Estadísticas de la producción anual y costos de maíz en 2012. Fuente: (SIAP SAGARPA 2013).

	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
MAIZ FORRAJERO	655,511.01	586,695.08	12,062,988.20	20.56	588.61	7,100,344.94
MAIZ GRANO	7,372,218.19	6,923,899.73	22,069,254.42	3.19	4,009.63	88,489,574.63
MAIZ GRANO SEMILLA	4,537.00	4,537.00	35,025.02	7.72	4,558.48	159,660.80

El costo del Kg de grano de maíz de acuerdo a las estadísticas anteriores es de \$ 4.0a 4.5 MXN el Kg, los costos de la producción de almidón pueden variar dependiendo del tipo de materia prima utilizada para la fabricación del almidón, en comparación a la yuca posee el doble de almidón en su composición, por lo que de acuerdo a la relación de costos de Kg de yuca que es \$ 2.7 MXN y cantidad de almidón en la misma es más rentable el maíz para la producción de almidón, además de que es más accesible dado que México no se encuentra dentro de los principales países productores de yuca.

GENERALIDADES DE LA PAPA COMO FUENTE DE ALMIDÓN

La papa es uno de los cultivos más importantes en países desarrollados y en vías de desarrollo, es un producto barato, tanto para la alimentación animal y humana, además de ser una excelente fuente de almidón, es utilizada como adjunto en la industria cervecera, posee un gran potencial biotecnológico, la cascara de la papa y otros desechos sin valor culinario de la papa tienen un alto contenido de almidón que se puede licuar para la producción de etanol, se encuentra dentro de los cinco cultivos con mayor producción a nivel mundial, además de ser fuente de calorías.

El nombre científico de la papa es *Solanum tuberosum*, es de la familia de las solanáceas es originaria de los Andes en América del Sur, pero en los dos últimos siglos ha sido cultivada en Europa a mayor escala que en América, es por ello que se cree que la papa es originaria de Europa (Horton D., 1992)

La producción de papa a nivel mundial no sigue una tendencia ya que puede variar. Asia, Oceanía y Europa concentran aproximadamente el 80% de la producción los rendimientos promedio en dichos continentes fluctúan entre 15.7 y 17.4 ton/ha, para América latina se presentan rendimientos de 16.8 ton/ha, la zona del planeta donde se presentan mejores rendimientos en América del Norte, con rendimientos hasta de 41.8 ton/ha por lo que el almidón de papa de Estados Unidos es barato. En 2008 la producción mundial de papa fue de 314 millones de toneladas, los principales productores de papa fueron China con el 18%, India 11%, Rusia 9%, Ucrania 6%, Estados Unidos 6%, Alemania 4% y Polonia % ver figura 16(Eguilor, 2010).

La papa es una planta anual que puede medir hasta 1 m de altura, la parte que se consume es el tubérculo, se encuentra en el grupo de los alimentos amiláceos, la papa desempeña funciones energéticas debido a su elevado contenido de almidón, al crecer la planta las hojas compuestas de la planta producen almidón, este almidón se desplaza hacia la parte final de los tallos llamados estolones, estos tallos sufren un engrosamiento en donde se produce el tubérculo, los rendimientos varían de unos cuantos o hasta veinte tubérculos por planta, pesando en promedio 300 gramos por tubérculo(FAO, 2008).

Las condiciones de cultivo varían, en general se cultiva en países de clima templado, subtropical y tropical, pero da mejores rendimientos en climas templados, prefiere suelos ricos en humus, sueltos y arenosos, la temperatura óptima de crecimiento oscila entre los 10°C y 25°C, no soporta temperaturas menores a 0°C, en cuanto a la altura se ha cultivado a 4200 m en la región andina (Horton D., 1992).

La papa presenta una gran cantidad de variedades, dichas variedades defieren en cuánto a color, forma, tamaño textura y sabor, la composición de la papa no presenta una variabilidad considerable en las distintas variedades, básicamente la papa se compone de 72-75% de agua, 16% a 20% de almidón, 2.0 a 2.5% de sustancias nitrogenadas, 0.1% a 0.4% de lípidos y de 1.0% a 1.8% de fibra

La composición de carbohidratos de la papa es aproximadamente el 20% por lo que la mayor parte de este porcentaje corresponde a almidón, presentándose también un porcentaje de fructosa y glucosa.

Composición química del tubérculo de la papa

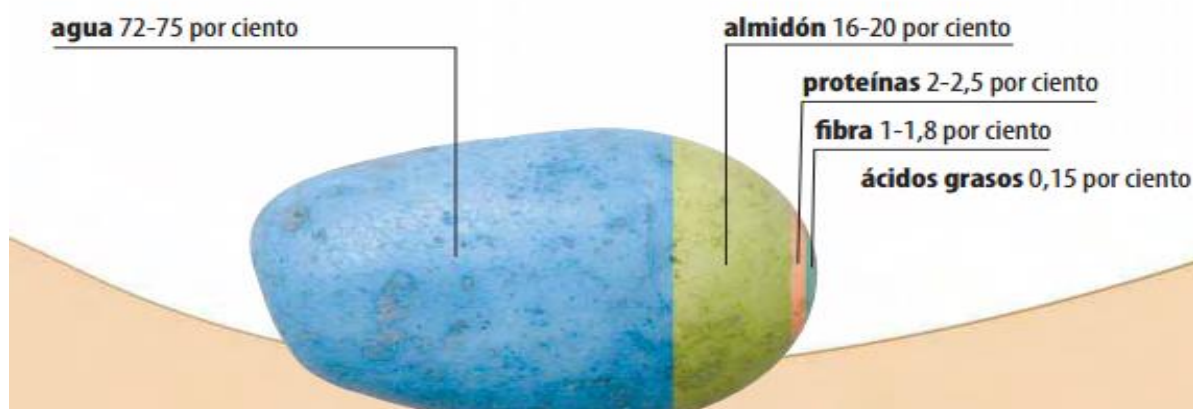


Figura 16.0. Composición química de la papa. Fuente: (FAO, 2008).

MERCADO DE LA PAPA EN MÉXICO

La papa es ampliamente cultivada en el país se cultiva en 23 estados de la república, pero solo seis estados aportan el 66% de la producción total de la producción nacional, se cultiva en los ciclos otoño invierno y primavera verano, los 6 estados productores de importancia a nivel nacional en forma descendente son Sinaloa, Sonora, Chihuahua, Estado de México, Guanajuato y Nuevo León. Al ser un producto agrícola muy importante para la economía nacional y materia prima para la industria existe normatividad para especificaciones mínimas de calidad, el proyecto de norma PROY-NMX-FF-022-2001 clasifica a este tubérculo en tres categorías en base al porcentaje de defectos que contiene, dichos defectos pueden ser diferencias de tamaño, integridad, daño por plagas, daño por frío o calor y contaminación microbiológica, las clasificaciones son las siguientes:

Categoría A: Debe contener de 0-5% de la superficie del tubérculo.

Categoría B: Debe contener de 6-15% de la superficie del tubérculo.

Categoría C: Debe contener de 16-25% de la superficie del tubérculo.

Las estadísticas de producción de papa de 2012 se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 10. Estadística de producción de papa en 2012 en territorio nacional. Fuente: (SIAP, SAGARPA 2012).

Sup. Sembrada	Sup. Cosechada	Producción	Rendimiento	PMR	Valor Producción
(Ha)	(Ha)	(Ton)	(Ton/Ha)	(\$/Ton)	(Miles de Pesos)
68,928.13	67,199.62	1,801,618.31	26.81	5,927.46	10,679,026.99

La papá es una materia prima de fácil acceso en nuestro país es por ello que es viable para la producción de almidón en comparación a la yuca, puede adquirirse en todas las centrales de Abasto del país y mercados, dado que como ya se menciona existe una adecuada inspección de los precios por parte de SAGARPA y PROFECO por ser uno de los cultivos agrícolas con mayor extensión de cultivo en el territorio nacional, pero es más accesible el almidón de maíz en nuestro país debido a que el maíz presenta una mayor superficie sembrada en el territorio nacional, y por tanto es una materia prima más barata que la papa, además de tener una mayor cantidad de almidón en su composición.

El almidón de papa está compuesto por una proporción de 3:1 de amilosa-amilopectina, se utiliza un 60% en la industria papelera, 30% en industria textilera y un 10% en la industria alimenticia y otros usos como adjuntos en cervecería

GENERALIDADES DEL TRIGO COMO MATERIA PRIMA PARA ALMIDÓN

El almidón de trigo es el más abundante y más explotado comercialmente dentro de los granos de cereal en la Unión Europea, el de los más abundantes a nivel mundial, el sabor del almidón de trigo es muy característico e imparte fácilmente dicho sabor, la producción de almidón de trigo durante 2002 fue de 57 millones de toneladas (FAOSTAT,2006).

La composición del grano de trigo entero posee 17% de agua, 11.73% de proteína, 2% de grasa total y posee un 60.97% de carbohidratos de los cuáles la mayor parte es almidón, dextrinas, glucosa, etc. además de Vitaminas del Complejo B, A y D, a partir de 100 g de grano de trigo entero, se pueden obtener de 55.0 g a 60 g de almidón (Mataix, 2003).

El trigo es el tercer cultivo más abundante a nivel mundial, es el cereal más importante y el segundo más importante de México después del maíz, pertenece a las gramíneas y es de la familia del césped, el crecimiento promedio es de un metro de altura, las condiciones de cultivo no son específicas, se adapta a diversas condiciones, lo que sí se puede afirmar que el clima ideal para el crecimiento del trigo es el clima templado. (CANIMOLT, 2013).

La mayor parte de la producción mundial del trigo es en la unión Europea, seguido por China con un 17.1% de la producción, India en 3 lugar con 12.4%, Rusia el 4 con 8.1% y E.U.A. con un 7.9% de, México no se encuentra dentro de los principales países productores a nivel mundial, pero si es un cultivo de suma importancia en el país. (ODEPA, 2012).

Tabla 11.0. Principales países productores de trigo a nivel mundial en 2011. Fuente: (USDA, 2012)

Principales países productores de trigo		
Países	Producción proyectada 2011/12 (millones de toneladas)	Participación en la producción (%)
Unión Europea (27 países)	137,49	19,9
China	117,92	17,1
India	85,93	12,4
Rusia	56,23	8,1
EE.UU.	54,41	7,9
Australia	28,30	4,1
Canadá	25,30	3,7
Pakistán	24,00	3,5
Kazajstán	22,50	3,3
Ucrania	22,00	3,2
Argentina	14,50	2,1
Brasil	5,80	0,8
Otros	97,1	14,0
Total enero	691,5	100,0
Total febrero	692,9	100,0
Variación febrero/enero 2012	0,2	
Fuente: elaborado por Odepa con información de enero 2012 del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, USDA.		

El trigo forma parte de la dieta de muchos países a nivel mundial, los principales usos del trigo son la elaboración de pan, pastas y galletas, aunque también es utilizado para fines biotecnológicos como la producción de Etanol y debido a su contenido de almidón, también es utilizado para la producción de bebidas alcohólicas. La harina de trigo es la

principal materia prima para la industria de la panificación y galletería, la clasificación del trigo se basa en el contenido de proteína, en base a ello existen tres tipos de trigo

Trigos duros (*Triticum durum*): Se caracterizan por un contenido importante en proteínas (13,5 - 15,0%) y bajo contenido en agua. La harina que producen estos trigos se utiliza principalmente en la producción de pastas.

Trigos semiduros (*Triticum vulgare*): son menos ricos en materia proteica (12-13%), contienen un poco más de agua. Se utilizan principalmente para la fabricación de pan.

Trigos blandos (*Triticum club*): son muy ricos en almidón proporcionando una harina muy blanca, contiene poca materia proteica (7,5 -10%). Se utiliza para la fabricación de galletas, pasteles, etc.

La estructura del grano de trigo es esencialmente una carióspside, formados por una cubierta externa, que tiene como función proteger al grano de descomposición principalmente por hongos, dicha cubierta (pericarpio) protege al endospermo y al germen.

MERCADO DEL TRIGO EN MÉXICO.

México no se encuentra dentro de los principales productores de trigo a nivel mundial pero es la tercer fuente energética y de nutrientes de nuestro país, el trigo se cultiva en más de 20 estados de la república, el 80% se centra en la zona norte de nuestro país y el resto en el bajío, el rendimiento por hectárea varía dependiendo de la temporada de la cosecha, el rendimiento promedio del ciclo otoño invierno es de 5.3 toneladas por hectárea y para el ciclo primavera verano es de 1.9 toneladas por hectárea, utilizando el grano de trigo para la fabricación del almidón.

Tabla 12.0. Estadística de producción de trigo en 2012 en territorio nacional. Fuente: (SIAP SAGARPA, 2012).

Sup. Sembrada	Sup. Cosechada	Producción	Rendimiento	PMR	Valor Producción
(Ha)	(Ha)	(Ton)	(Ton/Ha)	(\$/Ton)	(Miles de Pesos)
589,014.88	578,836.38	3,274,336.75	5.66	3,608	11,814,130.44

El trigo presenta una alta disponibilidad en nuestro país como fuente de almidón, puede ser adquirido y comercializado para la producción de almidón a lo largo de nuestro país, por lo que sería viable instalar una fábrica de almidón en Estados Productores, además de que al igual que el maíz y la papa al ser un cultivo muy consumido si existe una adecuada inspección por SAGARPA y PROFECO, siendo la 2 alternativa después del maíz en nuestro país para la producción de almidón en base a contenido de almidón, precio y disponibilidad.

GENERALIDADES DEL CULTIVO DEL ARROZ PARA PRODUCCIÓN DE ALMIDÓN

El arroz es un cultivo de suma importancia a nivel mundial, el tercer más abundante a nivel mundial, la base de la dieta en el continente asiático y la principal fuente energética, por mismo el arroz es la principal materia prima para la fabricación de almidón y otros usos biotecnológicos como la producción de bebidas alcohólicas en el continente asiático.

Es una planta gramínea, que crece con mayor facilidad en los cultivos tropicales, aunque por mutaciones se convirtió en subacuática, puede crecer en varias condiciones pero presenta una mayor afinidad a climas húmedos y calientes, necesita una temperatura mínima para germinar de 10 a 13 °C y una temperatura óptima de 30 a 35 °C. Puede tener una altura de 0.6 a 1.8 m, presentando tallos ramificados, dichos tallos terminan en espiga que es donde se desarrolla la cariósida o grano.

Los primeros cultivos del arroz aparecen en China con una antigüedad de 5000 años, propagándose así a lo largo de Asia y el resto del mundo, siendo un cultivo salvaje se fue domesticando, hoy en día la mayoría de variedades de arroz cultivadas es el género *Oryza* (COVECA arroz, 2013).

Los almidones de arroz son los que presentan mayor uniformidad en el tamaño del granulo (2 a 8 µm). El arroz es el 2 cereal más consumido a nivel mundial, tiene la mayor producción en el sur y sudeste de Asia (31% en China e India y 5% en otros países como Tailandia, Vietnam y Estados Unidos).

Existen varias clasificaciones del arroz, de acuerdo al reglamento 1234/2007 de la Unión Europea la clasificación es en base a su tamaño, las variedades son grano largo, corto y medio. El grano largo corresponde a la variedad indica y se caracteriza por ser

seco y esponjoso tras la cocción. Los granos cortos y medios son de la variedad japónica más húmedos y pegajosos, la composición del arroz nos muestra un gran contenido de carbohidratos, por lo que se puede decir que es una materia prima apta y viable para la producción de almidón.

Tabla 13.0. Composición química del arroz integral y arroz blanco en base seca.
Fuente: (Hernández et al., 1999).

	<i>Arroz integral</i>	<i>Arroz blanco</i>
Composición aproximada (%):		
- Humedad	12,0	12,0
- Proteínas	7,5	6,7
- Grasa	1,9	0,4
- Cenizas	1,2	0,5
- Fibra (cruda)	0,9	0,3
- Carbohidratos (total)	77,4	80,4
Energía (kcal/100 g)	360	363
Micronutrientes (mg/100 g):		
- Calcio	32	24
- Fósforo	221	94
- Hierro	1,6	0,8
- Sodio	9	5
- Potasio	214	92
- Tiamina	0,34	0,07
- Riboflavina	0,05	0,03
- Niacina	4,7	1,6

MERCADO DEL ARROZ EN MÉXICO.

México no destaca como productor de arroz a nivel mundial, por lo que se ve en la necesidad de importar gran parte del arroz consumido, principalmente de Estados Unidos, es importante mencionar que si es productor de arroz, en México se siembran distintas variedades de arroz, que son arroz Morelos, arroz Sinaloa, arroz milagro Filipino y sin clasificar.

Los estados productores de arroz son los siguientes se ordenaran de forma descendente en cuanto a la superficie sembrada es Campeche, Nayarit, Michoacán, Veracruz, Colima, Jalisco, Tabasco y Morelos (SIAP SAGARPA (2), 2012).

Los costos del arroz pueden variar en nuestro país dependiendo del tipo de arroz y si es de importación, las estadísticas del cultivo del arroz en nuestro país se observan en la siguiente tabla.

Tabla 14.0. Estadísticas del cultivo de arroz en México 2012. Fuente: (SIAPSAGARPA (2), 2012).

Sup. Sembrada	Sup. Cosechada	Producción	Rendimiento	PMR	Valor Producción
(Ha)	(Ha)	(Ton)	(Ton/Ha)	(\$/Ton)	(Miles de Pesos)
32,710.26	31,795.26	178,727.21	5.62	3,774.95	674,913.49

El arroz es una buena materia prima para la producción de almidón ya que posee una gran cantidad de carbohidratos, de los cuáles la mayor composición es de almidón, de acuerdo a los precios consultados se observa que es rentable para la producción de almidón, ya que es la segunda fuente más barata, después del trigo, se observa que es de fácil acceso ya que es un cultivo abundante en nuestro país y presenta una gran disponibilidad a lo largo del año, puede observarse que la papa posee un precio más alto que arroz, maíz y trigo por tonelada, por lo que desde el punto de vista económico no es muy viable para la producción de almidón, además de que la papa contiene casi la mitad de carbohidratos en comparación a los cereales gramíneos.

FUENTES ALTERNATIVAS DE ALMIDÓN A NIVEL MUNDIAL.

Se han mencionado las principales fuentes de almidón a nivel mundial, pero eso no significa que no existan otras alternativas como fuentes de almidón para distintos fines, las alternativas que existen generalmente son cultivos endémicos.

Existen también otras fuentes de almidón no convencionales las cuáles se han estudiado en estado nativo, se pueden mencionar las siguientes fuentes; chícharo frijol, avena, lenteja, jícama, tubérculo de chayote, sorgo, sorgo dulce, yam chino, taro, ñame, cebada, centeno y jengibre (Elliasson, 2004).

La cebada es utilizada principalmente por la Industria Cervecera, dado que es la principal materia prima para la producción de la cerveza y por tanto la principal fuente

de almidón, la conversión de almidón a carbohidratos fermentables para la levadura se lleva a cabo por sistemas enzimáticos presentes en la cebada.

Otras posibles alternativas para la obtención de almidón son frutas en estado inmaduro como lo son el mango y el plátano, son fuentes aceptables de almidón en estado inmaduro, la pureza de estos almidones es alta, la conversión del almidón a carbohidratos reductores se realiza por sistemas enzimáticos contenidos en las frutas. (Bello et ál., 1999).

PROCESO DE PRODUCCIÓN DEL ALMIDÓN.

Ya se mencionaron las principales materias primas para la obtención de almidón, básicamente la obtención de almidón a partir de las materias primas es sometido al mismo procedimiento de producción recepción, lavado, maceración, rallado, extracción, secado, envasado y comercialización. Previamente el almidón debe de ser separado de otros componentes de la materia prima como proteínas, grasas, fibras, azúcares, minerales. Para el caso de tubérculos y raíces se debe de realizar primero el lavado de la materia prima y posteriormente el troceado de la misma, recordando que para el caso de tubérculos como la papa y la yuca los gránulos se encuentran libres dentro de las células y la extracción de los gránulos no es un proceso complicado, en el caso de cereales se debe de realizar una molienda previa hasta obtener harina del cereal utilizado. Las industrias de almidón emplean procesos de molienda y refinación vía húmeda obteniéndose almidón con una pureza de 98% a 99.5%.

Ya troceada o molida la materia prima se realiza un lavado en corriente de agua continua y se arrastra el almidón, de dicho lavado se obtiene una suspensión en donde se filtra la lechada de almidón y se sedimentan los gránulos de almidón y posteriormente se seca en estufa de 38°C a 40°C hasta 30 horas (Ganga et ál., 1999).

CAPÍTULO 4

LIGNOCELULOSA COMO MATERIA PRIMA PARA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

GENERALIDADES DE LIGNOCELULOSA

La lignocelulosa es el principal y más abundante componente de la biomasa producida en el proceso de la fotosíntesis en las especies vegetales, anualmente se sintetizan 200,000 millones de toneladas, es conveniente decir que es una fuente renovable y a muy bajo costo, pudiéndose decir que en si las fuentes de lignocelulosa no poseen un costo, por ello es una materia prima muy rentable, lo que no resulta muy viable es el procesamiento de la misma la remoción y solubilización de la lignina para la obtención de carbohidratos reductores o sustratos para la fermentación.(Ragauskas et ál., 2006).

La lignocelulosa está compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina, la proporción de la composición de la lignocelulosa varía dependiendo de la especie vegetal, edad de la planta y la etapa de crecimiento, el material Lignocelulósicos constituye aproximadamente el 90% del peso seco de las plantas, de dicho 90% la proporción generalmente es 50 a 70% celulosa y hemicelulosa y de 15 a 30% está compuesta por lignina, a partir de la lignocelulosa se extraen los polímeros de interés para distintos fines biotecnológicos.(Lucas R. et ál.,2011).

No existen a ciencia cierta cuál es la planta o especie del reino vegetal que posee una mayor cantidad de material Lignocelulósicos, ya se menciona en el párrafo anterior las proporciones de los polímeros en el reino vegetal, ya que cada polímero cumple con una función diferente en la planta, las fuentes son tan abundantes que pueden ser infinidad de especies del reino vegetal, desde residuos agrícolas secos principalmente de plantas gramíneas (maíz, trigo, arroz, sorgo, cebada, etc.) Paja, residuos de la industria maderera como aserrín y trozos de madera, madera en general, restos vegetales secos generalmente obtenidos de jardines y parques ecológicos, malta gastada de cerveza, papel, bagazo, algodón .El material lignocelulósico es altamente accesible y disponible en todo el planeta tierra se encuentra en los bosques, selvas, ciudades, en todos los lugares donde esté presente el reino vegetal, en las empresas que generan residuos ya mencionados como la industria papelera, maderera, serrería que procesa grandes cantidades de material lignocelulósico, el mar también posee fuentes de dicho material como las algas que bien podría ser aprovechado para su sacarificación.

GENERALIDADES DE LA CELULOSA

La celulosa es una sustancia estructural, no de reserva en comparación al almidón, es el componente estructural primario de las paredes de las plantas, aunque también se encuentra en especies invertebradas marinas conocidas como tunicados, constituye más de la mitad del carbono de la biosfera y se estima que alrededor de 1×10^{15} Kg de celulosa se degradan y sintetizan por año en nuestro planeta, es por ello que es una fuente económica para la producción de sustratos para microorganismos y así producir biocombustibles (Voet., 2006).

La celulosa es un polímero de glucosa que se encuentra unido por enlaces β -1,4, la unión de dos moléculas de glucosa unidas por enlace β forman el disacárido celobiosa, formando este disacárido el polímero de celulosa, dicho enlace requiere de una mayor cantidad de energía para romperlo o hidrolizarlo en contraste al enlace tipo α (Ver figura 5), por lo que la celulosa presenta planaridad y hace que las cadenas de celulosa se acoplen en haces formando micelas cristalinas, las cuales se van alternando formando fibras (Primo, 1995).

La celulosa es el componente fundamental de la pared celular de los vegetales, forma los vasos del floema y del xilema, constituye el esqueleto de los tallos, ramas y troncos del reino vegetal. La celulosa está formada por fibras que están cementadas por compuestos amorfos como hemicelulosa, pectinas y lignina, cabe mencionar que en la pared celular primaria la celulosa forma fibras entrecruzadas y en los vasos las cadenas están unidas de forma paralela, dichas fibras están enlazadas por puentes de Hidrógeno entre los grupos hidroxilo de las cadenas adyacentes y por enlaces Van der Waals que aportan una gran resistencia a la tensión. La celulosa se hincha en contacto y presencia de disolventes que forman puentes de Hidrógeno, el hinchamiento queda restringido para las regiones amorfas.

El peso molecular aproximado de la celulosa nativa es de 600,000, lo que se traduce de 3,000 a 4,000 unidades de glucosa (Geissman T., 1973).

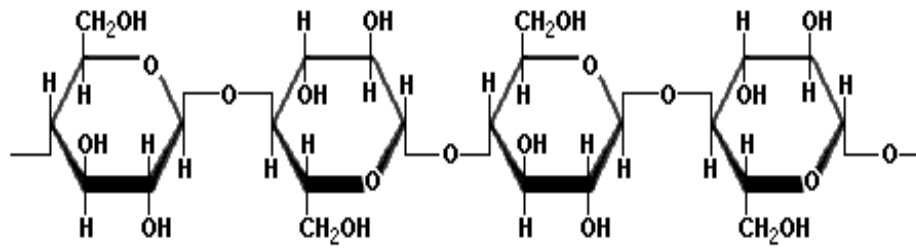


Figura 17.0. Estructura de la celulosa donde se observan los enlaces β -1,4. Fuente; (Scientific Phycis, 2014).

El contenido de celulosa varía en las distintas especies vegetales, en base al contenido de celulosa y pureza de la misma, la celulosa de mayor peso molecular y pureza que existe en el reino vegetal es la del algodón, con pesos moleculares tan altos como 570,000 los cuales corresponden a un grado de polimerización de 3,500. El peso molecular de la madera y otras fuentes como residuos agroindustriales es más bajo aproximado de 160,000, casi todas las reacciones en las que se involucra la celulosa degradan una parte de la cadena de celulosa incluida la reacción de disolución (Billmeyer, 1975).

La celulosa se sintetiza en la superficie externa de la membrana plasmática, los nucleótidos UDP-glucosa y GDP-glucosa que se forman en el citoplasma, se sitúan cerca de donde se localiza la enzima celulosa-sintetasa, formando la celulosa por extensión, la enzima puede moverse generando el alargamiento de la celulosa, la asociación de la celulosa con otros polisacáridos se asocia con la proteína extensina.

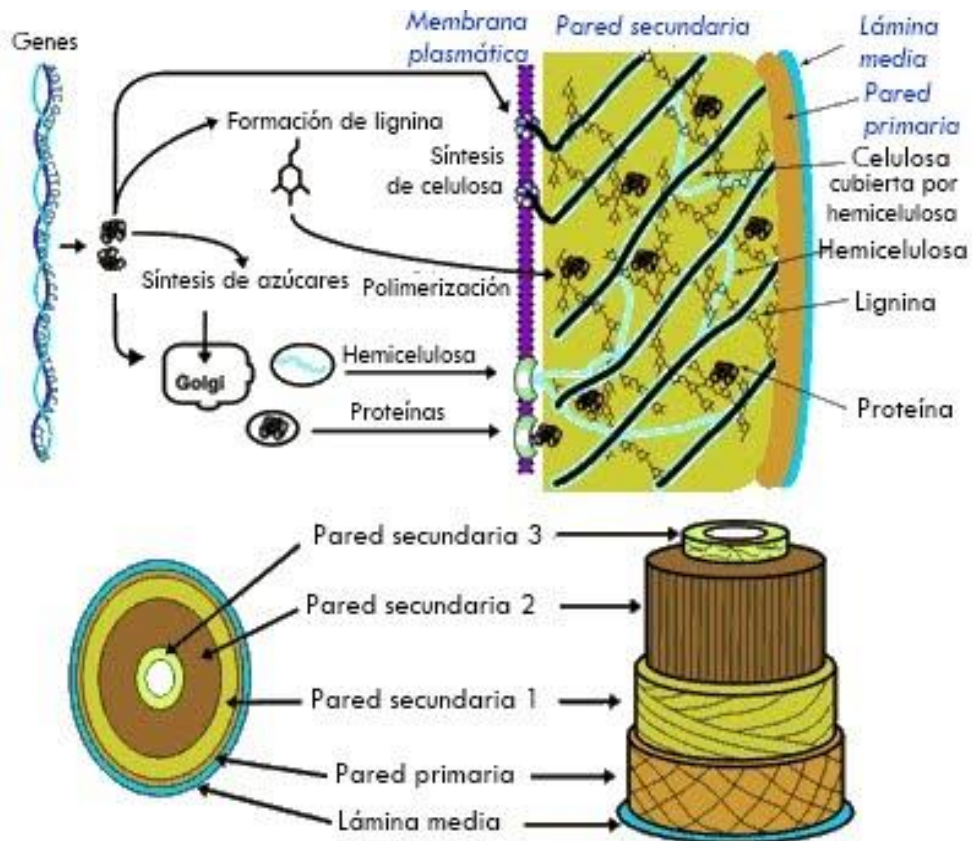


Figura 18.0. Estructura y composición de la pared celular vegetal, donde se observa la distribución de la lignocelulosa. Fuente (b.log.ia. 2.0, 2013)

La celulosa puede ser detectada por varios reactivos como el ácido peryodico o reactivo de Schiff el cual da una coloración magenta o el reactivo cloro yoduro de zinc en donde la presencia de celulosa nos da un color azul a violeta, aunque la presencia de hemicelulosa también nos da la misma coloración, para ello se debe de tratar previamente la muestra para eliminar la lignina (Sandoval E., 2005)

El punto de fusión de la celulosa es mayor a la temperatura de degradación, la celulosa posee un gran valor comercial e industrial ya que se procesa para la obtención de esteres como nitrocelulosa, acetato de celulosa y xantano de celulosa, también es utilizada como aditivo en la industria farmacéutica, alimenticia, para la fabricación de explosivos (nitrocelulosa), recordando que la celulosa presenta un alto grado de cristalinidad existiendo distintas formas comerciales.

MADERA UNA MATERIA PRIMA RENOVABLE Y ABUNDANTE

Los bosques y selvas son las principales fuentes de madera, durante años la madera ha sido utilizada para la elaboración de muebles y material para la construcción, además de ser utilizada para la generación de calor. La industria maderera y aserradera generan residuos que pueden ser aprovechados para la obtención de celulosa con distintos métodos ya sea químicos o biológicos. Existen diversas clasificaciones de la madera, generalmente la clasificación más común es por su dureza en relación con el peso específico, dicha dureza varía en el contenido de lignina que depende del tipo de árbol o planta y de la edad del mismo

Los residuos de la industria forestal pueden dividirse en dos clases: aquellos que proceden de recolección y extracción de trozas de los bosques y aquellos que son generados directamente de la industria serradora y maderera de madera ya procesada (FAO, 1991)

La madera es un material anisotrópico en muchas de sus características por ejemplo su resistencia y elasticidad, la clasificación de madera dura posee una mayor cantidad de lignina, los árboles de madera dura generalmente tardan varios años o siglos en alcanzar su tamaño final por ejemplo las Secuoyas Gigantes que pueden medir hasta 80 m, en contraste a las de madera blanda que tienen menor contenido de lignina

HEMICELULOSA.

La hemicelulosa a diferencia de la celulosa no es un polisacárido exclusivo de glucosa, el tamaño de la cadena de la hemicelulosa es de menor tamaño a la de la celulosa y además es ramificada, la naturaleza ramificada de la hemicelulosa la hace más fácil de hidrolizar que a la celulosa.

La variedad de los carbohidratos que componen a la hemicelulosa son pentosas (xilosa, arabinosa), hexosas (glucosa, manosa y galactosa), ácidos hexurónicos (ácido glucurónico, metilglucurónico y galacturónico) y deoxiosas (ramnosa y fucosa), la cantidad de celulosa y proporción de los distintos carbohidratos que componen la hemicelulosa depende de distintos factores como la especie vegetal y la edad de la misma. Para el caso de la madera se puede encontrar una mayor cantidad de manosa y galactosa en coníferas, en el caso de las maderas frondosas existe una mayor concentración de xilosa y grupos acetil. (Nogués, 2010).

Los carbohidratos en la hemicelulosa se encuentran enlazados por el tipo de enlace β 1-4 y en ocasiones por enlaces β 1-3, la biomasa vegetal posee de 15-35% de hemicelulosa, los componentes más relevantes de la hemicelulosa son glucomananos y xilanos, siendo lo xilanos los más abundantes constituyendo el 20-30% de la madera dura y plantas herbáceas, en algunos tejidos de pastos y restos de plantas gramíneas llega a contener más del 50% de la composición, se pueden encontrar grandes cantidades de xilanos en residuos forestales, residuos agrícolas, madera e industrias papeleras (Gírio et ál., 2005).

MOLECULAS PRESENTES EN LA HEMICELULOSA

XILANOS.

Los xilanos son componentes importantes en la hemicelulosa, los más abundantes de la misma, están compuestos por cadenas lineales de β -D-xilosa con enlaces 1,4-glicosídicos, la cadena consta de 30 a 100 unidades xilosa, la cadena presenta diversas ramificaciones y sustituciones, algunos xilanos también presentan arabinosa, glucosa, galactosa y glucoronato en ramas laterales unidas al carbono 3 de la cadena de xilosa (Carrillo, 2003).

El xilano es degradado más rápidamente que la celulosa, La β -1,4-endoxilanasas y la β -xilosidasas son las enzimas responsables de la hidrólisis de la cadena principal, la hidrólisis del xilano produce xilosa, xilobiosa y oligómeros de 2 a 6 unidades.

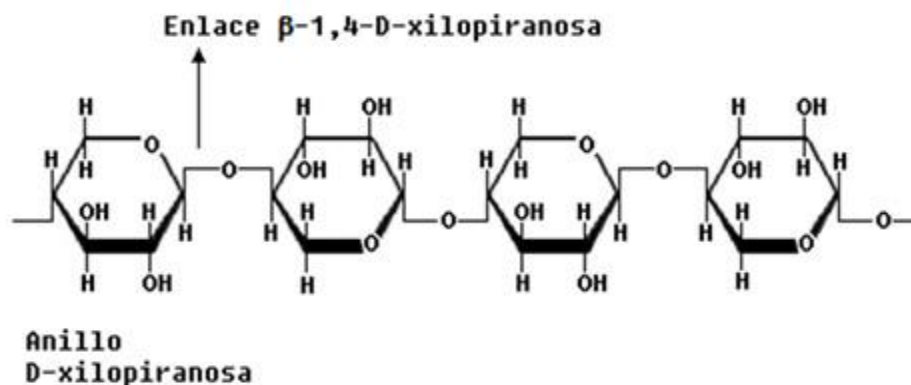


Figura 19.0. Estructura del xilano, presente en la Hemicelulosa. Fuente: (Olivo et ál., 2012).

La hemicelulosa al igual que la celulosa es un componente importante de la pared celular primaria, media y secundaria. Las hemicelulosas se unen al extremo de los polisacáridos pécticos y en las fibrillas de celulosa (Saeman et ál., 1954).

GLUCORONOXILANO

Son los principales componentes de la hemicelulosa en la madera dura del 15 al 30% del total de la masa seca, algunos árboles de madera dura son el roble, parota, castaño y haya, es un polímero lineal de unidades de β -D-xilopiranosil por enlaces glicosídicos β -1,4, este polímero está compuesto por xilosa que presenta acetilaciones en el carbono 2 y carbono 3, una de cada diez moléculas tiene enlazado un ácido urónico (4-O-acido metil glucorónico) que se encuentra enlazado a la xilosa por enlaces β -1,2. (Alén, 2000).

El porcentaje de los grupos acetilo varía de 8% a 17% del xilano total, el nombre estructural del glucoronoxilano de acuerdo a las moléculas enlazadas es (O-acetil-4-O-metilglucoronoxilano)

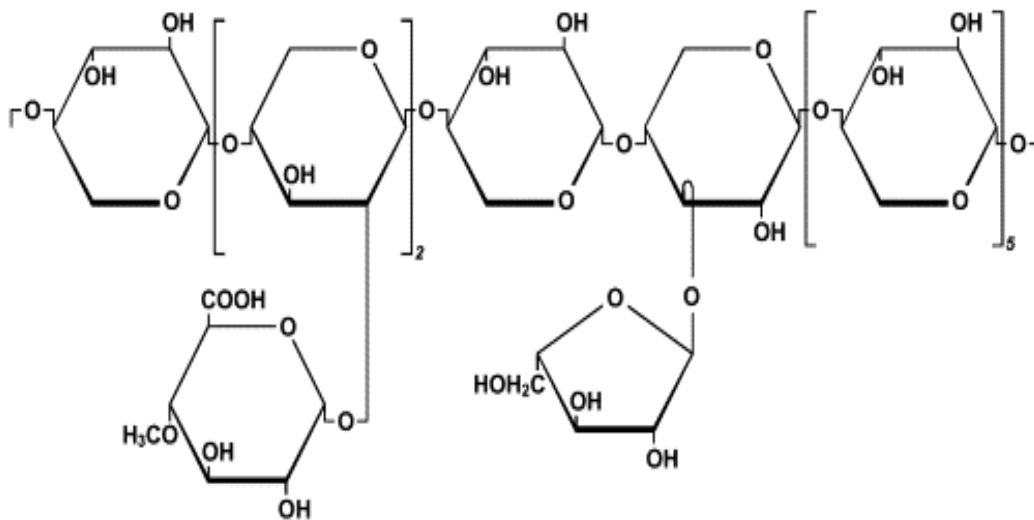


Figura 20.0. Estructura de glucoronoxilano, en conformación de Fisher, donde se observan enlaces tipo β

GALACTOGLUCOMANANO.

Son los principales componentes de la madera suave, componen aproximadamente del 20.0-25.0% de la masa seca de esta madera, algunas de las especies de madera blanda son álamo, abedul, aliso, alnus, pino y carcoma, en la madera dura conforman no más del 5% de la masa seca. Es un polímero lineal de unidades de β -D glucopiranosil y β -D manopiranosil unidas por enlaces glicosídicos β -(1,4) en donde en el Carbono 2 y Carbono 3 se encuentran acetilados o en dichos carbonos se encuentran enlazadas moléculas de β -D galactopiranosil en donde a su vez también se encuentran mediante enlaces β -(1,6) glucosa y manosa, la presencia de galactoglucomano y glucomananos en la madera favorecen la formación de microfibrillas en la celulosa. Los galactomananos adoptan una conformación helicoidal ligeramente extendida y flexible, dicha conformación deja al carbohidrato en estado sólido. La estabilidad natural de esa estructura está dada por los hidrógenos de las cadenas laterales de galactosas que se ligan a la cadena principal de manosa intermolecularmente (Suosa et ál., 2010).

Algunos galactoglucomananos son solubles en agua, principalmente en casos donde existen altos contenidos de galactosa en su composición (Girio et ál., 2010).

ARABINOGLUCORONOXILANO

El nombre de este compuesto es (4-arabino-O-metilglucoronoxilano) son los principales componentes de los residuos agrícolas, componen del 5 al 10% de la masa seca de la madera suave. Es un polímero lineal de β -(1,4)-D xilopiranosil, en donde se encuentran enlazado mediante enlaces β -(1,2) moléculas de 4-O-metil- β -D-glucopiranosil ácido urónico y moléculas de L-arabinofuranosil (Woodward J., 1984)

XILOGLUCANO

Este polímero es predominante en la pared primaria de la madera dura, aunque también puede estar presente en residuos agrícolas como pastos secos, este polímero está compuesto por unidades de D-Glucosa a un porcentaje de 75% del total de la composición del polímero las cuales se encuentran unidas mediante enlaces β -1,4, el otro porcentaje de 25% se encuentra constituido por residuos de O-6 D-Xilosa, L-

arabinosa y D-galactosa enlazados entre sí. La cadena también contiene moléculas de L-Fucosa unida mediante enlaces β -1,2 a moléculas de galactosa. Los xiloglucanos también pueden contener grupos acetilo en su estructura (Maruyama et ál., 1996).

Los xiloglucanos se encuentran enlazados a la celulosa mediante puentes de Hidrógeno, protegiendo a la celulosa (Carpita y Gibeaut, 1993).

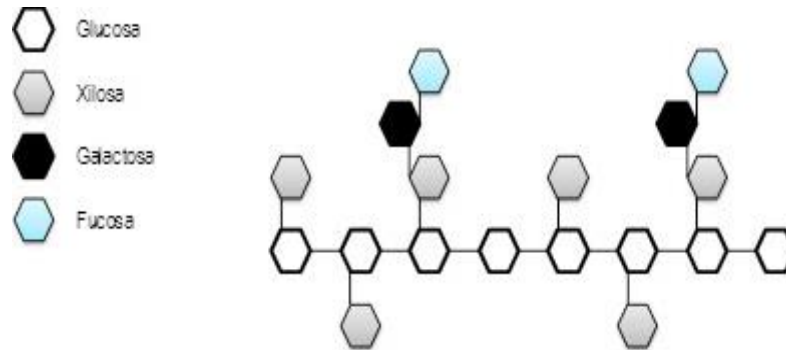


Figura 21.0. Estructura y composición de la molécula de xiloglucanos, donde se observa el orden de glucosa, xilosa, galactosa y fucosa. Fuente:(Suosa et ál., 2010).

ARABINOXILANO

Este compuesto hemicelulósico que compone la mayor parte de la estructura de la hemicelulosa de la pared celular de granos de plantas gramíneas, la composición es parecida a la de la madera dura pero la cantidad de L-arabinosa es más alta. El arabinoxilano está es un polímero lineal de β - (1,4)-D-xylopiranosa, presentándose también unidades de β -L-arabinofuranosil los cuáles se enlazan en la posición 2-O y/o 3-O , también puede haber sustituciones de grupos acetilo. Las moléculas que componen el arabinoxilano pueden esterificarse en la presencia de algunos ácidos como ácido hidroxicinámico. Las interacciones covalentes intermoleculares del arabinoxilano entre otros compuestos que componen la hemicelulosa y componentes de la pared celular hacen que sea difícil la extracción del arabinoxilano (Ebringerová et, ál., 2005).

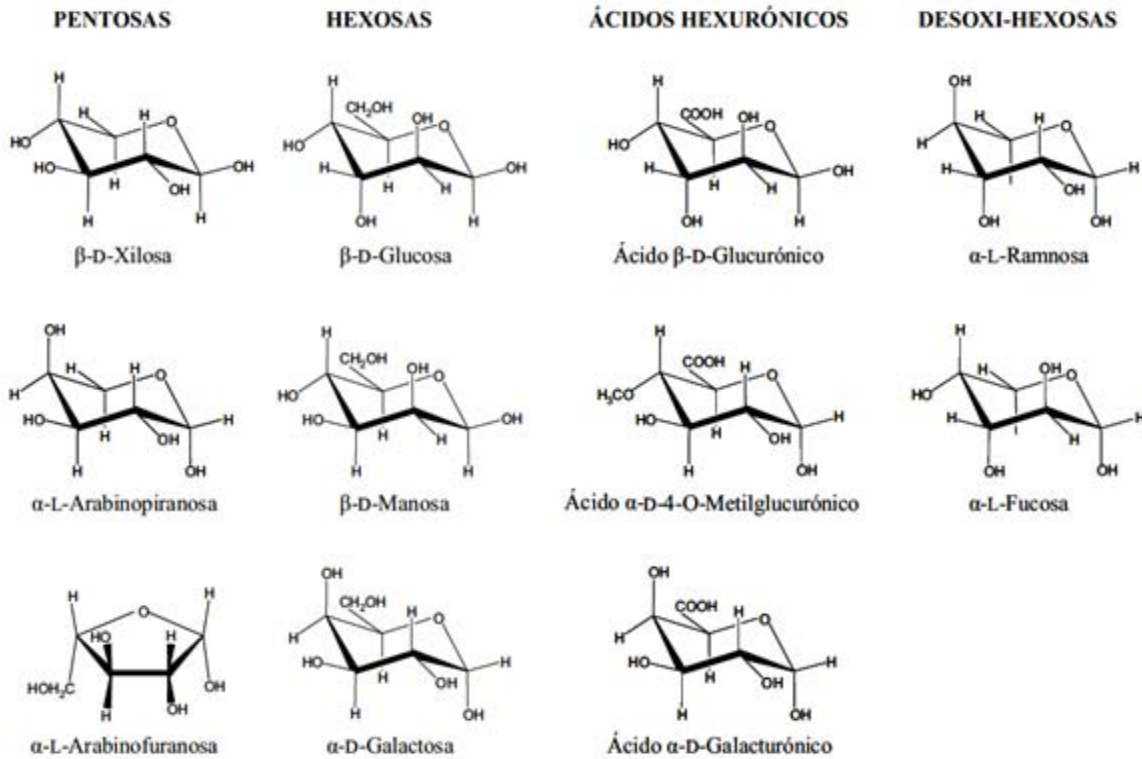


Figura 22.0. Monosacáridos presentes en la Hemicelulosa. Fuente:(Fengel y Wegener, 1984).

GENERALIDADES DE LA LIGNINA

La lignina es otro compuesto de una importancia en los materiales Lignocelulósicos, se relaciona directamente a la rigidez de la pared celular de las plantas. La lignina se sintetiza en la pared secundaria donde la madera se obtiene de los árboles, plantas vasculares pertenecientes al grupo de Spermatophytae que se divide en gimnospermas y angiospermas. La pared celular de los arboles está compuesta por tres partes fundamentales y bien diferenciadas la pared primaria, la lámina media o sustancia intercelular y la pared secundaria (Kerr y Bailey, 1934).

La composición de las distintas capas es variable la pared primaria, la pared primaria es la más delgada de todas las capas midiendo de (0.1-0.2 μm), para el caso de la pared secundaria es variable el espesor de la misma la cual está compuesta de tres capas con propiedades fisicoquímicas diferentes como espesor y composición de las mismas además de orientación de las fibrillas de celulosa respecto a su eje. (Sjöström E., 1993).

La lignina es un polímero que constituye la biomasa, principalmente residuos lignocelulósicos, es el segundo polímero más abundante en el planeta, el contenido de

lignina también es variable dependiendo del tipo de madera se sabe que para maderas de coníferas la composición de lignina es de 25% a 33% , para el caso de las maderas frondosas de 18 a 34%, la lignina se encuentra la mayor parte en la corteza media de los árboles, la función biológica de la lignina es el transporte de metabolitos y nutrientes en el reino vegetal , es la molécula encargada de proporcionar rigidez a la pared celular , dicha rigidez se presenta debido a que la lignina se encuentra enlazada de forma covalente a la celulosa y la hemicelulosa , además de proteger a la planta de ataque de microorganismos como hongos capaces que poseen enzimas capaces de hidrolizar la celulosa.(Chabannes *et al.*,2001; Jones *et al.*,2001).

La lignina es un polímero sintetizado a partir de la fenilalanina siguiendo la ruta de síntesis de ácidos cinámicos, a partir de la lignina se elimina una molécula de amonio (NH₂), esta reacción es favorecida por la enzima (PAL) fenilalanina amonio liasa, formándose posteriormente derivados del ácido benzoico, la siguiente ruta se enlaza un grupo hidroxilo para formar ácido cumárico, hasta la formación de compuestos fenólicos como fenilpropanoides, cumarinas, derivados del ácido benzoico, ligninas, flavonoides y taninos condensados principalmente.(Taiz y Zieger, 2006).

La polimerización de la lignina se lleva a cabo por transferencia de electrones, catalizadas por peroxidasas o lacasas en presencia de peróxido de hidrógeno u oxígeno, posteriormente empieza el acoplamiento de monolignoles radicales entre sí con el polímero de lignina con un intermediario de reacción llamado metiluro quinónico, reaccionando con agua , polisacáridos y grupos fenólicos recuperándose la aromaticidad de los anillos, se polimeriza favoreciendo los enlaces β -O-4 (Freudenberg y Neish,1968).

No se puede decir la composición exacta de la lignina, ya que la composición del polímero es muy variable, principalmente la composición es de derivados fenilpropanoides como alcohol colifenirico, cumárico y sinapílico, existe una gran variedad de enlaces en la lignina pero los que más abundan son uniones tipo éter y uniones carbono-carbono, los monómeros del polímero de lignina encontrados por cromatografías y espectrofotometría son alcohol sinapílico, alcohol colifenérico, derivados acetilados y p-cumaroilados de los tres compuestos anteriores y sus aldehídos correspondientes.

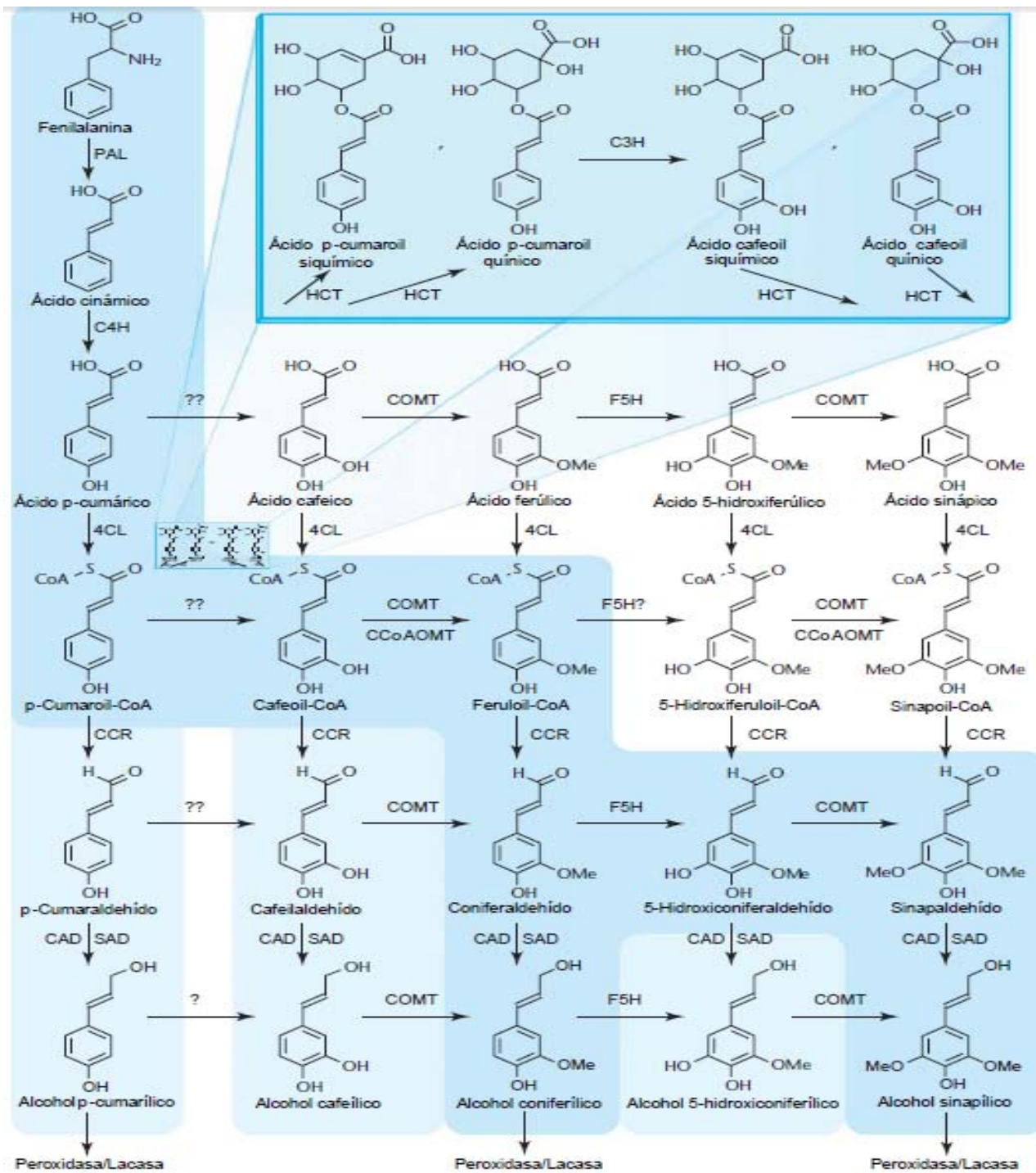


Figura 23.0 Ruta sintética de la lignina en angiospermas, a partir de fenilalanina.

Fuente : (Boerjan *et ál.*, 2003).

CAPÍTULO 5

FUENTES DE SUBSTANCIAS PÉCTICAS

CARACTERÍSTICAS DE LAS PECTINAS

Las pectinas son macromoléculas cuya función es ser el cemento celular en frutas y vegetales, se encuentran enlazadas con hemicelulosas una de las características de las pectinas es que pueden formar geles en presencia de hexosas y pentosas, ya sean aldosas y cetosas, también forma geles en presencia de iones metálicos monovalentes como bivalentes, estas sustancias pueden extraerse de pulpas molidas, secas o húmedas de diversas frutas o vegetales, debido a la naturaleza de su molécula son heteropolisacáridos los cuáles pueden ser aprovechables para fines biotecnológicos como sustratos para la fermentación y así ser utilizados para la producción de biocombustibles.

La demanda anual de pectina es de 300,000 toneladas, creciendo alrededor de 4.5% anualmente (Partos, 2006).

Las pectinas están presentes en todas las plantas, las especies vegetales que poseen una mayor cantidad de pectinas son las manzanas, naranjas y limones, en general se extraen de la molienda del fruto de estas especies, para la obtención de pectinas se pueden emplear cítricos de calidad inferior utilizada para el consumo directo o los excedentes de producción, de 100 Kg de fruto se obtiene lo siguiente: 44 Kg de jugo utilizado para consumo directo en la industria alimenticia y 56 Kg de pulpa de la cual se obtienen aceites esenciales y pectinas, de los 56 Kg de pulpa se obtienen 13 Kg los cuáles se extraen por hidrólisis ácida de pH 1.5 a 3.0 a temperaturas de 60°C a 100 °C, este tratamiento tiene como fin precipitar a las pectinas, hidrolizando enlaces de los carboxilos galacturónicos (Vian,1994).

El rendimiento en la extracción de pectina es aumenta cuando se disminuye el pH y se aumenta la temperatura, viéndose reflejado en el contenido de ácido urónico

La cantidad de pectina presentes en distintas especies vegetales depende del grado de maduración de la fruta, ya que a medida que la fruta madura los sistemas enzimáticos presentes en las frutas y plantas degradan la pectina, es por ello que la dureza del fruto se relaciona, con la cantidad de pectina, la dureza se relaciona con el grado de madurez, a mayor tiempo menor cantidad de pectina.

La siguiente tabla nos muestra la cantidad de pectina presentes en especies vegetales

Tabla 15.0 Contenido de pectina en algunos frutos y vegetales.

Alimento	Pectina (g/100 g de muestra)	Alimento	Pectina (g/ 100 g de muestra)
Manzana	0.78	Haba	0.70
Plátano	0.94	Remolacha	0.01
Uva	0.19	Brócoli	0.49
Toronja	3.90	Col de Bruselas	0.78
Naranja	2.36	Col roja	0.53
Durazno	0.39	Zanahoria	2.00
Piña	0.49	Lechuga	0.34
Ciruela	0.44	Cebolla	0.35
Fresa	0.75	Chícharo	0.34
Melón	0.18	Papa	0.83

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LAS PECTINAS

La estructura general de las pectinas son heteropolisacáridos, la cadena está compuesta por ácidos pécticos y pectatos, están constituidas por polímeros lineales de ácido galactopiranosilurónico unidos con enlaces glicosídicos α -D 1,4 , el grado de metoxilación de las pectinas depende de la fuente, método de extracción y purificación de las mismas, presentan esterificación con metilos en los grupos carboxilos, se pueden distinguir dos clases de sustancias pécticas, los ácidos pectínicos, en donde los ácidos galacturónicos enlazados se presentan como ésteres metílicos y los ácido pécticos que solo son cadenas de ácido galacturónicos sin esterificación.(Badui 1999).

Las pectinas también están compuestas por protopectinas, también compuestas por ácido galacturónico esterificadas con metanol, las pectinas presentan azúcares neutros como D-galactosa, L-arabinosa y L-ramnosa en mayores proporciones, aunque también se encuentran proporciones de D-Glucosa, D-manosa y D-Xilosa (Fishman et ál., 1993).

La composición de las pectinas varía dependiendo de la fuente por ejemplo se observa potencial en la pectina de cacao para producción de bioetanol , la pectina extraída del cacao posee un contenido de 64.0% de carbohidratos de los cuáles 8% de ramnosa, 1.9% de arabinosa, 1.4% de xilosa, 2.6% de manosa, galactosa 16.7% y glucosa 4.1% , dichos carbohidratos pueden ser utilizados como sustratos para la fermentación para la producción de biocombustibles, además la pectina de cacao posee 3.8% de proteínas y 9.4 % de compuestos fenólicos, ramnosa y galactosa generalmente se encuentran en mayores concentraciones que otros monosacáridos en todas las fuentes de pectinas(Morris y Ralet, 2011).

La pectina es un coloide cargado negativamente, las soluciones de pectina tienen comportamiento dextrógiro, la pectina cruda comercial presenta impurezas como hemicelulosas, pentosas, galactosas entre otros carbohidratos, estos son favorables para la obtención de carbohidratos fermentables si el fin de la pectina es utilizarla para la producción de biocombustibles, el peso molecular oscila entre 20,000 a 400,000 Daltons, la pectina de manzana presenta una mayor variación en cuánto a peso molecular se refiere(O beirne y Van Buren,1983).

Las pectinas se clasifican en pectinas de alto metoxilo, de bajo metoxilo, estos están relacionados con el grado de esterificación, las pectinas de alto metoxilo presentan un contenido de metoxilo mayor a 50% y las de bajo metoxilo menor a 50%.Los estudios de RMNH y RMNC indican que el monómero ácido galacturónico posee una conformación de silla que cambia al agregar iones de Calcio , esto se debe a que va formando puentes y uniones entre el Calcio, generando interacciones tipo caja de huevo(Rinaudo et ál., 1980).

Las pectinas pueden sufrir hidrólisis por medios ácidos, básicos y por sistemas enzimáticos, la hidrólisis ya sea básica o ácida ocasiona la eliminación de grupos metoxilo y acetilo los cuales liberan moléculas de ácido galacturónico, ácido péctico y protopectinas.

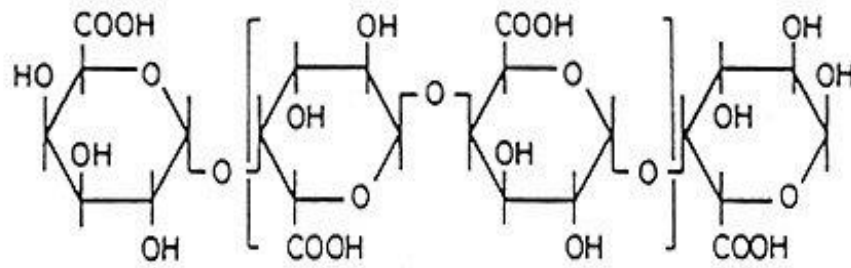


Figura 24.0. Estructura de ácido poligalacturónico principal componente de las pectinas.
Fuente: (Fennema R., 1993).

DISPONIBILIDAD DE LAS PECTINAS.

La producción y disponibilidad de las pectinas como materia prima para la conversión a azúcares fermentables es prácticamente de fácil acceso para la mayoría de los países productores de frutas, principalmente de cítricos y manzanas, tejocote, membrillo, cacao, papaya, café, la pectina no solo se encuentra en los frutos, también se encuentra presente en la pared de ciertos vegetales.

La extracción de pectinas del cacao es una alternativa a la pectina obtenida por cítricos, se lleva a cabo con ácidos minerales principalmente ácido nítrico y producen rendimientos de 11.5 % en base seca (Vriesmann et. ál., 2011).

En México se están buscando alternativas a residuos agrícolas y desperdicios vegetales, algunas alternativas a las pectinas comerciales son pectinas extraídas del xoconostle y tejocote, los usos de la pectina pueden ser variados, principalmente se utiliza como agente gelificante y viscosante en la industria de alimentos, utilizada en la elaboración de mermeladas, jaleas, confitería entre otras, en la industria farmacéutica se utiliza con caolín para tratamiento de la diarrea, es por ello que la pectina es una materia prima muy accesible en el mundo y en nuestro país.

La producción de pectina generalmente se relaciona con la producción de cítricos aunque existen algunas excepciones, ya que México puede producir la materia prima pero no cuenta con la infraestructura para la obtención de la pectina tal y se ve en la necesidad de importar una gran cantidad de pectina utilizada, el fruto que contiene una mayor cantidad de pectina es sin duda la naranja además de que es el cítrico más

sembrado y de bajo costo a nivel mundial, ocupando el 10.5% de la producción mundial de frutas, los residuos generados por la naranja pueden tener varios fines, entre ellos la producción de biocombustibles, etanol y la obtención de pectina.

Los residuos de la naranja poseen un 42.5% de pectina cítrica, siendo el componente de mayor abundancia en los residuos generados por la naranja, en sí la cascara de naranja es una fuente de carbohidratos posee glucosa y fructosa, la pectina de la naranja puede ser hidrolizada por distintos métodos ya sea físicos, químicos o enzimáticos que al hidrolizarse produce ácido galacturónico, arabinosa y galactosa, en menor proporción contiene xilosa, ramnosa y glucosa (Grohmann et ál., 1995).

Los precios de la pectina en nuestro país son de 100.00 a 200.00 MXN dependiendo del proveedor y la calidad de la misma especificada en la ficha técnica del proveedor (Quiminet, 2013), para la obtención de carbohidratos reductores se puede utilizar la pectina directamente como materia prima, dando un tratamiento para la hidrólisis de la misma y se obtengan los carbohidratos, aunque no será muy rentable ya que los precios de la pectina son elevados y no se obtendrá un alto rendimiento de carbohidratos, es conveniente utilizar los residuos de industrias procesadoras de jugo de cítricos o frutas, se sabe que para la obtención de la pectina se muele y deshidratan los residuos, se puede procesar directamente la molienda para la obtención de carbohidratos, el fin biotecnológico puede variar.

PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE PECTINAS

- **Extracción de pectinas de biomasa**

Para la extracción de las pectinas de la biomasa se debe de secar a una humedad entre 10-14 % para posteriormente disminuir el tamaño de partícula mediante la molienda, la biomasa deshidratada (50 g de biomasa / 300 mL de agua destilada) se adicionan al reactor a una temperatura entre 60-90° C a 250 rpm y se acidifica el medio a pH entre 1.2 a 2.0 utilizando ácido sulfúrico, clorhídrico a un tiempo entre 1 a 4 horas. Terminado el proceso anterior se enfría el sistema a 20° C y se filtra dos veces en filtros de nylon, el primero en 100 µm y posteriormente en 20 µm, del filtrado anterior se ajusta el pH a 3.5 con hidróxido de sodio o potasio. Las pectinas extraídas se precipitan en alcohol al 95% adicionando 4 volúmenes respecto a la biomasa pécticas y

se centrifuga a 17675 g durante una hora, la pectina se recupera en agua y se seca a temperatura de 35 a 40°C (Khule R. N. et ál., 2012).

Cabe destacar que para la producción de bioetanol mediante sustancias pécticas raramente se realiza una extracción de las pectinas, se realiza directamente la hidrólisis ácida en donde son hidrolizados la mayor parte de los carbohidratos, la hidrólisis se lleva a cabo en un reactor de membrana.

- **Hidrólisis ácida**

Las condiciones de hidrólisis se ve influenciada por factores como grado de metilación, pH del sistema, temperatura y iones calcio , el proceso de hidrólisis de pectina para obtener altos rendimientos de carbohidratos fermentables es realizar primeramente una hidrólisis química y posteriormente una hidrólisis enzimática, de la hidrólisis de sustancias pécticas se obtiene ácido urónico y monosacáridos neutrales (galactosa, arabinosa y ramnosa), (Garna H. et ál 2006) mencionan las condiciones de hidrólisis ácida óptimas son 40.0 % de biomasa / volumen de ácido sulfúrico a concentraciones de 0.2, 1 y 2 M a 100° C, alcanzando el rendimiento máximo a 18, 6 y 3 horas respectivamente , pasado ese tiempo se empiezan a formar lactonas que no son sustratos para la producción de bioetanol y si se utilizan temperaturas menores los rendimientos disminuyen proporcionalmente

- **Hidrólisis enzimática**

Someter la biomasa péctica a hidrólisis enzimática sin pretratamiento de hidrólisis ácida en sí genera mejores rendimientos de hasta 66% v/v donde hay una mayor despolimerización de cadenas poligalacturónicas, la enzimas utilizadas para la hidrólisis de pectina son: (Bakó E. K. et ál. 2007)

Poligalacturonasas

Este tipo de enzimas hidroliza los enlaces glicosídicos α -D (1,4) presentes en las pectinas produciendo ácidos pécticos, las Poligalacturonasas son de origen fúngico como *Aspergillus Niger*. Las Poligalacturonasas a su vez se clasifican en endopolimetilgalacturonasa que hidroliza la pectina a ácidos pécticos y la endopoligalacturonasa que hidroliza los ácidos pécticos. Por otro lado existen enzimas

poligalacturonasas exógenas que son exopolimetilgalacturonasa que hidroliza pectina y exopoligalacturonasa que hidroliza ácidos pécticos (Belitz & Grosch, 2004). Las condiciones óptimas de Poligalacturonasas de Sigma Aldrich son pH de 4.1 en buffer de acetatos, 150 rpm, a una temperatura de 30 -50° C ,a un tiempo de hidrólisis de 48 horas, con actividad de 1.7 U/mg, dicha actividad se define como la cantidad de enzima que es capaz de producir 1 μ mol de ácido galacturónico , la concentración óptima de enzima es 0.15-0.20 g de enzima / 10 g de peso de biomasa péctica dando rendimientos de hasta 40.6% de hidrólisis de pectina a ácido galacturónico y sus respectivos oligómeros(Bakó E. K. et al., 2007).

Pectinesterasas: Dentro de esta clasificación entran las enzimas pectin metil esterases y pectin hidrolasas, estas enzimas se encuentran ampliamente en el reino vegetal principalmente en frutas, hongos y bacterias que degradan vegetales, catalizan la hidrólisis de grupos metoxilo de residuos galacturónicos metilados produciendo metanol y pectatos, siendo enzimas del tipo ácido carboxilo esterasa , son enzimas altamente específicas, su acción se detiene a ciertos porcentajes de metoxilo (0.7-1.6%), el pH óptimo de Pectinesterasas fúngicas es de 3.5,a una temperatura entre 45 a 50° C, una actividad de 60 U/l a un tiempo mayor a 24 horas (Nikolic y Mojovic 2007).

Pectato liasas: Las enzimas Pectato liasas también despolimerizan los productos obtenidos de las polimetil galacturonasas pero lo hacen mediante un mecanismo de β -eliminación que genera un urónido insaturado.

Los principales productos de la hidrólisis enzimática de las pectinas son ácido galacturónico, xilosa, glucosa, galactosa, arabinosa y urónidos insaturados.

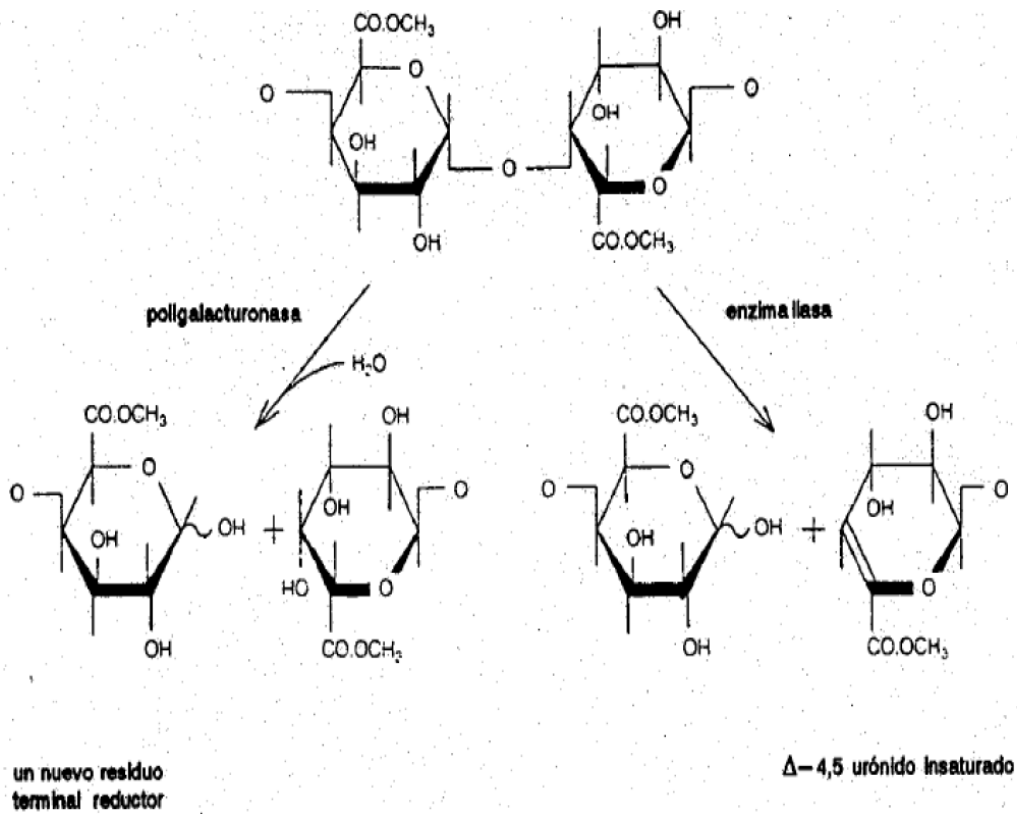


Figura 25.0.Hidrólisis enzimática de pectinas.

- **Fermentación:**

Dado que de la hidrólisis de pectina se obtienen pentosas y hexosas es recomendable inocular en el fermentador microorganismos capaces de fermentar pentosas y hexosas a las condiciones adecuadas de dichos microorganismos.

- **Destilación**

A temperaturas mayores al punto de ebullición del etanol, (78°C.)

CAPITULO 6

PROCESOS DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE MATERIA PRIMA DE PRIMERA GENERACIÓN

PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE MATERIAS PRIMAS QUE CONTIENEN ALMIDÓN

El origen de las materias primas que contienen almidón como carbohidrato biodisponible para la producción de bioetanol se basa en granos (maíz, arroz, cebada y trigo) y tubérculos (papa, mandioca y yuca), es por ello que los pretratamientos difieren si el origen es de cereales (granos) o de tubérculos, la obtención de la fracción fermentable depende también de las características fisicoquímicas del almidón presente en la materia prima, dichas características se basan principalmente en contenido de amilosa y amilopectina y a partir de estas obtener glucosa que pueda ser metabolizada a etanol.

Las desventajas de producir bioetanol a partir de almidón es que se requiere una gran cantidad de energía particularmente durante la sacarificación y licuefacción, el proceso de sacarificación requiere arriba del 30% de la energía necesaria para el proceso de conversión de almidón a bioetanol, las condiciones de gelatinización y licuefacción son variadas, generalmente temperatura, humedad del almidón, los rangos óptimos de temperatura fluctúan entre 90 a 150° C y el rango de humedad va de 40 a 60 %, aumentando proporcionalmente el rendimiento de hidrólisis con la humedad. (Eliason, 2004).

Para obtener almidón a partir de granos se debe de realizar previamente la extracción y/o obtención del mismo, se puede utilizar almidón de alguna materia prima en especial adquiriéndose directamente del proveedor, considerando la disponibilidad, características y costos del mismo.

Por el contrario se puede utilizar directamente la materia prima previamente secada hasta una humedad no mayor a 14 % y posteriormente realizar la disminución del tamaño de partícula o molienda, el proceso de obtención de bioetanol utiliza la molienda que puede ser de dos tipos molienda húmeda y molienda seca. (Lee et ál., 2007)

La molienda se realiza hasta que el tamaño de partícula sea característico de harina, los molinos utilizados para la mayoría de los procesos de molienda son molinos de seis o cuatro rodillos, el tamaño de partícula es importante para que las enzimas y el agua puedan penetrar más fácilmente al almidón para obtener buenos rendimientos de etanol

El proceso de obtención de bioetanol a partir de almidón se resume en 5 pasos: molienda de la biomasa, licuefacción, hidrólisis o sacarificación, fermentación y recuperación por destilación, las condiciones de temperatura, tiempo de proceso, enzimas y equipos se ve influenciado por muchos factores tales como procedencia del almidón y tipo de molienda utilizada, se describirán las condiciones de cada etapa de obtención de bioetanol.

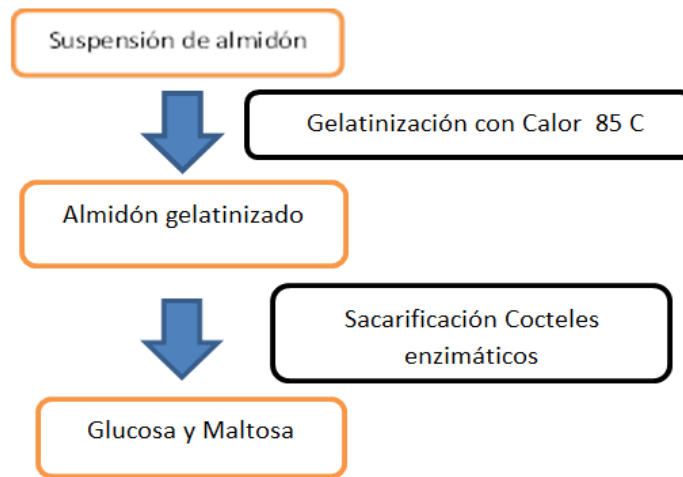


Figura 26.0. Diagrama General de Hidrólisis de Almidón Fuente (Masuda et ál., 2013).

En la actualidad se utiliza el proceso de sacarificación y fermentación simultánea utilizando microorganismos que presentan capacidad amilolítica debido a avances de recombinación genética, ejemplo de ello es la modificación de levaduras que expresan genes que codifican α amilasas y glucoamilasas pudiendo utilizar el almidón como sustrato junto con microorganismos con capacidad fermentativa, el proceso presenta distintas ventajas sobre la sacarificación y fermentación separadas, dichas ventajas son las siguientes (Castaño y Mejía, 2008):

- Reducción del tiempo de proceso de obtención de etanol, dado que el proceso es simultáneo y por tanto la reducción de costos.
- Reducción de la inhibición de las enzimas por sustrato

GELATINIZACIÓN DEL ALMIDÓN

En este proceso se lleva a cabo la gelatinización del almidón en donde aumenta la viscosidad de la suspensión de almidón debido a que se lleva a cabo la alteración de las cadenas de amilosa y amilopectina, recordado la solubilidad de las mismas, en la gelatinización del almidón ocurre la solubilización de la amilopectina y la lixiviación de la amilosa provocando la ruptura de los gránulos de almidón, siendo los gránulos más grandes los primeros en romperse liberando amilosa y amilopectina que son sustratos para que se pueda realizar la sacarificación. , el rendimiento de la gelatinización del almidón se ve influenciado por la transferencia de calor, es importante mencionar que en la sacarificación se ve disminuida la viscosidad debido a la hidrólisis de moléculas, donde el rendimiento de sacarificación depende del mezclado influyendo también factores como velocidad y tiempo del mismo (Masuda et al., 2013).

La temperatura de gelatinización generalmente se realiza a temperaturas menores a 120° C, la temperatura promedio utilizada en este proceso es de 85° C en donde el diámetro de los gránulos de almidón aumenta conforme pasa el tiempo hasta que explotan (ver figura 22). Para el caso del almidón de yuca, maíz céreo y arroz gelatinizan a temperaturas más bajas de 60 ° C a 67 ° C en comparación a otros almidones, por lo que la energía utilizada en extrusores será menor para esta variedad de almidones, es por ello que estos almidones son un alternativa rentable para la producción de bioetanol.

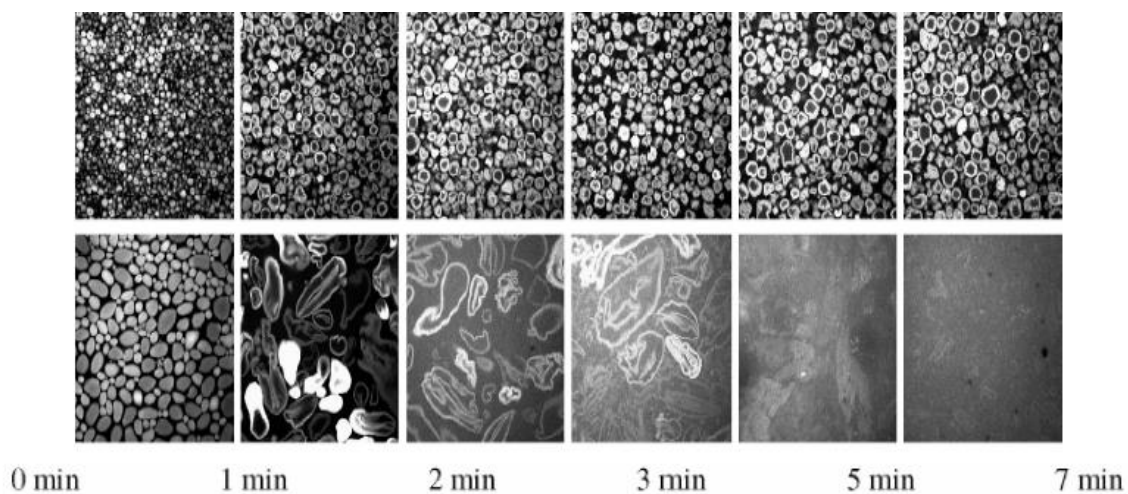
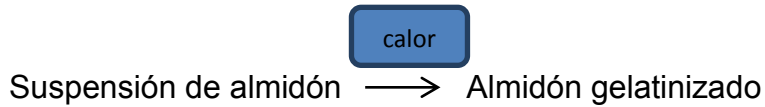


Figura 27.0. Evaluación microscópica de tratamiento térmico de almidón de tapioca a 115°C.

El proceso de gelatinización del almidón presenta una cinética de primer orden, siguiendo el siguiente sistema y ecuación (Zanoni et ál., 1995).



$$r_{ge} = k_{ge} \exp\left(-\frac{E_{ge}}{RT_{ge}}\right) C$$

Donde

k_{ge} = Constante de rendimiento de reacción

T_{ge} = Temperatura de reacción

E_{ge} = Energía de activación

C = Concentración de almidón sin gelatinizar

El rendimiento de gelatinización se ve fuertemente afectado por la temperatura del sistema, es por ello que la transferencia de calor del reactor al flujo es importante y debe ser en dirección radial, lo anterior puede realizarse en equipos Couette-Taylor en donde se puede incrementar la presión del sistema, utilizando distintos gases aumentando el grado de gelatinización y así obtener rendimientos casi del 100% de hidrólisis de la amilosa y amilopectina presente en el almidón, algunos equipos para la licuefacción e hidrólisis del almidón son del tipo Couette-Taylor de acero inoxidable, en donde se somete la suspensión del almidón a 85°C y el reactor posee la característica de rotar a ciertas velocidades, la velocidad se incrementa gradualmente para liberar amilosa y amilopectina, siendo la velocidad de 100 rad/s donde se obtiene el rendimiento máximo de hidrólisis. (Masuda et ál., 2013).

La gelatinización es un punto crítico para la obtención de buenos rendimientos de carbohidratos fermentables, el grado de gelatinización del almidón puede ser determinada y observada por diversos equipos como el microscopio de luz donde se puede observar la birrefringencia del almidón en tiempo real, calorímetros de barrido diferencial (DSC) en donde se analiza la entalpía de gelatinización del almidón y microscopios de polarización. Los procesos de gelatinización y sacarificación pueden variar, se pueden realizar de forma simultánea o separada.

En la etapa de licuefacción de almidón se lleva a cabo la gelatinización de la misma por acción del agua, temperatura y presión, adicionándose también enzimas alfa amilasas o beta amilasas, la gelatinización favorecerá la acción de las enzimas alfa amilasas que se adicionan generalmente después de la gelatinización o durante la misma, el ajuste del pH se puede realizar con soluciones de HCl y ácido fosfórico, a continuación se describirán las generalidades de las enzimas alfa y beta amilasas además de las condiciones del proceso

SACARIFICACIÓN ENZIMÁTICA DEL ALMIDÓN

La sacarificación del almidón tiene como fin hidrolizar las cadenas de amilosa y amilopectina producidas en la licuefacción, dado que los gránulos de almidón nativos poseen una estructura semicristalina resistente a la hidrólisis enzimática, es por ello que es necesario gelatinizar al almidón para liberar las cadenas de amilosa y amilopectina, de la hidrólisis enzimática se obtienen diferentes carbohidratos fermentables dependiendo del tipo de enzima utilizada, dichos carbohidratos pueden ser maltosa, maltotriosa, isomaltosa, glucosa y dextrinas, el grado de sacarificación dependerá de los siguientes factores.

- tiempo de gelatinización y licuefacción, a mayor tiempo se obtendrá una mayor cantidad de cadenas de amilosa y amilopectina, aumentando así la cantidad de carbohidratos fermentables obtenidos de la sacarificación enzimática
- la presencia de lípidos, ácidos grasos libres, en especial la presencia de complejos amilosa/lípidos proporciona una cierta resistencia a la hidrólisis con α -amilasas aumentando así el tiempo de hidrólisis, principalmente en almidón de maíz existe una gran cantidad de lípidos (Tester et ál., 2006).
- La cristalinidad y dobles hélices presentes en el almidón, es otro factor que influye en la sacarificación, la cristalinidad aumenta la resistencia a hidrólisis, siendo los almidones del tipo B y C más resistentes a la hidrólisis enzimática, en general siendo más resistentes los almidones de alta amilosa (Gerard et ál., 2001).

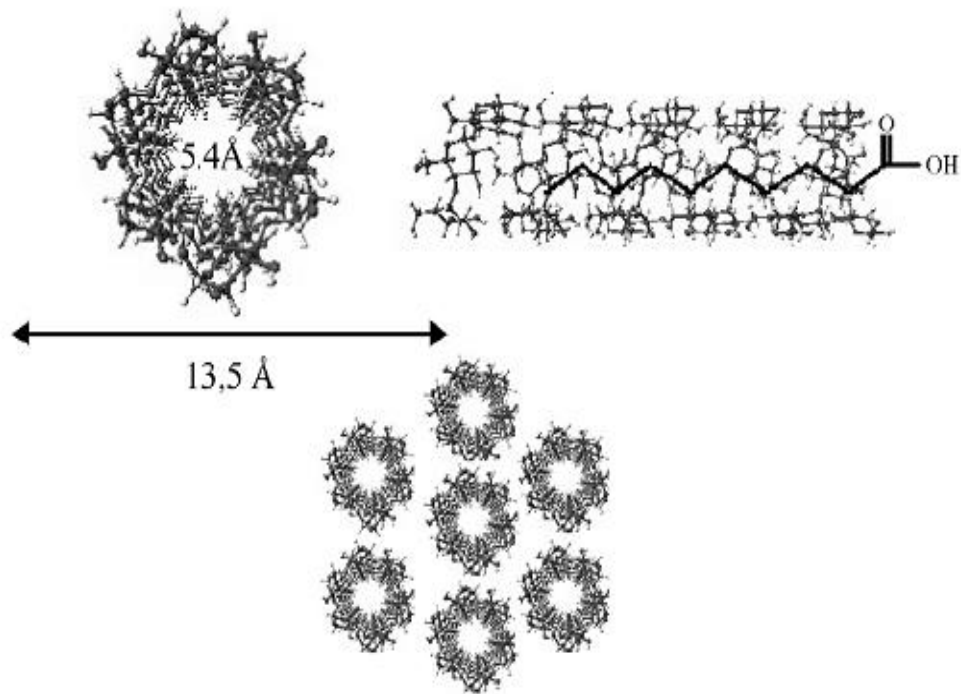


Figura 28.0. Descripción del complejo de lípido amilosa y Vh hélice de amilosa. Fuente: (Immel, 2000).

La sacarificación del almidón generalmente se realiza adicionando al tanque de agitación primeramente enzimas alfa amilasas, terminada la acción de las alfa amilasas viene el turno de las β -amilasas junto con dextrinasas y al último de las enzimas glucosidasa con pululanasa para obtener máximos rendimientos de glucosa o una mayor cantidad de carbohidratos fermentables y por tanto de bioetanol, las enzimas deben de adicionarse al tanque de agitación ajustando previamente a las condiciones de temperatura y pH con buffers adecuados para cada enzima para que no se afecte la viabilidad de la misma.

Enzimas alfa amilasas.

Para la adición de las enzimas alfa amilasas generalmente se realiza en dos etapas, se adiciona de la cantidad total la mitad de la enzima en polvo a una temperatura de 110°C a 120°C , se homogeneiza y se deja que se lleve a cabo la hidrólisis durante una hora, posteriormente se ajusta la temperatura a 85°C y se adiciona el restante de la enzima bajo las mismas condiciones de tiempo, terminado este proceso se adiciona enzimas

beta amilasas, los productos de hidrólisis dependerán de la enzima alfa amilasa utilizada (Vohra et ál., 2013).

Existen aproximadamente 30 enzimas alfa amilasas difiriendo una de otra de sus propiedades específicas y 21 tipos en base a la selectividad de hidrólisis y los productos generados del almidón (Van der Maarel et ál., 2002).

También llamadas amilolasa dextrinogénica no es selectiva para el enlace α -(1,4), la hidrólisis la realiza al azar produciendo maltosa, maltotriosa, maltohexosa, glucosa y otros oligosacáridos a partir de la amilosa, para la amilopectina se producen dextrinas

El rango óptimo de pH de este tipo de enzimas es de 6.7 a 7.0, la actividad de este tipo de enzimas se ve disminuida con el tiempo, al aumentar la temperatura y la concentración de sustratos como glucosa y maltosa, la siguiente tabla muestra distintos tipos de alfa amilasas para la hidrólisis de almidón.

Las enzimas alfa amilasas de origen bacteriana hidrolizan más rápido la amilopectina que la amilosa de la malta, algunas alfa amilasas son aisladas de microorganismos termófilos es por ello que son resistentes a altas temperaturas hasta de 105°C.

Tabla 16.0. Características de las alfa amilasas más utilizadas y activas para hidrólisis de almidón. Fuente:(Tomazik y Horton, 2012).

Origen de alfa amilasa	Nombre	pH óptimo	Temperatura	Productos de hidrólisis	Rendimiento de Hidrólisis
animal	Pitalina(Aislada de Saliva)	5.6 a 6.9	No más de 40° C	Dextrinas, glucosa y maltosa	70%
	Pancreatina	7.0 a 7.5	De 30 a 50°C	Maltosa, maltotriosa, maltopentosa Glucosa y dextrinas	Hasta de 92.2%
Vegetal	Amilasa de cereales (arroz y cebada)	4.4 a 5.4	No más de 65°C	Maltosa, maltohexosa y maltodextrinas	Hasta de 95.5 %
	Amilasas de tubérculos (yuca y papa)	5.8 a 6.4	71°C	Glucosa, maltosa	80%
Bacterias	Amilasa de Bacillus mesentericus	6.0 a 6.5	55 a 60°C	Maltotetraosa	N.P
	Amilasa de Bacillus Licheniformis	6.0 a 7.0	Hasta 85°C	Maltotriosa, maltopentosa, maltohexosa	70%
	Amilasa de Geobacillus thermoleovorans	6.8 a 7.0	100°C	Maltosa, maltotriosa	75%
Levaduras	Amilasa de Lipomycesstarkeyi	4.5 a 7.5	No más de 40°C	Glucosa, maltosa, maltodextrina y maltotriosa	
	Amilasa de Saccharomycopsis alluvis	4.5 a 7.5	No más de 40°C	Maltosa y glucosa	80%
	Amilasa de Saccharomycopsis capsularis	4.5 a 5.0	50°C	Maltosa, glucosa y maltotriosa	95%
Hongos	Streptomyces thermocianoviolaceous	6.5	40°C	Maltosa, maltotriosa y glucosa	95 %
	Enzima de Aspergillus fumigatus K27	3.2 a 3.5	65 a 70°C	glucosa	90%
	Enzima de Corticiumrolfsi	4.0	65°C	glucosa	85%

La adición de enzimas beta amilasas se realiza después de la acción de las alfa amilasas. Terminado el proceso de licuefacción del almidón se obtienen distintos carbohidratos por la acción de alfa amilasas ya mencionada anteriormente, cabe destacar que se necesita una total conversión de estos carbohidratos a glucosa que es el sustrato para la levadura y se pueda llevar a cabo la fermentación con rendimientos altos de bioetanol, es por ello que en esta etapa se va a asegurar la total conversión o la mayor parte de estos carbohidratos a glucosa, la adición de enzimas en esta etapa se realiza generalmente a temperaturas menores a 70°C dado que a esta temperatura se desnaturalizan las enzimas (Wyman et al., 2004). Las enzimas utilizadas en esta etapa generalmente requieren pH ácido, para ajustar el pH se utilizan soluciones de ácido clorhídrico y ácido fosfórico, se mencionaran las características de las enzimas beta amilasas y glucoamilasas utilizadas en esta etapa de conversión de almidón a bioetanol.

Existen variedades de papa dulce de las cuáles se han nombrado almidón K159 requieren temperaturas bajas de sacarificación de 49.5 a 66.2 C, los cuales necesitan una menor cantidad de energía para su gelatinización debido a que las cadenas de amilopectina son más cortas en comparación a otras fuentes de almidón, es por ello que es más susceptible a la acción enzimática que después de la hidrólisis total del almidón se obtiene más un 80% de glucosa, de 2.4 a 3.2 % de sacarosa en base seca.

Enzimas beta amilasas.

Este tipo de enzimas hidrolizan el almidón específicamente en el enlace α -(1,4) produciendo maltosa, esta enzima hidroliza cadenas de amilosa de seis unidades de glucosa, maltotreosa y amilopectina a una menor proporción (Klinkenberg, 1931), esta es una exoenzima que ataca al almidón por los extremos no reductores, hidrolizando un enlace sí y uno no, se tendría que esperar la obtención solo de maltosa a partir de amilosa, ahí se corrobora que la amilosa presenta ramificaciones, en realidad solamente el 70% de la amilosa se convierte en maltosa, en el caso de la amilopectina la conversión a maltosa solamente es de 50% siendo el resto una dextrina β límite de gran peso molecular (Hoseney, 1991).

A menudo la sacarificación con beta amilasa constituye el segundo paso de la hidrólisis de almidón para la obtención de maltosa, las enzimas beta amilasas también son obtenidas de diversas fuentes, se tienen reportes que las beta amilasas de origen bacteriano producen de la hidrólisis de almidón a 30% de glucosa y 40 % de maltosa, las fuentes de beta amilasa coinciden con la de alfa amilasa las fuentes de enzimas beta amilasa son las siguientes:

Enzimas beta amilasa de origen animal: Se encuentran en el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeae* maíz) hidrolizando almidón y una cantidad considerable de amilopectina, para producir maltosa y glucosa (Baker, 1983).

Enzimas beta amilasas de origen vegetal: Obtenidas de soya, arroz, cebada, maíz, papa y papa dulce, las condiciones de hidrólisis varían dependiendo de la enzima, para el caso de beta amilasas de papa el pH óptimo es de 5.1 a 5.5 a una temperatura de 55° C, en el caso de enzimas de papa dulce las condiciones no varían significativamente (Myrback et ál., 1983).

Las enzimas beta amilasas de la malta actúan a un pH de 5.65 a 5.85, la temperatura óptima de la sacarificación de la beta amilasa de la malta es de 60° C, a una temperatura mayor a 70°C la enzima puede inactivarse.

Enzimas beta amilasas de origen bacteriano: Generalmente son de bacterias del genero *Bacillus*, algunos modificados genéticamente para generar termo resistencia principalmente son enzimas de *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus polymixa* y *Bacillus circullans* son fuentes de enzimas beta amilasas más comunes, dado que como ya se mencionó son termorresistentes, el pH óptimo de las enzimas beta amilasas de origen bacteriano es de 6.5 a 6.9 a una temperatura óptima de 45 a 60°C, el producto de hidrólisis de este tipo de enzimas es principalmente maltosa (Outtrup y Norman 1984)

Enzimas beta amilasas de origen fúngico: Las enzimas beta amilasas son extraídas de diversos géneros de hongos principalmente *Aspergillus*, conviene mencionar la beta amilasa extraída de *Aspergillus Oryzae* hidroliza al almidón a rendimientos del 90% de glucosa, para el caso de la enzima extraída de *Clostridium thermosulfurogenes* el pH óptimo de hidrolisis es de 4.5 a 6.0 resistiendo temperaturas de hasta 80° C, para el caso de la enzima extraída de *Syncephalastrum racemosum* produce una enzima

estable en presencia de metales pesados, tioles y benzoatos generalmente encontrados en ciertos tipos de almidón, el pH óptimo es a 5.0 a una temperatura de 60°C (Tomazik y Horton 2012).

Enzimas glucoamilasas.

Las enzimas glucoamilasas o glucosidasas son otro tipo de enzimas amilasas de gran importancia en la hidrólisis enzimática del almidón, generalmente se utilizan después de hidrolizar al almidón con alfa y beta amilasas, estas enzimas llevan a cabo la hidrólisis en el enlace α -(1,4) de la amilosa y de la amilopectina o de polisacáridos de cadena más corta formados por la hidrólisis anterior como dextrinas, hidroliza en menor proporción los enlaces α -(1,6) de la amilopectina, siendo el producto principal de la hidrólisis de esta enzima la glucosa, en general se utiliza esta enzima en la última etapa de hidrólisis enzimática de almidón para la producción de bioetanol, puede utilizarse para la hidrólisis de almidón junto con pululanasa (Hizukuri, 1987).

Algunas investigaciones sugieren utilizar glucoamilasas el lugar de enzimas beta amilasas en la hidrólisis de almidón en reactores de membrana esto con el fin de evitar la formación de dextrinas límite y así optimizar costos no utilizando enzimas dextrinasas límite, también se menciona que es necesario utilizar un glucosidasa muy activa en sinergismo con una cantidad menor de enzima transglucosidasa da como resultado la hidrólisis total del almidón produciendo máximo rendimientos (Hattori, 1961).

Otro factor que reduce la extensión o grado de hidrólisis es la formación de los llamados productos de reversión que son oligosacáridos unidos por enlaces resistentes del tipo α -1,6 por esta razón se recomienda la mezcla de enzimas glucoamilasa y pululanasa que hidroliza estos enlaces con facilidad, es por ello que la mezcla de estas enzimas es adecuada para mejores rendimientos de hidrólisis de almidón (Crabb y Shetty, 1999), algunas fuentes mencionan la inmovilización de estas enzimas en ciertos polímeros para mejorar la termorresistencia de la misma, por ejemplo mezclando las enzimas en soluciones de alginato al 2.5% y posteriormente en soluciones de CaCl₂, incubando la mezcla de enzimas más una suspensión de almidón al 1% a hidrolizar y posteriormente someter a reflujo sin la necesidad de usar otras enzimas, con una proporción de 15 U de Glucoamilasa y 4 U de pululanasa, obteniéndose mejores

resultados de **DE** (Equivalentes de Dextrosa) de hasta 96 DE al inmovilizar las enzimas que al dejarlas en estado libre, y la posibilidad de realizar gelatinización y sacarificación simultánea (Ipsita y Munishwar, 2004).

El origen de estas enzimas es un factor clave para el rendimiento de hidrólisis de almidón, existen de origen fúngico, de bacterias y levaduras, de origen vegetal y también se encuentran en el estómago de mamíferos rumiantes, la temperatura óptima para este tipo de enzimas oscila entre 40°C y 60 C con un pH óptimo de 3.6 a 6.5, el origen de las glucoamilasas es el siguiente.

Glucoamilasas de origen bacteriano: Generalmente son aisladas del género *Bacillus*, siendo las más utilizadas *Bacillus firmus* y *Bacillus Stearothermophilus*, utilizándose también del genero *Clostridium*, *Flavobacterium* y *Hallobacter*, es importante mencionar la glucoamilasa de *Bacillus firmus* la cual hidroliza almidón de papa, maíz, trigo a temperatura de 37° C produciendo glucosa y también en menores concentraciones maltosa, maltotriosa y maltotreosa (Dettori Campus et al., 1992).

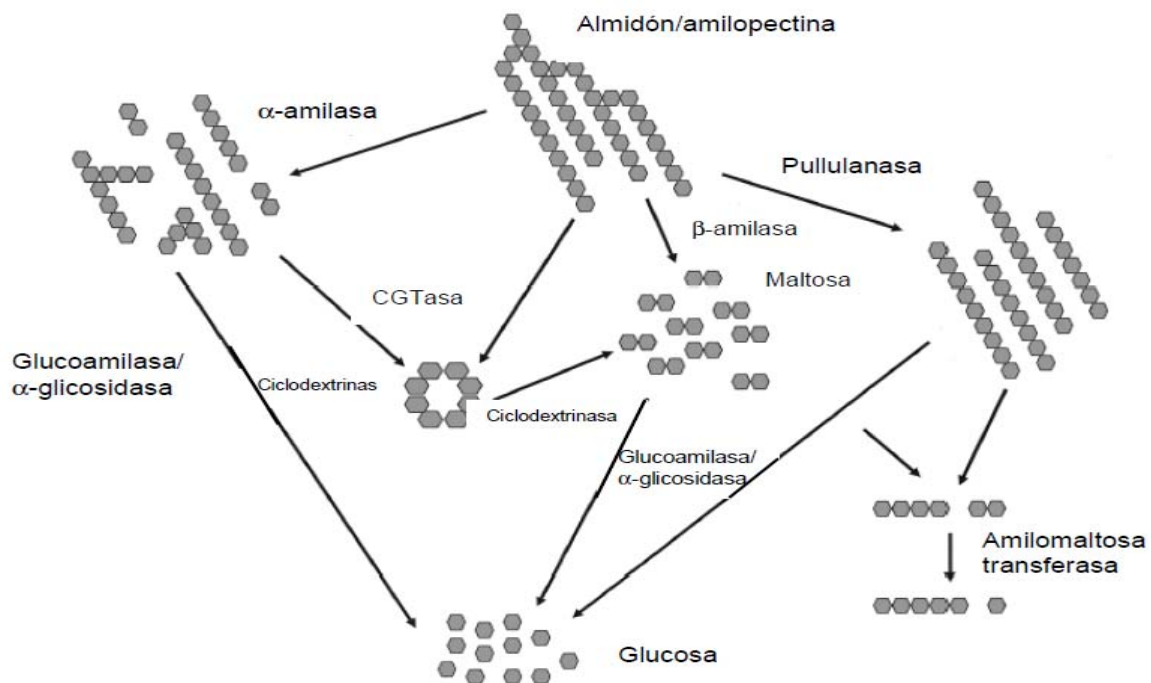


Figura 29.0. Diagrama general de productos obtenidos de la hidrólisis enzimática de almidón.

Glucoamilasas de origen fúngico: Es la fuente comercial más importante de este tipo de enzima generalmente se aísla de hongos del género *Aspergillus* y *Rhizopus*, las cuáles son termorresistentes, el pH óptimo del sistema es 4.5 a una temperatura de 70° C

Glucoamilasas de levaduras: De este tipo destacan enzimas extraídas del genero *Schwanniomyces alluvius*, esta enzima a un pH óptimo de 5.0 y a una temperatura de 50°C al utilizarse para la hidrólisis de almidón produce exclusivamente glucosa.

La glucoamilasa de *Saccharomyces Cerevisiae* es otra enzima de importancia comercial.

ENZIMAS PULULANASAS

Las pululanosas hidrolizan los enlaces α -(1,6) de polisacáridos ramificados como la amilopectina, también se conocen como enzimas desramificadoras, el producto de hidrólisis es maltosa y glucosa, siendo la de mayor importancia comercial la de *Kluybsiela neumoniae*, por otro lado las isopululanosas actúa sobre los enlaces α -(1,4) del pulano y liberando isopululosa como producto principal, la isopululanosa solamente se ha sintetizado de *Aspergillus Niger* con una temperatura óptima de 30 a 40°C y pH óptimo de 3.5 a 4.0 (Tomazik y Horton, 2012).

PROCESO GENERAL DE HIDRÓLISIS ÁCIDA DEL ALMIDÓN.

Para la caracterización de los productos que se obtienen de la hidrólisis de almidón se emplea un parámetro que se define como grado de equivalentes de glucosa o dextrosa (ED), el cual corresponde a las mismas unidades de glucosa puras que de 100 unidades de masa del hidrolizado seco para reducir la misma cantidad del reactivo de Fehling, conviene mencionar que la hidrólisis ácida ha caído en desuso debido a las desventajas que presenta el proceso como es generación de productos que pueden inhibir el crecimiento de la levadura, neutralización de los hidrolizados para la fermentación, eliminación de los productos de oxidación como HMF hidroximetil furfural que además genera color. (García Garibay, 2004).

Algunos países como México y América aun utilizan este método debido a que los ácidos utilizados como HCL (ácido clorhídrico y ácido sulfúrico) son más accesibles que las enzimas utilizadas, además de que tiene una tasa de reacción rápida y

temperaturas de reacción bajas utilizando altas concentraciones de ácidos, los productos de hidrólisis dependen también del tipo de almidón y de la cantidad de amilosa y amilopectina presentes en el almidón utilizado. (Tasic et ál., 2009).

El proceso general de pretratamiento de almidón utilizando ácido consta básicamente de los siguientes pasos obtención de almidón de las materias primas, secado de almidón, pesado de la materia prima, , posteriormente la adición del almidón al tanque de reflujo, adición de ácido, enfriamiento de la mezcla , neutralización de la mezcla , centrifugación 1, separación de sólidos , fermentación, centrifugación y destilación.

Hidrólisis ácida en reflujo

Primeramente deben de adicionarse los sólidos al bioreactor y posteriormente los ácidos minerales fuertes, el pH al que se realiza la hidrólisis ácida oscila entre 1.5 y 2.0, las concentraciones utilizadas generalmente son 0.5 a 2 M de ácido sulfúrico o clorhídrico, las proporciones utilizadas de ácido son generalmente son 0.75: 1, 1:1, 2:1 de ácido y sólidos respectivamente, el sistema se debe de mantener en agitación constante, considerando que si existe una mayor cantidad de solución ácida en el medio esta tendrá un mayor superficie de contacto con el ácido y por tanto se asegura una mayor obtención de carbohidratos reductores, además de que también las concentraciones y volumen de ácido utilizados dependen de la capacidad del bioreactor utilizado, el bioreactor debe contar con control de variables y las condiciones ideales de las mismas variables son :

- Temperatura la cuál debe oscilar entre oscila entre 120 a 150° C., es necesario alcanzar el punto de ebullición del sistema para generar vapores que favorezcan la hidrólisis.
- Agitación para que el ácido tenga una mayor penetración en la biomasa y el rendimiento de hidrólisis sea mayor, a medida que aumentan las rpm de agitación la hidrólisis será más efectiva
- Presión: generalmente la presión utilizada es 15 psi, algunos tipos de bioreactores cuentan con control de presión, aunque la hidrólisis se puede llevar a cabo a presión atmosférica, la presión disminuye el tiempo de hidrólisis y la formación de compuestos de oxidación (HMF).

- Tiempo: El tiempo de hidrólisis generalmente se lleva a cabo durante 1 hora a temperatura de ebullición de la solución ácida , en donde se monitorea constantemente la viscosidad, carbohidratos reductores y HMF hasta que se mantienen constantes

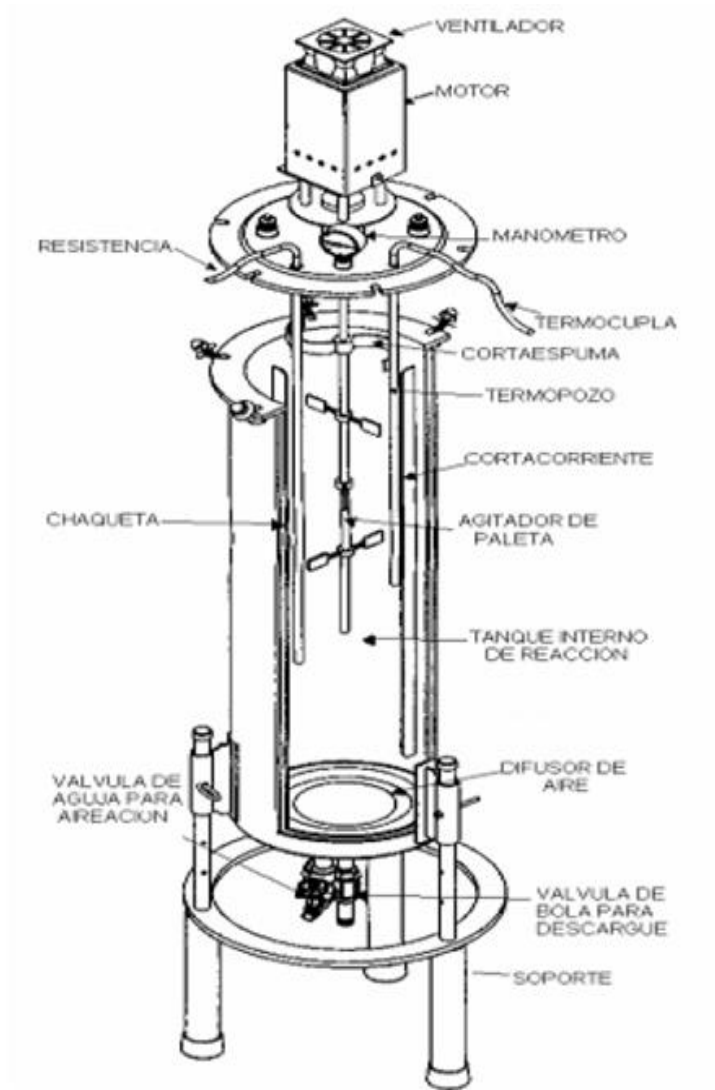
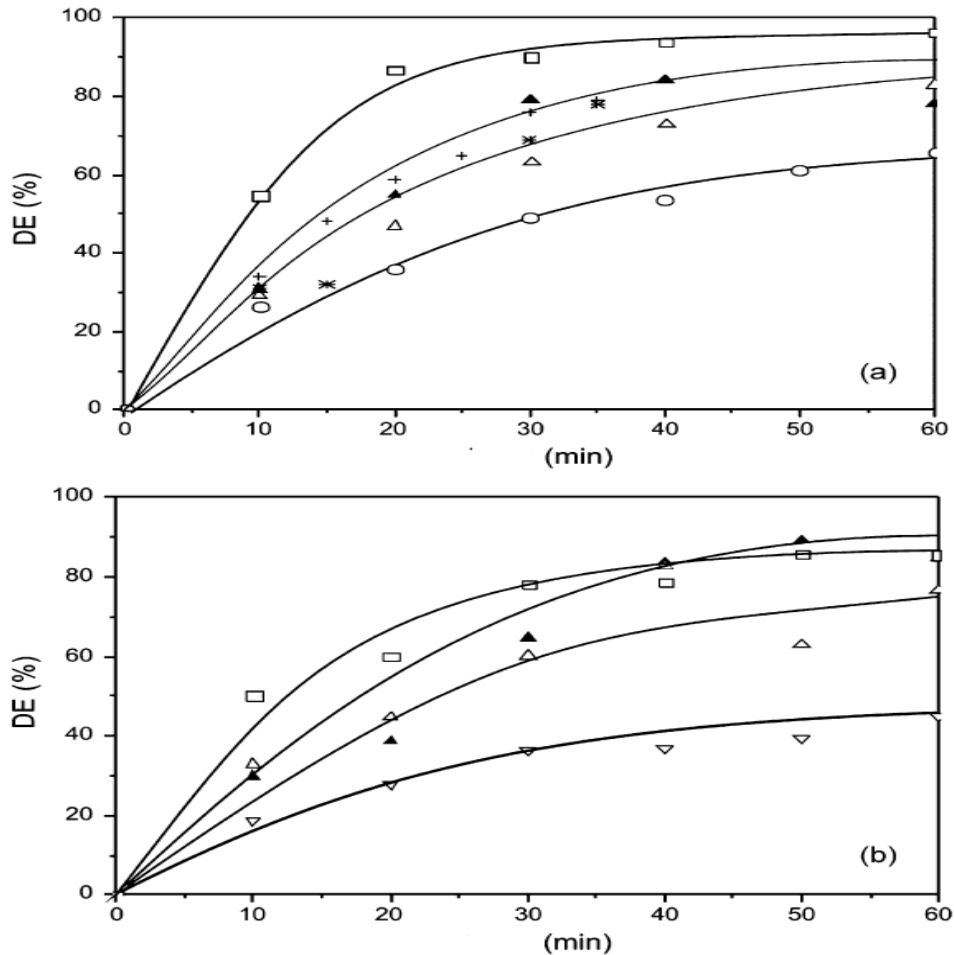


Figura 30.0. Tipo de bioreactores utilizados para la hidrólisis ácida de almidón con control de variables. Fuente:(Téllez et ál., 2012).

En general se observa que al aumentar las concentraciones y proporciones del ácido respecto a los sólidos se obtiene una mayor cantidad de carbohidratos reductores expresado como (DE) equivalentes de dextrosa, controlando las variables del bioreactor se pueden obtener equivalentes de dextrosa hasta 94 % (Tasic et al., 2009).

El tiempo de hidrólisis se define con la temperatura del bioreactor ya que entre mayor sea la temperatura menor va a ser el tiempo de hidrólisis, pero los rendimientos podrán ser menores en comparación a las condiciones ideales arriba mencionadas, en general la hidrólisis ácida del almidón sigue una cinética de primer orden, la cantidad de azúcares fermentables obtenida también se ve afectada por la cantidad de amilosa y amilopectina presente, el cuál varía dependiendo del origen del almidón, la amilosa es la primer fracción que se hidroliza a carbohidratos fermentables, en comparación a la amilopectina que se hidroliza más lentamente ya que se encuentra principalmente en las regiones semi-cristalinas de los gránulos de almidón, por tanto la amilosa altera el orden estructural dentro de los cristales de amilopectina, por lo que se puede decir que aquellos almidones con mayor contenido de amilosa necesitarán un tiempo de hidrólisis menor (Jenkins & Donald, 1995).



Figuran 31.0. Variaciones de Equivalentes de dextrosa obtenidos a través del tiempo en minutos de la hidrólisis ácida de almidón de papa a diferentes proporciones respecto a los sólidos, donde a) es HCL 1M y b) H2SO4 1M y la proporción es v/v, (O) 1:0.75, (Δ) 1:1, (□) 1:1.25, (▽) 0.5 M y (▲) 2M respectivamente. Fuente: (Jenkins & Donald, 1995).

Terminado el periodo de hidrólisis ácida se enfría la mezcla debajo de 5° C para precipitar la porción de almidón que no fue hidrolizada, posteriormente se centrifuga a una velocidad de 6000 rpm en un tiempo de 15 minutos y se procede a neutralizar el medio con soluciones de Hidróxido de Sodio y/o Potasio, generalmente a concentraciones necesarias para llegar a pH entre 6.0 a 7.0, por lo que se adiciona directamente al bioreactor las soluciones hasta lograr el ajuste de pH.

Hidrólisis ácida de almidón con microondas y carbón activado

Existen alternativas para mejorar la hidrólisis ácida de almidón, una de ellas es el uso de horno de microondas en presencia de carbón activado, este método es prometedor dado que se puede reducir el tiempo de hidrólisis obteniéndose así una menor cantidad de HMF y compuestos que podrían inhibir el crecimiento de la levadura durante la fermentación.

El proceso de hidrólisis ácida es el mismo se debe secar la materia prima a 60°C por 30 horas, se puede utilizar directamente el almidón o las materia prima sin extraer el almidón previamente secada a un contenido de humedad de 7.12%, posteriormente la adición del almidón a la solución ácida acuosa que contiene carbón activado y se mantiene en agitación el sistema el cuál se encuentra dentro de horno de microondas.

Al utilizar carbón activado de alta adsorción disminuye el contenido de compuesto de color como Hidroximetil furfural pero baja los rendimientos de glucosa, en ausencia de carbón activado al 50% de la potencia del microondas se pueden obtener rendimientos de glucosa de hasta 91.52% en un tiempo de 10 minutos. (Hermiti et ál., 2012).

PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE CAÑA DE AZÚCAR Y REMOLACHA.

La producción de bioetanol a partir de sacarosa, fructosa, glucosa es la más sencilla en comparación a la producción con materias primas de origen lignocelulósico, dado que no se requiere degradar la pared celular e hidrolizar a carbohidratos fermentables, en pocas palabras producir bioetanol es menos costoso, más rápido y con mejores rendimientos de etanol, las materias primas utilizadas son caña de azúcar, frutas, remolacha, sorgo dulce, la principal desventaja de estas materias primas es que algunas son temporales y específicas para algunas regiones en comparación a las materias de segunda generación que abundan en la corteza terrestre.

Para la obtención de bioetanol a partir de remolacha y azúcar en general es el mismo proceso de obtención, a partir de la biomasa azucarada (caña de azúcar y remolacha) se puede realizar la producción de bioetanol utilizando la materia prima azucarada sometiéndola a presión y/o difusión (BNDES & CGEE, 2008).

Se ha descrito anteriormente el proceso de obtención de la sacarosa, mencionando que en muchos ingenios azucareros cuentan con infraestructura para la producción de bioetanol habiendo una sinergia entre los dos procesos productivos de obtención de sacarosa y obtención de bioetanol optimizando así los gastos de transporte de materia prima a la destiladora. Los sustratos para la fermentación se pueden obtener desde distintas etapas de la obtención de sacarosa a partir de caña de azúcar y remolacha, mencionando que siguen la misma ruta para la obtención de sacarosa, dichos sustratos se obtiene desde la obtención de la sacarosa por extracción con agua caliente, de la melaza obtenida de la evaporación del agua , del centrifugado obtenido hasta de la sacarosa como producto terminado, es importante mencionar que a mayor pureza de sacarosa contenga el mosto la fermentación y destilación se realizarán a un menor tiempo y a mejores rendimientos.

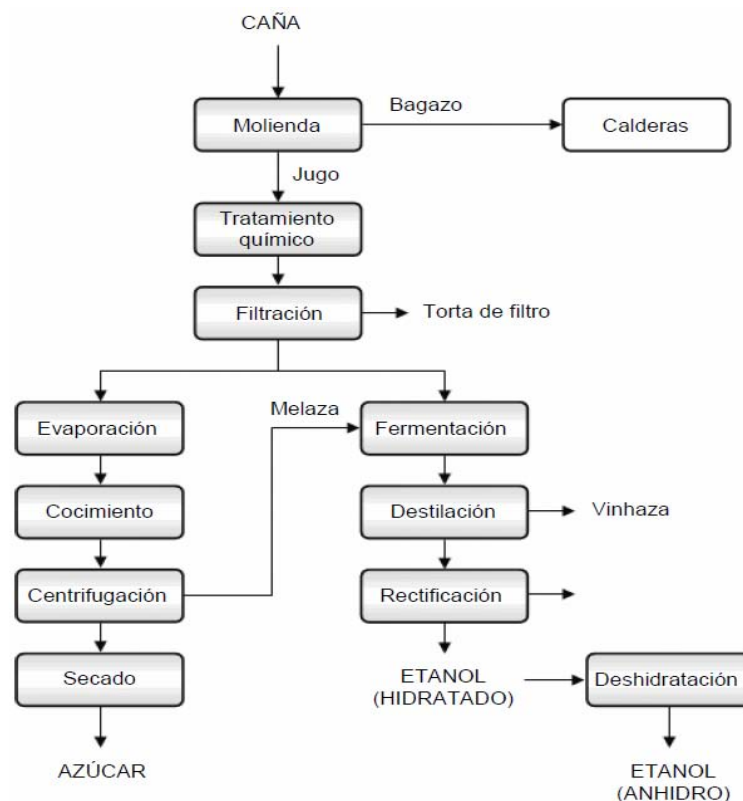


Figura 32.0.Diagrama de producción de bioetanol a partir de caña de azúcar. Fuente:(Seabra, 2008).

Para la producción de bioetanol se recomienda realizarse a un periodo no mayor a 72 horas después de la cosecha y a partir de melaza rica en sacarosa se debe de realizar un ajuste o dilución con agua destilada a un contenido 14-18% de sacarosa que es la concentración óptima de carbohidratos y obtener una fermentación eficiente , el principal microorganismo utilizado son Levaduras del género *Saccharomyces* a una temperatura óptima de 33°C a 35 ° C con una concentración de 8-17 % v/v de inóculo , la fermentación es interrumpida generalmente cuando se obtiene un 10 a 12% de etanol que es la máxima concentración que pueden soportar los microorganismos(Wyman, 2004) , dicha concentración se determina por cromatografía de gases, posteriormente se realiza una centrifugación para separar los sólidos de la fermentación Terminada la fermentación se deben de recuperar la levadura para que pueda ser utilizada en posteriores fermentaciones manteniéndola viable.

La etapa posterior es la destilación a temperaturas de 80 a 85 ° C para destilación simple y para destilación azeotrópica a una temperatura de aproximadamente 82° C obteniéndose una pureza de 95% de etanol en la primera destilación, a partir de este se puede obtener etanol anhidro a una pureza de 99.9%.

OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE FRUTAS.

La composición de frutas es variable en general la producción de bioetanol a partir de frutas se realiza de forma artesanal, casera con fines culinarios, para la producción de bebidas fermentadas, dado que las frutas de manera directa tienen principalmente otros fines como la producción de jugos, mermeladas o el consumo de las mismas de manera directa, debido a su alto contenido de carbohidratos que pueden ser aprovechados como sustratos para la fermentación, dichos carbohidratos son fructosa, glucosa y sacarosa, la siguiente tabla muestra las frutas con mayor contenido de carbohidratos y por tanto mayor potencial para producción de bioetanol.

Tabla.17.0. Eficiencia de bioetanol a partir de frutas con mayor contenido de azúcares.
Fuente: (Barret et ál., 2004).

Fruta	Contenido de azúcares (%)	Rendimiento de etanol (l/t)	Eficiencia de etanol (%)
Manzanas	12.1	58.6	84.3
Melón	7.1	19.0	46.6
Uvas	14.5	82.4	98.2
Melón Verde	4.0	12.5	54.4
Naranjas	4.0	22.5	98.2
Durazno	6.2	26.1	73.4
Peras	12.0	64.4	93.5
Ciruela	11.0	54.2	85.7

La materia prima con mayor potencial en cuanto a costos es la obtenida de residuos de la industria del procesado de frutas, generalmente de rechazos de las mismas como frutas que no cumplan con los estándares de calidad de la industria que las requiera tales como fruta maltratada y con una madurez excesiva o residuos de las mismas. Dichos residuos representan un problema dado que en algunas industrias representa del 20.0 % al 40% de las entradas, en general las frutas gastadas se pueden obtener carbohidratos fermentables y pectina (CENER 2014).

Dichos residuos son una alternativa viable dado que en todo el mundo se consumen frutas y productos industrializados de las mismas, por tanto se generan residuos de frutas, generalmente estos residuos generan fauna nociva y malos olores, por tanto requieren de una rápida recolección (INAP, 1986).

En México el 50 % de la basura generada corresponde a restos alimenticios, siendo gran parte restos de fruta y vegetales, no se conoce la cantidad exacta de residuos de fruta generados en nuestro país, los pretratamientos para la obtención de bioetanol a partir de frutas pueden variar dependiendo de las moléculas que las compongan.

PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE RESIDUOS DE FRUTAS

- **Caracterización y análisis proximal:** El tratamiento para la obtención de etanol a partir de residuos de frutas es caracterización o análisis proximal (azúcares solubles, celulosa, pectina Hemicelulosa y lignina) para determinar las enzimas que se van a utilizar en el proceso, si es que se requieren es importante mencionar que la levadura debajo del rango de 12 a 15% de azúcares reductores en el medio no puede convertir a etanol el sobrante, es por ello que si está por debajo de este rango se debe ajustar el medio con glucosa o sacarosa (Kumar J.V. et ál., 1998).
- **Disminución del tamaño de partícula facilitar hidrólisis, generalmente realizado en molinos.**
- Pesado de la muestra y adición de agua destilada normalmente se adiciona 1:1 m/v y pasteurización de la muestra en autoclave, en esta etapa se obtienen carbohidratos solubles y sustratos directamente para las levaduras y se ajusta el pH dependiendo de la enzima, generalmente a 4.5 (Osanaiye et ál., 2005).
- **Sacarificación:** El proceso se puede llevar a cabo de manera simultánea con la fermentación, generalmente para disminuir tiempo de proceso, la sacarificación generalmente es auxiliada por enzimas fúngicas principalmente de *Aspergillus Niger*, *Clostridium*, *Trichoderma* (Bhandari et ál., 2013) o el inóculo directamente a una concentración de $1.09 \times 10^6 \text{ celulas} / 5 \text{ mL}$ considerando las enzimas presentes en estos microorganismos alfa amilasas, beta amilasas, celulasas, pectinasas y glucoamilasas. (Osanaiye et ál., 2005) a un tiempo no mayor a 72 horas, en un sistema con agitación constante
- **Fermentación:** En esta etapa del proceso se adicionan nutrimentos al medio generalmente sales de Calcio, Magnesio y Sodio para aumentar el rendimiento de bioetanol y se adiciona el inóculo previamente activado, el microorganismo

adicionado es generalmente levadura utilizada en la industria cervecera del género *Saccharomyces cerevisiae* a una concentración de $3.56 \times 10^6 \text{ celulas} / 10 \text{ mL}$ o 5 g de levadura liofilizada/Litro (Bhandari et ál., 2013) con rendimientos de bioetanol de aproximadamente 5.0% respecto al peso de sólidos y rendimientos máximos a las 48 horas a una temperatura de 35°C, (Osanaiye et. ál. 2005) ;(Raikar V., 2012) y un sistema con agitación constante para homogeneizar el proceso.

- **Destilación:** La destilación utilizada es por lotes, con una temperatura no mayor a 90° C, se realizan varias destilaciones para que se obtenga etano anhidro a una pureza de 99.0% para que se pueda utilizar como biocombustible.

CAPITULO 7

PROCESOS DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE MATERIA PRIMA DE SEGUNDA GENERACIÓN

MATERIAS PRIMAS DE SEGUNDA GENERACIÓN.

El tratamiento de bioconversión de materiales vegetales de origen celulósico y lignocelulósico a monosacáridos fermentables (pentosas y hexosas) es más complejo y costoso que la bioconversión de materias primas de primera generación, dado que se debe de remover la lignina por tanto para este paso del proceso se utiliza el 33% de los costos totales, por lo que los costos de bioconversión aumentan proporcionalmente con el contenido de lignina, siendo la lignina la que aumenta la resistencia a la hidrólisis de celulosa y Hemicelulosa, esta clasificación es la que mayor variedad de materias primas posee para la conversión a bioetanol, dado que prácticamente todos los residuos del reino vegetal pueden ser aprovechados, a partir de materiales vegetales lignocelulósicos se pueden obtener más de 442 millones de litros por año de etanol.

La producción de bioetanol a partir de materias primas de segunda generación presenta diversas ventajas y desventajas, en comparación a las materias primas de primera generación, tal y como se menciona en el capítulo 6, las materias primas de segunda generación contienen lignocelulosa siendo el polímero más abundante en el planeta y además es renovable, prácticamente el costo de las materias primas de segunda generación es nulo en comparación a las de primera generación, además de que son de fácil acceso y presentan un alta disponibilidad en cualquier parte del mundo, también se pueden obtener materias primas de segunda generación a partir de desechos de industrias como la industria cervecera en donde solo se utiliza el 8% de los componentes de la malta el otro 92 % corresponde a residuos, industria papelera utiliza solo el 30% de la materia prima, sólidos de desecho de animales, residuos agrícolas, así el potencial de producción de bioetanol a partir de residuos agrícolas y cultivos gastados es de 491 millones de litros por año lo que equivale a 16 veces la producción de bioetanol a partir de primera generación (Kim y Dale, 2004).

Tabla 18.0.Contenido de celulosa, Hemicelulosa y lignina de las principales fuentes de materiales vegetales de segunda generación. Fuente:(Sung & Chen, 2002).

Material lignocelulósico	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)
Madera dura	40-55	24-40	18-25
Madera suave	45-50	25-35	25-35
Cáscara de nuez	25-30	25-30	30-40
Olote de maíz	45	35	15
Desechos de pastos	25-40	35-40	18-30
Papel	85-99	0	0-15
Paja de trigo	30	50	15
Hojas	15-20	80-85	0
Algodón	80-95	0	0
Papel periódico	40-55	25-40	18-30
Desecho de papel de pulpeos químicos	60-70	10-20	5-10
Desechos sólidos de aguas residuales	8-15	ND ^b	24-29
Desechos animales (cerdos)	6	28	ND ^b
Desechos sólidos de ganado	1.6-4.7	1.4-3.3	2.7-5.7
Hierba Bermuda	25	35.7	64
Pastos de crecimiento rápido	45	31.4	12

Donde **ND** es no detectado

Existe una infinidad de materias primas que entran en la clasificación de segunda generación, siendo los más abundantes madera y residuos de dicha industria tales como aserraderos, bagazo de caña de azúcar el cual es el residuo de la caña de azúcar posterior a la extracción del jugo rico en sacarosa, los programas de desarrollo de bioetanol a partir de bagazo de caña comenzaron en Brasil en los años 90s , en la actualidad existen en Brasil plantas de producción con una capacidad de 5,000 L de bioetanol por día , obteniéndose a partir de una tonelada de bagazo de 109 L de bioetanol a 180 L de bioetanol.(Mousdale,2008).

Los residuos agrícolas del cultivo de arroz son de los más abundantes en el planeta, Asia genera 667.6 millones de toneladas de estos residuos, a partir de estos se pueden obtener 205 millones de litros de etanol por año.

En Estados Unidos se utiliza para la producción de biocombustibles una variedad de pasto cuyo nombre científico es *Panicum Virgatum* también conocida como pasto varilla la cual crece en América del norte, con difusión de Canadá hasta México siendo un cultivo perenne, esta variedad de pasto perenne tiene un gran potencial como materia prima de segunda generación debido a que varias fuentes reportan rendimientos mayores a 90% de conversión de celulosa y hemicelulosa (Chung et ál., 2005).

Los pretratamientos para la obtención de bioetanol a partir de pastos de crecimiento rápido son menos costosos que aquellos que se realizan a la madera suave y madera dura esto es por el contenido de lignina presentes, la cual se relaciona con la dureza de los materiales vegetales, existe un punto importante a considerar en las materias primas de segunda generación, la composición varía de forma significativa a lo largo del año y con la madurez de la fuente o materia prima, este cambio se relaciona con la temporada de lluvias, el contenido de lignina y xilano aumenta en los meses de lluvia y con la antigüedad, es por ello que en maderas con mayor antigüedad o que se colectan en los meses no lluviosos requieren de pretratamientos más drásticos como de presión, temperatura etc. (Bals et ál., 2010).



Figura 33.0. Pasto varilla “*Panicum Virgatum*” de gran altura utilizado para la producción de bioetanol. Fuente : (PREGON AGROPECUARIO, 2014).

El proceso de conversión de las materias primas de segunda generación a etanol consiste básicamente en cuatro pasos;

Pretratamiento, hidrólisis, fermentación y separación del bioetanol (destilación).

Los pretratamientos varían dependiendo de la materia prima, cuyo objetivo es remover y alterar la estructura de aquellos compuestos que impidan la hidrólisis enzimática para mejorar el rendimiento de la misma e incrementar porcentajes de azúcares fermentables, en la etapa de pretratamiento se debe de prevenir la pérdida o degradación de los carbohidratos que actúan como sustratos en la fermentación y se debe evitar la formación de compuestos de inhibición, en general el pretratamiento tiene como fin mejorar el acceso de las enzimas a la celulosa y Hemicelulosa, remover la lignina, incrementar la porosidad del material mejorando la liberación de azúcares (Mabee et al., 2006) ;(Cuervo et ál., 2001).

Los pretratamientos de las materias primas de segunda generación se pueden llevar a cabo por diferentes opciones tales como pretratamiento mecánico, explosión de vapor, explosión de fibra de amoníaco, tratamiento con CO₂ supercrítico, pretratamiento ácido a alcalino, pretratamiento con ozono y pretratamiento biológico, dichos métodos se describen a continuación (Hamelinck et ál., 2005), en general la clasificación de los pretratamientos es por métodos físicos, métodos químicos y/o una combinación de ambos

MÉTODOS FÍSICOS PARA OBTENCIÓN DE BIOETANOL

Fragmentación o disminución de tamaño de partícula: Es de suma importancia disminuir el tamaño de partícula de todas las materias primas de segunda generación que vayan a utilizarse, esto se realiza en molinos especializados de alto impacto y/o alto corte, se recomienda reducir el tamaño de partícula entre 0.2 y 2 mm para facilitar la hidrólisis enzimática

Explosión de vapor o auto hidrólisis: es uno de los procesos de fragmentación de la biomasa separando las fibras individuales con una mínima pérdida de material, en donde se somete la muestra en un extrusor a condiciones de vapor saturado a una temperatura de 160–260°C y a una presión entre (0.69–4.83 MPa), en donde la celulosa y la Hemicelulosa se fragmentan a oligómeros solubles, posteriormente se adiciona ácido sulfúrico u otros ácidos como ácido acético, también puede agregarse SO₂, la función de dichos reactivos es catalizar la hidrólisis de la muestra a glucosa, incrementar la recuperación de carbohidratos provenientes de la Hemicelulosa, remover la fracción no disponible de la Hemicelulosa y la degradación de la xilosa (Mosier et ál., 2005).

El proceso de explosión de vapor se realiza en dos etapas o en una sola etapa, pudiendo tener un impacto en el rendimiento del proceso, la materia prima previamente fragmentada se adiciona al extrusor en una cámara sellada a las condiciones ideales, las condiciones se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 19.0. Condiciones de las etapas de pretratamiento en método de explosión de vapor en extrusor. Fuente : (Balat M. et ál., 2008).

Pretratamiento en dos etapas		Pretratamiento en una etapa
Condiciones de 1ª etapa	Condiciones de 2ª etapa	
Sistema con solución de H₂SO₄ al 0.5 %, durante 10 minutos a 179.85°C	Sistema con solución de H ₂ SO ₄ al 2.0 %, durante 2 minutos a 179.85°C	Sistema con solución de H ₂ SO ₄ al 0.5 %, durante 5 minutos a 224.85°C
Sistema con SO₂ al 3.0 %, durante 2 minutos a 189.85°C	Sistema con SO ₂ al 3.0 %, durante 5 minutos a 219.85°C	Sistema con SO ₂ al 3.5 %, durante 5.5 minutos a 209.85°C

Los rendimientos generales del método de la explosión de vapor generalmente son <65% de aquellos carbohidratos provenientes de la Hemicelulosa, además de que se obtienen rendimientos de xilosa de 75% a 90%, las ventajas del método de explosión de vapor es que requiere aproximadamente 70% menos del gasto energético utilizado

en tratamiento por fragmentación mecánica, el método de explosión de vapor es más efectivo para tratamiento de madera dura que madera suave (Vessia, 2005).

Método de explosión de fibra de amoniaco(AFEX): Este método involucra amoniaco y explosión de vapor, se debe de humedecer previamente el material lignocelulósico el cuál puede utilizarse no triturado y posteriormente se debe llevar a una humedad de 15 a 30%, este contenido de humedad aumenta proporcionalmente al contenido de lignina, aunque este proceso no es muy efectivo para aquella biomasa lignocelulósica con alto contenido de lignina, posteriormente la muestra humedecida se transfiere a una cámara a presión con amoniaco líquido, la concentración de amoniaco debe ser de 1–2 kg NH₃/kg de biomasa seca, el sistema utilizado trabaja con presiones superiores a 12 atm, el rango de presión es de (100 a 400 psi), para el caso de la temperatura se maneja un rango de (70 a 200° C), en donde a mayor temperatura se requiere de una menor presión y viceversa, a la presión máxima se puede trabajar a temperatura ambiente.

El tiempo de proceso es de 30 minutos, los rendimientos de hidrólisis para biomasa con bajo contenido de lignina pueden llegar a 90% de hidrólisis de celulosa y hemicelulosa, en este proceso no se producen compuestos inhibidores (Holtzaple et ál., 1991).

Molecularmente lo que ocurre es que en este proceso se decristaliza la celulosa, se hidroliza la hemicelulosa, se despolimeriza la lignina e incrementa la porosidad en la pared celular, por tanto este pretratamiento incrementará significativamente los rendimientos de hidrólisis y por tanto de obtención de carbohidratos fermentables, se pueden obtener rendimientos de arriba del 90% de hidrólisis de glucanos y 70 % de hidrólisis de xilosa utilizando el pasto varilla como materia prima, anteriormente mencionado (Bals et ál., 2010).

Para la reducción de costos en el proceso se puede recuperar el amoniaco, un posible método es recuperar el amoniaco después de cada proceso por evaporación, teniendo como ventaja que requiere de menor tiempo de proceso (Balat M. et ál., 2008).



Figura 34.0. Reactor AFEX convencional .Fuente:(WTR Systems, 2014).

MÉTODOS QUÍMICOS PARA OBTENCIÓN DE BIOETANOL PRETRATAMIENTO CON ÁCIDOS

El pretratamiento con ácidos normalmente es usado para obtener altos rendimientos de hidrólisis a partir de materias primas lignocelulósicas, como sabemos existen una gran variedad de ácidos, el ácido sulfúrico y el ácido clorhídrico son poderosos agentes para la hidrólisis, pero se requiere de equipos que requieran una alta resistencia a la corrosión, es por ello que en la mayoría de los casos se requieren de ácidos diluidos generalmente ácido sulfúrico, clorhídrico y perclórico, el proceso de pretratamiento con ácido sigue de un proceso de hidrólisis enzimática, existen generalmente dos tipos de pretratamiento con ácido :

- Sistema con un bajo contenido de sólidos 5-10 % (w/w) a una temperatura mayor a 160°C a sistema con agitación constante.
- Sistema con un alto contenido de sólidos de 10-40 % (w/w) en un sistema a una temperatura menor a 160°C con agitación constante.

La hidrólisis de celulosa aumenta proporcionalmente con el contenido de ácido utilizado, algunas fuentes indican que durante 4 horas a temperatura ambiente 25°C y concentraciones menores a 60 % de ácido sulfúrico H₂SO₄ la hidrólisis de α-celulosa presenta rendimientos nulos, por el contrario a concentraciones superiores a 65% de ácido sulfúrico H₂SO₄ presentan rendimientos altos de hidrólisis, por tanto la hidrólisis de la celulosa se ve influenciada por el estado físico de la misma, en general al aumentar la temperatura disminuye la cantidad de ácido necesaria para la hidrólisis de celulosa, por ejemplo a una concentración de 0.04% de ácido sulfúrico H₂SO₄ y temperaturas de 245°C se obtienen rendimientos de hidrólisis de celulosa de 95%, se tienen reportes que la celulosa se despolimeriza y disuelve con el uso de agua supercrítica de 300-320°C sin necesidad de adicionar ácido (Xiang et ál., 2003).

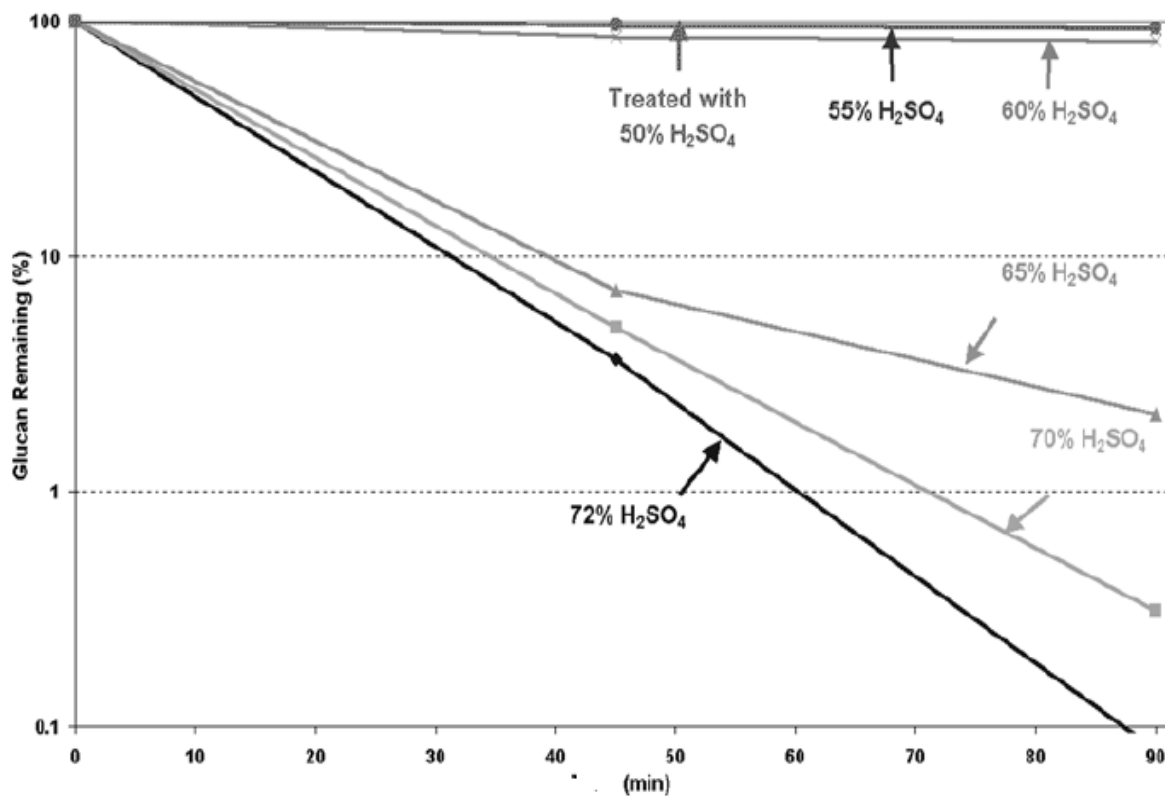


Figura35.0. Perfil de hidrólisis ácida (H₂SO₄) de α-celulosa a diferentes concentraciones de ácido durante 4 horas y temperatura ambiente. (Fuente: Xiang et ál., 2003).

De este pretratamiento en general cuando se utilizan temperaturas más altas y menos tiempo de proceso en el reactor se obtienen mayores rendimientos de recuperación de xilosa soluble y facilita la degradación enzimática de la celulosa, (Tucker et ál., 2003).

En el proceso de hidrólisis ácida que es más rentable es usar ácido diluido debido a que se requiere de una menor cantidad de reactivos para neutralizar el medio o no se requiere de neutralización dado que hay enzimas que soportan el pH al que se lleva a cabo la hidrólisis ácida, dicho proceso consta de dos etapas y las condiciones son las siguientes:

Primera etapa: Solución al 0.7% de ácido sulfúrico a una temperatura de 190°C con el fin de solubilizar la hemicelulosa y obtener pentosas eficientemente de ella, obteniéndose xilosa, glucosa y algunas cantidades 5-hidroximetilfurfural y furfural si es que no se controla el tiempo de hidrólisis.

Segunda etapa: Se aumenta la temperatura del reactor a 215 °C para hidrolizar la celulosa dado que sus enlaces presentan una mayor resistencia a la hidrólisis ácida generándose glucosa de la hidrólisis ácida y algunos oligómeros de glucosa los cuáles se hidrolizaran en el tratamiento enzimático (Hamenlinck et ál., 2003).

Las desventajas de pretratamiento con ácido es la generación de compuestos de inhibición para los microorganismos en la fermentación, existen estrategias para remover dichos compuestos mediante el hongo *Coniochaeta Lignaria* que puede metabolizar el furfural y el hidroximetil furfural (U.S. Patent 7,067,303, 2006).

HIDRÓLISIS ALCALINA

Este pretratamiento consiste en someter la biomasa de segunda generación a la acción de bases diluidas y la eficiencia del mismo depende del contenido de lignina, al adicionar el hidróxido de sodio se produce un hinchamiento lo que provoca un aumento del área superficial interna, por tanto disminuye la cristalinidad y grado de polimerización de la celulosa, por tanto se produce la remoción de la lignina, extracción de la hemicelulosa y celulosa (Fan et ál., 1987).

El mecanismo de la hidrólisis alcalina parece estar basado en la saponificación de los enlaces ésteres intermoleculares que unen los xilanos de la hemicelulosa, celulosa y la lignina (Sun y Cheng, 2002).

Se utilizan reactivos como: Hidróxido de Sodio, Hidróxido de sodio + peróxido, vapor a presión con atmósfera de hidróxido de sodio, solución acuosa de amonio e hidróxido de Calcio (Mousdale, 2010).

Este pretratamiento presenta ventajas dado que requiere temperatura y presiones menores en comparación a otros, puede realizarse la hidrólisis a temperatura ambiente pero se requiere de un mayor tiempo de hidrólisis tal vez horas o días además de que se remueve la lignina sin el menor efecto en otras moléculas.

En las maderas duras cuando se someten a este tratamiento se incrementa la digestibilidad y por tanto disminuye el contenido de lignina, en maderas con suaves con un contenido de lignina de hasta 26% no se han obtenido resultados eficientes, se pueden utilizar como ya se mencionó la combinación de varios métodos, por ejemplo para rastrojo de maíz usando NaOH al 2% combinada con radiación (500 kGy) se obtiene un rendimiento de glucosa de 20%, dicho rendimiento es el mismo al con hidróxido de sodaio al 45%.

El hidróxido de Calcio se combina con agentes oxidantes (O_2) en el reactor, en donde la biomasa se somete a una temperatura de 40 a 150 °C, aumentando también proporcionalmente el rendimiento al tiempo de hidrólisis, la ventaja que presenta este método es que remueve acetilos y varios grupos urónicos presentes en la hemicelulosa que dificultan la posterior hidrólisis enzimática (Balat et ál., 2008).

Para hidrólisis de rastrojo de maíz secado previamente se utilizó peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 2.0%, que depolimeriza la lignina, en este método se utiliza una proporción de 1 g de materia seca por cada 20 mL de solución y se ajusta el pH a 11.5 con hidróxido de sodio 5 M con sistema en agitación constante a 120 rpm y 50°C a un tiempo óptimo de 24 horas, en donde se observa que el rendimiento de celulosa aumenta proporcionalmente al tiempo de pretratamiento obteniéndose rendimientos de celulosa de (81.9-87.3%), la función de la hidrólisis básica con peróxido es extraer la celulosa, al término de esta reacción se filtra y se secan a 60 °C los sólidos obtenidos que constan de celulosa la cual se someterá a hidrólisis enzimática posteriormente, del filtrado obtenido se obtendrá la hemicelulosa y la lignina, la ventaja de la hidrólisis básica con peróxido es que no se producen compuestos tóxicos como ácido acético,

furfural e hidroximetil furfural en contraste a los pretratamientos con medio ácido y etanol (Yapeng et ál., 2014).

PRETRATAMIENTO CON CO₂ SUPERCRÍTICO

Esta tecnología es reciente teniendo como ventajas bajo costo debido a que requiere bajas temperaturas, utiliza solventes no tóxicos , tensión superficial mínima, baja viscosidad, alta difusividad, es similar al tratamiento de explosión de vapor , en donde se somete la biomasa a altas presiones y las moléculas de CO₂ penetran al interior de la biomasa y destruyen dicha estructura , el contenido de humedad en la biomasa es crítico para la eficiencia de este proceso, el rango de humedad óptimo de la biomasa es de 0-73 % w/w en donde el rendimiento de hidrólisis de biomasa de aumenta proporcionalmente a la humedad en madera dura y residuos agrícolas principalmente de maíz, trigo, cebada, etc. (Heon y Hong 2001), el incremento de humedad resulta en la formación de ácido carbónico a altas presiones que afecta la integridad de la biomasa hidrolizando la hemicelulosa y celulosa , las condiciones de presión se encuentran dentro del rango de 2500-4000 psi aumentando los rendimientos proporcionalmente a la presión al igual que la temperatura, los rangos óptimos de temperatura son (120-165°C), siendo la temperatura óptima de 155°C a un tiempo de tratamiento de una a dos horas (Narayanaswamy et ál., 2011).

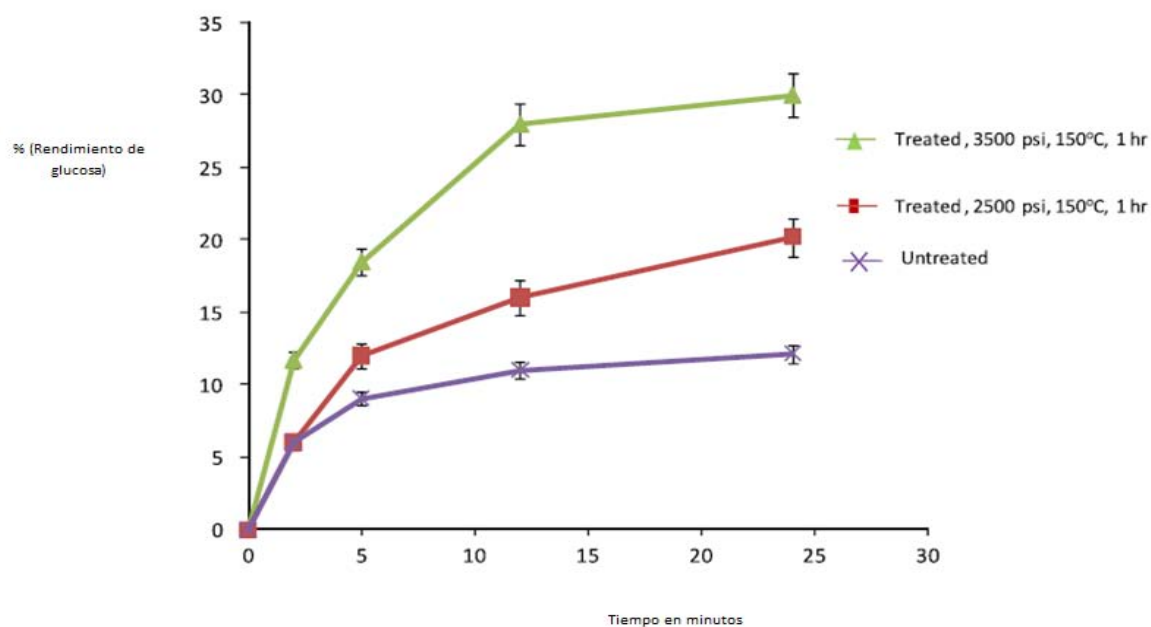


Figura 36.0. Efecto de la presión en pretratamiento con CO2 supercrítico, sometido a rastrojo de maíz durante 1 hora. Fuente; (Narayanaswamy et ál., 2011).

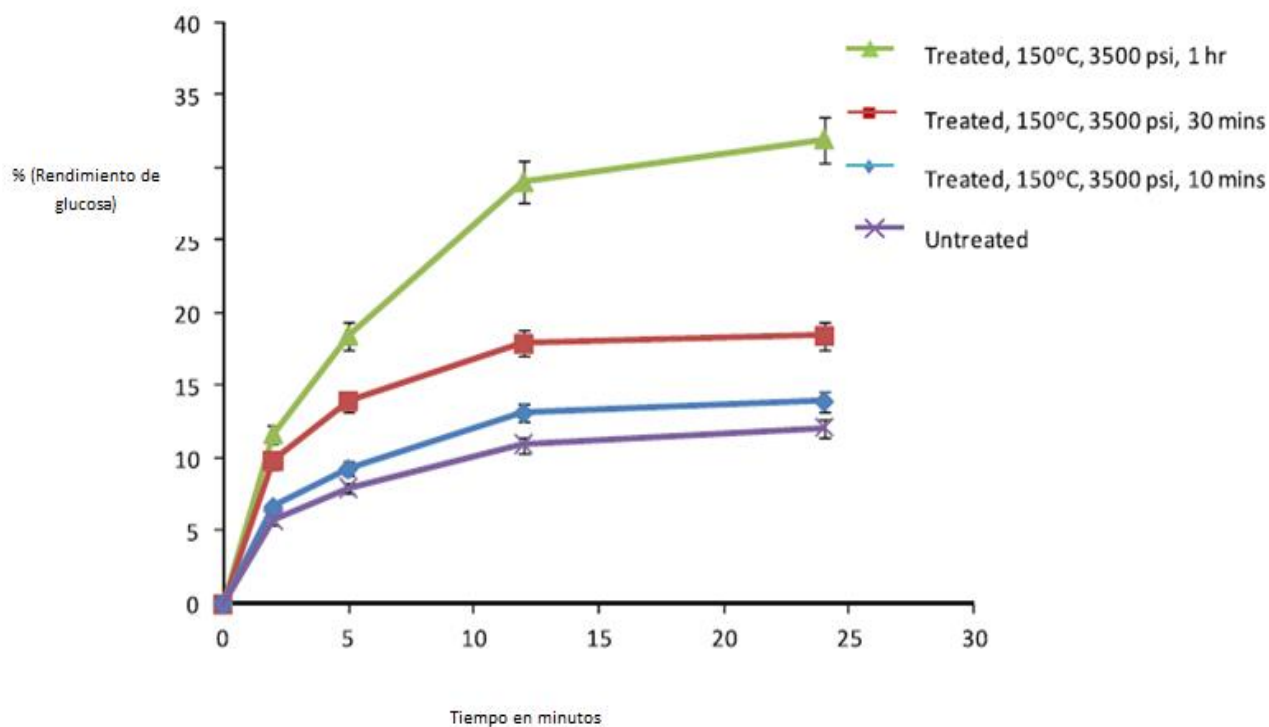


Figura 37.0. Efecto de la temperatura en pretratamiento con CO2 supercrítico, sometido a rastrojo de maíz durante 1 hora. Fuente; (Narayanaswamy et ál., 2011).

Los reactores utilizados para este proceso deben de ser de acero inoxidable, en donde se colocará la biomasa previamente seca y se someterá a vacío para remover el aire adentro, inmediatamente se aumentará la temperatura con baño de agua y posteriormente se inyecta al reactor CO₂ a la presión adecuada, el reactor debe de estar en agitación constante y hasta que las condiciones de presión y temperatura se estabilizan se empieza a contar el tiempo de proceso, en este pretratamiento los rendimientos de carbohidratos reductores es no mayor a 35% (Jianzhong Y. et ál., 2014).

Este pretratamiento es más efectivo para la madera dura, dado que se obtienen mejores rendimientos de bioetanol en comparación a la madera suave.

PRETRATAMIENTO CON OZONO

El pretratamiento con ozono es efectivo para remover lignina, esto es debido a diferencias entre las configuraciones electrónicas presentes en la lignina, principalmente la presencia de dobles enlaces y grupos donadores de electrones, por ello el ozono reacciona con los dobles enlaces liberando compuestos solubles de bajo peso molecular, las desventajas de este método es que es costoso en comparación a otros pretratamientos y que se forma ácido fórmico y ácido acético bajando el pH hasta 2.0 y por tanto se requiere neutralización del pH del medio para evitar la inhibición de la fermentación, pero se genera una mínima cantidad de HMF y furfural, además de que no se presenta la degradación de carbohidratos, otras ventajas de este pretratamiento es que se realiza a temperatura y presión ambiente y que el ozono se degrada rápidamente utilizando un lecho catalítico o aumentando la temperatura del sistema (Travaini et ál., 2013).

Para la eficiencia de este proceso es importante la concentración de ozono y humedad de la biomasa, las concentraciones ideales de ozono son de 2.0 a 6.0 % w/w, de humedad 25-35% a un tiempo óptimo de 120 minutos (Panneerselvam et ál., 2013), aunque pueden tenerse buenos rendimientos de celulosa ajustando la biomasa a 80.0% de humedad y una concentración de ozono de 1.37 % v/v (Travaini et ál., 2013).

El proceso consiste en la adición de la biomasa previamente tamizada por malla de 0.5 a 1.0 mm, seguido por el ajuste de humedad con agua destilada dentro del reactor de columna de lecho fijo con inyección de ozono, al ajustarse la humedad se inicia el flujo de ozono y la agitación del sistema al tiempo requerido, el pH de la mezcla terminado el proceso disminuirá debido a la formación de compuestos ácidos y/o de inhibición, por lo que puede utilizarse agua destilada para eliminar dichos compuestos aunque no es recomendable debido a que se pierden carbohidratos fermentables y el rendimiento de bioetanol disminuirá considerablemente (Martín et ál., 2007).

TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS DE BIOMASA

HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

La hidrólisis enzimática es el siguiente paso al pretratamiento realizado a la biomasa lignocelulósica, si la biomasa no es pre tratada solo un rango entre el 10.0-20.0 % de los polisacáridos será hidrolizada, las desventajas de la hidrólisis enzimática es que este proceso generalmente es muy lento debido a parámetros estructurales del sustrato, tensión superficial y cristalinidad de la celulosa.

La hidrólisis enzimática de la biomasa lignocelulósica se realiza con distintas enzimas principalmente celulasas, las cuáles son de origen fúngico y algunas bacterias aerobias y anaerobias, para el caso del hongo *Trichoderma reesei* ha mostrado ser el más efectivo y rentable para la producción de celulasas, la hidrólisis se puede realizar directamente con microorganismos que poseen enzimas que degradan la celulosa (Cherry & Fidanset 2003).

Las bacterias aerobias y hongos basidiomicetos degradan la celulosa mediante la producción de celulasas extracelulares, los géneros relevantes de bacterias son *Cellulomonas*, *Streptomyces* y para las de origen fúngico son *Sclerotium rolfsii*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Volvariella volvacea*, *Schizophyllum commune*, *Pycnoporus sanguineus*, *Bjerkandera adusta*, y algunos ascomicetos como *Trichoderma reesei*, especies de *Aspergillus*, y *Penicillium* (Cuervo et al., 2001).

Para el caso de hongos y bacterias anaerobias degradan la celulosa mediante celulosomas, bacterias correspondientes a este grupo son *Clostridium* y *Ruminococcus* y para hongos los géneros relevantes son *Anaeromyces mucronatus*, *Caecomyces*

communis, *Cyellomyces aberencis*, *Neocallimastix frontalis*, *Orpinomyces* sp. Y *Piromyces* sp. (Cuervo et al., 2001).

En esta etapa se obtendrán la mayor parte de los carbohidratos fermentables o sustratos para la levadura, es por ello que debe de verificarse las condiciones para obtenerse buenos rendimientos, en general las condiciones óptimas de los sistemas enzimáticos celulíticos es un rango de pH de 4.5 a 5.5 es por ello que se requiere de la adición de buffers principalmente de acetatos, temperatura de 50° C, agitación a 250 rpm , a un tiempo de 48 horas, las concentraciones de enzima varían dependiendo del sistema enzimático.

De la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica pre tratada se obtiene a partir de la celulosa glucosa y de hemicelulosa se obtienen pentosas (xilosa y arabinosa) y hexosas (glucosa galactosa y manosa). La bioconversión de celulosa y hemicelulosa es catalizada por enzimas del tipo celulasa y hemicelulasa respectivamente, de la lignina no se obtienen carbohidratos fermentables.

El proceso de hidrólisis enzimática de la biomasa pre tratada puede seguir dos rutas utilizar solo la celulosa, considerando que de la hidrólisis se obtendrá solo glucosa como sustrato para la fermentación , esto depende de las concentraciones de celulosa y hemicelulosa presente en la materia prima y en base a ello considerar si es rentable y/o se obtendrán buenos rendimientos de bioetanol, por tanto al separar los azúcares solubles y oligosacáridos se debe solo adicionar celulasas, por el contrario si el contenido de hemicelulosa es considerable es necesario adicionar enzimas hemicelulasas.(Mousdale,2010).

Existen cuatro tipos de celulasas que actúan de diferente manera en la estructura de la celulosa, por lo que se requiere que se someta la biomasa celulósica a estos diferentes tipos de enzimas para que se realice la hidrólisis completa a glucosa dado que trabajan sinérgicamente, por lo que los rendimientos de hidrólisis serán mayores si se utilizan complejos enzimáticos el lugar de usar las enzimas individuales y la acción enzimática se realiza en el siguiente orden (Lynd et al., 2002):

1. **Endoglucanasas**; hidrolizan al azar sobre los enlaces β -1,4 glicosídicos de la celulosa lo que provoca disminución de la cadena y produciendo oligosacáridos como celobiosa, celotriosa y glucosa , las endoglucanasas no actúan de forma significativa en la celulosa cristalina, son las primeras enzimas que actuarán sobre la celulosa del complejo enzimático generando sitios de ataque para las exo enzimas
2. **Celodextrinasas(1,4- β -D-glucan glucanohidrolasas)**: hidrolizan los extremos de las cadenas de celulosa liberando glucosa
3. **Exoglucanasas o Celobiohidrolasas**; este tipo de enzimas producen rupturas secuenciales en la molécula de celulosa a partir de un extremo reductor no liberado y están representados por dos grupos de enzimas celobiohidrolasas (1,4- β -D-glucan celobiohidrolasas) que libera unidades de celobiosa a partir del extremo no reductor y las exoglucohidrolasas (1,4- β -D-glucan glucohidrolasas) que liberan unidades de glucosa a partir del extremo no reductor, produciéndose también celobiosa (Angelo, 2004).
4. **β -glucosidasa hidrolizan celobiosa y celodextrinas (1,4- β -D-glucanos)**; hidrolizan oligucósidos de cadena corta para liberar dos moléculas de glucosa. Las concentraciones utilizadas para hidrolizar la biomasa son muy variadas, dichos factores son marca de la enzima, si se usan sistemas enzimáticos o las enzimas individualmente, efecto del pretratamiento en la biomasa y composición de la misma.

Tabla 20.0. Condiciones de hidrólisis enzimática y pretratamientos de algunos tipos de biomasa de segunda generación.

Enzima y concentración utilizada respecto a la biomasa	Rendimientos de hidrólisis enzimática	Condiciones a las que se obtiene mejor rendimiento de hidrólisis
Enzima de Trichoderma Reesei (10KU) 20% w/w (1)	Hidrólisis de celulosa 92.3%	Pretratamiento con Hidrólisis ácida H ₂ SO ₄ al 70.0%. pH 5.13 , Temperatura de 50°C Catalizador de TiO ₂ . Tiempo de hidrólisis de 48 horas
Celulasa (Celluclast 1.5 L) β-glucosidasa (Novozimes 188) (2)	Hidrólisis de madera de Eucalyptus Globulus 94.4 0% de hidrólisis de celulosa	Pretratamiento de la biomasa, explosión de vapor 195°C, 6 minutos Condiciones enzimáticas: pH 4.85, Temperatura de 50°C
Sistema enzimático Cellic™ Ctec2. de Novozimes (mezcla de celulasas, β-glucosidasas y hemicelulasas a concentración de 5% w/w) (3)	Madera suave de pino con rendimiento de 82.48% de hidrólisis de celulosa	Pretratamiento de la biomasa con explosión de vapor a 220°C Condiciones enzimáticas: pH 5.0, temperatura de 50°C, agitación de 250 rpm y tiempo de hidrólisis de 48 horas
Mezcla de enzimas Celulasas Acremonium a concentración de 5 FPU/ g de biomasa y enzimas xilanasas a 20 U/ g (4)	Bagazo de caña de azúcar con rendimiento de hidrólisis de 89.2 % de glucosa y 77.2% de xilosa	Pretratamiento en molino de bolas a un tiempo de 4 horas Condiciones enzimáticas; pH de 5.0 , temperatura 45°C a un tiempo de hidrólisis de 72 horas
Mezcla de enzimas, celulasas , Celluclast 1.5 L de Novozimes a concentración de 15 FPU/g y B-glucosidasa Novozim 188 a 30 FPU/g (5)	Bagazo de cebada con humedad inicial de 5.2% con un rendimiento de hidrólisis enzimática de celulosa de 73.8%	Pretratamiento con solución acidificada de HCl al 0.15% v/v y 10% v/v de ZnCl ₂ , a temperatura de 170°C por 20.0 minutos Condiciones enzimáticas; pH de 4.8 , temperatura 50°C, agitación a 150 rpm a un tiempo de hidrólisis de 96 horas

Referencias de la tabla 20

- (1) Abushammala y Hashaikeh 2011
- (2) Romaní et ál., 2013.
- (3) Cotana et ál., 2014
- (4) Sarkar et ál., 2012
- (5) Kim.H.T. et ál., 2014

ENZIMAS HEMICELULASAS

Al igual que la mayoría de las enzimas las hemicelulasas se obtienen de hongos como *Trichoderma reesei*, bacterias como *Bacillus subtilis*, insectos que degradan la madera, moluscos y crustáceos, la siguiente tabla describe los principales tipos de hemicelulasas con sitio de acción y productos obtenidos de la hidrólisis

Tabla 21.0. Principales hemicelulasas, sitio de acción y productos obtenidos de la hidrólisis de la hemicelulosa (Mousdale, 2010).

Hemicelulasa	Sitio de acción	Productos obtenidos de la hidrólisis
Endo-β-1,4 xilanasa	Son Xilanasas que actúan sobre los enlaces internos β -1,4 en xilanos y L-arabino-D xilanos	Xilosa, xilobiosa, oligomeros de xilano
Exo-β-1,4 xilosidasa	Son Xilanasas que actúan sobre los enlaces externos β -1,4 en oligomeros de xilano	Xilosa
Endoarabinasa	Arabinasas que hidrolizan los enlaces internos α -1,5 y α -1,3 en arabinanos	Arabinosa
α-L-arabinofuranosidasa	hidrolizan los enlaces α -1,2 y α -1,3 en xilo arabinanos y los enlaces externos α -1,5 en arabinanos	Arabinosa y oligomeros de xilano
Endo-β-1,4 manasa	Son enzimas del tipo mananas que hidrolizan enlaces internos β -1,4 en mananas, galactomananas y glucomananas	Manosa, oligomeros de manano
Exo-β-1,4 manosidasa	Son exoenzimas del tipo mananas que actúan sobre los enlaces externos β -1,4 en oligomeros de manano	Manosa
Endo-β-1,4 galactanasa	Hidroliza los enlaces internos β -1,4 de galactanos y arabinogalactanos	Galactosa, galactana y oligomeros
α-galactosidasa	Cadenas laterales de enlaces α -1,6 en oligomeros de galactomanano	Galactosa y oligomeros de galactano
β-glucosidasa	Enlaces externos β -1,4 en oligomeros de glucomanano	Glucosa
α-glucoronidasa	Cadenas laterales de enlaces 4-O-metil- α -1,2 en glucoronoxilanos	Galactosa y oligómeros de manano
Acetil esterasa	Enzima del tipo esterasas que actúan sobre grupos acetil 2 o 3-O de manano y xilosa	Ácido acético, manosa y xilosa

ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS

La lignina es un polímero que confiere resistencia a impactos e hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa por organismos degradadores de estos polisacáridos, se ha venido mencionando que los costos y esfuerzos de producción a partir de materiales vegetales

de segunda generación es proporcional al contenido de lignina, las características estructurales de la lignina imponen ciertas restricciones para su degradación, una de esas características es su peso molecular de 600-1000 KDa lo que le impide ser degradada intracelularmente, las enzimas utilizadas para degradar la lignina deben de ser extracelulares no hidrolíticas y bastante inespecíficas.

La lignina al ser un polímero muy recalcitrante solo es mineralizada, transformado a dióxido de carbono y agua mediante la producción de radicales libres, existen hongos y bacterias con esta capacidad denominados de pudrición blanca de la madera, la mayoría de los microorganismos degradadores de lignina son del género *Basidiomicetes*, *Pleurotus* y *Bjerkandera* (Dávila y Vázquez, 2001).

P. chrysosporium degrada eficientemente la lignina degradando 2,4 diclorofenol y 2,4,6 triclorofenol, guayacoles policlorados y algunas vainillinas cloradas, esto se demuestra utilizando enzimas peroxidasa extracelulares in vitro como la lignino peroxidasa, de este microorganismo se han aislado y purificado diez isoenzimas nombradas de H1 a H10 por su orden de elución en una columna de intercambio iónico (Dávila y Vázquez, 2001).

En general para la degradación de la lignina se requiere oxidar y posteriormente despolimerizar a la lignina, actuando sobre la lignina las enzima lignino peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP) y manganeso peroxidasa versátil (MnP) que conjuga propiedades catalíticas de las dos enzimas, además de las peroxidasa también intervienen fenol oxidasas o lacasas que son capaces de reducir el oxígeno molecular a agua, estas enzimas pueden actuar coordinadas o por separado, las enzimas fenol oxidasas a través de la utilización de ciertos compuestos redox amplía su espectro de sustratos oxidando porciones no fenólicas. (Bourbonnais y Paice, 1990).

Los principales microorganismos productores de enzimas ligninolíticas son *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Cyanthus stercoreus*, *Phlebia radiata*, *Nematoloma frowardii*, *Pleurotus eryngii* y *Bjerkandera* sp. BOS55

CAPITULO 8

PROCESOS DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE MATERIA PRIMA DE TERCERAY CUARTA GENERACIÓN

BIOMASA DE TERCERA GENERACIÓN

Los materiales clasificados como de tercera generación provienen de fuentes acuáticas como algas macroscópicas que son utilizadas para agentes gelificantes, que crecen rápidamente en contraste a las materias primas de primera y segunda generación, las algas presentan un gran potencial para la producción de bioetanol, además de no competir con áreas de tierra para su cultivo, producen una mayor cantidad de biomasa por unidad de área, no requieren de pesticidas ni fertilizantes, contienen una gran cantidad de polisacáridos, al igual que las plantas terrestres poseen celulosa en la pared celular y no contienen lignina, por tanto es más fácil de despolimerizar a carbohidratos fermentables (Park et ál., 2011).

Algunos tipos de algas tienen una productividad de 13.1 Kg de materia en peso seco por metro cuadrado bajo un periodo de crecimiento de 7 meses comparando con los materiales vegetales terrestres que tienen rendimientos de 0.5 a 4.4 Kg en un periodo de un año, con avances de la ingeniería genética es posible mejorar especies de algas para la producción de etanol de tercera generación (Borines et ál., 2011).

Las algas representan una amplia variedad de especies fotosintéticas y pueden ser autótrofas y heterótrofas, el reino algae se divide en dos categorías macroalgas y microalgas, como su nombre lo indica se diferencia en tamaño y morfología, las microalgas son de las formas de vida más antiguas y abundantes del planeta, además de que son las plantas que presentan velocidad de crecimiento más rápido, siendo también de gran disponibilidad dado que se encuentran en agua dulce, aguas residuales y océanos, además de adaptarse a condiciones extremas de pH y temperatura. Las algas microscópicas son la principal fuente nutriente en especies marinas dado que contienen una gran cantidad de proteínas, lípidos, carbohidratos y minerales, son de fácil cultivo con condiciones óptimas de temperatura de 15 a 30°C, pH 7-9, luz 2000-4000 lux, los macronutrientes o factores limitantes del crecimiento el carbono, Nitrógeno, Fósforo, Silicio, Magnesio, Potasio y Calcio, que se requieren en cantidades relativamente grandes, mientras que los llamados micronutrientes (Hierro, Manganeso, Cobre, Zinc, Sodio, Molibdeno, Cloro y Cobalto) se necesitan en menores cantidades. es recomendable en cultivos a gran escala adicionar una concentración de 0.5% de CO₂ para contribuir al proceso fotosintético, algunas fuentes relacionan que

cultivar las algas bajo deficiencia de nitrógeno contribuye a un aumento en el contenido de carbohidratos(FAO, 2014);(Rismani et ál., 2011).

Las especies de microalgas con mayor potencial para la producción de etanol son *Chorella*, *Dunaliella*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus*, *Spirulina* dado que presentan una cantidad mayor a 50% en base seca de almidón, y glucógeno. Los principales monosacáridos obtenidos de la hidrolisis de carbohidratos provenientes de microalgas son; glucosa, manosa, ribosa, xilosa, ramnosa y fucosa algunas también presentan celulosa en la pared celular (John R.P. et ál., 2011).



Figura 38.0.Imagen de algas microscópicas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus*

Tabla 22.0.Contenido de almidón en Especies de microalgas con mayor potencial para la producción de bioetanol. Fuente:(John R.P. et al., 2011).

Especie de alga	% de almidón extraído g/ base seca
Chlamydomonas reinhardtii UTEX 90	53.0 (Kim H.K. et ál., 2006).
Chlamydomonas reinhardtii (UTEX2247)	45.0
Chlorella vulgaris	37.0
Chlorella sp. TISTR 8485	27.0
Chlorococcum sp. TISTR8583	26.0
Scenedesmus sp. TISTR 8579	20.4
Scenedesemus acutus TISTR 8447	18.6
Nostoc sp. TISTR 8873	32.9%
Nostoc muscorum TISTR 8871	33.5%
Phormidium angustissimum TISTR 8979	28.5%
Spirulina fusiformis	37.3- 56.1 %

PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE MICROALGAS

- **Extracción de Carbohidratos**

El primer pretratamiento para la extracción de carbohidratos es sonicación, la biomasa previamente secada se suspende en agua destilada y se somete a ultra sonicación de 130 W al nivel máximo de potencia a una frecuencia de 40 kHz, durante un tiempo entre 25-50 minutos, el tiempo de sonicación es proporcional a la potencia del equipo de ultra sonicación, posteriormente se somete la muestra a centrifugación para eliminar el agua en la estructura de las microalgas (Harun y Danquah, 2011).

- **Secado de biomasa**

Terminada la centrifugación el extracto se seca en horno durante 24 horas a 60° C hasta peso constante y posteriormente se muele la biomasa para hidrólisis.

- **Análisis proximal**

Es necesario realizar un análisis proximal al extracto para poder comparar rendimientos de hidrólisis obtenidos y poder concluir si esta biomasa es viable para la producción de bioetanol, los métodos usados para análisis pueden ser los de la AOAC para carbohidratos totales, reductores, proteínas etc.

Los métodos de hidrólisis pueden ser hidrólisis ácida combinándose con distintos métodos como físicos (explosión de vapor), sometiendo la muestra a presión y temperatura para optimizar el tiempo de proceso, cabe destacar que la hidrólisis ácida requiere de menor tiempo de hidrólisis, además de ser más barata y accesible, pero presenta la desventaja de formar compuestos de inhibición tal y como se ha descrito en capítulos anteriores de este documento (Ho.H. S. et ál.,2013), los métodos se describen a continuación:

Hidrólisis ácida: El ácido con el cuál se obtienen mejores rendimientos de hidrólisis y extracción de carbohidratos reductores es H_2SO_4 , se debe realizar dos hidrólisis la primera consiste en someter la biomasa a una solución de ácido entre 70-75 % v/ven donde la concentración de biomasa no deber ser mayor a 50% w/v respecto a la solución ácida, a una temperatura de 30° C durante una hora (Kim H. K. et ál 2014), posteriormente se somete a una segunda hidrólisis bajo condiciones de autoclave, las condiciones a las que se obtienen mejores rendimiento es una concentración de ácido entre 1.0%-5.0%v/v o 2.0 N, donde la concentración de ácido utilizada es mayor en aquellas microalgas que contengan una mayor cantidad de celulosa en la pared celular, la temperatura debe estar entre 120-130° C , a una presión de 1.2 bar y tiempo de 20-30.0 minutos, terminado el periodo de hidrólisis se procede a ajustar el pH dependiendo de los requerimientos enzimáticos, utilizando el proceso de hidrólisis ácida mencionada anteriormente para *Scenedesmus obliquus* se obtiene una extracción de carbohidratos de 31.8% w/w en base seca del cuál 14.7 corresponde a glucosa (Miranda J. R. et ál, 2012).

Después de la hidrólisis ácida se procede a enfriar el sistema a 4° C y se centrifuga a 9000 g por 20 minutos y se recupera el sobrenadante.

Hidrólisis enzimática: Las enzimas utilizadas para hidrólisis de microalgas son principalmente celulasas, amilasas y pectinasas (Kim H. K. et al. 2014), por tanto las condiciones a las cuales se debe de realizar la hidrólisis enzimática son; temperatura de 45°C, agitación 200 rpm, las concentraciones recomendadas de enzimas son ; para endoglucanasas 0.65 U/mL, β -glucosidasa 0.30 U/mL, pectinasas 1.88 g de enzima/ g de biomasa y amilasas 0.75 U/mL relacionando la proporción de las enzimas en aquellas microalgas que con un contenido de carbohidratos de 50.0% en base seca del cuál de este porción 30% corresponda a almidón y el otro porcentaje a celulosa, a un tiempo de hidrolisis de 48 a 72 horas, para obtener rendimientos altos de glucosa se recomienda una proporción de biomasa de 20% w/v cuyas rendimientos de glucosa son de 90.4% (Ho S. H. et al., 2011).

Fermentación: En capítulos anteriores de este documento se había mencionado que la sacarificación y fermentación simultánea optimizaba tiempos de proceso y genera un mayor rendimiento de bioetanol, obteniéndose rendimientos de bioconversión mayores a 90.0%, es importante mencionar que el sistema debe de estar en agitación constante para mejorar el rendimiento a 65 rpm, las condiciones óptimas de temperatura oscilan entre 25-30°C siendo las adecuadas para bacterias y levaduras, a un rango de pH de 5.0-6.0 y tiempo de 48 a 72 horas hasta que el etanol permanezca constante.

Para la fermentación de microalgas se utilizan microorganismos como *Saccharomyces cerevisiae* para fermentación de hexosas a concentraciones ideales de 2.7×10^7 UFC / mL para 100 g de biomasa, algunas fuentes inoculan la levadura previamente cultivada en fase exponencial al 3.0% v/v y *Zimomonas mobilis* para la fermentación de pentosas, produciendo rendimientos mayores a 92% de bioetanol respecto a la cantidad de carbohidratos fermentables, por cada 100 g de biomasa se utiliza una concentración d levadura de 1×10^7 UFC / mL (Letti J. et al., 2012).

Cuando se realiza la fermentación separada se la hidrólisis enzimática se inocula el microorganismo hasta que la concentración de carbohidratos fermentables producto de la hidrólisis enzimática permanece constante.

Destilación y purificación de bioetanol: La etapa de destilación se realiza con el fin de extraer el etanol para su posterior uso, el proceso no difiere en materias de primera a tercera generación, normalmente consiste en una doble destilación a temperaturas de 80°C, en donde de la primera etapa se obtiene el bioetanol en forma hidratada a una pureza de 92-95°C, posteriormente se redestila adicionando ciclohexano para obtener una mezcla azeotrópica y obtener el bioetanol anhidro a una pureza de 99.7% (BIOETANOL,2008).

MACROALGAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

Las especies macroalgas con alto contenido de carbohidratos que son candidatos prometedores para la producción de etanol son Gracilaria, Sargassum, rymnesium parvum, Euglena gracilis, Gelidium amansii, Euchema spp, Laminaria hyporbea, Kappaphycus alvarezii (Wi et ál., 2009), al igual que las materias primas de segunda generación son de bajo costo y de alta disponibilidad en las regiones costeras, pero presentan desventaja dado que los fermentadores presentan altos costos de operación y mantenimiento.

Tabla 23.0. Comparación de rendimiento de carbohidratos hidrolizables y potencial para producción de bioetanol entre cultivos terrestres y macroalgas. Fuente: (Wi et ál., 2009).

	Trigo (grano)	Maíz	Remolacha de azúcar	Caña de azúcar	Macroalgas
Rendimiento promedio en el mundo(Kg/hectárea año)	2800	4815	47,070	68,260	730,000
Peso seco de carbohidratos hidrolizables (Kg/hectárea año)	1560	3100	8825	11,600	40,150
Volumen potencial de bioetanol(L /hectárea año)	1010	2010	5150	6756	23,400

Las algas macroscópicas generalmente se clasifican en tres tipos en base a sus pigmentos fotosintéticos Chlorophyta (algas verdes), Rhodophyta (algas rojas) y Phaeophyta (algas cafés), la mayoría de los pigmentos en las algas verdes es clorofila por lo que la mayoría de los productos fotosintéticos en este tipo de algas es almidón y en las capas exterior e interior de la pared celular predominan pectina y celulosa respectivamente.

Para el caso de las algas rojas el principal pigmento es r-ficoeritrina , la pared celular de las algas rojas contiene pequeñas cantidades de celulosa, mientras que la mayor parte de la pared celular es gelatinosa y está compuesta de polímeros galactanos sulfatados amorfos, tales como agar, carragenina, funoranos, etc.

ALGAS CAFÉS

En el caso de las algas cafés los pigmentos fotosintéticos producidos son xantofilas, especialmente fucoxantina, los productos fotosintéticos de las algas cafés presentes en la pared celular son ácido algínico, celulosa y otros polisacáridos. Existen otros carbohidratos que son factibles para la producción de etanol presente en las algas, como laminarina que es un polisacárido de glucosa y manitol. (Borines M.G.et ál. 2011).

El carbohidrato laminarina es un polisacárido de reserva, posee una estructura lineal por unidades de glucosa enlazadas por enlace glucosídico β -(1,3) y β -(1,6) en proporciones de 3: 1, es por ello que puede ser hidrolizada por varios microorganismos, o con la ayuda de enzimas glucanasas produciendo glucosa que es un sustrato para la producción de bioetanol.

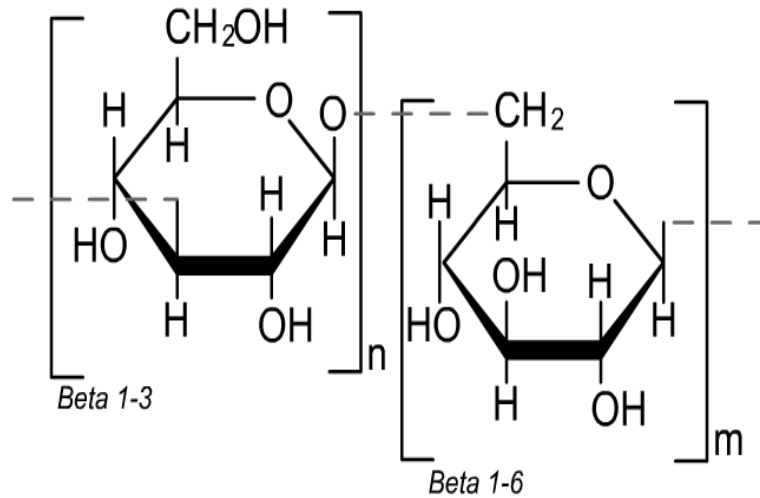


Figura 39.0. Molécula de laminarina donde se observan los enlaces β -(1,3) y β -(1,6)
Fuente: (Plantas y Hongos, 2014).

Algunas algas con potencial para la producción de bioetanol poseen manitol que puede ser utilizado como sustrato para la producción de bioetanol pero no se fermenta fácilmente dado que muchos microorganismos no son capaces de realizar la fermentación anaerobia estricta, pero puede ser oxidado a fructosa con la enzima manitol deshidrogenasa.

SARGASSUM SPP: Este género es ampliamente distribuido en mares tropicales y subtropicales, pudiendo crecer varios metros de longitud, la composición de esta alga en base seca es 11.16% de humedad, 26.19% de cenizas, 9.84% fibra cruda, 10.25% de proteína cruda, 0.75% de lípidos y 41.81% de carbohidratos totales, dicha fracción de carbohidratos está compuesta por 20.35% de alfa celulosa, 25.73% de hemicelulosa, 66.43 % de celulosa , por lo que la mayor parte de los productos de la hidrólisis sea glucosa y algunas pentosas , la obtención de carbohidratos fermentables sigue el proceso general pretratamiento con hidrólisis ácida y posteriormente hidrólisis enzimática en base a su contenido de celulosa, las mezclas enzimáticas utilizadas en esta alga son celulasas a 50 FPU de celulasa/ g de biomasa y β -glucosidasa a 250 CBU / g de biomasa , obteniéndose rendimientos de hasta 89.10% de etanol respecto al contenido de carbohidratos hidrolizado (Borines G. M. et ál., 2013).



Figura 40.0. Sargassum spp, macroalga con potencial para producción de bioetanol. Fuente:(U.ELAYA PERUMAL AT PHYCOLAB OF MCC. 2014).

EUCHEMA SPP

Se estima que los rendimientos de producción de bioetanol a partir de esta alga podrían ser mayor a 110,000 de toneladas anualmente, los carbohidratos de los que se compone esta alga son 25.0% de galactosa y 10.2% de glucosa (w/w) de la fracción total del alga (Tan Shi et ál., 2013), la composición de macro algas del genero Euchema se muestra en la siguiente tabla

Tabla 24.0. Composición de macroalgas de especie Euchema. Fuente:(Tan Shi et ál., 2013).

Componente	Composición % (w/w)
Carbohidratos	35.2(De los cuáles 25% es galactosa y 10.2% glucosa)
Proteínas	2.2
Lípidos	3.7
Cenizas	26.1
Humedad	26.7
Otros	11.1

El proceso de sacarificación de *Euchema* spp se puede realizar con una hidrólisis con ácido sulfúrico 0.2 M a concentraciones de 12.5% v/v a 120° C durante 1.5 horas, la cantidad de biomasa previamente deshidratada ideal es 12.5 w/v, o con el uso de catalizadores como Amberlyst™-15 a concentraciones de 4.0% v/v a 120°C durante 2.5 horas , siendo los rendimientos mayores de galactosa con el catalizador que con hidrólisis ácida sola obteniéndose rendimientos de 39.7 % de carbohidratos extraídos, en donde utilizando una concentración de Levadura de *Saccharomyces Cerevisiae* de 16 mg/ mL y durante 72 horas se obtiene el rendimiento mayor de bioetanol 65%(Tan Shi et ál., 2013).

ULVA FASCIATA

Es un género de algas verdes de gran abundancia dado que no solo es exclusiva de agua salada y puede encontrarse en ríos, el crecimiento de este tipo de algas se da en aguas con bajo oleaje. El contenido de carbohidratos y proteínas en su composición dependerá del nitrógeno del medio, el cual se verá modificado estacionalmente, el período reproductivo de estas macroalgas es de marzo a julio, (Bird K.T. et ál, 1981) Este tipo de algas posee una gran tradición culinaria en Asia y Europa debido a su gran contenido de vitaminas, minerales, proteínas y carbohidratos, es un alga sustentable y adecuada para la producción de bioetanol, la tabla 25 nos muestra la composición de *Ulva fasciata* en base seca (Cano M., 2008).



Figura 41.0. *Ulva fasciata* macroalga con potencial para producción de bioetanol. Fuente:(niobioinformatics, 2014).

Tabla 25.0. Composición química de *Ulva fasciata* en base seca. Fuente:(Trivedi et ál., 2013).

Compuesto	% Relativo en base Seca
Carbohidratos	43 ± 4.5
Proteínas	14.4 ± 2.2.
Lípidos	1.83 ± 0
Humedad	19.86 ± 1.3
Cenizas	16 ± 2.7
Carbono Total	25.64 ± 1.6
Hidrógeno	5.75 ± 2.4
Nitrógeno	3.13 ± 0.88
Sulfuro	5.52 ± 0.45
Celulosa	15 ± 2.3

- *Ulva fasciata* requiere una sacarificación enzimática debido al contenido de celulosa, a partir de 100 g de biomasa se pueden obtener 21.82 % de carbohidratos reductores, 20.70% de carbohidratos fermentables y 9.31 g de etanol comparado a un rendimiento teórico de 10.55 g de etanol, por tanto se tiene una eficiencia de 88.24 % , debido a su contenido de nitrógeno no se requiere enriquecer con nitrógeno el medio, para la hidrólisis se requiere celulasa obteniéndose mejores rendimientos de azúcares reductores al 2% w/v de enzima , a un tiempo de 36 horas, a 45° C en agitación constante y enzima celulasa 22086. (Trivedi et ál., 2013).

ALGAS ROJAS

GRACILARIA VERRUCOSA

Esta especie de alga es la tercer más larga en cuánto a longitud de crecimiento, es por ello que presenta potencial como materia prima para la producción de bioetanol ,es abundante en el Océano Índico y es utilizada en acuarios como filtro, los rendimientos pueden llegar a ser mayor a 6 toneladas por acre de unidad de área, la composición de esta alga varía con los meses del año, presentando una mayor fracción de carbohidratos en el mes de julio, siendo su mayor componente el agar, que es un polisacárido heterogéneo sin una estructura estricta sus monómeros principalmente son β -D-galactopiranososa y 3,6-anhidro- α -L galactopiranososa unidos por enlaces alternos (1-4) y (1-3), el agar presenta cadenas esterificadas, agarosa esterificada cada 10 restos de glucosa y agarpectina (Belitz & Grosch, 1992);(Kumar S. et ál 2013)

El porcentaje de carbohidratos en *Gracilaria Verrucosa* en base seca es de 65.0%, de dicho porcentaje de carbohidratos se puede obtener una fracción de 35.0% de carbohidratos reductores y una fracción aproximada de glucosa de 22%, es importante mencionar que la cantidad de glucosa varia de enero de 21.67% a julio con un contenido de 24.80%, la cantidad de ceniza es de 16.5%,(Kumar S. et ál 2013)

Utilizándose las enzimas celulasas de *Trichoderma reesei* (ATCC 26921) a una concentración de 20 FPU/g de biomasa seca y β -glucosidasa de *Aspergillus Niger* (Novozime 5.0) a 60 U/ g de biomasa a pH de 5.0 y 50° C, a un tiempo de hidrólisis de

36 horas se obtiene una concentración de carbohidratos 38.93 % y una concentración de etanol de 43 g/ gramos de azúcares lo que equivale a un rendimiento teórico de 86.0% respecto al hidrolizado

KAPPAPHYCUS ALVAREZII

Es una especie de macroalgas rojas con potencial para la producción de bioetanol debido a que es de fácil cultivo, esta alga es usada para la extracción de hidrocoloides como carragenanos, los principales componente de esta alga son κ -carragenanos que son polisacáridos sulfatados lineales, siendo el mayor componente de la pared celular (D-galactosa con un grupo sulfato en la posición 4 unidos por enlaces glicosídicos β -1,4 y 3,6-anhidro D-galactosa por enlaces glicosídicos α -1,3 constituyen el 39.0% del peso seco del alga (Ellies & Jacquier 2009), también se ha reportado que a temperaturas más bajas se forman conformaciones de doble hélice y al calentar las suspensiones se forma una conformación espiral aleatoria no estructurada, generándose repulsiones y extendiéndose a lo largo de la cadena galacto lineal (Khambaty et. al. 2012), este tipo de algas nos aportan rendimientos de 20 a 30 % de carbohidratos reductores respecto a los gránulos previamente extraídos, la siguiente tabla nos muestra la composición a 45 días del alga fresca cultivada , considerando que la mayor parte de los carbohidratos en las algas son(celulosa, alginatos, carragenatos), realizando sacarificación ácida a *Kappaphycus alvarezii* con proporciones de biomasa de 50 g/1 L de H₂SO₄ 0.9 N a condiciones de autoclave por una hora y durante 5 ciclos se obtiene un rendimiento de hidrólisis de carragenina de 21.6% , a partir de dicho rendimiento se obtiene el etanol a un rendimiento de 95% a un tiempo de fermentación de 72 horas (Khambhaty Y. et al., 2012)

Tabla 26.0. Composición de gránulos de macroalgas de especie *Euchema*.

Componente	Composición % (w/w)
Carragenina(Este porcentaje se calcula en base a materia orgánica sulfatada)	51.02
Sulfatos orgánicos	11.75
Lípidos	3.7
Sales Solubles	21.39
Fibra	12.66
Otros	11.1

PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE MACROALGAS

- **Secado de macroalgas** : Las macroalgas se machacan o trituran previamente, se realiza un lavado con agua destilada para eliminar ciertos minerales, posteriormente se realiza un proceso de secado a 40° C, o a la luz solar para optimizar costos, se pulveriza la muestra y se tamiza a una abertura en 0.5 y 1.5 mm, antes de realizar la extracción de los polisacáridos se realiza un análisis proximal de proteínas, carbohidratos, lípidos y celulosa para obtener el rendimiento de proceso de obtención de etanol,
- **Preparación de extracto de macroalgas:**A partir de las algas previamente secadas se extraen los polisacáridos, el proceso de extracción va a depender de los carbohidratos a extraer , generalmente se en medio alcalino con una solución de NaOH al 5.0% a 80° C, terminado el proceso se ajusta neutraliza el pH y se lleva a ebullición con agua destilada a un tiempo de 90 minutos y se deja gelificar para posteriormente realizar un lavado con solventes como acetona a temperatura ambiente (Kumar S. et ál., 2013)
- **Sacarificación por ácido:** A partir de los gránulos previamente obtenidos en etapas anteriores se utilizan proporciones de 50 g de biomasa seca a hidrolizar en un Litro de solución de ácido sulfúrico 0.9 N, o a concentraciones entre 3.36-4.15 (w/v) a una temperatura de 100° C-115° C, dichas condiciones se programan en el reactor y se mantiene en agitación constante a tiempos entre

60-90 minutos , terminado este proceso se ajusta el pH para la sacarificación enzimática(Borines M.G. et ál., 2013).

- **Filtrado:** Ya terminado el tiempo de hidrólisis se filtra el hidrolizado y se adiciona otra carga equivalente a 50 g de gránulos por cada litro de solución de ácido, dichas proporciones varían en cuanto al contenido en esta etapa se realizan análisis de carbohidratos por métodos de la AOAC, hasta que la concentración de carbohidratos reductores entre en el rango de 5.5 a 7.5 % (w/v) y una concentración mínima de 12 a 15% de azúcares totales.
- Neutralización del filtrado a pH óptimo de enzima y levadura.
- **Sacarificación vía enzimática:** La sacarificación vía enzimática varía dependiendo de la composición de la biomasa, como se observa varían los porcentajes de carbohidratos y por ello variaran las concentraciones de enzimas utilizadas, generalmente y se utilizaran celulasas, pectinasas, β -glucosidasas, amilasas entre otras, las especificaciones de hidrólisis enzimáticas se encuentran en cada especie de alga.
- **Fermentación :** El inóculo depende de la composición de la materia prima ,si de la hidrólisis se obtienen pentosas se pueden utilizar microorganismos mencionados en el capítulo 1 , además de utilizar *Saccharomyces Cerevisiae* utilizando las condiciones mencionadas para la fermentación de biomasa de microalgas
- **Destilación de bioetanol**

BIOETANOL DE CUARTA GENERACIÓN

La producción de bioetanol por cuarta generación se realiza aprovechando la fotosíntesis mediante cianobacterias genéticamente modificadas, dado que las cianobacterias con los organismos más fotosintéticamente activos en la tierra y por tanto presentan gran facilidad para fijación de carbono, las microalgas utilizadas o cianobacterias genéticamente modificadas convierten el carbono inorgánico (CO₂) a bioetanol, esta tecnología es capaz de producir 160 galones de etanol por cada tonelada métrica de CO₂ consumida, pudiendo captar el dióxido de carbono del aire o el suelo, los costos de producción oscilan entre USD\$ 1.00 por galón, esta tecnología

presenta ventajas respecto a la producción de bioetanol por primera y segunda generación que requiere de fermentación y pretramientos impactando significativamente en los costos, en esta tecnología se produce dos galones de agua dulce por cada galón de bioetanol(Algenol biofuels, 2014)

Las cianobacterias y algunas algas verde azules utilizan luz, dióxido de carbono, micronutrientes orgánicos principalmente NaCl, NaNO₃, MgSO₄, CaCl₂, mediante el ciclo de Kalvin , los sistemas utilizados para el cultivo de cianobacterias son estanques poco profundos , reactores circulares y de rodadura , siendo los estanques poco profundos más fáciles de operar y construir, las modificaciones genéticas realizadas a las cianobacterias son en las enzimas piruvato descarboxilasa y la alcohol deshidrogenasa insertando genes de bacterias de Zymomonas mobilisy Synechocystis sp mejorando los rendimientos de etanol y la velocidad de conversión de carbono inorgánico a etanol (Parmar A. et ál., 2011).

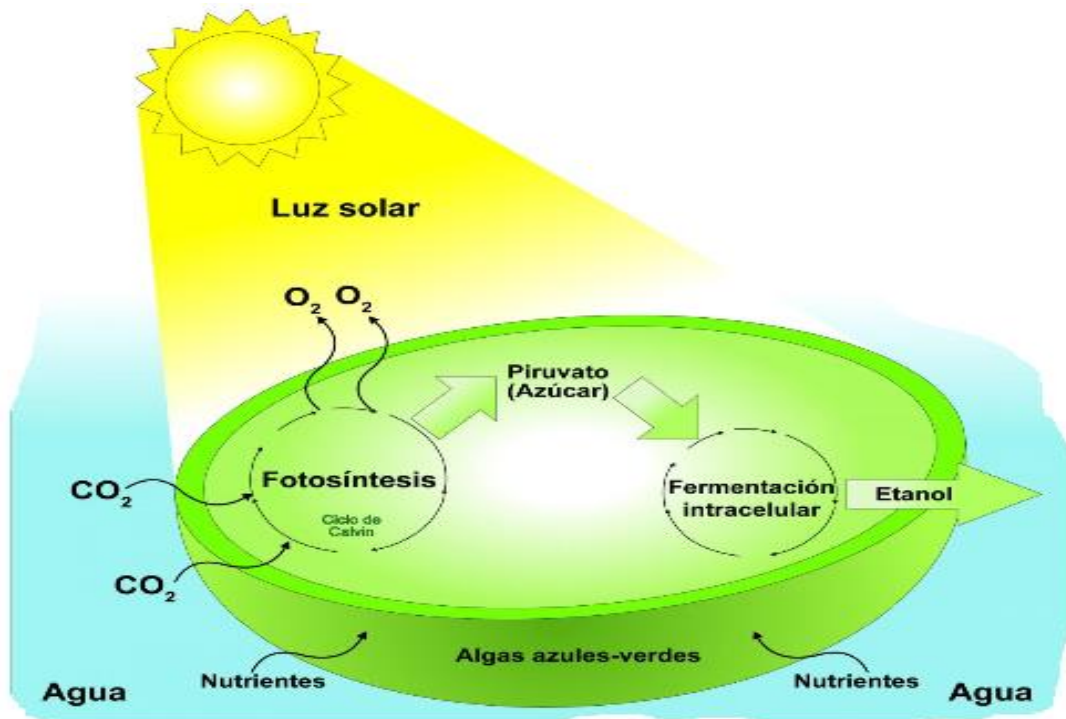


Figura 42.0.Metabolismo de cianobacterias para la producción de bioetanol. Fuente: (Algenol biofuels, 2014).

CAPÍTULO 9

COSTOS DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

PANORAMA GENERAL DE COSTOS DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

Para la producción de bioetanol deben de considerarse distintos factores utilizados para la elaboración de este documento, entre ellos es los costos de materia prima, de reactivos e infraestructura utilizados y de proceso en general mencionando tiempos de proceso para la bioconversión, mano de obra, tratamiento de residuos y disponibilidad de materia prima en ciertas regiones específicas, por ejemplo en países costeros la disponibilidad de algas será mayor y por tanto la producción de bioetanol a partir de materias primas de tercera generación se considerará una mejor opción, la producción de bioetanol no se ha cuestionado en cuanto a materia prima y disponibilidad de la misma ya que las materias primas de origen vegetal se encuentran en gran abundancia en todo el planeta tanto en tierra como en agua, el inconveniente de la producción de etanol son los costos de proceso y la infraestructura que se requiere es muy complicada principalmente para materias primas de segunda generación, siendo la cantidad de lignina lo que impacta en los costos del proceso, aumentando proporcionalmente con el contenido de lignina, otro punto importante es que puede poner en riesgo la seguridad alimentaria si se usan materias primas de primera generación, en general solamente los países desarrollados invierten en tecnología e investigación a gran escala para la producción de bioetanol de segunda generación por lo que solamente en dichos países se considera viable la producción de bioetanol de segunda generación

La producción de bioetanol como ya se ha visto requiere de varias etapas, una de ellas es la fermentación en donde se enriquece el medio con nutrientes para el crecimiento óptimo de la levadura, se observa que la peptona como fuente de nitrógeno tiene un impacto significativo en los costos (Mousdale M. D. 2011).

A lo largo de este documento se ha mencionado las principales materias primas utilizadas para la producción de bioetanol, considerando que las materias primas de primera generación sufren el mismo tratamiento de bioconversión utilizando el almidón como sustrato, es por ello que la variación de costos impacta directamente en la materia prima debido a los rendimientos variados de las mismas en base a la composición.

En general existe una tendencia decreciente en los costos de producción de bioetanol por litro en los principales países productores de bioetanol a nivel mundial respecto a la

materia prima utilizada, debido a la inversión en infraestructura y la colaboración de sus gobiernos en reformas políticas que favorezcan la producción de bioetanol, en el año 2005 Brasil gozó los costos más bajos de producción de bioetanol utilizando la caña de azúcar invirtiendo 0.76 dólares / galón, posteriormente Estados Unidos a partir de materias primas de primera generación con el almidón y monosacáridos como moléculas base o sustratos invirtiendo un total de 1.14 dólares / galón , seguido por la Unión Europea con un total de 2.08 dólares / galón (IEA, 2006).

En nuestro país predomina la producción de bioetanol que predomina a gran escala se realiza con materias primas de primera generación principalmente de caña de azúcar debido a que presenta un mejor balance energético comparado con otras materias primas como la remolacha, el maíz, la yuca y el sorgo, México no produce bioetanol a gran escala a partir de materias de segunda generación , dicha producción se lleva a cabo solamente con fines de investigación, aunque nuestro país presenta potencial para la producción de bioetanol a partir de segunda y tercera generación si es que se cuenta con la infraestructura necesaria y se resuelven la demanda de alimentos, existen estudios de costos de producción de bioetanol a partir de caña de azúcar en donde se consideran distintos reactivos utilizados como sulfato de Aluminio y Cobre, ácido sulfúrico para la hidrólisis y levadura para la fermentación, siendo la caña de azúcar la materia prima que impacta en un 80% del costo total de la producción ,invirtiéndose un total de 0.61 dólares / Litro de bioetanol (Sierra A, 2011).

Ya se menciona el potencial del pasto varilla para la producción de bioetanol generando rendimientos de 14 a 19% de etanol respecto a 100 g de biomasa, pudiendo tener rendimientos de 10 toneladas por hectárea.

En general las materias primas de primera generación impactan más en cuánto a costos respecto a la de segunda generación, en los procesos de segunda generación el impacto en los costos son los tratamientos y pretratamientos de bioconversión, además de las enzimas utilizadas, tal y como se menciona en capítulos anteriores se requiere de cocteles enzimáticos como celulasas, pectinasas, dextrinasas y algunos casos también la adición de amilasas, en contraste a las de primera generación que se requiere solo de amilasas, se menciona también la yuca con potencial para la

producción de bioetanol, dicho potencial se inclina a los principales países productores, el mismo caso lo es para el maíz, arroz, papa y trigo.

Algunos estudios difieren en cuanto a costos de producción de bioetanol en distintas partes del mundo, tal es el caso de la producción de Bioetanol de yuca en Colombia en donde se realiza hidrólisis ácida como pretratamiento, neutralizándose el medio con Hidróxido de Sodio y posteriormente la aplicación de enzimas alfa amilasa y amilo glucosidasa, ocupando la yuca el 68% de los costos totales de producción, por otro lado el gasto energético del proceso ocupa el 10% de los costos totales, la inversión anterior nos dice que para la producción de un litro de bioetanol de yuca se requiere 0.4708 dólares / L (FUNCOLSA, 2014)

Por otro lado en un estudio realizado a los costos de etanol de yuca en China se indica que para la producción de bioetanol de yuca se requiere una inversión de 1.30 dólares / galón en donde toda la cadena de la producción de yuca siembra, cosecha, transporte corresponden al 70% de los costos totales, la conversión a etanol ocupa el 28.0 %, dicha conversión involucra un 5.0 % de gastos energéticos en donde el mayor consumo de energía se lleva en el secado, molido y mezclado de la yuca, además de fermentación y el 2.0 % corresponde al transporte (Zhang et al.,2003)

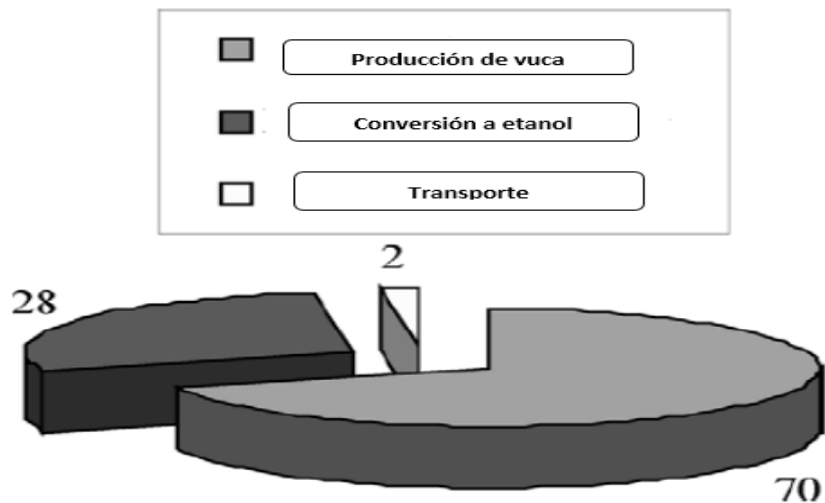


Figura 43.0. Distribución de costos de producción de etanol de yuca. Fuente: (Zhang et al., 2003).

La siguiente tabla involucra los costos de producción de bioetanol a partir de las materias primas más abundantes y accesibles, incluyendo parámetros como reactivos, personal, equipos y mantenimiento de los mismos.

Tabla 27.0 Estimación de costos para la producción de bioetanol de diversas fuentes

Materia prima	Costo estimado de producción	Costo de materia prima	Costos de etanol en el mercado
<i>Grano de maíz en U.S.A. (1)</i>	0.44 dólares/ L, hidrólisis ácida	Impacta en forma significativa más del 65%	0.46 dólares / L
<i>Madera suave (Diversas Fuentes) (2)</i>	0.57 dólares / L utilizando sacarificación ácida simultánea con fermentación	Impacta en un 28% del costo total del proceso	0.60 dólares / L
<i>Madera suave (Diversas Fuentes) (3)</i>	0.55 dólares/ L utilizando explosión de vapor como pretratamiento	Impacta en un 34% del costo total del proceso	0.58 dólares/L
<i>Caña de azúcar en Brasil (4)</i>	0.26 dólares / L Sacarificación ácida e hidrólisis enzimática	Impacta en un 50%% del costo total del proceso	0.30 dólares / L
<i>Pasto Varilla (Panicum Virgatum L.) en E.U.A. (5)</i>	0.54 dólares / L Sacarificación con Ácido sulfúrico y explosión de vapor	Impacta en un 46.55% del costo total del proceso	0.57 dólares/ L
<i>Microalgas y cianobacterias (6)</i>	0.26 dólares/ L Producción de bioetanol a partir fotosíntesis	No impacta de forma significativa	0.30 dólares / L
<i>Yuca (Manihot Esculenta) China (7)</i>	0.34 dólares / L Sacarificación ácida e hidrólisis enzimática	Impacta en un 70% % del costo total del proceso	0.37 dólares / L

(1) (Arvizu F., 2011)

(2) (Wingren, A. et al., 2003)

(3) (Mousdale M., D., 2010)

(4) (IEA, 2006)

(5) (Pimentel & Patzek, 2005)

(6) (ALGENOL, 2014)

(7) (Zhang et al., 2003)

En la actualidad la empresa norteamericana ABENGOA BIOENERGY es de las más importantes en la producción de bioetanol a partir de materias primas de segunda generación, utilizando también el bioetanol producido para la síntesis de butanol, su presencia es a nivel mundial tanto en Estados Unidos, Brasil y la Unión Europea, aumentando con el tiempo su capacidad de producción, empezando en 1994 con una planta piloto de producción de bioetanol de segunda generación y en 2013 iniciando operaciones con plantas comerciales de producción de bioetanol, teniendo 6 en Estados Unidos con capacidades de 380,000 galones, 6 plantas en Europa con capacidad de 395,000 galones y 2 en Brasil con una capacidad de 65,000 galones.

La visión de ABENGOA BIOENERGY es reducir los costos y dosis de enzimas, dicho objetivo se logra en el laboratorio de investigación, dado que ABENGOA BIONERGY produce sus propias enzimas, modificando genéticamente los microorganismos utilizados de los cuáles se extraen las enzimas, el proceso de hidrólisis enzimática del material de segunda generación utilizado es; a partir de la celulosa inocular la enzima endoglucanasa(EG) obteniéndose oligómeros de Beta glucano, a partir de ahí inocular enzima exoglucanasa para obtenerse celobiosa y celotriosa, posteriormente se inocula la enzima Beta glucosidasa obteniéndose glucosa para proceder a la fermentación, la levadura utilizada también es producida en ABENGOA, al producir sus insumos impactará de forma significativa en la disminución de costos haciendo competitiva la producción de bioetanol de **segunda generación con la de primera generación**, la siguiente figura muestra la disminución de costos en la producción de bioetanol de segunda generación a través de los años de producción de etanol de ABENGOA, logrando en 2013 producir galones de materia prima de segunda generación a un costo de 2.15 dólares el galón de bioetanol, comparado con el costo de galón de bioetanol producido a partir del maíz que es 2.35 dólares, **haciendo más rentable producir bioetanol a partir de materias primas de segunda generación a un costo de 2.15 dólares el galón**(ABENGOA BIOENERGY, 2014).

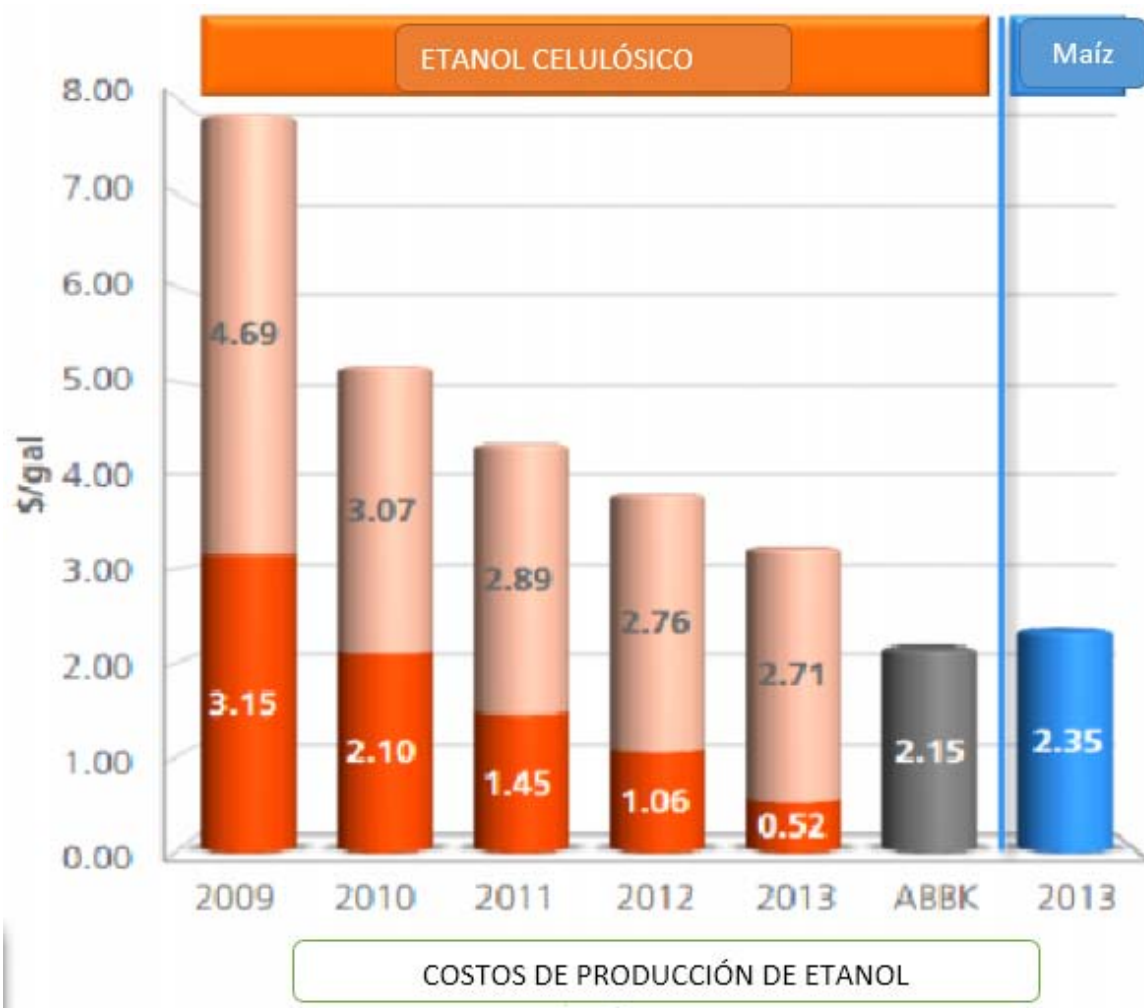


Figura 44.0. Disminución de costos de producción (Dólares/galón) de etanol celulósico a través del tiempo en ABENGOA BIOENERGY, comparado con etanol de maíz. Fuente: (ABENGOA BIOENERGY, 2013).

COSTOS DE ENZIMAS UTILIZADAS EN LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

Los precios de enzimas utilizadas en el proceso de hidrólisis al igual que la materia prima varían dependiendo de muchos factores como país, en donde se aplica la ley oferta demanda, en los países que presentan gran demanda de producción de bioetanol o el uso de las mismas para la industria alimenticia, textil, farmacéutica entre otras el costo de enzimas será menor en contraste a los de menor demanda, se mencionaran los costos de las enzimas en nuestro país y en otros para comparar precios y rentabilidad de costos para la producción de bioetanol, cabe destacar que las enzimas provienen de distintas fuentes y el proceso de producción será diferente, por tanto este es otro factor que impacta en el costo de la enzima y por tanto de la producción de bioetanol, el panorama de enzimas utilizadas para la producción de bioetanol es amplio, dado que existen múltiples proveedores siendo novozymes el que tiene mayor peso a nivel global, se pueden conseguir enzimas solas o cocteles de varios tipos, la siguiente tabla muestra un panorama de costos de enzimas.

Tabla 28.0 Costo de las principales enzimas utilizadas para la producción de bioetanol

Enzima	Costo en México	Costo en Brasil	Costo de enzima en E.U.A.
Alfa amilasa	15 Dólares / Kg (Quiminet, 2014).	1 Dólar / Kg (Quiminet, 2014).	Alfa amilasa de páncreas de cerdo 2 dólares/ Kg(calzyme, 2014)
Beta amilasa	8 Dólares / Kg (Quiminet, 2014).	6 Dólares / Kg (alibaba, 2014).	7 Dólares / Kg (alibaba, 2014).
Glucosidasa (Glucanex)	7-8 Dólares / Kg (Quiminet, 2014).	5 Dólares / Kg (Quiminet, 2014).	5 Dólares / Kg (Quiminet, 2014).
Coctel de celulasas, hemicelulasas y β-glucosidasas (Cellic CTec 3).	8-10 Dólares / Kg (Novozymes 2014).	8-10 Dólares / Kg (Novozymes 2014).	8-10 Dólares / Kg (Novozymes 2014).
Pectinasas TJEL	1-5 Dólares / Kg (alibaba, 2014).		
Xilanasas	20 Dólares / Kg ((Quiminet, 2014).		

CAPÍTULO 10

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- ❖ El uso de bioetanol como combustible no es algo nuevo, desde principios del siglo pasado se propuso como alternativa a la gasolina, su uso en motores es realmente una alternativa a los combustibles fósiles dado que es más limpio, genera una menor cantidad de contaminantes de su combustión, presenta mayor octanaje que la gasolina y mezclado con la misma mejora su rendimiento.
- ❖ La producción de bioetanol puede realizarse en todas las partes del mundo, dado que se produce a partir de materias primas renovables, desde primera hasta cuarta generación, en aquellas regiones que escasea una clasificación de materia prima se puede aprovechar otra clasificación, por ejemplo en zonas costeras donde escasean las materias primas de primera generación se puede aprovechar la de cuarta generación, en general es necesario promover la investigación y desarrollo a nivel mundial, que cada región del mundo cuente con expertos en el tema para evaluar cual clasificación y tecnología es más accesible, económica y que genere mayores rendimientos en la producción de bioetanol de dicha región.
- ❖ Antes de pensar en la producción de bioetanol a partir de materias primas de primera generación, es necesario cubrir con la demanda de alimentos de la población y generar reformas que mantenga la estabilidad de los precios de materia prima y/o insumos requeridos para la producción de bioetanol para que dicha producción sea viable, dado que existe una tendencia creciente de producción de bioetanol a nivel mundial
- ❖ Es necesario abatir los costos de motores que utilizan 100.0 % de Etanol o grandes concentraciones de etanol en la mezcla con gasolina como Combustible, siendo así dichas tecnologías serán más accesibles en el mundo, no solo en países que tengan acceso a dicha tecnología y se estará preparados ante un posible agotamiento de combustibles fósiles a nivel mundial

- ❖ Para el caso de materias primas de primera generación las frutas que presentan mayor potencial para producción de bioetanol es uva, manzana y kiwi, además de fruta madura , sus rechazos, mermas y desperdicios de las industrias que las requieren presentan un potencial para la producción de bioetanol utilizando un ligero tratamiento de hidrólisis
- ❖ La materia prima de primera generación que genera mayores rendimientos de bioetanol es el maíz, dado que el grano posee un mayor contenido de carbohidratos respecto a las otras gramíneas y tubérculos, además de que la planta genera una mayor cantidad de biomasa por hectárea y por tanto un mayor contenido de carbohidratos de origen lignocelulósico, en general un mayor balance energético seguido por la caña de azúcar, el arroz, trigo, yuca y papa.
- ❖ En México es más viable la producción de bioetanol a partir de caña de azúcar, seguido por la remolacha, maíz y yuca, considerando que son las materias primas de primera generación que generan más rendimientos de etanol por hectárea.
- ❖ La caña de azúcar es la materia prima de primera generación con mayor potencial debido a su % aprovechable Los rendimientos de caña de azúcar varían entre países y regiones en México y es de 61 toneladas por hectárea, la cantidad de sacarosa o azúcar de mesa producida a partir de esta producción de caña de azúcar es de 51 millones de toneladas de azúcar de mesa o sacarosa, de las cuáles se pueden obtener 39 millones de litros de etanol, existen cerca de 58 ingenios azucareros en nuestro país
- ❖ Debido al porcentaje de pectina presente en materias vegetales en general y los productos obtenidos de la hidrólisis de la misma, no se obtendrá un porcentaje considerable de etanol a partir de hidrólisis de pectina

- ❖ El proceso de producción de bioetanol a partir de materiales vegetales que contienen almidón es uno de los más utilizados y conocidos, dado que son de los que se obtiene un rendimiento mayor a 90.0 %, el proceso puede realizarse mediante hidrólisis ácida teniendo como ventaja menor costo en reactivos utilizados y menor tiempo de proceso, las desventajas de la hidrólisis ácida es la formación de compuestos inhibidores para el crecimiento de microorganismos necesarios para la fermentación.
- ❖ El proceso de hidrólisis enzimática del almidón propuesto para obtener en su mayor parte del hidrolizado glucosa y maltosa como sustratos para la fermentación es: ajuste de pH (4-6.5) y temperatura del reactor (menor a 70 °C), adición de enzima alfa amilasa, posteriormente enzima beta amilasa, seguido por glucoamilasa, dextrinasa límite y enzimas por último enzimas pululanasas, teniéndose como rendimientos de hidrólisis mayor a 90.0 % del almidón total y no se generan compuestos de inhibición como HMF , la desventaja del proceso de hidrólisis enzimática del almidón es que el tiempo de proceso de hidrólisis es muy lento en comparación a la hidrólisis ácida, dado que se necesitan hasta 36 horas de hidrólisis en el reactor.
- ❖ Al realizarse la hidrólisis o sacarificación simultánea a la fermentación de los carbohidratos producidos de dicha hidrólisis(almidón, lignocelulosa) se puede optimizar el proceso de obtención de etanol, es conveniente no exceder a temperaturas mayores a 40 °C ya que a dicha temperatura se inactivan las levaduras o bacterias inoculadas para la fermentación, por ello es necesario seleccionar enzimas que actúen a dicha temperatura o por el contrario si se adicionan enzimas que requieren mayor temperatura se puede inocular microorganismos termorresistentes
- ❖ La obtención de bioetanol a partir materiales vegetales que contienen sacarosa y glucosa es el proceso más sencillo si se utilizaran solamente dichas moléculas como sustratos para la fermentación, dado que no se requiere de alguna hidrólisis previa,

el proceso solo requiere de extracción con agua purificada a temperaturas entre 60 a 85°C, dado que dichos carbohidratos son hidrosolubles, posteriormente se ajusta la concentración de carbohidratos a 12.0 % m/v ya sea mediante la obtención de grados Brix o la cuantificación de carbohidratos reductores por el método DNS realizando la curva dado que a mayores concentraciones de azúcares se puede inhibir el crecimiento de la levadura o bacteria inoculada.

- ❖ La producción de bioetanol a partir de materia prima de segunda generación se obtiene de celulosa y hemicelulosa, dado que la lignina no genera carbohidratos fermentables, en general la dificultad del proceso de hidrólisis se relaciona con el contenido de lignina, por lo que aquellas materias primas con mayor contenido de lignina no serán viables para la producción de bioetanol, en base al contenido de celulosa y hemicelulosa el papel, la madera dura, los residuos agrícolas de pastos perenes y plantas gramíneas además de ser de fácil acceso en todo el mundo presentan porcentajes altos de celulosa y hemicelulosa y bajo contenido de lignina siendo una alternativa para la producción de bioetanol de segunda generación

- ❖ En general los tratamientos de materias primas de segunda generación requieren condiciones más drásticas en relación a la primera generación, dichas condiciones son presión, temperatura y concentraciones de ácido para hidrolizar a los materiales vegetales de origen lignocelulósico, al requerir de condiciones más drásticas se requieren de equipos especializados , como el caso de los métodos; AFEX, CO₂ supercrítico, explosión de vapor, pretratamiento con ozono, molienda de alto corte e impacto, reactores especializados para la hidrólisis ácida, el tiempo de proceso en estos métodos es menor al aumentar la presión y temperatura pero los equipos utilizados son altamente costosos lo que aumenta en el costo final del bioetanol.

- ❖ En los procesos de obtención de bioetanol a partir de materia prima de segunda generación se requiere de pretramientos para hidrolizar la celulosa y hemicelulosa y posteriormente someter la biomasa a hidrólisis enzimática para mejorar los rendimientos de bioetanol, considerando que algunos pretramientos hidrolizan la celulosa a glucosa y la hemicelulosa a pentosas con rendimientos bajos de sustratos, la combinación y orden de adición de enzimas al reactor sugerida es la siguiente; primero endoglucanasas, posteriormente celodextrinasas, seguido por Exoglucanasas , glucosidasas y al último enzimas hemicelulasas, la combinación de métodos químicos físicos y enzimáticos depende de la materia prima utilizada.

- ❖ Las ventajas de la materia prima de tercera generación respecto a las otras clasificaciones son; no representan riesgo para la seguridad alimentaria debido a que no se cultivan en tierra firme, además de que se genera una mayor cantidad de biomasa en menor tiempo, generando el triple de biomasa respecto a la de segunda generación, poseen un porcentaje de carbohidratos mayor a 50.0 % en base seca como en el caso de las microalgas *Chlamydomonas reinhardtii* y *Espirulina sp.*, en general el proceso de obtención de etanol para microalgas es sonicación de la biomasa, centrifugación, secado de biomasa, hidrólisis ácida, hidrólisis enzimática (amilasas, celulasas y pectinasas), fermentación y destilación.

- ❖ ABENGOA, BIOENERGY ha logrado abatir los costos de producción de bioetanol de segunda generación, siendo más económico el precio por galón, respecto al de segunda generación, esto se logra gracias a que ellos producen sus propios insumos (enzimas, levaduras)

CAPÍTULO 11

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFIA

1. Abushammala, H. & Hashaikeh, R., 2011. Enzymatic hydrolysis of cellulose and the use of TiO₂ nanoparticles to open up the cellulose structure. *Biomass and energy*. Núm. 35, pp. 3970-3975.
2. ABENGOA BIOENERGY (The global company of bioethanol production)., Santos Gerson., 2013. How the advanced bioindustry is reshaping American energy. Innovative technology solutions for sustainability.
3. Aguilar N., J.A., 2009. Tesis para de maestría en Ciencias Químicas, composición nutricia de 10 variedades de maíz y la evaluación de la suplementación de estas 4 variedades con una especie selecta de leguminosa. Facultad de Química. UNAM. p.p 19-20.
4. Algenol Biofuels, 2014. Último acceso 25 de junio 2014 en: <http://www.algenol.com/es/acerca-de-algenol>
5. Alén, R., 2000. Structure and chemical composition of wood. IN P. Stenius. Editorial Forest Products Chemistry: Helsinki, Finlandia, pp. 46-57.
6. Alibaba, 2014. Buscador de insumos químicos, precio de beta amilasas. Último acceso 9 de diciembre 2014 en: http://spanish.alibaba.com/promotion/promotion_beta-amylase-enzyme-promotion-list.html
7. Alibaba, 2014. Buscador de insumos químicos, precio de pectinasas. Último acceso 9 de diciembre 2014 en: <http://spanish.alibaba.com/product-gs/pectinase-649120255.html?s=p>
8. Allen M.D., 1993. Nutrition and Health, ingredients analysis tables feedstuffs reference issue. Edit. Sheik J. and Muirhead. Núm. 65. pp. 24-35.

9. Allinger, C. & Johnson de J., S., 1984. Química orgánica. Editorial reverté, España pp. 121.
10. Angelo, A.S., 2004. Enzimas Hidrolíticas. En Esposito, & J.I. Azevedo, Fungos: Uma Introdução a la biología, bioquímica y biotecnología. Universidad de Caxias do Sul: Brasil pp. 263-285.
11. Arjona, D., 2006, Combustibles y Biocombustibles, Seminario Internacional de Biocombustibles, Organización Latinoamericana de Energía, Brasil.
12. ARPEL y IICA 2006., Manual de biocombustibles. Editorial IICA, pp.102.
13. Arvizu F, L. J., 2011., Biocombustibles Derivados del maíz, El cultivo del maíz, temas selectos, 1 edición, IIE, Editorial Mundi Prensa: México , p.p. 34.
14. B.log.ia. 2.0 Blog. La tarea de la vida es ordenar la materia (Neal Sthepenson). Último acceso 29 de septiembre 2013 en:
<http://b-log-ia20.blogspot.mx/2010/02/tipos-celulares-en-eucariotas.html>
15. Badui D., S., 1999. Química de los alimentos. Tercera edición. Editorial, pearson education: México, pp. 46-48, 51, 106-108.
16. Baker, J., 1983. Properties of amylases from midguts of larvae Sitophilus zeamais and Sitophilus granaries. Insect Biochem. Núm. 13, pp. 421–428.
17. Bakó Bélafi, K., Ezterle, M., Kiss K., Nemestóthy, N., Gubicza, L., 2007. Hydrolysis of pectin by Aspergillus niger polygalacturonase in a membrane bioreactor. Journal of Food Engineering. Núm. 78, pp. 438–442.
18. Ballat, M., Ballat, H., Cahide, O., .2008 Progresses in bioethanol processing. Progress in Energy and Combustion. Science Núm. 34, pp. 557–560.

19. Bals, B., Rogers, C., Venkatesh, J. & Dale B., 2010. Evaluation of ammonia fibre expansion (AFEX) pretreatment for enzymatic hydrolysis of switch grass harvested in different seasons and locations. *Biotechnology for Biofuels*. Vol. 3. Núm. 1, pp. 1-11.
20. Barret, M., Diane, S. L., Ramaswamy, H., 2004. *Processing Fruits Science and Technology*. Segunda edición. Editorial CRC Press, p.p 440.
21. Belitz, H.D. & Grosch, W., 1997. *Química de los Alimentos*. Segunda Edición. Editorial Acribia, S.A. : Zaragoza España, pp. 323 & 500.
22. Belitz D.H. & Grosch W., 1992. *Química de los Alimentos*. Primera Edición, Editorial Acribia, S, A: Zaragoza España, pp. 323.
23. Belitz H.D. & Grosch W., 2004. *Química de los Alimentos*. Tercera Edición, Editorial Springer: Berlín Alemania, pp. 336.
24. Bello P., L.A. & Paredes L., O., 1999. El almidón lo conocemos pero no lo conocemos. *Revista Ciencia*. Núm. 50. pp. 29-33.
25. Bhandari, V.S., Panchapakesan, A., Shankar, N., Kumar, H. & Ashok, G., 2012. Production of Bioethanol from Fruit Rinds by Saccharification and Fermentation. *International Journal of Scientific Research Engineering & Technology*. Volume 2. Núm. 6, pp. 362-365.
26. Billmeyer, W. F. Jr., 1975. *Ciencia de los polímeros*. Editorial Reverté: Barcelona España, pp. 448.
27. Bird, K. T., Hanisak, M.D. & Ryther, M., 1981. Chemical quality and production of agar extracted from *Gracilaria tikvahiae* grown in different nitrogen enrichment conditions. *Botanic Marine*. Núm. 24, pp. 441.

28. BNDES y CGEE., 2008. Bioetanol de Caña de azúcar. Energía para el desarrollo sostenible, 1 edición. Editorial FAO & CEPAL: Río de Janeiro, pp. 69,89-91.
29. Boerjan, W., Ralph, J. & Baucher, M., 2003. Lignin biosynthesis. *Anual Rev. Plant Biol.* Núm. 54, pp. 519-522.
30. Borines, M.G., de León R., L. & Mc Henry, M.P., 2011. Bioethanol production from farming non-food macroalgae in Pacific island nations: Chemical constituents, bioethanol yields, and prospective species in the Philippines. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* Núm. 15, pp. 4433-4435.
31. Borines, M.G., de León R., L. & Cuello L.J., 2013. Bioethanol production from the macroalgae *Sargassum* spp. *Bioresource Technology*, Vol. 138, pp. 22-29.
32. Bourbonnais, R., Paice, M. G. (1990). Oxidation of non-phenolic substrates: an expanded role for laccase in lignin biodegradation. *FEBS*, Vol. 267, pp. 99-102.
33. Bradley A., F., Peter B., T., 1982. *Bioquímica*. 1 Edición. Barcelona España: Editorial Reverté pp. 248.
34. CANIMOLT, .2012. El cultivo del trigo. Último acceso 10 agosto 2013 en: <http://www.canimolt.org/trigo>
35. Cano M., M. de la C., 2008. Bases biológicas de *Ulva fasciata* Delile, (Chlorophyta) para su posible explotación, al oeste de la Habana, Cuba. Tesis de Doctorado, Facultad de Biología Universidad de la Habana, pp. 9-13.
36. Carpita, N.C. & Gibeaut, D.M., 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant Journal.* Núm. 1, pp. 15.

37. Carreón R., O. E., Ramos L., S. A., Leija C., S., Leal R., J. L. & Jiménez M., A., 2009, Revista de la Sociedad Mexicana de Biotecnología; Etanol carburante, Vol. 13, Núm. 3, p.p 79-85.
38. Carrillo, L. 2003, Microbiología Agrícola. Editorial Universidad Nacional de Salta: Argentina .ISBN 987-9381-16-5. pp. 9.
39. Castaño, P., Hader, I. & Mejía, C., 2008. Producción de etanol a partir de almidón de yuca utilizando la estrategia de proceso sacarificación-fermentación simultáneas (SSF). Revista de la Facultad de Química Farmacéutica Universidad de Antioquia: Medellín Colombia, ISSN 0121-4004 .Volumen 15 .Núm. 2, pp 251.
40. Cherry, J.R. & Fidanset A.L., 2004. Directed evolution of industrial enzymes: an update, current opinion in biotechnology. Núm. 14, pp. 438-441.
41. Cock, H.J., 1989. ***La yuca nuevo potencial para un cultivo tradicional.*** Editorial: CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical).pp.21-23.
42. CONAE., 2014. Vehículos con etanol, último acceso 17 de mayo 2014 en: <http://www.conae.gob.mx/work/sites/CONAE/resources/LocalContent/466/1/images/vehiculoetanol.pdf>
43. Conn E, E., Stumpf K. P., Bruening G., 2006. Bioquímica Fundamental, 4a Edición. Editorial Limusa: México, pp. 38-39, 46-48.
44. Cotana, F., Cavaglio, G., Gelosia, M., Andrea, N., Valentina, C., Alessandro, P., 2014. Production of bioethanol in a second generation prototype from pine wood chips. Energy Procedia. Núm. 45, pp. 42 – 51.

45. COVECA caña, 2013. Monografía de la Caña de Azúcar, pp. 11. Último acceso 22 de agosto 2013 en:<http://portal.veracruz.gob.mx/pls/portal/docs/PAGE/COVECAINICIO/IMAGENES/ARCHIVOSPDF/ARCHIVOSDIFUSION/MONOGRAFIA%20CA%D1ADEAZUCAR2010.PDF>
46. COVECA arroz, .2013. Monografía del Arroz. Último acceso 12 septiembre 2013 en:<http://portal.veracruz.gob.mx/pls/portal/docs/PAGE/COVECAINICIO/IMAGENES/ARCHIVOSPDF/ARCHIVOSDIFUSION/MONOGRAFIA%20ARROZ2010.PDF>
47. COVECA yuca, .2013. Monografía de la Yuca. Último acceso 25 de agosto 2013 en:<http://portal.veracruz.gob.mx/pls/portal/docs/PAGE/COVECAINICIO/IMAGENES/ARCHIVOSPDF/ARCHIVOSDIFUSION/YUCA2010.PDF>
48. Crabb, W.S., Shetty, J.K., 1999. Commodity scale production of sugars from starches. *Curropin Microbiology*. Núm. 2, pp. 252–256.
49. Cuamatzi, O. & Melo, V., 2006. *Bioquímica de los procesos metabólicos*. 2 Edición. Editorial Reverté, España. p.p 51.
50. Cuervo, L., Folch, J.L. & Quiroz, R.E., 2009. Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para la Producción de Etanol. *Revista de la Sociedad Mexicana de Biotecnología* .Vol. 13. Núm. 3, pp. 15-16.
51. Chabannes, M., Ruel, K., Yoshinaga, A., Chabbert, B., Jauneau, A., Joseleau, JP. & Boudet, A.M., 2001. In situ analysis of lignins in transgenic tobacco reveals a differential impact of individual transformations on the spatial patterns of lignin deposition at the cellular and subcellular levels. *Plant Journal*. Núm. 28, pp. 271–282.

52. Chung, Y.C., Bakalinsky, A. & Penner, M.H., 2005. Enzymatic saccharification and fermentation of xylose-optimized dilute acid-treated lignocellulosics. *Appl. Biochem Biotechnol.* Núm. 121, pp. 947-952.
53. Dale, R.T. & Tyner, W.E., 2006. Economic and technical analysis of ethanol dry milling. Purdue University staff paper 06-04, West Lafayette IN.
54. Dávila G. y Vázquez Duhalt R., 2001. Enzimas ligninolíticas fúngicas para fines ambientales. Instituto de Biotecnología, UNAM, mensaje bioquímico, Vol. 30, pp. 31.35.
55. DECC. (Digest of United Kingdom Energy Statistics), 2011. Renewable sources of energy. Department of energy and climate change. UK: ISBN 978011515527.
56. Dettori-Campus, B.G., Priest, F.G. & Stark, J.R., 1992. Hydrolysis of starch granules by the amylase from *Bacillus Stearothermophylus*. *NCA 26. Process. Biochem.* Núm. 27, pp. 17–21.
57. Diez, T. F. & Garrido C. N., 2014. Bagazo de caña de azúcar: ¿energía o etanol carburante? Dos casos de estudio. *Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), La Habana, Cuba, pp. 18.*
58. Dominic, W.S., 1995. Química de los alimentos, laboratorio y teoría. 2 edición. Editorial Acribia: Zaragoza España, pp. 125-126.
59. Eguilor, P., 2010. El mercado de la papa. Editorial Odepa: Santiago Chile, pp. 2-3.
60. Ekboir J., J.A., Espinoza, G., & Tapia, A., 2004. Análisis del Sistema mexicano de Investigación Agropecuaria. Revista TECNOAGRO. Cuarta Edición. CIMMYT: México, D.F., pp. 12-14.

61. Eliasson, J., 2004. Starch in food. Structure Function and applications. Ed. Woodhead Publishing Limited: Cambridge England, pp. 597.
62. Ellis, A. & Jacquier, J.C., 2009. Manufacture of food grade j-carrageenan microspheres. Journal Food Eng. Núm. 94, pp. 316–320.
63. Ebringerová, A., Hromádková, Z. & Heinze, Th., 2005. Hemicellulose. Adv. Polymers Science. Núm. 128, pp. 35-38.
64. FAO, .1991. Conservación de energías en las Industria Mecánicas y Forestales. Estudio FAO Montes .Editorial FAO: Roma Italia. ISBN 92-5-302912-9, pp. 1-7.
65. FAO, 1993. El maíz en la nutrición humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, (Colección FAO: Alimentación y nutrición, N°25) ISBN 92-5-303013-5, p.p 1-4.
66. FAO, 2006. Enfoques 2006. El Mercado de almidón añade valor a la yuca. Último acceso 19 septiembre 2013 en: <http://www.fao.org/ag/esp/revista/0610sp1.htm>
67. FAO, 2007. Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca.
68. FAO, 2008. Año Internacional de la papa, nueva luz sobre un tesoro enterrado, boletín Informativo. Último acceso 17 de Agosto 2013 en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0500s/i0500s02.pdf>
69. FAO, 2009, Statistical yearbook, agricultural production, statistic division 2009. Último acceso 03 de septiembre 2013 en: [http://www.fao.org/docrep/t0395s/T0395S02.htm#La planta del maíz](http://www.fao.org/docrep/t0395s/T0395S02.htm#La%20planta%20del%20ma%C3%ADz)
70. FAO, .2014. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura, visto por última vez 12 de junio 2014 en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab473s/ab473s02.htm>

71. FAOSTAT 2010, World census of agriculture (Boletín Informativo). Último acceso 04 de noviembre 2013 en: <http://faostat.fao.org/>
72. FAO, IICA., 2013. Ficha técnica de la remolacha de azúcar. Último acceso 19 de noviembre 2013 en http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/RE_MOLACHA.HTM
73. FAO, STAT, .2006. El cultivo del trigo (Boletín Informativo). Último acceso 28 de septiembre 2013 : <http://www.fao.org/home/es>
74. Fan, L.T., Gharpuray, M.M. & Lee, Y.H., 1987. Cellulose Hydrolysis Biotechnology Monographs. Edit. Springer: Berlin, pp. 57-59.
75. Fishman, M., Pfeffer, P.E., Barford, R.A. & Doner, L.W., 1984. Agric Food. Chem. Núm. 32. Thibault J. F. Phytochemistry. Núm. 22, pp.1567-1571.
76. Fengel, D. & Wegener, G. 1984. Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Walter de Gruyter & Co: Berlin, pp. 21.
77. Fennema, R.O., 1993. Química de los Alimentos. Segunda Edición. Editorial Acribia: Zaragoza España, pp. 89-91, 98-100, 142.
78. Freudenberg, K. & Neish, A.C., 1968. Constitution and Biosynthesis of Lignin. Molecular Biology, Biochemistry and Biophysics. Vol. 2, pp. 129.
79. FUNCOLSA, (Fundación Colombia Solidaria), 2014. Producción de alcohol carburante a base de yuca en el departamento de Córdoba 100,000 L/ día, último acceso 02 de septiembre 2014 en: <http://imagenes.tupatrocinio.com/imagenes/9/6/5/8/79658030081066675670545053704557/proyecto%20biocombustibles.pdf>

80. Galliard, T. & Bowler, P. 1987. Morphology and composition of starch, In: Starch: Properties and potential. Ed. T. Galliard. John Wiley & Sons, New York, pp. 281.
81. Ganga, Z.N. & Corke, H., 1999. Physical properties of starch of Asian-adapted potato varieties. *Journal of Science Food Agriculture*. Núm. 79, pp. 1642-1646.
82. García G., M., Ramírez Q., R. & Munguía L. A., 2004. *Biotecnología Alimentaria*. Editorial Limusa Editores: México, pp. 526-532.
83. Garna, H., Mabon, N., Nott, K., Wathelet, B. & Paquot, M., 2006. Kinetic of the hydrolysis of pectin galacturonic acid chains and quantification by ionic chromatography. *Food Chemistry*. Núm. 96, pp. 480–484.
84. Geissman T., A., 1973. *Principios de Química Orgánica*. Segunda edición. Editorial Reverté: Barcelona España, p.p. 563.
85. Gerard, W., Colonna, C., Buléon, P., A. & Planchot, V., 2001. Amylolysis of maize mutant starches. *Journal Science Food Agric*. Núm. 81, pp.1281–1287.
86. Gírio, F.M., Fonseca, C., Carvalheiro, F., Duarte, L.C, Marquez, S., Bogel, L. R., 2005. Hemicelluloses for fuel Etanol: a review. *Bioresource Technology*. Núm. 101, pp. 4775.
87. Gonzáles A., U., 1995. *El maíz y su conservación*. Editorial Trillas: Distrito Federal México, pp. 13.
88. Grohmann, K., Cameron, R.G. & Buslig, B.S., 1995. Fractionation pretreatment of orange peel by dilute acid hydrolysis. *Bioresource Technology*. Núm. 54, pp. 129-141.
89. Hamelinck, C.N, Van Hooijdonk, G., Faaij, A.C., 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short, middle and long term. *Biomass Bioenergy*. Núm. 28, pp. 384–408.

90. Harun, R., Danqua, K. & Michael R., 2011. Enzymatic hydrolysis of microalgal biomass for bioethanol production, *Chemical Engineering Journal*. Núm. 68. pp. 1079–1084.
91. Hattori, Y., 1961. Saccharification enzyme of *Endomyces*. *Dempunto Gijutsu Kenkyu Kaiho* (En japonés). Núm. 23, pp. 28–33.
92. Heon, K. K. & Hong, J., 2001. Supercritical CO₂ pretreatment of lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis. *Bioresource Technology*. Núm. 77 p.p, 139-141.
93. Hizukuri, S., 1987. Raw starch digesting activity and kinetic properties of glucoamylases. *Denpun Kagaku* (En japónes). Núm. 34, pp. 98–105.
94. Ho, H. S., Huang, W. S., Chen, Y. C., HasuNúma, T., Kondo, A. & Chang, S. J., 2013. Bioethanol production using carbohydrate-rich microalgae biomass as feedstock. *Bioresource Technology*. Núm. 135, p.p 191–198.
95. Hood, L.F., 1982. Current concepts of starch structure. *Food Carbohydrates*. Cap. 13. Line back, D.R. y Inglett, G.E (Eds). AVI Publishing Inc. Wesport CT: EUA pp. 15-21.
96. Holtzapple, M.T., Humphrey, A.E. & Taylor J.D., 1989. Energy requirements for the size reduction of poplar and aspen wood. *Biotechnol. Bioeng.* Núm. 33, pp. 207–210.
97. Hoover, R., 2001. Composition, molecular structure and psychochemical properties of tuber and roots starches: a review. *Carbohydrate. Polym.* Núm. 45. pp. 253–267.
98. Horton, D., 1992. La papa: Producción, comercialización y programas. Editorial CIP. (Centro Internacional de la papa): Perú, Lima, pp. 5,37 y 121.

99. Hosney, C. R., 1991. Principios de ciencia y tecnología de los cereales. 1ª edición Editorial Acribia: España, pp. 100-102.
100. ICA, 2013. Ficha técnica de la remolacha azucarera: Último acceso 19 de agosto 2013 en : http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/RE_MOLACHA.HTM
101. IEA (Internacional Energy Agence), World Energy Outlook, 2006, París, Capítulo 14.
102. Immel, 2000. Molecular Modeling Carbohydrates Sucrose Cyclodextrin. Último acceso 27 de julio 2014 en: <http://caramel.oc.chemie.tu-darmstadt.de/>
103. INAP., 1986. Guía técnica. Administración de los residuos sólidos en el municipio. Núm. 19: Ciudad de México, p.p 43.
104. Ipsita, R. & Munishwar N., G., 2003. Hydrolysis of starch by a mixture of glucoamylase and pullulanase entrapped individually in calcium alginate beads. Enzyme and Microbial Technology. Núm. 34, pp. 26–32.
105. Jenkins, P. J. & Donald, A. M., 1995. The influence of amylose on starch granule structure. International Journal of Biological Macromolecules. Núm. 17, pp. 315–321.
106. Jianzhong, Y., Hao, L., Wen, Y., Wang, E., Zhao, M., Xu, Q. & Liu Y., 2014. Enzymatic hydrolysis enhancement of corn lignocellulose by supercritical CO₂ combined with ultrasound pretreatment. Chinese Journal of Catalysis. Núm. 35, pp. 763–766.

107. Jones, L., Ennos, A.R. & Turner, S.R., 2001. Cloning and characterization of *irx4*: a severely lignin-deficient mutant of *Arabidopsis*. *Plant Journal*. Núm. 26, pp. 205–216.
108. John, R.P., Anisha, G.S., Nampoothiri, K.M. & Pandey, A., 2011. Micro and macro algal biomass: a renewable source for bioethanol. *Bioresource Technology*. Núm. 102 (1), pp. 186– 190.
109. Kerr, T. & Bailey, W., 1934. The cambium and its derivate tissues. X. Structure, optical properties and chemical composition of the so-called middle lamella. *J. Arnold Arb.* Núm. 15, pp. 327-349.
110. Khambhaty, Y., Mody, K., Ghandi R., M., Mahesh, R., Thampy S., R., Maitu, P., Brahmabhatt, H., Karuppanan, E. & Ghosh K. P., 2012. *Kappaphycus alvarezii* as a source of bioethanol. *Bioresource Technology*. Núm. 103, pp. 180– 185.
111. Kim H., K., Choi S., I., Kim, H., Myeong, W., GonSeung, B., & Hyeun, J., 2014. Bioethanol production from the nutrient stress-induced microalga *Chlorella vulgaris* by enzymatic hydrolysis and immobilized yeast Fermentation. Núm. 153, pp. 48-53.
112. Kim H., T., KeunKyeong R., J. & Kyong Hwan, L., 2014. Hydrolysis of hemicellulose from barley straw and enhanced enzymatic saccharification of cellulose using acidified zinc chloride. *Renewable Energy*. Núm. 65, pp. 56-63.
113. Kim, S. & Dale, B.E., 2004. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. *Biomass Bioenergy*. Núm. 26, pp. 361–375.
114. Khule R., N., Mahale B., N., Shelar S., D, Rokade M., M. & Chaudhari R., S., 2012. Extraction of pectin from citrus fruit peel and use as natural binder in paracetamol tablet. *Der Pharmacia Lettre*. Núm. 4 (2), pp. 558-564.

115. Klinkenberg G., A., 1931. The separation and action of two malt amylases; the relation of starch to glycogen. Proc. Acad. Sci. Amsterdam. Núm. 34, pp.893–905.
116. Kuhad C., R., Gupta, R., Khasa, Pal Y., Singh, A. & Zhang P., Y.H., 2011. Bioethanol production from pentose sugars: Current status and future prospects. Renewable and Sustainable Energy Reviews, Núm. 15. pp. 4951-4958.
117. Kumar J., V., Shahbazi, A. & Mathew, R., 1998. Bioconversion of solid food wastes to ethanol. Analysts. Núm. 123, pp 498.
118. Kumar, S., Gupta, R., Kumar, G., Sahoo, D. & Ramesh, C., 2013. Bioethanol production from *Gracilaria verrucosa*, a red alga, in a biorefinery approach. Bioresource Technology. Núm. 135, p.p 150–156.
119. Lee, S., Speight, G., Loyaňka S., K., 2007. Handbook of Alternative Fuel Technologies, Editorial CRC Press, pp. 323–341.
120. Letti J., Alberto, L., Karp S., G., Woiciechowski L., A. & Soccol C., R., 2012. Ethanol production from soybean molasses by *Zymomonas mobilis*. Biomass and Energy. Núm. 44, pp. 80-86.
121. Lucas R., A. M., Robles G., A., Gálvez de Postigo, R., García G., T., Pérez P., R., Álvarez de Cienfuegos, G., 2001. Biodegradación de la celulosa y la Lignina. Publicaciones de la Universidad de Jaén. pp. 13-20.
122. Lynd L., R. et ál. 2002. Microbial cellulose utilization: Fundamentals and Biotechnology. Microbiology Molecular Biology Rev. Núm. 666, p.p 506.
123. Mabee W., E, Saddler J., N., Nielsen, C., Nielsen L., H. & Jensen E., S., 2006. Renewable-based fuels for transport. Renewable energy for power and transport. Riso energy report 5, pp. 47–49.

124. Maciel Á., C., 2009. Biocombustibles. Desarrollo histórico tecnológico mercados actuales y comercio internacional. Economía Informa, pp. 63-88.
125. Martín, C., Klinke H., B. & Thomsen A., B., 2007. Wet oxidation as a pretreatment method for enhancing the enzymatic convertibility of sugarcane bagasse. Enzyme Microb. Technology .Núm. 40, pp. 426–432.
126. Martínez, A., Rodríguez A., M., López M., C.A. & Gosset, L., 2006. ¿Etanol carburante a partir de bagazo de caña? Claridades Agropecuarias. Publicación Mensual de la SAGARPA. pp. 33-39.
127. Maruyama, K., Goto, C., Númata, M., Suzuki, T., Nakagaya, Y., Hoshino, T. & Uchiyama, T., 1996. O-acetylated xyloglucan in extracellular polysaccharides from cell suspension cultures of *Mentha*. Phytochemistry 41(5), pp. 1309-1314.
128. Masuda, H., Horie, T., Hubacz, R. & Ohmura, N., 2013. Process Intensification of continuous starch hydrolysis with a Couette-Taylor flow reactor. Chemical Engineering Research and Design. Núm. 91, pp. 2254-2259.
129. Mataix V, F.J., .2003. Tablas de composición de Alimentos. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos: Universidad de Granada.
130. Melo V., R. & Cuamatzi T., O., 2006. Bioquímica de los procesos metabólicos. Editorial Reverté: Barcelona España pp. 58.
131. Miranda J., R., Passarinho P., C. & Gouveia, L., 2012. Bioethanol production from *Scenedesmus obliquus* sugars: The influence of photo bioreactors and culture conditions on biomass production. Appl. Microbiology Biotechnology. Núm. 96, 555-564.

132. Moctezuma H., N. A. & Gutiérrez R., D. A., 2007. Evaluación de la concentración del inóculo en la calidad de una cerveza artesanal, IX Congreso de Ciencia de los Alimentos y V Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos .Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, pp. 5-6.
133. Montaldo, A., 1979. La yuca o mandioca: cultivo, industrialización, aspectos económicos, empleo en la alimentación animal y mejoramientos. Editorial IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la agricultura): San José, Costa Rica, pp. 48-51.
134. Moreno, M., Cardini C., E., & Tandecarz J., S., 1987. Almidón. Eur J. Biochem. Núm. 162. pp. 613.
135. Morris G., A., & Ralet, M., 2011. A copolymer analysis approach to estimate the neutral sugar distribution of sugar beet pectin using size exclusion chromatography. Carbohydrate Polymers 08. Núm. 77, p.p 412-416.
136. Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Holtzapple L., M. y Ladisch, M., 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. Bioresource Technol. Núm. 96, pp. 673–682.
137. Mousdale M., D., 2008. Biotechnology, Chemistry and sustainable development Editorial CRC Press: Florida U.S.A, pp. 29,170.
138. Mousdale M., D., 2010. Introduction to Biofuels. 1 Edición. Editorial CRC Press: Florida U.S.A, pp. 18-23, 54, 79, 223-224, 249
139. Myrback, K. & Uber, G., 1983. Dextrin and Starch. Biochem. Z. Núm 297, pp. 160-171.
140. Narayanaswamy, N., Faik, A., Goetz D., J. & Gu, T., 2011. Supercritical carbon dioxide pretreatment of corn Stover and switch grass for lignocellulosic ethanol production. Bioresource Technology. Núm. 102, pp. 6995–6998.

141. Nikolic V., M. & Mojovic, L., 2007. Hydrolysis of apple pectin by the coordinated activity of pectic enzymes. Food Chemistry. Núm. 101, pp. 1-9.
142. NMX-FF-034/1-SCF1-2002: Productos alimenticios no industrializados para consumo humano - cereales – parte i: maíz blanco para proceso alcalino para tortillas de maíz y productos de maíz nixtamalizado - especificaciones y métodos de prueba.
143. NMX-FF-034/2-SCFI-2003: Productos alimenticios no industrializados - para uso humano, cereales: maíz amarillo para elaboración de almidones y derivados, especificaciones y métodos de prueba.
144. Nogués, S.F., 2010.Energía de la Biomasa. Energías Renovables. Vol. 1: Universidad de Zaragoza España, pp.127.
145. Novozymes,. 2014. Último acceso 10 de octubre 2014 en:www.bioenergy.novozymes.com
146. O Beirne, D. & Van Buren, J., 1983. Size Distribution of High Weight Species in Pectin Fractions from Idared Apples. Journal of food Science. Vol 48. Issue 1, pp. 276-277.
147. OCDE, y FAO., 2012. Boletín Informativo: Perspectivas agrícolas 2013-2022, pp. 49.
148. ODEPA, .2012.Boletin Informativo del trigo. Último acceso 19 de septiembre 2013 en:http://www.odepa.gob.cl//odepaweb/servicios-informacion/Boletines/BTrigo_enefeb12.pdf;jsessionid=81E90ECACEFCDA04D98C73BA291C5D5B

149. Olivo R, A., Aguilar N., C. & Sáenz M., C. J., 2012. Uso del olote del maíz como sustrato para la producción de xilanasas. Revista de Divulgación Científica de Acta Química Mexicana, año 4, Número 7.
150. Osanaiye B., C, Nzelibe H., C & Agbajo A., S., 2005. Production of ethanol from *Carica papaya* (pawpaw) agro waste: effect of saccharification and different treatments on ethanol yield. African Journal of Biotechnology. Vol. (4). Núm. 7, pp. 658-659.
151. Outtrup, H. & Norman B., E., 1984. Properties and application of a thermostable maltogenic amylase produced by a strain of *Bacillus* modified by recombinant-DNA techniques. Starch/Starke. Núm. 36, pp. 405–411.
152. Panneerselvam, A., Shivappa S., R., Kolar, P., Ranney, T. & Peretti, S., 2013. Potencial of ozonolysis as a pretreatment for energy grasses. Bioresource Technology. Núm. 148, pp. 242-246.
153. Park J.,H., Hong J.,Y., Jang H.,C., Kim S., H., Yoon J., J. & Kim Y., J.,2011. Use of *Gelidium amansii* as a promising resource for bioethanol: A practical approach for continuous dilute acid hydrolysis and fermentation. Bioresource Technology. Núm. 108, pp. 83–88.
154. Parmar, A., Singh K., N., Pandey, A., Gnansounou, E. & Madamwar, D., 2011. Cyanobacteria and microalgae: A positive prospect for biofuels. Bioresource Technology Núm. 102, pp. 10163–10172.
155. Partos, L., 2006. A first, pectin ingredient enters Cargill's portfolio. Ultimo acceso 4-noviembre.2013 en: <http://www.dairyreporter.com/Ingredients/A-first-pectin-ingredient-enters-Cargill-s-portfolio>

156. Pimentel, David & Patzek, T. W., 2005. Ethanol Production Using Corn, Switch grass, and Wood; Biodiesel Production Using Soybean and Sunflower. Natural Resources Research. Vol 14. Núm 1, p.p. 67-71.
157. Plantas y Hongos, Glosario (Macroalgas), 2014 último acceso 2 de junio 2014 en: <http://www.plantasyhongos.es/glosario/laminarina.htm>
158. Pregón Agropecuario biotecnología, último acceso 25 de abril 2014 en : <http://www.pregonagropecuario.com/cat.php?txt=3648>
159. Primo Y., E., 1992. Química orgánica básica y aplicada, de la molécula a la industria. Vol. 2. Editorial Reverté: Universidad Politécnica de Valencia. p.p 899-900.
160. PROY-NMX-FF-022-2001. PRODUCTOS ALIMENTICIOS NO INDUSTRIALIZADOS PARA USO HUMANO. TUBÉRCULO - PAPA (*Solanum tuberosum*, L) –ESPECIFICACIONES Y MÉTODO DE PRUEBA.
161. Quiminet 2013, especificaciones de proveedores de pectina. Último acceso 05 de noviembre 2013 en: <http://www.quiminet.com/productos/pectina-citrica-alto-metoxilo-5771786847/precios.htm>
162. Ragauskas A.J, Williams C.,K., Davison B.,H., Britovsek, G., Cairney, J., Eckert C.,A., Frederick W.,J., Hallett J.,P., Leak D.,J., Liotta C.,L., Mielenz J., R., Murphy, R., Templer, R & Tschaplinski, T., 2006. The path forward for biofuels and biomaterials. Science. Núm. 311, pp. 484-489.
163. Raikar V., R., 2012. Enhanced production of Ethanol from grape waste. International Journal of Environmental Sciences. Volume 3. Núm. 2, pp. 777.

164. Rismani Y.,H., Haznedaroglu B.Z., Bibby K. & Peccia J.,2011.Transcriptome sequencing and annotation of the microalgae *Dunaliella tertiolecta* ,pathway description and gene discovery for production of next-generation biofuels. BMC Genomics. Núm. 12, pp.148.
165. Rinaudo, M & Ravanat, G., 1980. Macromol Chem., Núm. 181, p.p 1059-1070.
166. Rivera H.,B., Aceves N., L.A., Juárez L.,J.F.,Palma L., D.J., Gonzáles M.,R. & Gonzáles J., B., 2012. Zonificación agroecológica y estimación del rendimiento del cultivo de la yuca (*Manihot Esculenta* Crantz) en el estado de Tabasco México. Avances en Investigación Agropecuaria.Núm. 16, pp. 30-32.
167. Rodríguez, P., San Martín, M.E. & González de la Cruz, G., 2001.Calorimetría diferencial de barrido y rayos x del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada. Superficies y Vacío. Núm. 13, pp. 61-62.
168. Rojan P., John, Anisha G., S., Madhavan N., K. & Ashok, P., 2011. Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. Bioresource Technology. Núm. 102. pp. 186–193.
169. Saeman J., F., Moore W., E., Mitchell R., L. & Millet M., A., 1954. Techniques for the determination of pulp constituents by quantitative paper chromatography. Tappi J., 37 (8), pp. 336.
170. SAGARPA 2013, Boletín Informativo "Importancia de la agroindustria de la caña de azúcar.
171. Sandoval Z., E., 2005.Técnicas Aplicadas al Estudio de la Anatomía Vegetal. Cuadernos 38 Editorial UNAM: Instituto de Biología, U.N.A.M. pp. 117.
172. Sarkar, N. & Glosk K., S., Bannerje S., A., 2012.Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. Renewable Energy. Núm. 37, p.p 23.

173. Seabra J., E. A., 2008. Análise de opções tecnológicas para uso integral da biomassa no setor de cana-de-açúcar e suas implicações. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica,(Tesis de Doctorado): Brazil, pp. 81.
174. Scientific Physic,,2014.Estructura química de Carbohidratos. Último acceso 11 de julio 2014 en:<http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates2.html>
175. SENER-BIT-GTZ., 2007. Potenciales y Viabilidad del Uso de Bioetanol y Biodiesel para el Transporte en México, pp. 17-18.
176. SIAP-SAGARPA, .2012, Anuario estadístico de la producción agrícola. Servicio de información agroalimentaria y pesca. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Último acceso.29 de agosto 2013 en:http://www.siap.gob.mx/aagricola_siap/ientidad/
177. SIAP-SAGARPA., 2012.Estados productores de Arroz en México, cierre de la producción agrícola por estado en el año 2012. Último acceso 10 de septiembre 2013 en:http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351
178. SIAP SAGARPA,,2013, Números esenciales de un cultivo tradicional. Último acceso 12 de noviembre 2013 en:http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=367:Números-fundamentales-de-un-cultivo-fundamental&catid=6:boletines&Itemid=569
179. Sierra A, J.P., 2011. Análisis Técnico Económico del uso de Bioetanol en el sector transporte en México. Tesis de Licenciatura , Facultad de Química, UNAM, p.p. 75.

180. Sjöström, E., 1993. Wood Chemistry: Fundamentals and Applications. Second Edition. U.S.A., pp. 13.
181. Subirós R., F., 1995. Cultivo de la caña de azúcar. 1 edición. Editorial Universidad Estatal a Distancia: San José Costa Rica, pp. 4-7.
182. Suosa D., F, Ávila M., C.G., Moreir M., A de Oliveira C., A., N. C. & Moreira A., R., 2010. Perspectivas biotecnológicas de hemicelulosas vegetales, Acta Química Mexicana Universidad Autónoma de Coahuila, Núm. 4.
183. Sun, Y. & Cheng, J., 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol Production: a review. *Bioresource Technology*. Núm. 83, pp. 1-11.
184. Taiz, L. & Zieger, E., 2006. Fisiología Vegetal. Tercera edición. Editorial Reverté: Universidad Jaume, pp. 612.
185. Tasic M., B., Konstantinovi B., V., Lazic M., L. & Veljkovi V., B., 2009. The acid hydrolysis of potato tuber mash in bioethanol production. *Biochemical Engineering Journal*. Núm. 43, pp. 208–211.
186. Téllez, L. et al., 2012. Producción de etanol a partir de yuca mediante bioreactor de tanque agitado con control de variables. Tesis de posgrado UNAB (Universidad Autónoma de Bucaramanga).
187. Tester, R.F., Qi, X. & Karkalas J., 2006. Hydrolysis of native starches with amylases. *Animal Feed Science and Technology*. Núm. 130, pp. 39-45.
188. Tomazik, P. & Horton, D., 2012. Enzymatic Conversion of Starch. *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry*. Vol. 68. ISBN: 978-0-12-396523-3, pp. 80-95.

189. Travaini, R., Otero, M., Derly, M. & Coca, M., 2013. Sugarcane bagasse ozonolysis pretreatment: Effect on enzymatic digestibility and inhibitory compound formation. *Bioresource Technology*. Vol 133, pp. 332-339.
190. Trivedi, N., Gupta, V., Reddy C., R. & Jha Bhavanath, K., 2013. Enzymatic hydrolysis and production of bioethanol from common macrophytic green alga *Ulva fasciata* Delile. *Bioresource Technology*. Núm. 150, pp. 106–112.
191. Tucker M., P., Kim K., H., Newman M., M. & Nguyen Q., A., 2003. Effects of temperature and moisture on dilute acid steam explosion pretreatment of corn Stover and cellulase enzyme digestibility. *Appl. Biochem Biotechnol*. Núm. 105. pp. 65–170.
192. U.elaya perumal at phycolab of MCC, Algas marinas India, ultimo acceso 24 de mayo de 2014 en; <http://uelayaperumal.yolasite.com/algae.php>
193. UNS, .2013. Universidad Nacional del Sur, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia; Visto por última vez 18 de septiembre 2013 en: [http://www.plantasvasculares.uns.edu.ar/farmaco/trabajos/sustancias_de_reserva_\(semillas\).html](http://www.plantasvasculares.uns.edu.ar/farmaco/trabajos/sustancias_de_reserva_(semillas).html)
194. US PATENT, 5514583 (UNITED STATES PATENT). 1996. Recombinant *Zymomonas* for Pentose Fermentation.
195. U.S. Patent 7,067,303, Nichols, N.N. et ál. 2006. Culture containing biomass acid hydrolysate and *Coniochaeta lignaria* fungus.
196. Van der M., van der V., Uitdehaag, H., Leemhuis, R. & Dijkhuizen, L., 2002. Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Biotechnology*. pp. 137–155.

197. Vessia O., 2010. Biofuels from lignocellulosic material: In the Norwegian Context 2010 technology, potential and costs, department of electrical engineering, NTNU, Norwegian University of Science and Technology, Project report, Trondheim 2005, p.p 1-6.
198. Vian O., A., 1994. Introducción a la Química Industrial. 1 edición. Editorial Reverté: Barcelona España, pp. 485-487.
199. Voet, D. & Judith, G. 2006, Fundamentos de Bioquímica, 3 Edición, Editorial Médica Panamericana: Buenos Aires Argentina, p.p 373.
200. Vohra, M., Manwar, J., Manmode, R., Padwilwar, S. & Patil, S., 2013. Bioethanol production: Feedstock and current technologies. Journal of Environmental Chemical Engineering. Núm. 188, pp.2-4.
201. Vriesmann, L. C., Teófilo, R. F., & Petkowicz, C. L. O., 2011. Optimization of nitric acid-mediated extraction of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) using response surface methodology. Carbohydrate Polymers. Núm. 84, pp.1230-1236.
202. Watson, S.A., 1987. Structure and composition of corn. Chemistry and Technology. Am Assoc Cereal Chem. St Paul E.E.U.U., pp. 53-82.
203. Wi S., G., Kim H., J., Mahadevan S., A., Yang, D. & Bae, H., 2009. The potential value of the seaweed Ceylon moss (*Gelidium amansii*) as an alternative bioenergy resource. Bioresource Technology. Núm. 100, pp. 6658–6660.
204. Wingren, A., Galbe, M & Zacchi, G., 2003. Techno-economic evaluation of producing ethanol from softwood: comparison of SSF and SHF and identificación of bottlenecks, Biotechnol. Progress, Núm 19, p.p. 1109.

205. Wittcoff A., H., Reuben G.B. & Plotkin S., J., 2002. Industrial Organic Chemicals. 3 edición. Editorial Wiley: New Jersey, pp.532.
206. Woodward, J., 1984. Xylanases, structure, functions, properties and applications. Top. Enzyme. Ferment. Biotechnol. Núm. 8, pp. 9-30.
207. WTR Systems ,Ammonia Fibre Expansion Reactors (AFEX), visto por última vez el 25 de mayo de 2014 en: <http://hybridsignals.com/Clients/WTR/ammonia-fibre-expansion-reactors-afex/>
208. Wyman C., E., Ayres, R., U. & Goldemberg, J., 2004. Ethanol Fuel in Cleveland. Encyclopedia of Energy. Vol 2. Elsevier Science, p.p 541-555.
209. Xiang, Q., Lee Y., Y., Petterson O., P. & Torget W, R., 2003. Heterogeneous Aspects of Acid Hydrolysis of α -Cellulose. Applied Biochemistry and Biotechnology. Volumen 105, Núm. 13, pp. 505-509.
210. Yano, S., Sawayama, S., Inoue, H., Fujimoto, S., Minowa, T., Imou, K. & Yokohama, S., 2009. Ethanol production potential from rice straw and bagasse in China, India, and asean countries. Taiyo Energy. Núm. 35 (6). pp. 39-44.
211. Yapeng, S., Ruoyu, D., Hong, G., Ming, C., Qinfeng, W., Rongxin, S., Wei, Q. & Zhimin, H., 2013. Fractional pretreatment of lignocellulose by alkaline hydrogen peroxide: Characterization of its major components. Food and bioproducts processing. Núm. 493, pp. 1-9.
212. Yokoyama, W., Renner N., J.J., & Shoemaker, C.F., 1988. Starch molecular mass and size by size exclusion chromatography in DMSO-LiBr coupled with multiple angle laser light scattering. Cereal Chem. Núm. 75, pp. 530-535.

213. Zaroni, B., Schiraldi, A. & Simonetta, R., 1995. A naive model of starch gelatinization kinetics. *Chemical Engineering Research and Design*. Volume 24, publicación 1, pp. 25-33.
214. Zhang, Cheng., Han, Weijian., Jin, Xuedong., Pu, Jengquiang. & Wang Chentao., 2003. Life cycle economic analysis of fuel ethanol derived from cassava in southwest China. *Renewable and sustainable energy reviews*, PERGAMON. Núm 7, p.p. 358-362.