

ÁCIDO: UNA VÍA ADECUADA PARA EL APROVECHAMIENTO DE LOS TALLOS DE YUCA (*MANIHOT SCULENTA*)

MSc. Ena de los Ángeles Hernández López¹, Ing. Yailén Evelyn Martínez Peña², Dr C Josefina del Carmen González Hernández³

1. Universidad de Matanzas – Sede “Camilo Cienfuegos”,
Vía Blanca Km.3, Matanzas, Cuba. ena.hernandez@umcc.cu

2. Universidad de Matanzas –Finca Condesa, carretera a La
Isabel, km 6 1/2 Jovellanos, Matanzas, Cuba.
yailen2.martinez@nauta.cu

3. Universidad de Matanzas – Sede “Camilo Cienfuegos”,
Matanzas, Cuba. josefina.gonzalez@umcc.cu

Resumen

Se investigó la hidrólisis ácida en una y dos etapas como método de pretratamiento para la hidrólisis enzimática de la celulosa contenida en los tallos de yuca. La primera etapa de hidrólisis se realizó a 130°C y 30 minutos y la segunda a 170°C y 10 minutos, en ambas se utilizó ácido sulfúrico. A partir de la caracterización de la materia prima (humedad, cenizas, sustancias extractivas, carbohidratos estructurales (celulosa, hemicelulosas y lignina), se determinó el rendimiento de cada etapa y la composición de las corrientes obtenidas lo que permitió realizar el balance de materiales y cuantificar la recuperación y pérdidas de los componentes de interés. La solubilización de las hemicelulosas aumentó con el incremento del tiempo de pretratamiento y con la concentración de ácido sulfúrico. El pretratamiento en una sola etapa (con ácido sulfúrico al 0,5%) constituye una alternativa prometedora para el procesamiento de los tallos de yuca.

Palabras claves: tallos de yuca, hidrólisis ácida, composición química

En Cuba, la agricultura y la agroindustria generan cantidades significativas de residuos lignocelulósicos, los cuales no son usados económicamente y su acumulación constituye un problema para el medio ambiente. Entre los desechos agrícolas de interés se encuentran los tallos de yuca.

La producción anual de yuca en Cuba en 2012 ascendió a unas 465 000 toneladas (FAOSTAT, 2014). Se estima que por cada tonelada de yuca se generan 170 kg de tallos, aproximadamente 80 000 toneladas de este residuo. El principal uso que reciben los tallos de yuca es en la siembra de nuevas plantaciones (Oseih y Taah, 2009; Wanbim Z, 2013). No obstante, no todos los tallos de yuca son utilizados en la replantación, y la mayor parte constituye un excedente que no recibe ningún uso de relevancia y generalmente se quema o abandona en los campos. Entre los usos que se han propuesto para los tallos de yuca se encuentran la conformación de raciones para la alimentación animal así como la producción de tableros de partículas (Patron, 2008), y como material de construcción para fines decorativos y para la obtención de etanol celulósico (Nuwamanya, et al, 2012; Liscano, 2014).

La caracterización química de los tallos de yuca, realizada por investigadores de la Universidad de Matanzas (Martín et al., 2006), reveló que estos están constituidos en un 46% por carbohidratos, de los cuales los más importantes son los glucanos (33%) y xilanos (12%).

Para convertir los tallos de yuca a etanol u otros productos, es necesario hidrolizar los polisacáridos, lo que requiere de catálisis química o enzimática. Debido a la baja reactividad de la celulosa es necesario pretratar las materias primas para facilitar el acceso de las enzimas al sustrato (Martín, 2007). Los únicos métodos de pretratamiento que han sido reportados para este material son la oxidación húmeda (Martín y Thomsen, 2007) y la prehidrólisis ácidadiluida (Martín et al., 2007; Choi et al, 2009; Liscano, 2014). Trabajos previos revelaron que los tallos de yuca contienen una fracción de glucanos que se hidroliza a condiciones relativamente poco energéticas y que se degrada durante el pretratamiento conduciendo a una baja conversión de los polisacáridos en azúcares fermentables.

El objetivo de la presente investigación es evaluar el efecto del pretratamiento ácido en una y dos etapas en la conversión hidrolítica de los polisacáridos.

En la actualidad, la biomasa lignocelulósica constituye una de las fuentes de energía más extendidas en el mundo y es la fuente de energía renovable en la que descansan las mayores expectativas de desarrollo en las próximas décadas (Carrasco, 2002; Cheng, S., Zu, S. (2008).

La biomasa está a menudo disponible localmente en grandes cantidades y a precios razonablemente bajos y la factibilidad de su conversión en portadores energéticos secundarios o suplementos alimentarios, es indudable.

La biomasa lignocelulósica puede tener los siguientes orígenes (Carrasco, 2002):

- a) Natural: Es la biomasa que se produce en los bosques y otros ecosistemas naturales. Su explotación no es interesante por razones de mantenimiento del equilibrio ecológico.
- b) Residual: Es la biomasa resultante de la actividad humana. Incluye residuos forestales, agrícolas, ganaderos, agroindustriales y de las industrias de la madera, así como residuos sólidos urbanos.
- c) Cultivos energéticos. Son aquellos cultivos dedicados a la producción de biomasa con fines no alimentarios. Suelen ser especies caracterizadas por su robustez a fin de abaratar los costos de cultivo y, por tanto, el precio de la biomasa final. Son plantas perennes con un crecimiento rápido y una elevada eficiencia en la fotosíntesis y en la asimilación de nutrientes y presentan alta resistencia a las plagas y a la sequía.

En el mundo existe gran variedad de biomasa lignocelulósica, como por ejemplo las cáscaras de arroz, los tallos y tusas de maíz, el bagazo y la paja de caña de azúcar, la paja de trigo, tallos de yuca, entre otros. En Cuba, la agroindustria azucarera aporta alrededor de 5 toneladas de bagazo y residuos agrícolas por cada tonelada de azúcar producida (López, 2013) y la biomasa forestal tiene un potencial estimado en 3,5 millones de metros cúbicos al año sin peligro a romper el equilibrio ecológico, constituyen importantes recursos biomásicos a emplear con fines energéticos. Otros tipos de residuos, como los tallos de yuca, han sido poco investigados a pesar de que tienen potencial para usos energéticos.

Los materiales lignocelulósicos (MLC) en general están formados por tres componentes principales: celulosa, hemicelulosas y lignina (Tabla 1), los cuales son componentes de las paredes celulares. El conjunto de los polisacáridos celulosa y hemicelulosas se conoce como holocelulosa.

Tabla 1 Composición de materiales lignocelulósicos.

Fuente	Celulosa (%)	Hemicelulosas (%)	Lignina (%)
Olote de maíz	36.0	23.0	17.0
Fibra de maíz	14.3	16.8	8.4
Bagazo de caña	50	20.0	30.0
Paja de trigo	33-38	21-25	23.0
Paja de arroz	34	25.0	23.0
Madera de pino	46.4	8.8	29.4
Pasto	31	20-24	17-18

Papel de oficina	68.6	12.4	11.3
------------------	------	------	------

Fuente: Irmene y Adela, 2008

La celulosa, el principal componente de las paredes celulares de las plantas superiores, está contenida en 36-51% de la masa seca en los materiales lignocelulósicos. El contenido de hemicelulosas varía entre 15 - 30%, mientras que la lignina representa de 20 - 25% de la masa seca. El contenido de extractivos no suele ser superior de 3-4%, mientras que las cenizas solo en pocas especies alcanzan el 2%. Los compuestos extractivos son una amplia variedad de compuestos que incluyen ácidos resínicos, compuestos fenólicos, aceites esenciales, grasas, ceras, taninos, colorantes y carbohidratos, entre otros (Martín, 2002; Cheng, S., Zu, S., 2008).

Características de la yuca (*Manihot dulcis* y *Manihot sculenta*).

La yuca (*Manihot dulcis* y *Manihot sculenta*) es un alimento de gran importancia en Cuba y otros países tropicales. Es una planta de origen americano que pertenece a la familia *euphorbiaceae*. Se ha extendido en una amplia área de los trópicos americanos desde Venezuela y Colombia hasta el Noroeste de Brasil, con predominio de los tipos de yuca dulce en el norte y en la zona de Brasil los amargos. Las especies silvestres del género *Manihot* tienen dos centros de origen: uno en México y América Central y el otro en el noroeste de Brasil (<http://www.infoagro.com/hortalizas/yuca.htm>). Es un arbusto que presenta tamaño variable, depende de la variedad y el ambiente, la altura varía de 1,50 m a más de 2,5 m. El tallo por lo general es cilíndrico, con tendencia a ser prismático y con un diámetro que varía de 2 a 6 cm. Por su posición pueden ser: erectos, decumbentes o postrados. El color puede ser rojo, marrón, verde, amarillo. Los nudos son prominencias con característica propia de la variedad y se compone de: base de la hoja, yema axilar, y dos estípulas laterales. El tamaño, forma del nudo y distancia entre los nudos es una característica varietal, aunque es afectada por condiciones ambientales (www.apades.org/cultivos/yuca.htm)

Existen diversos tratamientos apropiados para los MLC, entre los que resalta la hidrólisis ácida, la cual es conocida desde 1819. Consiste en hidrolizar, en presencia de ácidos minerales fuertes, los enlaces glicosídicos de los polisacáridos con formación de monosacáridos. Para lograr la hidrólisis completa de la celulosa se deben emplear ácidos concentrados que permitan el hinchamiento necesario y la destrucción parcial de las regiones ordenadas (Martín, 2002). El ácido más usado es el sulfúrico, pero también pueden ser utilizados el clorhídrico, el nítrico, el fosfórico y el acético (Lavarack *et al.*, 2002; Rodríguez-Chong *et al.*, 2004; Gámez *et al.*, 2006; Rocha *et al.*, 2011).

El principal inconveniente de la hidrólisis ácida es el requerimiento de materiales anticorrosivos costosos para la fabricación de reactores y tuberías. Otros inconvenientes son la formación de sustancias inhibitorias de la hidrólisis enzimática y la fermentación alcohólica, sobre todo cuando se trabaja a altas temperaturas y el requerimiento de neutralización (Menon y Rao, 2012).

Entre los inhibidores formados durante la hidrólisis ácida se encuentran los aldehídos furánicos furfural y 5-hidroximetilfurfural (HMF), los ácidos acético, fórmico y levulínico, así como varios compuestos fenólicos liberados de la degradación parcial de la lignina (Liscano, 2014). Se ha trabajado mucho en el desarrollo de procesos de hidrólisis con ácidos diluidos. La hidrólisis percolativa es un proceso, en el cual soluciones acuosas de H₂SO₄ o de HCl son pasadas a través de un lecho de astillas de madera o aserrín en un digestor a temperaturas elevadas (120 - 180°C) con remoción continua del hidrolizado para evitar la degradación de los azúcares liberados. A continuación, el hidrolizado, que contiene generalmente 4-6% de azúcares, es neutralizado y concentrado por evaporación. En la hidrólisis con ácidos diluidos, una parte de la celulosa permanece sin hidrolizarse, mientras que las hemicelulosas son hidrolizadas completamente a sus monosacáridos componentes.

El residuo sólido que queda luego de la hidrólisis está compuesto fundamentalmente por lignina, la cual está más o menos condensada en dependencia de las condiciones durante la hidrólisis. La lignina puede ser usada como combustible o como materia prima para obtener distintos productos.

Existen diferentes métodos físicos, químicos, biológicos y combinados de pretratamientos para los MLC (Mosier *et al.*, 2005). Los métodos físicos son costosos y poco efectivos. Los métodos biológicos son muy lentos, mientras que los métodos químicos y físico-químicos poseen menor costo y son más eficientes.

La explosión con vapor es un método físico-químico que arroja altos rendimientos en un corto tiempo y minimiza el uso de reactivos químicos (Martín y Jönsson, 2002). Consiste en un calentamiento del material con vapor saturado seguido de una descompresión explosiva. Durante el calentamiento, los grupos acetilo de las hemicelulosas se hidrolizan y el ácido acético formado cataliza la hidrólisis de las hemicelulosas.

Otro método es la utilización de agua caliente en estado líquido (LHW, del inglés *Liquid Hot Water*). En este método, el cual no requiere del uso de reactivos, las hemicelulosas se solubilizan en forma de oligosacáridos, y la fracción celulósica es fácilmente hidrolizable (Zeng *et al.*, 2007).

La explosión con amoníaco, AFEX (del inglés *Ammonia Fiber Explosion*), es un pretratamiento físico-químico en el cual el material es expuesto al amoníaco líquido a 90-100°C durante unos 30 minutos y luego la presión es reducida bruscamente. La AFEX mejora la hidrólisis enzimática y minimiza la formación de inhibidores de la fermentación, pero es poco efectivo en materiales con alto contenido de lignina y se requiere de la recirculación del amoníaco (Martín *et al.*, 2008; Balat *et al.*, 2009).

Los pretratamientos organosolv permiten adecuar la celulosa a la acción de las enzimas mediante el uso de disolventes orgánicos que solvolizan y solubilizan la lignina y parte de las hemicelulosas. Estos métodos consisten en el calentamiento de la lignocelulosa con

sistemas acuosos de disolventes orgánicos a temperaturas entre 150-200⁰C. Los disolventes usados deben ser reciclados para reducir el costo operacional. (Tahezadeh y Karimi, 2008).

La oxidación húmeda es el pretratamiento de los materiales lignocelulósicos con agua y aire u oxígeno a temperaturas por encima de 120⁰C. La oxidación húmeda está entre los procesos más simples en términos de equipamiento, energía y reactivos químicos requeridos, y es un método apropiado para materiales con bajo contenido de lignina (Martín *et al.*, 2007).

El pretratamiento con ácido diluido es el más conveniente para la materia prima en estudio y consiste en el uso de ácidos diluidos para despolimerizar y solubilizar las hemicelulosas y activar la celulosa para la hidrólisis enzimática. Su principio de acción es similar a la hidrólisis ácida descrita anteriormente. La prehidrólisis con H₂SO₄ diluido es un método muy efectivo, entre cuyas ventajas se encuentran la recuperación de las hemicelulosas en forma de monosacáridos y la posibilidad de recuperar la lignina pura después de la hidrólisis. Su principal inconveniente es el alto costo de los materiales anticorrosivos requeridos para la construcción de los reactores (Mosier *et al.*, 2005).

El enfoque actual para el tratamiento de los MLC es a través del concepto de Biorrefinerías. Las biorrefinerías se definen como los “medios de producción que integran procesos de conversión de biomasa y equipos para producir combustible, energía y productos químicos a partir de la misma”. Una biorrefinería es una planta procesadora donde la biomasa es convertida en múltiples productos valiosos de manera similar a una refinería petroquímica. En contraste con una refinería de petróleo, una biorrefinería usa recursos renovables y produce combustibles y reactivos químicos que contribuyen menos a la contaminación ambiental (Fernando *et al.*, 2006).

Las biorrefinerías lignocelulósicas pueden producir, además de etanol y papel como productos principales, múltiples co-productos como ácido acético, furfural, acetona, butanol, ácido succínico y otros compuestos. Para la utilización eficiente de las materias primas, en las biorrefinerías lignocelulósicas se requiere hidrolizar lo más completamente posible los polisacáridos, convertir todos los azúcares en etanol y co-productos, y encontrar aplicaciones de alto valor agregado para la lignina, cuyo uso actual se limita a la generación de vapor y electricidad.

El diseño de las biorrefinerías se refiere a proveer tecnología básica con líneas de productos similares a los obtenidos por la industria petroquímica. A partir de trabajos dedicados al desarrollo de sistemas de biorrefinerías siguiendo la lógica de la base de productos petroquímicos, se crea el “árbol de familia de productos químicos” obtenidos a partir de la biomasa (Ver figura1) (Cappa, M; Díaz A, 2007).

Existen cuatro sistemas complejos de biorrefinerías clasificadas de acuerdo a la biomasa considerada:

- Biorrefinerías de “naturaleza seca”, las cuales utilizan biomasa lignocelulósica;
- Biorrefinerías de “granos”, las cuales utilizan como materia prima cereales o maíz;
- Biorrefinerías de “naturaleza húmeda”, las cuales utilizan plantas herbáceas y cereales no maduros.
- Biorrefinerías que incluyen la plataforma de los azúcares, basada en la conversión química y bioquímica de los azúcares extraídos de la biomasa por distintos métodos.

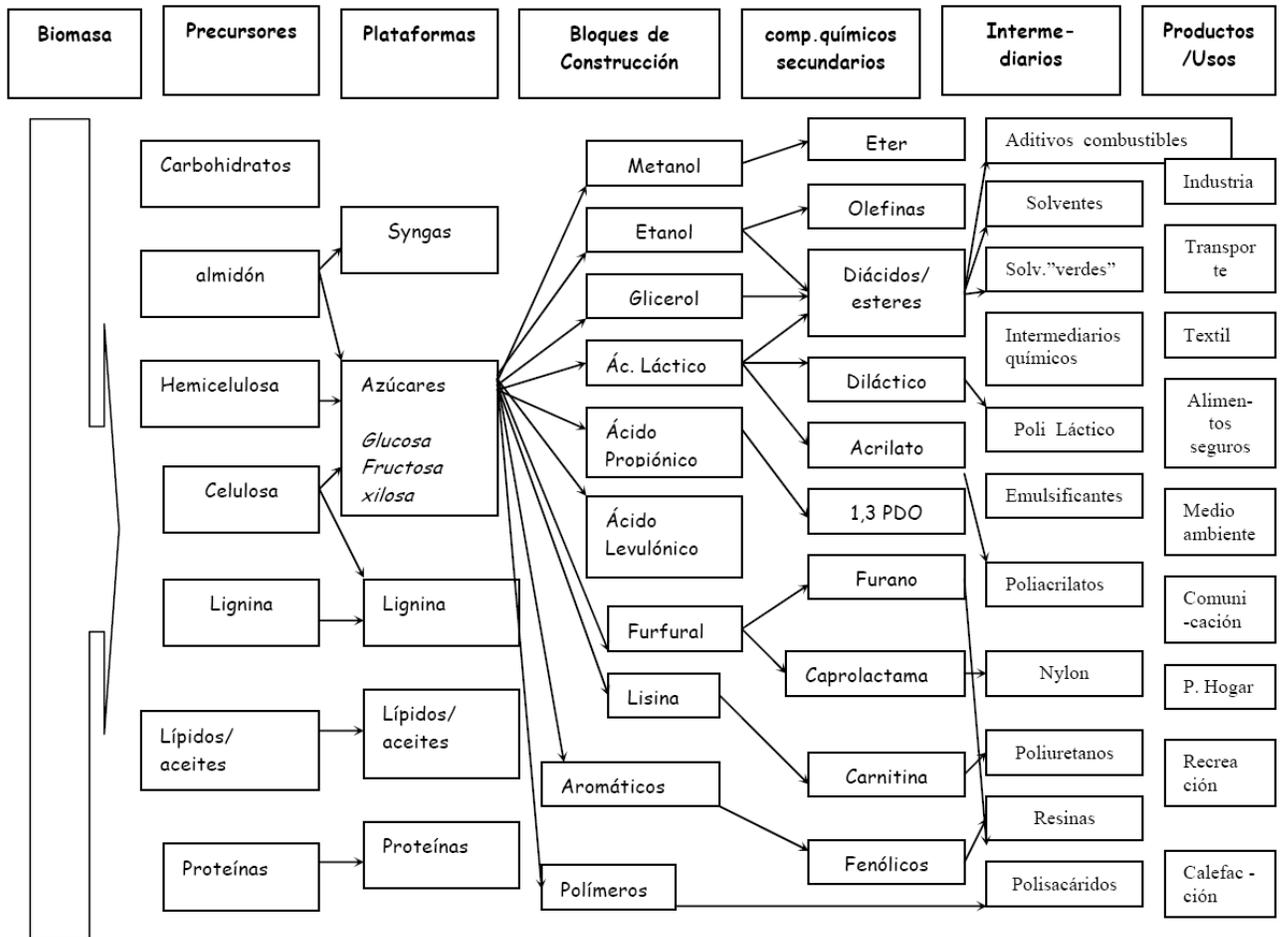


Figura1 Diagrama de flujo de productos a partir de biomasa y sus posibles usos.

Materiales y Métodos

El trabajo experimental consta de las siguientes etapas: recolección y preparación de la materia prima; caracterización de la materia prima; prehidrólisis ácida en autoclave; hidrólisis ácida en una y dos etapas en reactor Regmed a escala de banco.

Muestreo, preparación y conservación de la materia prima.

Los tallos de yuca (*Manihot sculenta* Cranz) se colectaron en áreas del Instituto Politécnico Agropecuario “César Escalante” (Jagüey Grande, Matanzas). Los tallos frescos se cortaron en trozos de 5 cm de longitud y se secaron al sol y al aire durante 2 semanas, y a continuación se trituraron en un molino artesanal hasta un tamaño de partícula de aproximadamente 2 mm. El material molido se sometió a un secado adicional a 40 °C en una estufa (AASET® YLD-6000, R.P. China) durante 24 h. Posteriormente, el material seco se tamizó para obtener una fracción con un tamaño de partícula de 1 mm, que se utilizaría posteriormente para la caracterización química de la materia prima. Las dos fracciones fueron conservadas en bolsas de polietileno a temperatura ambiente.

Caracterización de la materia prima.

La determinación del contenido de humedad, componentes minerales, sustancias extractivas, carbohidratos estructurales (celulosa y hemicelulosas) y lignina de la materia prima se realizó siguiendo procedimientos analíticos de la Academia Forestal de San Petersburgo, Rusia, actualizados a partir de protocolos del *National Renewable Energy Laboratory* de los EE.UU. (Sluiter *et al.*, 2008).

Pretratamiento por hidrólisis ácida diluida a los tallos de yuca.

Se realizó como método de pretratamiento a la materia prima, la prehidrólisis ácida diluida, con el objetivo de solubilizar gran parte de las hemicelulosas y obtener un material enriquecido en celulosa. Se realizó a escala de laboratorio en autoclave (Advantage AL02-03-100, China) y a escala de banco en un reactor especialmente diseñado para el procesamiento de materiales lignocelulósicos (Regmed, Brasil), (Rocha, 2011)

Prehidrólisis ácida de tallos de yuca en autoclave.

Como primer paso a la investigación sobre pretratamiento de tallos de yuca, la materia prima se trató con ácido sulfúrico en autoclave siguiendo un diseño de experimento 2², en el que las variables independientes fueron el tiempo de reacción y la concentración de ácido

sulfúrico (Tabla 2). La temperatura de trabajo (130°C) se escogió teniendo en cuenta el valor máximo permitido para la operación segura de la autoclave.

Tabla 2. Condiciones experimentales para el pretratamiento ácido en autoclave.

No.	c(H ₂ SO ₄), %	Tiempo, min	Temperatura, °C	Relación líquido-sólido
1	0,5	30	130	9:1
2	0,5	60	130	9:1
3	1,5	30	130	9:1
4	1,5	60	130	9:1

Muestras de 5 g de tallos de yuca se mezclaron en un frasco de 0.5 L con una solución de ácido sulfúrico a la concentración de trabajo hasta alcanzar 50 gramos de mezcla en una relación líquido-sólido de 9:1. Las suspensiones obtenidas se trataron a 130°C en autoclave (Advantage AL02-03-100, China) durante el tiempo de pretratamiento previamente seleccionado. Al concluir el pretratamiento, se dejó enfriar el autoclave hasta 70°C, se retiraron los frascos, y su contenido fue filtrado a vacío. El residuo sólido fue lavado primero con abundante agua destilada hasta alcanzar pH neutro. El filtrado se conservó a 4°C luego de tomar muestras para análisis de pH y de azúcares reductores totales. Los sólidos lavados fueron secados a temperatura ambiente durante cuatro días. Luego se pesaron los sólidos y se determinó su contenido de humedad para poder cuantificar el rendimiento de sólidos pretratados (celulignina) mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento} = \left[\frac{\text{Peso}_{\text{final}} \cdot (1 - H_2)}{\text{Peso}_{\text{inicial}} \cdot (1 - H_1)} \right] \cdot 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

H₂, humedad del sólido pretratado H₁, humedad del sólido antes de tratar.

Posteriormente, se realizó la determinación del contenido de celulosa, hemicelulosas y lignina en los sólidos pretratados. Las hemicelulosas y la celulosa fueron determinadas a través de los polisacáridos fácilmente y difícilmente hidrolizables. (Sluiter *et al.*, 2008).

A partir de la composición química se calculó la recuperación de la celulosa, las hemicelulosas y la lignina, así como la solubilización de las hemicelulosas. La recuperación de las hemicelulosas se calculó utilizando la siguiente expresión:

$$R_{\text{PFH}} = m(\text{PFH})_{\text{final}} / m(\text{PFH})_{\text{MP}} \cdot 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

$m(\text{PFH})_{\text{final}}$, masa de hemicelulosas en la celulignina, g.
 $m(\text{PFH})_{\text{MP}}$, masa de hemicelulosas en la materia prima, g.
 R_{PFH} , recuperación de hemicelulosas en la celulignina, %.

El cálculo de la recuperación de la celulosa y la lignina se hizo de manera similar al de la recuperación de las hemicelulosas. Para calcular la solubilización de las hemicelulosas (S_{PFH}) se utilizó la siguiente expresión:

$$S_{\text{PFH}} = 100 - R_{\text{PFH}} \quad (\text{Ec. 3})$$

Se realizaron dos réplicas de todos los pretratamientos y tres réplicas de todos los análisis. Los resultados experimentales se procesaron estadísticamente mediante el paquete estadístico *Statgraphics Plus versión 5.0 for Windows*.

Prehidrólisis ácida de tallos de yuca en el reactor Regmed.

Las condiciones de experimentación para ambas etapas en el reactor Regmed se muestran a continuación (Tabla 3). Las condiciones de reacción en la primera etapa se seleccionaron a partir de los resultados de la experimentación en autoclave. Las condiciones de la segunda etapa se basaron en reportes de la literatura especializada (Taherzadeh y Karimi, 2008). El diagrama mostrado en la figura 2 facilita la comprensión de la secuencia experimental seguida.

Tabla 3 Condiciones experimentales para el pretratamiento ácido en el reactor Regmed

Etapas	$c(\text{H}_2\text{SO}_4)$, %	Tiempo, min	Temperatura, °C	Relación líquido-sólido
1	0,5	30	130	9:1
1	1,5	30	130	9:1
2	0,5	10	170	15:1

Primera etapa

Para la primera etapa de pretratamiento, se pesaron 600 g de tallos de yuca, se mezclaron en el reactor con 30 g de ácido sulfúrico concentrado (para el experimento con concentración al 0,5 %) y se le añadió agua destilada hasta completar 6 kg de mezcla.

La mezcla se calentó a 130°C durante 30 min., y luego se dejó que el reactor se enfriase espontáneamente, aproximadamente 180 min. Para la separación de las fracciones y su posterior caracterización se siguió el mismo procedimiento descrito previamente para los experimentos en autoclave. Para el pretratamiento con concentración de ácido al 1,5 % se repitió el mismo protocolo, pero con la salvedad de que la masa de ácido sulfúrico concentrado usada fue 90 g. La mayor parte de la celulignina obtenida en este

pretratamiento ácido se sometió a una segunda hidrólisis ácida para completar el pretratamiento.

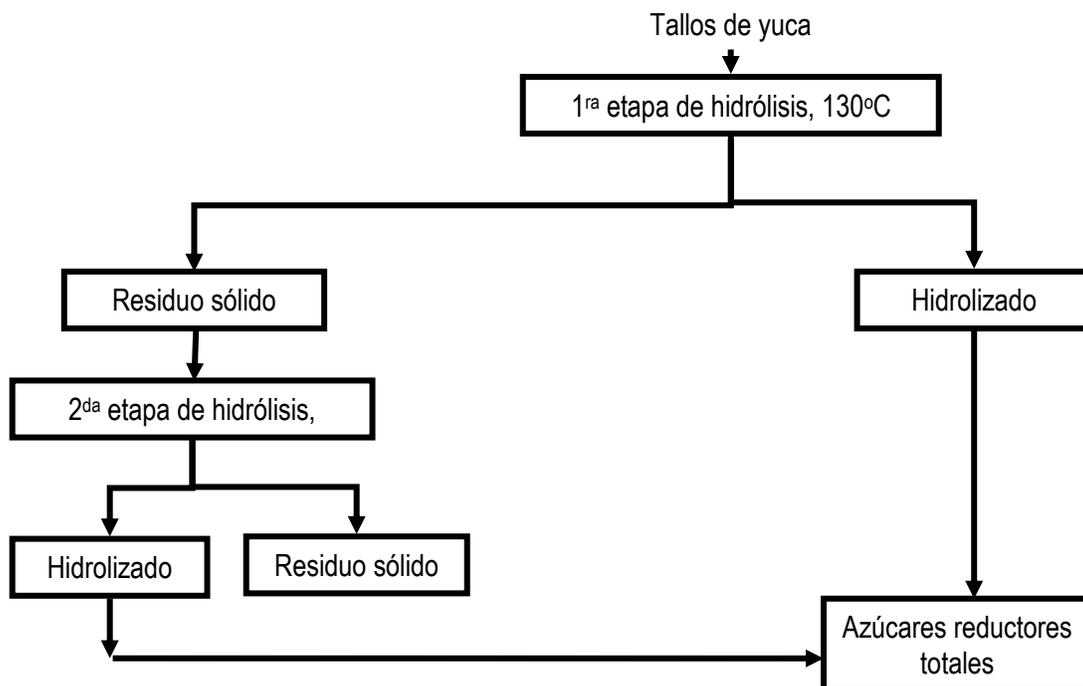


Figura 2. Secuencia experimental seguida para la hidrólisis de los tallos de yuca.

Segunda etapa

En esta etapa se utilizó una temperatura de 170°C, un tiempo de 10 minutos y una relación líquido-sólido de 15:1. Se tomaron 350 gramos de la celulignina obtenida en la primera etapa, y se mezclaron con ácido sulfúrico diluido totalizando una masa de 6 kg. El resto del procedimiento fue similar al descrito para la primera etapa.

Análisis de resultados

Composición de la materia prima

Con el fin de determinar la composición química de los tallos de yuca, se llevó a cabo una rigurosa secuencia analítica, que incluyó la determinación consecutiva de las sustancias extractivas, polisacáridos y lignina, así como el análisis en paralelo del contenido de componentes minerales. Los resultados del análisis revelaron que los tallos de yuca, por su

composición química, son un material apropiado para distintos aprovechamientos siguiendo un esquema de biorrefinería lignocelulósica.

Los principales componentes de los tallos de yuca son los carbohidratos estructurales, los cuales constituyen dos terceras partes de la masa seca de la materia prima (Ver anexo 1). La celulosa, determinada como la fracción de polisacáridos difícilmente hidrolizables, representa el 37,3 % del material, mientras que las hemicelulosas, determinadas como polisacáridos fácilmente hidrolizables, constituyen el 31,4 % (Tabla 4). El alto contenido de celulosa es una indicación del potencial de los tallos de yuca para la obtención no sólo de etanol celulósico, sino también de otros productos, como ácido láctico, sorbitol, ácido levulínico y otros. A partir del contenido de celulosa en los tallos de yuca, y teniendo en cuenta el rendimiento agrícola de la yuca (35-40 t/ha) y el rendimiento de tallos (170 kg por tonelada de raíz de yuca), se puede elucidar un rendimiento de etanol celulósico ascendente a 1 774 litros de etanol al 95% por hectárea de plantación.

Tabla 4 Composición química de los tallos de yuca. La desviación estándar se muestra entre paréntesis.

Componentes	Contenido (% en masa)
Celulosa	37,3 (0.21)
Hemicelulosas	31,4 (0.16)
Lignina	17,8 (0.03)
Extractos en agua	7,5 (0.02)
Extractos en etanol	6,0 (0.2)
Cenizas	1,9 (0.07)

Las hemicelulosas también permiten diversas aplicaciones para los tallos de yuca, pero la elucidación real de su potencial no es posible en el marco actual debido a limitaciones del método de análisis empleado. Se conoce que las hemicelulosas son un polisacárido muy heterogéneo, formado por diversos azúcares que incluyen pentosas, hexosas, metilpentosas y ácidos urónicos en distintas proporciones. Para poder revelar el potencial de aplicación de las hemicelulosas de los tallos de yuca se precisa emplear métodos de análisis que permitan cuantificar sus componentes individuales. (Martín *et al.*, 2006b)

El análisis de la materia prima también reveló que la lignina es el tercer componente en importancia de los tallos de yuca (Tabla 4). El contenido de lignina en los tallos de yuca (17,8 %) es comparable al contenido de este componente en otros desechos agrícolas, e inferior al de las maderas duras y blandas (Martín *et al.*, 2006b). El relativamente bajo contenido de lignina es favorable para la conversión de los tallos de yuca, ya que puede permitir tratamientos químicos poco severos para hidrolizar los polisacáridos, y minimiza la inhibición de la hidrólisis enzimática de la celulosa

En caracterizaciones de tallos de yuca reportadas previamente, la determinación de los extractos se limitó a la extracción con etanol, mientras que se ignoró la cuantificación de

extractos hidrosolubles (Martín *et al.*, 2006b; 2007a). En el presente trabajo, con el fin de lograr una mejor resolución de las sustancias extractivas, se realizó la extracción sucesiva con agua y con etanol. El procedimiento resultó acertado, ya que se logró elucidar la presencia de un contenido de extractos solubles en agua caliente ascendente a 7,5% de la masa de la materia prima (Tabla 4). Ese contenido es superior a los valores reportados para otros materiales. El contenido de extractos solubles en etanol detectado en este trabajo (6,0%) fue ligeramente inferior al reportado previamente (7,2%) (Martín *et al.*, 2006b), lo que es una consecuencia de la mejor resolución lograda en este trabajo. En el reporte previo (Martín *et al.*, 2006b), al no realizarse extracción agua, una parte de los extractos hidrosolubles fue extraída con etanol aumentando el contenido aparente de extractos solubles en etanol.

Un resultado de interés es que entre los extractos hidrosolubles se detectó 1,2 g/L de azúcares reductores, los cuales pueden ser de interés para procesos fermentativos. Es importante señalar, que el contenido real de carbohidratos en la fracción de extractos hidrosolubles puede ser aún mayor, ya que el método analítico empleado no permitió cuantificar los oligo- y polisacáridos. Para estudios futuros es recomendable hidrolizar los carbohidratos oligoméricos de modo que los productos de la hidrólisis puedan ser cuantificados posteriormente como azúcares reductores totales. También sería de interés aplicar análisis cromatográficos para identificar cada uno de los azúcares presentes en esa fracción.

El contenido de componentes minerales coincide con lo reportado previamente para tallos de yuca y es comparable con los valores encontrados en otros materiales (Martín *et al.*, 2006b).

Pretratamiento ácido en autoclave.

Como resultado del pretratamiento se alcanzaron rendimientos de sólidos de aproximadamente 78-82 % (Figura 3.). La disminución del rendimiento de sólidos se debe a la solubilización de algunos componentes, fundamentalmente las hemicelulosas. La solubilización de las hemicelulosas resulta en un material cuyos principales componentes son celulosa y lignina, por lo que recibe el nombre de celulignina. El rendimiento de celulignina fue ligeramente inferior en los pretratamientos que usaron ácido sulfúrico al 1,5 % (experimentos 3 y 4), lo que es resultado de una mayor acción hidrolítica sobre las hemicelulosas a mayor concentración de H₂SO₄. Por otra parte, a igual concentración de ácido el rendimiento de sólidos fue inferior en los pretratamientos cuya duración fue 60 minutos (experimentos 2 y 4), lo que es una consecuencia lógica de la mayor severidad de las condiciones experimentales.

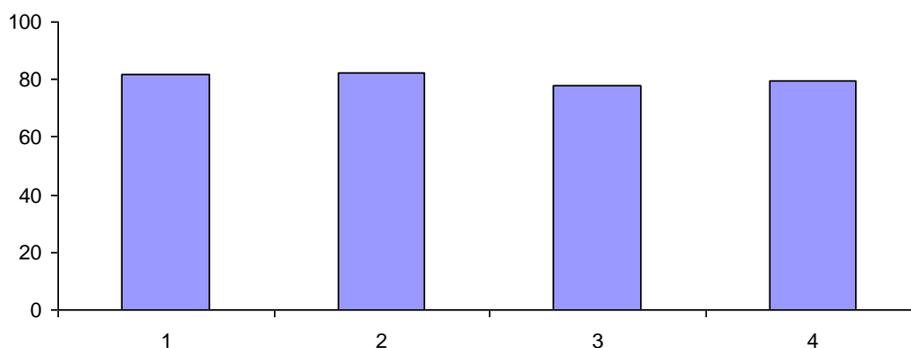


Figura 3. Rendimiento de sólidos en el pretratamiento ácido en autoclave (%)

La composición química de las celuligninas obtenidas en las distintas condiciones se muestra en la Tabla 5. (Ver anexo 2). Se puede observar que el contenido de hemicelulosas descendió, como consecuencia de su hidrólisis ácida, de 31,4% en la materia prima (Tabla 3) a 10,6-12,5% en los sólidos pretratados. Otro resultado de la solubilización de las hemicelulosas es el incremento del contenido de celulosa y de lignina. El contenido de celulosa fue más notable en los experimentos realizados con la mayor concentración de ácido sulfúrico, donde pasó de 37,3% en la materia prima a alrededor del 59% en la celulignina.

Tabla 5 Composición química de las celuligninas obtenidas en el pretratamiento ácido en autoclave. Las desviaciones estándares se muestran entre paréntesis.

No.	Hemicelulosas, %	Celulosa, %	Lignina, %
1	12,53 (0,1)	49,3 (0,2)	38,2 (0,3)
2	10,57 (0,2)	47,5 (0,1)	40,6 (0,1)
3	11,67 (0,3)	59,2 (0,1)	30,8 (0,1)
4	10,70 (0,2)	58,9 (0,2)	30,5 (0,2)

A continuación se ilustran los resultados del balance de materiales a partir de las condiciones experimentales descritas en la tabla 2.

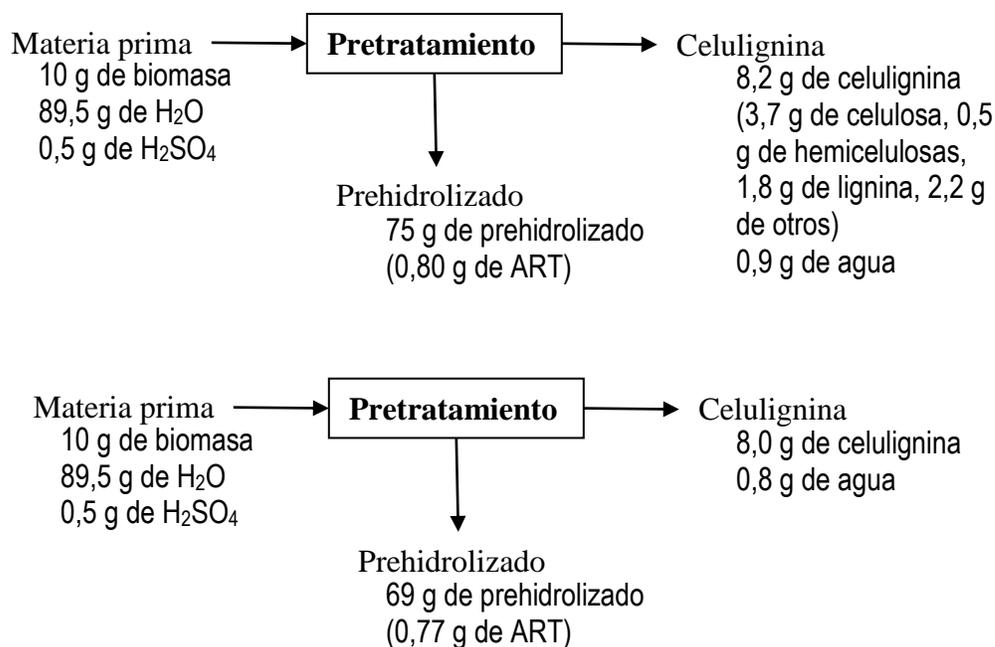


Figura 4 Balance de masas del pretratamiento ácido de los tallos de yuca en los experimentos 1 (diagrama superior) y 4 (diagrama inferior).

El pretratamiento ácido revela que la totalidad de la celulosa y de la lignina contenidas en los tallos de yuca fueron recuperadas en la celulignina. Los resultados del balance también permitieron cuantificar el grado de solubilización de las hemicelulosas, el cual osciló entre 67,4 y 72,9% del contenido inicial de ese componente (Tabla 5). Las mayores solubilizaciones tuvieron lugar en los experimentos 2 y 4, correspondientes al mayor tiempo de pretratamiento. Por otra parte, el contenido de azúcares reductores totales en los prehidrolizados resultó inferior al valor que debería esperarse a partir de la solubilización ocurrida de las hemicelulosas. Esto indica que ocurrió la degradación de una parte de los azúcares hemicelulósicos. La degradación, que es consecuencia de la reactividad de los monosacáridos en presencia de un medio ácido a elevada temperatura, fue mayor en el experimento 4 que fue el realizado a mayor concentración de ácido sulfúrico y durante un tiempo de reacción más largo.

Tabla 6 Solubilización de las hemicelulosas (%) y concentración de azúcares reductores totales (g/L) en los prehidrolizados.

No.	Solubilización de hemicelulosas, %	Concentración de ART, %
1	67,41	10,45
2	72,26	9,00
3	70,91	11,25
4	72,92	11,3

El procesamiento estadístico de los resultados de la experimentación en autoclave revela que el tiempo ejerce una influencia significativa sobre el rendimiento de sólidos (Figura 5). El análisis de varianza muestra que el valor de *p-value* es menor que 0.05 con un nivel de confianza de 95%, es por ello que se decide trabajar en el reactor con el menor tiempo (30 minutos). La concentración de ácido sulfúrico no ejerce influencias significativas y tampoco la interacción de ambos factores. (Ver anexo 3)

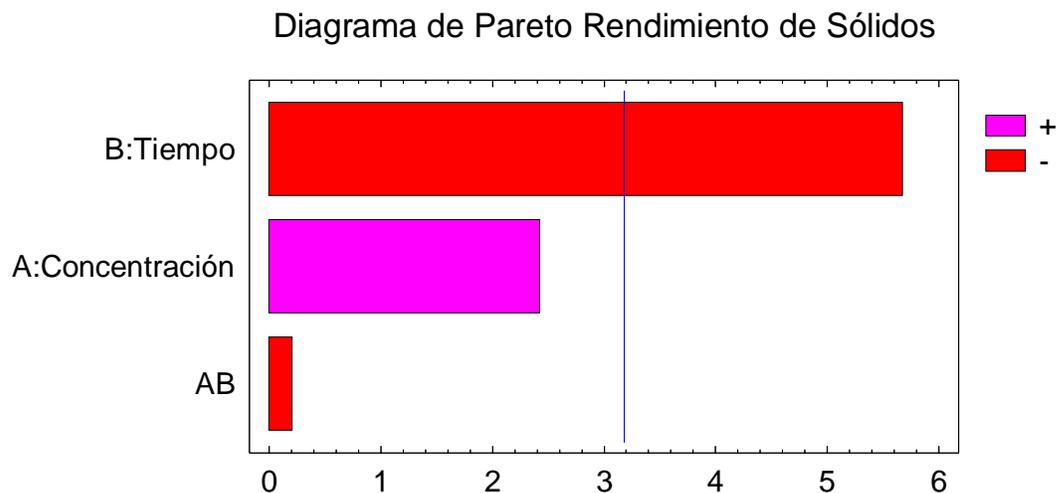


Figura 5. Diagrama de Pareto para el rendimiento de sólidos.

Pretratamiento ácido en el reactor:

Pretratamiento ácido en una etapa.

A partir de los resultados obtenidos en el autoclave, y teniendo en cuenta la necesidad de aplicar condiciones experimentales más cercanas a la escala de una planta, se investigó el pretratamiento ácido en una y en dos etapas en un reactor a escala de banco. El reactor empleado fue diseñado y construido especialmente para diferentes tipos de tratamientos a materiales lignocelulósicos, y permite el trabajo en un rango amplio de temperaturas y presiones, así como el uso de diferentes reactivos químicos. Además, está equipado con un sistema de rotación de la cámara de reacción, que permite el mezclado de los reactantes durante el proceso (Rocha *et al.*, 2011).

Al igual que en los experimentos realizados en el autoclave, en los pretratamientos en una etapa en el reactor se utilizaron dos concentraciones de ácido sulfúrico: 0,5% (pretratamiento A) y 1,5% (pretratamiento B). Por otra parte, la temperatura se fijó a 130°C, el tiempo de reacción a 30 min y la relación líquido-sólido 9:1.

Los rendimientos de celulignina (56,3-68,1%) resultaron inferiores a los obtenidos en los experimentos en el autoclave (78-82%) (Ver anexo 4), indicando que en el reactor ocurrió una mayor solubilización de la materia prima. Este fenómeno puede ser atribuido a que el calentamiento y el enfriamiento en el reactor requirieron de tiempos más largos, lo que favoreció la solubilización de los componentes de los tallos de yuca (Tabla 7). La mayor solubilización ocurrió en el pretratamiento B, lo que es un resultado lógico, pues el efecto catalítico del ácido sulfúrico sobre la hidrólisis de los polisacáridos aumenta con el aumento de su concentración (Taherzadeh y Karimi, 2008).

Tabla 7 Rendimiento y composición de las celuligninas obtenidas en la primera etapa de pretratamiento en el reactor, y concentración de azúcares en el prehidrolizado. La desviación estándar se muestra entre paréntesis. (Ver anexo 5)

Proceso	Rendimiento de celulignina, %	Hemicelulosas, %	Celulosa, %	Lignina, %	c(ART), g/L
A	68,1	26.22 (0,1)	50.52 (0,2)	23.28 (0,1)	26,7
B	56,3	18.33 (0,3)	52.62 (0,1)	30.22 (0,2)	44,5

Como resultado del pretratamiento, aumentó el contenido de celulosa en el material y disminuyó el de hemicelulosas (Tabla 7). El pretratamiento con la mayor concentración de ácido sulfúrico condujo a una mayor solubilización de las hemicelulosas, llevando a un contenido final de 18,3%, mientras que en el otro el contenido final fue de 26,2%. Estos resultados están en concordancia con la concentración de azúcares reductores totales, la cual fue mayor en el prehidrolizado procedente del pretratamiento B.

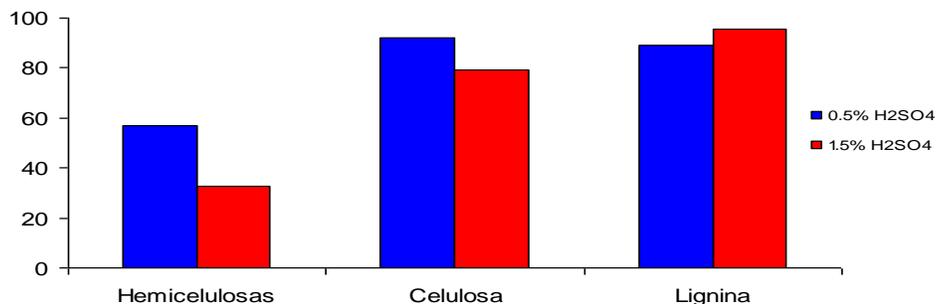


Figura 6 Recuperación de los principales componentes en la celulignina obtenida por pretratamiento de los tallos de yuca con H₂SO₄ al 0,5 y al 1,5%.

El balance de masas del pretratamiento permitió cuantificar la recuperación de los principales componentes de los tallos de yuca en la celulignina, la cual se presenta en la Figura 7. La menor recuperación de las hemicelulosas en el pretratamiento B es un resultado de su solubilización. Por su parte, el pretratamiento A, a pesar de alcanzar una menor solubilización de las hemicelulosas, presentó una mayor recuperación de la celulosa (92,2%) que la alcanzada en el B (79,4%). O sea, la cantidad de celulosa disponible para la hidrólisis enzimática es mayor en la celulignina procedente del pretratamiento que empleó menor concentración de ácido sulfúrico.

Como las hemicelulosas fueron el componente que más afectado resultó en esta primera etapa del pretratamiento, se realizó un balance de masas más detallado. Se muestra el balance de las hemicelulosas en el proceso B (Figura 7). Se puede observar, que de 412 g de hemicelulosas que entraron al proceso, sólo se logró recuperar 256,3 g (195,8 g en el prehidrolizado y 60,5 g en la celulignina), lo que indica que ocurrieron pérdidas del 37,9% de ese componente como resultado de su degradación por la acción del ácido. En el pretratamiento A también ocurrió degradación de las hemicelulosas.

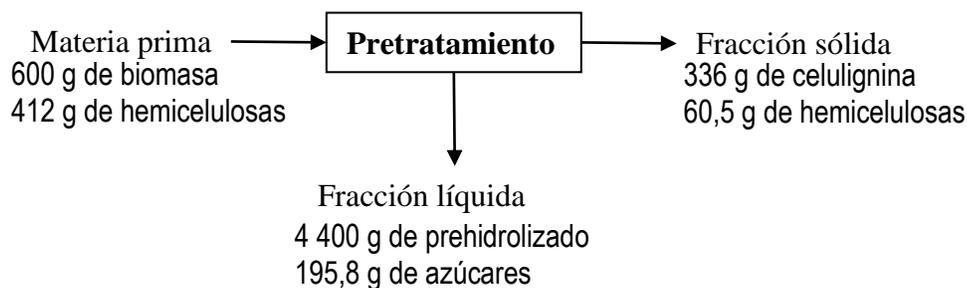


Figura 7 Balance de las hemicelulosas en el pretratamiento de los tallos de yuca con H₂SO₄ al 1,5% en el reactor.

Pretratamiento ácido en dos etapas.

Para completar este pretratamiento, las celuligninas obtenidas en el experimento anterior se sometieron a un nuevo tratamiento ácido, pero a una temperatura más elevada (170°C) y por un tiempo más corto (10 min), de acuerdo a lo expresado en la literatura especializada (Taherzadeh y Karimi, 2008). El pretratamiento de la celulignina procedente del proceso A se denominó pretratamiento C, mientras el procedente de la B se designó pretratamiento D. En ambos casos la concentración de ácido sulfúrico fue 0,5%.

Tabla 8. Rendimiento y composición de las celuligninas obtenidas en la segunda etapa de pretratamiento en el reactor, y concentración de azúcares en el prehidrolizado. La desviación estándar se muestra entre paréntesis.

Proceso	Rendimiento de celulignina, %	Hemicelulosas, %	Celulosa, %	Lignina, %	c(ART), g/L
C	71,0	13,3 (0.01)	53,1 (0.02)	35,5 (0.01)	9,1
D	85,0	12,5 (0.02)	52,6 (0.01)	34,9 (0.01)	4,7

Los rendimientos de celulignina (71,0-85,0%) (Tabla 8) fueron superiores a los obtenidos en la primera etapa (56,3-68,1%) (Tabla 6), indicando que la segunda etapa de pretratamiento la solubilización del material fue inferior a la ocurrida en la primera etapa. Esto es una consecuencia de que en la primera etapa ya se habían solubilizado la mayor parte de los componentes potencialmente solubilizables en condiciones de pretratamiento ácido. Al mismo tiempo, la solubilización fue superior para la celulignina procedente del proceso A, lo que en cierto modo compensa la menor solubilización que había ocurrido en la primera etapa en el proceso con menor concentración de ácido. Los valores de concentración de azúcares en los prehidrolizados (9,1 g/L para el proceso C y 4,7 g/L para el proceso D) concuerdan con el perfil de solubilización de los polisacáridos en esos dos pretratamientos. (Ver anexo 6)

Tabla 9 Recuperación de los polisacáridos en la segunda etapa y recuperación global en todo el pretratamiento en dos etapas.

Proceso	Hemicelulosas, %		Celulosa, %	
	Segunda etapa	Global	Segunda etapa	Global
C	36,0	20,4	74,6	68,8
D	58,0	19,1	85,0	67,5

A diferencia de lo ocurrido en la primera etapa del pretratamiento, en la que la recuperación de polisacáridos fue mayor para el proceso A que en el B (Figura 6) durante la segunda etapa la recuperación tanto de hemicelulosas como de celulosa fue menor en el proceso C que en el proceso D (Tabla 9) (Ver anexo 7). Eso es consecuencia de que en la celulignina

procedente del proceso A quedaban más polisacáridos que no habían sido solubilizados en la primera etapa. Sin embargo, resulta interesante que la recuperación global de hemicelulosas (19,1-20,4%) y de celulosa (67,5-68,8%) fue comparable para ambos procesos, y resultó apenas ligeramente superior para el proceso, en el que la concentración de ácido sulfúrico en la primera etapa fue 0,5%.

Conclusiones

La caracterización de la materia prima reveló que los carbohidratos estructurales y la lignina representan, respectivamente, el 67,8 y el 17,8% del peso seco de los tallos de yuca y se evidencia que es apropiado como materia prima para biorrefinerías lignocelulósicas.

En el pretratamiento ácido en autoclave el rendimiento de sólidos disminuyó con el incremento del tiempo de reacción debido a la solubilización de las hemicelulosas.

La solubilización de las hemicelulosas aumentó con el incremento del tiempo de pretratamiento y con la concentración de ácido sulfúrico. Ambas influencias inciden en la degradación parcial de los azúcares hemicelulósicos.

Los balances de masas demostraron que en el pretratamiento en dos etapas la mayor recuperación de celulosa en la celulignina se alcanza con la menor concentración de ácido sulfúrico en la primera etapa.

La recuperación global de polisacáridos (hemicelulosas (19,1-20,4%) y de celulosa (67,5-68,8%)) fue comparable para ambos procesos, y resultó ligeramente superior para el proceso en el que la concentración de ácido sulfúrico fue 0,5%.

Bibliografía

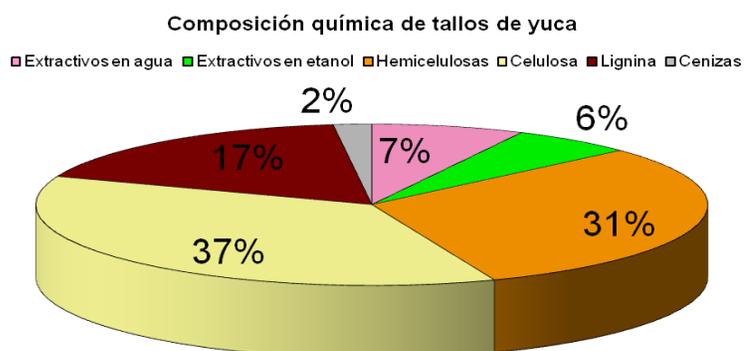
1. Balat, M., Balat, H. (2009) Recent trends in global production and utilization of bioethanol fuel. *Applied Energy* **86**, 2273-2282
2. Cappa, M.; Díaz, A. (2007). Hacia las biorrefinerías. Disponible en: biotec1@inti.gov.ar
3. Carrasco. J. (2002) La biomasa como fuente de energía y productos para la agricultura y la industria. Ministerio de Industria y Energía. **1-50**
4. Cheng, S., Zu, S. (2008) Use of lignocellulosic materials for a sustainable chemical industry. *BioResources* **3**, 295-296.
5. Choi, G., Han, M., Kim, Y., Kim, Y., Chung, B. (2009) Dilute Acid Pretreatment, Enzymatic Hydrolysis and Fermentation Process for Bioethanol Production from Cassava Stem. A review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. **1-28**.
6. Departamento de Ingeniería Agrónoma. (2009) “La yuca, una fuente de alimentación”. Disponible en: <http://www.infoagro.com/hortalizas/yuca.htm>
7. Departamento de Ingeniería Agrónoma. (2009) “La yuca, una fuente de alimentación”. Disponible en: <http://www.apades.org/cultivos/yuca.htm>
8. FAOSTAT (2014) Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Consultado el 7 de junio de 2014.
9. Fernando, S., Adhikari, S., Chandrapal, C., Murali, N. (2006) Biorefineries: current status, challenges, and future direction. *Energy & Fuels*, **20**, 1727-1737.
10. Gámez, S., González, J.J., Ramírez, J.A., Garrote, G., Vázquez, M. (2006) Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid. *Journal of Food Engineering* **74**, 78-88.
11. Irmene, O. Adela. 2008. “Pretratamiento de la biomasa lignocelulósica para la producción de biocombustibles: Aspectos Técnicos y Económicos”. México D.F.
12. Lavarack, B.P., Griffin, G.J. (2002) The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products. *Biomass and Bioenergy* **23**, 367-380.
13. Liscano Martínez, Yamil (2014). Producción de bioetanol a partir de tallos de yuca. Medellín. Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de: Magister en Ciencias – Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia.

14. López Hervis, Yoney, (2013). Propuesta del caso base en un proceso de sacarificación de cáscara de arroz para la producción de etanol. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias. Universidad de Matanzas, Sede Camilo Cienfuegos, Matanzas, Cuba.
15. Martín, C. 2002. “Estudio de la inhibición de la fermentación de hidrolizados de bagazo de caña de azúcar para la producción de etanol”. p. 149.
16. Martín, C., Galbe, M., Nilvebrant, N.-O., Jönsson, L.J. (2002) Comparison of the fermentability of enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse pretreated by steam explosion using different impregnating agents. *Appl. Biochem. Biotech.* **98/100**, 699-716.
17. Martín, C., López, Y., Plasencia, Y., Hernández, E. (2006b) Characterisation of agricultural and agro-industrial residues as raw materials for ethanol production. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* **20**, 443-446.
18. Martín, C., Carrillo, E., Torres, M., García, L., Marcet, M., Thomsen, A.B. (2006a) Determination of the chemical composition of tropical cellulosic materials using the detergent sequential system. *Cellulose Chemistry and Technology* **40**, 399-403.
19. Martín, C., Alriksson, B., Nilvebrant, N.-O., Sjöde, A., Jonson, L.J. (2007) Dilute-sulfuric acid pretreatment of agricultural and agro-industrial residues for ethanol production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. **136/140**, 339-352.
20. Martín, C., Thomsen, A.B. (2007) Wet oxidation pretreatment of lignocellulosic residues of sugarcane, rice, cassava and peanuts for ethanol production. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **82** (2), 174-181.
21. Martín, C., Marcet, M., Thomsen, A.B. (2008) Comparison of wet oxidation and steam explosion as pretreatment methods for bioethanol production from sugarcane bagasse. *BioResources* **3**, 670-683.
22. Menon, V. & Rao, M. (2012). Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals. *Progress in Energy and Combustion Science*. 38(4): 522-550
23. Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y., Holtzapple, M., Ladisch, M. (2005) Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* **96**, 673-686.
24. Nuwamanya, E, Linley Chiwona-Karlton S. Kawuki ,Robert, Yona Baguma. (2012). Bio-Ethanol Production from Non-Food Parts of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *AMBIO* 2012, 41:262–270

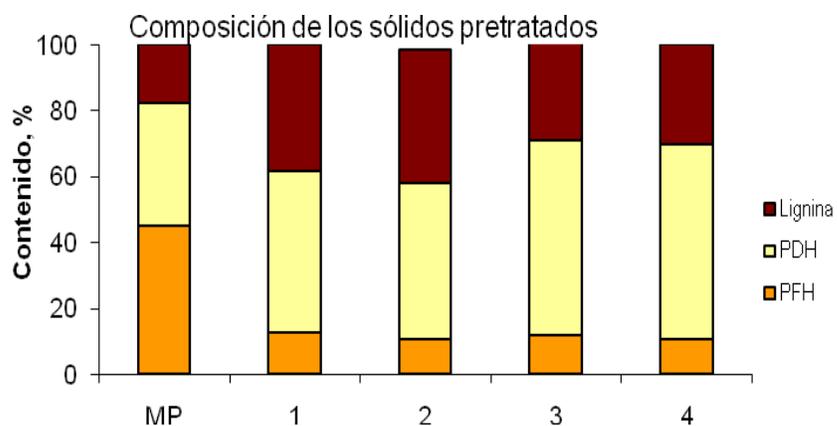
25. Oseih, M.K., Taah, K.J. (2009) A survey of cassava planting materials. *Journal of Agronomy*, 1-4.
26. Pattron, D.D. (2008) Non-food uses of Cassava. GoArticles.com. Disponible en <http://goarticles.com/article/Non-food-uses-of-Cassava/772381/>
27. Rocha, G.J.M., Martín, C., Soares, I.B., Souto-Maior, A.M., Baudel, H., Abreu, C.A.M. (2011) Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production. *Biomass and Bioenergy* **35**, 663-670.
28. Rodríguez-Chong, A., Ramírez, J.A., Garrote, G., Vázquez, M. (2004) Hydrolysis of sugar cane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. *Journal of Food Engineering* **61**, 143-152.
29. Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., Crocker, D., (2008) Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP). Technical Report NREL/TP-510-42618. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado.
30. Taherzadeh M.J., Karimi K. (2008) Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocelulosic materials: A review. *BioResources* **2**, 707-738.
31. Zeng, M., Mosier, N.S., Huang, C.P., Sherman, D.M., Ladisch, M.R. (2007) Microscope examination of changes of plant cell structure in corn stover do to hot water pretreatment and enzymatic hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering*, **97**, 265-278.

Anexos

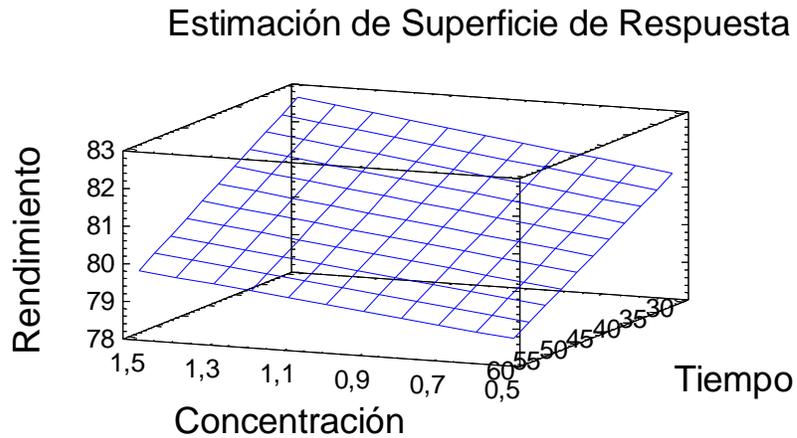
Anexo 1 Composición química de los tallos de yuca



Anexo 2 Composición de la celulignina



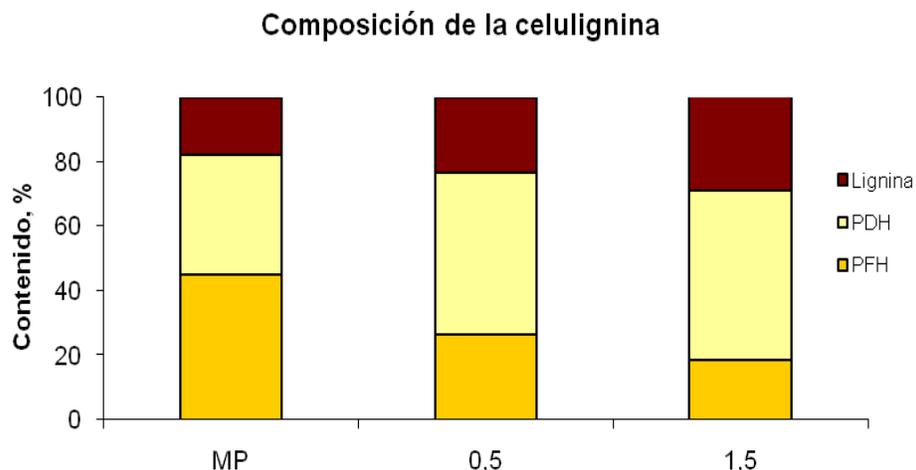
Anexo 3. Estimación de superficie de respuesta para el rendimiento de sólidos obtenido en autoclave



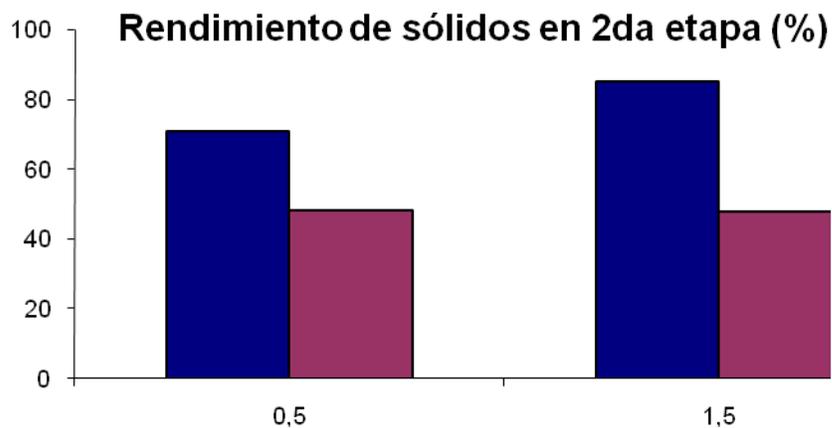
Anexo 4. Rendimiento de sólidos en la primera etapa de hidrólisis ácida.



Anexo 5. Composición química de la celulignina obtenida en la primera etapa en el reactor.

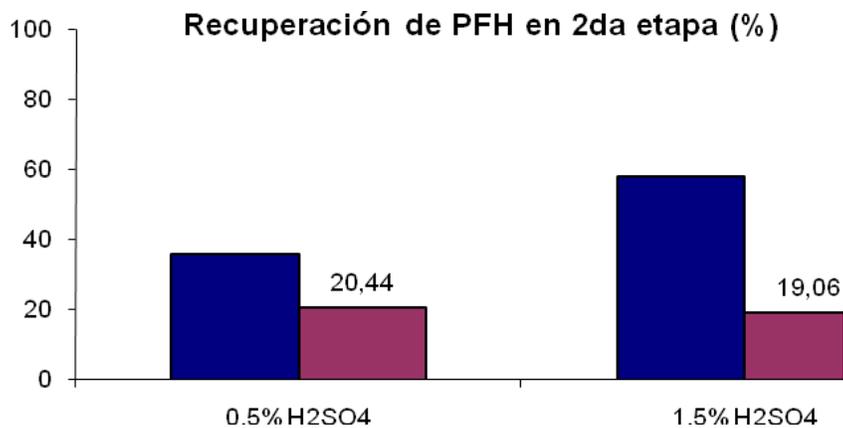


Anexo 6. Rendimiento de sólidos en la segunda etapa y global.



Anexo 7. Recuperación de hemicelulosas (1) y celulosa (2) en la segunda etapa del reactor.

1.



2.

