



Universidad de Valladolid



ESCUELA DE INGENIERÍAS  
INDUSTRIALES

Máster en Ingeniería Industrial

# **MASTER EN INGENIERÍA INDUSTRIAL**

**ESCUELA DE INGENIERÍAS INDUSTRIALES  
UNIVERSIDAD DE VALLADOLID**

## **TRABAJO FIN DE MÁSTER**

### **OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE PAJA DE TRIGO: ESTUDIO EXPERIMENTAL Y ESCALADO A PLANTA PILOTO**

Autor: Jiménez Arenas, Beatriz  
Tutor: Lucas Yagüe, Susana  
Coca Sanz, Mónica

Valladolid, Septiembre, 2017





Universidad de Valladolid



ESCUELA DE INGENIERÍAS  
INDUSTRIALES

Máster en Ingeniería Industrial

# **MASTER EN INGENIERÍA INDUSTRIAL**

**ESCUELA DE INGENIERÍAS INDUSTRIALES  
UNIVERSIDAD DE VALLADOLID**

## **TRABAJO FIN DE MÁSTER**

### **OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE PAJA DE TRIGO: ESTUDIO EXPERIMENTAL Y ESCALADO A PLANTA PILOTO**

Tutor: Jiménez Arenas, Beatriz  
Tutor: Lucas Yagüe, Susana  
Coca Sanz, Mónica

Valladolid, Septiembre, 2017



## Resumen

El desarrollo de este TFM tiene como fin el estudio de la obtención de bioetanol a partir de paja de trigo con una doble componente experimental y teórica. El proceso está formado por diferentes etapas: pretratamiento mediante extrusión-ozono, hidrólisis enzimática y fermentación con *Pichia stipitis*.

La parte experimental aborda la optimización de la carga de sólidos utilizada durante el proceso de hidrólisis enzimática. Se realizan ensayos al 10% y al 12 % w/w y aunque en la etapa de hidrólisis se obtienen mayores concentraciones de azúcares para el 12%, llegando a 36,22 g/L frente a 20,07 g/L obtenidos en los ensayos del 10%, estos azúcares no son utilizados de forma eficiente en la etapa de fermentación con un rendimiento del 32% sobre el teórico. Por ello se selecciona como mejor opción para el escalado de la planta piloto una carga del 10% de sólidos puesto que el rendimiento de fermentación es del 94% sobre el teórico.

En la parte teórica se realiza el escalado a una planta piloto de 12 kg/h de paja de trigo, diseñando los equipos que forman el proceso y realizando un estudio de viabilidad económica. Los equipos principales del proceso son los reactores de lecho fijo de ozonólisis y de tanque agitado de la hidrólisis enzimática y de fermentación. La planta posee dos reactores de ozonólisis con un lecho fijo formado por paja de trigo que ocupa un total de 90 dm<sup>3</sup>, el flujo de aire que entra por la parte inferior es de 36,3 kg/h con un 2,7% w/w de ozono. Los dos reactores de hidrólisis tienen un volumen total de 3,43 m<sup>3</sup> cada uno y un sistema de agitación formado por dos turbinas de cuatro palas inclinadas. Por su parte, cada reactor de fermentación tiene un volumen de 11 m<sup>3</sup> y cuatro turbinas tipo Rusthon.

El estudio económico concluye que la inversión total de la planta piloto son 850.571 €, siendo viable económicamente en el caso de recibir una subvención anual del 35% sobre el coste total o en el caso de que se realicen modificaciones técnicas y operacionales en el proceso, buscando alternativas al proceso de sacarificación mediante hidrólisis enzimática y un aumentando la producción anual de etanol.

## Palabras Clave

Biomasa lignocelulósica, bioetanol 2G, hidrólisis enzimática, fermentación, reactor de mezcla completa.

## Abstract

The development of this TFM is aimed at the study of the production of bioethanol from wheat straw with a double experimental and theoretical component. The process is composed of different stages: pre-treatment through extrusion-ozone, enzymatic hydrolysis and fermentation with *Pichia stipitis*.

The experimental part has a purpose the optimization of the solids loading used during the enzymatic hydrolysis process. Essays are carried out at 10% and 12% w/w and although in the hydrolysis stage higher concentrations of sugars are obtained with 12% loads, reaching 36.22 g/L compared to 20.07 g / L obtained in the essay of 10%, these sugars are not used efficiently in the fermentation step with a theoretical yield of 32%. For this reason, is selected a 10% solids load as the best option for the scaling of the pilot plant, since the theorial efficiency of fermentation is 94%.

In the theoretical part, a pilot plant of 12 kg/h of wheat straw is scaled, designing the equipment of the process and carrying out an economic feasibility study. The main equipment of the process is the fixed-bed reactors of ozonolysis and the stirred tanks of enzymatic hydrolysis and fermentation. The plant has two ozonolysis reactors with a fixed bed of wheat straw that occupies a total of 90 dm<sup>3</sup>, the air flow that entering from the bottom is 36.3 kg/h with 2.7% w/w of ozone. The two hydrolysis reactors have a total volume of 3.43 m<sup>3</sup> each and a stirring system formed by two turbines with four inclined blades. Each fermentation reactor has a volume of 11 m<sup>3</sup> and four Rusthon turbines.

The economic study concludes that the total investment of the pilot plant is 850,571 €, being economically viable in the case of receiving an annual subsidy of 35% on the total cost or in the case of technical and operational modifications in the process, searching alternatives to the saccharification process through enzymatic hydrolysis and increasing annual ethanol production.

## KEYWORDS

Lignocellulosic biomass, 2G bioetanol, enzymatic hydrolysis, fermentation, complete mixing reactor.

# AGRADECIMIENTOS

Como todo, quiero dedicar este trabajo a mi madre y a mi hermano, porque sois dos de las personas más importantes para mí y siempre estáis ahí cuando os necesito, apoyándome y ayudándome.

A Esteban, la otra personita importante de mi vida, por su ayuda en la realización del trabajo, por sus constantes ánimos y muestras de cariño y por aguantar mis peores momentos de nervios y agobio. Gracias por todo mi niño.

A mi princesa, porque no te imaginas lo que he echado de menos tu compañía durante la realización de este proyecto. Y por supuesto a Lolita, porque con nuestros paseos por el parque me has hecho más ameno este verano.

A mi padre, porque ojala pudieses ver donde estoy ahora, te echo de menos.

A Susana por haber hecho posible este trabajo y especialmente a Mónica, por sus consejos y por su ayuda a la hora de la realización del trabajo.

Y por último también dar las gracias a Rosa y a Justo por su continua preocupación por mi y por mi bienestar.





# ÍNDICE

1.	ANTECEDENTES .....	1
2.	OBJETIVO .....	5
3.	ESTADO DEL ARTE.....	7
3.1.	Biomasa Lignocelulósica.....	7
3.1.1.	Celulosa .....	7
3.1.2.	Hemicelulosa.....	8
3.1.3.	Lignina .....	9
3.2.	ALTERNATIVAS PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL.....	10
3.1.1.	Pretratamiento.....	10
3.1.2.	Detoxificación.....	13
3.2.3.	Hidrólisis Enzimática .....	15
3.2.4.	Fermentación .....	16
4.	ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE PAJA DE TRIGO.....	19
4.1.	Materiales Y Métodos .....	19
4.1.1.	Materia Prima.....	19
4.1.2.	Pretratamiento De La Paja De Trigo .....	19
4.1.3.	Detoxificación.....	20
4.1.4.	Hidrólisis Enzimática .....	21
4.1.5.	Fermentación .....	22
4.1.6.	Métodos Analíticos.....	23
4.2.	Resultados Y Discusión De Los Resultados .....	25
4.2.1.	Pretratamiento De Paja De Trigo .....	25
4.2.2.	Detoxificación.....	25
4.2.3.	Hidrólisis Enzimática .....	26
4.2.4.	Fermentación De Hidrolizados De Paja Trigo .....	26
5.	INGENIERÍA BÁSICA .....	29
5.1.	Bases De Diseño .....	29
5.1.1.	Ubicación .....	29
5.1.2.	Capacidad De La Planta .....	30
5.1.3.	Condiciones De Operación .....	31
5.1.4.	Material De Construcción .....	32
5.2.	Alternativas De Diseño.....	33
5.2.1.	Ozonólisis .....	33
5.2.2.	Detoxificación.....	33
5.2.3.	Hidrólisis Enzimática .....	35
5.2.4.	Fermentación .....	36

5.3.	Descripción General Del Proceso .....	37
5.4.	Diagrama De Flujo .....	39
5.5.	Balances De Materia .....	39
5.6.	Equipos .....	46
5.6.1.	Lista De Equipos .....	46
5.6.2.	Dimensionado De Equipos .....	47
5.6.3.	Hojas De Especificación De Equipos .....	73
6.	EVALUACIÓN ECONÓMICA .....	81
6.1.	Análisis De Sensibilidad .....	84
6.1.1.	Efecto De Las Materias Primas .....	84
6.1.2.	Efecto De La Producción .....	85
6.1.3.	Efecto Cambio De Estrategia De Sacarificación .....	85
7.	CONCLUSIONES .....	87
8.	BIBLIOGRAFÍA .....	89





# 1. ANTECEDENTES

En la actualidad existe una fuerte dependencia de los combustibles fósiles, aproximadamente el 80% de la energía primaria del mundo se obtiene a través de los mismos. Esta dependencia es muy notable en el sector transporte que consume un 30% de toda la energía utilizada en el mundo. En la Unión Europea esta cifra aumenta hasta el 32% y en España hasta el 39% [1]. En el año 2016 se han consumido diariamente 96,64 millones de barriles de petróleo en todo el mundo y las estimaciones indican que esta cifra aumentará hasta llegar a los 112 millones de barriles diarios en 2020 [2].

Debido al aumento de población mundial y al aumento de industrialización de algunos países la demanda energética global se incrementa gradualmente y este escenario convive con una pérdida de la capacidad productiva petrolera mundial, donde el suministro futuro de petróleo depende de nuevos yacimientos, siempre de pequeño tamaño y de la mejora en las tecnologías de extracción de los grandes pozos ya existentes, en su mayoría descubiertos en la década de los 70 [1].

Basar nuestra movilidad en una fuente energética cuyo futuro está seriamente comprometido no es el único problema relacionado con el petróleo. Los combustibles fósiles son un recurso distribuido en el planeta de manera desigual. La Unión Europea depende de terceros para la obtención de combustibles fósiles, dependencia que además ha ido aumentando con el paso de los años, en 1990, el 53% del gas, petróleo y carbón que consumieron se importó, porcentaje que en 2015 ha alcanzado el 73%. En España estos porcentajes varían desde un 81% en 1990 hasta un 98% en 2015, esto supone que prácticamente todos los combustibles fósiles que se consumen en España tienen que conseguirse fuera del país [3, 4].

En las últimas décadas, el excesivo consumo de combustibles fósiles, sobre todo en áreas urbanas, ha tenido como consecuencia el incremento en las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) a la atmósfera [5]. La quema de combustibles líquidos para el transporte es responsable de aproximadamente el 30% de las emisiones de CO<sub>2</sub> en los países industrializados [6].

La mayor demanda de energía junto con la disminución de las reservas y el encarecimiento de los precios del petróleo, la dependencia energética de terceros y la preocupación por el medio ambiente debido a la contaminación de los medios urbanos y al progresivo calentamiento del planeta son los aspectos que justifican los esfuerzos llevados a cabo en la búsqueda de fuentes alternativas. En este sentido la Unión Europea ha propuesto un paquete integrado de medidas sobre cambio climático y energía que prevé nuevos y ambiciosos objetivos para 2020, entre los que se encuentra reducir las emisiones de gases de efecto invernadero en un 20% con respecto a 1990, promover el uso de energías renovables hasta el 20% y ahorrar el 20% del consumo de energía mediante una mayor eficiencia energética, además, en cada país el 10% de las necesidades del transporte deberán cubrirse mediante biocombustibles, que son aquellos combustibles de origen biológico que se obtienen a través del tratamiento de desechos orgánicos o plantas [7].

Los biocombustibles provienen de fuentes de energía renovable, como productos agrícolas, contribuyendo a disminuir la dependencia energética y ayuda a la diversificación de fuentes de energía. Las energías renovables no se agotan, no generan residuos de difícil tratamiento y reducen las emisiones de gases de efecto invernadero [8].

Los biocombustibles para el sector transporte tienen generalmente un balance energético positivo, ya que la cantidad de energía contenida en el producto es superior a la requerida para su producción y distribución [9].

Desde el punto de vista medioambiental los biocombustibles tienen numerosas ventajas, emiten, en principio, menos CO<sub>2</sub> porque están producidos por un ciclo de carbono a corto plazo y su combustión sólo devuelve a la atmósfera el CO<sub>2</sub> que la planta ha fijado para su crecimiento, de este modo el

balance de emisiones es casi neutro [6]. Aunque habría que tener en cuenta las emisiones producidas por la maquinaria agrícola necesaria para obtener la materia prima, el consumo energético de las plantas de procesado y el transporte de materias primas y productos, la reducción de emisiones es significativa [1]. Estudios del Análisis del Ciclo de Vida (ACV) consideran una reducción de emisiones de entre el 30% y el 50% con respecto a los combustibles fósiles [10].

Además la biomasa presenta beneficios añadidos ya que permite un cierto grado de almacenamiento, constituye una alternativa realista para la sustitución de los combustibles fósiles en el sector transporte a corto y medio plazo, favorece el mantenimiento y desarrollo del sector agrícola y forestal y genera beneficios adicionales en el caso de valorización energética de residuos [8].

Actualmente los biocombustibles líquidos más usados son: bioetanol y biodiesel. De acuerdo a los datos de la Agencia Internacional de la Energía (AIE), los biocarburantes cubrieron en 2016 el 4% de la oferta mundial de petróleo. El biodiesel se obtiene principalmente de plantas oleaginosas, aceites usados y grasas animales y se utiliza en los motores de compresión en forma de mezcla hasta el 5% con gasóleo o en su forma más pura en motores adaptados [11].

El bioetanol es un combustible líquido similar a la gasolina que se obtienen como producto de la fermentación de materias vegetales ricas en azúcares o almidón o de biomasa lignocelulósica. El bioetanol puede usarse como biocombustible puro o con mezclas de etanol del 85% en motores modificados, mezclado con gasolina en concentraciones del 5%, 10% y 15%, denominadas E5, E10 y E15, respectivamente, en motores sin modificación o también puede emplearse como un aditivo de la gasolina en forma de ETBE (Etil Ter-Butil Éter) o del gasóleo para facilitar la combustión y reducir la emisión de gases contaminantes en motores diésel [11]. El bioetanol es el biocombustible más utilizado mundialmente en el sector transporte y sus principales mercados son el norteamericano y el brasileño [12, 7].

En la actualidad, el cultivo azucarado más ampliamente utilizado para la obtención de bioetanol es la caña de azúcar o remolacha azucarera [13] y en cuanto a los cultivos amiláceos, la mayor parte proviene del maíz y en menores cantidades de otros productos como granos de cereal (trigo, centeno, cebada o sorgo) o tubérculos de patata [1]. El bioetanol obtenido a través de estos cultivos es el denominado bioetanol de primera generación (1G). Sin embargo, a pesar de ser una fuente renovable, limpia y reducir las emisiones, la competencia con productos básicos del mercado alimentario que provoca un aumento de su precio, las consecuencias a largo plazo de la utilización de estos productos agrícolas, el impacto sobre los productos hídricos y la biodiversidad son algunos de los inconvenientes para la expansión de la producción de biocombustibles de primera generación [6, 14].

Por otro lado, los biocombustibles de segunda generación (2G), se presentan como una opción prometedora para la sustitución de los combustibles convencionales. Los biocombustibles de segunda generación (2G) se producen a partir de biomasa lignocelulósica, uno de los recursos más abundantes y baratos del planeta pudiendo conseguir un precio competitivo y obteniéndose de una manera más sostenible, utilizando materias primas no alimentarias, superando así uno de los mayores obstáculos en la producción de biocombustibles sostenibles [6, 11].

En la Figura 1.1 se hace referencia a las previsiones de consumo de biocombustibles hasta 2020, según el Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía (IDEA), se prevé que el consumo de etanol prácticamente se duplique desde el 2011 hasta el 2020 [7].

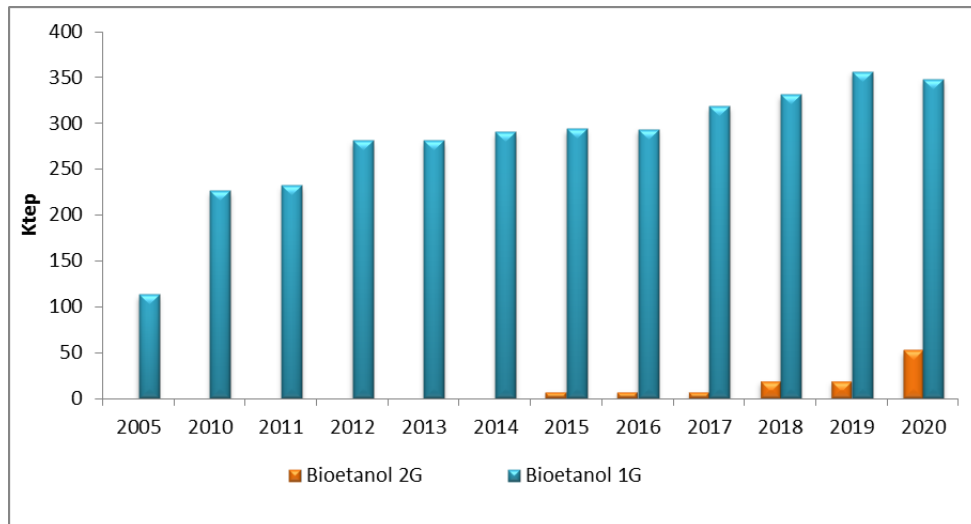


Figura 1.1. Objetivos del Plan de Energías Renovables 2011-2020 en el sector transporte.

En España actualmente existen tres plantas productoras de bioetanol a partir de cereales y alcoholes vinílicos con una capacidad total instalada de 395 kT/año repartidas de la siguiente manera: Ecocarburantes Españoles, en Murcia, con una capacidad de producción de etanol de 100 kT/año; Bioetanol Galicia con una capacidad instalada de 120 kT/año y Biocarburantes de Castilla y León en Salamanca, con una capacidad de 175 kT/año [1]. Además de una planta demostración de Biomasa en Biocarburantes Castilla y León, la primera planta de demostración a escala comercial en el mundo que produce etanol a partir de biomasa, (residuos agrícolas, residuos de madera, y los potenciales cultivos energéticos como "switchgrass" y álamo) mediante la tecnología de hidrólisis enzimática alcanzando una producción de 5 ML/año [15].





## 2. OBJETIVO

El **objetivo global** de este TFM es estudiar el proceso de producción de bioetanol de segunda generación a partir de la sacarificación y fermentación con *P. stipitis* de paja de trigo previamente pretratada mediante extrusión y oxidación química con ozono.

Para alcanzar este objetivo global se han establecido dos **objetivos parciales**, siendo éstos:

1. Realizar un estudio experimental de la influencia que ejerce la carga de sólidos en las etapas de hidrólisis enzimática y fermentación. Comparar los rendimientos de liberación de azúcares fermentables tras la hidrólisis y los rendimientos de obtención de bioetanol tras la etapa de fermentación para cargas de paja pretratada del 10% y 12% en peso. La carga de sólidos que obtenga mejores resultados será la utilizada para el diseño de la planta piloto.
2. Diseñar una instalación a escala piloto capaz de procesar 12 kg/h de paja de trigo tomando como base los datos experimentales obtenidos a escala laboratorio. Se plantearán los diagramas de flujo de proceso, se resolverán los balances de materia y se abordará el dimensionado de los equipos más importantes de la instalación. Finalmente, se llevará a cabo, un estudio de la viabilidad económica de la planta piloto.



## 3. ESTADO DEL ARTE

### 3.1. BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

Debido a los numerosos problemas de sostenibilidad, medio ambiente, dependencia de terceros, etc., que giran en torno a los derivados del petróleo, surge el interés por la biomasa lignocelulósica como materia prima para la producción de etanol, ya que es una opción barata y abundante. Se considera que la biomasa lignocelulósica comprende cerca del 50% de la biomasa existente en el mundo y se estima que su producción anual mundial se encuentra entre 10-50 millones de toneladas [13].

La biomasa lignocelulósica es una estructura rígida compuesta por tres componentes estructurales principales (celulosa, hemicelulosa y lignina) junto con otros componentes minoritarios que no forman parte de la pared celular como son los extractivos y las cenizas. La proporción en la que se encuentra cada uno de ellos varía en función de la especie de la que procedan.

En general, la estructura de la biomasa lignocelulósica es realmente compleja, como se muestra en la Figura 3.1. con enlaces covalentes entre la hemicelulosa y la lignina, fuerzas de Van der Waals entre la hemicelulosa y la celulosa y puentes de hidrógeno entre las moléculas de la celulosa, lo que la convierte en una estructura altamente resistente al ataque enzimático [16].

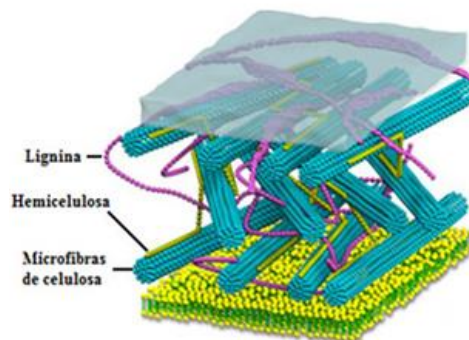


Figura 3.1. Estructura de la biomasa lignocelulósica [17]

La celulosa y la hemicelulosa son polisacáridos de alto peso molecular, la celulosa supone un 34-50% y la hemicelulosa un 15-34% del peso total del material. La lignina es un polímero no polisacárido tridimensional que representa entre el 11-29% del total [18].

Entre los componentes minoritarios que no forman parte de la pared celular, se encuentran: diferentes grasas, terpenos, alcaloides, proteínas, fenoles, pectinas, gomas, resinas, etc., cuyas proporciones dentro del mismo material varían en función de la edad, estado de crecimiento u otros factores, llegando a alcanzar entre el 4-10% del peso seco del material. Las cenizas presentes en la biomasa contienen principalmente compuestos inorgánicos como: Ca, K, Mg [19].

#### 3.1.1. CELULOSA

La celulosa es la macromolécula más abundante de Tierra. Se sintetiza en la naturaleza como moléculas individuales de D-glucosa, que se van ensamblando en el mismo lugar donde se producen, mediante enlaces  $\beta$ -1,4-O-glucosídicos, dando lugar a largas cadenas poliméricas de peso molecular variable, cuya fórmula empírica es  $(C_6H_{10}O_5)_n$  con un valor mínimo de  $n=200$ . [8, 20]. La Figura 3.2 muestra la estructura molecular de la celulosa a partir de la unión de unidades de  $\beta$ -glucosa.

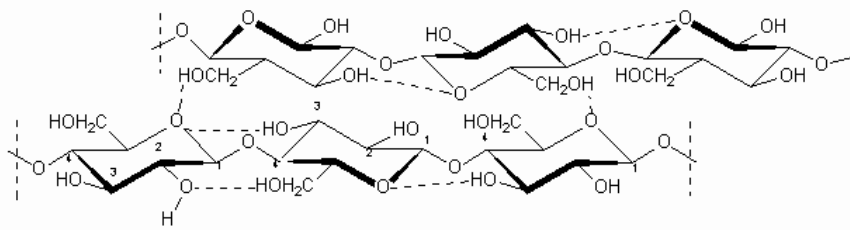


Figura 3.2. Estructura molecular de la celulosa [21]

Estas largas cadenas poliméricas se denominan protofibrillas que a su vez se empaquetan en unidades mayores denominadas microfibrillas, como se muestra en la Figura 3.3. Se origina una estructura semicristalina estabilizada lateralmente por puentes de hidrógeno entre grupos hidroxilo intra e intermoleculares. Las regiones cristalinas aportan resistencia a la celulosa, mientras que las regiones amorfas aportan elasticidad [22]. Cuanto más ordenada y cristalina es la celulosa es menos soluble y más difícil de degradar [23].

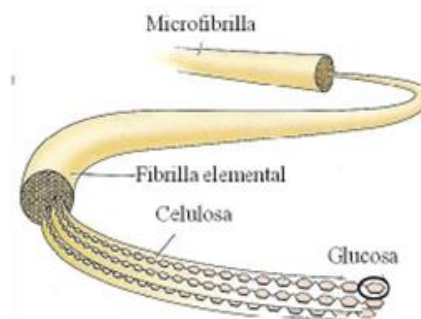


Figura 3.3. Estructura de una microfibrilla de celulosa [22]

La estructura molecular de la celulosa, las estructuras de las protofibrillas y microfibrillas, las diferencias en el grado de polimerización y el peso molecular son aspectos muy importantes que condicionan la posterior hidrólisis de la celulosa.

### 3.1.2. HEMICELULOSA

El segundo polímero más abundante de la Tierra y se encuentra junto con la celulosa formando las paredes celulares de las plantas y su función principal es proporcionar la unión entre la celulosa y la lignina [11, 24].

Es un heteropolímero formado por monosacáridos unidos mediante enlaces  $\beta$ -1,4-O-glucosídico [20]. En las hemicelulosas podemos encontrar diferentes tipos de azúcares tales como pentosas (D-xilosa y L-arabinosa), hexosas (D-glucosa, D-manosa y D-galactosa), desoxihexosas (L-ramnosa y L-frucosa), además de ácidos urónicos (D-glucurónico, D-galacturónico y 4-O-metilglucurónico) [11].

La composición y la estructura de la hemicelulosa varía en función del tipo de biomasa del que proceden, siendo el xilano el polímero más abundante en las maderas duras y residuos agrícolas y el galactoglucomanano en las maderas blandas [19, 25].

En el caso concreto de la paja de trigo, los xilanos son dominantes en la fracción hemicelulósica, dichos xilanos contienen una cadena principal formada por residuos de D-xilopiranosos unidos por enlaces  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4). Los xilanos más abundantes son los arabinoxilanos, principalmente unidades de  $\alpha$ -L-arabinofuranosa, distribuidas al azar unidas mediante enlaces  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) y pudiendo estar sustituidos por unidades de galactosa, ácido glucurónico o ácido 4-O-metilglucurónico. [24, 26, 27].

En la Figura 3.4 se muestra a estructura típica de la hemicelulosa de la paja de trigo.

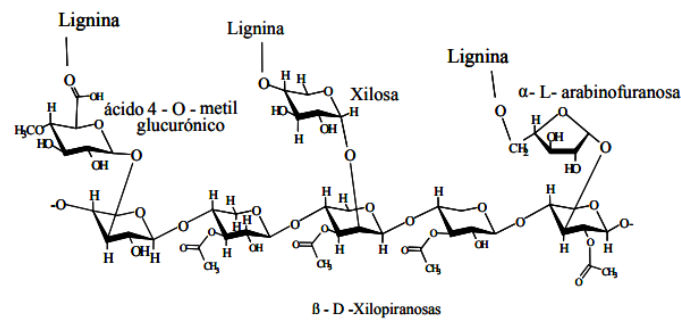


Figura 3.4. Estructura típica de la hemicelulosa de la paja de trigo [8]

Las cadenas de hemicelulosas poseen menor grado de polimerización que las de celulosa, por tanto, menor peso molecular, además son cadenas amorfas y sus puentes de hidrógeno son menos eficaces que los de las cadenas de celulosa, lo que la convierte en una estructura más fácil de hidrolizar [28, 20].

### 3.1.3. LIGNINA

La lignina es el tercer componente principal de la estructura lignocelulósica. Es un heteropolímero tridimensional y amorfo formado por la condensación de precursores fenólicos como el alcohol *p*-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico, que se unen dando lugar a tres unidades básicas que forman la lignina, *p*-hidroxifenilo (H), guayacilo (G) y siringilo (S), que se encadenan formando grandes estructuras muy ramificadas con gran facilidad para reaccionar y unirse químicamente con moléculas próximas [29, 20].

La proporción de las unidades fenólicas en la lignina también varía en función del tipo de material [28]. En el caso concreto de la paja de trigo, la lignina contiene unidades H, G y S en unas proporciones aproximadas de 5%, 49% y 46% respectivamente [30]. La Figura 3.5 muestra la estructura aproximada de la paja de trigo.

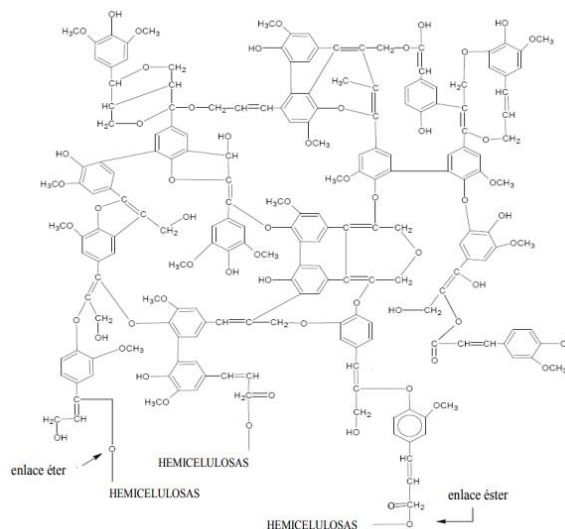


Figura 3.5. Estructura aproximada de la lignina en la paja de trigo [8]

La lignina forma una barrera impermeable que confiere rigidez y protección a los polisacáridos estructurales, lo que afecta negativamente al proceso de hidrólisis, ya que dificulta considerablemente

el ataque enzimático. Por ello se ha estudiado diferentes métodos químicos y físicos de deslignificación como paso previo a la hidrólisis enzimática, con el fin de aumentar los rendimientos de liberación de azúcares de la misma [31, 32, 33].

## 3.2. ALTERNATIVAS PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL

Los procesos de conversión de biomasa lignocelulósica en etanol se pueden dividir en dos grandes grupos: procesos en una etapa (SFS), en los cuales la hidrólisis enzimática y la fermentación se realizan en el mismo reactor y procesos en dos etapas (HFS), en los cuales la hidrólisis y la fermentación se realizan por separado. Las principales ventajas de los procesos en una etapa son que se reduce la inhibición por sustrato, ya que la presencia de microorganismos fermentadores reduce la acumulación de azúcares en el reactor y que al realizarse las dos etapas en el mismo reactor se reducen los costes de inversión y el tiempo total del proceso. Por el contrario al realizar el proceso en dos etapas nos aseguramos que ambos procesos se puedan llevar a cabo en las condiciones óptimas de pH y temperatura para enzimas y microorganismos logrando mejores rendimientos para cada etapa y para el proceso global [8]. En el presente trabajo, tanto experimentalmente, como para el diseño de la planta piloto, se ha seleccionado la obtención de etanol en dos etapas para poder realizar tanto hidrólisis como fermentación en sus condiciones óptimas de operación y por eso nos referiremos a este método de aquí en adelante.

### 3.1.1. PRETRATAMIENTO

El pretratamiento se considera la etapa más cara del proceso para convertir material lignocelulósico en etanol y se le atribuye hasta un 33% del coste total [34]. Sin embargo, los rendimientos obtenidos tras la hidrólisis enzimática de materiales lignocelulósicos de forma natural, sin pretratamiento previo, no superan el 20%, debido a la fuerte asociación existente entre la celulosa y la lignina, lo que supone una verdadera barrera física a la penetración enzimática. Por este motivo el pretratamiento es una etapa crucial cuyos objetivos fundamentales son: reducir la cristalinidad y el grado de polimerización de la celulosa, disociar el complejo celulosa-lignina, provocar la solubilización y/o redistribución de la lignina, aumentar el área superficial del material y disminuir la presencia de sustancias que dificultan la hidrólisis [35, 36, 37].

Un pretratamiento debe reunir las siguientes características [35, 38]:

- Mejorar la digestibilidad de la celulosa y la hemicelulosa en la hidrólisis enzimática
- Evitar la degradación o pérdida de carbohidratos
- Evitar la formación de subproductos inhibidores de las etapas de posteriores de hidrólisis enzimática y fermentación
- Producir una lignina que sea recuperable para otros usos o subproductos
- Proceso simple
- Ser efectivo en condiciones de alta carga de sólidos
- Bajo consumo energético
- Bajo coste de inversión
- Utilización de reactivos baratos y fácilmente recuperables
- Ser versátil en cuanto al tipo de materia prima
- Efectivo sin necesidad de una reducción drástica previa del tamaño de partículas
- Producción mínima de residuo sólido

Existen diferentes métodos de pretratamiento y ninguno de ellos se puede aplicar de forma genérica a las diferentes materias primas, de tal manera que para elegir el método más adecuado habría que hacer un estudio de cada caso particular [39]. Los pretratamientos pueden ser clasificados según su naturaleza en pretratamientos físicos, químicos, biológicos y físico-químicos [38].

## **MÉTODOS FÍSICOS**

Dentro de los pretratamientos físicos tenemos:

Trituración mecánica: la trituración de materiales lignocelulósicos mediante una combinación de astillado y molienda reduce la cristalinidad de la celulosa, aumenta la superficie específica y la densidad aparente del material, pero a pesar de ser un tratamiento sencillo tiene el inconveniente de su alto consumo energético que es función del tamaño final de partícula y del tipo de material a pretratar [35, 40].

Pirólisis: el pretratamiento consiste en la degradación de la celulosa en H<sub>2</sub>, CO y carbón residual tras someter a la materia a temperaturas mayores de 300°C. La efectividad de este tratamiento depende del tamaño de partícula y del tipo de biomasa a tratar [41].

Radiación de alta energía: con este pretratamiento se consiguen romper los enlaces entre la celulosa y la lignina, pero es un tratamiento de difícil aplicación técnica, con instalaciones muy complejas y de alto coste [35].

Extrusión: La extrusión es un pretratamiento termo-mecánico en el que el giro de uno o dos tornillos sin fin dentro de una carcasa ajustada a una temperatura controlada produce un fuerte rozamiento entre la biomasa, el filete del tornillo y las paredes del módulo, produciendo un aumento del área superficial y una mayor exposición de las fibras, lo que se traduce en un aumento en la recuperación de azúcares durante la hidrólisis [42, 43, 44]. La configuración del tornillo, la velocidad de giro (normalmente <150 rpm), y la temperatura (oscila entre 50°C y 180°C) son algunas de las variables que pueden afectar a la efectividad del proceso [45, 46].

Entre las ventajas de la extrusión respecto a otros tratamientos se encuentra la posibilidad de trabajar en continuo y la menor cantidad de productos inhibidores de enzimas y levaduras generados durante el proceso trabajando a temperaturas moderadas [46].

Se trata de un pretratamiento versátil que puede ser usado sólo o en combinación con otros métodos, como la extracción acuosa, con álcali, ácido u otros reactivos [46, 47, 48, 49, 50].

## **MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS**

Explosión por vapor: Ha sido el pretratamiento más ampliamente utilizado para la biomasa lignocelulósica, debido a su idoneidad para un amplio rango de materias primas, efectividad y bajo coste [51]. Este tratamiento consiste en someter el material a temperaturas entre 190-230°C mediante la inyección directa de vapor saturado, durante un intervalo de tiempo entre 1 y 10 minutos, transcurrido el cual se somete el material a una rápida despresurización, este efecto crea fuerzas de cizalladura capaces de producir la separación de fibras. Las altas temperaturas producen una autohidrólisis de los restos acetilos de las hemicelulosas provocando una despolimerización y rotura de enlaces [35]. La adición de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, SO<sub>2</sub> o CO<sub>2</sub> mejora la efectividad de este tratamiento. Aunque la explosión con vapor consume un 70% menos energía que los tratamientos mecánicos, su principal desventaja es la destrucción de una parte de los xilanos de las hemicelulosas, la incompleta rotura de la matriz lignina-carbohidratos, además de la formación de inhibidores de la fermentación [52].

Explosión por vapor con amoníaco (AFEX): Es una variante de la explosión por vapor, en la que el material es impregnado con amoníaco líquido a altas temperaturas, en torno a 90°C, durante un tiempo aproximado de 30 minutos y posteriormente se produce la descompresión rápida, provocando una rápida sacarificación del material lignocelulósico [35]. Este proceso no genera inhibidores de la fermentación, la composición final del material no difiere con la original, no requiere partículas de pequeño tamaño y existe la posibilidad de reciclar el amoníaco [36, 53]. La desventaja de este proceso son los bajos rendimientos obtenidos tras la hidrólisis en materiales con mayores contenidos de lignina [54].

Explosión de CO<sub>2</sub>: Es un tratamiento similar a la explosión por vapor y al método AFEX, con la ventaja respecto a la explosión por vapor de que no genera inhibidores y que es más barato que el método AFEX, sin embargo los rendimientos obtenidos son menores que con los tratamientos anteriores [55].

Agua caliente: Consiste en someter la biomasa a la acción de agua caliente, en torno a 220°C, durante un tiempo aproximado de 15 minutos. El coste de los equipos es más bajo que el de otros tratamientos, además no se generan productos tóxicos sin embargo, la hemicelulosa es eliminada en su totalidad durante el proceso [41, 56].

## **MÉTODOS BIOLÓGICOS**

En estos tratamientos el material es sometido a la acción de determinados microorganismos, concretamente hongos de podredumbre parda o blanca. Los hongos pardos atacan principalmente a la celulosa, mientras que los hongos blancos atacan a la celulosa y la lignina [35]. Estos pretratamientos son muy atractivos desde el punto de vista económico, ya que no precisan del uso de reactivos y tienen un gasto energético y de inversión menor que otros pretratamientos, ya que operan a presión y temperatura ambiente. Sin embargo, son métodos con una baja efectividad que conducen a bajos rendimientos de sacarificación, ocasionados por el consumo de celulosa y hemicelulosa en su metabolismo [46, 57].

## **MÉTODOS QUÍMICOS**

Hidrólisis ácida: la hidrólisis ácida busca disolver la fracción hemicelulósica de la biomasa para así hacer más accesible la celulosa, para ello utiliza ácidos concentrados o diluidos, como el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluido, el HCl, el H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y el HNO<sub>3</sub>, temperaturas entre 120°C y 180°C y tiempos de residencia de 15 a 90 minutos. Los ácidos utilizados son corrosivos y tóxicos, lo que implica un mayor gasto en equipos resistentes a la corrosión, además del gasto que supone la recuperación de reactivo tras el pretratamiento. Este proceso tiene la desventaja de formar inhibidores de las etapas posteriores, sobre todo si se trabaja con ácidos concentrados [58, 46].

Hidrólisis alcalina: Este método se basa en la saponificación de los enlaces de éster intermoleculares entre el xilano hemicelulósico y la lignina [38]. Los pretratamientos alcalinos más comunes se llevan a cabo poniendo en contacto el material con NaOH, KOH o Ca(OH)<sub>2</sub>, a una temperatura de entre 50°C y 120°C, a presión atmosférica y durante un período comprendido entre unos pocos minutos y varios días [46, 58]. Aunque si se compara con la hidrólisis ácida, la hidrólisis alcalina produce una menor degradación de azúcares. Se trata de un proceso con un coste elevado y su efectividad depende del contenido de lignina del material a tratar [35, 41].

Proceso con disolventes orgánicos (Organosolv): El objetivo de este tratamiento consiste en romper los enlaces internos entre la lignina y la hemicelulosa mediante el uso de solventes orgánicos o acuosos (metanol, etanol, acetona, etilenglicol o ácidos orgánicos) junto con un catalizador o ácido (ácido clorhídrico o sulfúrico). La temperatura de operación se encuentra entre los 140-200°C y el tiempo de



operación varía desde los 30 hasta los 60 minutos [59, 60]. Para que el proceso sea viable económicamente y no se produzca inhibición durante la fermentación los solventes y catalizadores se han de recuperar una vez finalizado el pretratamiento [35, 41].

Oxidación húmeda: El proceso consiste en someter al material lignocelulósico a la acción del agua en presencia de oxígeno o aire enriquecido con un catalizador, a temperaturas entre 170-200°C, presión de 10-12 bar, durante un tiempo de 10 a 15 minutos [56]. Este tratamiento tiene la ventaja de no generar prácticamente compuestos tóxicos de posteriores etapas del proceso, sin embargo es un proceso muy caro debido al alto coste del oxígeno y de los catalizadores [41, 61].

Ozonólisis: este tratamiento consiste en la adición controlada de ozono a presión y temperatura ambiente, siendo los parámetros a controlar durante el proceso el porcentaje de humedad de biomasa, que varía desde un 30% a un 95%, la concentración de ozono, que se sitúa entre un 0.6% w/w hasta un 6% w/w y el tiempo de residencia, que varía desde unos minutos hasta varias horas en función de la cantidad de material a tratar [62]. Este tratamiento ha sido utilizado con numerosos materiales como paja de trigo y centeno, bagazo, pino, algodón y serrín de chopo [63].

Resulta un pretratamiento muy prometedor, ya que el ozono es un potente oxidante y muy selectivo, de manera que la degradación se limita fundamentalmente a la lignina, la hemicelulosa es atacada ligeramente y la celulosa apenas se ve afectada [35]. El tratamiento con ozono mejora la digestibilidad enzimática de la biomasa debido a la eliminación de la lignina y la reducción del grado de polimerización [11].

Otra de las ventajas principales de este método es que produce una menor cantidad de compuestos potencialmente tóxicos comparado con otros pretratamientos, ya que el ozono ataca a la lignina liberando compuestos de bajo peso molecular, principalmente ácidos orgánicos como ácido acético y fórmico, además de ácido oxálico procedente de la reacción de compuestos fenólicos con el ozono [63].

El tratamiento con ozono es un proceso que opera a presión y temperatura ambiente, no requiere aditivos químicos y el ozono se genera in situ lo que evita problemas de almacenamiento del mismo [58].

La desventaja de este tratamiento es la gran cantidad de ozono que se emplea, que hace del mismo un método caro [35]. El ozono es un producto inflamable, corrosivo y tóxico, por lo tanto los materiales a usar durante el proceso deben ser capaces de ser resistentes a la corrosión (cerámica, cristal o acero inoxidable) y estar dotados de un sistema de refrigeración [58].

**Se selecciona para este trabajo un tratamiento combinado de extrusión seguido por una oxidación con ozono. Se considera que la extrusión es una opción adecuada para aumentar el área superficial del material, lo que favorecerá el contacto entre el ozono y la lignina en la siguiente etapa.**

**Puesto que el microorganismo utilizado durante la fermentación es bastante sensible a la concentración de tóxicos, se decide realizar como pretratamiento de la biomasa la oxidación con ozono, puesto que genera concentraciones menores de compuestos inhibidores que otros métodos y apenas afecta a la composición de celulosa y hemicelulosa.**

### 3.1.2.DETOXIFICACIÓN

Durante la etapa de pretratamiento se originan una serie de compuestos que pueden actuar como inhibidores potenciales de la fermentación. De acuerdo a su estructura química se pueden clasificar en furaldehídos, ácidos alifáticos y compuestos aromáticos.

- **Furaldehídos:** los principales furaldehídos generados son el furfural, formado a partir de la degradación de las pentosas (xilosa y arabinosa) y el 5-hidroximetilfurfural (HMF), formado como consecuencia de la degradación de las hexosas [35]. Producen daños sobre la membrana plasmática, reducción de la tasa específica de crecimiento de los microorganismos y disminución de la productividad de etanol [64, 65].
- **Ácidos alifáticos:** mayoritariamente se origina ácido acético, procedente de la hidrólisis de los restos acetilo de la hemicelulosa [35]. Los ácidos alifáticos producen un descenso del rendimiento de obtención de etanol y una disminución en la producción de biomasa [66, 67].
- **Compuestos aromáticos:** son compuestos fenólicos (ácidos, aldehídos y alcoholes aromáticos) procedentes de la degradación de la lignina siendo el 4-hidroxibenzaldehído, vanilina, siringaldehído, ácido vanílico y ácido siringico [68]. Estos compuestos originan daños sobre la membrana plasmática de las células de los microorganismos.

La naturaleza y concentración de estos compuestos depende del tipo de materia prima, del pretratamiento utilizado, de las condiciones del proceso y de la utilización o no de catalizadores ácidos [69]. Según datos de la bibliografía el ácido acético y el ácido oxálico son los principales inhibidores formados durante el pretratamiento con ozono de la paja de trigo [70].

Con el objeto de aumentar la fermentabilidad de los hidrolizados obtenidos tras el pretratamiento es necesario reducir la concentración o eliminar totalmente del medio los mencionados compuestos tóxicos generados durante el pretratamiento. Los métodos empleados se pueden agrupar en biológicos, químicos o físicos [35].

### **MÉTODOS BIOLÓGICOS**

Los métodos biológicos se basan en utilizar microorganismos o enzimas para metabolizar algunos de los compuestos tóxicos presentes en el medio. Uno de los microorganismos usados ha sido *Trichoderma reesei* con el que se ha conseguido eliminar ácido acético, furfural y ácido benzoico [71]. Como enzimas han sido utilizadas lacasas y peroxidasas procedentes de hongos ligninolíticos, que tras una oxidación enzimática han conseguido la eliminación del 80% de los compuestos fenólicos en hidrolizados de bagazo de caña pretratado con vapor [72].

### **MÉTODOS FÍSICOS**

La evaporación es un tratamiento que persigue la separación de las fracciones volátiles como el furfural, el ácido acético y el ácido fórmico. La mayor desventaja de este método es que no elimina los compuestos fenólicos, lo que se traduce en un aumento limitado de la fermentabilidad [73].

### **MÉTODOS QUÍMICOS**

Se han utilizado numerosos métodos químicos para conseguir aumentar la fermentabilidad de hidrolizados, los más empleados son los tratamientos con hidróxidos y utilización de resinas de intercambio iónico. El primero consiste en añadir hidróxido cálcico, sódico o magnésico al medio hasta alcanzar pH 10, lo que produce un precipitado que arrastra compuestos tóxicos como el furfural, el HMF o el ácido acético [74, 75]. Este precipitado debe ser eliminado antes de comenzar la fermentación. La adición de resinas de intercambio iónico a los hidrolizados consigue principalmente la eliminación de compuestos fenólicos, debido a los fuertes enlaces creados entre los grupos amonio de la resina (cargados positivamente) y los fenoles (cargados negativamente) [76]. Las resinas también afectan a la concentración de furanos y ácidos alifáticos, sin embargo, es un tratamiento caro y disminuye la concentración de azúcares [77].

Un método relativamente novedoso propuesto para la detoxificación de hidrolizados de lignocelulosa consiste en utilizar lignina residual producida durante el proceso como absorbente en una extracción en fase sólida aprovechando sus propiedades hidrofóbicas [78]. La ventaja de este proceso es principalmente económica frente a otros tratamientos que son más costosos.

Existen otros procedimientos de detoxificación como puede ser el lavado con agua del material o la adición de carbón activo, carbón vegetal o zeolitas a los hidrolizados lignocelulósicos [79, 80, 81].

Una alternativa a la eliminación de inhibidores de los hidrolizados es la adaptación paulatina de los microorganismos a dichos compuestos o la utilización de microorganismos modificados genéticamente, de tal forma que se cree un microorganismo altamente tolerante [82].

**El tratamiento de detoxificación seleccionado para este estudio ha sido el lavado del material lignocelulósico con agua, debido a su simplicidad y bajo coste, puesto que no utiliza reactivos químicos, no existen problemas de corrosión, por lo tanto no se necesitan equipos especiales anticorrosivos. Además el proceso se realiza a presión y temperatura ambiente.**

### 3.2.3. HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

La hidrólisis tiene objetivo la conversión de los polisacáridos de la biomasa en unidades monoméricas que puedan ser metabolizadas por los microorganismos fermentadores para producir etanol [46]. Existen dos tipos de hidrólisis en función del método utilizado para la obtención de los azúcares fermentables, hidrólisis ácida, que utiliza ácidos concentrados o diluidos, o hidrólisis enzimática. Para la obtención de buenos rendimientos con la hidrólisis con ácidos diluidos es necesario el empleo de temperaturas elevadas, lo que provoca problemas de corrosión, degradación de azúcares y formación de compuestos inhibidores. La hidrólisis con ácidos concentrados no es rentable económicamente debido a los elevados costes de los equipos resistentes a la corrosión, además de los costes asociados a los procesos de recuperación y neutralización de los ácidos [8, 11].

La hidrólisis enzimática se presenta como una buena alternativa y es la tecnología seleccionada en este presente estudio, al realizarse en condiciones de operación más suaves que la hidrólisis ácida, las condiciones de operación óptimas para las enzimas son temperaturas en torno a 45-50°C y pH entre 4,8 y 5, y obtener buenos rendimientos de recuperación de azúcares [11, 41].

Existen diferentes tipos de enzimas hidrolíticas, dependiendo del tipo de carbohidrato sobre el que actúe o del enlace que rompan: celulasas, xilanasas, celobiasas, esterasas, arabinofurosidasas, etc. Debido a la complejidad de la estructura de la biomasa lignocelulósica, son necesarias varios de estos grupos para conseguir hidrolizar los azúcares presentes. Los grupos de enzimas más relevantes para la hidrólisis de la lignocelulosa con las enzimas celulolíticas (celulasas) y hemicelulolíticas (xilanasas), ya que estos son sus polímeros principales. Las actividades concretas y su proporción óptima dependen del tipo de biomasa y del tratamiento al que ha sido sometido [46].

Existen tres tipos de celulasas que actúan de forma conjunta: endo- $\beta$ -1-4-glucanasa, que ataca a las regiones amorfas de la fibra celulósica, celobiohidrolasa, que actúan liberando las moléculas de celobiosa de los extremos de las cadenas de celulosa, y  $\beta$ -glucosidasa, que se encargan de hidrolizar celobiasas para formar glucosas [37]. En el caso de xilanasas, las enzimas mayoritarias que participan son: 1-4- xilanasas, implicadas en la despolimerización de xilanos y  $\beta$ -xilosidasas, que se ocupan de la transformación de xilanos en xilosa [83].

Los rendimientos de la hidrólisis enzimática están directamente relacionados con algunas propiedades del material modificadas durante la etapa de pretratamiento como: la cristalinidad y el grado de polimerización de la celulosa, el área superficial, tamaño de partícula y porosidad del sustrato, el

contenido y distribución de lignina y el contenido de hemicelulosa [56]. Según datos de la bibliografía los rendimientos de hidrólisis enzimática de paja de trigo ozonizada pueden alcanzar hasta el 98% [84].

**La hidrólisis enzimática es la alternativa seleccionada para la sacarificación de la biomasa puesto que se considera un método más viable económicamente que la hidrólisis ácida al no tener costes asociados de tratamiento y recuperación de reactivos. Además de operar en condiciones más suaves que la hidrólisis ácida, la hidrólisis enzimática es un método más sostenible, al usar reactivos de tipo biológico y no químico.**

**Para realizar el proceso de hidrólisis se seleccionan dos complejos enzimáticos comerciales: Celluclast, formada por celulasas obtenidas a partir de la fermentación sumergida del hongo *Trichoderma reesei*, encargadas de la decomposición de celobiosa, celulosa y otros polímeros en glucosa y Novozyme 188 una preparación enzimática a base de celobiasas, obtenida por fermentación sumergida del microorganismo *Aspergillus niger* y utilizada para hidrolizar celobiosa a glucosa especialmente en paja de trigo.**

### 3.2.4. FERMENTACIÓN

El proceso de fermentación se puede llevar a cabo de forma simultánea con la sacarificación (SFS) o en etapas separadas (HFS). Llevar a cabo un proceso SFS se plantea como una buena opción puesto que reduce el tiempo total del proceso y la posible inhibición por producto final que puede afectar a algunos microorganismos, sin embargo, presenta la desventaja de que las condiciones de operación tienen que ser un compromiso entre las condiciones óptimas de trabajo de las enzimas y las de los microorganismos, especialmente en cuanto a temperaturas, siendo las de la hidrólisis enzimática 45-50 °C y 30-37 °C las de la fermentación, al no trabajar ninguna de las dos etapas en su temperatura óptima, se puede tener como consecuencia una disminución en la producción de azúcares y de etanol [8].

La fermentación alcohólica es una biorreacción que permite degradar los azúcares obtenidos tras la hidrólisis en alcohol y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). La conversión estequiométrica de la glucosa y xilosa en etanol es de 0,51 gramos de etanol por gramo de azúcar, siendo el 0,49 restante producción de CO<sub>2</sub>. En la realidad es difícil lograr este rendimiento, puesto que el microorganismo utiliza parte de estos azúcares y otros nutrientes en cubrir sus necesidades metabólicas y reproducirse. El rendimiento varía entre el 90 y 95 % del teórico [85].

Para que el proceso de fermentación sea viable económicamente los microorganismos utilizados deben cumplir una serie de requisitos [5]:

- Versátil en la utilización de sustratos
- Ser capaz de obtener elevados rendimientos de producción de etanol
- Tolerancia a altas concentraciones de etanol e inhibidores presentes en los hidrolizados
- Resistencia a altas temperaturas
- Poseer actividad celulolítica

Los microorganismos más utilizados a nivel industrial para realizar estas transformaciones son las levaduras, y más concretamente la levadura *Saccharomyces Cerevisiae* que posee unos rendimientos de obtención de etanol cercanos al máximo teórico. No obstante, *S. Cerevisiae* presenta una gran limitación cuando se quiere utilizar en la fermentación de los azúcares hemicelulósicos, ya que no es capaz de fermentar pentosas, como la xilosa, presente en los materiales lignocelulósicos [8].

Con el fin de aumentar el rendimiento de obtención de etanol se han llevado a cabo en los últimos años estudios de ingeniería genética de *S. cerevisiae* a la que se han introducido genes de microorganismos capaces de fermentar pentosas. Sin embargo, la velocidad de consumo de xilosa de estas especies es demasiado baja debido a que no presentan transportadores de membrana específicos para la xilosa, compartiéndolos con los de la glucosa con los que presentan baja afinidad y a los insuficientes niveles de asimilación genética [86].

Otra alternativa es la co-fermentación o adición de dos especies al medio, de tal manera que una se encarga de la fermentación de las hexosas y la otra de la fermentación de las pentosas.

**En el presente trabajo se ha decidido utilizar como microorganismo encargado de la fermentación *Pichia stipitis* también llamado *Schefferomyces stipitis* con el objetivo de aumentar la eficiencia del proceso de producción de etanol, puesto que es capaz de fermentar tanto glucosa como xilosa aprovechando de esta manera todos los azúcares presentes en los hidrolizados y evitando la complejidad de utilizar un microorganismo modificado genéticamente o un co-cultivo. Además se decide que la hidrólisis y la fermentación se realicen en dos etapas diferenciadas, permitiendo así conseguir las condiciones óptimas de operación tanto de enzimas como del microorganismo.**

### **PICHIA STIPITIS**

Como ya se ha mencionado con anterioridad *P. stipitis* es el microorganismo encargado de realizar la fermentación en este estudio por su capacidad para fermentar glucosa y xilosa y obtener buenos rendimientos de obtención de etanol.

*P. stipitis* es una levadura del género *Schefferomyces*. Habitualmente presenta una forma esférica o elipsoidal como se muestra en la Figura 3.6, con un diámetro de 3 a 5  $\mu\text{m}$ .

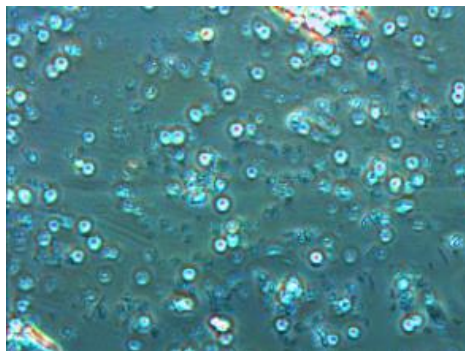


Figura 3.6. Morfología de *P. stipitis*, imagen tomada en el microscopio (LEICA DM 400B)

El crecimiento de esta levadura se produce en un rango de temperaturas de 25-37 °C, siendo su temperatura óptima 30 °C y pH entre 5 y 6. Es una levadura facultativa, crece rápidamente en condiciones aerobias y puede fermentar glucosa y xilosa tanto en presencia como ausencia de oxígeno. Si se decide realizar la fermentación en condiciones aerobias, se deben establecer condiciones limitantes de oxígeno, es decir, se debe realizar una microaireación, puesto que la cantidad de oxígeno presente en el medio es un factor crucial en el proceso de fermentación con *P. stipitis*, ya que es la clave que determina el balance entre crecimiento y formación de productos [87].

*P. stipitis* no requiere complejos vitamínicos adicionales al resto de levaduras, para la fermentación de xilosa, siendo la mayor conversión teórica que puede alcanzar de 0,51 g de etanol por cada gramo de azúcar presente en el medio, sin embargo, además de que no todo el azúcar se destina a la producción de etanol, existe la posibilidad de que ciertos compuestos tóxicos generados durante el pretratamiento

inhiban el consumo de estos azúcares, descendiendo tanto la productividad de etanol como el crecimiento celular [11].

En el presente trabajo el crecimiento de la levadura se realiza en condiciones aerobias, sin embargo aunque el proceso de fermentación se ve favorecido por microaireación, se ha decidido realizar la fermentación en condiciones anaerobias, por mayor simplicidad, para evitar problemas de contaminación y porque la mayor generación de etanol mediante microaireación es demasiado pequeña como para justificar el uso de la misma. Datos de la bibliografía muestran un rendimiento de 0,51 gramos de etanol por g de azúcar consumido.

## 4. ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE PAJA DE TRIGO

### 4.1. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.1.1. MATERIA PRIMA

La biomasa lignocelulósica utilizada en este trabajo es paja de trigo (Figura 4.1). Dicho material presenta una humedad residual de  $8,8 \pm 1,6\%$  sobre el peso del material y su composición expresada en % sobre la Materia Seca (MS) se muestra en la Tabla 4.1.



Figura 4.1. Paja de trigo

Compuesto	% sobre MS
Celulosa	$40,1 \pm 1,2$
Hemicelulosa	$21,8 \pm 1,0$
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	$16,6 \pm 2,4$
Lignina Ácida Soluble (LAS)	$4,6 \pm 0,5$
Cenizas	$4,1 \pm 0,4$
Extractivos	$4,3 \pm 0,5$

Tabla 4.1. Composición de la materia prima

Para la realización de los ensayos se dispone de paja de trigo extrusada, con un tamaño de partícula menor de 1 mm, que ha sido proporcionada por el *Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, Unidad de Biocarburos (CIEMAT)*. Para su conservación la paja de trigo es almacenada a  $-18^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su utilización.

#### 4.1.2. PRETRAMIENTO DE LA PAJA DE TRIGO

El pretratamiento seleccionado es un proceso físico de extrusión seguido de una oxidación química con ozono.

El proceso de extrusión se realiza externamente en las instalaciones de *CIEMAT*. La operación se lleva a cabo a una temperatura de  $20^{\circ}\text{C}$ , con una velocidad de tornillo de 120 rpm y una alimentación de 0,8 kg/h de biomasa molida previamente hasta un tamaño de partícula de 5 mm y 0,44 kg/h de agua para conseguir una humedad del 40% aproximadamente, durante el proceso. El aspecto de la paja de trigo extrusada es el que se muestra en la Figura 4.2



Figura 4.2. Aspecto de la paja de trigo extrusada

El dispositivo experimental utilizado para el tratamiento con ozono, cuenta con un ozonizador (SANDER 301) alimentado con aire, que mediante descarga eléctrica rompe las moléculas de oxígeno para transformarlas en ozono. El aire seco se alimenta al equipo generador de ozono desde una botella de aire a presión, con un flujo de 60 L/h. Para que el proceso no se invierta y se descomponga la molécula de ozono, el equipo cuenta con un sistema de refrigeración mediante agua. Para fijar la dosis de ozono producida, el ozonizador cuenta con un regulador de potencia eléctrica y un controlador de flujo de la corriente de salida.

El ozonizador tiene dos salidas, una primera conectada a un borboteador y la segunda conectada a una columna de vidrio (WATERS Modelo: AP-1). El borboteador contiene una disolución de yoduro potásico al 2% w/w, que reacciona con el ozono produciendo yodo, esta salida se conecta cuando se necesita estabilizar el equipo o cuantificar el ozono producido.

La columna de vidrio cuyas dimensiones son de 20 mm de diámetro y 300 mm de altura, se rellena con paja de trigo extrusada formando un lecho fijo. En la parte inferior de la columna se encuentra la entrada del gas (mezcla aire/ozono) y en la zona superior está la salida del gas residual conectada a un segundo borboteador con una solución de yoduro de potasio al 2 %w/w para destruir el ozono que no ha reaccionado y cuantificar el ozono consumido. Al destruirse el ozono en dicha solución, el gas resultante se emite directamente a la atmósfera. En la Figura 4.3 se muestra el equipo experimental de ozonólisis utilizado y en la Figura 4.4 el aspecto de la paja de trigo ozonizada.



Figura 4.3. Equipo de ozono experimental



Figura 4.4. Paja de trigo ozonizada

Las condiciones de operación son las siguientes: la columna se carga con aproximadamente 18 g de paja de trigo extrusada con un 40% w/w de humedad, el regulador de potencia del ozonizador se mantuvo al 68%, lo que se traduce en un flujo de ozono de 1,8 g/h y el tiempo de reacción en la columna se fija en 30 minutos. Estas condiciones de operación han sido establecidas a partir de estudios previos realizados por el **GIR de Tecnología de Procesos Químicos y Bioquímicos** de la Universidad de Valladolid que han trabajado con el pretratamiento de ozono operando con materiales lignocelulósicos de similar composición.

#### 4.1.3.DETOXIFICACIÓN

Como ya se ha mencionado anteriormente el objetivo de esta etapa es reducir la concentración de compuestos inhibidores de la hidrólisis y la fermentación y para ello el tratamiento elegido es el lavado del material con agua a temperatura y presión ambiente.



Para lavar la paja se utilizan botellas ISO de 2 L de capacidad en las que se introduce una cantidad determinada de paja de trigo pretratada y seca y la correspondiente cantidad de agua. La dosis seleccionada son 100 mL/g MS. Esta mezcla se lleva a agitación durante un tiempo de 15 minutos y posteriormente es filtrada a vacío, usando filtros de análisis cualitativo con un gramaje de 80 g/m<sup>2</sup>, espesor de 0,185 mm y tamaño de poro de 43-48 µm.

#### 4.1.4. HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

La hidrólisis enzimática se lleva a cabo en reactores de vidrio encamisados dotados de agitación mecánica con una capacidad nominal de 250 mL y 25 mm de diámetro (AFORA). Para conseguir mantener la temperatura deseada por la camisa de los reactores circula agua procedente de un baño termostático (J.P. SELECTA, ULTRATERM). La tapa del reactor está dotada de una serie de puertos que permiten el control de pH, mediante la inserción puntual o permanente de sondas de pH (CRISON, Basic 20), toma de muestras y agitación, llevada a cabo mediante un agitador tipo hélice de 3 palas, con un diámetro de 30 mm, conectada mediante un cierre hidráulico a un agitador mecánico regulable (HEIDOLPH, RZR 2020). En la Figura 4.5 se muestra el agitador usado en los ensayos experimentales y en la Figura 4.6 se muestra el montaje del equipo utilizado en el laboratorio.



Figura 4.5. Agitador tipo hélice marina usado en los ensayos de HE y fermentación.



Figura 4.6. Equipo experimental de hidrólisis enzimática

En la etapa de hidrólisis enzimática intervienen los siguientes materiales: i) Paja de trigo previamente pretratada, ii) dos complejos enzimáticos comerciales, Celluclast 1.5L un preparado a base de celulasas para hidrolizar celulosa y Novozyme 188, preparado a base de  $\beta$ -1,4-glucosidasa que hidroliza celobiosa a glucosa, iii) buffer de citrato 50 mM, que consiste en una dilución de 50 mL/L de un buffer de citrato concentrado 1M, iv) Disolución de hidróxido sódico 3 M para realizar el ajuste de pH hasta el valor óptimo. Las enzimas utilizadas fueron proporcionadas por la empresa Novozymes (Dinamarca)

El buffer citrato concentrado 1 M se prepara disolviendo 210 g de ácido cítrico monohidratado en 750 mL de agua destilada y añadiendo NaOH (50-60 g) hasta pH 4,3. A continuación, se enrasa hasta 1L y se añade más NaOH si fuera necesario, hasta alcanzar un pH de 4,5.

La hidrólisis se lleva a cabo a las condiciones óptimas para las enzimas, es decir, 50°C de temperatura, pH 4,8, tiempo de reacción de 48 h y agitación de 175 rpm. La operación se realiza por cargas de 20 g y 24 g de paja de trigo seca y pretratada, ajustando la cantidad de sólido al 10 y al 12% MS (% w/w), respectivamente. La dosis de enzima añadida se fija en 0,36 g Celluclast/g MS, lo que corresponde a

una actividad enzimática de 20 FPU/g MS y 0,1 g de Novozyme 188/g MS o lo que es lo mismo, una actividad de 40 CBU/g MS.

Una vez transcurridas las 48 h, se toma muestra del hidrolizado para cuantificar la recuperación de azúcares (glucosa y xilosa) y la concentración de inhibidores (ácido oxálico, acético y fórmico) mediante HPLC y la concentración de compuestos fenólicos mediante espectrofotometría.

La concentración de azúcares simples permite determinar el rendimiento y eficiencia del proceso de hidrólisis enzimática. Para ello se hace referencia al rendimiento global de recuperación de glucosa (RG) y xilosa (RX) que se han definido de la siguiente manera (Ecuación 4.1 y Ecuación 4.2):

$$RG = \frac{\text{glucosa liberada (g/100 g MS)}}{\text{glucosa en paja de trigo (g/100 g MS)}} \cdot 100 \quad \text{Ecuación 4.1}$$

$$RX = \frac{\text{xilosa liberada (g/100 g MS)}}{\text{xilosa en paja de trigo (g/100 g MS)}} \cdot 100 \quad \text{Ecuación 4.2}$$

#### 4.1.5.FERMENTACIÓN

Para el estudio de las fermentaciones de los hidrolizados de paja de trigo se utilizan los mismos reactores que los empleados en la hidrólisis enzimática. Tras someter a los hidrolizados a un proceso de pasteurización a 80°C durante 30 minutos, para obtener condiciones estériles, se inocula directamente al reactor el microorganismo *P. stipitis* al 10% (v/v). Las condiciones de operación seleccionadas para el proceso de fermentación son las condiciones óptimas de crecimiento de *P. stipitis* pH 5 y 30°C de temperatura. La agitación al igual que en la etapa de fermentación se realiza mediante un impulsor tipo hélice de tres palas de 3 mm de diámetro y con una velocidad de giro de 175 rpm. El tiempo de reacción son 7 días, en los que se realizan un muestreo inicial a las 0 horas, diferentes muestreos cada 24 horas y un muestreo final a las 168 horas de proceso. A partir de dichas muestras se determina mediante HPLC la concentración de azúcares y etanol que hay en el medio.

En cuanto a la determinación de la efectividad en la producción de etanol, se definen los siguientes parámetros de rendimiento:

- Rendimiento de etanol sobre el teórico (RTE): tanto por ciento de etanol producido con respecto a la cantidad total de etanol que podría producirse a partir de los azúcares fermentables presentes inicialmente en el medio de fermentación, representado mediante la Ecuación 4.3

$$RTE = \frac{\text{g etanol}}{0,51 \cdot (\text{g glucosa} + \text{g xilosa})} \cdot 100 \quad \text{Ecuación 4.3}$$

- Rendimiento global de etanol (RGE): tanto por ciento de etanol producido con respecto al máximo teórico que podría haberse producido teniendo en cuenta los azúcares presentes en la materia prima. Se calcula siguiendo la Ecuación 4.4.

$$RGE = \frac{\text{etanol (g/100 gMS)}}{0,51 \cdot (\text{g glucosa} + \text{g xilosa}) \text{ en paja trig. (g/100 gMS)}} \cdot 100 \quad \text{Ecuación 4.4}$$

- Coefficiente de rendimiento de etanol ( $Y_{p/s}$ ): gramos de etanol producidos por cada gramo de xilosa y glucosa consumido según la Ecuación 4.5.

$$Y_{p/s} = \frac{\text{etanol producido (g/L)}}{\text{azúcares consumidos (g/L)}} \quad \text{Ecuación 4.5}$$

## MANTENIMIENTO Y PREPARACIÓN DEL INÓCULO

El mantenimiento del microorganismo se realiza en un medio de consistencia gelatinosa con una concentración de 10 g/L de extracto de levadura, 20 g/L de peptona de soja, 20 g/L de xilosa y 20 g/L de agar. Se realiza la siembra del microorganismo en este medio y se conserva a 4 °C en placas Petri selladas.

El medio de cultivo para la preparación del inóculo tiene unas concentraciones de 10 g/L de extracto de levadura, 20 g/L de peptona de soja y 20 g/L de xilosa todo ello esterilizado en autoclave a 121 °C durante 20 minutos. A continuación se transfiere el microorganismo desde las placas Petri a los matraces con el medio ya esterilizado y se incuba aeróbicamente durante 24 h a 30 °C y 175 rpm.

### 4.1.6. MÉTODOS ANALÍTICOS

#### CARACTERIZACIÓN DE LA PAJA DE TRIGO

La caracterización de la paja de trigo se realiza siguiendo los métodos del National Renewable Energy Laboratory para la determinación de sólidos totales, extractivos, carbohidratos estructurales, lignina y cenizas en la biomasa lignocelulósica. En el **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, se representa un esquema del proceso.

#### DETERMINACIÓN DE AZÚCARES, ALCOHOLES E INHIBIDORES MEDIANTE HPLC

Mediante HPLC o cromatografía líquida de alta resolución son determinados diferentes compuestos: azúcares fermentables (glucosa, xilosa y arabinosa), posibles compuestos inhibidores de la fermentación (ácidos oxálico, acético, láctico y fórmico) y etanol como producto final del proceso de fermentación.

El cromatógrafo usado (WATERS HPLC) está dotado de un detector con medida del índice de refracción (Waters 2414 Refractive Index Detector) y una columna Aminex 87-H de Biorad. Se utilizó como fase móvil  $\text{H}_2\text{SO}_4$  5  $\mu\text{M}$  con un flujo de 0.6 mL/min, temperatura 60°C y un volumen de inyección de 20  $\mu\text{L}$ .

Las muestras de hidrólisis y fermentación contenidas en tubos eppendorf se centrifugaron a 4000 rpm durante 5 minutos (EPPENDORF, MiniSpin). Se realizó una dilución 1:5 con agua Milli-Q del sobrenadante. Esta dilución se filtró por medio de filtros de jeringa de 0.22  $\mu\text{m}$  y se almacenó en viales de HPLC hasta su análisis.

#### COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos que pueden formarse en el pretratamiento y estar presentes en los hidrolizados de trigo se analizaron mediante espectrofotetría a 765 nm. La absorbancia de cada

muestra medida con el espectrofotómetro se relacionó con la concentración de fenólicos mediante una recta de calibrado previamente preparada con patrones de concentración conocida de ácido gálico.

## 4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

### 4.2.1. PRETRATAMIENTO DE PAJA DE TRIGO

Con el objetivo de aumentar la eficiencia de las etapas posteriores del proceso se realiza un pretratamiento de extrusión seguido por una etapa de oxidación química con ozono. La humedad del material es  $43,4\pm 5,8\%$  (w/w) para el material extrusado y  $42,1\pm 0,6\%$  (w/w) para el material ozonizado. La Tabla 4.2 muestra la composición sobre el peso seco de la paja sin tratar, la paja de trigo extrusada y posteriormente ozonizada.

Compuesto	Paja sin tratar	Paja extrusada	Paja extrusada y ozonizada
<b>Celulosa</b>	40,1±1,2	39,4±1,7	39,1±0,2
<b>Hemicelulosa</b>	21,8±1,0	21,7±0,9	20,5±0,1
<b>Lignina Ácida Insoluble (LAI)</b>	16,6±2,4	14,8±2,1	9,7±0,1
<b>Lignina Ácida Soluble (LAS)</b>	4,6±0,5	4,2±0,3	6,3±0,3
<b>Cenizas</b>	4,1±0,4	4,0±0,3	4,4±0,0

Tabla 4.2. Composición en peso seco de la paja de trigo original y de la paja de trigo pretratada

A la vista de los resultados se puede observar una variación en el contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina respecto a la materia prima sin tratar para ambos pretratamientos. El contenido en carbohidratos del material sufre una reducción moderada variando desde el 40,1% de celulosa en peso seco del material sin tratar hasta el 39,1% del material tratado y en hemicelulosa desde el 21,8% hasta el 20,5% en peso seco del material, sin tratar y pretratado, respectivamente.

La lignina ácida insoluble sufre una solubilización disminuyendo desde un 16,6% en peso MS para la paja sin tratar hasta un 14,8% para la paja extrusada y un 9,7% para la paja ozonizada. Datos de la bibliografía [11] apuntan un porcentaje de disminución de LAI respecto al material sin tratar del 27,2% para paja de trigo tratada con ozono durante 30 minutos y con un flujo de 1,8 g O<sub>3</sub>/h. A la vista de los resultados, se puede concluir que el proceso de extrusión previa mejora este porcentaje de redistribución o eliminación de lignina llegando hasta el 41,6% respecto al material sin tratar.

El porcentaje de lignina ácida soluble experimenta un aumento del 4,6% sobre el peso seco del material para la paja sin tratar hasta el 6,3% para el material extrusado y ozonizado. El porcentaje de lignina total no se conserva, lo que quiere decir que parte de la lignina es destruida y eliminada, concretamente el 5,2% sobre el peso seco del material entre los dos pretratamientos.

Se concluye que el tratamiento secuencial de extrusión y oxidación con ozono es efectivo, puesto que consigue el principal objetivo de un pretratamiento que es la redistribución o solubilización de la lignina evitando la degradación o pérdida de azúcares fermentables.

### 4.2.2. DETOXIFICACIÓN

Después del pretratamiento se realizó un proceso de lavado con agua fría en una dosis de 100 mL/g MS para reducir la concentración de compuestos tóxicos.

Tras realizar una caracterización, mediante cromatografía líquida (HPLC), de las aguas de lavado, se puede concluir que la fracción de xilosa eliminada en este proceso es insignificante y la de glucosa no sufre ninguna alteración. Pequeñas concentraciones de inhibidores como ácidos oxálico, fórmico y

acético son eliminadas; sin embargo, no se detecta presencia ni de furfural ni de HMF como se muestra en la Tabla 4.3, o su concentración está es inferior a los límites de detección del equipo de análisis.

Concentración (g/L)				
Xilosa	Glucosa	Ác. oxálico	Ác. Fórmico	Ác. acético
0,04±0,01	0,00±0,00	0,09±0,02	0,02±0,01	0,02±0,01

Tabla 4.3. Caracterización de aguas de lavado de paja de trigo

#### 4.2.3. HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Se realizan ensayos de hidrólisis enzimática al 10 y al 12 % w/w de paja de trigo pretratada en reactores de tanque agitado para estudiar cómo afecta el porcentaje de materia seca a las dos etapas principales del proceso, hidrólisis y fermentación, y así poder seleccionar el porcentaje más adecuado para el diseño de la planta piloto. En la Tabla 4.4 se recogen los resultados obtenidos para los ensayos de hidrólisis al 10 y 12% w/w.

Ensayo	AZÚCARES		INHIBIDORES				Etanol
	Glucosa	Xilosa	Ác. Oxálico	Ác. Fórmico	Ác. Acético	Comp. Fenólicos	
<b>10% (w/w)</b>	14,8±0,7	5,3±0,2	0,5±0,1	0,1±0,1	0,7±0,0	0,4±0,0	0,0±0,0
<b>12% (w/w)</b>	26,8±0,7	9,4±2,1	0,7±0,0	0,1±0,0	1,2±0,1	0,7±0,0	0,0±0,0

Tabla 4.4. Concentración (g/L) de azúcares e inhibidores presentes en los hidrolizados de paja de trigo extrusada y ozonizada

Tras la hidrólisis enzimática con un 10% w/w de materia prima se obtienen 13,9 g de glucosa y 5,0 g de xilosa por cada 100 g de paja de trigo, lo que supone unos rendimientos de recuperación de azúcares del 35% de glucosa y 23% de xilosa, porcentajes que aumentan hasta el 53% de glucosa y 34% de xilosa para una carga de sólidos del 12% (w/w), lo que significa que se obtienen 21,2 g y 7,5 g de glucosa y xilosa, respectivamente, por cada 100 g de paja de trigo. A la vista de estos resultados se podría afirmar que un aumento en la carga de sólidos conseguirá mejores resultados en la obtención de etanol. Sin embargo, no hay que obviar que a pesar de conseguir una mayor concentración en azúcares fermentables, también se obtiene una mayor cantidad de los principales compuestos inhibidores en el caldo de fermentación, el ácido acético alcanzan una concentración de 1,21 g/L y los compuestos fenólicos hasta 0,72 g/L.

#### 4.2.4. FERMENTACIÓN DE HIDROLIZADOS DE PAJA TRIGO

Para el estudio de las fermentaciones de paja de trigo pretratada se utilizan los mismos reactores que para la hidrólisis enzimática. Una vez finalizado el proceso de hidrólisis, se somete a los hidrolizados a un proceso de pasteurización para garantizar condiciones estériles durante el proceso de fermentación. Posteriormente se inocula el microorganismo *P. stipitis* al 10% (v/v) directamente en el reactor y comienza el proceso en unas condiciones de 30°C, pH 5 y 175 rpm durante un total de 168 h.

El proceso de fermentación es muestreado cada 24 h, para obtener un perfil más o menos detallado de la evolución de las concentraciones de azúcares y etanol presentes en el caldo de fermentación. En la

Figura 4.7 se muestra una comparativa de estos perfiles para hidrolizados de paja de trigo con unas concentraciones del 10% y 12% (w/w).

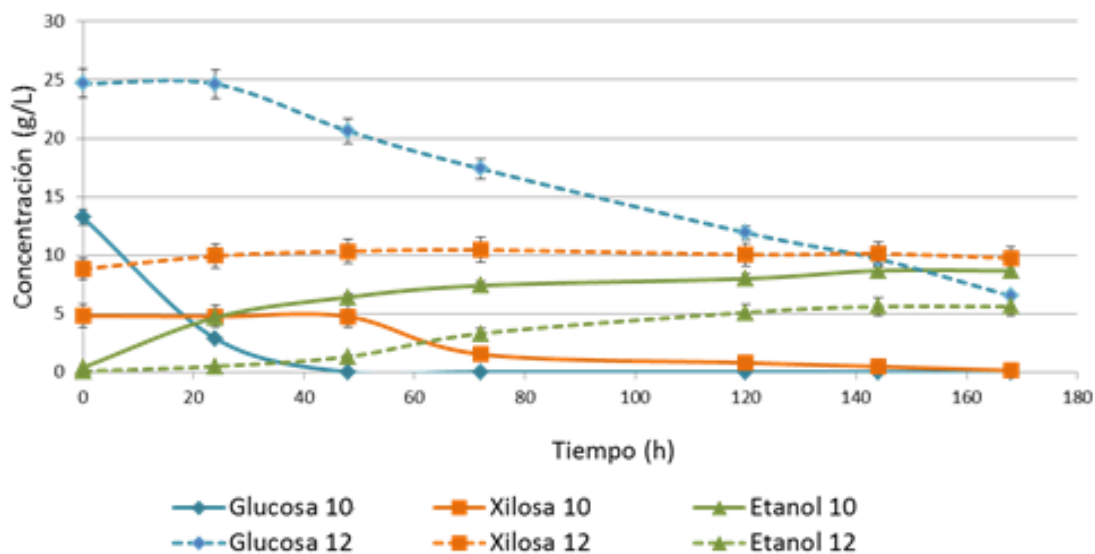


Figura 4.7. Perfil de concentración azúcares y etanol de hidrolizados de paja de trigo al 10 y 12 % (w/w)

En los ensayos de fermentación con hidrolizados del 10% (w/w), se observa el comportamiento diáuxico del microorganismo *P. stipitis*, que aunque es capaz de metabolizar hexosas y pentosas, presenta una clara preferencia por las primeras, como se observa en la Figura 4.7. El microorganismo comienza el consumo de xilosa a las 48 h del inicio del proceso, momento en el que la glucosa del medio está completamente agotada. Tras 168 h de reacción los azúcares del medio son consumidos en su totalidad y la concentración final de etanol obtenida alcanza 8,68 g/L o lo que es lo mismo 9,05 g de etanol por cada 100 g de materia seca, correspondiente con un rendimiento de etanol sobre el teórico del 94% y un 0,48 g/g sobre el consumo de azúcares.

El proceso de asimilación en el metabolismo de *P. stipitis* de altas concentraciones de ácido acético (1,21 g/L) junto con la presencia de compuestos fenólicos en cantidades de 0,72 g/L puede ser la causa de la amplia fase de retardo en el consumo de glucosa y una total inhibición del consumo de xilosa para hidrolizados con un 12% (w/w) de carga inicial. Esto se traduce en un mal aprovechamiento de los azúcares fermentables, una baja eficiencia del proceso de fermentación (32% RTE y 0,32 g/g) y una baja concentración de etanol final obtenida (5,60 g/L).

El objetivo final del proceso es producir la mayor cantidad de etanol posible, por lo tanto a pesar de que los mayores rendimientos de recuperación de azúcares se consiguen con un 12% w/w de paja de trigo, se selecciona para el diseño de la planta piloto una carga de sólidos del 10% w/w en la hidrólisis enzimática al alcanzar mejores rendimientos en la etapa de fermentación.





## 5. INGENIERÍA BÁSICA

### 5.1. BASES DE DISEÑO

#### 5.1.1. UBICACIÓN

Se decide ubicar la planta de aprovechamiento de paja de trigo para la obtención de Bioetanol en la localidad de Madrigalejo del Monte, provincia de Burgos por varios motivos:

- Castilla y León produce el 40% del trigo nacional.
- Dentro de Castilla y León, Burgos es la provincia número uno en producción de este cereal, según datos proporcionados por la Junta de Castilla y León (Figura 5.1). Esto implica cercanía de proveedores.

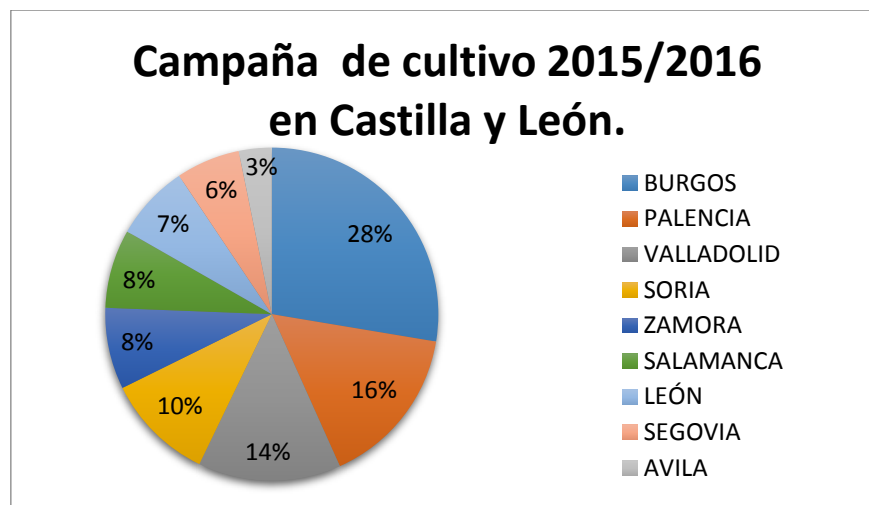


Figura 5.1. Producción de trigo en Castilla y León durante la campaña 2015/2016 expresando en % de cada provincia sobre el total de la producción de Castilla y León.

- Contribuir al desarrollo rural sostenible y a la puesta en valor de un residuo lignocelulósico (paja de trigo) con gran potencial
- Madrigalejo del Monte se encuentra también relativamente cerca de Palencia y Valladolid, que son el segundo y tercer productor de este cereal en Castilla y León, según datos de la Junta de Castilla y León (Figura 5.2).
- El precio del suelo es menor.
- Madrigalejo del Monte se encuentra muy cerca de núcleos urbanos, lo que facilita la mano de obra.

La parcela elegida tiene muy buena comunicación por carretera, se encuentra al lado de la A1, autovía que une Madrid-Burgos y también tiene buena comunicación con Valladolid y Palencia por la carretera A-62 como se puede observar en la Figura 5.2. Ubicación de Madrigalejo del Monte y de la parcela elegida.

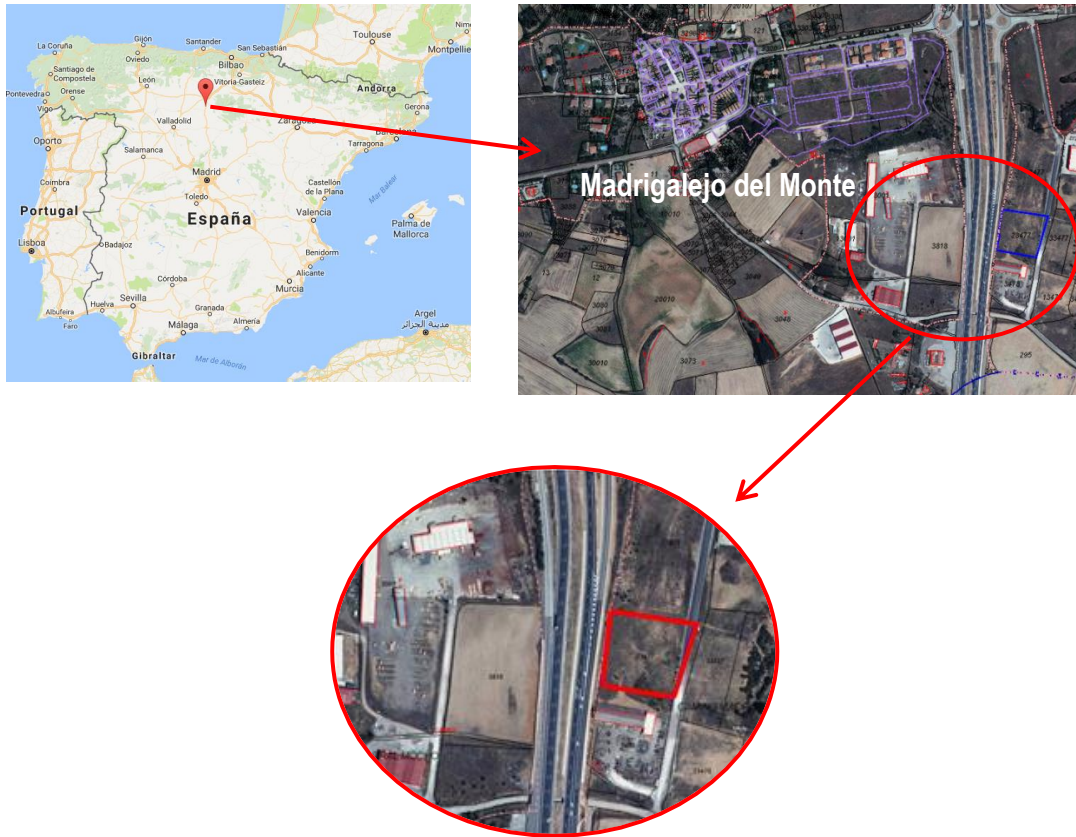


Figura 5.2. Ubicación de Madrigalejo del Monte y de la parcela elegida.

### 5.1.2. CAPACIDAD DE LA PLANTA

La Junta de Castilla y León ha estimado que la producción de trigo en Castilla y León en la campaña 2015/2016 fue casi 4 millones de toneladas, de las que 1 millón pertenecen a la provincia de Burgos, como se recoge en la Tabla 5.1.

<i>Campaña de cultivo 2015/2016. Datos de Producciones (t). - Año 2016</i>										
<i>CULTIVO</i>	<i>BURGOS</i>	<i>PALENCIA</i>	<i>VALLADOLID</i>	<i>SORIA</i>	<i>ZAMORA</i>	<i>SALAMANCA</i>	<i>LEÓN</i>	<i>SEGOVIA</i>	<i>AVILA</i>	<i>CASTILLA Y LEÓN</i>
<b>TRIGO</b>	1.099.547	623.427	551.634	419.163	315.014	304.263	292.423	246.854	126.889	3.979.214

Tabla 5.1. Producción de trigo durante la campaña 2015/2016 según datos proporcionados por la Junta de Castilla y León.

Cada kilogramo de grano de trigo produce 1,1 kilogramos de paja. El 40% de esta producción será destinada a la alimentación animal mientras que el 60% restante podría destinarse a fines energéticos. Lo que nos deja aproximadamente 725.000 toneladas/año disponibles para ser tratadas en la obtención de bioetanol únicamente en la provincia de Burgos.

A la vista de estos datos se decide trabajar con una capacidad en la planta piloto de 12 kg/h de paja de trigo, lo que supondría que trabajando durante 16 horas al día, 250 días al año se trataría un total de 48 t/año dejando un amplio margen para aumentar la planta hasta escala industrial.

### 5.1.3.CONDICIONES DE OPERACIÓN

Para realizar los cálculos de diseño de la planta piloto se mantienen las condiciones de presión, temperatura y pH consideradas óptimas en el proceso experimental. Se mantienen también las concentraciones obtenidas para los diferentes compuestos en cada etapa por kg de materia seca.

La etapa de pretratamiento se realiza a temperatura ambiente, 20 °C con unas condiciones de humedad de la biomasa del 40%(w/w). El tiempo de reacción de la ozonólisis optimizado experimentalmente es de 30 minutos y la dosis de ozono 0,08 g O<sub>3</sub>/g MS. Las concentraciones de los diferentes componentes de la paja con las que se muestran en la Tabla 4.2.

El proceso de detoxificación se realiza con una concentración de agua de 100 mL/gMS a una temperatura de 20 °C, una presión de 1 bar y un tiempo de 15 minutos. Durante el proceso de detoxificación experimental no se observa alteración alguna en la composición del material, por ello las concentraciones de los diferentes componentes se corresponden a las de la paja ozonizada.

La hidrólisis enzimática se realiza al igual que en el laboratorio con una carga de sólidos del 10% (w/w) y con una dosis de enzimas de 0,36 g Celluclast/g MS y 0,1 g Novozyme188/gMS. La hidrólisis se realiza en las condiciones óptimas de trabajo de las enzimas, lo que corresponde a 50 °C de temperatura y pH 4,8. La presión de trabajo es 1 bar. El tiempo de operación es de 48 h y las concentraciones obtenidas tras la hidrólisis y por tanto, utilizadas en el diseño de la planta piloto, se muestran en Tabla 5.2.

Para realizar la esterilización del material se realiza un proceso de pasteurización a 80 °C durante 20 minutos. Esta etapa no afecta a las concentraciones de azúcares manteniéndose las obtenidas tras la hidrólisis. Para favorecer el crecimiento del microorganismo son necesarios ciertos compuestos como potasio, nitrógeno, magnesio y calcio, que son añadidos al proceso en la etapa de esterilización de la siguiente forma: 1,2 g/L de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,2 g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 5 g/L de MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 5 g/L de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O y 1 g/L de extracto de levadura.

En el proceso de fermentación el volumen de inóculo añadido es el 10% en volumen del flujo de hidrolizados que entren al proceso. La fermentación también se realiza a las condiciones óptimas del microorganismo, lo que equivale a 30 °C y pH 4,8. El tiempo de reacción de esta etapa es de 168 h y las concentraciones obtenidas tras la fermentación y por tanto, utilizadas en el diseño de la planta piloto, se muestran en Tabla 5.2.

	Concentración HE (g/100 gMS)	Concentración Fermentación (g/100 gMS)
<b>Glucosa</b>	13,89	0,00
<b>Xilosa</b>	4,95	0,14
<b>Etanol</b>	0,00	9,05
<b>Ácido Oxálico</b>	0,49	0,53
<b>Ácido Fórmico</b>	0,06	0,00
<b>Ácido Acético</b>	0,69	0,65
<b>Compuestos Fenólicos</b>	0,39	0,39

Tabla 5.2. Concentraciones obtenidas experimentalmente por 100 g de materia seca tras los ensayos de hidrólisis enzimática y fermentación.

#### **5.1.4. MATERIAL DE CONSTRUCCIÓN**

El acero inoxidable tipo **316** (SS 316) es un acero inoxidable de cromo níquel austenítico que contiene molibdeno. Esta adición aumenta la resistencia a la corrosión general, mejora la resistencia a picaduras de soluciones de iones de cloruro y proporciona mayor resistencia a temperaturas elevadas. Se selecciona acero inoxidable 316 como material de construcción de todos los equipos diseñados en la planta por sus buenas propiedades mecánicas y anticorrosivas.

## 5.2. ALTERNATIVAS DE DISEÑO

### 5.2.1. OZONÓLISIS

A la hora de seleccionar el reactor de ozonólisis más apropiado se presentan varias alternativas: reactor de tanque agitado o mezcla perfecta, reactor rotatorio, reactor de burbujeo y reactor de lecho fijo.

El **reactor de mezcla perfecta** consiste en un tanque dotado de agitación mecánica. La ozonólisis en este tipo de reactores se realiza por lotes, de manera que la biomasa se carga cada cierto tiempo al reactor, mientras que el ozono se alimenta de manera continua. El principal problema de este reactor es que con el aumento del tiempo de reacción la concentración de ozono a la salida tiende a aumentar, lo que significa que cada vez reacciona y/o se solubiliza menor cantidad de ozono con la mezcla, perdiendo la eficiencia del pretratamiento; además otro problema es que se necesita una gran cantidad de agua [63].

El **reactor rotatorio** consiste en un depósito cilíndrico que gira en torno a su eje homogenizando de esta manera la biomasa con el gas y permitiendo trabajar en continuo.

El **reactor de burbujeo** es una columna cilíndrica con un distribuidor de gas en el fondo. Este reactor puede operar como lecho fijo o como lecho fluidizado, dependiendo de la velocidad a la que entre la corriente gaseosa. El gas sigue un modelo ideal de flujo pistón. Sin embargo el problema de estos reactores es que para tener una buena eficiencia se necesita que la biomasa esté suspendida en agua.

Por último, el **reactor de lecho fijo** opera de manera discontinua y consiste en una columna en la que se introduce biomasa, de forma natural sin apelmazar, formando un lecho a través de cual pasa una corriente gaseosa que se introduce de manera continua por la parte inferior de la columna. La corriente de ozono sigue un modelo tipo pistón, de tal forma que la concentración de ozono va disminuyendo a medida que se avanza en la columna.

Para el diseño de la planta piloto en esta etapa se **operará de manera discontinua y el reactor de ozonólisis seleccionado es el reactor de lecho fijo**, ya que ha sido el utilizado en los ensayos experimentales y el más experimentado por el grupo de investigación obteniendo buenos resultados [11, 58, 84].

### 5.2.2. DETOXIFICACIÓN

Tanto la detoxificación como el resto de etapas de aquí en adelante se operarán en continuo, ya que de esta manera se permite un mejor control de los parámetros de operación, se reduce tiempo de operación al ahorrarse tiempos de carga-descarga de reactores y se reducen costes de operación. Para los procesos continuos existen dos tipos de reactores: flujo pistón y mezcla completa. En el **reactor de flujo pistón** la concentración de la mezcla varía de un punto a otro a lo largo de la dirección de flujo mientras que en el **reactor de mezcla completa** se consigue una distribución homogénea de la concentración. En la etapa de detoxificación, interesa que toda la paja pretratada sea lavada homogéneamente para poder garantizar la reducción de la concentración de inhibidores en toda la masa, por eso para la etapa de detoxificación de la planta piloto se selecciona el reactor de tanque agitado operando de manera continua.

Todo reactor de mezcla completa necesita un sistema de agitación mecánica. Para elegir el más adecuado a cada caso tenemos que tener en cuenta los siguientes parámetros: velocidad de agitación, viscosidad de la mezcla y relación altura del tanque-diámetro del agitador.

Los agitadores se dividen en dos clases: aquellos que generan corrientes paralelas al eje del agitador y los que dan origen a corrientes en dirección tangencial o radial. Los primeros se llaman agitadores de flujo axial y los segundos agitadores de flujo radial. Los tres tipos principales de agitadores son de paletas, de hélice y de turbina.

Los **agitadores de paletas** son los más simples en construcción, consisten en un par de palas planas enfrentadas que giran sobre un eje vertical, siendo eficaces para problemas sencillos. Los agitadores de palas producen una mezcla suave en dirección radial y tangencial, utilizándose para líquidos poco viscosos y bajas velocidades de agitación (20-150 rpm). La longitud total de un rodete de palas comprende entre el 50 y el 80 % del diámetro interior del tanque y la anchura de la pala es de 1/6 a 1/10 su longitud.

Los **agitadores de turbina** están formados por un componente impulsor con más de cuatro hojas, montadas sobre el mismo elemento y fijas a un eje rotatorio. Crean flujos radiales y tangenciales y la velocidad de giro oscila en torno a 100-1000 rpm. Las placas pueden ser rectas o curvas, inclinadas o verticales. El impulsor puede ser abierto, semi-cerrado o cerrado. El diámetro puede variar entre un 30 y un 50 % del diámetro del reactor. Los agitadores de turbina son eficaces para un amplio intervalo de viscosidades, sin embargo, hay que tener en cuenta que en las proximidades del rodete existe una zona de corrientes rápidas, de alta turbulencia e intensos esfuerzos cortantes. Los principales tipos de turbinas son las turbinas de disco y paletas y las turbinas de cuatro palas verticales o inclinadas. La turbina de disco y paletas se utiliza para dispersar o disolver un gas en un líquido. La turbina de 4 hojas con una inclinación de 45° es útil para sólidos en suspensión, ya que las corrientes fluyen hacia abajo y luego levantan los sólidos depositados.

Los **agitadores de hélices** son utilizados para operaciones de mezclado de líquidos de viscosidad baja-media (< 8 Pa s). La velocidad de giro varía entre 150-750 rpm para agitadores grandes o 1150-1750 rpm para los agitadores más pequeños. La columna de fluido axial que produce es altamente turbulenta, generando remolinos de líquido que abandonan el impulsor y arrastran el líquido estancado, lo que hace propicio su uso en tanques de grandes dimensiones.





Tipo de impulsor	Paleta	Hélice marina	Hélice curva tripala	Turbina cuatro palas inclinadas
<b>Diámetros del impulsor (mm)</b>	300-3600	80-200	200-1800	200-1200
<b>Velocidades (rpm)</b>	8-70	750-1500	40-290	70-140
<b>Potencia (kW)</b>	0,37-1,1	0,25-1,5	0,37-7,5	0,25-3
<b>Volúmenes del depósito (m<sup>3</sup>)</b>	0,5-700	150-3	0,5-100	0,2-15
<b>Aplicación</b>	Floculación	Homogenización, neutralización, suspensión	Almacenamiento, suspensión, transferencia térmica	Homogenización, neutralización, suspensión, transferencia térmica
				

Tabla 5.3. Características de agitadores de hélice, hélice tripala curvada y turbina cuatro palas inclinadas [88, 89]

Durante el proceso de detoxificación experimental se utilizan altas velocidades de giro (>1000 rpm), por ello se selecciona para el diseño de la agitación en esta etapa la hélice marina, puesto que es un agitador que trabaja con suspensiones, turbulencia suficiente para no producir estancamientos y altas velocidades.

Para evitar la formación de vórtices y torbellinos y aumentar así la eficiencia de la agitación se colocarán en el reactor placas deflectoras o baffles que son elementos soldados dentro del tanque que impiden el movimiento rotacional sin afectar al axial o tangencial.

**Finalmente para el diseño de la etapa de detoxificación de la planta piloto se selecciona un reactor de mezcla completa operando de manera continua con un sistema de agitación tipo hélice marina.**

### 5.2.3. HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Al igual que el proceso de detoxificación la hidrólisis enzimática se realizará de manera continua, para ahorrar costes y tiempo de operación, en un reactor de mezcla completa con agitación mecánica, para garantizar homogeneidad y tener un mejor control de propiedades, concentración, pH y temperatura, en toda la mezcla.

A la hora de seleccionar el agitador más adecuado para la etapa de hidrólisis enzimática hay que tener en cuenta que antes de las que enzimas comiencen a fluidizar el medio, la viscosidad es considerable. Por ello para esta etapa se selecciona como impulsor la turbina de cuatro palas inclinadas 45°, ya que es un agitador muy versátil en cuanto a viscosidad y es el indicado para sólidos en suspensión. La turbina de cuatro palas inclinadas genera una mayor turbulencia que la hélice marina, como se observa en la Figura 5.3, facilitando un mayor contacto de la paja con las enzimas, además es un agitador con bajo mantenimiento y alto rendimiento. Durante la hidrólisis se opera a 50°C, es conveniente que esta temperatura sea uniforme en todo el reactor para que las enzimas actúen de forma eficiente y este tipo de agitador favorece el intercambio de calor. Además genera una turbulencia más alta que los agitadores de paletas o de hélice y se considera una opción económicamente aceptable. El reactor dispondrá en su interior de baffles para aumentar la eficiencia del mezclado.

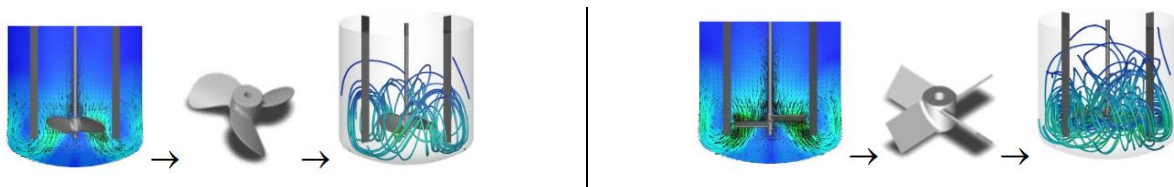


Figura 5.3. Geometría y líneas de trayectoria para un agitador tipo hélice de tres aspas y para un impulsor tipo turbina de cuatro paletas inclinadas 45° [90]

Para garantizar la temperatura de operación durante el proceso de hidrólisis existen dos opciones: un serpentín interno o una camisa exterior al reactor por la que circula agua, para este caso concreto se selecciona un reactor de mezcla completa con camisa para evitar interferencias entre el material y la resistencia y para facilitar la agitación y las tareas de mantenimiento y limpieza del tanque.

**El reactor de hidrólisis enzimática de la planta piloto es un reactor de mezcla completa encamisado operando en continuo, con sensores y controladores de pH y temperatura y con un sistema de agitación tipo turbina de cuatro palas inclinadas 45°.**

## 5.2.4.FERMENTACIÓN

A la hora de diseñar un fermentador hay que tener en cuenta los siguientes criterios:

- El reactor debe funcionar en condiciones de asepsia.
- Debe estar provisto de un sistema de agitación
- El consumo de energía debe ser lo más bajo posible
- Debe tener un sistema de control de pH y temperatura para poder trabajar en las condiciones óptimas de microorganismos
- El fermentador debe tener un sistema para toma de muestras
- Las superficies internas del tanque deben ser lo más lisas posibles
- La geometría del tanque debe ser fácilmente reproducible a otras escalas

La fermentación puede realizarse de manera discontinua, alimentada (fed-batch) o continua. La fermentación discontinua es un proceso cerrado en el que sustrato, microorganismos y nutrientes se añaden al principio del proceso permitiendo trabajar durante todo él a las condiciones óptimas de temperatura y pH. La fermentación alimentada es una mejora del proceso discontinuo, en el que los sustratos se van añadiendo escalonadamente según necesidades del proceso. Y por último en la fermentación continua se alimenta y se retira continuamente del biorreactor una cantidad determinada de microorganismos y solución esterilizada de azúcares y nutrientes. Los procesos continuos de fermentación no son utilizados generalmente en la industria, debido fundamentalmente al mayor nivel de experiencia que se tiene en la fermentación discontinua, sin embargo, los procesos de fermentación continua minimizan costes, reducen tiempos de operación e incrementan rendimientos, por estos motivos para el diseño de la planta piloto de obtención de bioetanol 2G se selecciona el proceso de fermentación continuo.

En función del sistema de agitación utilizado existen diferentes tipos de fermentadores: **fermentadores air-lift**, en ellos la agitación y la aireación se logran mediante la inyección de aire por la parte inferior del reactor; en los **fermentadores deep-jet** la agitación se realiza mediante la inyección de aire a presión desde la parte superior del fermentador y por último, **fermentadores de agitación mecánica**, consisten en un sistema de paletas, hélices, turbinas...unidas concéntricamente a un eje, accionado por un motor, de tal manera que durante su rotación generan la turbulencia de la mezcla. Este último es un método caro, sin embargo es el más utilizado ya que es el más flexible en cuanto a condiciones de operación, es el más fácil de conseguir comercialmente, proporciona una transferencia eficiente de calor y materia y es el método con el que se tiene más experiencia, por estos motivos es el seleccionado en el presente trabajo para la realización de la etapa de fermentación, así como para las etapas previas de prefermentación y preparación de inóculo.

Los objetivos de la agitación en la fermentación son: asegurar una suspensión homogénea de los microorganismos y conseguir que la temperatura y pH óptimo para el crecimiento de los microorganismos se alcance en todo el reactor. La turbina Rushton es muy utilizada en fermentaciones aerobias, porque favorece la transferencia de oxígeno, por ello será el agitador seleccionado para las etapas de inóculo y prefermentación, puesto que en ellas el objetivo principal es el crecimiento de los microorganismos (proceso aerobio). Por otro lado, la fermentación es un proceso anaerobio. Durante la fermentación se genera dióxido de carbono que es conveniente expulsar, para evitar el colapso del microorganismo y el aumento excesivo de la presión del reactor. Para favorecer la eliminación de este gas hacia el exterior se seleccionan también agitadores tipo Rushton para la etapa de fermentación, además este impulsor proporciona menores esfuerzos por cizalla al líquido que las turbinas abiertas y la hélice marina, lo que es un aspecto importante para no dañar a los microorganismos del medio y tiene una mejor eficiencia de mezclado, mayor turbulencia que los agitadores de paletas y de hélice, lo que favorece el contacto del microorganismo con los azúcares fermentables.



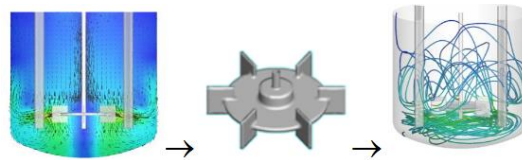


Ilustración 5.1 [90]

La fermentación es un proceso exotérmico, en el que se libera calor procedente del metabolismo de los microorganismos y de la agitación, por ello para mantener la temperatura óptima, es necesario implantar en el reactor una camisa por la que circulará agua de refrigeración que mantendrá la temperatura del proceso.

**Los reactores de fermentación y preparación de inóculo de la planta piloto son de tipo mezcla completa encamisados y operando en continuo. Se ha seleccionado un sistema de agitación mecánica formado por turbinas tipo Rusthon. Además los reactores estarán dotados de medidores y controladores de pH y temperatura.**

### 5.3. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL PROCESO

El proceso comienza con el almacenamiento de la paja de trigo que llega a la planta en el silo TK-110. La primera parte del proceso es el pretratamiento, por ello de este silo sale la biomasa a través de un tornillo sinfín situado en la salida del depósito hacia el extrusor (J-110). La extrusión es un proceso continuo que es alimentado con aproximadamente 12 kg/h de biomasa seca, sin embargo este proceso se lleva a cabo con biomasa con una humedad del 40%, para conseguir estas condiciones se añade agua al extrusor procedente del tanque de almacenamiento TK-310.

Una vez ha sido extrusada la biomasa se almacena en el silo TK-120, que alimenta a los dos reactores de lecho fijo en los que se lleva a cabo el segundo pretratamiento del proceso, la ozonólisis. La ozonólisis se realiza por lotes de 30 minutos en dos reactores de lecho fijo R110A/B, se considera un tiempo de carga y descarga del reactor de 15 minutos cada uno. El ozono entra al reactor por la parte inferior del mismo y va ascendiendo por el lecho formado por la paja reaccionando con la lignina. El ozono procede de un ozonizador (Z-410) que rompe las moléculas de oxígeno del aire procedente del tanque de almacenamiento TK-410, para unir las formando moléculas de ozono.

La salida del reactor de ozonólisis se realiza por lotes, mientras que la detoxificación, que es la siguiente etapa del proceso se realiza de manera continua, por ello entre medias de las dos etapas se decide poner un silo de almacenamiento intermedio de biomasa ya pretratada (TK-130), que será alimentado cada hora por los reactores de ozonólisis mediante bombas de tornillo para sólidos y cuya salida proporcionará a los reactores de tanque agitado de la detoxificación el flujo de entrada necesario.

Para disminuir la concentración de sustancias tóxicas para los microorganismos se realiza una etapa de detoxificación o lavado de paja a temperatura ambiente en los reactores de tanque agitado R-120A/B. Como ya se ha comentado anteriormente, la biomasa es recibida de manera continua desde el tanque de almacenamiento TK-130 y por otro lado el agua necesaria para el proceso (100 mL/gMS) es proporcionada por el tanque de almacenamiento de agua TK-310. El tiempo de residencia en los reactores es de 15 minutos. Las salidas de los dos reactores de detoxificación se unen en la entrada de un separador centrífugo (C-110) que elimina el 95% del agua que tenía la suspensión y como consecuencia perdiendo el 5% del sólido total durante el proceso.

Una vez la biomasa ha sido pretratada y lavada se alcanza una de las etapas principales del proceso, la hidrólisis enzimática. El objetivo de la hidrólisis es romper las cadenas de celulosa y hemicelulosa

obteniendo azúcares más simples, glucosa y xilosa, fermentables por microorganismos. Esta etapa se realiza en dos reactores de tanque agitado (R-130A/B) y encamisados, al ser la temperatura de operación 50°C. Éstos reactores poseen varias entradas en continuo: la primera es el flujo de paja de trigo procedente del separador centrífugo que se divide a partes iguales para alimentar a los dos reactores de hidrólisis. La segunda entrada es del complejo enzimático, procedente de los tanques de almacenamiento TK-510 y TK-610 y la tercera entrada es agua precalentada hasta los 35 °C, en la proporción suficiente para trabajar con el 10% (w/w) de carga de sólidos. El pH del proceso es 4,8 y para mantenerlo los reactores cuentan con dispositivos de control que gestionan dos entradas intermitentes de ácido y base según necesidades del proceso. Como ácido se utiliza ácido clorhídrico 3 M, que es almacenado en el tanque TK-810. A la salida del mismo se dispone de una bomba tipo diafragma puesto que es adecuada para productos abrasivos. La base utilizada es hidróxido de sodio 3 M que es almacenado en el tanque TK-710. Los reactores de hidrólisis producen dos salidas continuas de un caldo rico en azúcares que se juntan en el reactor de esterilización R-140.

El reactor R-140 tiene como principal objetivo la esterilización de los hidrolizados como paso previo a la fermentación, para evitar contaminación indeseada. Se ha decidido que la esterilización se lleve a cabo en un único reactor como sistema para homogenizar los caldos procedentes de ambos reactores de hidrólisis y eliminar de este modo, posibles diferencias en las concentraciones de azúcares de los hidrolizados que alimenten la fermentación. Durante la fermentación los microorganismos necesitan nutrientes. Por ello para que antes de llegar al reactor de fermentación estén esterilizados y disueltos con el medio son añadidos también al reactor R-140. Los nutrientes son almacenados en forma sólida en el tanque TK-910 provisto a la salida de una bomba tipo tornillo. En resumen, el reactor de esterilización posee dos entradas continuas, una de hidrolizado procedente de R-130A/B y otra de nutrientes procedente de TK-190 con un tiempo de residencia de 20 minutos. Por la camisa del tanque circulará agua caliente, que proporciona la energía calorífica necesaria para que en el interior del reactor se alcance la temperatura de operación (80 °C). La salida es un caldo de azúcares fermentables pasteurizado que se hace pasar por un intercambiador de calor (E-110) que disminuye su temperatura hasta 30 °C, temperatura óptima para la fermentación microbiológica.

En el reactor de fermentación se produce la transformación de azúcares en etanol al ser metabolizados por los microorganismos.

La fermentación se realiza en dos reactores de tanque agitado con dos entradas principales: el hidrolizado procedente del intercambiador (E-110) y repartido a partes iguales entre ambos reactores y el inóculo procedente del reactor de prefermentación R-220A/B. Además el fermentador posee dos entradas secundarias, una de ácido procedente del tanque TK-810 y otra de base procedente del tanque TK-710, que actúan de forma intermitente para mantener el pH de operación en 5. La fermentación es un proceso exotérmico, por ello para que la temperatura interior del reactor no aumente de forma progresiva, se instala en los mismos una camisa por la que circulará agua fría capaz de evacuar el calor generado. El tiempo de residencia de estos reactores es 168 h, transcurridas las cuales el 95% del flujo de salida se dirige hacia el tanque de almacenamiento de producto final TK-140 y el 5% restante se emplea en mantener el microorganismo en crecimiento, evitando así la necesidad continua de introducir al proceso nuevas cepas de microorganismo.

Para mantener el microorganismo en crecimiento se ha diseñado un sistema de cuatro reactores, iguales dos a dos, por si existiesen problemas de contaminación en alguno de ellos poder seguir produciendo inóculo, en ellos se trabaja en continuo con un tiempo de residencia de 48 h. Estos reactores son geoméricamente semejantes a los reactores de fermentación pero de menor tamaño, de tal manera que el microorganismo se va adaptando paulatinamente a las condiciones de fermentación. La alimentación de azúcares y nutrientes del reactor de inóculo R210A/B procede del reactor R-140. Se ha decidido que la fuente de carbohidratos en la fase de inóculo sea el propio hidrolizado para comenzar la adaptación del microorganismo a las concentraciones de azúcares que se encontrará en

la fase de fermentación. El volumen de inóculo es proporcionado por la corriente del 5% que abandona los reactores de fermentación. Para eliminar los sólidos de esta corriente se la hace pasar previamente por un separador centrifugo (C-210), con el que se consigue una separación del 95%, a continuación la corriente pasa a un sedimentador (H-210), que concentra en su fondo los microorganismos de la mezcla. El inóculo es añadido a R-210A/B por gravedad desde H-210. En el reactor de inóculo se dan las condiciones óptimas de pH, temperatura y tiempo de residencia para que se produzca el crecimiento de los microorganismos siendo la salida de estos reactores la alimentación de inóculo de los reactores de prefermentación R-220A/B. Los reactores de prefermentación son intermedios en tamaño entre los reactores de inóculo y de fermentación. El flujo de entrada de carbohidratos y nutrientes lo recibe del reactor R-140. Las salidas de los reactores de prefermentación son la alimentación de inóculo de los reactores de fermentación (R-150A/B). Los cuatro reactores, R-210A/B y R-220A/B, poseen entradas de ácido y base para controlar el pH y camisas para el mantenimiento de la temperatura de operación.

Se decide tener duplicados los equipos en la mayoría de los casos para hacer frente a posibles problemas de operación o tareas de mantenimiento, de tal manera que aunque la producción se redujera nunca se vería afectada al 100% ante estas situaciones.

#### 5.4. DIAGRAMA DE FLUJO

Para comprender mejor el proceso se ha representado el diagrama de flujo del proceso, recogido en el ANEXO II.

#### 5.5. BALANCES DE MATERIA

Las Tablas 6.4 - 6.9 resumen los balances de materia del proceso. Para realizar estos balances se han tenido en cuenta las consideraciones expuestas en el apartado 5.1.3. condiciones de operación.

CORRIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8
DE	TK-110	J-110	TK-120	TK-120	R-110 A	R-110B	TK-130	TK-130
A	J-110	TK-120	R-110 A	R-110B	TK-130	TK-130	R-120A	R-120B
FLUJO MÁSSICO (kg/h)	11.94	17.79	8.90	8.90	8.67	8.67	8.67	8.67
CAUDAL (m3/h)	0.0754	0.0292	0.0146	0.0146	0.0148	0.0148	0.0148	0.0148
P (bar)	1	1	1	1	1	1	1	1
T (°c)	20	20	20	20	20	20	20	20
ρ (kg/m3)	158.28	608.77	608.77	608.77	585.56	585.56	585.56	585.56
<b>Componenetes (kg/h)</b>								
Agua	1.14	7.87	3.93	3.93	3.74	3.74	3.74	3.74
Aire	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ozono	0.00	0.00	0.00	0.00	0.45	0.45	0.45	0.45
Celulosa	4.73	4.65	2.32	2.32	2.19	2.19	2.19	2.19
Hemicelulosa	2.57	2.56	1.28	1.28	1.15	1.15	1.15	1.15
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	1.96	1.75	0.87	0.87	0.54	0.54	0.54	0.54
Lignina Ácida Soluble (LAS)	0.54	0.50	0.25	0.25	0.35	0.35	0.35	0.35
Cenizas	0.48	0.47	0.24	0.24	0.25	0.25	0.25	0.25
Extractivos	0.51	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glucosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Xilosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Compuestos Fenólicos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Acético	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Oxálico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Fórmico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Etanol	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Novozyme 188	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celluclast	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
NaOH (3M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCl (3M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inóculo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
KH2PO4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(NH4)2SO4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MgSO4·7H2O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ca(NO3)2·4H2O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extracto de levadura	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Oxígeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TOTAL	11.94	17.79	8.90	8.90	8.67	8.67	8.67	8.67
<b>Componenetes (%)</b>								
Agua	9.54	44.22	44.22	44.22	43.10	43.10	43.10	43.10
Aire	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ozono	0.00	0.00	0.00	0.00	5.17	5.17	5.17	5.17
Celulosa	39.64	26.13	26.13	26.13	25.28	25.28	25.28	25.28
Hemicelulosa	21.55	14.39	14.39	14.39	13.25	13.25	13.25	13.25
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	16.41	9.82	9.82	9.82	6.27	6.27	6.27	6.27
Lignina Ácida Soluble (LAS)	4.55	2.79	2.79	2.79	4.08	4.08	4.08	4.08
Cenizas	4.05	2.65	2.65	2.65	2.84	2.84	2.84	2.84
Extractivos	4.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glucosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Xilosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Compuestos Fenólicos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Acético	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Oxálico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Fórmico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Etanol	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Novozyme 188	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celluclast	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
NaOH (1M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCl (1M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inóculo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
KH2PO4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(NH4)2SO4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MgSO4·7H2O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ca(NO3)2·4H2O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extracto de levadura	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Oxígeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TOTAL	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Tabla 5.4. Balance de materia. Corrientes 1-8.

CORRIENTE	9	10	11	12	13	14	15	16
DE	R-120A	R-120B	C-110	C-110	R-130A	R-130B	R-140	R-140
A	C-110	C-110	R-130A	R-130B	R-140	R-140	R-150A	R-150B
FLUJO MÁSIICO (kg/h)	563.83	564.83	4.23	4.23	49.01	49.01	45.12	45.12
CAUDAL (m3/h)	0.5679	0.5689	0.0131	0.0131	0.0481	0.0481	0.0448	0.0448
P (bar)	1	1	1	1	1	1	1	1
T (°c)	20	20	20	20	50	50	30	30
ρ (kg/m3)	992.78	992.79	323.13	323.13	1018.25	1018.25	1006.70	1006.70
<b>Componenetes (kg/h)</b>								
Agua	559.38	559.38	0.14	0.14	45.47	45.47	41.38	41.38
Aire	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ozono	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celulosa	2.19	2.19	2.08	2.08	0.00	0.00	0.00	0.00
Hemicelulosa	1.11	1.11	1.09	1.09	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	0.54	0.54	0.52	0.52	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Soluble (LAS)	0.35	0.35	0.17	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00
Cenizas	0.25	0.25	0.23	0.23	0.00	0.00	0.00	0.00
Extractivos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glucosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.74	0.74	0.67	0.67
Xilosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.26	0.26	0.24	0.24
Compuestos Fenólicos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	0.02	0.02
Ácido Acético	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.04	0.03	0.03
Ácido Oxálico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	0.02	0.02
Ácido Fórmico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Etanol	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Novozyme 188	0.00	0.00	0.00	0.00	0.53	0.53	0.49	0.49
Celluclast	0.00	0.00	0.00	0.00	1.92	1.92	1.75	1.75
NaOH (3M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCl (3M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inóculo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
KH2PO4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05
(NH4)2SO4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05
MgSO4·7H2O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.21	0.21
Ca(NO3)2·4H2O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.21	0.21
Extracto de levadura	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.04
Oxígeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TOTAL	563.83	564.83	4.23	4.23	49.01	49.01	45.12	45.12
<b>Componenetes (%)</b>								
Agua	99.21	99.21	3.31	3.31	92.78	92.78	91.71	91.71
Aire	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ozono	0.00	0.18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celulosa	0.39	0.39	49.21	49.21	0.00	0.00	0.00	0.00
Hemicelulosa	0.20	0.20	25.76	25.76	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	0.10	0.10	12.21	12.21	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Soluble (LAS)	0.06	0.06	3.97	3.97	0.00	0.00	0.00	0.00
Cenizas	0.04	0.04	5.54	5.54	0.00	0.00	0.00	0.00
Extractivos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glucosa	0.00	0.00	0.00	0.00	1.51	1.51	1.49	1.49
Xilosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.54	0.54	0.53	0.53
Compuestos Fenólicos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.04	0.04	0.04
Ácido Acético	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.07	0.07	0.07
Ácido Oxálico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	0.05	0.05
Ácido Fórmico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01
Etanol	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Novozyme 188	0.00	0.00	0.00	0.00	1.09	1.09	1.08	1.08
Celluclast	0.00	0.00	0.00	0.00	3.91	3.91	3.87	3.87
NaOH (1M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCl (1M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inóculo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
KH2PO4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.11
(NH4)2SO4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.11
MgSO4·7H2O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.46	0.46
Ca(NO3)2·4H2O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.46	0.46
Extracto de levadura	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.09
Oxígeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TOTAL	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Tabla 5.5. Balance de materia. Corrientes 9-16.

CORRIENTE	17	18	19	20	21	22	23	24
DE	R-150A	R-150B	R-150A	R-150B	C-210	H-210	H-210	R-140
A	TK-140	TK-140	C-210	C-210	H-210	R-210A	R-210B	R-210A
FLUJO MÁSSICO (kg/h)	42.52	42.52	2.32	2.32	2.22	0.04	0.04	0.37
CAUDAL (m3/h)	0.0428	0.0454	0.0023	0.0023	0.0022	0.0000	0.0000	0.0004
P (bar)	1	1	1	1	1	1	1	1
T (°c)	30	30	30	30	30	20	20	30
ρ (kg/m3)	994.40	937.40	995.60	995.60	994.70	995.71	995.71	1006.70
<b>Componenetes (kg/h)</b>								
Agua	39.31	39.31	2.07	2.07	1.97	0.00	0.00	0.34
Aire	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ozono	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Hemicelulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Soluble (LAS)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Cenizas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extractivos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glucosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
Xilosa	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Compuestos Fenólicos	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Acético	0.03	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Oxálico	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Fórmico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Etanol	0.42	0.42	0.02	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00
Novozyme 188	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celluclast	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
NaOH (3M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCl (3M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inóculo	2.71	2.71	0.22	0.22	0.22	0.04	0.04	0.00
KH2PO4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(NH4)2SO4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MgSO4·7H2O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ca(NO3)2·4H2O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extracto de levadura	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Oxígeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TOTAL	42.52	42.52	2.32	2.32	2.22	0.04	0.04	0.37
<b>Componenetes (%)</b>								
Agua	92.46	92.46	89.06	89.06	88.46	0.00	0.00	91.54
Aire	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ozono	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Hemicelulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Soluble (LAS)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Cenizas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extractivos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glucosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.49
Xilosa	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.00	0.00	0.53
Compuestos Fenólicos	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.00	0.00	0.04
Ácido Acético	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.00	0.00	0.07
Ácido Oxálico	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.00	0.00	0.05
Ácido Fórmico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
Etanol	0.98	0.98	0.95	0.95	0.99	0.00	0.00	0.00
Novozyme 188	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.07
Celluclast	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.86
NaOH (1M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCl (1M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inóculo	6.37	6.37	9.60	9.60	10.04	100.00	100.00	0.11
KH2PO4	0.00	0.00	0.11	0.11	0.11	0.00	0.00	0.10
(NH4)2SO4	0.00	0.00	0.11	0.11	0.11	0.00	0.00	0.11
MgSO4·7H2O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.46
Ca(NO3)2·4H2O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.46
Extracto de levadura	0.00	0.00	0.09	0.09	0.09	0.00	0.00	0.09
Oxígeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TOTAL	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Tabla 5.6. Balance de materia. Corrientes 17-24.

CORRIENTE	25	26	27	28	29	30	31	32
DE	R-140	R-210A	R210B	R-140	R-140	R-220A	R-220B	TK-310
A	R-210B	R-220A	R-220B	R-220A	R-220B	R-150A	R-150B	J-110
FLUJO MÁSSICO (kg/h)	0.37	0.41	0.41	4.10	4.10	4.51	4.51	6.73
CAUDAL (m3/h)	0.0004	0.0004	0.0004	0.0041	0.0041	0.0045	0.0045	0.0067
P (bar)	1	1	1	1	1	1	1	1
T (°c)	30	30	30	30	30	30	30	20
ρ (kg/m3)	1006.70	1000.89	1000.89	1006.70	1006.70	1000.89	1000.89	998.29
<b>Componenetes (kg/h)</b>								
Agua	0.34	0.00	0.00	3.76	3.76	0.00	0.00	6.73
Aire	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ozono	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Hemicelulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Soluble (LAS)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Cenizas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extractivos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glucosa	0.01	0.00	0.00	0.06	0.06	0.00	0.00	0.00
Xilosa	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00
Compuestos Fenólicos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Acético	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Oxálico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Fórmico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Etanol	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Novozyme 188	0.00	0.00	0.00	0.04	0.04	0.00	0.00	0.00
Celluclast	0.01	0.00	0.00	0.16	0.16	0.00	0.00	0.00
NaOH (3M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCl (3M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inóculo	0.00	0.41	0.41	0.00	0.00	4.51	4.51	0.00
KH2PO4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(NH4)2SO4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MgSO4·7H2O	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00
Ca(NO3)2·4H2O	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00
Extracto de levadura	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Oxígeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TOTAL	0.37	0.41	0.41	4.10	4.10	4.51	4.51	6.73
<b>Componenetes (%)</b>								
Agua	91.54	0.00	0.00	91.63	91.63	0.00	0.00	100.00
Aire	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ozono	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Hemicelulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Soluble (LAS)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Cenizas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extractivos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glucosa	1.49	0.00	0.00	1.49	1.49	0.00	0.00	0.00
Xilosa	0.53	0.00	0.00	0.53	0.53	0.00	0.00	0.00
Compuestos Fenólicos	0.04	0.00	0.00	0.04	0.04	0.00	0.00	0.00
Ácido Acético	0.07	0.00	0.00	0.07	0.07	0.00	0.00	0.00
Ácido Oxálico	0.05	0.00	0.00	0.05	0.05	0.00	0.00	0.00
Ácido Fórmico	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
Etanol	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Novozyme 188	1.07	0.00	0.00	1.07	1.07	0.00	0.00	0.00
Celluclast	3.86	0.00	0.00	3.86	3.86	0.00	0.00	0.00
NaOH (1M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCl (1M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inóculo	0.11	100.00	100.00	0.00	0.00	100.00	100.00	0.00
KH2PO4	0.10	0.00	0.00	0.11	0.11	0.00	0.00	0.00
(NH4)2SO4	0.11	0.00	0.00	0.11	0.11	0.00	0.00	0.00
MgSO4·7H2O	0.46	0.00	0.00	0.46	0.46	0.00	0.00	0.00
Ca(NO3)2·4H2O	0.46	0.00	0.00	0.46	0.46	0.00	0.00	0.00
Extracto de levadura	0.09	0.00	0.00	0.09	0.09	0.00	0.00	0.00
Oxígeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TOTAL	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Tabla 5.7. Balance de materia. Corrientes 25-32.

CORRIENTE	33	34	35	36	37	38	39	40
DE	TK-310	TK-310	TK-310	TK-310	P-410	Z-410	Z-410	TK-510
A	R-120A	R-120B	R-130A	R-130B	Z-410	R-110A	R-110B	R-130A
FLUJO MÁSSICO (kg/h)	555.64	555.64	45.33	45.33	72.51	36.25	36.25	1.92
CAUDAL (m <sup>3</sup> /h)	0.5566	0.5566	0.0456	0.0456	59.3333	29.6405	29.6405	0.0016
P (bar)	1	1	1	1	2	2	2	1
T (°c)	20	20	35	35	20	20	20	20
ρ (kg/m <sup>3</sup> )	998.29	998.29	994.08	994.08	1.22	1.22	2.14	1180.00
<b>Componetes (kg/h)</b>								
Agua	555.64	555.64	45.33	45.33	0.00	0.00	0.00	0.00
Aire	0.00	0.00	0.00	0.00	72.51	35.36	35.36	0.00
Ozono	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.89	0.89	0.00
Celulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Hemicelulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Soluble (LAS)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Cenizas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extractivos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glucosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Xilosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Compuestos Fenólicos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Acético	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Oxálico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Fórmico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Etanol	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Novozyme 188	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celluclast	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.92
NaOH (3M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCl (3M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inóculo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extracto de levadura	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Oxígeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TOTAL	555.64	555.64	45.33	45.33	72.51	36.25	36.25	1.92
<b>Componetes (%)</b>								
Agua	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Aire	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	97.55	97.55	0.00
Ozono	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.45	2.45	0.00
Celulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Hemicelulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Soluble (LAS)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Cenizas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extractivos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glucosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Xilosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Compuestos Fenólicos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Acético	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Oxálico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Fórmico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Etanol	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Novozyme 188	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celluclast	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
NaOH (1M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCl (1M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inóculo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extracto de levadura	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Oxígeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TOTAL	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Tabla 5.8. Balance de materia. Corrientes 33-40.



CORRIENTE	41	42	43	44	45	46	47	48
DE	TK-510	TK-610	TK-610	TK-810	TK-1100	TK-1100	TK-1100	TK-1100
A	R-130B	R-130A	R-130B	R-140	R-210A	R-210B	R-220A	R-220B
FLUJO MÁSSICO (kg/h)	1.92	0.53	0.53	1.21	0.00	0.00	0.03	0.03
CAUDAL (m3/h)	0.0016	0.0005	0.0005	0.0043	0.0020	0.0020	0.0219	0.0219
P (bar)	1	1	1	1	2	2	2	2
T (°c)	20	20	20	20	20	20	20	20
ρ (kg/m3)	1180.00	1122.00	1122.00	279.40	1.43	1.43	1.43	1.43
<b>Componenetes (kg/h)</b>								
Agua	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Aire	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ozono	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Hemicelulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Soluble (LAS)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Cenizas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extractivos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glucosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Xilosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Compuestos Fenólicos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Acético	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Oxálico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Fórmico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Etanol	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Novozyme 188	0.00	0.53	0.53	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celluclast	1.92	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
NaOH (3M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCl (3M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inóculo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
KH2PO4	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00
(NH4)2SO4	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00
MgSO4·7H2O	0.00	0.00	0.00	0.45	0.00	0.00	0.00	0.00
Ca(NO3)2·4H2O	0.00	0.00	0.00	0.45	0.00	0.00	0.00	0.00
Extracto de levadura	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00
Oxígeno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03
TOTAL	1.92	0.53	0.53	1.21	0.00	0.00	0.03	0.03
<b>Componenetes (%)</b>								
Agua	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Aire	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ozono	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Hemicelulosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Insoluble (LAI)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lignina Ácida Soluble (LAS)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Cenizas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Extractivos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glucosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Xilosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Compuestos Fenólicos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Acético	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Oxálico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácido Fórmico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Etanol	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Novozyme 188	0.00	100.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Celluclast	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
NaOH (1M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HCl (1M)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inóculo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
KH2PO4	0.00	0.00	0.00	8.96	0.00	0.00	0.00	0.00
(NH4)2SO4	0.00	0.00	0.00	8.96	0.00	0.00	0.00	0.00
MgSO4·7H2O	0.00	0.00	0.00	37.31	0.00	0.00	0.00	0.00
Ca(NO3)2·4H2O	0.00	0.00	0.00	37.31	0.00	0.00	0.00	0.00
Extracto de levadura	0.00	0.00	0.00	7.46	0.00	0.00	0.00	0.00
Oxígeno	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	100.00	100.00	100.00
TOTAL	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Tabla 5.9. Balance de materia. Corrientes 41-48.

## 5.6. EQUIPOS

### 5.6.1. LISTA DE EQUIPOS

 <b>LISTA DE EQUIPOS</b>			
FECHA CREACIÓN	24/07/2017	PROYECTO	24/07/2017
ELABORADO POR	BEATRIZ JIMÉNEZ	CLIENTE	UNIVERSIDAD DE VALLADOLID
APROBADO POR	SUSANA LUCAS/MÓNICA COCA	LOCALIZACIÓN	BURGOS
DENOMINACIÓN EQUIPO	DESCRIPCIÓN EQUIPO	CANTIDAD	OBSERVACIONES
TK-110	SILO DE ALMACENAMIENTO DE BIOMASA	1	CON TORNILLO SIN FÍN A LA SALIDA
TK-120	SILO DE ALMACENAMIENTO INTERMEDIO DE PAJA EXTRUSADA	1	CON TORNILLO SIN FÍN A LA SALIDA
TK-130	SILO DE ALMACENAMIENTO INTERMEDIO DE PAJA OZONIZADA	1	CON TORNILLO SIN FÍN A LA SALIDA
TK-140	TANQUE DE ALMACENAMIENTO DE PRODUCTO	1	
TK-310	TANQUE DE ALMACENAMIENTO DE AGUA	1	
TK-510	TANQUE DE ALMACENAMIENTO CELLUCLAST	1	
TK-610	TANQUE DE ALMACENAMIENTO NOVOZYME188	1	
TK-710	TANQUE DE ALMACENAMIENTO NaOH	1	
TK-810	TANQUE DE ALMACENAMIENTO HCl	1	
TK-910	TANQUE DE ALMACENAMIENTO DE NUTRIENTES	1	
TK-1100	TANQUE DE ALMACENAMIENTO DE OXÍGENO	1	
R-110 A/B	REACTOR DE OZONIZACIÓN	2	REACTOR DE LECHO FIJO
R-120 A/B	REACTOR DE DETOXIFICACIÓN	2	REACTOR DE MEZCLA COMPLETA
R-130 A/B	REACTOR DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA	2	REACTOR DE MEZCLA COMPLETA ENCAMISADO
R-140	REACTOR DE ESTERILIZACIÓN	1	REACTOR DE MEZCLA COMPLETA ENCAMISADO
R-150 A/B	REACTOR DE FERMENTACIÓN	2	REACTOR DE MEZCLA COMPLETA ENCAMISADO
R-210 A/B	REACTOR DE INÓCULO	2	REACTOR DE MEZCLA COMPLETA ENCAMISADO
R-220 A/B	REACTOR DE PREFERMENTACIÓN	2	REACTOR DE MEZCLA COMPLETA ENCAMISADO
J-110	EXTRUSOR DE BIOMASA	1	
E-110	CALENTADOR DE HIDROLIZADO	1	
E-310	CALENTADOR DE AGUA DE HE	1	
E-710	CALENTADOR DE NaOH	1	
E-810	CALENTADOR DE HCl	1	
P-410	COMPRESOR DE AIRE	1	
Z-410	OZONIZADOR	1	
C-110	CENTRIFUGA DE ELIMINACIÓN DE AGUA CONTAMINADA	1	
C-210	CENTRIFUGA DE ELIMINACIÓN DE SÓLIDOS	1	
H-210	SEDIMENTADOR DE MICROORGANISMOS	1	
P-110 A/B	BOMBA DE TORNILLO PARA PAJA EXTRUSADA	2	
P-120 A/B	BOMBA DE TORNILLO PARA PAJA OZONIZADA	2	
P-140	BOMBA DE TORNILLO DE PAJA DETOXIFICADA	1	
P-150 A/B	BOMBA DE TORNILLO DE HIDROLIZADOS	2	
P-160	BOMBA DE TORNILLO A FERMENTACIÓN	1	
P-210 A/B	BOMBA DE MEMBRANA DE FERMENTADOS	2	
P-220 A/B	BOMBA DE MEMBRANA DE INÓCULO	2	
P-230 A/B	BOMBA DE MEMBRANA DE PREFERMENTACIÓN	2	
P-310	BOMBA CENTRÍFUGA DE AGUA A EXTRUSIÓN	1	
P-320	BOMBA CENTRÍFUGA DE AGUA A DETOXIFICACIÓN	1	
P-330	BOMBA CENTRÍFUGA DE AGUA A HE	1	
P-510	BOMBA DE MEMBRANA CELLUCLAST	1	
P-610	BOMBA DE MEMBRANA NOVOZYME188	1	
P-710	BOMBA DE MEMBRANA NaOH	1	
P-810	BOMBA DE MEMBRANA HCl	1	
P-910	BOMBA DE TORNILLO DE NUTRIENTES	1	

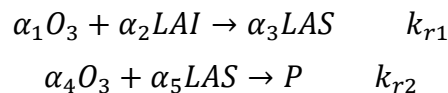
## 5.6.2. DIMENSIONADO DE EQUIPOS

### REACTOR DE OZONÓLISIS

El pretratamiento con ozono es un proceso discontinuo que se lleva a cabo en un reactor de lecho fijo, en el que la lignina se degrada mediante la acción del ozono que es introducido por la parte inferior de la columna.

Para explicar el comportamiento de la ozonólisis de la paja de trigo se decide adoptar un modelo propuesto en la bibliografía en el que existen dos etapas diferenciadas: el transporte del ozono hasta la superficie del sólido y la reacción química superficial del ozono con la lignina [91].

Las reacciones químicas de la lignina insoluble (LAI) y la lignina soluble (LAS) con el ozono ( $O_3$ ) siguen una cinética de segundo orden irreversible:



Donde  $\alpha_i$  son los coeficientes estequiométricos aparentes y  $k_{r1}$  y  $k_{r2}$  son las constantes de reacción de segundo orden. Para dimensionar el reactor se utilizan los valores de estas variables que se exponen en la Tabla 5.10, proporcionados por la bibliografía

$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_3$	$\alpha_4$	$\alpha_5$	$k_{r1}$	$k_{r2}$
1,00	5,20	2,90	1,00	0,26	188	107

Tabla 5.10

Sabiendo los coeficientes estequiométricos en las reacciones de la lignina con el ozono se calculan las concentraciones de LAI y LAS como se muestra en la Ecuación 5.1 y Ecuación 5.2.

$$C_{LAI} = C_{LAI,0} - C_{O_3,0} \cdot X_{O_3} \cdot \frac{\alpha_2}{\alpha_1} \quad \text{Ecuación 5.1}$$

$$C_{LAS} = C_{LAS,0} - C_{O_3,0} \cdot X_{O_3} \cdot \frac{\alpha_5}{\alpha_4} \quad \text{Ecuación 5.2}$$

Siendo  $C_{LAI,0}$ ,  $C_{LAS,0}$  y  $C_{O_3,0}$  las concentraciones iniciales de lignina ácida insoluble, lignina ácida soluble y ozono mientras que  $X_{O_3}$  es el tanto por ciento de conversión de ozono dentro de la columna.

Experimentalmente se conoce la entrada de flujo de ozono que es de 1,8 g  $O_3$ /h o lo que es lo mismo un 2,7-% w/w. La conversión del ozono alcanza el 96 %, calculada como el cociente entre la diferencia de las concentraciones de ozono entre la entrada y salida de la columna dividido por la concentración de ozono a la entrada siguiendo la Ecuación 5.3.

$$X_{O_3} = \frac{C_{O_3,0} - C_{O_3}}{C_{O_3,0}} \quad \text{Ecuación 5.3}$$

En esta etapa se utiliza un reactor de lecho fijo, que sigue un modelo de flujo pistón en el que el volumen del bagazo dentro de la columna se calcula siguiendo la Ecuación 5.3.

$$\tau = \frac{V}{Q} = C_{O_3,0} \int_0^{X_{O_3}} \frac{dX_{O_3}}{(-r_{O_3})} \quad \text{Ecuación 5.4}$$

Donde  $\tau$  es el tiempo de residencia del bagazo dentro de la columna del laboratorio, V es el volumen de bagazo dentro de la misma, Q es el caudal de aire que entra al sistema y  $(-r_{O_3})$  es la velocidad de desaparición del ozono que se corresponde a la siguiente Ecuación 5.5.

$$-r_{O_3} = \alpha_1 \cdot k_{r1} \cdot C_{O_3} \cdot C_{LAI} + \alpha_4 \cdot k_{r2} \cdot C_{O_3} \cdot C_{LAS} \quad \text{Ecuación 5.5}$$

Combinando las ecuaciones anteriores se obtiene la siguiente Ecuación 5.6 con la que se obtiene un tiempo de residencia para el ozono en la columna de  $3,09 \cdot 10^{-3}$  h.

$$\tau = \int_0^{X_{O_3}} \frac{dX_{O_3}}{\alpha_1 k_{r1} (1 - X_{O_3}) (C_{LAI,0} - C_{O_3,0} X_{O_3} \frac{\alpha_2}{\alpha_1}) + \alpha_4 k_{r2} (1 - X_{O_3}) (C_{LAS,0} - C_{O_3,0} X_{O_3} \frac{\alpha_5}{\alpha_4})} \quad \text{Ecuación 5.6}$$

Sabiendo el tiempo de residencia del gas, que el caudal de aire experimental es de 60 L/h y utilizando la Ecuación 5.4 se calcula un volumen del lecho dentro del reactor experimental de  $185,15 \text{ cm}^3$ .

En la planta se dispondrá de dos reactores de ozonización que se alimentan por un flujo másico cada uno de 8,9 kg/h de paja de trigo extrusada al 40 % (w/w) de humedad aproximadamente, se mantiene como tiempo de operación el tiempo de reacción optimizado experimentalmente, 30 minutos, y puesto que la operación se realiza de manera discontinua se establecen unos tiempos de carga y descarga de 15 minutos cada uno, de tal manera que el tiempo total por ciclo es 1 h.

El escalado del reactor de la planta piloto se realiza manteniendo constante la relación masa por carga y volumen de bagazo en el reactor experimental, según la Ecuación 5.7.

$$\frac{m_1/carga}{V_1} = \frac{m_2/carga}{V_2} \quad \text{Ecuación 5.7}$$

Sabiendo que el flujo másico de la planta piloto son 8,9 kg/h y que el ciclo dura 1 h, se calcula que el flujo másico por carga para la columna de la planta piloto es de 8,9 kg. Conociendo el volumen ocupado por el lecho de paja de trigo en la columna experimental, calculado anteriormente y sabiendo que en dicha columna se realizaban cargas de 18 g de paja, se obtiene un volumen para el segundo sistema de  $0,09 \text{ m}^3$ .

Conociendo el volumen y estableciendo una relación entre la altura y el diámetro de la columna de 4 se obtienen unas dimensiones para la columna de la planta de 0,3 m de diámetro y 1,2 m de altura.

El flujo de aire de la columna calculado mediante la Ecuación 5.4, considerando el mismo tiempo de residencia que el del laboratorio, alcanza  $29,67 \text{ m}^3/\text{h}$ , lo que significa que cada columna es alimentada por  $0,89 \text{ kg/h}$  de ozono.

La temperatura de diseño se fija como la temperatura de operación más  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , por lo tanto en este caso la temperatura de diseño del reactor es  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Para calcular el espesor del reactor es necesario conocer la presión de diseño del reactor que se calcula como el máximo valor entre la presión de operación por un factor de seguridad de 1,1 o la presión de operación más 2 bar. Donde la presión de operación ( $P_{op}$ ) no es sólo la presión de trabajo, ya que el fluido ejerce presión hidrostática sobre las paredes del tanque, por tanto la presión de operación se calcula siguiendo la Ecuación 5.8:

$$P_{op} = 1 \text{ bar} + \rho \cdot g \cdot L \quad \text{Ecuación 5.8}$$

Siendo  $\rho$  la densidad del lecho,  $g$  la fuerza de gravedad y  $L$  la longitud del lecho. Se calcula para el reactor de ozonólisis una presión de operación de 2,07 bares y 4,07 bares de presión de diseño.

Para calcular el espesor del reactor se ha utilizado la norma ASME sección VIII, División 1, según la cual el espesor del cilindro responde a la Ecuación 5.9.

$$t = \frac{P_d \cdot R_T}{S \cdot E - 0,6 \cdot P_d} + c \quad \text{Ecuación 5.9}$$

Donde  $t$  es el espesor del tanque,  $P_d$  la presión de diseño,  $R_T$  el radio del tanque,  $S$  el límite elástico del material de construcción,  $E$  la eficacia de la soldadura y  $c$  el sobreespesor por corrosión.

El límite elástico es función del material escogido y de la temperatura de operación del equipo, para el acero SS 316 y temperaturas de 0-50 °C el límite elástico de este material es 175 N/mm<sup>2</sup> [92].

Las soldaduras son discontinuidades que pueden debilitar el material, por ello se introduce una corrección del módulo elástico que es el factor de soldadura y toma un valor de 0,85 [92].

Se determina un sobreespesor de corrosión que es igual a la máxima corrosión prevista para el material en 10 años, este parámetro toma valores de 1 a 10 mm y sirve para compensar la corrosión que van sufriendo los equipos. Se decide que el margen por corrosión para el cilindro sea de 7,5 mm.

Tras hacer los cálculos se obtiene un espesor para el cilindro de 8 mm.

El fondo del recipiente soporta mayores presiones, por ello su espesor ( $t_{inferior}$ ) es ligeramente mayor obteniéndose mediante la Ecuación 5.10:

$$t_{inferior} = \frac{P_d \cdot D_T}{2 \cdot S \cdot E - 0,2 \cdot P_d} + c \quad \text{Ecuación 5.10}$$

En este caso para tener un mayor margen se establece un sobreespesor por corrosión de 10 mm, lo que nos da un espesor total del fondo del tanque de 11 mm.

## REACTOR DE DETOXIFICACIÓN

En este reactor se lleva a cabo el lavado de la paja con agua tras el pretratamiento para la reducción de compuestos tóxicos. El proceso se realiza mediante dos reactores de mezcla completa o tanque agitado en los que se introduce de forma continua la paja proveniente de la etapa de ozonólisis y agua a temperatura ambiente; la salida de la paja lavada también se realiza de forma continua. En la Tabla 5.11 se muestran las condiciones de operación del tanque, presión, temperatura y tiempo de residencia, así como el flujo de entrada y sus propiedades físicas:

<b>Presión de trabajo</b>	$P$	1 bar
<b>Temperatura de operación</b>	$T$	20 °C
<b>Tiempo de residencia</b>	$T_{res}$	0,25 h
<b>Flujo másico</b>	$\dot{m}$	564,31 kg/h
<b>Caudal</b>	$Q$	0,569 m <sup>3</sup> /h
<b>Densidad</b>	$\rho$	991,96kg/m <sup>3</sup>
<b>Viscosidad</b>	$\mu$	0,001003 pa·s

Tabla 5.11. Condiciones de operación y características del flujo de entrada al reactor de detoxificación

Al ser un proceso continuo el volumen del reactor se puede calcular mediante la siguiente expresión (Ecuación 5.11):

$$V = Q \cdot T_{res} \quad \text{Ecuación 5.11}$$

Conociendo los datos del caudal y el tiempo de operación, recogidos en la Tabla 5.11, se obtiene un volumen nominal de 140 L, que se va a sobredimensionar un 30%, por motivos de seguridad y para evitar desbordamientos puntuales, de tal manera que el volumen total del reactor será de 182 L.

Para el diseño del tanque se ha elegido un reactor cilíndrico, en el que la altura del líquido en el tanque no sobrepasará la medida del diámetro del mismo; no es conveniente tener reactores de gran altura, en los que existan zonas muertas por la falta de alcance del agitador. El fondo del reactor será plano, ya que no es un reactor muy grande, en el que no se crearán zonas estancadas, no siendo necesaria una geometría más compleja.

Experimentalmente en esta etapa se ha trabajado con altas velocidades de giro (>1000 rpm), por ello se elige como agitador de esta etapa la hélice marina, que es muy versátil y trabaja a altas velocidades de giro (40-290 o 750-1500 rpm). En los reactores de tanque agitado tienden a formarse torbellinos, para evitar este fenómeno, se colocarán dos placas deflectoras en el interior del tanque mejorando así la eficiencia de la agitación.

Para diseñar la geometría del tanque, agitador y baffles se utilizarán las dimensiones estándar para un tanque agitado que se representan en la Figura 5.4.

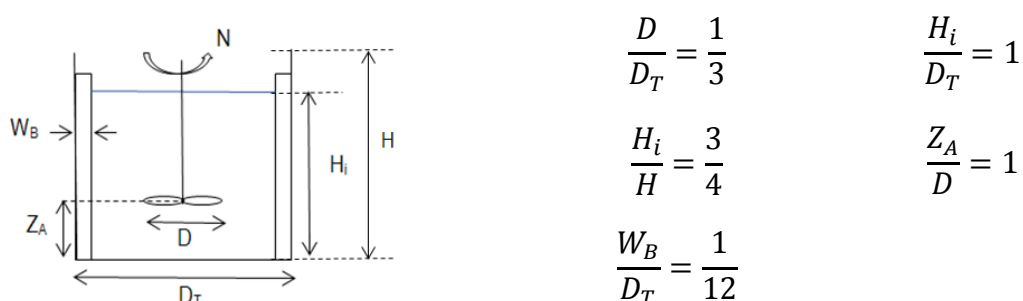


Figura 5.4. Dimensiones típicas de un reactor de tanque agitado

Utilizando las relaciones expuestas anteriormente se obtienen las siguientes dimensiones para el tanque de detoxificación (Tabla 5.12):

REACTOR		
Volumen tanque	$V$	0,18 m <sup>3</sup>
Volumen nominal tanque	$V_N$	0,14 m <sup>3</sup>
Sobredimensionamiento		30 %
Diámetro del tanque	$D_T$	0,57 m
Altura tanque	$H$	0,74 m
Altura líquido	$H_i$	0,57 m
BAFLES		
Número baffles		2
Ancho baffle	$W_B$	0,05 m
AGITADOR		
Tipo de agitador		Hélice Marina
Número de palas		3
Número de agitadores		1
Diámetro agitador	$D$	0,19 m
Posición agitador al fondo del tanque	$Z_A$	0,19 m

Tabla 5.12. Dimensiones reactor de detoxificación.

Para realizar el cambio de escala del reactor se presentan dos alternativas: mantener constante la potencia por unidad de volumen o mantener constante la velocidad periférica. El criterio de velocidad tangencial constante se considera un mal método de escalamiento que sólo se utiliza cuando hay que realizar cultivos con células o microorganismos sensibles. En el presente trabajo se utilizará para escalar el criterio de potencia del agitador por unidad de volumen constante ya que es uno de los métodos de escalamiento más usados, sobre todo cuando la tarea principal del agitador es el mezclado, a partir de este criterio se puede mantener constante la turbulencia en la descarga, aunque disminuye la turbulencia en la pared al incrementar el volumen del recipiente y se reduce la velocidad de giro del agitador, sin embargo el Reynolds aumenta. La condición de similitud para este método es la siguiente (Ecuación 5.12):

$$\frac{P_1}{V_1} = \frac{P_2}{V_2} \quad \text{Ecuación 5.12}$$

La potencia del agitador del sistema del laboratorio es calculada mediante la siguiente Ecuación 5.13 para flujos turbulentos:

$$P = k_T \rho N^3 D^5 \quad \text{Ecuación 5.13}$$

Donde  $k_T$  es una constante función del agitador,  $\rho$  es la densidad de la mezcla,  $N$  es la velocidad de giro del impulsor y  $D$  el diámetro del impulsor. La constante  $K_T$  estándar para un agitador de hélice de tres palas es 0,32, la densidad del fluido en esta parte del proceso es  $992 \text{ kg/m}^3$  y experimentalmente se utilizó un agitador de 20 mm de diámetro a una velocidad de giro de 1500 rpm, con estos datos se obtiene una potencia de 0,93 W para un volumen de 2L.

Conociendo la potencia y el volumen utilizados en los ensayos experimentales, se puede concluir que la potencia necesaria para la agitación de la etapa de detoxificación es 0,07 kW para un volumen de 140 L. Sin embargo la potencia real ( $P_{Real}$ ) consumida por el sistema de agitación es siempre mayor que la potencia calculada ( $P$ ), además hay que tener en cuenta que la potencia calculada según la Ecuación 5.13 corresponde a un sistema con un único agitador. Para el cálculo de la potencia real se utilizará la Ecuación 5.14 en la que se tiene en cuenta la eficiencia del motor ( $\eta$ ), las pérdidas por fricción del sistema de agitación ( $P_{fr}$ ) y el número de impulsores del sistema ( $n$ ).

$$P_{Real} = \frac{P n (1 + P_{fr})}{\eta} \quad \text{Ecuación 5.14}$$

Estableciendo las siguientes premisas: eficiencia del motor de 0,7 y un 35% de pérdidas por fricción se obtiene una potencia real consumida por el agitador de 0,13 kW.

El número de potencia ( $N_p$ ), es un número adimensional importante en la caracterización de la agitación, representa la resistencia del agitador en el fluido. El  $N_p$  es el cociente entre la fuerza suministrada al sistema y la fuerza de inercia (Ecuación 5.15)

$$N_p = \frac{P}{\rho N^3 D^5} \quad \text{Ecuación 5.15}$$

Se ha decidido establecer 0,30 como  $N_p$  para el sistema de agitación de la detoxificación, puesto que es un valor típico de los impulsores de hélice en regímenes turbulentos. A partir de estos datos y mediante el uso de la Ecuación 5.15 se calcula la velocidad de giro del agitador que alcanza un valor de 587 rpm.

Otro número adimensional característico de los sistemas de agitación es el número de Reynolds ( $Re$ ) que es la relación entre la fuerza de inercia característica de mezclado y la fuerza viscosa según muestra la Ecuación 5.16. Si el  $Re$  es mayor de  $10^4$  el régimen del sistema es turbulento. En este caso concreto se obtiene un número de Reynolds de  $3,44 \cdot 10^5$ .

$$Re = \frac{ND^2\rho}{\mu} \quad \text{Ecuación 5.16}$$

El número de bombeo o número de flujo es una forma adimensional de expresar la cantidad de material dispersado por la rotación del impulsor, relacionando el flujo de bombeo del impulsor ( $Q_P$ ) con la velocidad y tamaño del mismo según la expresión de la Ecuación 5.17:

$$N_Q = \frac{Q_P}{ND^3} \quad \text{Ecuación 5.17}$$

Utilizando los valores estandarizados de  $N_Q$  característicos para cada tipo de agitador, representados en la Tabla 5.13, se calcula la capacidad de bombeo del impulsor que toma el valor de  $0,03 \text{ m}^3/\text{s}$  para un número de bombeo medio de  $0,5$ .

Tipo de impulsor	Número de bombeo ( $N_Q$ )
Hélice marina	0,4-0,6
Turbina de paletas inclinadas	0,79
Impulsor de hojas curvas	0,3
Turbina de paletas planas	0,7
Turbina de disco y hojas planas (Rushton)	0,72
Turbina de hojas cóncavas (Rushton)	0,76

Tabla 5.13. Números de bombeo estandarizados de diferentes sistemas de agitación [93]

En la Tabla 5.14 se muestran los resultados obtenidos para el sistema de agitación:

Potencia	$P$	0,07 kW
Potencia real	$P_{Real}$	0,13 kW
Número de potencia	$N_p$	0,30
Velocidad de giro	$N$	587 rpm
Número de Reynolds	$Re$	$3,44 \cdot 10^5$
Número de bombeo	$N_Q$	0,50
Caudal de bombeo	$Q_P$	$0,03 \text{ m}^3/\text{s}$

Tabla 5.14. Valores característicos del sistema de agitación de la detoxificación

La temperatura de diseño se fija como la temperatura de operación más  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , por lo tanto en este caso la temperatura de diseño del tanque es  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Para calcular el espesor del tanque se calcula primero la presión de diseño del reactor, que es el máximo valor entre la presión de operación por un factor de seguridad de  $1,1$  o la presión de operación



más 2 bar. Donde la presión de operación ( $P_{op}$ ) es la suma de la presión de trabajo y la presión hidrostática según la Ecuación 5.8:

$$P_{op} = 1 \text{ bar} + \rho \cdot g \cdot H_i \quad \text{Ecuación 5.18}$$

Para el reactor de detoxificación se calcula una presión de operación de 1,05 bares y 3,05 bares de presión de diseño.

Para calcular el espesor del reactor se ha utilizado la norma ASME sección VIII, División 1, con un límite elástico de 175 N/mm<sup>2</sup> para el acero SS 316 en temperaturas de 0-50 °C, 0,85 de factor de soldadura y sobreespesores de corrosión de 7,5 mm para el cilindro y 10 mm para el fondo del tanque. Se obtienen unos espesores de 8 y 11 mm para el cilindro y el fondo del tanque, respectivamente.

## **REACTOR DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA**

La hidrólisis enzimática tiene como objetivo la obtención de azúcares fermentables a partir de las cadenas de celulosa y hemicelulosa mediante la utilización de enzimas. Para conseguir homogeneidad y un buen contacto de las enzimas con el material se opta por dos reactores de mezcla completa operando en continuo. Los reactores dispondrán de tres entradas principales: el material pretratado, con un flujo de 5,32 kg MS/h por reactor; el complejo enzimático, formado por celulasas y xilanasas en unas proporciones de 0,36 g Celluclast/g MS (20 FPU/g MS) y 0,1 g de Novozyme 188/g MS (40 CBU/g MS); y agua en la cantidad suficiente para conseguir una suspensión en el interior del 10% (w/w), previamente calentada en un intercambiador de calor para evitar la formación de grandes gradientes de temperatura en el interior del tanque.

Cada reactor dispondrá de una camisa de acero inoxidable por la que circulará agua a la temperatura suficiente para alcanzar la temperatura de operación (50 °C) en el interior del tanque. Para controlar el pH los reactores dispondrán de sondas y se añadirá ácido o base en función de las necesidades de proceso para mantener el pH de operación en 4,8. La salida del reactor es un caldo rico en azúcares fermentables, 0,74 kg/h de glucosa y 0,26 kg/h de xilosa.

Las condiciones de operación y las propiedades físicas del flujo de entrada de cada reactor son las que se muestran en la Tabla 5.15.

<b>Presión de trabajo</b>	$P$	1 bar
<b>Temperatura de operación</b>	$T$	50 °C
<b>pH</b>	$pH$	4,8
<b>Tiempo de residencia</b>	$T_{res}$	48 h
<b>Flujo másico</b>	$\dot{m}$	52,01 kg/h
<b>Caudal</b>	$Q$	0,055 m <sup>3</sup> /h
<b>Densidad</b>	$\rho$	949,32kg/m <sup>3</sup>
<b>Viscosidad</b>	$\mu$	0,0009299 Pa·s

Tabla 5.15. Condiciones de operación y características del flujo de entrada a cada uno de los reactor de hidrólisis enzimática

El volumen del depósito se calcula a partir del producto entre el caudal que circula (0,055 m<sup>3</sup>/h) y el tiempo de residencia en el mismo (48 h), con lo que se obtiene una capacidad nominal de 2,63 m<sup>3</sup>, este dato se sobredimensiona un 30% por motivos de seguridad, obteniendo una capacidad total del tanque de 3,43 m<sup>3</sup>. Al ser un tanque lo suficientemente grande como para que existan volúmenes muertos de

agitación, se decide que la geometría del tanque sea cilíndrica con un fondo elipsoidal para evitar que se produzca este fenómeno indeseable.

Experimentalmente se utilizaron dos reactores de vidrio encamisados de 250 mL de capacidad nominal, con 75 mm de diámetro y 97,5 mm de altura, en los que el líquido alcanzó una altura de 75 mm. Como agitador se utilizó un único impulsor de hélice marina de 30 mm de diámetro situado a una altura aproximada de 25 mm con respecto al fondo del tanque. Con el objetivo de mantener el comportamiento hidrodinámico conseguido en el laboratorio se mantendrá la semejanza geométrica con el reactor del experimental, que responde a las relaciones típicas de un reactor de tanque agitado expuestas en la Figura 5.5.

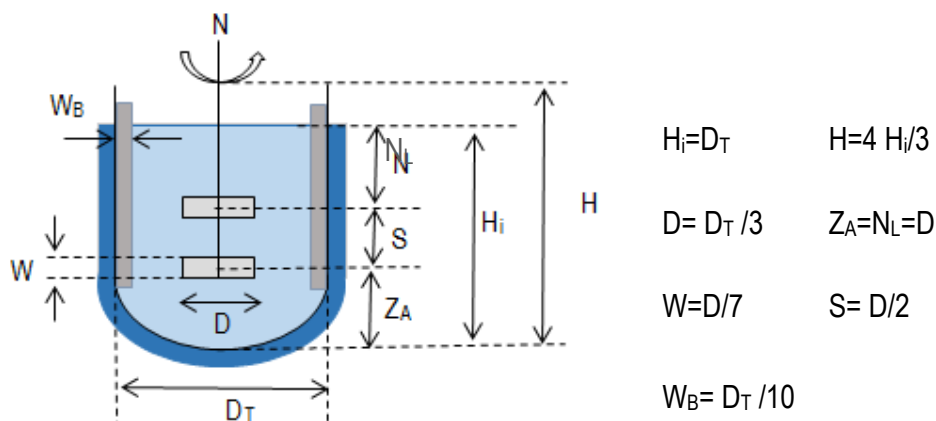


Figura 5.5. Aspecto del reactor de hidrólisis y dimensiones utilizadas para su diseño geométrico

Conociendo el volumen del reactor y utilizando las relaciones de la Figura 5.5 se calculan el resto de dimensiones del reactor, baffles y agitador que se representan en la Tabla 5.16.

REACTOR		
Volumen tanque	$V$	3,43 m <sup>3</sup>
Volumen nominal tanque	$V_N$	2,63 m <sup>3</sup>
Sobredimensionamiento		30 %
Diámetro del tanque	$D_T$	1,56 m
Altura tanque	$H$	1,98 m
Altura líquido	$H_i$	1,56 m
BAFLES		
Número baffles		4
Ancho baffle	$W_B$	0,16 m
AGITADOR		
Tipo de agitador		Turbina
Número de palas		4 palas inclinadas 45°
Número de agitadores		2
Diámetro agitador	$D$	0,52 m
Ancho de la pala	$W$	0,07 m
Posición agitador al fondo del tanque	$Z_A$	0,52 m
Distancia del agitador al nivel del líquido	$N_L$	0,52 m
Distancia entre agitadores	$S$	0,26 m

Tabla 5.16. Dimensiones reactor de hidrólisis enzimática

Se montarán dos agitadores de tipo turbina sobre el mismo eje para mejorar la eficiencia de la agitación y evitar la existencia de zonas estancadas por falta de alcance del impulsor. Las enzimas hidrolizan y disminuyen la viscosidad de la suspensión, aun así necesitamos un agitador versátil en cuanto a viscosidad, que genere una turbulencia suficiente para garantizar el contacto entre las enzimas y la biomasa y que mantenga una buena transferencia de calor para conseguir homogeneidad de la temperatura de operación en todo el tanque, por todo ello se selecciona la turbina de cuatro palas inclinadas 45° como una buena opción de agitación para la etapa de hidrólisis. El tanque está provisto en su interior de cuatro baffles que serán suficientes para evitar la formación de torbellinos en su interior.

El criterio de escalado utilizado es mantener constante la potencia de agitación por unidad de volumen con respecto al reactor utilizado en el laboratorio, para ello calculamos primero la potencia de agitación del agitador experimental mediante la Ecuación 5.13, obteniendo un valor de 0,07 W. Con este dato y utilizando la Ecuación 5.12 se obtiene una potencia de 0,38 kW para un volumen de 2,63 m<sup>3</sup>. Teniendo en cuenta la eficiencia del motor (0,7), las pérdidas por fricción (35%) y el número de agitadores (2) la potencia real consumida por el sistema alcanza 1,47 kW.

Se selecciona el valor de 1,30 como número de potencia para un agitador tipo turbina abierta de 4 palas inclinadas 45° para régimen turbulento, obtenido a partir de la curva 3 de la Figura 5.6, que representa el número de potencia para diferentes agitadores en un tanque con 4 deflectores. De esta manera es posible calcular la velocidad de giro del sistema de agitación que alcanza un valor de 121 rpm.

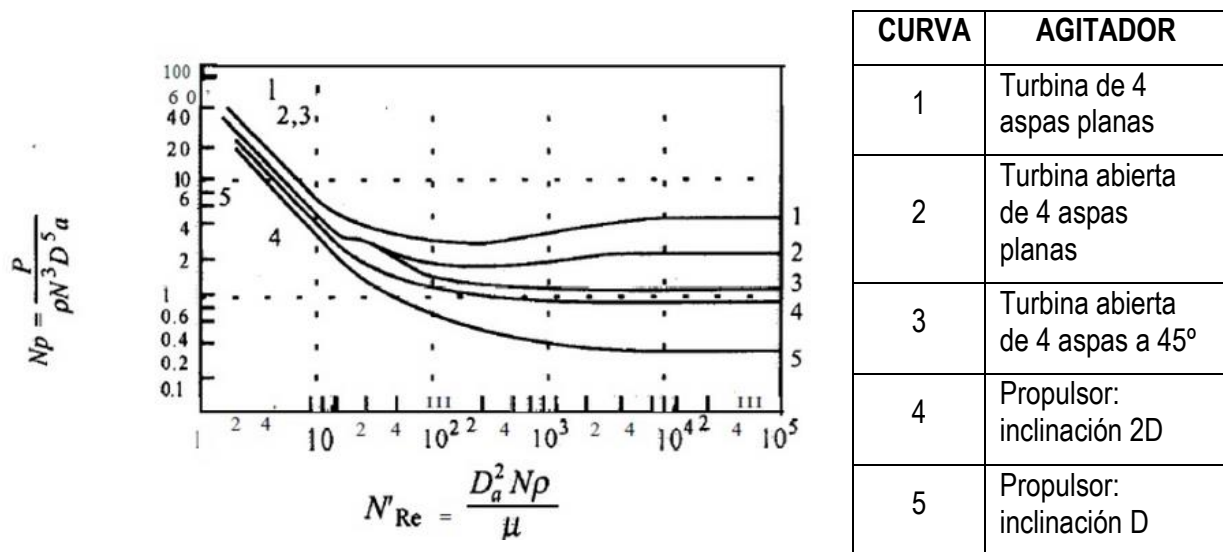


Figura 5.6. Representación del número de potencia en función del Reynolds para diferentes agitadores

Para comprobar que realmente el régimen es turbulento se calcula el número de Reynolds, que da un valor de  $5,54 \cdot 10^5$ , al ser mayor de  $10^4$  efectivamente el régimen es turbulento.

Por último se calcula el caudal de bombeo a partir del número de bombeo típico de un agitador de turbina con cuatro palas inclinadas (Tabla 5.13). El caudal removido por el agitador alcanza un valor de 0,22 m<sup>3</sup>/s.

En la Tabla 5.17 se resumen los valores característicos de la agitación para el reactor de hidrólisis enzimática calculados con anterioridad

<b>Potencia</b>	$P$	0,38 kW
<b>Potencia real</b>	$P_{Real}$	1,47 kW
<b>Número de potencia</b>	$N_p$	1,30
<b>Velocidad de giro</b>	$N$	121 rpm
<b>Número de Reynolds</b>	$Re$	$5,54 \cdot 10^5$
<b>Número de bombeo</b>	$N_Q$	0,79
<b>Caudal de bombeo</b>	$Q_p$	0,22 m <sup>3</sup> /s

Tabla 5.17. Valores característicos del sistema de agitación de la hidrólisis enzimática

El proceso de hidrólisis se lleva a cabo a una temperatura de 50°C, por lo que necesitamos calcular las necesidades de aporte de calor en esta etapa que responden a la siguiente expresión (Ecuación 5.19):

$$\dot{Q} = \dot{m} \cdot c_p \cdot \Delta T - \dot{Q}_a \quad \text{Ecuación 5.19}$$

Donde  $\dot{Q}$  es el calor por unidad de tiempo que se necesita aportar al sistema expresado en (kJ/s),  $\dot{Q}_a$  es el calor que proporciona la agitación,  $\dot{m}$  es el caudal de fluido que entra al reactor,  $c_p$  es el calor específico de la mezcla y  $\Delta T$  es la diferencia de temperaturas entre las corrientes de entrada y salida del reactor.

Como calor específico de la mezcla, se asume el valor del calor específico del agua, puesto que es mayoritario en la mezcla. La temperatura de la corriente de salida será la temperatura de operación. Para la temperatura de entrada hay que tener en cuenta la existencia de tres corrientes, una de agua, precalentada hasta los 35 °C y otra de biomasa y enzimas que se encuentran a temperatura ambiente, haciendo una ponderación se establece que la temperatura de la mezcla de entrada es 33° C. Por otro lado,  $\dot{Q}_a$  representa el calor desprendido por el sistema de agitación, o lo que es lo mismo las pérdidas por fricción, que suponían el 35%. Con todos estos datos se obtienen unas necesidades de aporte de calor de 1,02 kW para conseguir la temperatura deseada en el reactor de HE. En la Tabla 5.18 se representan las características de entrada y salida del fluido, el calor aportado por el sistema de agitación y las necesidades de calor a aportar por la camisa calefactora.

<b>Flujo másico</b>	$\dot{m}$	52,01 kg/h
<b>Capacidad calorífica</b>	$c_p$	4,18 kJ/(kg K)
<b>Temperatura de entrada</b>	$T_{in}$	33 °C
<b>Temperatura de salida</b>	$T_{out}$	50 °C
<b>Calor de agitación</b>	$\dot{Q}_a$	2,66 W
<b>Calor del proceso</b>	$\dot{Q}$	1,02 kW

Tabla 5.18. Tabla resumen de los cálculos de calor del proceso de HE.

El calor necesario, obtenido anteriormente, es aportado por la camisa del reactor, cuya transferencia de calor por unidad de tiempo responde a la Ecuación 5.20:

$$\dot{Q} = U \cdot A \cdot \Delta T \quad \text{Ecuación 5.20}$$

Donde  $U$  es el coeficiente global de transmisión de calor entre el reactor y el sistema calefactor medido en  $W \cdot m^{-2} \cdot K^{-1}$ ,  $A$  es el área de transmisión y  $\Delta T$  la variación de temperatura entre el reactor y el refrigerante.

El área de transmisión de calor entre la camisa y el fluido calefactor se corresponde al área de la parte del tanque ocupada por suspensión en su interior. Por lo tanto, el área de transferencia será la suma del área del cilindro con altura  $H_i$  y el área de la tapa elipsoidal inferior del reactor, con lo que se obtiene una superficie total de intercambio de  $9,34 \text{ m}^2$

El coeficiente global de transmisión de calor viene definido por una serie de resistencias a la transferencia de calor mediante la siguiente expresión (Ecuación 5.21):

$$\frac{1}{U} = \frac{1}{h_i} + R_f + \frac{x}{k} + R_s + \frac{1}{h_j} \quad \text{Ecuación 5.21}$$

Donde  $h_i$  y  $h_j$  expresan el coeficiente de transmisión de calor por convección en cada lado de la pared del recipiente, respectivamente, el término  $x/k$  es el coeficiente de transmisión de calor por conducción de la pared del tanque,  $R_s$  es la resistencia térmica por incrustación y  $R_f$  el factor de ensuciamiento. Esta ecuación es válida únicamente para tanques con diámetro muy superior a su espesor.

El coeficiente de transmisión interno ( $h_i$ ) se calcula a partir de las propiedades físicas de la mezcla y del sistema de agitación, como se muestra en la Ecuación 5.22 para regímenes turbulentos:

$$\frac{h_i D_T}{k} = 0,238 \cdot Re^{0,67} \cdot Pr^{0,33} \cdot \left(\frac{\mu}{\mu_w}\right)^{0,14} \cdot \left(\frac{p}{D}\right)^{-0,25} \quad \text{Ecuación 5.22}$$

Donde  $h_i$  es el coeficiente por convección interior,  $D_T$  el diámetro del tanque,  $k$  es la conductividad térmica de la suspensión,  $Re$  el número de Reynolds,  $Pr$  en el número de Prandtl,  $\mu$  y  $\mu_w$  son las viscosidades de la mezcla dentro del reactor y en la pared de éste y  $D$  y  $p$  son el diámetro y el paso del impulsor, respectivamente.

El número de Reynolds ( $Re$ ) de la mezcla fue calculado con anterioridad y toma un valor de  $5,54 \cdot 10^5$ .

El número de Prandtl es un número adimensional que responde a la siguiente Ecuación 5.23:

$$Pr = \frac{cp \cdot \mu}{k} \quad \text{Ecuación 5.23}$$

Como valor de  $k$  se tomará la conductividad térmica del agua ( $0,58 \text{ W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ), puesto que es el componente mayoritario de la suspensión y lo mismo ocurre con el valor de la capacidad calorífica ( $cp$ ). El número de  $Pr$  correspondiente al sistema es  $6,69$ .

Se establece la premisa de que la viscosidad es constante en todo el reactor, puesto que es de mezcla perfecta siendo  $0,00093 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ . Además se supone que el paso del agitador corresponde al valor del diámetro del mismo o lo que es lo mismo  $520 \text{ mm}$ .

Con todos estos datos se obtiene un coeficiente de transmisión interno de  $519 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{K}^{-1}$ .

Para calcular el coeficiente de transmisión exterior  $h_j$  es necesario elegir previamente el tipo de fluido que circulará por la camisa y el tipo de camisa a instalar. El fluido seleccionado es agua, ya que es un fluido muy utilizado y económico. Se selecciona una camisa con deflectores en espiral (Figura 5.7) con el fin de reducir la resistencia térmica del sistema. La velocidad alcanzada por el líquido en el interior alcanza valores de  $1.2 \text{ m/s}$  y el ancho típico de la camisa es de  $65 \text{ mm}$ .

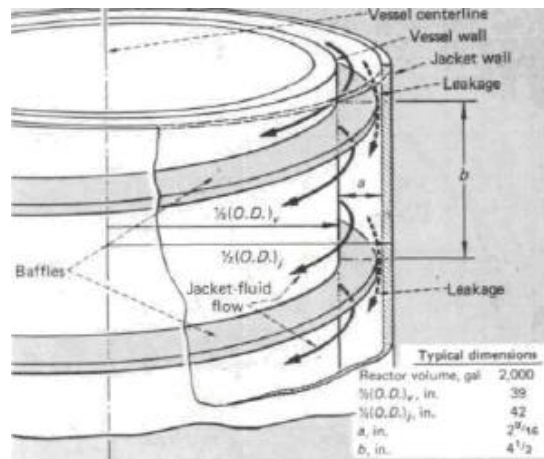


Figura 5.7. Camisa de reactor con deflectores en espiral

El coeficiente de transferencia exterior se calcula mediante la Ecuación 5.24:

$$\frac{h_j D_e}{k} = 0,027 \cdot Re^{0,8} \cdot Pr^{0,33} \cdot \left(\frac{\mu}{\mu_w}\right)^{0,14} \cdot \left(1 + 3,5 \frac{D_e}{D_{ext}}\right) \quad \text{Ecuación 5.24}$$

En la que  $h_j$  es el coeficiente por convección de la camisa,  $k$  es la conductividad térmica del fluido calefactor,  $D_e$  es el diámetro equivalente, lo que corresponde a cuatro veces el ancho de la camisa,  $Re$  y  $Pr$  son los números de Reynolds y de Prandtl para la camisa,  $\mu$  y  $\mu_w$  son en este caso las viscosidades del líquido en la camisa y en la pared de ésta, y  $D_{ext}$  se corresponde con el diámetro exterior del tanque, es decir,  $D_T$  más el espesor del mismo.

Para calcular el Reynolds dentro de la camisa (Ecuación 5.25) es necesario conocer la densidad y viscosidad del agua dentro de la misma, sin embargo ambas propiedades son función de la temperatura y éste es un dato desconocido hasta el momento. En la camisa el flujo es de mezcla por lo que la temperatura de la misma se establece como la media entre la temperatura de entrada y de salida. Los cálculos se realizan por iteración, suponiendo una temperatura media y una diferencia de temperaturas entre ambos flujos de 10 °C. Con la densidad y viscosidad de la temperatura media supuesta se calculan todos los números adimensionales, los coeficientes de transmisión de calor tanto externo, como global y las temperaturas de entrada y salida de la camisa. A partir de estas temperaturas calculadas se calcula la nueva temperatura media con cuya densidad y viscosidad se realizan nuevamente todos los cálculos. La iteración finalizará cuando la temperatura media calculada para la camisa sea aproximadamente la temperatura media supuesta.

Se supone una temperatura media de la camisa de 90 °C. La densidad y viscosidad del agua a dicha temperatura son 965,3 kg/m<sup>3</sup> y 3,17 · 10<sup>-4</sup> Pa · s.

$$Re = \frac{\rho \cdot v \cdot D_e}{\mu} \quad \text{Ecuación 5.25}$$

El Reynolds obtenido en la chaqueta es 9,50 · 10<sup>5</sup> para una velocidad de 1,2 m/s y un diámetro equivalente de 0,26 m.

Del mismo modo que para la chaqueta, se establece constante la viscosidad dentro de la misma y se calcula el Pr que toma un valor de 2,18 para una conductividad del agua de 0,58 W · m<sup>-1</sup> · K<sup>-1</sup>.

Con todos estos datos se puede concluir que el valor del coeficiente de transferencia de calor exterior es 2417 W · m<sup>-2</sup> · K<sup>-1</sup>.

El término de conductividad del tanque se calcula a partir de los valores del espesor del reactor y de la conductividad térmica del material del que esté fabricado. Se decide fabricar el reactor con acero inoxidable SS316, ya que cuenta con propiedades específicas de resistencia a la corrosión. La conductividad térmica para este material es de  $16,2 \text{ W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ . Para calcular el espesor del tanque se hace un promedio entre los espesores del cilindro y de la tapa inferior del tanque, obteniendo un valor de 10 mm. Por lo tanto la conductividad térmica del tanque es  $6,4 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2 \cdot \text{K} \cdot \text{W}^{-1}$ .

Por último, falta conocer los coeficientes de ensuciamiento ( $R_f$ ) y de resistencia por incrustaciones ( $R_s$ ), éstas son variables difíciles de calcular y por ello están tabuladas. En este caso  $R_s$  es  $3,52 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2 \cdot \text{K} \cdot \text{W}^{-1}$  y  $R_f$   $1,8 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2 \cdot \text{K} \cdot \text{W}^{-1}$ .

En la Tabla 5.19 se resumen todos los valores de los coeficientes obtenidos así como el valor obtenido del coeficiente global (U):

<b>Coefficiente de convección interior</b>	$h_i$	$519 \frac{\text{W}}{\text{m}^2 \cdot \text{K}}$
<b>Coefficiente de convección exterior</b>	$h_j$	$2417 \frac{\text{W}}{\text{m}^2 \cdot \text{K}}$
<b>Coefficiente de conductividad</b>	$x/k$	$6,4 \cdot 10^{-4} \frac{\text{m}^2 \cdot \text{K}}{\text{W}}$
<b>Coefficiente de ensuciamiento</b>	$R_f$	$1,8 \cdot 10^{-4} \frac{\text{m}^2 \cdot \text{K}}{\text{W}}$
<b>Coefficiente de corrosión</b>	$R_s$	$3,52 \cdot 10^{-4} \frac{\text{m}^2 \cdot \text{K}}{\text{W}}$
<b>Coefficiente global</b>	$U$	$285 \frac{\text{W}}{\text{m}^2 \cdot \text{K}}$

Tabla 5.19. Coeficientes de transmisión de calor en el reactor de hidrólisis

Conociendo U, A y  $\dot{Q}$  se obtiene mediante la Ecuación 5.20 la variación de temperatura entre el reactor y la camisa que es de  $39,7 \text{ }^\circ\text{C}$ . Este valor se puede utilizar para calcular las temperaturas de entrada y salida del agua a la camisa resolviendo la Ecuación 5.26:

$$\Delta T = \left( \frac{T_{1c} + T_{2c}}{2} \right) - T_r \quad \text{Ecuación 5.26}$$

Donde  $\Delta T$  es la variación entre la temperatura del reactor y la camisa y  $T_{1c}$  y  $T_{2c}$  son las temperaturas de entrada y salida a la camisa del fluido caloportador, respectivamente, mientras que  $T_r$  es la temperatura del reactor, que al ser de mezcla perfecta, se corresponde con la temperatura de operación. Sabiendo que la temperatura de operación es de  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , que la diferencia entre las temperaturas de la camisa es de  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  y resolviendo la Ecuación 5.26, se obtiene un valor aproximado para  $T_{1c}$  de  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  y de  $85 \text{ }^\circ\text{C}$  para  $T_{2c}$ . La media entre estas dos temperaturas es  $90 \text{ }^\circ\text{C}$  que es el mismo valor que el supuesto, dando por finalizada la iteración.

Para calcular el flujo másico de agua necesario para realizar el proceso de calentamiento se realiza un balance energético al fluido caloportador (Ecuación 5.27):

$$\dot{Q} = \dot{m}_{\text{agua}} \cdot c_p \cdot \Delta T \quad \text{Ecuación 5.27}$$

Donde  $\dot{Q}$  es el calor aportado al sistema por unidad de tiempo (1,02 kW),  $\Delta T$  es la diferencia de temperaturas entre la entrada y la salida de la camisa del reactor (10 °C) y  $c_p$  el calor específico del agua (4,18 kJ · kg<sup>-1</sup> · K<sup>-1</sup>), obteniéndose un caudal de agua necesario de 90,95 kg/h.

La temperatura de diseño se fija como la temperatura de operación más 20 °C, por lo tanto en este caso la temperatura de diseño del tanque sería 70 °C, sin embargo hay que tener en cuenta que el exterior del reactor está en contacto con un fluido caloportador a una temperatura de 90 °C, por lo tanto se establece como temperatura de diseño 110 °C.

La presión de trabajo durante la hidrólisis es 1 bar, esto sumado a la presión hidrostática del sistema resulta en una presión de operación de 1,14 bares y por tanto una presión de diseño de 3,14 bares.

Para calcular el espesor del reactor se ha utilizado la norma ASME sección VIII, División 1, con una eficiencia de la soldadura de 0,85, un límite elástico de 150 N/mm<sup>2</sup> para SS 316 a temperaturas de 50-100 °C y un sobreespesor por corrosión de 7,5 mm para el cilindro y 10 mm para el fondo del tanque.

Tras realizar los cálculos se obtiene 9 mm para el espesor del cilindro y 12 mm para el espesor del fondo elipsoidal del tanque.

## **REACTOR DE ESTERILIZACIÓN**

Para que no exista contaminación en el proceso de fermentación los hidrolizados deben esterilizarse previamente, por ello tras la hidrólisis enzimática la suspensión pasa por un reactor de tanque agitado que trabaja a temperaturas de 80 °C y cuyos objetivos son: desactivación de la actividad enzimática, homogenización de los hidrolizados procedentes de los dos reactores de hidrólisis para eliminar diferencias de concentraciones de azúcares en los reactores de fermentación, adición de los nutrientes necesarios para la fermentación a los hidrolizados y esterilización de toda la mezcla.

Este reactor de esterilización posee dos corrientes de entrada: 98,02 kg/h de caldo azucarado procedente de los dos reactores de hidrólisis y por otro lado 1,21 kg/h de la mezcla de nutrientes formada por fosfato dihidruo potásico, sulfato de amonio, sulfato de magnesio, nitrato de calcio y extracto de levadura en las proporciones especificadas en el apartado condiciones de operación. El reactor opera de manera continua con un tiempo de residencia de 20 minutos y posee una única salida con un flujo de 99,23 kg/h de caldo pasteurizado que se reparte aguas arriba a partes iguales entre los dos sistemas de fermentación. El 91% del flujo de salida se dirige hacia a los reactores de fermentación, el 8% hacia los reactores de prefermentación y el 1% restante hacia los reactores preparación de inóculo.

En la Tabla 5.20 se resumen las condiciones de operación, así como el flujo de entrada y sus propiedades físicas.

<b>Presión de trabajo</b>	$P$	1 bar
<b>Temperatura de operación</b>	$T$	80 °C
<b>Tiempo de residencia</b>	$T_{res}$	0,33 h
<b>Flujo másico</b>	$\dot{m}$	99,23 kg/h
<b>Caudal</b>	$Q$	0,098 m <sup>3</sup> /h
<b>Densidad</b>	$\rho$	1009,19 kg/m <sup>3</sup>
<b>Viscosidad</b>	$\mu$	0,000354 Pa·s

Tabla 5.20. Condiciones de operación y características del flujo de entrada del reactor de esterilización



Conociendo el tiempo de residencia y el caudal se determina que la capacidad nominal del tanque son 33 L que sobredimensionado un 30 % asciende a 43 L de capacidad total del reactor.

La geometría del reactor será la misma que la del reactor de hidrólisis, un reactor cilíndrico con el fondo elipsoidal para facilitar la descarga de sólidos. El agitador utilizado será un reactor de tipo hélice marina, puesto que el proceso no requiere grandes exigencias de mezclado, pero sí elevadas velocidades de agitación y una buena transferencia de calor. Para mejorar la eficiencia del proceso de agitación el reactor dispondrá en su interior de dos baffles. Las dimensiones del tanque, agitador y baffles han sido calculadas mediante las relaciones de la Figura 5.8 y se representan en la Tabla 5.21.

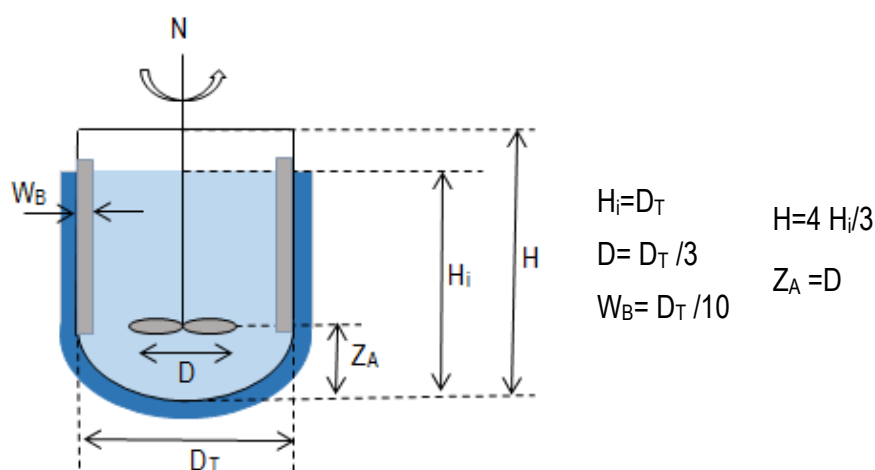


Figura 5.8. Aspecto del reactor de esterilización y dimensiones utilizadas para su diseño geométrico

REACTOR		
Volumen tanque	$V$	0,043 m <sup>3</sup>
Volumen nominal tanque	$V_N$	0,033 m <sup>3</sup>
Sobredimensionamiento		30 %
Diámetro del tanque	$D_T$	0,36 m
Altura tanque	$H$	0,46 m
Altura líquido	$H_i$	0,36 m
BAFLES		
Número baffles		2
Ancho baffle	$W_B$	0,05 m
AGITADOR		
Tipo de agitador		Hélice marina
Número de palas		3 palas
Número de agitadores		1
Diámetro agitador	$D$	0,12 m
Posición agitador al fondo del tanque	$Z_A$	0,12 m

Tabla 5.21. Dimensiones reactor de esterilización

La esterilización a nivel de laboratorio se realizaba en el mismo reactor en el que se llevaba a cabo la hidrólisis, un reactor de vidrio de tanque agitado de 250 mL de capacidad con un sistema de agitación tipo hélice marina de 30 mm de diámetro girando a una velocidad de 175 rpm, para el que se calcula

una potencia consumida en esta etapa de 0,05 W. Para realizar el cambio de escala se mantendrá constante la potencia por unidad de volumen, resultando una potencia de 5,96 W para el reactor de esterilización de la planta piloto con un volumen de 33 L. Corrigiendo este valor teniendo en cuenta una eficiencia del motor del 70% y unas pérdidas por fricción del 35% se obtiene una potencia consumida que alcanza 11,49 W.

Suponiendo que el régimen de trabajo durante la esterilización es turbulento y puesto que el tipo de agitador utilizado en el laboratorio es el mismo que en la planta piloto se establece que el número de potencia se mantiene constante y se calcula la velocidad de giro del reactor de esterilización siguiendo la Ecuación 5.28, con la que se obtienen 86 rpm.

$$\frac{P_1}{\rho_1 N_1^3 D_1^5} = \frac{P_2}{\rho_2 N_2^3 D_2^5} \quad \text{Ecuación 5.28}$$

Posteriormente se calcula el número de Reynolds obteniendo  $5,92 \cdot 10^4$ , lo que confirma que el uso de la Ecuación 5.28 es correcto puesto que estamos en régimen turbulento.

Para calcular el caudal de bombeo se fija en 0,5 el número de bombeo como valor medio estándar para este tipo de agitadores (Tabla 5.13). Se obtiene un caudal de bombeo de  $0,001 \text{ m}^3/\text{s}$ .

En la Tabla 5.22 se resumen los valores obtenidos para el sistema de agitación del reactor de esterilización.

<b>Potencia</b>	$P$	5,96 W
<b>Potencia real</b>	$P_{Real}$	11,49 W
<b>Número de potencia</b>	$N_p$	0,30
<b>Velocidad de giro</b>	$N$	86 rpm
<b>Número de Reynolds</b>	$Re$	$5,92 \cdot 10^4$
<b>Número de bombeo</b>	$N_Q$	0,50
<b>Caudal de bombeo</b>	$Q_P$	$0,001 \text{ m}^3/\text{s}$

Tabla 5.22. Valores característicos del sistema de agitación del reactor de esterilización

La esterilización es un proceso que se lleva a cabo a una temperatura de  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  siendo necesario que el reactor disponga de una camisa por la que circulará vapor que aportará el calor necesario al proceso. El balance energético del sistema responde a la Ecuación 5.29.

$$\dot{Q} = \dot{m} \cdot c_p \cdot \Delta T - \dot{Q}_a \quad \text{Ecuación 5.29}$$

Donde  $\dot{Q}$  es el calor aportado por el fluido calefactor,  $\dot{m} \cdot c_p \cdot \Delta T$  es la diferencia energética entre las corrientes de entrada y salida del reactor para un flujo estacionario y  $\dot{Q}_a$  es el calor aportado al medio por el sistema de agitación.

La corriente de entrada proviene del reactor de hidrólisis, por lo tanto su temperatura de entrada se establece en  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  y la temperatura de salida es la temperatura de operación del reactor, es decir,  $80 \text{ }^\circ\text{C}$ . El calor de agitación, son las pérdidas por fricción del sistema, o lo que es lo mismo  $0,02 \text{ W}$ .

En la Tabla 5.23 se muestra el flujo másico del reactor y sus temperaturas de entrada y salida, así como el calor de agitación y las necesidades de aporte de calor del sistema.

<b>Flujo másico</b>	$\dot{m}$	92,23 kg/h
<b>Capacidad calorífica</b>	$c_p$	4,18 kJ/(kg K)
<b>Temperatura de entrada</b>	$T_{in}$	50 °C
<b>Temperatura de salida</b>	$T_{out}$	80 °C
<b>Calor de agitación</b>	$\dot{Q}_a$	0,02 W
<b>Calor del proceso</b>	$\dot{Q}$	3,45 kW

Tabla 5.23. Tabla resumen de los cálculos de calor del proceso de esterilización

La temperatura de diseño del reactor será de 140 °C, puesto que se fija en 120 °C la temperatura media del vapor en la camisa.

La presión de operación será la presión de trabajo más la presión hidrostática que ejerce la mezcla sobre las paredes del reactor, lo que supone 1,04 bares de presión de operación y 3,04 bares de presión de diseño.

El espesor del tanque es de 8 mm para el cilindro y 10 mm para la tapa elipsoidal inferior, calculado mediante la norma ASME sección VIII, División 1, con un sobreespesor por corrosión de 7,5 mm para el cilindro y 10 mm para el fondo del tanque, una eficiencia de la soldadura de 0,85 y un límite elástico de 125 N/mm<sup>2</sup> para SS 316 a temperaturas de 100-150 °C [92].

## **REACTOR DE FERMENTACIÓN**

La fermentación es una de las etapas clave del proceso, en ella los azúcares fermentables presentes en los hidrolizados se convierten mediante la acción de microorganismos en etanol y dióxido de carbono mediante un proceso anaerobio.

La fermentación se realizará en dos reactores de mezcla completa encamisados que operarán de manera continua con un tiempo de residencia de 168 h. Los reactores tendrán dos entradas principales, por una de ellas recibirán 45,12 kg/h de caldo de hidrólisis junto con los nutrientes necesarios para el metabolismo de *P. stipitis*, todo ello previamente esterilizado y con una concentración de azúcares aproximada a la obtenida de manera experimental (14,89 g/L de glucosa y 5,27 g/L de xilosa). La segunda entrada corresponde a un flujo de 4,50 kg/h de inóculo, o lo que es lo mismo el 10% v/v del total. Para conseguir el pH de operación (4,8) el tanque dispondrá de dos entradas secundarias de ácido y de base que operarán de manera discontinua en función de las necesidades. El reactor posee dos salidas: la primera que supone el 95 % del total y que posee una concentración de etanol de 0,42 kg/h, se dirige hacia un tanque de almacenamiento, mientras que la segunda salida se dedica al mantenimiento del microorganismo en el proceso.

Las condiciones de operación y las características físicas del flujo de entrada son las que se recogen en la Tabla 5.24.

<b>Presión de trabajo</b>	$P$	1 bar
<b>Temperatura de operación</b>	$T$	30 °C
<b>pH</b>	$pH$	5,0
<b>Tiempo de residencia</b>	$T_{res}$	168 h
<b>Flujo másico</b>	$\dot{m}$	49,62 kg/h
<b>Caudal</b>	$Q$	0,049 m <sup>3</sup> /h
<b>Densidad</b>	$\rho$	1006,17 kg/m <sup>3</sup>
<b>Viscosidad</b>	$\mu$	0,00092 Pa·s

Tabla 5.24. Condiciones de operación y características del flujo de entrada a cada uno de los reactor de fermentación

El volumen del reactor es calculado a partir del caudal y el tiempo de residencia en el tanque, obteniéndose un volumen nominal de 8,3 m<sup>3</sup>, lo que sobredimensionado un 30% da un volumen neto total de 11 m<sup>3</sup>. Puesto que es un reactor con un volumen considerable, para evitar problemas de falta de homogenización en el reactor, además de falta de espacio en el lugar de instalación, se decide diseñar un reactor más alargado que el resto de los reactores del proceso.

Al ser un reactor de gran altura es conveniente instalar varios impulsores equidistantes en el eje de rotación, en este caso se ha decidido instalar 4 agitadores tipo turbina, suficientes para alcanzar homogeneidad en todo el volumen de trabajo. Los agitadores tienen forma de disco, sobre el que van montados 6 palas paralelas al eje de agitación, estos agitadores son conocidos con el nombre de turbina Rushton y son típicos de las fermentaciones, puesto que tienen un bajo poder de corte por cizalla, lo que es conveniente para no dañar a los microorganismos y favorecen la eliminación del CO<sub>2</sub> generado en el proceso. Además se instalarán cuatro baffles con la finalidad de mejorar la eficiencia de la agitación.

Las dimensiones del tanque, baffles y sistema de agitación se muestran en la Tabla 5.25 y para su cálculo se han utilizado las relaciones representadas en la Figura 5.9.

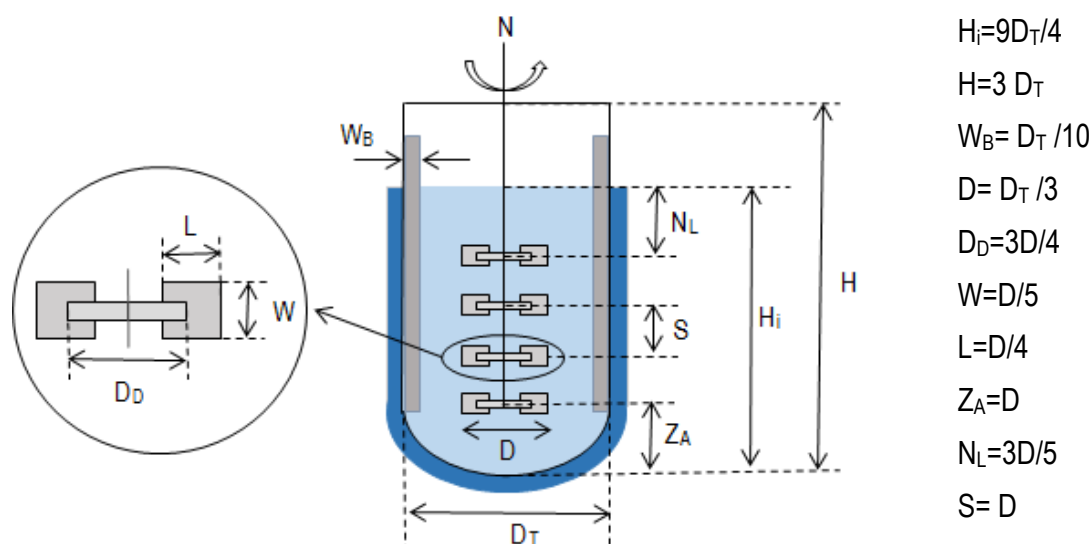


Figura 5.9. Aspecto del reactor de fermentación y dimensiones utilizadas para su diseño geométrico

REACTOR		
Volumen tanque	$V$	11,00 m <sup>3</sup>
Volumen nominal tanque	$V_N$	8,29m <sup>3</sup>
Sobredimensionamiento		30 %
Diámetro del tanque	$D_T$	1,70 m
Altura tanque	$H$	5,11 m
Altura líquido	$H_i$	3,83 m
BAFLES		
Número baffles		4
Ancho baffle	$W_B$	0,17 m
AGITADOR		
Tipo de agitador		Turbina Rusthon
Número de palas		6
Número de agitadores		4
Diámetro agitador	$D$	0,57 m
Diámetro del disco	$D_D$	0,43 m
Longitud de la pala	$L$	0,14 m
Ancho de la pala	$W$	0,11 m
Posición agitador al fondo del tanque	$Z_A$	0,57 m
Distancia del agitador al nivel del líquido	$N_L$	1,02 m
Distancia entre agitadores	$S$	0,57 m

Tabla 5.25. Dimensiones reactor de fermentación

A la hora de realizar el cambio de escala convendría utilizar el método de velocidad periférica constante del agitador, puesto que este principio permite mantener constante la razón de cizalladura máxima en la zona del agitador, variable importante cuando se trabaja con microorganismos. Sin embargo tras realizar los cálculos con este método se obtiene una velocidad de agitación excesivamente baja (8 rpm), no siendo suficiente para crear un régimen turbulento ni homogenizar el proceso, por esta razón el principio seleccionado para realizar el cambio de escala será mantener constante la potencia de agitación por unidad de volumen, como en los casos anteriores.

Al realizar el cambio de escala desde un sistema con una potencia de 0,03 W (calculada según la Ecuación 5.13) y un volumen de 250 mL se obtiene una potencia de 0,25 kW para el segundo sistema de volumen 8,29 m<sup>3</sup>. Teniendo en cuenta que el sistema de agitación está formado por cuatro agitadores, que existe un 35% de pérdidas por fricción y que la eficiencia del motor es de 0,7 se obtiene una potencia real consumida por el sistema de agitación de 1,93 kW

Siguiendo la curva 1 de la Figura 5.10 que representa el número de potencia en función del Reynolds para diferentes agitadores tipo turbina, obtenemos un  $N_p$  de 6 para un agitador de disco con seis palas rectas en régimen turbulento. Con este valor se calcula la velocidad de giro del sistema de agitación, que toma un valor de 54 rpm.

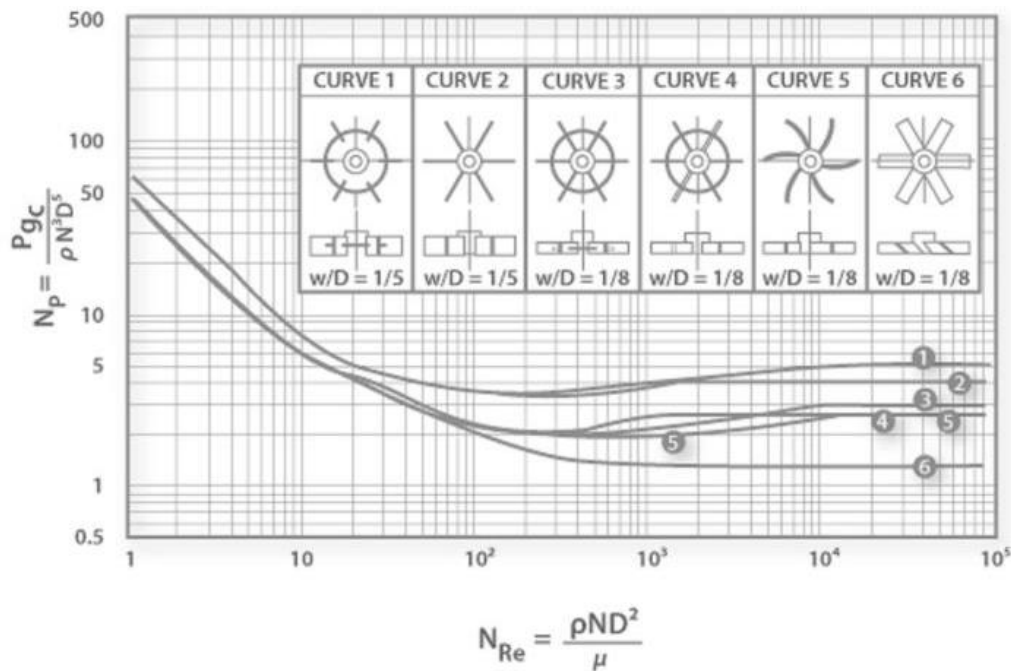


Figura 5.10. Representación de  $N_p$  en función de  $Re$  para diferentes tipos de turbinas.

Para comprobar que realmente estamos en régimen turbulento y que por tanto el  $N_p$  seleccionado es correcto se calcula el número de Reynolds, que alcanza un valor de  $3,15 \cdot 10^5$ , lo que significa que efectivamente el régimen es turbulento.

El cálculo del caudal removido por el agitador se realiza mediante el número de bombeo, que en este caso para una turbina tipo Rushton toma un valor de 0,72 (Tabla 5.13), lo que proporciona un caudal de bombeo de  $0,12 \text{ m}^3/\text{s}$ .

La Tabla 5.26 muestra un resumen de los resultados obtenidos en cuanto al sistema de agitación del reactor de fermentación:

<b>Potencia</b>	$P$	0,25 kW
<b>Potencia real</b>	$P_{Real}$	1,93 kW
<b>Número de potencia</b>	$N_p$	6,00
<b>Velocidad de giro</b>	$N$	54 rpm
<b>Número de Reynolds</b>	$Re$	$3,15 \cdot 10^5$
<b>Número de bombeo</b>	$N_Q$	0,72
<b>Caudal de bombeo</b>	$Q_p$	$0,12 \text{ m}^3/\text{s}$

Tabla 5.26. Valores característicos del sistema de agitación de la fermentación

La temperatura de fermentación óptima de los microorganismos se sitúa en  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , por ello para que el proceso de conversión de azúcares en etanol se realice de una manera eficiente es conveniente mantener esta temperatura en todo el volumen de trabajo. Sin embargo, la fermentación es una reacción exotérmica que genera calor, lo que provoca un aumento de la temperatura en el interior del tanque, además a este efecto hay que sumar las pérdidas por fricción que se producen en el sistema de agitación en forma de calor. El balance energético de esta etapa es el siguiente:

$$\dot{Q} = \dot{m} \cdot c_p \cdot \Delta T - \dot{Q}_a - \dot{Q}_m \quad \text{Ecuación 5.30}$$

Donde  $\dot{Q}$  es el calor total que genera el proceso por unidad de tiempo,  $\dot{m} \cdot c_p \cdot \Delta T$  representa la diferencia entre la energía calorífica por unidad de tiempo entre los flujos de entrada y salida del reactor para régimen estacionario,  $\dot{Q}_a$  representa el calor que aporta al sistema la agitación por unidad de tiempo y  $\dot{Q}_m$  representa el calor generado durante la reacción de fermentación.

Durante la fermentación alcohólica de los azúcares por levaduras se produce un desprendimiento de 40 kcal/mol, de las cuales 14,6 kcal/mol son utilizadas por las levaduras para atender sus funciones vitales y las 25,4 kcal/mol restantes se desprenden al medio calentándolo. Esto supone un calor desprendido de 708 kJ por kg de xilosa y 590 kJ/kg de glucosa consumidos. Conociendo el consumo de azúcares (0,67 kg glucosa/h y 0,23 kg xilosa/h) se calcula que el calor desprendido al medio ocasionado por la fermentación son 0,15 kW.

El calor aportado por el sistema de agitación es el correspondiente a las pérdidas por fricción del mismo, lo que equivale a 3,5 W

Como paso previo a la fermentación, el hidrolizado pasa por un intercambiador de calor, que atemperará hasta 30 °C la corriente de entrada al reactor, puesto que la temperatura de operación son 30 °C la corriente de salida también estará a dicha temperatura, no existiendo entonces diferencia energética entre los flujos de entrada y salida del tanque.

Por tanto se obtiene un calor en el proceso de -0,16 kW, al ser un valor negativo lo que indica es que es un calor que el sistema genera y que es necesario eliminar para mantener en el reactor la temperatura óptima del proceso.

En la Tabla 5.27 se resumen las características de los fluidos de entrada y salida y los calores obtenidos sobre el proceso.

<b>Flujo másico</b>	$\dot{m}$	49,62 kg/h
<b>Capacidad calorífica</b>	$c_p$	4,18 kJ/(kg K)
<b>Temperatura de entrada</b>	$T_{in}$	30 °C
<b>Temperatura de salida</b>	$T_{out}$	30 °C
<b>Calor de agitación</b>	$\dot{Q}_a$	3,5 W
<b>Calor por fermentación</b>	$\dot{Q}_m$	0,15 kW
<b>Calor del proceso</b>	$\dot{Q}$	-0,16 kW

Tabla 5.27. Tabla resumen de los cálculos de calor del proceso de fermentación

El calor transferido por la camisa es calculado como el producto del coeficiente global de transferencia de calor por la superficie de intercambio y por la diferencia de temperaturas entre reactor y camisa mediante la Ecuación 5.20.

El área de transferencia de calor se corresponde al área de contacto entre los dos fluidos. Esta área se calcula como la suma del área del cilindro hasta la altura del líquido más el área del fondo inferior de forma elipsoidal. Se obtiene un valor total de 22,67 m<sup>2</sup>.

Para calcular el coeficiente global de transferencia de calor primero es necesario calcular los coeficientes individuales: el coeficiente de convección interior, convección exterior, conductividad, ensuciamiento y corrosión.

El coeficiente de convección interior ( $h_i$ ) toma un valor de 316 W·m<sup>-2</sup>·K<sup>-1</sup>, para la suspensión del interior del reactor con un Re de 3,15·10<sup>5</sup> y un Pr de 6,63, todo ello calculado siguiendo las premisas de que la

conductividad de la mezcla es igual a la del agua ( $0,58 \text{ W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ) puesto que es el componente mayoritario de la misma, la viscosidad se mantiene constante en todo el tanque por lo tanto la viscosidad en la pared es la misma que la de cualquier otro punto de la mezcla, y el paso del agitador es igual al diámetro del mismo.

Del mismo modo que en la HE la camisa seleccionada para el reactor es una camisa con deflectores en espiral con un ancho de 65 mm y una velocidad de fluido típica de 1,2 m/s. El diámetro equivalente será cuatro veces el ancho de la camisa, tomando el valor de 0,26 m. El fluido refrigerante seleccionado será agua, para el que se fija una diferencia de temperaturas de  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  entre la entrada y la salida del mismo a la camisa. El coeficiente de convección externo al igual que en el reactor de HE se calcula de manera iterativa. Para hacer los cálculos se utilizan las propiedades del agua a  $16 \text{ }^\circ\text{C}$  (temperatura media supuesta para la camisa), siendo  $999,0 \text{ kg/m}^3$  la densidad y  $1,116 \cdot 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$  la viscosidad, obteniendo un Reynolds de  $2,79 \cdot 10^5$ , lo que nos confirma que estamos en régimen turbulento y un Prandtl de 8,04.

De la misma forma que para el cálculo del coeficiente interior, se establece que la viscosidad del fluido por la chaqueta será constante con lo que se obtiene un valor para el coeficiente de convección externo de  $1611 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{K}^{-1}$ .

El acero seleccionado para la fabricación del reactor es acero inoxidable SS316 por sus buenas propiedades frente a la corrosión. Este acero tiene una conductividad de  $16,2 \text{ W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ . El espesor del reactor no es uniforme, haciendo una ponderación se obtiene un espesor del tanque de 10 mm. Con estos datos se obtiene un coeficiente de conducción de  $6,2 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2 \cdot \text{K} \cdot \text{W}^{-1}$ .

Para los coeficientes de ensuciamiento ( $R_s$ ) y resistencia por incrustaciones ( $R_f$ ) se mantienen los valores del reactor de hidrólisis  $3,52 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2 \cdot \text{K} \cdot \text{W}^{-1}$  para  $R_s$  y  $1,8 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2 \cdot \text{K} \cdot \text{W}^{-1}$  para  $R_f$ .

Una vez calculados todos los coeficientes individuales se obtiene el coeficiente global de transmisión de calor utilizando la Ecuación 5.21, que alcanza un valor de  $202 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{K}^{-1}$ .

En la Tabla 5.28 se resumen los valores obtenidos de los coeficientes individuales y globales de transmisión de calor para el reactor de fermentación.

<b>Coefficiente de convección interior</b>	$h_i$	$316 \frac{\text{W}}{\text{m}^2 \cdot \text{K}}$
<b>Coefficiente de convección exterior</b>	$h_j$	$1610 \frac{\text{W}}{\text{m}^2 \cdot \text{K}}$
<b>Coefficiente de conductividad</b>	$x/k$	$6,2 \cdot 10^{-4} \frac{\text{m}^2 \cdot \text{K}}{\text{W}}$
<b>Coefficiente de ensuciamiento</b>	$R_f$	$1,8 \cdot 10^{-4} \frac{\text{m}^2 \cdot \text{K}}{\text{W}}$
<b>Coefficiente de corrosión</b>	$R_s$	$3,52 \cdot 10^{-4} \frac{\text{m}^2 \cdot \text{K}}{\text{W}}$
<b>Coefficiente global</b>	$U$	$202 \frac{\text{W}}{\text{m}^2 \cdot \text{K}}$

Tabla 5.28. Coeficientes de transmisión de calor en el reactor de fermentación

Conociendo el calor por unidad de tiempo, área de transmisión de calor y el coeficiente global de transmisión de calor es posible calcular la diferencia de temperaturas entre el fluido refrigerante y la suspensión interior. Haciendo uso de la Ecuación 5.20 se obtiene una diferencia de temperaturas ( $\Delta T$ ) de  $11,1 \text{ }^\circ\text{C}$ . Con este dato y conociendo que la temperatura de la suspensión en el interior del tanque es de  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , puesto que es un reactor de mezcla perfecta y que la diferencia de temperaturas del agua entre la entrada y la salida a la camisa es de  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  se obtiene una temperatura  $T_{1c}$  de  $11 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $21 \text{ }^\circ\text{C}$  de  $T_{2c}$ , siendo la media entre ambas  $16 \text{ }^\circ\text{C}$  y dando por finalizado el cálculo iterativo.



Haciendo un balance de energía a la camisa (Ecuación 5.31) se obtiene el caudal de agua necesario que circulará por la misma, resultando 13,67 kg/h de agua.

$$-\dot{Q} = \dot{m}_{agua} \cdot c_p \cdot \Delta T \quad \text{Ecuación 5.31}$$

La temperatura de diseño del tanque es de 50 °C, o lo que es lo mismo 20 °C más la temperatura de operación del proceso.

La presión de operación se define como la suma de la presión de trabajo más la presión hidrostática del sistema, lo que resulta en una presión de operación de 1,38 bares, por tanto la presión de diseño se establece en 3,38 bares y será la utilizada para calcular el espesor del reactor.

Utilizando la norma ASME sección VIII, División 1, con una eficiencia de la soldadura de 0,85, un límite elástico de 175 N/mm<sup>2</sup> para SS 316 a temperaturas de 0-50 °C y un sobreespesor por corrosión de 7,5 mm para el cilindro y 10 mm para el fondo del tanque, se obtiene un espesor de 9 y 12 mm para el cilindro y el fondo elipsoidal del tanque, respectivamente.

### **REACTOR DE INÓCULO Y PREFERMENTACIÓN**

En los procesos microbiológicos industriales el crecimiento del microorganismo se realiza en volúmenes de pequeño tamaño que aumentan secuencialmente hasta llegar al reactor de fermentación, de tal manera que el microorganismo va creciendo y adaptándose paulatinamente a la composición y condiciones del caldo de fermentación. En este caso el crecimiento del microorganismo crecerá primero en el reactor de inóculo del que pasará al reactor de prefermentación y de ahí directamente al reactor de fermentación.

Ambos reactores se han diseñado bajo la premisa de que operan en flujo estacionario, de esta manera se realiza el balance de masa sabiendo que la salida del reactor de prefermentación es el 10 % en volumen del reactor de fermentación y que la salida del reactor de inóculo supone el 10 % en volumen de la entrada de azúcares al reactor de prefermentación. El tiempo de residencia en ambos reactores se fija en 48 h, puesto que es el tiempo óptimo de crecimiento de *P. stipitis*. Con estos datos se obtienen unos volúmenes nominales de 210 y 15 L para los reactores de prefermentación e inóculo, respectivamente

Ambos reactores conservan la proporción en azúcares que tiene el reactor de fermentación. El reactor de inóculo es alimentado con 0,37 kg/h de hidrolizado más nutrientes, provenientes del reactor de esterilización, lo que proporciona los azúcares y nutrientes necesarios al medio y 0,04 kg/h, provenientes del reactor de fermentación, para conseguir una concentración de inóculo del 10 % (v/v). Esta segunda corriente se hace pasar previamente por un separador centrífugo con el fin de eliminar restos sólidos y por un sedimentador para aumentar la concentración de microorganismos.

Por su parte el reactor de prefermentación se alimenta con 0,40 kg/h provenientes del reactor de inóculo, lo que corresponde a una concentración de inóculo del 10 % en volumen y 4,10 kg/h del reactor de esterilización que aportan los carbohidratos y nutrientes necesarios para el crecimiento de la *P. stipitis*.

En la Tabla 5.29 se muestran las condiciones de operación de ambos reactores y las corrientes de entrada y sus propiedades.

		INÓCULO	PREFERMENTACIÓN
<b>Presión de trabajo</b>	$P$	1 bar	1 bar
<b>Temperatura de operación</b>	$T$	30 °C	30 °C
<b>pH</b>	$pH$	5,0	5,0
<b>Tiempo de residencia</b>	$T_{res}$	48 h	48 h
<b>Flujo másico</b>	$\dot{m}$	0,32 kg/h	4,50 kg/h
<b>Caudal</b>	$Q$	0,00032 m <sup>3</sup> /h	0,004 m <sup>3</sup> /h
<b>Densidad</b>	$\rho$	1005,63 kg/m <sup>3</sup>	1006,17 kg/m <sup>3</sup>
<b>Viscosidad</b>	$\mu$	0,000708 pa·s	0,000708 pa·s

Tabla 5.29. Condiciones de operación y características del flujo de entrada a cada uno de los reactores de inóculo y prefermentación

La geometría y sistema de agitación de ambos reactores es la misma que la del reactor de fermentación, por lo tanto conociendo el volumen de los mismos y utilizando las relaciones representadas en la Figura 5.9 se calculan las dimensiones del tanque, baffles y agitador resumidas en la Tabla 5.30

		INÓCULO	PREFERMENTACIÓN
<b>REACTOR</b>			
Volumen tanque	$V$	0,020 m <sup>3</sup>	0,28 m <sup>3</sup>
Volumen nominal tanque	$V_N$	0,015 m <sup>3</sup>	0,21 m <sup>3</sup>
Sobredimensionamiento		30 %	30 %
Diámetro del tanque	$D_T$	0,21 m	0,50 m
Altura tanque	$H$	0,62m	1,51m
Altura líquido	$H_i$	0,47 m	1,13 m
<b>BAFLES</b>			
Número baffles		4	4
Ancho baffle	$W_B$	0,02 m	0,05 m
<b>AGITADOR</b>			
Tipo de agitador		Turbina Rusthon	Turbina Rusthon
Número de palas		6	6
Número de agitadores		4	4
Diámetro agitador	$D$	0,07 m	0,17 m
Diámetro del disco	$D_D$	0,05 m	0,13 m
Longitud de la pala	$L$	0,02 m	0,04 m
Ancho de la pala	$W$	0,01 m	0,03 m
Posición agitador al fondo del tanque	$Z_A$	0,07 m	0,17 m
Distancia del agitador al nivel del líquido	$N_L$	0,12 m	0,30 m
Distancia entre agitadores	$S$	0,07 m	0,17 m

Tabla 5.30. Dimensiones de los reactores de inóculo y prefermentación

Para el cálculo de las necesidades de potencia se decide escalar los reactores a partir del reactor de fermentación manteniendo constante la potencia por unidad de volumen. El sistema de agitación del

reactor de fermentación consume una potencia total de 1,93 kW para un volumen de 8,29 m<sup>3</sup>, con lo que tras realizar los cálculos se obtienen unas potencias de 12,52 W para la agitación en el prefermentador y 0,89 W en el reactor de inóculo. Tras ser corregidas teniendo en cuenta que el sistema cuenta con cuatro agitadores, que las pérdidas por fricción son el 35 % y que la eficiencia del motor es 0,7 se obtienen unas potencias reales consumidas de 96,57 y 6,83 W en prefermentación e inóculo, respectivamente.

Puesto que el agitador utilizado en estos reactores es una turbina tipo Rushton, igual que en la fermentación, se mantiene constante el número de potencia del fermentador suponiendo que el régimen de los nuevos fermentadores será turbulento. Se calcula una velocidad de giro de 76 rpm en prefermentación y 137 rpm en el reactor de inóculo.

Para comprobar que efectivamente el número de potencia se mantiene constante es necesario conocer el régimen de trabajo calculando el número de Reynolds. En ambos casos es mayor que 10<sup>4</sup> confirmando que el régimen sí que es turbulento.

Por último se calcula el caudal que es capaz de impulsar el agitador utilizando como número de bombeo 0,72, el valor estándar para turbinas Rushton (Tabla 5.13). Se obtiene 0,004 m<sup>3</sup>/s para el agitador del prefermentador y 0,0006 m<sup>3</sup>/s para el agitador del reactor de inóculo.

En la Tabla 5.31 se resumen los valores obtenidos para ambos sistemas de agitación:

		INÓCULO	PREFERMENTACIÓN
<b>Potencia</b>	$P$	0,89 W	12,52 W
<b>Potencia real</b>	$P_R$	6,83 W	96,57 W
<b>Número de potencia</b>	$N_p$	6,00	6,00
<b>Velocidad de giro</b>	$N$	137 rpm	76 rpm
<b>Número de Reynolds</b>	$Re$	1,56 · 10 <sup>4</sup>	8,31 · 10 <sup>5</sup>
<b>Número de bombeo</b>	$N_Q$	0,72	0,72
<b>Caudal de bombeo</b>	$Q_P$	0,0006 m <sup>3</sup> /s	0,004 m <sup>3</sup> /s

Tabla 5.31. Valores característicos del sistema de agitación de los reactores de inóculo y prefermentación

Se realizará el balance de energía de forma aproximada, fijando la siguiente hipótesis: tanto en el reactor de prefermentación como en el de inóculo, no se produce transformación alcohólica de los azúcares presentes en el medio, únicamente se produce crecimiento microbiano, por ello todo el calor aportado al proceso es utilizado por los microorganismos para realizar sus funciones metabólicas, no existiendo calentamiento del medio por consumo de azúcares por parte de *P. stipitis*. El balance de energía del crecimiento de los microorganismos responde a la Ecuación 5.32.

$$\dot{Q} = \dot{m} \cdot c_p \cdot \Delta T - \dot{Q}_a \quad \text{Ecuación 5.32}$$

Donde  $\dot{Q}$  es el calor por unidad de tiempo que es necesario aportar o retirar del proceso,  $\dot{m} \cdot c_p \cdot \Delta T$  es la diferencia de energía calorífica entre las corrientes de entrada y salida del reactor suponiendo flujo estacionario y  $\dot{Q}_a$  es el calor desprendido al medio por el sistema de agitación.

El calor desprendido por el sistema de agitación es el 35 % de la potencia de agitación, como en los casos anteriores.

La temperatura de entrada de la corriente de entrada al reactor de inoculación se establece en 20 °C, ya que aunque esta corriente viene del reactor fermentación cuya corriente de salida tiene una temperatura de 30 °C, en el proceso de centrifugación y separación se enfriará alcanzando la temperatura ambiente. La temperatura de salida del reactor es la temperatura de operación del reactor, o lo que es lo mismo 30 °C. Esto supone que el proceso tiene unas necesidades de calor de 3,66 W que se aportarán mediante agua circulando por la camisa del reactor.

En el reactor de prefermentación la corriente de entrada proviene del reactor de inóculo por tanto su temperatura de entrada son 30 °C y el objetivo es mantener constante dicha temperatura durante todo el proceso, por lo que su temperatura de salida también es 30 °C, no habiendo diferencia energética entre las corrientes. La refrigeración de esta etapa se destinará a evacuar únicamente el calor aportado por el sistema de agitación (0,17 W) evitando que aumente la temperatura del reactor.

En la Tabla 5.32 se muestran los flujos másicos, el poder calorífico y las temperaturas de entrada y salida de las corrientes, así como los calores de agitación y calores totales de los procesos de inóculo y prefermentación.

		INÓCULO	PREFERMENTACIÓN
<b>Flujo másico</b>	$\dot{m}$	0,054 kg/h	0,54 kg/h
<b>Capacidad calorífica</b>	$cp$	4,18 kJ/(kg K)	4,18 kJ/(kg K)
<b>Temperatura de entrada</b>	$T_{in}$	20 °C	30 °C
<b>Temperatura de salida</b>	$T_{out}$	30 °C	30 °C
<b>Calor de agitación</b>	$\dot{Q}_a$	0,012 W	0,17 W
<b>Calor del proceso</b>	$\dot{Q}$	3,68 W	-0,17 W

Tabla 5.32. Tabla resumen de los cálculos de calor del proceso de inóculo y prefermentación

La temperatura de diseño es 50 °C para ambos reactores.

La presión de diseño es 3,05 bares para el reactor de inóculo y 3,11 bares para el reactor de prefermentación, siendo las presiones de operación de 1,05 y 1,11 bares, respectivamente.


Los espesores de los tanques se calculan utilizando la norma ASME sección VIII, División 1, para acero SS 316 y sobre-espesores por corrosión de 7,5 mm para el cilindro y 10 mm para el fondo del tanque. Los espesores obtenidos para los reactores de inóculo y prefermentación se muestran en la Tabla 5.33.

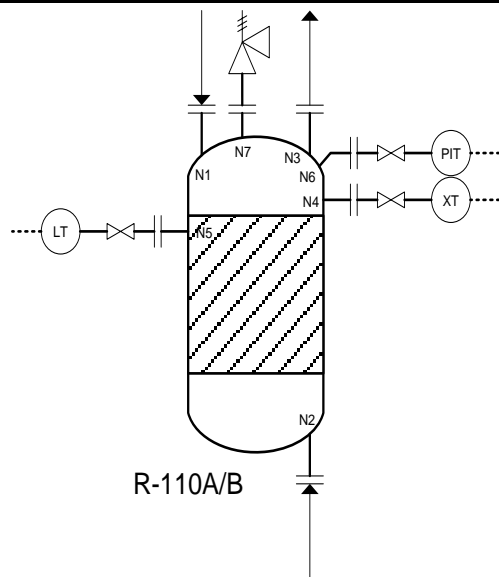
		INÓCULO	PREFERMENTACIÓN
<b>Espesor cilindro</b>	$t$	8 mm	9 mm
<b>Espesor fondo</b>	$t_{inferior}$	11 mm	12 mm

Tabla 5.33. Espesores de los reactores de inóculo y prefermentación.

### 5.6.3. HOJAS DE ESPECIFICACIÓN DE EQUIPOS

A continuación se muestran las hojas de especificación de todos los equipos diseñados para la planta piloto.

 Universidad de Valladolid		<b>HOJA DE ESPECIFICACIONES</b> <b>REACTOR DE OZONÓLISIS</b>			
FECHA CREACIÓN	24/07/2017		PROYECTO	24/07/2017	
ELABORADO POR	BEATRIZ JIMÉNEZ		CLIENTE	UNIVERSIDAD DE VALLADOLID	
APROBADO POR	SUSANA LUCAS/MÓNICA COCA		LOCALIZACIÓN	BURGOS	
<b>DATOS GENERALES</b>					
DENOMINACIÓN EQUIPO	REACTOR DE OZONÓLISIS				
NÚMERO	R-110 A/B				
FUNCIÓN	PRETRATAMIENTO CON OZONO DE BIOMASA				
<b>DATOS DE OPERACIÓN</b>					
FLUIDO	Biomasa y ozono				
TEMPERATURA OPERACIÓN	20 °C				
PRESIÓN OPERACIÓN	2,07 bar				
VOLUMEN ÚTIL	70%				
<b>DATOS DE DISEÑO</b>					
CAPACIDAD	NOMINAL	0,09 m <sup>3</sup>			
	NETO	0,12 m <sup>3</sup>			
DIMENSIONES	ALTURA	1600 mm			
	DIÁMETRO	300 mm			
TEMPERATURA DISEÑO	40 °C				
PRESIÓN DISEÑO	4,07 bar				
NORMA DE DISEÑO	ASME				
TIPO	<input checked="" type="checkbox"/> TECHO ELIPSOIDAL	<input type="checkbox"/> TECHO PLANO			
	<input type="checkbox"/> ENCAMISADO	<input checked="" type="checkbox"/> CILINDRICO			
FONDO	<input type="checkbox"/> PLANO				
	<input checked="" type="checkbox"/> ELIPSOIDAL				
	<input type="checkbox"/> CÓNICO				
<b>MATERIALES</b>					
	MATERIAL	ESPESOR	MAX. CORROSIÓN		
FONDO	SS 316	11 mm	10 mm		
PAREDES	SS 316	8 mm	7,5 mm		
<b>DATOS DEL LECHO FIJO</b>					
MATERIAL	PAJA DE TRIGO AL 40% DE HUMEDAD				
CAUDAL	8,90 kg/h				
DENSIDAD	608 kg/m <sup>3</sup>				
POROSIDAD	0,4				
TAMAÑO PARTÍCULA	>1 mm				
LONGITUD LECHO	1,2 m				
<b>DATOS DEL GAS</b>					
GAS	AIRE				
CAUDAL	29,67 m <sup>3</sup> /h				
DENSIDAD	1,2 kg/m <sup>3</sup>				
<b>CONEXIONES</b>					
Nº	CANTIDAD	DIÁMETRO	DESCRIPCIÓN		
N1	1	0,5"	ENTRADA DE BIOMASA		
N2	1	0,5"	ENTRADA DE AIRE		
N3	1	0,5"	SALIDA DE BIOMASA		
N4	1	0,5"	SENSOR DE OZONO SIN REACCIONAR		
N5	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL		
N6	1	0,5"	SENSOR DE PRESIÓN		
N7	1	0,5"	VALVULA DE SEGURIDAD		
<b>NOTAS</b>					

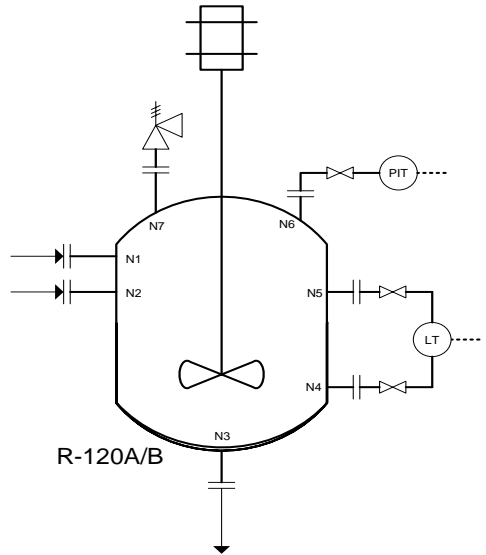




Universidad de Valladolid

## HOJA DE ESPECIFICACIONES REACTOR DE DETOXIFICACIÓN

FECHA CREACIÓN		24/07/2017		PROYECTO	24/07/2017	
ELABORADO POR		BEATRIZ JIMÉNEZ		CLIENTE	UNIVERSIDAD DE VALLADOLID	
APROBADO POR		SUSANA LUCAS/MÓNICA COCA		LOCALIZACIÓN	BURGOS	
<b>DATOS GENERALES</b>						
DENOMINACIÓN EQUIPO		REACTOR DE DETOXIFICACIÓN				
NÚMERO		R-120 A/B				
FUNCIÓN		LAVADO DE PAJA DE TRIGO				
<b>DATOS DE OPERACIÓN</b>						
FLUIDO		Biomasa y agua				
TEMPERATURA OPERACIÓN		20 °C				
PRESIÓN OPERACIÓN		1,05 bar				
DENSIDAD		992 kg/m <sup>3</sup>				
CAUDAL		564,31 kg/h				
VOLUMEN ÚTIL		70%				
<b>DATOS DE DISEÑO</b>						
CAPACIDAD	NOMINAL	0,14 m <sup>3</sup>				
	NETO	0,18 m <sup>3</sup>				
DIMENSIONES	ALTURA	740 mm				
	DIÁMETRO	570 mm				
TEMPERATURA DISEÑO		100 °C				
PRESIÓN DISEÑO		3,05 bar				
NORMA DE DISEÑO		ASME				
TIPO	<input type="checkbox"/> TECHO ELIPSOIDAL	<input checked="" type="checkbox"/>	TECHO PLANO			
	<input type="checkbox"/> ENCAMISADO	<input checked="" type="checkbox"/>	CILINDRICO			
FONDO	<input checked="" type="checkbox"/> PLANO					
	<input type="checkbox"/> ELIPSOIDAL					
	<input type="checkbox"/> CÓNICO					
<b>ENCAMISADO</b>						
FLUIDO CALEFACTOR		N/A				
CAUDAL		N/A				
TEMPERATURA	OPERACIÓN	N/A				
	DISEÑO	N/A				
<b>MATERIALES</b>						
MATERIAL		ESESOR	MAX. CORROSIÓN			
FONDO	SS 316	11 mm	10 mm			
PAREDES	SS 316	8 mm	7,5 mm			
ENCAMISADO	N/A	N/A	N/A			
<b>AGITACIÓN</b>						
TIPO DE AGITADOR		HÉLICE MARINA				
Nº PALAS		3 PALAS				
Nº AGITADORES		1				
DIMENSIONES	DIÁMETRO	190 mm				
	POTENCIA	0,13 kW				
VELOCIDAD		587 rpm				
<b>CONEXIONES</b>						
Nº	CANTIDAD	DIÁMETRO	DESCRIPCIÓN			
N1	1	0,5"	ENTRADA DE BIOMASA			
N2	1	0,5"	ENTRADA DE AGUA			
N3	1	0,5"	SALIDA DE SUSPENSIÓN			
N4	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL			
N5	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL			
N6	1	0,5"	SENSOR DE PRESIÓN			
N7	1	0,5"	VALVULA DE SEGURIDAD			
<b>NOTAS</b>						
TIPO DE AGITADOR		HÉLICE MARINA				
Nº PALAS		3 PALAS				
Nº AGITADORES		1				
DIMENSIONES		DIÁMETRO 190 mm				
POTENCIA		0,13 kW				
VELOCIDAD		587 rpm				

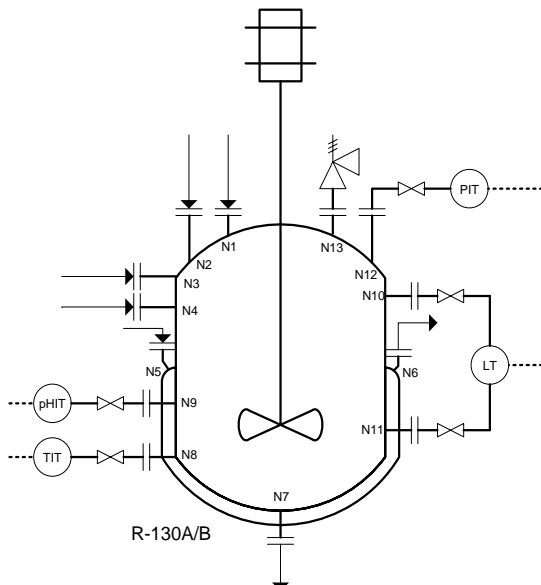




Universidad de Valladolid

## HOJA DE ESPECIFICACIONES REACTOR DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

FECHA CREACIÓN	24/07/2017	PROYECTO	24/07/2017
ELABORADO POR	BEATRIZ JIMÉNEZ	CLIENTE	UNIVERSIDAD DE VALLADOLID
APROBADO POR	SUSANA LUCAS/MÓNICA COCA	LOCALIZACIÓN	BURGOS
<b>DATOS GENERALES</b>			
DENOMINACIÓN EQUIPO	REACTOR DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA		
NÚMERO	R-130 A/B		
FUNCIÓN	Hidrólisis enzimática de paja de trigo		
<b>DATOS DE OPERACIÓN</b>			
FLUIDO	Biomasa, agua, enzimas, NaOH y HCl		
TEMPERATURA OPERACIÓN	50 °C		
PRESIÓN OPERACIÓN	1,14 bar		
DENSIDAD	949 kg/m <sup>3</sup>		
CAUDAL	52,01 kg/h		
VOLUMEN ÚTIL	70%		
<b>DATOS DE DISEÑO</b>			
CAPACIDAD	NOMINAL	2,63 m <sup>3</sup>	
	NETO	3,50 m <sup>3</sup>	
DIMENSIONES	ALTURA	2000 mm	
	DIÁMETRO	1560 mm	
TEMPERATURA DISEÑO		110 °C	
PRESIÓN DISEÑO		3,14 bar	
NORMA DE DISEÑO		ASME	
TIPO	<input type="checkbox"/> TECHO ELIPSOIDAL	<input checked="" type="checkbox"/> TECHO PLANO	
	<input checked="" type="checkbox"/> ENCAMISADO	<input checked="" type="checkbox"/> CILINDRICO	
FONDO	<input type="checkbox"/> PLANO		
	<input checked="" type="checkbox"/> ELIPSOIDAL		
	<input type="checkbox"/> CÓNICO		
<b>ENCAMISADO</b>			
FLUIDO CALEFACTOR		Agua líquida	
CAUDAL		91 kg/h	
TEMPERATURA	OPERACIÓN	90 °C	
	DISEÑO	110 °C	
<b>MATERIALES</b>			
	MATERIAL	ESPOSOR	MAX. CORROSIÓN
FONDO	SS 316	12 mm	10 mm
PAREDES	SS 316	9 mm	7,5 mm
ENCAMISADO	SS 316	9 mm	7,5 mm
<b>AGITACIÓN</b>			
TIPO DE AGITADOR		TURBINA	
Nº PALAS		4 INCLINADAS 45º	
Nº AGITADORES		2	
DIMENSIONES	DIÁMETRO	520 mm	
	ANCHO	70 mm	
POTENCIA		1,47 kW	
VELOCIDAD		121 rpm	
<b>CONEXIONES</b>			
Nº	CANTIDAD	DIÁMETRO	DESCRIPCIÓN
N1	1	0,5"	ENTRADA DE BIOMASA
N2	1	0,5"	ENTRADA DE ENZIMA
N3	1	0,5"	ENTRADA ÁCIDO
N4	1	0,5"	ENTRADA BASE
N5	1	0,5"	ENTRADA AGUA CAMISA
N6	1	0,5"	SALIDA AGUA CAMISA
N7	1	0,5"	SALIDA HIDROLIZADO
N8	1	0,5"	SENSOR DE TEMPERATURA
N9	1	0,5"	SENSOR DE PH
N10	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL
N11	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL
N12	1	0,5"	SENSOR DE PRESIÓN
N13	1	0,5"	VALVULA DE SEGURIDAD
<b>NOTAS</b>			
El reactor dispone de 4 baffles, con un ancho de 50 mm			

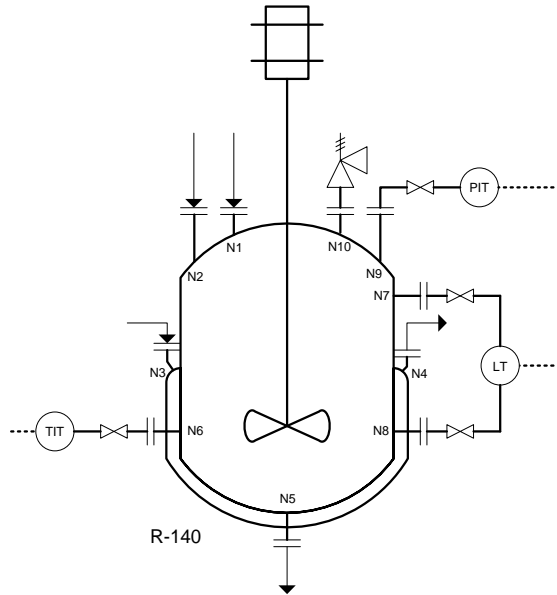




Universidad de Valladolid

## HOJA DE ESPECIFICACIONES REACTOR DE ESTERILIZACIÓN

FECHA CREACIÓN		24/07/2017		FECHA REVISIÓN		24/07/2017	
ELABORADO POR		BEATRIZ JIMÉNEZ		CLIENTE		UNIVERSIDAD DE VALLADOLID	
APROBADO POR		SUSANA LUCAS/MÓNICA COCA		LOCALIZACIÓN		BURGOS	
<b>DATOS GENERALES</b>							
DENOMINACIÓN EQUIPO		REACTOR DE ESTERILIZACIÓN					
NÚMERO		R-140					
FUNCIÓN		Pasteurización de los hidrolizados					
<b>DATOS DE OPERACIÓN</b>							
FLUIDO		Caldo de hidrólisis y nutrientes					
TEMPERATURA OPERACIÓN		150 °C					
PRESIÓN OPERACIÓN		1,04 bar					
DENSIDAD		1009 kg/m <sup>3</sup>					
CAUDAL		99,23 kg/h					
VOLUMEN ÚTIL		70%					
<b>DATOS DE DISEÑO</b>							
CAPACIDAD		NOMINAL		0,033 m <sup>3</sup>			
		NETO		0,043 m <sup>3</sup>			
DIMENSIONES		ALTURA		460 mm			
		DIÁMETRO		360 mm			
TEMPERATURA DISEÑO		150 °C					
PRESIÓN DISEÑO		3,04 bar					
NORMA DE DISEÑO		ASME					
TIPO	<input type="checkbox"/>	TECHO ELIPSOIDAL	<input checked="" type="checkbox"/>	TECHO PLANO			
	<input checked="" type="checkbox"/>	ENCAMISADO	<input checked="" type="checkbox"/>	CILINDRICO			
FONDO	<input type="checkbox"/>	PLANO					
	<input checked="" type="checkbox"/>	ELIPSOIDAL					
	<input type="checkbox"/>	CÓNICO					
<b>ENCAMISADO</b>							
FLUIDO CALEFACTOR		Vapor					
CAUDAL		100 kg/h					
TEMPERATURA	OPERACIÓN		120 °C				
	DISEÑO		140 °C				
<b>MATERIALES</b>							
MATERIAL		ESESOR		MAX. CORROSIÓN			
FONDO	SS 316	10 mm		10 mm			
PAREDES	SS 316	8 mm		7,5 mm		mm	
ENCAMISADO	SS 316	8 mm		7,5 mm			
<b>AGITACIÓN</b>							
TIPO DE AGITADOR		HÉLICE MARINA					
Nº PALAS		3 PALAS					
Nº AGITADORES		1					
DIMENSIONES	DIÁMETRO		12 mm				
	POTENCIA		11,5 W				
VELOCIDAD		86 rpm					
<b>CONEXIONES</b>							
Nº	CANTIDAD	DIÁMETRO	DESCRIPCIÓN				
N1	1	0,5"	ENTRADA DE HIDROLIZADO				
N2	1	0,5"	ENTRADA DE NUTRIENTES				
N3	1	0,5"	ENTRADA AGUA CAMISA				
N4	1	0,5"	SALIDA AGUA CAMISA				
N5	1	0,5"	SALIDA HIDROLIZADO				
N6	1	0,5"	SENSOR DE TEMPERATURA				
N7	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL				
N8	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL				
N9	1	0,5"	SENSOR DE PRESIÓN				
N10	1	0,5"	VALVULA DE SEGURIDAD				
<b>NOTAS</b>							
El reactor dispone de 2 baffles, con un ancho de 50 mm							







Universidad de Valladolid

## HOJA DE ESPECIFICACIONES REACTOR DE FERMENTACIÓN

FECHA CREACIÓN		24/07/2017		PROYECTO	24/07/2017	
ELABORADO POR		BEATRIZ JIMÉNEZ		CLIENTE	UNIVERSIDAD DE VALLADOLID	
APROBADO POR		SUSANA LUCAS/MÓNICA COCA		LOCALIZACIÓN	BURGOS	
<b>DATOS GENERALES</b>						
DENOMINACIÓN EQUIPO		REACTOR DE FERMENTACIÓN				
NÚMERO		R-150 A/B				
FUNCIÓN		Obtención de etanol a partir de azúcares fermentables				
<b>DATOS DE OPERACIÓN</b>						
FLUIDO		Hidrolizados de paja, microorganismos, NaOH y HCl				
TEMPERATURA OPERACIÓN		30 °C				
PRESIÓN OPERACIÓN		1,38 bar				
DENSIDAD		1006 kg/m <sup>3</sup>				
CAUDAL		49,62 kg/h				
VOLUMEN ÚTIL		70%				
<b>DATOS DE DISEÑO</b>						
CAPACIDAD	NOMINAL	8,30 m <sup>3</sup>				
	NETO	11,00 m <sup>3</sup>				
DIMENSIONES	ALTURA	5110 mm				
	DIÁMETRO	1700mm				
TEMPERATURA DISEÑO		50 °C				
PRESIÓN DISEÑO		3,40 bar				
NORMA DE DISEÑO		ASME				
TIPO	<input type="checkbox"/> TECHO ELIPSOIDAL	<input checked="" type="checkbox"/>	TECHO PLANO			
	<input checked="" type="checkbox"/> ENCAMISADO	<input checked="" type="checkbox"/>	CILINDRICO			
FONDO	<input type="checkbox"/> PLANO					
	<input checked="" type="checkbox"/> ELIPSOIDAL					
	<input type="checkbox"/> CÓNICO					
<b>ENCAMISADO</b>						
FLUIDO CALEFACTOR		Agua líquida				
CAUDAL		14 kg/h				
TEMPERATURA	OPERACIÓN	16 °C				
	DISEÑO	50 °C				
<b>MATERIALES</b>						
MATERIAL		ESPESOR	MAX. CORROSIÓN			
FONDO	SS 316	12 mm	10 mm			
PAREDES	SS 316	9 mm	7,5 mm	mm		
ENCAMISADO	SS 316	9 mm	7,5 mm			
<b>AGITACIÓN</b>						
TIPO DE AGITADOR		TURBINA RUSHTON				
Nº PALAS		6 PALAS				
Nº AGITADORES		4				
DIMENSIONES	DIÁMETRO	570 mm				
	DIÁMETRO DISCO	430 mm				
	LONGITUD PALA	140 mm				
	ANCHO PALA	110 mm				
POTENCIA		1,9 kW				
VELOCIDAD		54 rpm				

R-150A/B

CONEXIONES			
Nº	CANTIDAD	DIÁMETRO	DESCRIPCIÓN
N1	1	0,5"	ENTRADA DE HIDROLIZADO
N2	1	0,5"	ENTRADA DE INOCULO
N3	1	0,5"	ENTRADA ÁCIDO
N4	1	0,5"	ENTRADA BASE
N5	1	0,5"	ENTRADA AGUA A LA CAMISA
N6	1	0,5"	ENTRADA DE OXÍGENO
N7	1	0,5"	SALIDA AGUA CAMISA
N8	1	0,5"	SALIDA DE INÓCULO
N9	1	0,5"	SENSOR DE TEMPERATURA
N10	1	0,5"	SENSOR DE PH
N11	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL
N12	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL
N13	1	0,5"	SENSOR DE CONCETRACIÓN OXÍGENO
N14	1	0,5"	SENSOR DE PRESIÓN
N15	1	0,5"	VALVULA DE SEGURIDAD

NOTAS	
	El reactor dispone de 4 baffles, con un ancho de 170 mm



Universidad de Valladolid

## HOJA DE ESPECIFICACIONES REACTOR DE INÓCULO

FECHA CREACIÓN		24/07/2017		PROYECTO	24/07/2017	
ELABORADO POR		BEATRIZ JIMÉNEZ		CLIENTE	UNIVERSIDAD DE VALLADOLID	
APROBADO POR		SUSANA LUCAS/MÓNICA COCA		LOCALIZACIÓN	BURGOS	
<b>DATOS GENERALES</b>						
DENOMINACIÓN EQUIPO		REACTOR DE INÓCULO				
NÚMERO		R-210 A/B				
FUNCIÓN		Mantenimiento del microorganismo				
<b>DATOS DE OPERACIÓN</b>						
FLUIDO		Hidrolizados de paja, microorganismos, NaOH y HCl				
TEMPERATURA OPERACIÓN		30 °C				
PRESIÓN OPERACIÓN		1,05 bar				
DENSIDAD		1006 kg/m <sup>3</sup>				
CAUDAL		0,32 kg/h				
VOLUMEN ÚTIL		70%				
<b>DATOS DE DISEÑO</b>						
CAPACIDAD	NOMINAL	0,015 m <sup>3</sup>				
	NETO	0,020				
DIMENSIONES	ALTURA	620 mm				
	DIÁMETRO	210 mm				
TEMPERATURA DISEÑO		50 °C				
PRESIÓN DISEÑO		3,05 bar				
NORMA DE DISEÑO		ASME				
TIPO	<input type="checkbox"/> TECHO ELIPSOIDAL	<input checked="" type="checkbox"/> X	TECHO PLANO			
	<input checked="" type="checkbox"/> X ENCAMISADO	<input checked="" type="checkbox"/> X	CILINDRICO			
FONDO	<input type="checkbox"/> PLANO					
	<input checked="" type="checkbox"/> X ELIPSOIDAL					
	<input type="checkbox"/> CÓNICO					
<b>ENCAMISADO</b>						
FLUIDO CALEFACTOR		Agua líquida				
CAUDAL		0,71 kg/h				
TEMPERATURA	OPERACIÓN	50 °C				
	DISEÑO	70 °C				
<b>MATERIALES</b>						
MATERIAL		ESPESOR	MAX. CORROSIÓN			
FONDO	SS 316	11 mm	10 mm			
PAREDES	SS 316	8 mm	7,5 mm			
ENCAMISADO	SS 316	8 mm	7,5 mm			
<b>AGITACIÓN</b>						
TIPO DE AGITADOR		TURBINA RUSHTON				
Nº PALAS		6 PALAS				
Nº AGITADORES		4				
DIMENSIONES	DIÁMETRO	70 mm				
	DIÁMETRO DISCO	50 mm				
	LONGITUD PALA	20 mm				
	ANCHO PALA	10 mm				
POTENCIA		6,8 kW				
VELOCIDAD		137 rpm				

R-210A/B

CONEXIONES			
Nº	CANTIDAD	DIÁMETRO	DESCRIPCIÓN
N1	1	0,5"	ENTRADA DE HIDROLIZADO
N2	1	0,5"	ENTRADA DE INOCULO
N3	1	0,5"	ENTRADA ÁCIDO
N4	1	0,5"	ENTRADA BASE
N5	1	0,5"	ENTRADA AGUA A LA CAMISA
N6	1	0,5"	ENTRADA DE OXÍGENO
N7	1	0,5"	SALIDA AGUA CAMISA
N8	1	0,5"	SALIDA DE INÓCULO
N9	1	0,5"	SENSOR DE TEMPERATURA
N10	1	0,5"	SENSOR DE PH
N11	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL
N12	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL
N13	1	0,5"	SENSOR DE CONCETRACIÓN OXÍGENO
N14	1	0,5"	SENSOR DE PRESIÓN
N15	1	0,5"	VALVULA DE SEGURIDAD

NOTAS	
El reactor dispone de 4 baffles, con un ancho de 20 mm	



Universidad de Valladolid

## HOJA DE ESPECIFICACIONES REACTOR DE PREFERMENTACIÓN

FECHA CREACIÓN	24/07/2017	PROYECTO	24/07/2017
ELABORADO POR	BEATRIZ JIMÉNEZ	CLIENTE	UNIVERSIDAD DE VALLADOLID
APROBADO POR	SUSANA LUCAS/MÓNICA COCA	LOCALIZACIÓN	BURGOS
<b>DATOS GENERALES</b>			
DENOMINACIÓN EQUIPO	REACTOR DE PREFERMENTACIÓN		
NÚMERO	R-220 A/B		
FUNCIÓN	Mantenimiento de microorganismo		
<b>DATOS DE OPERACIÓN</b>			
FLUIDO	Hidrolizados de paja, microorganismos, NaOH y HCl		
TEMPERATURA OPERACIÓN	30 °C		
PRESIÓN OPERACIÓN	1,11 bar		
DENSIDAD	1006 kg/m <sup>3</sup>		
CAUDAL	4,50 kg/h		
VOLUMEN ÚTIL	70%		
<b>DATOS DE DISEÑO</b>			
CAPACIDAD	NOMINAL	0,21 m <sup>3</sup>	
	NETO	0,28 m <sup>3</sup>	
DIMENSIONES	ALTURA	1510 mm	
	DIÁMETRO	500 mm	
TEMPERATURA DISEÑO		50 °C	
PRESIÓN DISEÑO		3,11 bar	
NORMA DE DISEÑO		ASME	
TIPO	<input type="checkbox"/> TECHO ELIPSOIDAL	<input checked="" type="checkbox"/> TECHO PLANO	
	<input checked="" type="checkbox"/> ENCAMISADO	<input checked="" type="checkbox"/> CILINDRICO	
FONDO	<input type="checkbox"/> PLANO		
	<input checked="" type="checkbox"/> ELIPSOIDAL		
	<input type="checkbox"/> CÓNICO		
<b>ENCAMISADO</b>			
FLUIDO CALEFACTOR		Agua líquida	
CAUDAL		0,02 kg/h	
TEMPERATURA	OPERACIÓN	15 °C	
	DISEÑO	35 °C	
<b>MATERIALES</b>			
MATERIAL		ESPESOR	MAX. CORROSIÓN
FONDO	Acero Inoxidable	12 mm	10 mm
PAREDES	Acero Inoxidable	9 mm	7,5 mm
ENCAMISADO	Acero Inoxidable	9 mm	7,5 mm
<b>AGITACIÓN</b>			
TIPO DE AGITADOR		TURBINA RUSHTON	
Nº PALAS		6 PALAS	
Nº AGITADORES		4	
DIMENSIONES	DIÁMETRO	170 mm	
	DIÁMETRO DISCO	130 mm	
	LONGITUD PALA	40 mm	
	ANCHO PALA	30 mm	
POTENCIA		12,5 W	
VELOCIDAD		76 rpm	

R-220A/B

CONEXIONES			
Nº	CANTIDAD	DIÁMETRO	DESCRIPCIÓN
N1	1	0,5"	ENTRADA DE HIDROLIZADO
N2	1	0,5"	ENTRADA DE INÓCULO
N3	1	0,5"	ENTRADA ÁCIDO
N4	1	0,5"	ENTRADA BASE
N5	1	0,5"	ENTRADA AGUA CAMISA
N6	1	0,5"	ENTRADA DE OXÍGENO
N7	1	0,5"	SALIDA AGUA CAMISA
N8	1	0,5"	SALIDA INÓCULO
N9	1	0,5"	SENSOR DE TEMPERATURA
N10	1	0,5"	SENSOR DE PH
N11	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL
N12	1	0,5"	SENSOR DE NIVEL
N13	1	0,5"	SENSOR DE CONCETRACIÓN OXÍGENO
N14	1	0,5"	SENSOR DE PRESIÓN
N15	1	0,5"	VALVULA DE SEGURIDAD

NOTAS	
	El reactor dispone de 4 baffles, con un ancho de 50 mm



## 6. EVALUACIÓN ECONÓMICA

En este apartado se estudia la viabilidad económica de la planta piloto diseñada. Se estima el coste total de la planta a partir del coste de los equipos y otros datos de interés como son el margen de ganancias anuales y la rentabilidad de la misma.

En primer lugar, la estimación del coste de los equipos se ha realizado con ayuda del programa informático CapCost, con un índice CEPCI de 541,7, correspondiente valor anual para 2016. En la Tabla 6.1 se muestra de forma detallada el precio de cada uno de los equipos de la planta, así como el coste total que asciende a 361000 €.

IDENTIFICACIÓN	EQUIPOS	CANTIDAD	COSTE UNITARIO (€)	COSTE TOTAL (€)
REACTOR OZONÓLISIS	R-110A/B	2	1719	3438
REACTOR DETOXIFICACIÓN	R-120A/B	2	2336	4672
REACTOR HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA	R-130A/B	2	28343	56686
REACTOR ESTERILIZACIÓN	R-140	1	4277	4277
REACTOR FERMENTACIÓN	R-150A/B	2	51989	103978
REACTOR INÓCULO	R-210A/B	2	4025	8050
REACTOR PREFERMENTACIÓN	R-220A/B	2	2214	4428
TANQUES ALMACENAMIENTO: NaOH, HCl, NOVOZYME188, CELLUCLAST, NUTRIENTES, OXÍGENO	TK-X10	6	4444	26664
TANQUE ALMACENAMIENTO AGUA	TK-130	1	8637	8637
TANQUE ALMACENAMIENTO PRODUCTO	TK-140	1	16789	16789
SILO ALMACENAMIENTO BIOMASA	TK-110	1	8385	8385
SILO ALMACENAMIENTOS INTERMEDIOS	TK-120/TK-130	2	4193	8385
GENERADOR DE OZONO	Z-410	1	1859	1859
EXTRUSOR	J-110	1	27800	27800
INTERCAMBIADOR DE CALOR	E-110/E-310	4	3406	13624
BOMBAS DE MEMBRANA	-	10	1677	16770
BOMBAS DE TORNILLO	-	11	2516	27676
BOMBAS CENTRIFUGAS	-	3	6289	18867
<b>COSTE TOTAL EQUIPOS</b>				<b>360985</b>

Tabla 6.1. Coste de equipos de la planta piloto

Para calcular el coste de inversión total (TIC) de la planta se utiliza el método ISBL-OSBL. Para calcular el TIC a través de éste método se necesitan calcular los costes fijos de la inversión (CFI), los cuales engloban el coste de los equipos, montaje y puesta en marcha. Además hay que tener en cuenta el resto de costes tanto fijos, como los relacionados con el mantenimiento de la planta y sueldo de los trabajadores, como costes variables, relacionados con el gasto energético y de servicios. Los porcentajes utilizados para el cálculo de estos costes se muestran en el **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**

Los costes directos (CD) incluyen el precio de los equipos estimado mediante Capcost (360.985 €) más el resto de equipos de instrumentación y planta fuera de los límites de batería del proceso (162.443 €), haciendo un total de 523.428 €.

Los costes indirectos se estiman en 130.857 €, repartidos entre gastos de ingeniería, diseño, administrativos e inspecciones (26.171 €) y un posible gasto para eventualidades (104.686 €).

La suma de los costes directos e indirectos representa la inversión en capital fijo de la planta piloto, ascendiendo a 654.285 €.

Por último se estiman unos costes de operación (CO) de la planta de 130.857 € y un coste inicial de puesta en marcha (CPM) de la planta de 65.429 €.

Por tanto la inversión total de la planta piloto es de 850.571 €. En la Tabla 6.2 se muestra el resumen de todos los costes calculados.

<b>COSTES DIRECTOS (CD)</b>	<b>523428 €</b>
ISBL	360985 €
OSBL	162443 €
<b>COSTES INDIRECTOS (CI)</b>	<b>130857 €</b>
OWC	26171 €
CO	104686 €
<b>COSTES FIJOS DE INVERSIÓN (CFI)</b>	<b>654285 €</b>
<b>COSTE DE OPERACIÓN (CO)</b>	<b>130857 €</b>
<b>COSTE DE PUESTA EN MARCHA (CPM)</b>	<b>65429 €</b>
<b>TOTAL INVERSIÓN (TIC)</b>	<b>850571 €</b>

Tabla 6.2. Relación de costes de inversión de la planta piloto en € calculados por el método ISBL-OSBL

En la Tabla 6.3 se detalla el coste de los materiales empleados, con los precios consultados en páginas de empresas suministradoras. El precio del bioetanol obtenido como producto se ha estimado en 0.5 €/L, según lo consultado en U.S. Department of Energy (2016).

	<b>FLUJO (kg/h)</b>	<b>COSTE (€/kg)</b>	<b>COSTE (€/año)</b>
<b>MATERIAS PRIMAS</b>			
Biomasa	11.94	0.006	287
NaOH	0.01	0.250	10
HCl	0.05	0.170	34
Enzimas	4.90	1.500	29400
Nutrientes	1.21	0.220	1065
Agua	1209.00	0.001	6770
Oxígeno	0.07	1.200	336
<b>PRODUCTOS</b>			
Etanol	0.84	0.630	2117

Tabla 6.3. Balance de costes para las materias primas y productos

Considerando que la planta opera 16 horas diarias durante un total de 250 días al año, fijando una amortización de los equipos y la propia planta piloto a 10 años y aplicando un impuesto del 20 %, se puede determinar los flujos de caja, los cuales están recogidos en el **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**

En la Figura 6.1 se muestra el flujo de caja a 10 años. Como se puede observar el proyecto es inviable económicamente, puesto que según los datos la inversión inicial es imposible de amortizar y se pierde dinero conforme avanza el tiempo. Además el Valor Actual Neto (VAN) es negativo con un valor de -1,43 millones de euros y la Tasa Interna de Retorno (TIR) es inferior a cero.

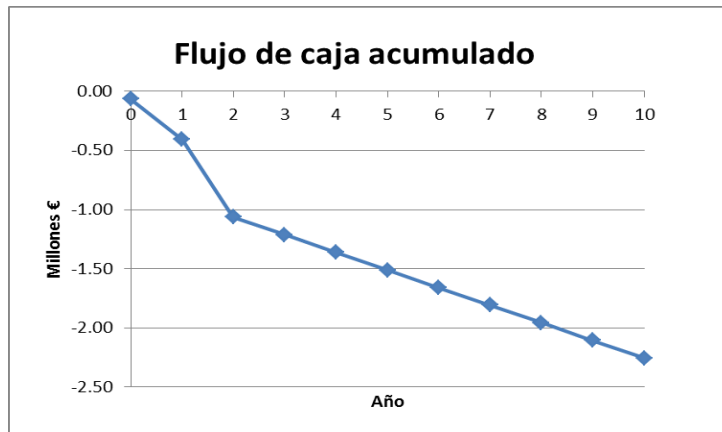


Figura 6.1. Flujo de acumulado en función del tiempo de amortización

Para que el proyecto fuera económica viable con un TIR del 10%, que es el mínimo exigible a proyectos de este tipo, se estima que el precio del etanol debería ser mayor de 95 €/kg, lo que supone un aumento del precio de venta del etanol de más del 10% con respecto al precio actual. Este precio es inviable si se quiere conseguir que el bioetanol sea un sustituto competitivo de los combustibles fósiles actuales.

Otra opción para que la obtención de bioetanol sea viable económicamente es obtener una subvención todos los años a partir del segundo año del 35 % sobre el CTI (297.700 €) para que la planta se rentabilice al séptimo año, como se observa en la Figura 6.2, con un VAN positivo de 20.026 €, para una rentabilidad del 10 % respecto a la inversión inicial, y un TIR del 11 %.

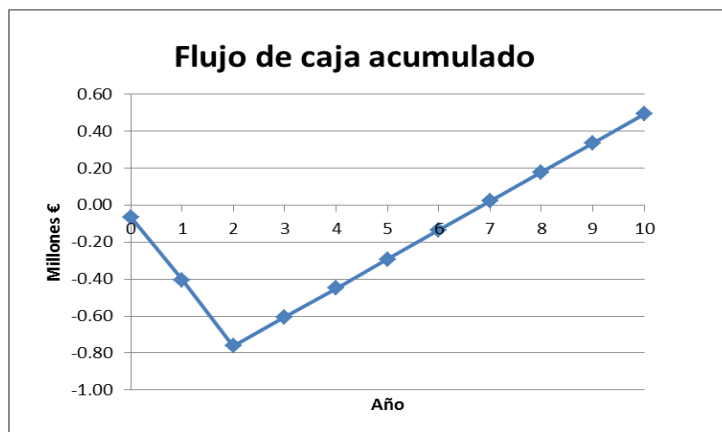


Figura 6.2. Flujo de caja acumulado obteniendo una subvención del 35% sobre el CTI

En cualquier caso, para que el proceso sea realmente rentable por sí mismo existe la necesidad de estudiar nuevas alternativas en las que se reduzca la cantidad de materiales utilizados durante el proceso. El mayor coste de materias primas lo soportan las enzimas con 29.400 € anuales, seguido por el consumo de agua que supone 6.770 € anuales.

## 6.1. ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD

Para completar el estudio económico se ha decidido realizar un análisis de sensibilidad del proyecto para ver de qué manera afectan diferentes factores sobre la rentabilidad de la planta como son: la cantidad de materias primas usadas en el proceso, la cantidad de etanol producida o el cambio de estrategia de sacarificación.

### 6.1.1. EFECTO DE LAS MATERIAS PRIMAS

Tras realizar un estudio de sensibilidad del proyecto para estudiar cómo afecta la cantidad de agua utilizada en el proceso, se observa que el sistema no es muy sensible al consumo de agua obteniendo una variación del VAN desde -1,40 millones€ para una reducción en el consumo de agua del 60%, hasta -1,45 millones€ para un aumento del consumo del 60%.

Por otro lado se realiza también el estudio de sensibilidad para la cantidad de enzimas añadidas. La variación en la cantidad utilizada de esta materia prima afecta de forma más significativa a los flujos de caja que el agua. El VAN varía desde -1,33 para una reducción del consumo de enzima del 60% hasta 1,53 para un aumento del consumo del 60%.

En cualquier caso, la reducción en el consumo de materias primas no es suficiente para conseguir que el proceso sea rentable económicamente como se muestra en la Figura 6.3, ya que en todos los escenarios estudiados el VAN es negativo y el TIR es inferior a cero.

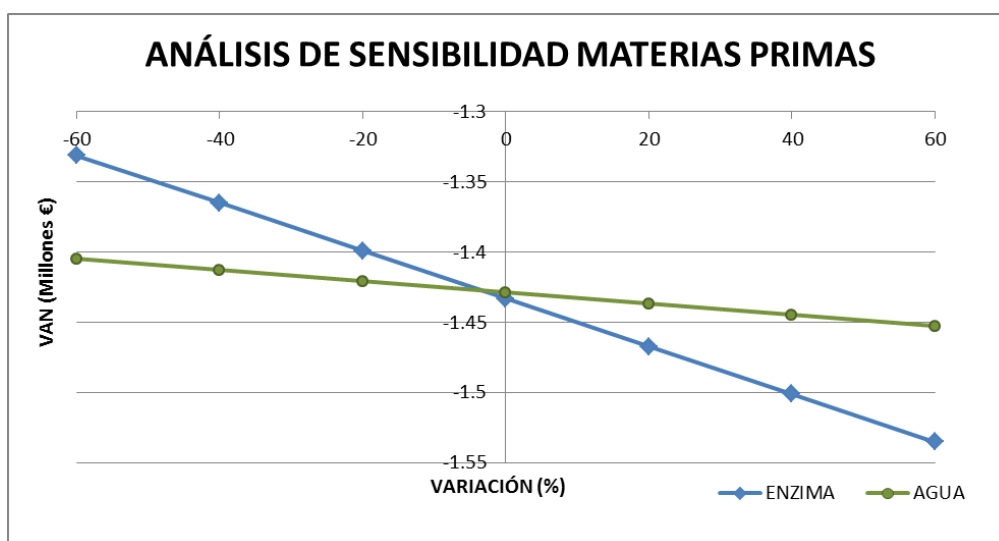


Figura 6.3. Análisis de sensibilidad del proceso en función de la cantidad de enzimas y agua añadidas



### 6.1.2.EFECTO DE LA PRODUCCIÓN

Una posible causa de la inviabilidad económica del proyecto es la baja producción de etanol, establecida en 0,84 kg/h, por este motivo se realiza un análisis de sensibilidad de la rentabilidad de la planta variando la producción de la planta representado en la Figura 6.4. La reducción de la producción no produce cambios notables en el VAN, sin embargo, el aumento de la misma sí que afecta considerablemente la rentabilidad del proyecto, de forma que el VAN calculado es más negativo a medida que la producción aumenta, alcanzando -25 millones€ para una producción de 150 veces la actual. Esto es debido a que un aumento de producción de etanol supone también un aumento de cantidad de materias primas utilizadas como biomasa y enzimas para la etapa de hidrólisis enzimática, lo que aumenta considerablemente los costes, haciendo que el proceso sea menos rentable cada vez.

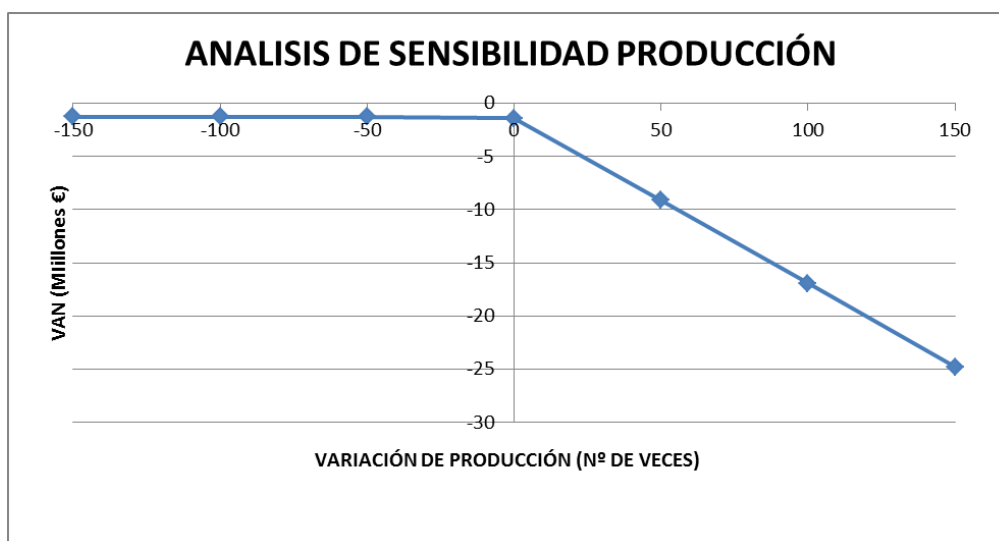


Figura 6.4. Análisis de sensibilidad del proyecto en función de la cantidad de etanol producida

### 6.1.3.EFECTO CAMBIO DE ESTRATEGIA DE SACARIFICACIÓN

La etapa de hidrólisis enzimática es sin duda la etapa más cara del proceso, puesto que el coste de las enzimas supone el 78% del coste total de materias primas. Por este motivo, tras estudiar sin éxito varios escenarios como la reducción de las mismas, se plantea la alternativa de realizar la sacarificación mediante una hidrólisis ácida. Se realiza un estudio económico preliminar, del proceso utilizando este método de sacarificación, que habría que estudiar con mayor detalle en el caso de decidir seguir con dicha alternativa.

Considerando constantes los rendimientos de recuperación de azúcares y de obtención de etanol y tras realizar el estudio del coste de materias primas y flujos de caja detallados en el **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, se obtiene un VAN de -1,27 millones€ y un TIR inferior a cero para una producción de 0,84 kg/h de etanol, concluyendo de esta forma que el proceso es también inviable económicamente siguiendo la nueva estrategia de sacarificación. Sin embargo, tras hacer un análisis de sensibilidad aumentando la producción de la planta, representado en la Figura 6.5, se consigue que el proyecto sea rentable económicamente cuando la producción alcanza 100 veces el valor actual, esto supondría una producción de etanol de 88 kg/h con lo que se obtiene un VAN positivo de 200.000 € con una rentabilidad del 10% y un TIR del 17% mayor que el mínimo del 10% exigible a proyectos de este tipo.

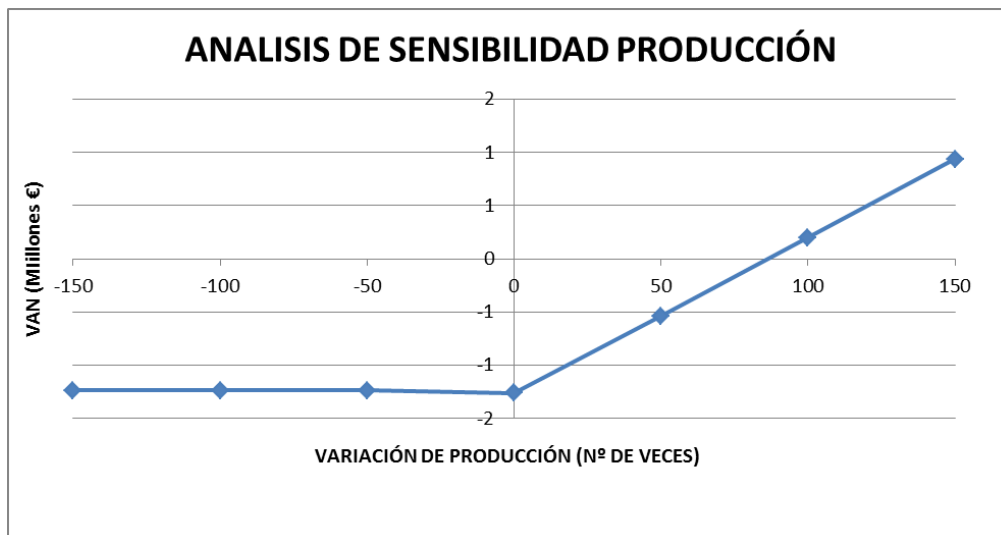


Figura 6.5. Análisis de sensibilidad del proyecto en función de la cantidad de etanol producida para el proceso con sacarificación mediante hidrólisis ácida

También sería conveniente para reducir costes y aumentar más la rentabilidad del proceso buscar una alternativa a la etapa de detoxificación mediante lavado con agua, puesto que esta etapa supone el 92% del consumo de agua total de la planta.

En conclusión, con las estrategias de obtención de etanol planteadas en este trabajo el proyecto es inviable económicamente a no ser que se reciba una subvención anual del 35% sobre el coste total de la inversión. Sin embargo, se conseguiría la rentabilidad de la planta utilizando como alternativa en la sacarificación una hidrólisis ácida en vez de una hidrólisis enzimática y aumentando la producción de etanol hasta 100 veces la actual.

## 7. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se ha llevado a cabo un estudio experimental, a nivel planta laboratorio, del proceso de obtención de bioetanol a partir de paja de trigo con la siguiente secuencia de etapas: pretratamiento, detoxificación, hidrólisis enzimática y fermentación. El objetivo de los ensayos es proporcionar los datos de operación y diseño y necesarios para el posterior estudio teórico de escalado a nivel planta piloto.

En este capítulo se exponen las principales conclusiones de las dos partes diferenciadas del trabajo.

### Escala laboratorio

1. El pretratamiento combinado de extrusión seguido por una oxidación con ozono favorece la solubilización y/o degradación de la lignina ácida insoluble en comparación con el pretratamiento único de oxidación con ozono. Por otra parte, el contenido en celulosa no se ve afectado por el pretratamiento combinado y la disminución en el contenido de hemicelulosa es mínimo.
2. Los ensayos de hidrólisis enzimática con un 12 % w/w ofrecen mejores rendimientos de recuperación de azúcares que los ensayos con un 10% de carga de sólidos, obteniendo una recuperación de glucosa del 53% y una recuperación de xilosa del 12%.
3. A pesar de que la concentración de azúcares es mayor en los ensayos con un 12% de carga de sólidos, los rendimientos de obtención de etanol se ven favorecidos con cargas del 10% (w/w) de biomasa alcanzando 0,48 g etanol/g de azúcar consumido y un rendimiento del 94% sobre el teórico, lo que supone una concentración de etanol de 8,68 g/L.

### Escala planta piloto

Una vez realizado el estudio experimental del proceso, se procede a realizar el diseño de la planta a escala piloto manteniendo las etapas principales del proceso. La planta se alimenta con un flujo de 12 kg/h de paja de trigo produciendo 0,84 kg/h de etanol.

Los equipos principales de la planta son el reactor de ozonólisis, el reactor de hidrólisis y el reactor de fermentación.

1. El reactor de ozonización es un reactor en el que la paja extrusada forma un lecho fijo operando de forma discontinua. El escalado del reactor de ozonización se ha basado en mantener constante el tiempo de residencia del ozono en el reactor y la relación de masa por carga y volumen de lecho empleadas a escala laboratorio, que son  $3,09 \cdot 10^{-3}$  h y 97,2 kg/carga/m<sup>3</sup>. Con estos datos se ha obtenido un reactor con una capacidad nominal de 0,09 m<sup>3</sup> y un flujo de aire de entrada al reactor de 29,67 m<sup>3</sup>/h con un porcentaje de ozono del 2,7% w/w.
2. El reactor de hidrólisis enzimática es un reactor tipo mezcla completa encamisado, con un sistema de agitación formado por dos turbinas de cuatro palas inclinadas 45°. Se mantienen las condiciones de pH 4,8, temperatura 50 °C, tiempo de residencia 48 h, dosis de enzima añadida (0,36 g Celluclast y 0,1 g Novozyme por gramo de materia seca), así como los rendimientos de recuperación de azúcares obtenidos a nivel experimental de 53% glucosa y 12% xilosa. El escalado del reactor se ha basado en mantener constante la potencia de agitación por unidad de volumen con respecto a la escala laboratorio obteniendo una potencia consumida de 1,46 kW para un volumen nominal de 2,63 m<sup>3</sup>. La velocidad de giro del agitador se calcula en 121 rpm. El calor necesario para el proceso es 1,05 kW, aportado por agua fluyendo por una camisa.

3. El fermentador es un reactor encamisado tipo mezcla completa con un volumen nominal de 8,29 m<sup>3</sup>. Las condiciones de operación de fermentación de la escala laboratorio se mantienen para el fermentador de la planta piloto, siendo la temperatura de operación 30 °C, el tiempo de residencia 168 h, el pH 5, el volumen de inóculo añadido del 10 % v/v y la concentración final de 0,40 g de etanol por cada 100 gramos de materia seca. El sistema de agitación cuenta con 4 turbinas tipo Rushton de 6 palas que giran a 54 rpm y consumen una potencia total de 1,93 kW, calculada manteniendo constante la potencia por unidad de volumen con respecto al sistema experimental. La fermentación es una reacción exotérmica, que genera un calor de 0,16 kW eliminado del sistema mediante agua de refrigeración que circula por la camisa del reactor.

El estudio de viabilidad económica de la planta piloto estima una inversión total de 850.571 €, concluyendo que el proyecto no es rentable por sí mismo, puesto que además de no recuperar la inversión inicial en un período de 10 años, se pierde dinero conforme avanza el tiempo, ya que el coste anual de materias primas es mayor que los beneficios anuales generados por la venta de productos. Resultando en un VAN negativo de -1,43 millones de euros y un TIR inferior a 0. Se proponen dos alternativas para solventar el problema:

1. El proyecto sería viable económicamente si se recibiese una subvención anual del 35% sobre el CTI de la planta, es decir, 297.000 €, con lo que se obtendría un VAN positivo de 20.026 € con una rentabilidad del 10% y un TIR del 11%.
2. Otra solución sería el cambio de estrategia en el proceso de sacarificación, usando una hidrólisis ácida con la que se conseguiría reducir costes de materias primas. Además del cambio de estrategia sería necesario un aumento en la producción de etanol hasta el valor de 88 kg/h, con lo que se obtendría, en un estudio preliminar, un VAN positivo de 200.000€ con una rentabilidad del 10% y un TIR del 17%.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] «Biocarburantes en el transporte,» Ministerio de Industria Turismo y Comercio. IDAE Instituto para la Diversificación y Ahorro de Energía., Madrid, (2006).
- [2] I. Internacional Energy Agency, «Oil Market Report,» (2017).
- [3] Eurostat Statistics Explained, «Producción e importaciones de energía,» (2016).
- [4] M. Planelles, «Combustibles fósiles,» Madrid, (2017).
- [5] N. Sarkar, S. Ghosh, S. Bannerjee y K. Aikat, «Bioethanol production from agricultural wastes: An overview,» *Renewable Energy* 37, 19-27, (2012).
- [6] L. Gómez, C. Steele-King y S. Mc Queen-Mason, «Sustainable liquid biofuels from biomass: The writing's on the walls,» *New Phytologist* 178, 473-485, (2008).
- [7] «Resumen del Plan de Energías Renovables 2011-2020,» Ministerio de Industria Turismo y Comercio. IDAE Instituto para la Diversificación y Ahorro de Energía.
- [8] M. E. Tomás Pejó, «Bioetanol de paja de trigo: Estrategias de integración de las etapas de proceso,» Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, (2009).
- [9] Y. Lechón, H. Cabal, C. Lago, C. De la Rúa, R. Sáez y M. Fernández, «Análisis del Ciclo de Vida de Combustibles alternativos para el transporte. Fase I. Análisis del Ciclo de Vida Comparativo de Etanol de Cereales y de la Gasolina. Energía y Cambio Climático.,» Ministerio de Medio Ambiente. Ministerio de Educación y Ciencia. ISBN. 84-8320-312-X, (2005).
- [10] BioPlat, «Plataforma Tecnológica Española de Biomasa. Documento de Visión a 2030,» (2009).
- [11] C. Bellido Díez, «Obtención de Bioetanol 2G a partir de hidrolizados de paja de trigo. Fermentación conjunta de los penta y hexa carbohidratos con *Pichia stipitis*,» Escuela de Ingenierías Industriales. Universidad de Valladolid, Valladolid, (2013).
- [12] M. Balat, «Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review,» *Energy Conversion and Management* 52, 858-875, (2011).
- [13] O. Sánchez y C. Cardona, «Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks,» *Bioresource Technology* 99, 5270-5295, (2008).
- [14] G. Fischer, S. Prieler, Van Velthuizen, S. Lensink, M. Londo y M. de Wit, «Biofuel production potentials in Europe: Sustainable use of cultivated land and pastures. Part I: Land productivity potentials,» *Biomass and Bioenergy* 34, 159-172, (2010).
- [15] A. S. T. i. p. e. d. sostenible, «[http://www.abengoa.es/web/es/innovacion/casos\\_exito/](http://www.abengoa.es/web/es/innovacion/casos_exito/),» (2017). [En línea].
- [16] O. Del Río Alegre, «Reducción hidrotermal de CO<sub>2</sub> usando sustancias orgánicas como reductoras,» Escuela de Ingenierías Industriales. Universidad de Valladolid, España, (2017).
- [17] A. Robledo Olivo, C. Noé Aguilar y J. Montañez Sáenz, «Uso del olote de maíz como sustrato microbiano para la obtención de xilanasas,» Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila, México, (2012).

- [18] O. Bobleter, «Hydrothermal degradation of polymers derived from plants. Progress in polymer science,» Progress in polymer science 19, 797-841, (1994).
- [19] D. Fengel y G. Wegener, «Wood Chemistry, Ultrastructure and Reactions,» Berlin-New York: Walter de Gruyter, (1989).
- [20] R. Villahoz, «Instalación para la hidrogenación de biomasa de pino,» Escuela de Ingenierías Industriales. Universidad de Valladolid, Valladolid, (2015).
- [21] A. Torres Collado, «La ciencia de la cerveza (parte III): La Fermentación,» La Ciencia es Fácil, (2014).
- [22] M. Barroso Casillas, «Pretratamiento de biomasa celulósica para la obtención de etanol en el marco de la biorrefinería,» Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, (2010).
- [23] H. Zhang y L. Lynd, «Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulase systems,» Biotechnology and Bioengineering 88, 797-779, (2004).
- [24] R. Sun, J. Fang, P. Rowlands y J. Bolton, «Physicochemical and thermal characterization of wheat straw hemicelluloses and cellulose,» Journal of Wood Chemistry and Technology 46, 2804-2809, 1998.
- [25] O. Dahlman, A. Jacobs y J. Sjöberg, «Molecular properties of hemicelluloses located in the surface and inner layers of hardwood and softwood pulps,» Cellulose 10, 325-334, (2003).
- [26] R. Sun y J. Tomkinson, «Characterization of hemicelluloses isolated with tetraacetylenediamine activated peroxide from ultrasound irradiated and alkali pretreated wheat straw,» European Polymer Journal 39, 751-759, (2003).
- [27] R. Sun, J. Tomkinson, Y. Wang y B. Xiao, «Physico-chemical and structural characterization of hemicelluloses from wheat straw by alkaline peroxide extraction,» Polymer 41, 2647-2656.
- [28] D. Fengel y G. Wegener, «Wood Chemistry, Ultrastructure and Reactions,» Berlin-New York: Walter de Gruyter, (1989).
- [29] T. Higuchi, «Lignin Biochemistry - Biosynthesis and Biodegradation,» Wood Science and Technology 24, 23-63, (1990).
- [30] A. Buranov y G. Mazza, «Lignin in straw of herbaceous crops,» Industrial Crops and Products 28, 237-259, (2008).
- [31] R. Howard, E. Abotsi, J. Rensburg y S. Howard, «Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production,» African Journal of Biotechnology 2, 602-619, (2003).
- [32] A. Berlin, N. Gilkes, D. Kilburn, V. Maximenko, R. Bura, A. Markov, A. Sinitsyn, O. Okunev, I. Soloviera y J. Saddler, «Evaluation of cellulase preparations for hydrolysis of hardwood substrate,» Applied Biochemistry and Biotechnology 37, 175-184, (2006).
- [33] X. Pan, X. Zhang, D. Gregg y J. Saddler, «Enhanced enzymatic hydrolysis of steam-exploded Douglas fir wood by alkali-oxygen post-treatment,» Applied Biochemistry and Biotechnology 115, 1103-1114, (2004).
- [34] L. Lynd, «Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: technology, economics, the environment, and policy,» Annual Review of Energy and the Environment, (1996).

- [35] J. Oliva Domínguez, «Efecto de los productos de degradación originados en la explosión de vapor de biomasa de chopor sobre *Kluyveromyces marxianus*,» Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, (2003).
- [36] C. Wyman, B. Dale, R. Elander, M. Holtzaple, M. Ladisch y Y. Lee, «Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies,» *Bioresource Technology* 96, 1959-1966, (2005).
- [37] L. Lynd, P. Weimer, W. Van Zyl y I. Pretorius, «Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology,» *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 66, 506-577, (2002).
- [38] Y. Sun y J. Cheng, «Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review,» *Bioresource Technology* 83, 1-11, (2002).
- [39] A. Abril y E. Navarro, «Etanol a partir de biomasa lignocelulósica,» (2012).
- [40] L. Cadoche y G. López, «Assessment of size reduction as a preliminary step in the production of ethanol from lignocellulosic wastes,» *Biol. Wastes* 30, 153-157, (1989).
- [41] L. Canilha, A. Chandel, T. Dos Santos, F. Fernandes, W. da Costa, M. das Graças y S. Sivério, «Bioconversion of Sugarcane Biomass into Ethanol: An Overview about Composition, Pretreatment Methods, Detoxification of Hydrolysates, Enzymatic Saccharification and Ethanol Fermentation,» *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, (2012).
- [42] C. karunanithy y K. Muthukumarappan, «Optimization of switchgrass and extruder parameters for enzymatic hydrolysis using response surface methodology,» *Industrial Crop Production* 33, 188-199, (2011).
- [43] W. Chen, Y. Xu, W. Hwang y J. Wang, «Pretreatment of rice straw using an extrusion/extraction process at bench-scale for producing cellulosic ethanol,» *Bioresource Technology* 102, 10451-10458, (2011).
- [44] S. Zhang, Y. Xu y M. Hanna, «Pretreatment of corn stover with twin-screw extrusion followed by enzymatic saccharification,» *Applied Biochemistry and Biotechnology* 166, 458-469, (2012).
- [45] C. karunanithy y K. Muthukumarappan, «Thermo-mechanical pretreatment of feedstocks,» *Green Biomass Pretreatment for Biofuels Production* 31-36, (2013).
- [46] A. Duque García, «Pretratamiento de extrusión reactiva para la producción de bioetanol a partir de paja de cebada,» *Escuela de Ingenierías Industriales. Universidad de Valladolid*, (2015).
- [47] B. Karki, D. Maurer y S. Jung, «Efficiency of pretreatments for optimal enzymatic saccharification of soybean fiber,» *Bioresource Technology* 102, 6522-6528, (2011).
- [48] C. karunanithy, K. Muthukumarappan y W. Gibbons, «Extrusion pretreatment of pine wood chips,» *Applied Biochemistry and Biotechnology* 167, 81-99, (2012).
- [49] C. Choi y K. Oh, «Application of continuous twin-screw driven process for dilute acid pretreatment of rape straw,» *Bioresource Technology* 110, 349-354, (2012).
- [50] A. Da Silva, R. Teixeira, T. Endo, E. Bon y S. Lee, «Continuous pretreatment of sugarcane bagasse at high loading in an ionic liquid using a twin-screw extruder,» *Green Chemistry* 15, 1991-2001, (2013).
- [51] I. Ballesteros, M. Negro, J. Oliva, A. Cabañas, P. Manzanares y M. Ballesteros, «Ethanol production from steam-explosion pretreated wheat straw,» *Applied Biochemistry and Biotechnology* 1:3, 496-

508, (2006).

- [52] I. Ballesteros, J. Oliva , F. Saez y M. Ballesteros, «Ethenol production by simultaneous saccharification and fermentation of olive oil extraction,» *Applied Biochemistry and Biotechnology* 91:93, 237-252, (2001).
- [53] M. Holtzapple, J. Jun, G. Ashok, S. Patibandla y B. Dale, «Ammonia fiber explosion (AFEX) pretreatment of lignocellulosic wates,» Cicago, IL: Proceedings of the American Institute of Chemical Engineers National Meeting, (1990).
- [54] J. Mc Millan, «Pretreatment of lignocellulosic biomass. In: Enzymatic conversion of biomass for fuel production,» American Chemical Society, Washington, DC, 292-234, (1994).
- [55] Y. Zheng, H. Lin y G. Tsao, «Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion,» *Biotechnology Progress* 14, 890-896, (1998).
- [56] P. Alvira, E. Tomás Pejó, M. Ballesteros y M. Negro, «Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: Areview,» *Bioresource Technology* 101, 4851-4861, (2010).
- [57] P. Singh, A. Suman, P. Tiwari, N. Arya, A. Gaur y A. Shrivastava, «Biological pretreatment of sugarcane trash for its conversion to fermentable sugars,» *World Journal of Microbiology and Biothecnology* 5, 667-673, (2008).
- [58] M. Fernández Delgado, «Pretratamiento de ozonolisis de bagazo de caña,» Escuela de Ingenierías Industriales. Universidad de Valladolid, Valladolid, (2016).
- [59] R. Thring, E. Chornet y R. Overend, «Recovery of a solvolytic lignin: effects of spent liquor/acid volume ratio, acid concentration and temperature,» *Biomass* 23, 289-305, (1990).
- [60] L. Mesa, E. González, C. Cara, M. González , E. Castro y S. Mussatto, «The effect of organosolv pretreatment variables on enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse,» *Chemical Engineering Journal* 168, 1157-1162, (2011).
- [61] E. Varga, A. Schmidt, K. Reczey y A. Thomsen, «Pretreatment of corn stover using wet oxidation to enhance enzyymmatic digestibility,» *Applied Biochemistry and Biotechnology* 104, 37-50, (2003).
- [62] R. Travaini, J. Martín Juárez, A. Lorenzo Hernando y S. Bolado Rodríguez, «Ozonolysis: An advantageous pretreatment for lignocellulosic biomass revisited,» *Bioresource Technology* 199, 2-12, (2016).
- [63] P. Vidal y J. Molinier, «Ozonolysis of lignin improvement of in vitro digestibility of poplar sawdust,» *Biomass* 16, 1-17, (1988).
- [64] A. Navarro, «Effects of furfural on ethanol formation by *Saccharomyces cerevisiae*: mathematical models,» *Current Microbiology* 29, 87-90, (1994).
- [65] E. Palmqvist, J. Almeida y B. Hanh-Hägerdal, «Influence of furfural on anaerobic glycolytic kinetics of *Sacharomyces cerevisiae* in batch culture,» *Biotechnology and Bioengineering* 62, 447-454, (1999).
- [66] M. Pampulha y M. Lourero Dias, «Combined effect of acetic acid, pH and ethanol on intracellular pH of fermenting yeast,» *Applied Biotechnology* 31, 547-550, (1989).
- [67] M. Taherzadeh, C. Niklasson y Lidén G., «Acetic acid-friend or foe in anaerobic batch conversion of



- glucose to ethanol by *Saccharomyces cerevisiae*,» *Chemical Engineering Science* 52, 2653-2659, (1997).
- [68] H. Klinke, B. Ahring, A. Schmidt y A. Thomsen, «Characterization of degradation products from alkaline wet oxidation of wheat straw,» *Bioresource Technology* 82, 15-26, (2002).
- [69] L. Olsson y B. Hahn-Hägerdal, «Fermentation of lignocellulose hydrolysates for ethanol production,» *Enzyme and Microbial Technology* 18, 312-331, (1996).
- [70] T. Miura, S. Leun, S. Inoue y T. Endo, «Combined pretreatment using ozonolysis and wet-disk milling to improve enzymatic saccharification of Japanese cedar,» *Bioresource Technology* 126, 182-186, (2012).
- [71] E. Palmqvist, B. Hahn-Hägerdal, Z. Szengyel, G. Zacchi y K. Réczey , «Simultaneous detoxification and enzyme production of hemicellulose hydrolysates obtained after steam pretreatment,» *Enzyme Microbial and Tenchnology* 20, 286-293, (1997).
- [72] L. Jönsson, E. Palmqvist y B. Hahn-Hägerdal, «Detoxification of wood hydrolysates with laccase and peroxidase from white-rot fungus *Trametes versicolor*,» *Applied Microbiology and Biotechnology* 49, 691-697, (1998).
- [73] E. Palmqvist, B. Hahn-Hägerdal , M. Galbe y G. Zacchi , «The effect of water-soluble inhibitors from steam-pretreated willow on enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation,» *Enzyme Microbial and Technology* 19, 470-476, (1996).
- [74] S. Larsson, A. Reimann, N. Nilvebrant y L. Jönsson, «Comparison of different methods for the detxification of lignocellulose hydrolysates of spruce,» *Applied Biochemistry and Biotechnology* 77-79, 91-103, (1999).
- [75] S. Amartey y T. Jeffries, «An improvement in *Pichia stipitis* fermentation of acid-hydrolysed hemicellulosic achived by overliming (calcium hydroxide treatment) and strain adaptation,» *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 12, 281-283, (1996).
- [76] N. Nilvebrant, A. Reimann, S. Larsson y L. Jönsson, «Detoxification of lignocellulose hydrolysates with ion.exchange resins,» *Applied Biochemistry and Biotechnology* 91-93, 35-49, (2001).
- [77] S. Larsson, «Ethanol from lignocellulose fermentation inhibitors, detoxification and genetic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for enhaced resistance,» Tesis Doctoral, Lund. Suecia, (2000).
- [78] L. Björklund, S. Larsson, L. Jönsson, A. Reimann y N. Nilvebrant, «Treatment with lignin residue. Anovel method for detoxification of lignocellulose hydrolysates,» *Applied Biochemistry and Biotechnology* 98-100, 563-575, (2002).
- [79] J. Pajaró, H. Domínguez y J. Domínguez, «Improved xylitol production with *Debaromyces hansenii* Y-7426 from raw or detoxified wood hydrolysates,» *Enzyme and Microbial Technology*, (1997).
- [80] H. Miyafuji, H. Danner, M. Neureiter, C. Thomasser, J. Bvochora, O. Szolar y R. Braun, «Detoxification of wood hydrolysates with wood charcoal for increading the fermentability of hydrolysates,» *Enzyme and Microbial Technology* 32, 396-400, (2003).
- [81] H. SivaRaman, A. Chandwadkar, S. Baliga y A. Prabhune, «Effect of synthetic zeolite on ethanolic fermentation of sugarcane molasses,» *Enzyme and Microbial Technology* 16, 719-722, (1994).

- [82] X. Yang, S. Zhang, Z. Zuo, X. Men y S. Tian, «Ethanol production from enzymatic hydrolysis of no-detoxified steam-exploded corn stalk,» *Bioresource Technology* 102, 7840-7844, (2011).
- [83] A. Martínez Alcalá, «Producción de bioetanol: mejora del proceso a partir de grano de cereal y de biomasa lignocelulósica tratada con steam explosion,» Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid, (2012).
- [84] M. García Cubero, G. González Benito, I. Indacochea, M. Coca y S. Bolado, «Effect of ozonolysis pretreatment on enzymatic digestibility of wheat and rye straw,» *Bioresource Technology* 100, 1608-1613, (2009).
- [85] H. Vázquez y O. Dacosta, «Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas,» *Ingeniería, Investigación y Tecnología VIII*, 4, 249-259, (2007).
- [86] T. Jeffries y J. Headman, «*Pichia stipitis* genomics, transcriptomics and gene clusters,» *FEMS Yeast Research* 9, 793-807, (2009).
- [87] J. Du Preez, «Process parameters and environmental factors affecting D-xylose fermentation by yeasts,» *Enzyme and Microbial Technology* 16, 944-956, (1994).
- [88] FluidMix Effective Mixing, «Agitadores Verticales,» [En línea]. Available: <http://www.agitadoresfluidmix.com/agitadores-verticales/>. [Último acceso: (2017)].
- [89] Flow Control and Handling S.A., «Agitadores mecánicos,» [En línea]. Available: [www.flowcontrolh.com](http://www.flowcontrolh.com). [Último acceso: (2017)].
- [90] A. R. Uribe, R. Rivera, A. F. Aguilera y E. Murrieta, «Agitación y mezclado,» *Enlace Químico* 4, 1, (2012).
- [91] M. García-Cubero, L. Palacín, G. González-Benito, S. Bolado, S. Lucas y M. Coca, «An analysis of lignin removal in a fixed bed reactor by reaction of cereal straws with ozone,» *Bioresource Technology* 107, 229-234, (2012).
- [92] C. Bellera, E. Fernández, A. Serna, E. Domènech y L. López, «Esaacle.Planta de Producción de Acetaldehído,» Proyecto Final de Carrera. Universidad Autónoma de Barcelona, (2010).
- [93] E. Paul, V. Atiemo-Obeng y S. Kresta, «Handbook of Industrial Mixing Science and Practice,» New Jersey: John Wiley & Sons, INC, (2004).
- [94] NREL, National Renewable Energy Laboratory. Chemical Analysis and Testing Laboratory Analytical Procedures. Golde. CO.

