

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS



**“REDUCCIÓN DEL CONTENIDO DE LIGNINA EN LA CÁSCARA DE
ARROZ MEDIANTE PRETRATAMIENTO EXPLOSIÓN DE VAPOR
PARA PRODUCCIÓN DE ETANOL-2G”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL

RICARDO AARON, NAVEDA RENGIFO

LIMA – PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS

“REDUCCIÓN DEL CONTENIDO DE LIGNINA EN LA CÁSCARA DE ARROZ
MEDIANTE PRETRATAMIENTO EXPLOSIÓN DE VAPOR PARA PRODUCCIÓN DE
ETANOL-2G”

Presentada por:

RICARDO AARON NAVEDA RENGIFO

Tesis para optar el Título Profesional de:

INGENIERO AMBIENTAL

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Lisveth Flores del
Pino
PRESIDENTE

Mg. Sc. Wilfredo Celestino
Baldeón Quispe
MIEMBRO

M. Sc. Víctor Caro Sánchez
Benites
MIEMBRO

Ph.D. Lizardo Visitación
Figueroa
ASESOR

Mg.Cs. Paola Aurelia Jorge
Montalvo
CO ASESORA

DEDICATORIA

A la memoria de mi mamá, cuyo recuerdo me inspira valor y amor en las cosas que hago.

A mi papá, mi mejor amigo, maestro y mentor desde siempre y por siempre.

A mi hermano, mi segundo mejor amigo y compañero de aventuras.

Finalmente, a todos quienes incursionan en la investigación científica, para que persistan en la búsqueda de la verdad y el conocimiento.

AGRADECIMIENTOS

A mi patrocinador y co-patrocinadora, Dr. Lizardo Visitación y Mg. Cs. Paola Jorge, por su gran e invaluable apoyo durante la investigación, así como por la confianza depositada en mi persona.

Al Programa Nacional de Innovación Agraria – PNIA, por el financiamiento a este proyecto.

Al Centro Modelo de Tratamiento de Residuos (CEMTRAR) y todas las personas que trabajan e investigan en él, principalmente Pedro Cuicapusa, Fernando Terreros, Luis Felipe, Luís Bobadilla, Antonio, Yuliño y Jonathan; por toda la ayuda brindada en campo y laboratorio, así como los momentos amenos y divertidos vividos durante la elaboración de esta tesis.

A mi papá y hermano, por su incansable apoyo y soporte durante todo el tiempo que duró la investigación.

A mi querida amiga Judith, por su apoyo y ánimo para mi titulación, y por haber sido artífice de mi vínculo inicial con el proyecto, sin el cual no se habría dado esta tesis.

A mi abuelita Chelita, tía Miriam, tío Antonio, tío Fernando y tía María Esther; por haberme apoyado económicamente, además de moralmente durante el tiempo que duró la tesis.

A todos mis familiares que siempre estuvieron atentos a mi avance y me brindaban su apoyo.

A mis amigos, por sus consejos y recomendaciones pero sobretodo, por su cariño.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	MARCO TEÓRICO	4
2.1.	Residuos sólidos	4
2.2.	Problemática de la gestión de residuos sólidos.....	4
2.3.	Valorización energética	5
2.4.	Economía circular	5
2.5.	Energías renovables	5
2.6.	Biomasa	6
2.7.	Biomasa lignocelulósica	7
2.8.	Biocombustibles.....	11
2.9.	Etanol de segunda generación (2G)	11
2.10.	Pretratamiento	12
2.11.	Inhibidores fermentativos.....	15
2.12.	Pretratamiento explosión de vapor.....	16
2.13.	Cáscara de arroz	17
2.14.	Determinación de contenido de lignina por método lignina Klason.....	18
2.15.	Espectroscopía infrarroja (IR).....	19
2.16.	Microscopía de barrido electrónico (SEM).....	20
2.17.	Aspectos ambientales	21
III.	METODOLOGÍA.....	22
3.1.	Materiales y materia prima	22
3.2.	Lugar de ejecución.....	24
3.3.	Etapas de la investigación.....	24

3.4.	Pretratamiento explosión de vapor	25
3.5.	Determinación de la relación presión manométrica y temperatura del equipo explosión de vapor.....	27
3.6.	Determinación de pH, humedad y densidad aparente.....	28
3.7.	Análisis mediante método lignina Klason	28
3.8.	Análisis mediante espectroscopía infrarroja (FTIR).....	30
3.9.	Análisis mediante microscopía de barrido electrónico	31
3.10.	Diseño experimental.....	31
3.11.	Análisis estadístico.....	32
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4.1.	Relación presión – temperatura en el reactor del equipo explosión de vapor	34
4.2.	Factor de severidad (FS)	35
4.3.	pH, humedad y densidad aparente	36
4.4.	Lignina Klason.....	42
4.5.	Análisis de lignina mediante FTIR y SEM.....	48
4.6.	Aspectos ambientales.....	52
V.	CONCLUSIONES.....	54
VI.	RECOMENDACIONES	56
VII.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	57
VIII.	AnexoS.....	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición de diferentes tipos de biomasa lignocelulósica	7
Tabla 2: Ventajas y desventajas de los tipos de pretratamiento	14
Tabla 3: Materiales, equipos y reactivos o sustancias	23
Tabla 4: Factores y niveles del diseño experimental	32
Tabla 5: Códigos de experimentos	32
Tabla 6: Factores de severidad (FS) calculados	35
Tabla 7: Efectos del pretratamiento explosión de vapor sobre el pH del lixiviado, humedad y densidad aparente.....	37
Tabla 8: Efectos del pretratamiento explosión de vapor sobre el contenido de lignina ... a través de método lignina Klason.....	43
Tabla 9: Bandas del espectro infrarrojo atribuidas a las vibraciones de las especies químicas más importantes	49
Tabla 10: Matriz de identificación de aspectos e impactos ambientales	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo de la biomasa	7
Figura 2: Estructura de la fibra de celulosa	8
Figura 3: Estructura de biomasa lignocelulósica	10
Figura 4: Proceso de producción de etanol 2G.....	12
Figura 5: Esquema de biomasa antes y después de pretratamiento	13
Figura 6: Modelo de formación de los compuestos inhibidores de la fermentación.....	15
Figura 7: Ecuación de factor de severidad (SF)	16
Figura 8: Morfología de la semilla de arroz	18
Figura 9: Tipos de vibraciones moleculares	20
Figura 10: Etapas de la investigación.	24
Figura 11: Equipo de explosión de vapor.....	27
Figura 12: Curva de relación entre temperatura y presión a partir del método de..... iteraciones Gauss – Newton	35
Figura 13: Gráfico de influencias de las variables analizadas por el método de los... componentes principales.....	39
Figura 14: Variación del pH en función a la presión para mismos tiempos de residencia..	40
Figura 15: Variación del pH en función al factor de severidad (FS).....	41
Figura 16: Fotografías de lixiviados al salir del reactor	42
Figura 17: Distribución de resultados del contenido de lignina en función al FS.....	44
Figura 18: Variación del contenido de lignina promedio producido por los efectos... principales de la presión y el tiempo	45
Figura 19: Variación del contenido de lignina promedio producido por el efecto de la... interacción entre la presión y el tiempo.....	46
Figura 20: Posible mecanismo de despolimerización de la lignina.....	48
Figura 21: Posible mecanismo de repolimerización de la lignina	48
Figura 22: Espectro FTIR de la cascarilla de arroz, sin y con tratamiento por explosión... de vapor	50
Figura 23: Imágenes de la cáscara de arroz correspondiente a las muestras ST, CT-1 y... CT-2 analizadas por su cara externa a una magnificación de 1200 x.....	51
Figura 24: Diagrama de entradas y salidas del proceso explosión de vapor	52

RESUMEN

La generación de residuos y emisión de gases de efecto invernadero (GEI) están ocasionando serios problemas ambientales relacionados a la contaminación de ecosistemas y el calentamiento global. Ante esta problemática, el etanol de segunda generación (2G) resulta una alternativa prometedora por promover una economía circular y sustituir los combustibles fósiles; sin embargo, la eficiencia en su producción aun no alcanza niveles rentables en el mercado, por lo que la investigación en esta materia es imprescindible. Bajo este contexto, la presente investigación se enmarcó en la primera etapa del proceso productivo de este biocombustible, el pretratamiento; cuyo fin es descomponer la matriz lignocelulósica de la biomasa. El objetivo principal fue determinar el efecto que produce el pretratamiento explosión de vapor sobre el contenido de lignina en la cáscara de arroz, al aplicar presiones de 4, 6, 8 y 10 bar con tiempos de residencia de 6, 8, 10 y 12 minutos. Para esto se analizó la cáscara de arroz mediante el método lignina Klason, FTIR y SEM. Los resultados mostraron que el pretratamiento explosión de vapor reduce el contenido de lignina en la cáscara de arroz, siendo la presión el factor que más influye en este efecto y alcanzando una reducción máxima del 36 por ciento. No obstante, se encontró que el contenido de lignina promedio puede aumentar a determinadas condiciones de presión y tiempo, debido a reacciones de repolimerización y despolimerización que se dan en simultáneo como consecuencia del pH ácido del medio. Del análisis por FTIR se encontró diferencias entre la cáscara sin tratar y tratada, principalmente en las bandas del espectro 3340 cm^{-1} y 1060 cm^{-1} asociadas a la lignina, mientras que del análisis por SEM, se verificó que la cáscara de arroz sometida al pretratamiento se vio afectada con fracturas y disrupciones en su estructura.

Palabras clave: Explosión de vapor, cáscara de arroz, etanol-2G, lignina.

ABSTRACT

The generation of waste and the emission of greenhouse gases (GHG) are causing serious environmental problems related to ecosystem pollution and global warming. Second generation ethanol (2G) is a promising alternative to promote a circular economy and replace fossil fuels; however, the efficiency in its production does not reach profitable levels in the market yet, which is the reason why it is important the development research in this topic. In this context, the present investigation was focus in the first stage of the production process of this biofuel, pretreatment; whose purpose is to break down the lignocellulosic matrix of biomass. The main objective was to determine the effect produced by the steam explosion pretreatment on the lignin content in the rice husk when applying pressures of 4, 6, 8 and 10 bar with residence times of 6, 8, 10 and 12 minutes . For this, the rice husk was analyzed using the lignin Klason method, FTIR and SEM. The results showed that the steam explosion pretreatment reduces the lignin content in the rice husk and the pressure was the factor that most influences this effect, reaching a maximum reduction of 36 percent. Nevertheless, it was found that the average lignin content may increase at certain pressure and time conditions due to repolymerization and depolymerization reactions that occur simultaneously as a result of the acidic pH of the medium. From the FTIR analysis, differences were found between the untreated and treated husk, mainly in the 3340 cm^{-1} and 1060 cm^{-1} spectrum bands associated with lignin, while from the SEM analysis it was verified that the pretreatment affected the rice husk producing fractures and disruptions in its structure.

Key words: Steam explosion, rice husk, ethanol 2-g, lignin.

I. INTRODUCCIÓN

Desde la revolución industrial en el siglo XVIII, el modelo de desarrollo económico se ha basado en el uso y explotación de recursos energéticos de origen fósil. Esta tendencia ha ocasionado graves problemas ambientales, siendo el más alarmante el cambio climático. Las emisiones que producen estos combustibles ha provocado que la concentración de gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera se incremente y consecuentemente, la temperatura del planeta también lo haga (Codina Gironès, Moret, Peduzzi, Nasato, & Maréchal, 2017). Ante ello, a finales del siglo XX, el Panel Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático advirtió que, si la temperatura promedio mundial llegase a aumentar en 2 °C ocasionaría cambios irreversibles en los ecosistemas del planeta.

Por otra parte, los residuos orgánicos generados alrededor del planeta también ocasionan graves problemas de contaminación ambiental, especialmente cuando son manejados inadecuadamente. En el Perú los residuos orgánicos representaron en el 2016 el 60 por ciento del total de residuos generados (Ministerio del Ambiente - MINAM, 2017). Uno de estos residuos es la cáscara de arroz, que en el año 2013 se produjo hasta 609 400 toneladas de este subproducto agrícola (Huaripoma Vega, 2015). Ante esta problemática, en el año 2016 se promulgó la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos (Ley 1278), la cual estableció como principios para el manejo de los residuos, la búsqueda de un modelo de economía circular y la valorización de los residuos.

Bajo este contexto, en el Perú y el mundo ha crecido el interés por encontrar fuentes de energía renovable que permitan hacer frente al cambio climático y poner en marcha un modelo de economía circular. La biomasa es una fuente de energía que cumple dichos requisitos y una de las formas de aprovecharla es a través de la producción de etanol de segunda generación (2G). Este es un biocombustible cuyo uso emite menor cantidad de GEI que los combustibles fósiles y utiliza residuos orgánicos como materia prima.

La producción de etanol requiere que los azúcares (pentosas y hexosas) estén libres y disponibles para que puedan ser fermentados hasta etanol; sin embargo, la complejidad de la matriz lignocelulósica que compone la biomasa dificulta que esto suceda. Es por ello que se requiere de un pretratamiento inicial que permita descomponer dicha matriz reduciendo su contenido de lignina y aumentando la exposición de la celulosa y hemicelulosa a un posterior ataque hidrolítico en la siguiente etapa del proceso de producción.

El pretratamiento explosión de vapor es un tipo de pretratamiento fisicoquímico que consiste en someter al material lignocelulósico a vapor saturado inyectado a alta presión y temperatura durante periodos cortos de tiempos (Margarita, Osney, Antonio, María, & Geraldo, 2015); el proceso finaliza con una rápida descompresión ocasionando el efecto de una explosión que permite la descomposición de la matriz lignocelulósica (Verardi, Blasi, Marino, Molino, & Calabrò, 2017). La eficacia de este tipo de pretratamiento depende en gran medida del tipo y tamaño del residuo, la presión y el tiempo de residencia (Rastogi & Shrivastava, 2017).

Los biocombustibles, como el etanol 2G, no alcanzan ni el uno por ciento de contribución en la matriz energética mundial del sector transporte, esto se debe a que la eficiencia en su producción aun no es lo suficientemente alta para competir con las fuentes de energía convencionales (Janet L., Jay, & Freyr, 2018). Ante ello, el interés por investigar la ciencia detrás de los biocombustibles ha crecido, lo cual se evidencia con 49150 artículos científicos publicados entre 1990 y 2014 que tratan sobre el tema (Azadi, Malina, Barrett, & Kraft, 2017).

La presente investigación encuentra su justificación en el hecho que la producción de etanol 2G en el Perú a partir de cáscara de arroz puede suponer ser una fuente de energía renovable útil y rentable en el país por la abundancia de esta materia prima. En ese sentido, esta tesis se enfocó en estudiar la primera etapa del proceso de producción de etanol 2G, el pretratamiento. El objetivo principal fue determinar el efecto que produce el pretratamiento explosión de vapor sobre el contenido de lignina en la cáscara de arroz para la producción de etanol 2G. Los objetivos específicos fueron (i) encontrar una relación entre la presión y temperatura en el reactor del equipo explosión de vapor, (ii) cuantificar el contenido de lignina en la cáscara de arroz mediante el método lignina Klason cuando se aplica y no se

aplica el pretratamiento, (iii) identificar los cambios producidos por el pretratamiento sobre la estructura lignocelulósica de la cáscara de arroz, luego de ser analizada por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y microscopía de barrido electrónico (SEM), y (iv) determinar los aspectos ambientales asociados al pretratamiento explosión de vapor, respecto a la cantidad de recursos utilizados y desechos generados.

II. MARCO TEÓRICO

A continuación se presentan definiciones y conceptos básicos que se utilizaron en el marco de la investigación.

2.1 Residuos sólidos

En el Perú, la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos (Ley N° 1278) define a los residuos sólidos como cualquier objeto, material, sustancia o elemento resultante del consumo o uso de un bien o servicio, del cual su poseedor se desprenda o tenga la intención u obligación de desprenderse. La misma Ley establece que los residuos se clasifican de acuerdo al manejo que reciben, en peligrosos y no peligrosos; y según la autoridad pública competente para su gestión, en municipales y no municipales.

2.2 Problemática de la gestión de residuos sólidos

En el mundo se genera anualmente 2010 millones de toneladas de residuos municipales, y al menos el 33 por ciento de ellos no son gestionados adecuadamente. Este problema está afectando seriamente al medioambiente y la salud de las personas, principalmente en los países más pobres donde cerca del 90 por ciento de los residuos son vertidos a los cuerpos de agua o quemados a cielo abierto. En el 2016 se determinó que el cinco por ciento de las emisiones mundiales de gases de efecto invernadero (GEI) provenía de la inadecuada gestión de residuos (Kaza, Yao, Bhada-Tata, & Van Woerden, 2018).

En el Perú, la generación de residuos municipales urbanos en el 2016 fue de 7 588 646 toneladas, de los cuales, excluyendo los generados en Lima Metropolitana y el Callao, solo el 7,6 por ciento del total fue dispuesto adecuadamente en rellenos sanitarios autorizados. Respecto a la composición, los residuos orgánicos predominaron con un 58 por ciento (MINAM, 2016).

2.3 Valorización energética

La valorización energética son aquellas operaciones destinadas a emplear residuos con la finalidad de aprovechar su potencial energético a través de procesos de transformación física, química u otra, tales como, coprocesamiento, coincineración, generación de energía en base a procesos de biodegradación, biochar, entre otros (MINAM, 2017).

2.4 Economía circular

El concepto de economía circular propone un cambio al paradigma “reducir, reutilizar y reciclar” por una transformación más profunda y duradera. Este modelo otorga al residuo un papel dominante y se sustenta en la reutilización inteligente del desperdicio, sea este de naturaleza orgánica o inorgánica, en un modelo cíclico que imita a la naturaleza y se conecta con ella. Bajo este enfoque, el residuo pierde su condición de tal y se convierte en la materia prima “alimentaria” de los ciclos naturales o se transforma para formar parte de nuevos productos, con un mínimo gasto energético (Lett, 2014).

2.5 Energías renovables

Las energías renovables son aquellas que se producen de forma continua y cuyas fuentes son virtualmente inagotables a escala humana, ya sea por la inmensa cantidad de energía que contienen o por ser capaces de regenerarse por medios naturales (Merino, 2009). Estas se pueden clasificar en energías renovables convencionales (hidroeléctrica) y no convencionales (biomasa, solar, eólica, geotérmica, etc.) en función al grado de desarrollo tecnológico y a su nivel de penetración en la matriz energética de los países (Spiegeler & Cifuentes, 2014).

En el 2015, la Organización de las Naciones Unidas (ONU) aprobó la <<Agenda 2030 sobre el Desarrollo Sostenible>>, esta agenda cuenta con 17 objetivos de desarrollo sostenible, siendo el séptimo, el objetivo de garantizar el acceso a una energía asequible y no contaminante. Este objetivo incentiva y promueve el desarrollo tecnológico en el campo de las energías renovables con el fin mitigar los efectos del cambio climático producidos por el uso de combustibles fósiles durante los últimos años (Kaza et al., 2018).

2.6 Biomasa

Según la Unión Europea (UE), biomasa es la fracción biodegradable de productos, desechos y residuos de la agricultura (incluyendo sustancias vegetales y animales), silvicultura e industrias relacionadas, incluyendo la pesca y la acuicultura, así como la fracción biodegradable de los residuos industriales y municipales.

Otra definición la da la Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR), basada en la Especificación Técnica Europea CEN/TS 14588, la cual indica que biomasa es todo material de origen biológico excluyendo a aquellos que han sido englobados en formaciones geológicas sufriendo un proceso de mineralización; por ejemplo, el gas y el petróleo.

Históricamente, la biomasa es una de las fuentes energéticas más antiguas utilizadas por la humanidad, los primeros hombres la utilizaban directamente quemando madera o paja para producir calor; hoy la biomasa puede ser transformada en combustibles líquidos y gaseosos (Aditiya, Mahlia, Chong, Nur, & Sebayang, 2016). Estos avances han permitido satisfacer varias necesidades energéticas como la generación de electricidad, el transporte, entre otros (Toklu, 2017).

La energía que proviene de la biomasa se la conoce también como bioenergía y dentro de la demanda mundial de energía renovable es la que más contribuyente, ya que proporciona casi el 13 por ciento del total. El uso tradicional de la biomasa en los países en desarrollo mediante la combustión directa (para cocinar y calentar) representa casi el ocho por ciento, y el uso moderno mediante la transformación a biocombustibles el otro cinco por ciento (Janet L. et al., 2018).

La energía que contiene la biomasa es la energía solar que fue absorbida durante la fotosíntesis, proceso por el cual algunos organismos como plantas, algas y algunas bacterias utilizan la energía lumínica del sol para transformar el agua y dióxido de carbono (CO₂) que asimilan en azúcares. La combustión de biomasa como la madera, imita los procesos naturales de cómo se manifiesta naturalmente la energía almacenada (Toklu, 2017). La siguiente Figura muestra gráficamente el ciclo de la biomasa.

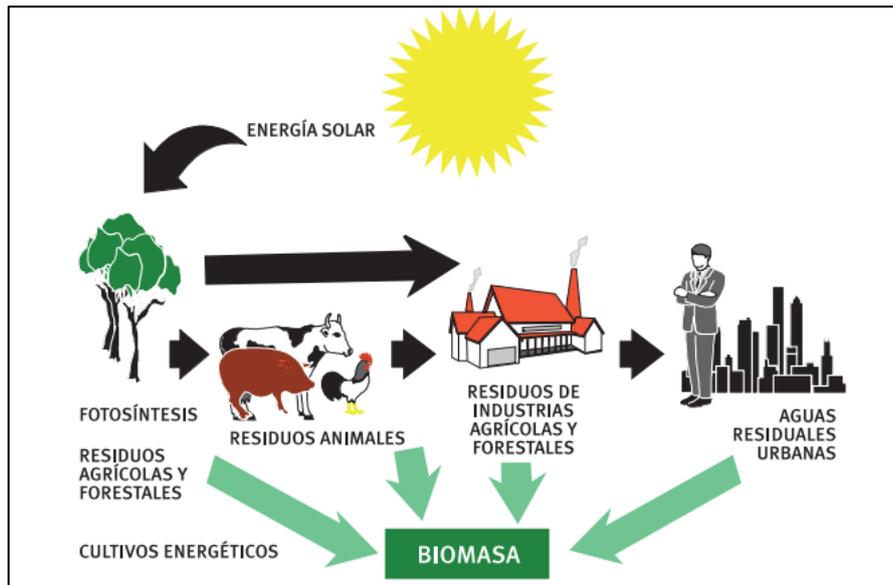


Figura 1: Ciclo de la biomasa.

Fuente: Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía (IDAE), 2007

2.7 Biomasa lignocelulósica

La lignocelulosa o biomasa lignocelulósica es una matriz de carbohidratos que conforman la pared celular de los cuerpos leñosos de las plantas y está constituida principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina (Margarita et al., 2015). Esta matriz seca está compuesta entre 40 y 60 por ciento de celulosa, entre 20 y 40 por ciento de hemicelulosa y entre 10 a 25 por ciento de lignina (Rastogi & Shrivastava, 2017); estas proporciones varían dependiendo del tipo de residuo vegetal. En la Tabla 1 se presenta la composición de diferentes tipos de biomasa lignocelulósica.

Tabla 1: Composición de diferentes tipos de biomasa lignocelulósica

Biomasa	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)	Cenizas (%)
Bagazo de caña de azúcar	32 - 48	19 - 24	23 - 32	1.5 - 5
Tallo de maíz	39 - 47	26 - 31	3 - 5	12 - 16
Cáscara de arroz	31.3	24.3	14.3	23.5
Madera suave	45 - 50	25 - 35	25 - 35	N.D.
Madera dura	40 - 55	24 - 40	18 - 25	N.D.
Algas verdes	20 - 40	20 - 50	N.D.	N.D.

Notas: N.D = No detectado. Adaptado de "Recent advances in second generation bioethanol production: An insight to pretreatment, saccharification and fermentation processes" por Rastogi y Shrivastava, 2017.

2.7.1 Celulosa

La celulosa es un homopolisacárido lineal de elevado peso molecular y alto grado de polimerización; en la naturaleza es el principal componente de la pared celular de las plantas. Su grado de polimerización se define como el número de unidades de β -glucosa (llamada también β -D-glucopiranososa), unidas entre sí mediante un enlace glicosídico entre el carbono 1 y 4 en la cadena polimérica. A mayor grado de polimerización, más difícil de hidrolizar la celulosa (Morales de la Rosa, 2015).

El enlace glicosídico se forma por la reacción del grupo -OH hemiacetálico del carbono anomérico (carbono 1) de una β -D-glucopiranososa con el grupo -OH del carbono 4 de otra β -D-glucopiranososa. Por esta razón, las unidades de glucosa en los extremos de la cadena celulósica no son químicamente iguales. Por otra parte, que los grupos -OH se encuentren en posición ecuatorial, permite a la celulosa formar uniones por puentes de hidrógeno intermoleculares dando lugar a las fibrillas elementales de celulosa, llamadas también micelas (Morales de la Rosa, 2015).

Estas fibras elementales o micelas están formadas entre 40 y 100 cadenas de celulosa y en ellas se presentan regiones con estructura cristalina que le confiere a la celulosa una gran resistencia y otras regiones amorfas que le otorgan elasticidad. La presencia de regiones amorfas en las fibras elementales permiten mejor penetración de reactivos químicos, por tanto mayor reactividad (Morales de la Rosa, 2015). En la siguiente Figura se muestra la estructura de la fibra de celulosa.

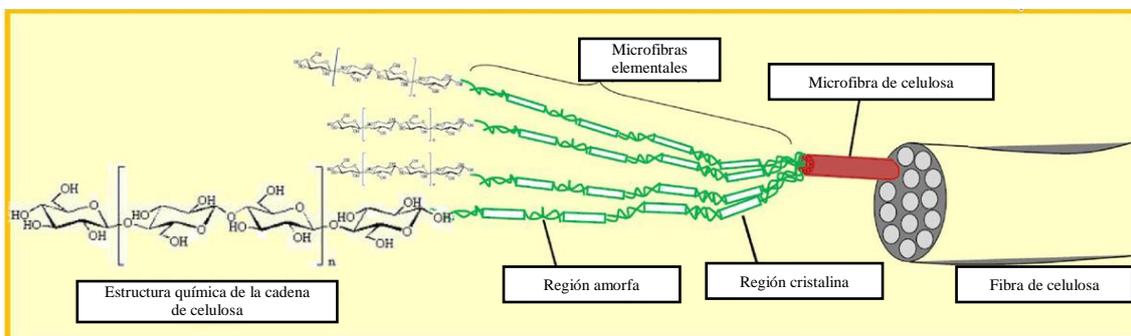


Figura 2: Estructura de la fibra de celulosa.
Fuente: Lavoine et al., 2012

2.7.2 Hemicelulosa

La hemicelulosa es un polímero complejo de heteropolisacáridos formados por pentosas (D-xilosa y L-arabinosa) y hexosas (D-glucosa, D-manosa y D-galactosa) que forman cadenas ramificadas, y algunos ácidos orgánicos. Los azúcares constituyentes están unidos entre sí mediante enlaces β -1,4 y ocasionalmente mediante enlaces β -1,3 (Cuervo, Folch-Mallol, & Quiroz Castañeda, 2014).

A diferencia de la celulosa, la hemicelulosa posee cadenas más cortas y ramificadas, lo que la hace más amorfa y fácil de hidrolizar en sus azúcares constituyentes. En estado natural consigue tener un grado de polimerización que no excede a los 200 monómeros. Su papel es suministrar la unión entre la lignina y la celulosa para proporcionar rigidez a la pared celular de la planta (Morales de la Rosa, 2015).

2.7.3 Lignina

Detrás de celulosa y hemicelulosa, la lignina es el tercer biopolímero más abundante en la Tierra. Se encuentra principalmente en la lámina media de la pared celular y en las capas de la misma formando junto con la hemicelulosa una matriz alrededor de las microfibras de la celulosa (Morales de la Rosa, 2015).

La lignina es un heteropolímero amorfo, tridimensional y ramificado, posee una composición química compleja pudiéndose diferenciar tres tipos de unidades aromáticas que se repiten a lo largo de su estructura. Estas unidades son: unidad H (cumaril) que deriva del alcohol p-cumárico, unidad G (guaiacil) que deriva del alcohol coniferílico y unidad S (siringil) que deriva del alcohol sinapílico (Morales de la Rosa, 2015).

La transformación de la estructura química de la lignina puede ser evaluada por la aparición, disminución o desaparición de grupos funcionales y enlaces característicos como los grupos hidroxilo $-OH$ (Tomczak, Satyanarayana, & Sydenstricker, 2007), carbonilo $C=O$ que puede corresponder a los ésteres alifáticos encontrados en la lignina y la hemicelulosa (Romanzini, Ornaghi Junior, Amico, & Zattera, 2012), así como los enlaces $C-O$ unidos a polisacáridos o anillos aromáticos en residuos de lignina, entre otros (Boonterm et al., 2016).

Debido a su configuración molecular, la lignina es extremadamente resistente a la degradación enzimática lo que la hace una barrera física para la difusión de agua y es la responsable de la rigidez de la pared celular. (Sanchez Ortiz, 2015). En la Figura 3 se representa la estructura y composición simplificada de la biomasa lignocelulósica.

2.7.4 Compuestos extraíbles

Los compuestos extraíbles son compuestos de bajo peso molecular en comparación con los otros constituyentes de la pared celular (biopolímeros) y se clasifican según su solubilidad en compuestos lipofílicos (lípidos y derivados) y compuestos hidrofílicos (hidrosolubles). Los primeros consisten principalmente en grasas, resinas, hidrocarburos, terpenoides, esteroides, ceras, entre otros; mientras que los segundos son compuestos fenólicos libres como estilbeno, lignanes, tanines, flavonoides, etc. (Prinsen, 2010).

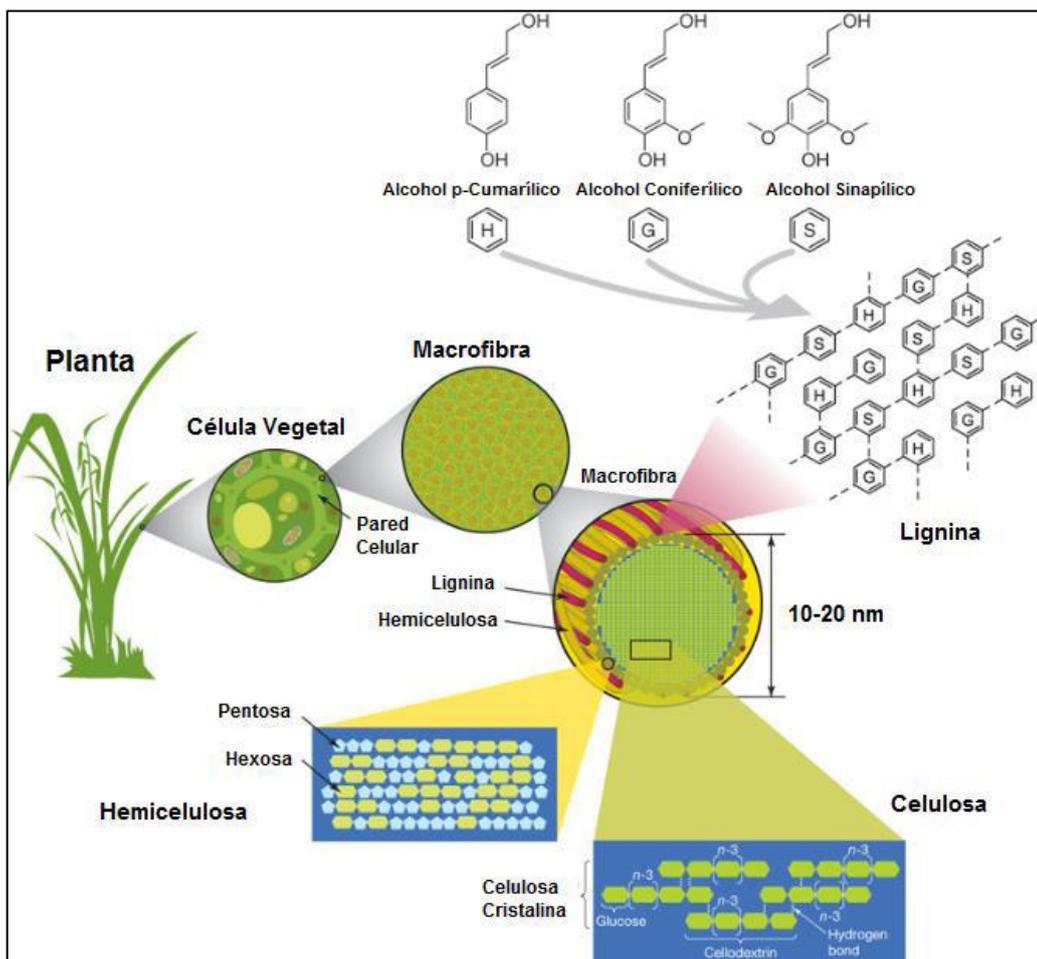


Figura 3: Estructura de biomasa lignocelulósica.
Fuente: Morales de la Rosa, 2015

2.8 Biocombustibles

Los biocombustibles son aquellos combustibles obtenidos a partir de biomasa (Morelos Gómez, 2016). Típicamente son producidos de dos maneras diferentes: (1) a través de procesos o rutas fermentativas y (2) a través de procesos de gasificación Fisher-Tropsch, proceso por el cual se produce un hidrocarburo líquido a partir de un gas de síntesis (Morelos Gómez, 2016). El etanol de segunda generación o bioetanol, además del biobutanol, biometano o biogas, y biohidrógeno, son biocombustibles producidos a través del primer proceso; mientras que el biodiesel, es producido a través del segundo (Ghosh, Chowdhury, & Bhattacharya, 2017).

Asimismo, dependiendo de la fuente y la tecnología de producción empleada, los biocombustibles se categorizan como de primera, segunda, tercera y cuarta generación (Rastogi & Shrivastava, 2017). Los biocombustibles provenientes de cultivos alimenticios como azúcar, maíz, arroz, palma e incluso grasa animal, son considerados de primera generación (Rastogi & Shrivastava, 2017); su producción es sencilla; sin embargo, compete con la seguridad alimentaria, poniéndola en riesgo (Ghosh et al., 2017).

Por otra parte, los biocombustibles de segunda generación, son aquellos que utilizan como materia prima, biomasa lignocelulósica proveniente principalmente de residuos agrícolas, forestales y agroforestales (Ghosh et al., 2017). Finalmente, los biocombustibles de tercera generación son aquellos que utilizan biomasa de algas como materia prima, mientras que los biocombustibles de cuarta generación son aquellos que utilizan biotecnología sintética para producir combustibles solares y eléctricos (Rastogi & Shrivastava, 2017).

2.9 Etanol de segunda generación (2G)

El etanol 2G es un biocombustible líquido renovable y sostenible que se espera que tenga un futuro prometedor para hacer frente a la actual crisis energética mundial y a la contaminación del medio ambiente (Aditya et al., 2016). Este biocombustible resulta de transformar biomasa residual rica en lignocelulosa a etanol, a través de una serie de procesos físicos, químicos y biológicos (Rastogi & Shrivastava, 2017).

El proceso de producción del etanol 2G se lleva típicamente en tres etapas o subprocesos: (1) pretratamiento, (2) hidrólisis química o enzimática, y (3) fermentación alcohólica (Aditya et al., 2016). La eficiencia y costo de cada uno de estos procesos determinará la calidad y costo de producción del producto final (Ghosh et al., 2017). En la siguiente Figura se muestra la secuencia de procesos para la producción de etanol 2G.



Figura 4: Proceso de producción de etanol 2G.
Fuente: Margarita et al., 2015

2.10 Pretratamiento

El pretratamiento es la primera etapa del proceso de producción del etanol 2G, tiene como objetivo principal desintegrar la biomasa lignocelulósica de manera que disminuya la cantidad de lignina, la celulosa reduzca al máximo su grado de cristalinidad y aumente la celulosa amorfa. Como consecuencia de ello, se espera que aumente la porosidad de la matriz lignocelulósica, lo cual permitirá una mayor disponibilidad de carbohidratos a ser hidrolizados en el posterior proceso (Margarita et al., 2015).

Otros objetivos del pretratamiento son: (1) evitar la degradación de los azúcares (particularmente las pentosas) y los derivados de la hemicelulosa, (2) minimizar la formación de productos inhibidores para el proceso de fermentación posterior, (3) reducir la cantidad de lignina de la biomasa recuperándola de ser posible, y (4) minimizar el gasto energético para que el proceso sea rentable y fácil de operar (Rastogi & Shrivastava, 2017). En la siguiente Figura se muestra el antes y después de aplicar el pretratamiento a la biomasa

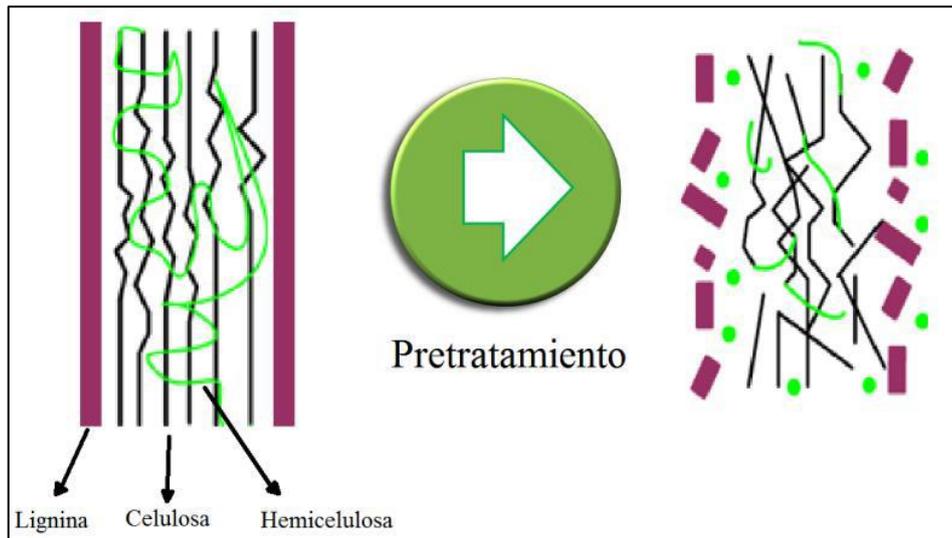


Figura 5: Esquema de biomasa antes y después de pretratamiento.
Fuente: Lienqueo, 2013

Los tipos de pretratamiento que existen son (1) físicos o mecánicos, (2) químicos, (3) fisicoquímicos, y (4) biológicos, la elección del pretratamiento varía y está en función al tipo de biomasa y sus características físicas y químicas (Rastogi & Shrivastava, 2017). En la Tabla 2 se presenta las ventajas y desventajas de algunos pretratamientos.

Tabla 2: Ventajas y desventajas de los tipos de pretratamiento

Pretratamiento	Efecto principal	Ventajas	Desventajas
Mecánico (molienda)	Reduce la cristalinidad de la celulosa	No genera inhibidores	Alta demanda de energía
Ácido concentrado	Hidroliza la hemicelulosa y celulosa	Alto rendimiento de producción de glucosa durante hidrólisis Bajos costos operacionales Aumenta la cantidad de celulosa amorfa	Corrosión de equipos Generación de inhibidores
Ácido diluido	Hidroliza la hemicelulosa Debilita la estructura de la celulosa Altera la estructura de la lignina	Pocos problemas de corrosión Baja formación de inhibidores	Baja concentración de azúcares
Base	Incrementa el área superficial accesible Remueve la lignina y hemicelulosa	Alta digestibilidad Alta remoción de lignina	Largos periodos de residencia Formación de sales irrecuperables
Líquidos iónicos (LI)	Reduce la cristalinidad de celulosa Remueve la lignina	Alta digestibilidad Solventes biodegradables	Sin aplicación a escala industrial
Explosión de vapor	Transforma la lignina Solubiliza la hemicelulosa	Bajo impacto ambiental Alto rendimiento de producción de glucosa durante hidrólisis Efectivo para biomasa con alto contenido de lignina	Genera compuestos inhibidores Degrada parcialmente la hemicelulosa Descomposición incompleta de la matriz lignocelulósica Alto costo
AFEX	Incrementa el área superficial accesible Remueve parcialmente la lignina y hemicelulosa	Producción de pocos inhibidores	No es eficiente para biomasa con alto contenido de lignina
Biológico	Degrada la lignina y hemicelulosa	Bajo consumo de energía Amigable con el ambiente	Baja tasa de hidrólisis de carbohidratos Largos periodos de residencia

Adaptado de “Second generation bioethanol production: A critical review” por Aditiya, et al., 2016

2.11 Inhibidores fermentativos

Como se indicó en el ítem 2.9, la fermentación es el penúltimo proceso de la producción de etanol 2G, a esta instancia llegan compuestos simples como monosacáridos que puedan ser fermentados hasta etanol; sin embargo, pueden existir también compuestos que desfavorezcan las reacciones fermentativas, estos compuestos son llamados inhibidores y pueden ser producidos durante el pretratamiento (Fontecha, 2011).

Los compuestos inhibidores son producidos por la degradación de los monosacáridos obtenidos en la hidrólisis de la hemicelulosa y el fraccionamiento de la lignina durante el pretratamiento, se pueden clasificar en tres grupos: derivados del furano, ácidos alifáticos de baja masa molecular y derivados fenolíticos (Fontecha, 2011).

Producto del fraccionamiento de la lignina durante el pretratamiento se da lugar a derivados fenolíticos como el ácido 4-hidroxibenzoico, siringaldehído, ácido sirínico, vainillina y el ácido vainillínico; mientras que producto de la degradación de la hemicelulosa y celulosa, se originan los derivados del furano como el furfural y el 5-hidroximetilfurfural. Los efectos de los dos últimos compuestos sobre los microorganismos fermentativos son la reducción de la tasa de crecimiento y la disminución de la productividad volumétrica de etanol (Fontecha, 2011). En la siguiente Figura se puede observar el modelo de formación de inhibidores de la fermentación.

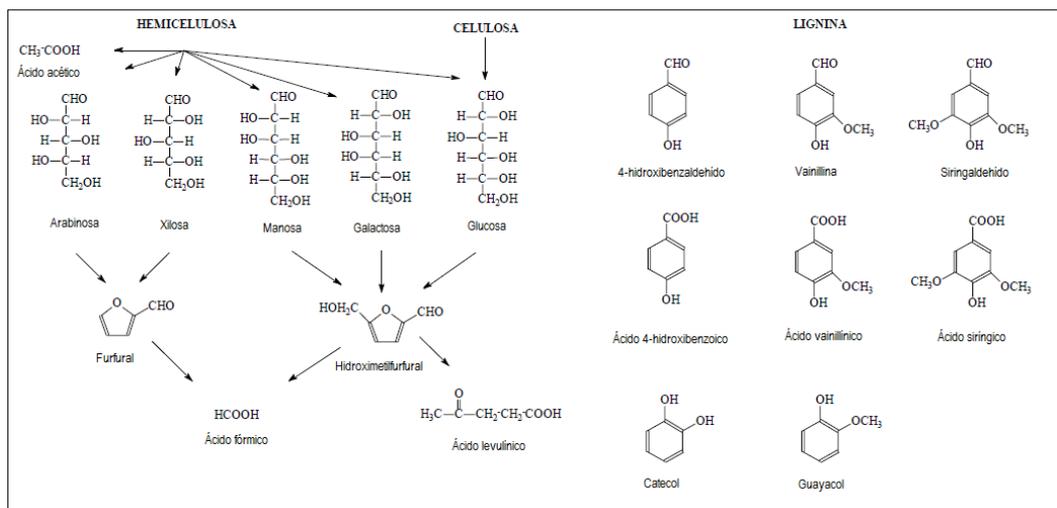


Figura 6: Modelo de formación de los compuestos inhibidores de la fermentación.
Fuente: Fontecha, 2011

2.12 Pretratamiento explosión de vapor

El pretratamiento por explosión de vapor o SE por sus siglas en inglés, consiste en someter al material lignocelulósico a vapor saturado inyectado a alta presión (de 0,7 a 4,9 MPa) y temperaturas (de 160 °C a 260 °C) durante periodos cortos de tiempos (desde 30 segundos hasta 20 minutos) (Margarita et al., 2015); luego y para finalizar, la presión se reduce rápidamente (en orden de mili segundos) hasta alcanzar la presión atmosférica (Verardi et al., 2017). La eficacia de este método depende en gran medida del tipo y tamaño del residuo, la presión y el tiempo de residencia (Rastogi & Shrivastava, 2017).

Este pretratamiento permite descomponer la matriz lignocelulósica en fibras individuales (hemicelulosa, celulosa y lignina) y remover o redistribuir parcialmente las moléculas de lignina (Verardi et al., 2017). Asimismo, el vapor caliente permite la formación de ácidos débiles (por ejemplo, ácido fórmico y ácido acético) debido a la solubilización y desesterificación de los grupos acilos de la hemicelulosa, a su vez estos ácidos catalizan la hidrólisis de la hemicelulosa (Yoon, 1998). Este método es recomendado para materiales que poseen gran cantidad de lignina (Stelte, 2013).

Overend y Chornet (1987) desarrollaron un factor de severidad (R_0) que actualmente es ampliamente utilizado para optimizar el proceso de explosión de vapor. El R_0 es una ecuación diferencial que está en función al tiempo de reacción o residencia (t) y a la temperatura (T) (Stelte, 2013). En la siguiente Figura se muestra la ecuación original de R_0 y la ecuación resultante luego de resolverla (SF por sus siglas en inglés).

$$R_0 = \int_0^t \exp \left[\frac{(T-100)}{14.75} \right] dt \quad \longrightarrow \quad SF = \text{Log}_{10} \left[t \cdot \exp \left(\frac{T-100}{14.75} \right) \right]$$

Figura 7: Ecuación de factor de severidad (SF).

Fuente: Stelte 2013 y Elliston et al., 2015

Finalmente, las ventajas que posee el pretratamiento explosión de vapor sobre otros tipos de pretratamiento son su potencial de disolver la hemicelulosa, incrementar los espacios en el sustrato, aumentar el área de contacto de la celulosa y hemicelulosa a las enzimas y ser un pretratamiento con mínimos impactos ambientales (Wang, Gong, Hu, & Zhou, 2019).

2.13 Cáscara de arroz

El arroz es la semilla de la planta *Oryza sativa* y está formado por la cariósida y cáscara. La primera está compuesta por el embrión, endospermo, capas de aleurona, tegmen y el pericarpio; mientras que la segunda está compuesta por glumas. La cáscara representa entre el 20 y 22 por ciento del peso del grano (Olmos, 2006) y posee muy bajo contenido de nutrientes (Valverde, Bienvenido, & José, 2007); sin embargo, se caracteriza por tener una gran capacidad aislante, baja conductividad térmica y alto contenido de minerales, principalmente silicio en forma de sílice (Cadena & Bula, 2002). En la Figura 8 se observa la morfología de la semilla de arroz.

En el Perú, según el Instituto de Innovación Agraria (INIA), el arroz es el primer producto en área sembrada y cosechada (380 000 hectáreas en promedio). Asimismo, de acuerdo a las estadísticas del Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI), entre el 2001 y el 2016, la producción de este cereal creció a un ritmo de 3,1 por ciento al año.

Cada año se desechan toneladas de subproductos provenientes de la producción de arroz (Favaro et al., 2017); de acuerdo a la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), en el 2014 se produjeron aproximadamente 745 millones de toneladas de arroz, lo que dio como resultado la generación de aproximadamente 150 millones de toneladas de cáscara de este cereal.

Este residuo agrícola no posee ningún valor alimenticio humano ni animal por ser de difícil digestión a causa de su matriz lignocelulósica. Esta matriz contiene aproximadamente 35 por ciento de celulosa, 15 por ciento de hemicelulosa y 16 por ciento de lignina; además contiene 20 por ciento de cenizas ricas en sílice y 7 por ciento de almidón (Favaro et al., 2017).

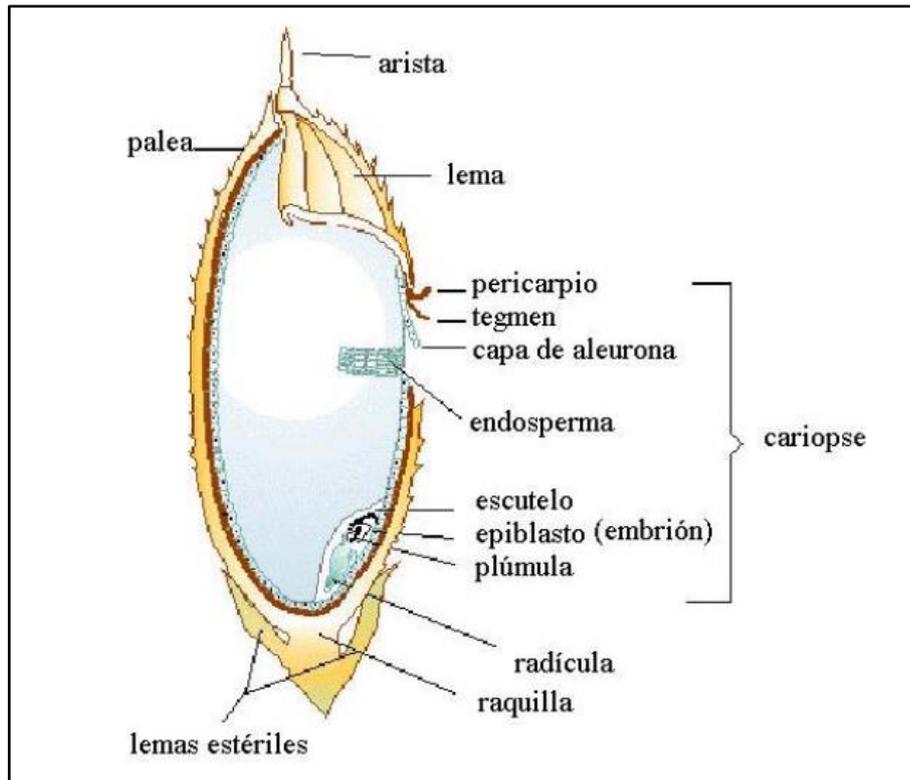


Figura 8: Morfología de la semilla de arroz.
Fuente: Olmos 2006

2.14 Determinación de contenido de lignina por método lignina Klason

El método lignina Klason es un método analítico para cuantificar el contenido de lignina en muestras de biomasa y posee este nombre por ser este científico a quién se le atribuyó el logro de ser el primero en usar ácido sulfúrico para aislar la lignina de la madera en 1906. El método ha ido perfeccionándose con el pasar del tiempo y diferentes laboratorios han estandarizado sus procedimientos en función a los tipos de muestras a analizar, por ejemplo la *National Renewable Energy Laboratory* (NREL) establece procedimientos estandarizados para analizar el contenido de lignina en biomasa que será utilizada para aprovechamiento energético principalmente (Sluiter, Ruiz, Scarlata, Sluiter, & Templeton, 2010).

El método analítico se basa en la hidrólisis ácida en dos etapas, una primera con ácido sulfúrico al 72 por ciento que hidroliza los polisacáridos en oligosacáridos, seguida de una segunda al cuatro por ciento que rompe los oligosacáridos en monosacáridos, de modo que la biomasa pueda ser fraccionada a formas sencillas de cuantificar (Pérez Diaz, 2016).

Durante la hidrólisis, la lignina es fraccionada en una fracción insoluble llamada lignina insoluble en medio ácido (LIA) y una fracción soluble llamada lignina soluble en medio ácido (LSA). La primera (LIA), conocida también como lignina Klason, posee el mayor peso molecular de la lignina total y es cuantificada mediante gravimetría; mientras que la segunda (LSA) posee el menor peso molecular de la lignina total y está contenida en la solución, por lo que su cuantificación es mediante espectrofotometría UV (Sluiter et al., 2010).

2.15 Espectroscopía infrarroja (IR)

La espectroscopía (IR) es el método por el cual se estudia la absorción o emisión de energía radiante originada por la interacción entre la radiación electromagnética IR y el material estudiado (Piqué & Vázquez, 2012). La interacción de la radiación infrarroja con la materia provoca en esta algún tipo de alteración, esta alteración guarda relación con cambios en el estado vibracional de sus moléculas. El espectro vibracional de una molécula se considera una propiedad física única y por tanto característica de cada sustancia. Así, entre otras aplicaciones, el espectro IR se puede usar como “huella dactilar” en la identificación de muestras desconocidas mediante la comparación con espectros de referencia (Serrano Martínez, 2009). Este método puede subdividirse en espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR), espectroscopía por resonancia magnética (NMR), espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y espectroscopía Raman (Guo, Yuan, Xiao, & Wu, 2019).

Respecto a los espectros vibracionales que se detectan por este método, las vibraciones moleculares son observadas experimentalmente como bandas en el espectro infrarrojo y se originan como transiciones entre niveles vibracionales de las moléculas en su estado electrónico de menor energía (Sánchez, Linares, & Angulo, 1991). Los tipos de vibraciones más estudiados son de tensión (*stretching*) y de flexión o torsión (*bending*), donde el primero se relaciona con los cambios en la distancia entre átomos y el segundo con cambios en los ángulos que dibujan los átomos (Skoog, Holler, & Stanley R. Crocu, 2008). En la Figura 9 se muestra los tipos de vibraciones.

Para poder identificar determinadas sustancias o grupos funcionales a partir de sus tipos de enlaces característicos, se puede utilizar el método de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), ya que es un método que posee una gran sensibilidad para

este fin (Guo et al., 2019). Para el caso de la biomasa, específicamente la lignina, este método permite obtener información sobre los cambios químicos ocurridos en su estructura como consecuencia de procesos al que puede haber sido sometida la biomasa (Jakobson, Hortling, & Sundquist, 1995).

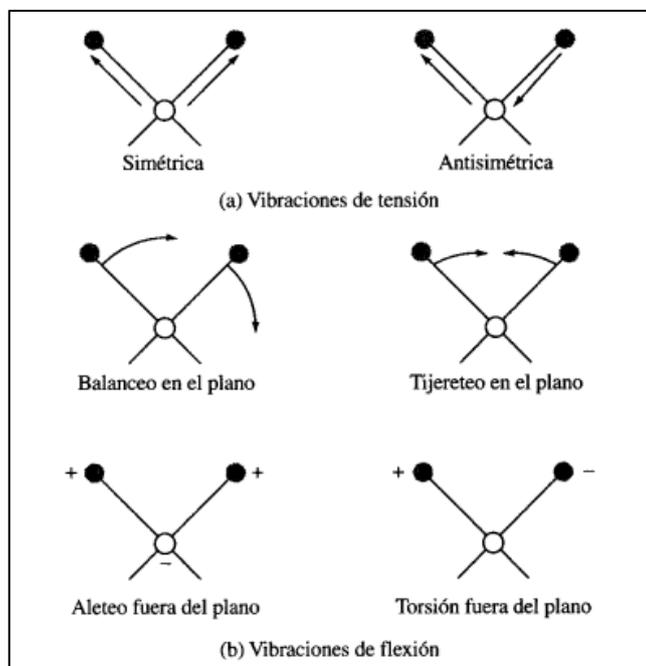


Figura 9: Tipos de vibraciones moleculares. Fuente: Skoog et al., 2008

2.16 Microscopía de barrido electrónico (SEM)

El microscopio electrónico de barrido, conocido por sus siglas inglesas SEM, utiliza electrones en lugar de luz para formar una imagen. Para lograrlo, el equipo cuenta con (1) un dispositivo (filamento) que genera un haz de electrones que interactúan con la muestra y (2) con diferentes detectores que recogen los electrones generados de la interacción con la superficie de la muestra para crear una imagen que refleja las características superficiales de la misma, pudiendo proporcionar información de las formas, texturas y composición química de sus constituyentes (Renau-Piqueras & Faura, 2005). Para facilitar la emisión de electrones se metaliza la muestra recubriéndola de una pequeña capa de un metal conductor como el oro (Henhapl & Jones, 2005).

Gracias a los detectores que poseen estos tipos de microscopio es posible obtener imágenes de alta resolución, lo que permite visualizar muestras biológicas y materiales de muy diverso tipo (polímeros, cerámicas no conductoras, materiales orgánicos, inorgánicos, híbridos, etc.) (Renau-Piqueras & Faura, 2005).

2.17 Aspectos ambientales

El concepto aspecto ambiental es utilizado en la gestión ambiental tanto de proyectos de inversión como de organizaciones públicas y privadas, así es que la Norma Técnica Peruana (NTP) ISO 14001:2015 <<Sistemas de Gestión Ambiental. Requisitos con orientación para su uso>>, en concordancia con la Norma Internacional ISO 14001:2015 (2015), define aspecto ambiental como elemento que deriva de la actividad empresarial de la organización (sea producto o servicio) y que tiene contacto o puede interactuar con el medio ambiente.

Sergio López del Pino (2017) cita como ejemplos de aspectos ambientales a las emisiones de sustancias contaminantes a la atmósfera, los vertidos de sustancias tóxicas a cuerpos de agua, la generación de residuos, el consumo de materias primas y el ruido. El mismo autor indica que la relación entre aspectos e impactos ambientales podría considerarse análoga a una relación causa - efecto, toda vez que a partir de los aspectos se generan consecuentemente impactos sobre el medio ambiente.

III. METODOLOGÍA

La presente tesis empleó métodos de investigación explicativos y experimentales para dar cumplimiento con los objetivos planteados.

3.1 Materiales y materia prima

La materia prima que se utilizó fue cáscara de arroz proveniente de la ciudad de Chiclayo, producido por la Asociación Peruana de Molineros de Arroz (APEMA) y Molino Sudamérica. La cáscara se encontraba almacenada en sacos de polietileno negros en las instalaciones del CEMTRAR, protegida de la lluvia y radiación solar.

Los materiales, equipos y reactivos o sustancias que se utilizaron durante la investigación se presentan en Tabla 3.

Tabla 3: Materiales, equipos y reactivos o sustancias

Materiales	Equipos	Reactivos o sustancias
Baldes de plástico de 5 y 7 L	Equipo de explosión de vapor	Agua destilada
Frascos de plástico de 100 y 120 mL	Balanza analítica	Soluciones patrón (buffer de pH 4, 7 y 12)
Marcador indeleble	Balanza electrónica	Ácido sulfúrico (98 por ciento w/v)
Pinzas	Plancha eléctrica para equipo Soxhlet	Etanol (98 por ciento)
Cucharita de metal	Estufa	
Vaso de precipitado de 250 mL	Mufla	
Balón, cuerpo y refrigerante Soxhlet	Molino	
Matraz de Erlenmeyer de 250 mL	Refrigerador	
Papel filtro	Baño María	
Piceta	Cronómetro	
Pipeta de 5 y 10 mL	pHmetro modelo HQ40D	
Probeta de 100 y 500 mL	Bomba de succión	
Bureta de 25 mL	Espectrofotómetro	
Tubos de vidrio de 30 y 100 mL	Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) modelo Nicolet iS10	
Placas Petri	Microscopio electrónico modelo Q250 Analytical	
Crisoles con y sin filtro		
EPP (guardapolvo, guantes, protector auditivo y máscara)		

Fuente: Elaboración propia.

3.2 Lugar de ejecución

Los experimentos con el equipo explosión de vapor y el análisis de lignina mediante método lignina Klason se llevaron a cabo en el laboratorio del Centro Modelo de Tratamiento de Residuos (CEMTRAR), mientras que los análisis mediante FTIR y SEM fueron realizados por el Centro de Investigación en Química, Toxicología y Biotecnología Ambiental (CIQTOBIA) y por el Departamento de Biología respectivamente, ambos de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

3.3 Etapas de la investigación

La investigación estuvo marcada por dos etapas, la etapa de experimentación y la etapa de análisis. En la primera se desarrollaron los experimentos con el equipo explosión de vapor; mientras que en la segunda se llevaron a cabo los análisis correspondientes de lignina Klason, FTIR y SEM, además de la determinación de humedad, densidad aparente y pH del lixiviado. En la siguiente Figura se muestra las etapas de la investigación.

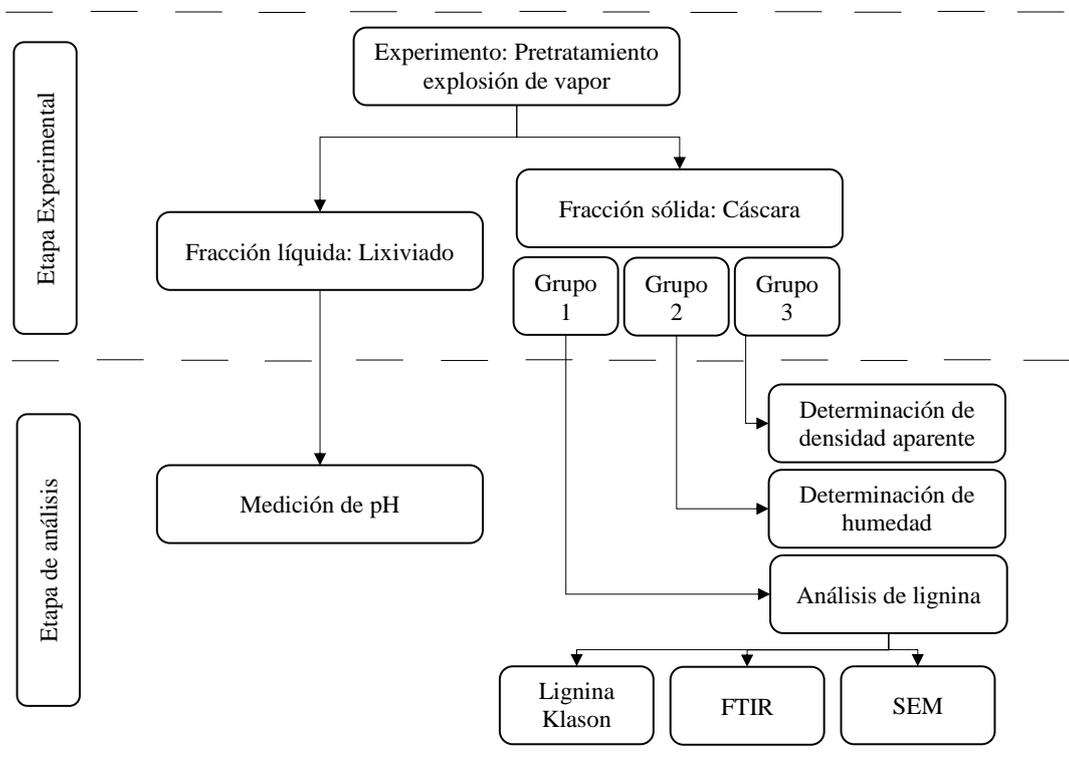


Figura 10: Etapas de la investigación.

3.4 Pretratamiento explosión de vapor

El equipo explosión de vapor que se utilizó es un sistema batch a pequeña escala (15 L), constituido principalmente por un reactor, un calderín y una manguera que conecta a los dos primeros. El modo de funcionamiento consiste en generar vapor de agua a alta presión en el calderín a través de dos resistencias eléctricas para luego, haciendo uso de la manguera, transferirlo al reactor donde entra en contacto con la biomasa. En la Figura 11 se visualiza el equipo que se utilizó y a continuación se detallan sus partes.

- Calderín: cilindro de acero al cual se inyecta agua destilada y se suministra calor a través de dos resistencias eléctricas para producir vapor de agua a alta presión. La tapa superior tiene un manómetro y termómetro de agujas para controlar la presión y temperatura respectivamente.
- Panel de control: permite encender y apagar el sistema eléctrico que alimenta de energía a las dos resistencias eléctricas del calderín.
- Presostato de vapor (diferencial): dispositivo que permite controlar automáticamente la presión máxima del calderín (12 bar), haciendo que cuando esta se alcance, el sistema se suspenda hasta que la presión descienda al menos en 0,3 bar.
- Tubo de alimentación de agua: tubo abierto con ensanchamiento en el extremo libre que sirve para introducir agua destilada dentro del calderín.
- Nivel de agua: tubo de vidrio que permite medir el nivel del agua que se encuentra dentro del calderín, siendo la altura mínima recomendada de cinco centímetros.
- Tubo y válvula de purga de calderín: dispositivo mediante el cual se purga el agua del calderín con el fin de remover óxidos del interior o para descargar el calderín.
- Reactor: cilindro de acero donde la cáscara de arroz entrará en contacto con el vapor de agua transferido desde el calderín. En la tapa superior posee manómetro y termómetro de agujas para controlar la presión y temperatura respectivamente.
- Tubo y válvula de liberación de vapor: dispositivo que permitirá liberar la presión del reactor, de modo que se produzca el efecto de una explosión.
- Tubo y válvula de purga del reactor: dispositivo mediante el cual se purga el lixiviado y residuos sólidos que pudiesen flotar dentro del reactor luego de haber sido utilizado.
- Manguera y válvulas de transferencia: son los dispositivos para transferir el vapor de agua del calderín al reactor.

El procedimiento que se llevó a cabo para realizar el pretratamiento explosión de vapor fue el siguiente:

- a) Llenar de agua destilada el calderín hasta alcanzar la marca de cinco centímetros del nivel de agua.
- b) Pesar 600 gramos de muestra en un balde, introducirla en el reactor y ajustar la tapa del mismo.
- c) Colocarse los EPP y encender el sistema.
- d) Una vez que el manómetro del calderín marque la presión máxima (12 bar) o cercana a ella, empezar a transferir el vapor hacia el reactor abriendo ligeramente las válvulas de transferencia; en ese momento comenzar a medir el tiempo que tarda el reactor hasta alcanzar la presión deseada del experimento que se esté realizando. Si antes que el reactor alcance dicha presión se interrumpe la transferencia de vapor porque la diferencia de presión entre el reactor y calderín es nula o mínima, se debe cerrar las válvulas de transferencia para esperar que el calderín alcance nuevamente su presión máxima y repetir el proceso de transferir vapor hacia el reactor hasta alcanzar la presión deseada.
- e) Una vez que el reactor alcanza la presión deseada del experimento, empezar a controlar el tiempo de residencia deseado; durante este tiempo procurar mantener la presión y temperatura constante en el reactor. Cabe indicar que para lograr ello es necesario suministrar paulatinamente vapor desde el calderín, ya que al no ser el reactor un sistema termodinámico aislado, la energía logra escapar de él mediante procesos de conducción y convección, ocasionando que la presión y temperatura disminuyan.
- f) Una vez que haya transcurrido el tiempo de residencia planteado en el experimento; con ayuda de un brazo metálico, abrir rápidamente la válvula de liberación de vapor del reactor para generar el efecto de explosión dentro de él.
- g) Abrir la válvula de purga del reactor para recibir el lixiviado en probeta de 500 mL, medir su volumen y luego separar 100 mL en frasco para medir su pH.
- h) Retirar la tapa del reactor y extraer la cáscara de arroz separándola en tres grupos de 150 gramos cada uno. El primer grupo es almacenado, rotulado y refrigerado a 4°C para el posterior análisis de lignina, mientras que los dos últimos se conservan para realizar enseguida los análisis de humedad y densidad aparente.

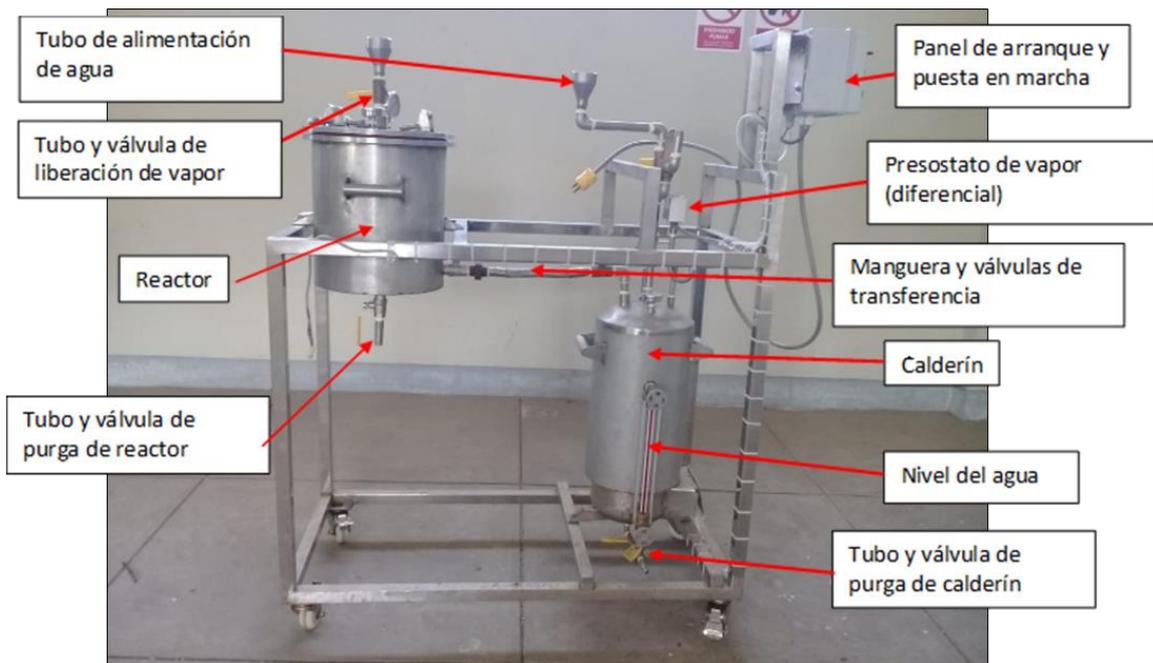


Figura 11: Equipo de explosión de vapor
Fuente: Elaboración propia

3.5 Determinación de la relación presión manométrica y temperatura del equipo explosión de vapor

Para encontrar la relación entre la presión manométrica, temperatura y tiempo en el reactor, se realizó mediciones de cada una de estas variables durante cuatro de los experimentos. Las mediciones se realizaron cada minuto, siendo el minuto cero desde que empezaba a transferirse el vapor del calderín al reactor. El tiempo se midió utilizando un cronómetro y la lectura de presión y temperatura se realizó con el manómetro y termómetro de agujas acoplados a la tapa del reactor.

Con la información recolectada se procedió a crear una curva de presión-temperatura y a encontrar la ecuación matemática que mejor se ajustase al comportamiento observado en el reactor. De este modo se logró obtener un valor de temperatura para cada valor de presión y con ello utilizar la ecuación de la Figura 7 para obtener el factor de severidad (FS) de cada experimento.

3.6 Determinación de pH, humedad y densidad aparente

La determinación del pH del lixiviado se realizó una vez finalizado cada experimento con el equipo explosión de vapor. Para determinar el pH se empleó el método potenciométrico, método 4500H+ B, haciendo uso de un pHmetro modelo HQ40D; las mediciones se hicieron por duplicado. Cabe mencionar que en algunas oportunidades el pHmetro no estaba disponible por lo que se procedía a almacenar las muestras en el refrigerador a 4°C hasta que el equipo estuviese disponible nuevamente.

La determinación de humedad y densidad aparente se realizó una vez finalizada la determinación del pH del lixiviado. Para el análisis de humedad se empleó el método gravimétrico utilizando crisoles de cerámica, balanza analítica y estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$; mientras que para el análisis de densidad aparente se empleó el método de la probeta utilizando probeta de 500 mL y balanza electrónica. Ambos se realizaron por duplicado.

3.7 Análisis mediante método lignina Klason

El análisis de lignina se realizó una vez finalizados todos los experimentos con el equipo explosión de vapor. Para ello se empleó el método Lignina Klason, siguiendo los procedimientos de laboratorio establecidos por *National Renewable Energy Laboratory* (NREL). Estos procedimientos estandarizados fueron diseñados por la NREL para optimizar el análisis de biomasa herbácea o madera, cuya caracterización estructural favorece el estudio de biocombustibles; a diferencia de otros procedimientos como del *Technical Association of the Pulp and Paper Industry* (TAPPI), el cual fue diseñado para el análisis de pulpa de madera en la industria papelera.

Los procedimientos fueron los siguientes: preparación de la muestra (NREL/TP-510-42620), determinación de humedad y sólidos totales (NREL/TP-510-42621), determinación de material extraíble (NREL/TP-510-42619), determinación de lignina (NREL/TP-510-42618). En el Anexo 1 se presenta el registro fotográfico.

A continuación se presenta la síntesis del procedimiento realizado en el laboratorio para la determinación del contenido de lignina en la cáscara de arroz:

- a) Preparación de la muestra (NREL/TP-510-42620): la muestra se secó y molió para que alcance un contenido de humedad menor a 10 por ciento y un tamaño de partícula menor a dos milímetros. El proceso de secado consistió en exponer la muestra al aire libre por 24 horas, mientras que el tamaño de partículas se controló haciendo pasar la muestra por un tamiz con malla de dos milímetros.
- b) Extracción con etanol (NREL/TP-510-42619): la muestra preparada pasó por el proceso de extracción con etanol al 98 por ciento, utilizando el equipo Soxhlet (balón, cuerpo, refrigerante, soporte y plancha eléctrica). Para esto se pesó cinco gramos de muestra en papel filtro, haciendo con él un pequeño cartucho que se introdujo en el cuerpo del Soxhlet; una vez terminado el proceso de extracción, la muestra libre de extraíbles se dejó secar al aire libre por 24 horas para que la humedad sea menor a 10 por ciento. Paralelamente, se realizó la determinación de sólidos totales (NREL 42621) por duplicado para corregir el peso seco de la muestra en el balón. El contenido de material extraíble se calculó utilizando las siguientes fórmulas, donde ODW son las siglas en inglés de *Oven Dry Weight*.

$$\% \text{ Sólidos totales} = \frac{(W_{\text{crisol más muestra seca}} - W_{\text{crisol seco}})}{W_{\text{muestra cómo se recibe}}} \times 100$$

$$\text{ODW} = W_{\text{muestra}} \times \% \text{ Sólidos totales}$$

$$\% \text{ Extraíbles} = \frac{(W_{\text{balón más extraíbles}} - W_{\text{balón}})}{\text{ODW}} \times 100$$

- c) Determinación de lignina (NREL/TP-510-42618): se pesó 0,3g de la muestra libre de extraíbles y se colocó en un tubo de 100 mL, a continuación, se agregó tres mililitros de ácido sulfúrico al 72 por ciento, dicha mezcla fue agitada por un minuto cada cinco minutos durante un periodo de una hora. Luego se añadió 83 mililitros de agua destilada para diluir el ácido hasta cuatro por ciento; posteriormente se filtró al vacío usando un crisol con filtro seco, quedando en él un residuo insoluble en medio ácido (RIA). Finalmente, el crisol con el RIA fue secado en la estufa a 105 °C durante cinco horas y luego se llevó a la mufla a 575 °C durante 12 horas para determinar el contenido de cenizas, en ambos casos se anotaron los pesos. Este procedimiento se realizó por triplicado y paralelamente se realizó el análisis de sólidos totales

(NREL/TP-510-42621) por duplicado para corregir el peso seco de las muestras. El contenido de lignina insoluble en medio ácido (LIA) se calculó con las siguientes fórmulas, donde ODW son las siglas en inglés de *Oven Dry Weight*.

$$\% \text{ Sólidos totales} = \frac{(W_{\text{crisol más muestra seca}} - W_{\text{crisol seco}})}{W_{\text{muestra cómo se recibe}}} \times 100$$

$$\text{ODW} = W_{\text{muestra}} \times \% \text{ Sólidos totales}$$

$$\% \text{ RIA} = \frac{(W_{\text{crisol más RIA}} - W_{\text{crisol}})}{\text{ODW}} \times 100$$

$$\% \text{ LIA} = \frac{(W_{\text{crisol más RIA}} - W_{\text{crisol}}) - (W_{\text{crisol más cenizas}} - W_{\text{crisol}})}{\text{ODW}} \times 100$$

Finalmente, el contenido de lignina en la muestra cómo se recibió antes de la extracción Soxhlet (es decir, incluyendo el material extraíble) se calculó con la siguiente fórmula, considerando que la LIA es el porcentaje de lignina libre de material extraíble.

$$\% \text{ LIA} = \% \text{ Lignina}_{\text{libre de extraíble}}$$

$$\% \text{ Lignina}_{\text{como se recibe}} = (\% \text{ Lignina}_{\text{libre de extraíbles}}) \times \frac{(100 - \% \text{ Extraíbles})}{100}$$

3.8 Análisis mediante espectroscopía infrarroja (FTIR)

A partir de los resultados obtenidos del análisis de lignina mediante el método lignina Klason, se procedió a determinar cual fue el pretratamiento más efectivo (CT-1) y menos efectivo (CT-2) en reducir el contenido de lignina con respecto al control (ST). A partir de ello se examinaron los cambios en la estructura química de estas tres muestras (ST, CT-1 y CT-2) utilizando un Espectrofotómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) modelo Nicolet iS10, en el espectro entre 4000 a 600 cm^{-1} .

3.9 Análisis mediante microscopía de barrido electrónico

Al igual que el análisis mediante FTIR, las tres muestras correspondientes al tratamiento más efectivo (CT-1), menos efectivo (CT-2) y control (ST) fueron observadas por la parte interna y externa de su superficie utilizando microscopía electrónica de barrido (SEM). Las imágenes fueron obtenidas utilizando un microscopio electrónico modelo Q250 Analytical. Para el análisis las muestras fueron secadas y cubiertas con una película de oro, se utilizó una aceleración de voltaje de 20 kV. Las imágenes fueron obtenidas a 75 y 370 magnificaciones.

3.10 Diseño experimental

Considerando la naturaleza del pretratamiento explosión de vapor y los objetivos planteados, se desarrolló un diseño completamente al azar (DCA), aplicando un arreglo bifactorial completo, donde la unidad experimental fue la cáscara de arroz, los factores fueron la presión manométrica (bar) y el tiempo de residencia (minutos), y la variable respuesta fue el contenido de lignina en la cáscara de arroz (porcentaje).

El arreglo factorial fue seleccionado con el fin de estudiar un mayor rango de niveles de presión y tiempo de residencia, en ese sentido se consideró cuatro niveles para cada factor con dos repeticiones (4x4x2), más un control o blanco que fue la cáscara de arroz sin aplicarle ningún pretratamiento; a cada experimento se le asignó un código. En la Tabla 4 se muestran los factores y niveles del diseño experimental, mientras que en la Tabla 5 se muestran los códigos asignados a cada experimento. Cabe mencionar que se consideró únicamente dos repeticiones de los experimentos debido a limitaciones logísticas y de tiempo, esta consideración se respalda por lo indicado por Montgomery (2004), quién señala que el tamaño de la muestra puede verse restringido por factores económicos o de otra índole. Esta consideración se verifica en las investigaciones de Zhao et al. (2017) y Oladi y Aita (2017), quienes estudiaron los efectos del pretratamiento con amonio líquido sobre una variedad de gras (*Arundo donax L.*) y bagazo de caña respectivamente; ambos estudios realizaron un diseño factorial que consideró solo dos réplicas de los experimentos.

Tabla 4: Factores y niveles del diseño experimental

Factor	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Control ^a
Presión (Bar)	4	6	8	10	0
Tiempo (min)	6	8	10	12	0

Nota: ^a Se consideró exposición al ambiente, es decir a presión manométrica igual a cero. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 5: Códigos de experimentos

Códigos de los experimentos ^a	Tiempo				
	6 min	8 min	10 min	12 min	
Presión manométrica	4 bar	SE.1.1	SE.2.1	SE.3.1	SE.4.1
		SE.1.2	SE.2.2	SE.3.2	SE.4.2
	6 bar	SE.5.1	SE.6.1	SE.7.1	SE.8.1
		SE.5.2	SE.6.2	SE.7.2	SE.8.2
	8 bar	SE.9.1	SE.10.1	SE.11.1	SE.12.1
		SE.9.2	SE.10.2	SE.11.2	SE.12.2
	10 bar	SE.13.1	SE.14.1	SE.15.1	SE.16.1
		SE.13.2	SE.14.2	SE.15.2	SE.16.2

Nota: ^a Los códigos para los controles fueron SE.0.1 y SE.0.2. Fuente: Elaboración propia.

3.11 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó considerando solo los resultados del análisis cuantitativo de lignina mediante el método lignina Klason, así como los resultados de la determinación de humedad, densidad aparente y pH del lixiviado.

Para los resultados de lignina se utilizó la prueba estadística Q de Dixon, con el fin descartar valores atípicos de cada experimento y reducir posibles errores; en el Anexo 3 se presenta dicha prueba. Luego se realizó el análisis de varianza (ANOVA) con el fin de determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$), antes de realizar el ANOVA se comprobó los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Anderson Darling y Barlett respectivamente.

Por otra parte, para los resultados de humedad, densidad aparente y pH se utilizó el análisis por componentes principales (ACP) de modo que se pudiese conocer a grandes rasgos la influencia del pretratamiento explosión de vapor sobre estas variables.

Para el análisis estadístico se utilizó el software Minitab 17[®] y para la elaboración de gráficos y Tablas se utilizó el software Microsoft Excel del paquete Microsoft Office Professional Plus 2013[®].

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Relación presión – temperatura en el reactor del equipo explosión de vapor

Como se indicó en el ítem 3.6, se eligió al azar cuatro experimentos de los 32 planteados en el diseño experimental, para que con los datos de presión (bar) y temperatura (°C) se pudiese encontrar la ecuación que describe la relación entre las variables antes indicadas.

Los experimentos seleccionados fueron SE.1.1, SE.4.2, SE.5.2 y SE.16.2 (ver Tabla 5). Para obtener la ecuación matemática se utilizó el método de iteraciones Gauss – Newton con ayuda del software Minitab 17. En el Anexo 2 se presenta los datos con los que se construyó la curva y la secuencia correspondiente para obtener la ecuación.

En la Figura 12 se observa que la temperatura y la presión están relacionadas entre sí describiendo una función exponencial. Este comportamiento se debe a que desde el calderín ingresa al reactor vapor de agua saturado a altas temperaturas, haciendo que en primera instancia la presión aumente y enseguida lo haga la temperatura (Stelte, 2013).

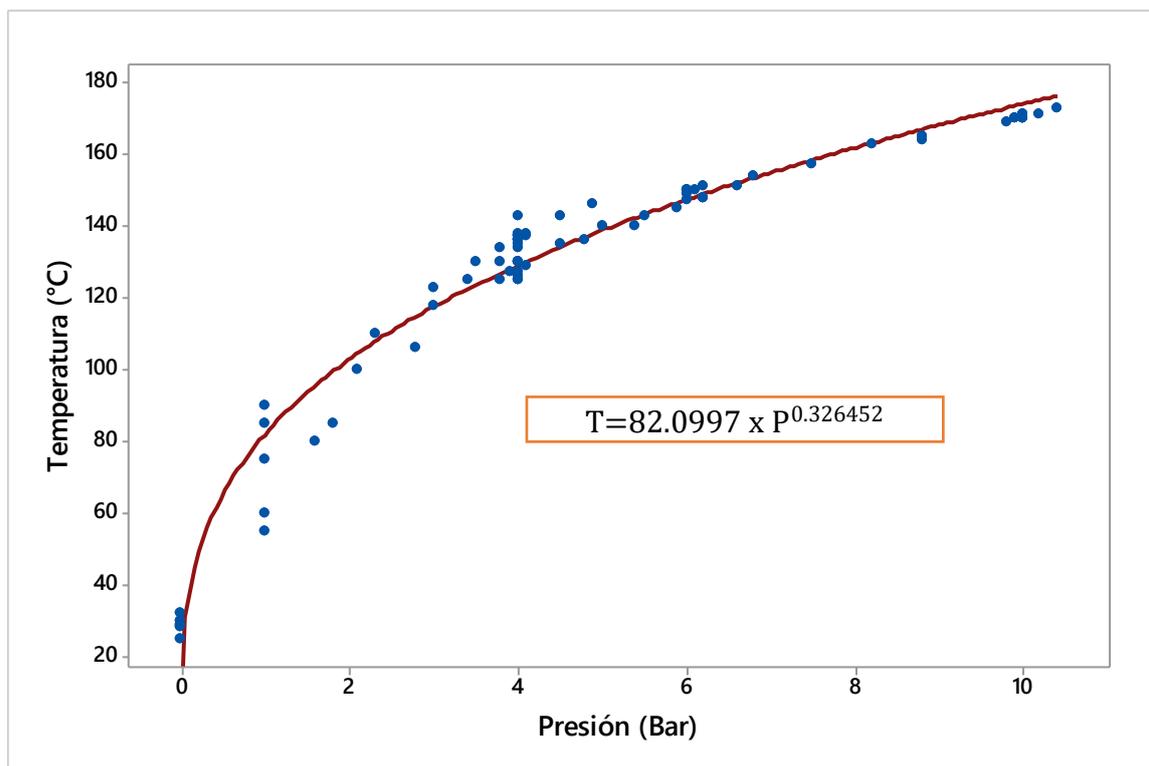


Figura 12: Curva de relación entre temperatura y presión a partir del método de iteraciones Gauss – Newton.
 Fuente: Elaboración propia.

4.2 Factor de severidad (FS)

Una vez que se obtuvo la ecuación que describe el comportamiento de la temperatura del reactor en función a su presión, fue posible calcular el factor de severidad (ver ítem 2.12 y 3.6) para los cuatro niveles de presión y tiempo con los que se trabajó en los experimentos. En la Tabla 6 se muestra los FS calculados.

Tabla 6: Factores de severidad (FS) calculados

Presión (bar)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)			
		6	8	10	12
4	129,1	1,63	1,76	1,86	1,94
6	147,4	2,17	2,30	2,39	2,47
8	161,9	2,60	2,72	2,82	2,90
10	174,1	2,96	3,08	3,18	3,26

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla anterior se puede observar como el factor de severidad (FS) incrementa a medida que incrementa la temperatura y el tiempo de residencia. Estos valores permiten comparar entre un experimento y otro que tan severos fueron los efectos de las explosiones generadas en el reactor (Jakobson et al., 1995).

Los valores obtenidos se encontraron en el rango de 1,63 y 3,26. Al respecto, Stelte (2013) indica que cuando el FS es igual a 2 inicia la degradación de la biomasa y que al sobrepasar los cuatro ($FS > 4$) empiezan a ocurrir reacciones de deshidratación y condensación; siendo el rango recomendable para degradar la biomasa sin producir muchos inhibidores de 2 a 4. En ese sentido, tres cuartos de los experimentos realizados se encontraron dentro de dicho rango.

4.3 pH, humedad y densidad aparente

Los efectos del pretratamiento explosión de vapor (presión, tiempo y FS) sobre el pH del lixiviado, así como la humedad y densidad aparente de la cáscara de arroz fueron analizados mediante el método estadístico de componentes principales (ACP). Este método multivariado transforma linealmente un conjunto de variables en otro de nuevas variables (componentes principales) no correlacionadas entre sí para poder explicar la información contenida en el primero; estos nuevos conjuntos se construyen según el orden de importancia en cuanto a la variabilidad que poseen de la muestra (Jolliffe, 2002). De este modo se buscó encontrar relaciones entre las variables estudiadas. En la Tabla 7 se muestran los resultados del análisis estadístico y de los experimentos. Los resultados completos se presentan en el Anexos 3 y 4.

Tabla 7: Efectos del pretratamiento explosión de vapor sobre el pH del lixiviado, humedad y densidad aparente

Resultados	pH	Humedad (%)	Densidad aparente (kg/m ³)
Control o blanco	-	7,80 ± 0.33	128,2 ± 2,9
Menor	3,83 ± 1,43 SE.12.2	11,62 ± 0,72 SE.14.2	112,6 ± 0,0 SE.11.1
Mayor	7,74 ± 0,26 SE.2.1	41,97 ± 6,80 SE.4.1	145,9 ± 10,9 SE.4.1
Análisis por componentes principales (ACP) ^a			
Vector propio del componente principal CP1 (valor propio = 2,83) ^b	- 0,530	- 0,198	- 0,154
Vector propio del componente principal CP2 (valor propio = 1,81) ^c	- 0,165	0,640	0,660

Nota: Resultados ± desviación estándar para muestras por duplicado. ^a número de componentes principales (CP) = 6, donde el número de componentes principales es igual al número de variables analizadas (presión, tiempo, FS, pH, humedad y densidad aparente). ^b El valor propio y proporción del primer componente principal (CP1) fue 2,83 y 0,472 respectivamente, lo cual significa que CP1 explica 47,2 por ciento de la variabilidad de las variables analizadas. ^c El valor propio y proporción del segundo componente principal (CP2) fue 1,81 y 0,302 respectivamente, lo cual significa que CP2 explica 30,2 por ciento de la variabilidad de las variables analizadas. Fuente: Elaboración propia.

Del análisis estadístico realizado mediante el método ACP se encontró que el primer y segundo componente principal (CP1 y CP2 respectivamente) son los que mejor explican la variabilidad de las variables analizadas, entre ambas se puede explicar casi el 77 por ciento de esta variabilidad. Para CP1, el vector de la variable pH (- 0,530) es considerablemente superior al de la humedad y densidad. La interpretación de este resultado es que para el CP1, el pH es la variable que mejor explica la variabilidad de los datos, junto a la presión y factor de severidad (FS), cuyos vectores fueron 0,558 y 0,572 respectivamente (ver Anexo 4); además, el hecho que los coeficientes de los vectores sean similares entre sí, permite concluir que el pH tiene asociaciones negativas grandes con la presión y el FS. Lo indicado anteriormente puede ser deducido también del gráfico de influencias (Figura 13), donde se observa que el pH, la presión y el FS poseen los mayores vectores para el CP1 pero con sentidos contrarios, es decir, el vector pH se acerca al borde izquierdo de la gráfica, mientras que la presión y el FS hacia el derecho.

Por otra parte, para CP2, los vectores de las variables humedad y densidad aparente (0,640 y 0,660 respectivamente) son considerablemente mayores al del pH. La interpretación de este resultado es que para CP2, a humedad y densidad aparente son las variables que mejor explica la variabilidad de los datos, sin relacionarse con alguna de las otras variables analizadas; además, el hecho que los coeficientes de estos vectores sean similares entre sí, permite concluir que la humedad y densidad aparente poseen una asociación positiva grande entre sí. Lo indicado anteriormente puede ser deducido también del gráfico de influencias (Figura 13), donde se observa que la humedad y densidad aparente poseen los mayores vectores para el CP2 con el mismo sentido, es decir, los vectores de ambas variables se acerca al borde superior de la gráfica.

Resumiendo los resultados del análisis por el método de componentes principales, se tiene que el pH es la variable que mejor se relacionaría con las variables propias del pretratamiento explosión de vapor (presión y FS), por lo que puede extrapolarse que la variabilidad del pH es consecuencia de los efectos producidos por el pretratamiento. Por otra parte, se encontró que las variables humedad y densidad aparente se relacionan entre sí positivamente mas no con las variables propias del pretratamiento, por lo que no se puede afirmar con certeza que la variación de estas responda necesariamente al efecto del pretratamiento.

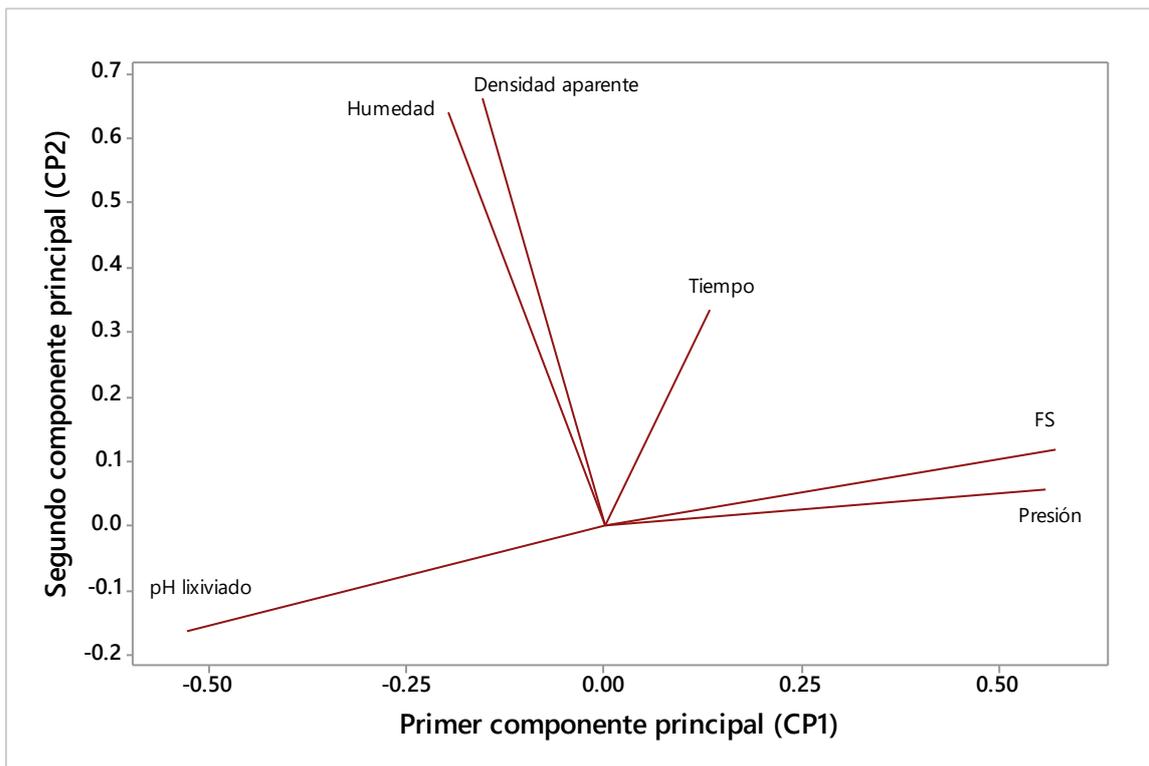


Figura 13: Gráfico de influencias de las variables analizadas por el método de los componentes principales.
Fuente: Elaboración propia.

A partir del análisis realizado en los párrafos anteriores, se procede a realizar un análisis más exhaustivo en la relación entre el pH, la presión y el FS. En primer lugar, los valores de pH obtenidos estuvieron comprendidos en el rango de 3,83 y 7,74, donde el menor valor correspondió al experimento SE.12.2 (8 bar y 12 min) y el mayor valor al experimento SE.2.1 (4 bar y 8 min). Cabe mencionar que para el resultado del menor valor de pH se calculó una desviación estándar muy superior al resto ($\pm 1,3$), por lo que se puede presumir que hubo algún error en una de las mediciones. En ese sentido, el segundo valor de pH más bajo fue 4,2, correspondiente al experimento SE.16.1 (10 bar y 12 min).

En la Figura 14 se observa una clara tendencia en la disminución del pH a medida que aumenta la presión para los cuatro niveles de tiempos de residencia. Además, se observa como la línea de tendencia del tiempo 6 minutos se sitúa por encima del resto; mientras que la línea de tendencia del tiempo 12 minutos se sitúa por debajo; lo cual permite suponer que la variación del pH en función a la presión se da en rangos superiores de pH a menores tiempos y en rangos inferiores a mayores tiempos. Cabe mencionar también que los coeficientes de correlación (R^2) entre el la presión y pH fueron 0,54, 0,67, 0,74 y 0,93 para

las series 6, 8, 10 y 12 minutos respectivamente; lo cual indica que las correlaciones entre la presión y pH de las dos primeras pueden ser consideradas como moderadamente buenas y de las dos últimas buenas (Vinuesa, 2016). Considerando los resultados del análisis estadístico por el método de componentes principales, se puede concluir que el pH se relaciona de manera más estrecha con las variaciones de presión a tiempos constantes que con las variaciones del tiempo a presiones constantes.

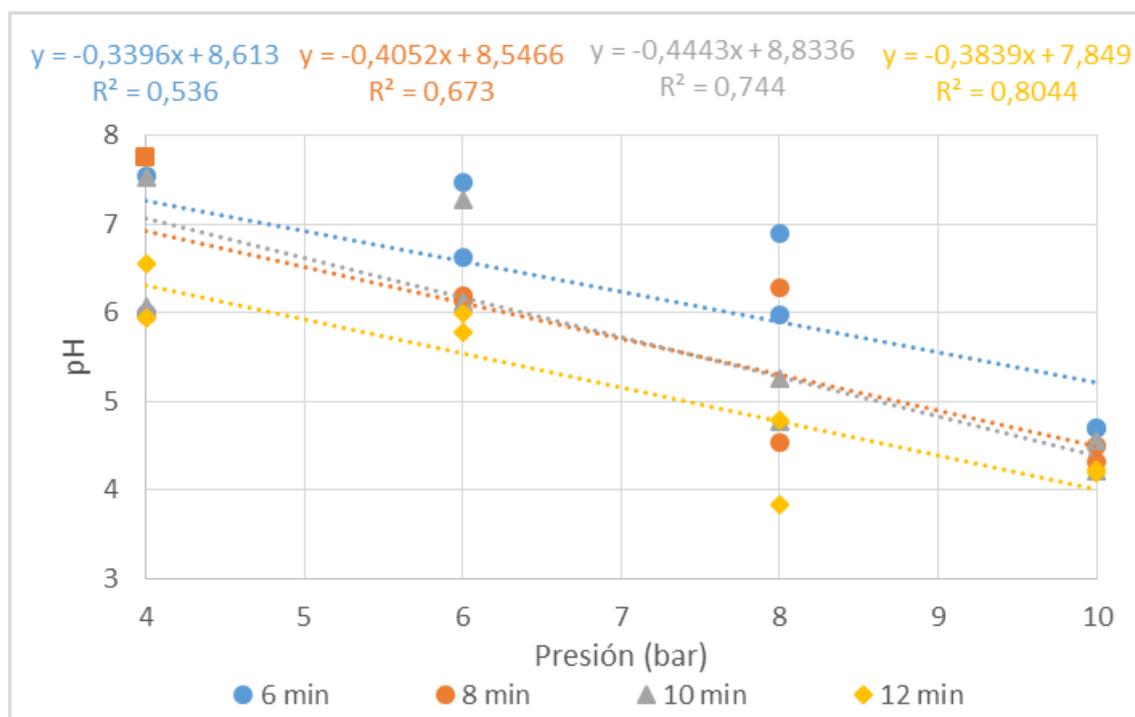


Figura 14: Variación del pH en función a la presión para mismos tiempos de residencia.
Fuente: Elaboración propia.

Por otra parte, en la Figura 15 se observa que la variación del pH es negativa con respecto al factor de severidad (FS), es decir, el pH disminuye a medida que aumenta el FS. El coeficiente de correlación (R^2) fue 0,66, lo cual permite concluir que ambas variables se correlacionan de buena manera (Vinuesa, 2016), en otros términos se puede decir que el 66 por ciento de la variabilidad total del pH puede ser explicado por el modelo lineal señalado en la Figura analizada antes indicada.

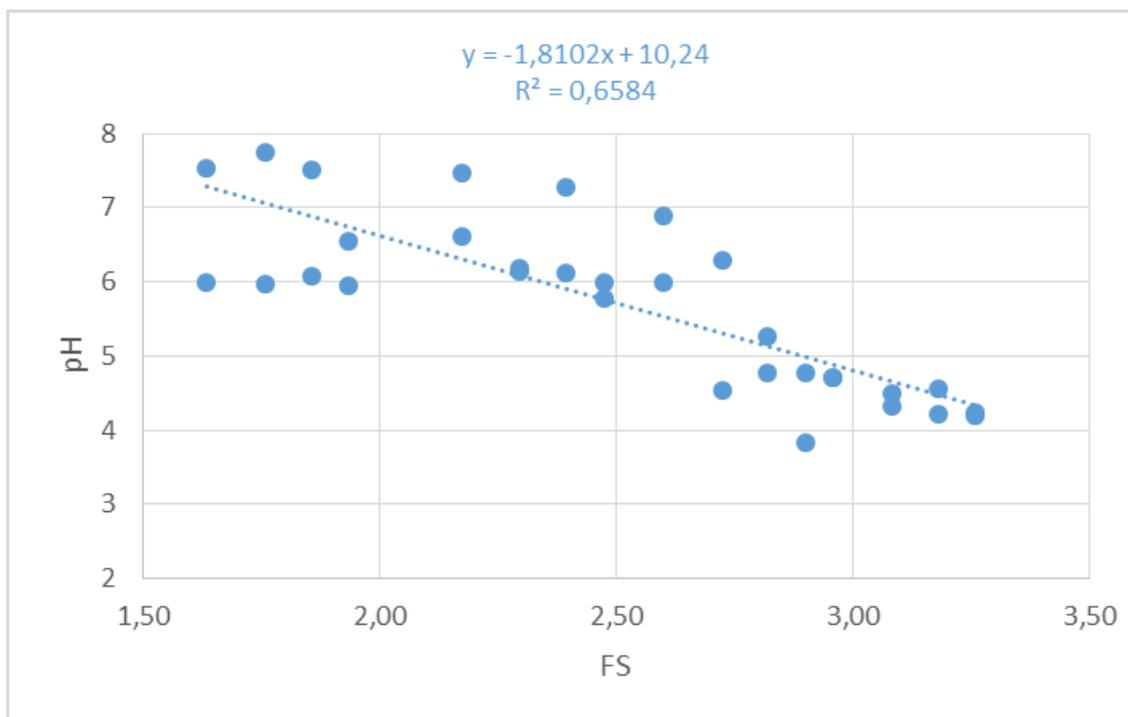


Figura 15: Variación del pH en función al factor de severidad (FS)

A partir de lo señalado en los dos párrafos anteriores, la tendencia en la disminución del pH a medida que incrementa la presión y/o el FS, se debería principalmente a la formación de ácidos orgánicos de cadena corta como el ácido acético generado a partir de los grupos acetilos de la hemicelulosa (Moniruzzaman, 1996). Esto resulta importante, ya que la presencia de ácido en el reactor contribuye con la degradación de la biomasa, incluida la lignina (Kurokochi & Sato, 2015), sin embargo, un medio muy ácido pueden ocasionar la formación de inhibidores que perjudiquen la producción de etanol 2G (Elliston et al., 2015). En la Figura 16 se muestra las fotografías de algunos de los lixiviados analizados, pudiéndose observar cómo este se vuelve de color es más oscuro a medida que aumenta la presión, el tiempo y por ende el FS.

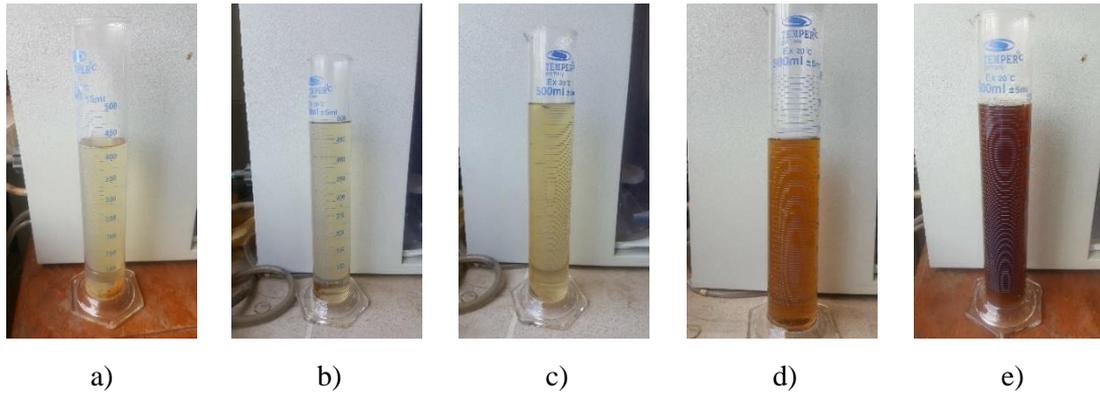


Figura 16: Fotografías de lixiviados al salir del reactor. a) SE.2.1 (4 bar y 8 min), b) SE.4.2 (4 bar y 12 min), c) SE.6.1 (6 bar y 8 min), d) SE.11.1 (8 bar y 10 min) y e) SE.16.1 (10 bar y 12 min).
Fuente: Elaboración propia

4.4 Lignina Klason

La determinación del contenido de lignina en la cáscara de arroz pretratada y sin pretratar se realizó mediante el método de cuantificación llamado lignina Klason. Para determinar si existen diferencias significativas entre los pretratamientos aplicados se utilizó el método estadístico análisis de varianza (ANOVA). En la Tabla 8 se presentan los resultados de la determinación del contenido de lignina y su análisis estadístico. Los resultados y el análisis estadístico completo se presentan en el Anexos 3 y 4 respectivamente.

Tabla 8: Efectos del pretratamiento explosión de vapor sobre el contenido de lignina a través de método lignina Klason

Resultados		Lignina (%)
Control o blanco		18,027 ± 0,951
Menor		11,451 ± 1,806 SE.16.2
Mayor		17,615 ± 0,892 SE.3.2
Análisis ANOVA para presión, tiempo y lignina ^a ($\alpha = 5\%$)		
Para el efecto de la presión	$p < 0,05$	Existe efecto de algún nivel de presión sobre el contenido de lignina
Para el efecto del tiempo	$p < 0,05$	Existe efecto de algún nivel de tiempo sobre el contenido de lignina
Para el efecto de la interacción presión y tiempo	$p < 0,05$	Existe afecto de alguna interacción entre los niveles de presión y tiempo sobre el contenido de lignina
Análisis ANOVA para FS y lignina ^a ($\alpha = 5\%$)		
Para el efecto del FS	$p < 0,05$	Existe efecto de algún nivel del FS sobre el contenido de lignina

Nota: Resultados de lignina ± desviación estándar para muestras por triplicado. ^a Cumplió con supuestos de normalidad mediante prueba de Anderson Darling ($p > 0,05$) y supuesto de homogeneidad de varianzas mediante prueba de Barlett ($p > 0,05$). Fuente: Elaboración propia.

Del análisis estadístico se encontró evidencia estadística suficiente para afirmar que la presión, el tiempo, así como la interacción de ambas variables afectan al contenido de lignina en la cáscara de arroz ($p < 0,05$). Para el FS se llegó a la misma conclusión.

Respecto a los resultados puntuales y tendencias encontradas, el contenido de lignina en la cáscara de arroz pretratada estuvo comprendido en el rango de 11,451 y 17,615 por ciento; mientras que el contenido de lignina en la cáscara de arroz sin pretratar (control) fue 18,027 por ciento, el cual se aproxima bastante a los valores encontrados por Valverde et al. (2007), Dagnino et al. (2013) y Dagnino et al. (2017) y en estudios de caracterización de la cáscara de arroz, quienes encontraron valores promedio de lignina de 18,20, 17,20 y 19,0 respectivamente. Los resultados muestran que se alcanzó un reducción máxima del contenido de lignina de casi 36 por ciento aplicando el pretratamiento con mayor nivel de presión (10 bar), mayor nivel de tiempo de residencia (12 minutos), y por ende, mayor FS (3,26).

En la Figura 17 se muestra la distribución de resultados del contenido de lignina en función al FS, en ella se observa cómo todos los resultados obtenidos en los experimentos se ubican por debajo del control. A partir de esa primera imagen visual de los resultados, se encontró que existe una relación negativa entre el contenido de lignina y el FS, es decir, que el primero disminuye a medida que el segundo aumenta. Para describir esta relación se construyó un modelo lineal (ecuación), cuya constante de correlación ($R^2 = 0,55$) indica que el modelo explica moderadamente bien la relación entre ambas variables, en otras palabras se puede decir que el 55 por ciento de la variabilidad total del contenido de lignina puede ser explicado por el modelo encontrado.

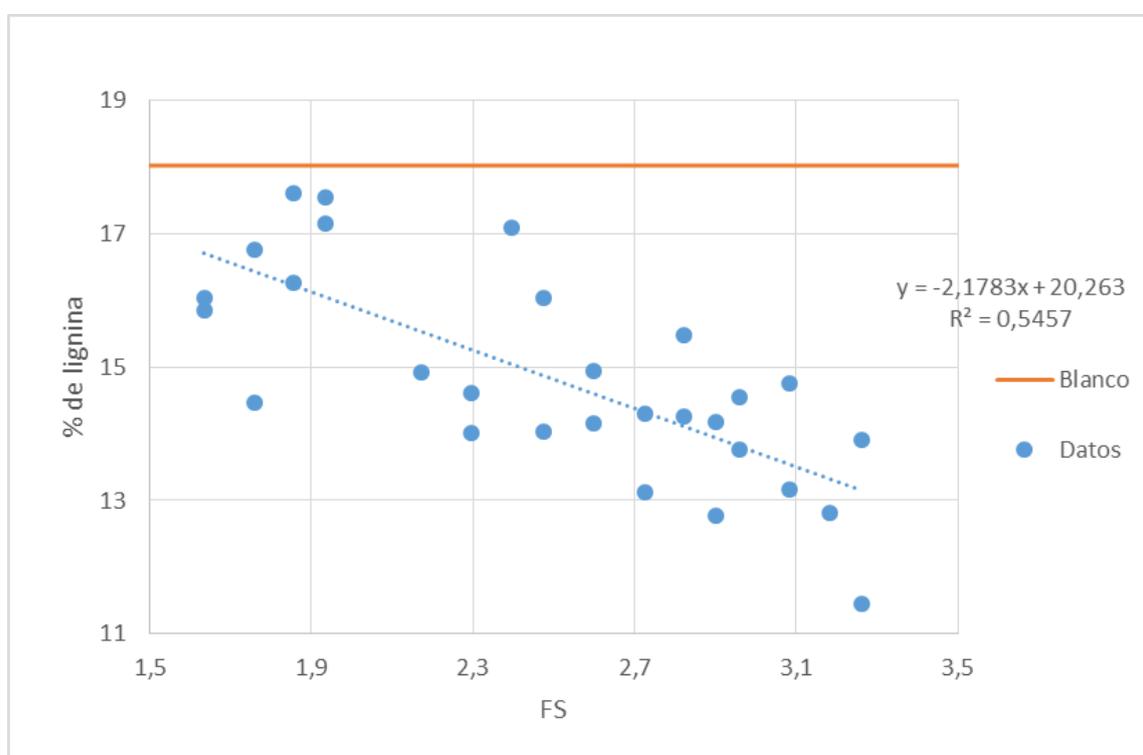


Figura 17: Distribución de resultados del contenido de lignina en función al FS.
Fuente: Elaboración propia.

Para el análisis de cómo afecta el pretratamiento explosión de vapor al contenido de lignina en la cáscara de arroz, se consideró analizar primero los efectos que producen cada variable individualmente (efectos principales) y luego el efecto que produce la interacción entre ambas. Para estos análisis se elaboraron los gráficos de las Figuras 18 y 19, en los cuales se muestran las variaciones del contenido de lignina promedio producido por (1) los efectos principales de la presión y el tiempo, y (2) los efectos de la interacción entre ambos respectivamente.

Analizando los efectos principales de los factores, se encontró que la presión tiene una influencia más directa que el tiempo sobre el contenido de lignina en la cáscara de arroz. Esto se observa en la Figura 18, en donde el gráfico de la izquierda muestra que la variación del contenido de lignina promedio en función a la presión describe una línea casi recta con pendiente negativa, indicando que existe una relación estrecha y negativa entre ambas variables; mientras que el gráfico de derecha muestra una línea con cambios de dirección en los niveles centrales de tiempo (8 y 10 minutos).

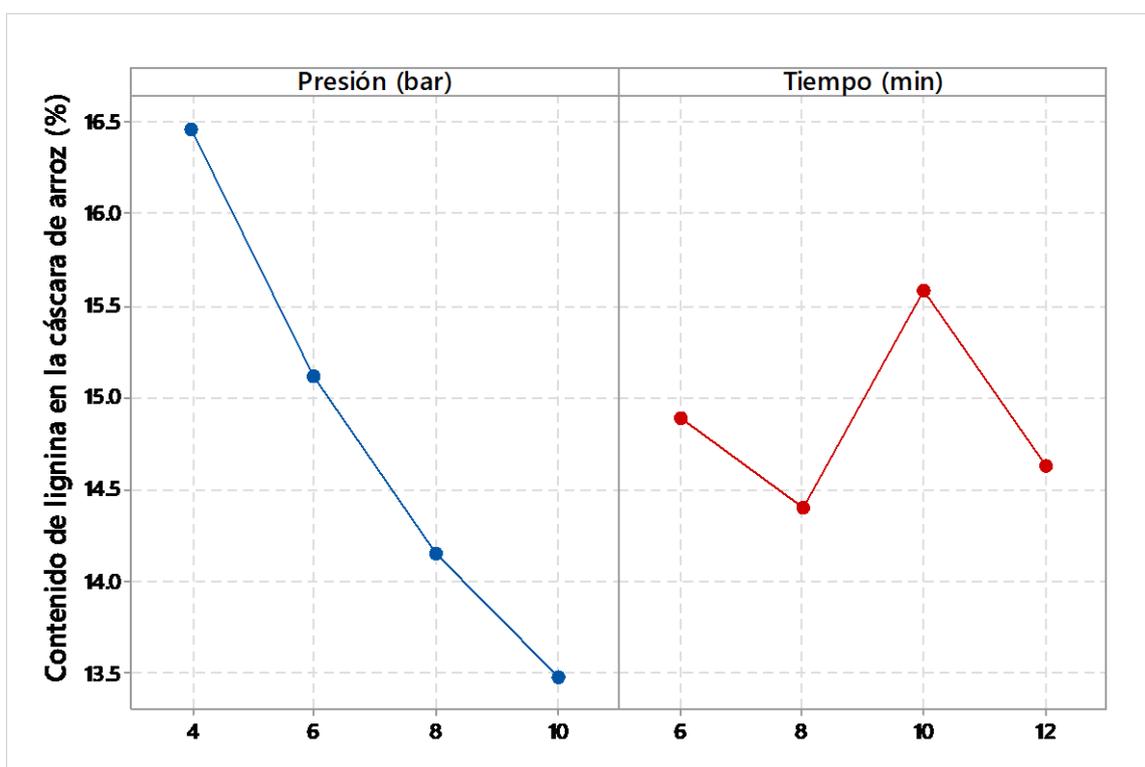


Figura 18: Variación del contenido de lignina promedio producido por los efectos principales de la presión y el tiempo.

Fuente: Elaboración propia.

Analizando los efectos de la interacción de factores, se encontró dos comportamientos en la variación del contenido de lignina. En primer lugar, se encontró que para los cuatro niveles de tiempo de residencia estudiados, el incremento de la presión produjo la reducción del contenido de lignina; es decir, que al mantener el tiempo constante y solo variar la presión, el resultado fue la disminución del contenido de lignina. En segundo lugar, se encontró que al aplicar presiones de 4, 6 y 8 bar el contenido de lignina aumentó cuando el tiempo pasó de 8 a 10 minutos; solo aplicar la presión de 10 bar el contenido de lignina disminuyó para todos los niveles de tiempo. En la Figura 19 se observa lo explicado anteriormente, el gráfico

de la izquierda muestra que para los cuatro niveles de tiempo, el incremento de la presión produjo que el contenido de lignina disminuyese, dibujando cuatros líneas casi rectas con pendientes negativas; mientras que el gráfico de la derecha muestra que para los niveles de presión 4, 6 y 8 bar, las líneas cambian su dirección en los niveles de 8 y 10 minutos, dibujando segmentos de pendientes positivas y pronunciadas; solo para el nivel de presión de 10 bar no hay cambios de dirección tan marcados en los segmentos y las pendientes se mantienen negativa.

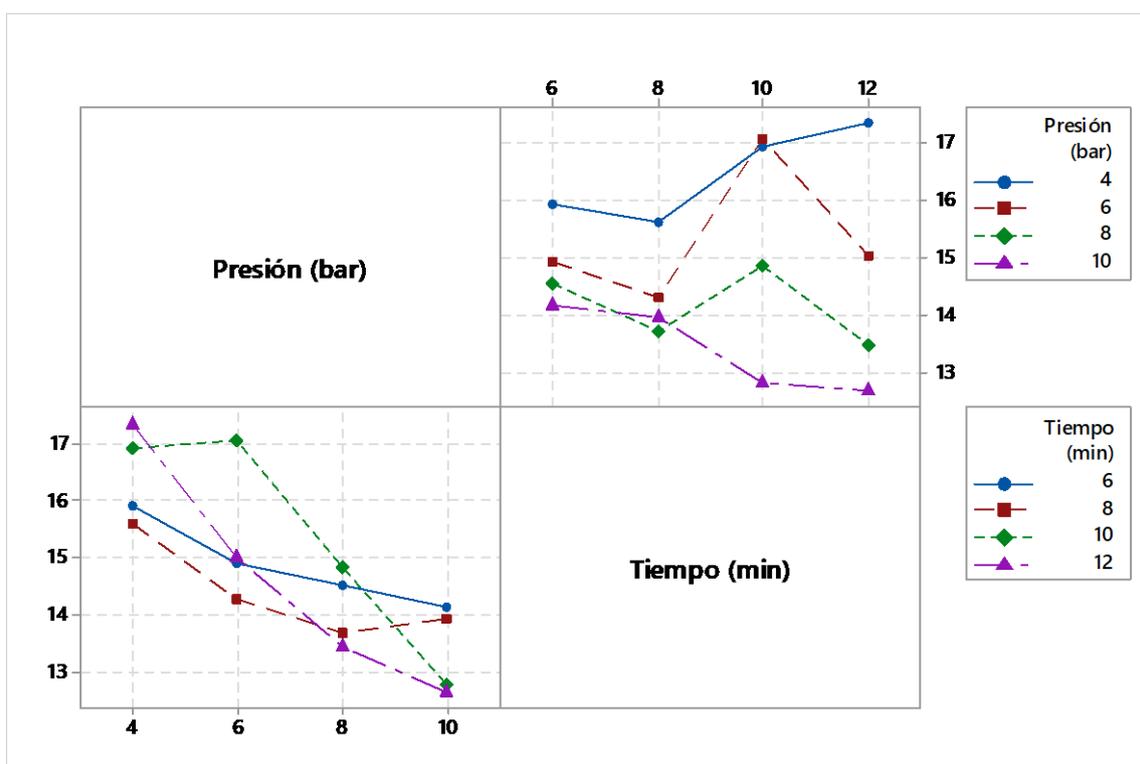


Figura 19: Variación del contenido de lignina promedio producido por el efecto de la interacción entre la presión y el tiempo.

Fuente: Elaboración propia.

Del análisis realizado anteriormente, se determinó que la presión, el tiempo de residencia y la combinación de ambos factores influyen en el comportamiento del contenido de lignina, siendo la presión el factor que influye con mayor intensidad. Bonfiglio et al. (2019) encontró el mismo resultado cuando analizó los efectos del pretratamiento explosión de vapor sobre el contenido lignocelulósico del césped o hierba (*Panicum virgatum*) de Uruguay. Esta influencia tan marcada se debe a que la presión del reactor está estrechamente relacionada con la temperatura y el aumento de esta última genera la descomposición de la hemicelulosa que, además de producir ácidos débiles que contribuyen a la autohidrólisis de la lignina

(Jakobson et al., 1995), ocasiona que los enlaces entre la hemicelulosa y la lignina se vean afectados, ocasionando que la estructura de esta última pueda ser destruida más fácilmente (Zhang et al., 2008).

Con respecto a la variación del contenido de lignina al aplicar diferentes niveles de presión y tiempo, se encontró que, aunque se observa una tendencia general a la disminución de lignina, existen variaciones negativas (disminución) y positivas (incrementos) dentro de los rangos de presión y tiempo estudiados. Por ejemplo, se encontró que al aplicar una presión de 10 bar, cualquier aumento en el tiempo ocasiona la disminución del contenido de lignina; sin embargo, a presiones de 4, 6 y 8 bar, un aumento del tiempo de 8 a 10 minutos ocasiona que el contenido de lignina se eleve. Al respecto, Li et al. (2007) concluyeron en su investigación que durante el pretratamiento explosión de vapor se dan simultáneamente los procesos de despolimerización y repolimerización de la lignina, los cuales se ven influenciados por el pH del medio, además de la presión y el tiempo de residencia. Ambas reacciones se originarían a partir de un intermediario común, un carbocatión que se forma en la posición C α de las estructuras fenolíticas de la lignina como consecuencia de un medio ácido (Li et al., 2007). Primero, la despolimerización se da por la ruptura de los enlaces β -O-4 ocasionando la formación de unidades aromáticas de tipo G (guaiacil) libres (Das, Stoffel, Area, & Ragauskas, 2019). Luego, la repolimerización se da por reacciones de condensación entre unidades aromáticas menores libres y unidades de lignina que poseen un carbocatión, estas reacciones involucrarían enlaces de tipo C-C entre los carbonos en posiciones C₂ o C₆ de los anillos fenolíticos de las primeras y el carbocatión de las segundas (Maniet et al., 2017). En las Figuras 20 y 21 se presentan los posibles mecanismos despolimerización y repolimerización de la lignina respectivamente.

A diferencia de los resultados encontrados en el presente estudio, Wang et al. (2019) determinaron que al aplicar el pretratamiento explosión sobre tallo de algodón, su contenido de lignina aumentó ligeramente y el pH del lixiviado se mantuvo en un rango cercano a la neutralidad (entre 6 y 7). La diferencia en los resultados de lignina radicaría en el pH del medio al cual fue sometida la biomasa en ambos casos, ya que, en el caso de esta investigación, el pH ácido alcanzado promovería las reacciones despolimerización y repolimerización, a diferencia del estudio de Wang et al. (2019), en el cual el pH casi neutro que alcanzó no facilitaría que se den estas reacciones con la misma velocidad.

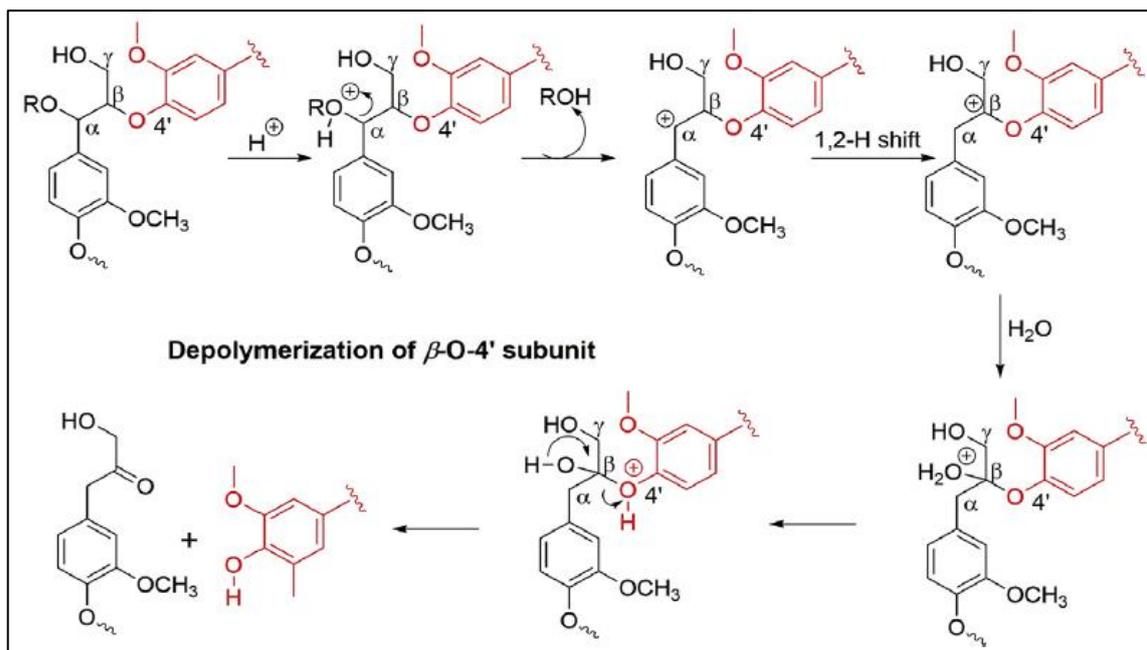


Figura 20: Posible mecanismo de despolimerización de la lignina.

Fuente: Das et al., 2019

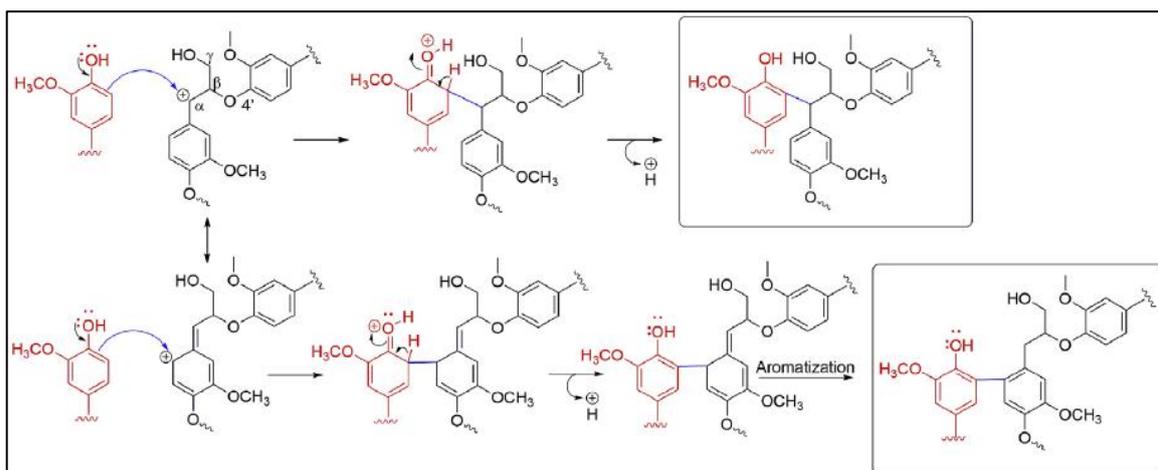


Figura 21: Posible mecanismo de repolimerización de la lignina.

Fuente: Das et al., 2019

4.5 Análisis de lignina mediante FTIR y SEM

El análisis mediante FTIR consideró las muestras obtenidas del pretratamiento menos eficaz (CT-1), más eficaz (CT-2) y el control (ST), las cuales correspondieron a los experimentos SE.3.2, SE.16.2 y SE.0.0. En la Figura 21 se muestra el espectro de la cascarilla de arroz, sin y con tratamiento por explosión de vapor; además en la Tabla 9 se muestra las bandas o picos del espectro infrarrojo correspondientes a las vibraciones de las especies químicas más importantes en la lignina encontradas por diferentes autores.

Tabla 9: Bandas del espectro infrarrojo atribuidas a las vibraciones de las especies químicas más importantes

Número de ondas (cm ⁻¹)	Asignaciones de banda por:
3375	Vibración tipo tensión de enlaces O-H
2924	Vibración tipo tensión de enlaces C-H
1720	Vibración tipo tensión asimétrica de enlaces C=O
1660	Vibración tipo tensión simétrica de enlaces C=O
1595	Vibración de anillos aromáticos
1509	Vibración de esqueletos aromáticos
1463	Deformación de enlaces C-H
1453	Vibración tipo flexión por balanceo en el plano de enlaces O-H
1420	Vibración tipo flexión por tijereteo en el plano de enlaces O-H
1265	Vibración de anillo de guaiacil junto con vibración tipo tensión de enlaces C=O
1220	Vibración tipo tensión combinada de enlaces C-C y C-O
1030	Vibración tipo tensión de enlaces C-O en alcohol primario
870, 810	Vibración por flexión fuera del plano del enlace C-H en las posiciones 2,5 y 6 del anillos de guaiacil

Nota: Adaptado de “Effects of one-step alkaline and two-step alkaline/dilute acid and alkaline/steam explosion pretreatments on the structure of isolated pine lignin” por Das et al., 2019.

A partir de los resultados encontrados en la Figura 22, se observa que los espectros de las muestras tratadas (CT-1 y CT-2) presentan disminución de la absorción dominante con respecto a la muestra no tratada (ST) en las bandas o picos de 3340 cm⁻¹, 2920 cm⁻¹, 1739 cm⁻¹, 1320 cm⁻¹, 1360 cm⁻¹ y 1060 cm⁻¹. La atribución de cada pico coincide con lo indicado en la Tabla 10 por Das et al. (2019). La primera banda o pico encontrado estaría asociada a la estructura de la celulosa y lignina (Tomczak et al., 2007), la segunda a la estructura de la celulosa y hemicelulosa (Brígida, Calado, Gonçalves, & Coelho, 2010), la tercera a esteres alifáticos de lignina y hemicelulosa (Romanzini et al., 2012), la cuarta y quinta a anillos aromáticos de polisacáridos o residuos de lignina, y la sexta y última al anillo piranósico de la lignina (Boonterm et al., 2016). Cabe destacar que la muestra CT-2 presentó la mayor reducción de transmitancia en los picos encontrados, lo cual se puede asociar a un menor contenido de lignina; coincidiendo con los resultados del análisis cuantitativo.

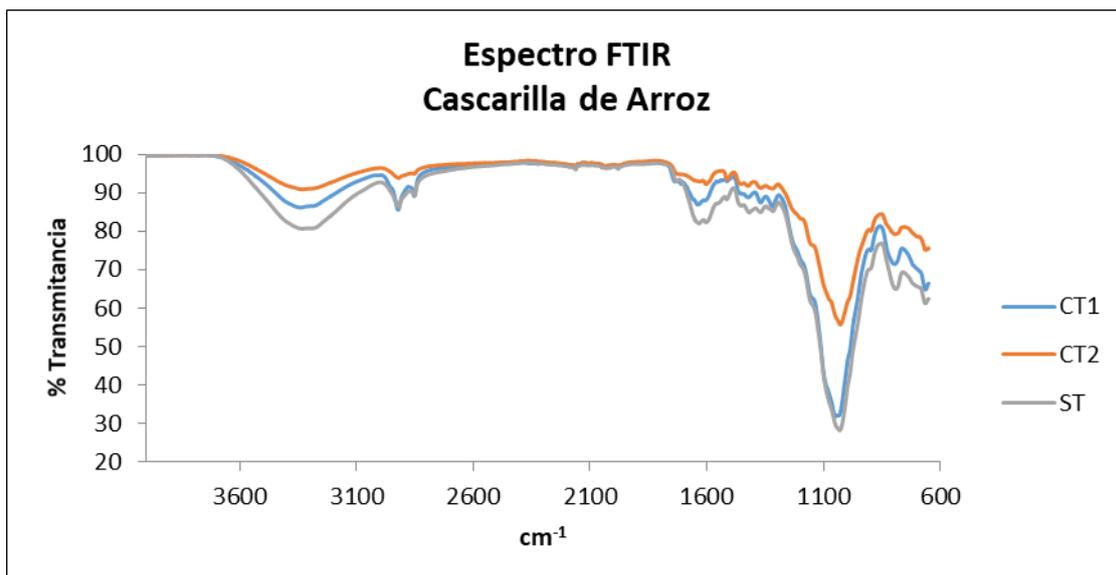


Figura 22: Espectro FTIR de la cascarilla de arroz, sin y con tratamiento por explosión de vapor.
Fuente: Elaboración propia.

Finalmente, se analizó visualmente la morfología de la cáscara de arroz a través de microscopía de barrido electrónico (SEM), las muestra analizadas fueron las mismas que pasaron por FTIR. En las imágenes (a), (b) y (c) de la Figura 23, se muestran las imágenes de la cáscara de arroz correspondiente a las muestras ST, CT-1 y CT-2 respectivamente, cuando fueron analizadas por su cara externa a una magnificación de 1200 x; en ellas se ha enfocado la imagen de una de sus fibras lignocelulósicas con un fondo que muestra protuberancias propias de la pared celular de la cáscara de arroz. Al respecto, se puede observar en la muestra sin tratar (ST) que la fibra presenta una estructura uniforme con una superficie lisa; mientras que las fibras de las muestras a las que se aplicó el pretratamiento explosión de vapor (CT-1 y CT-2) presentan estructuras fracturadas con superficies irregulares y restos de partículas sobre las protuberancias también dañadas. Esto se hace más notorio en la muestra CT-2, a la cual se le aplicó el pretratamiento más eficaz en reducir la lignina (10 bar y 12 minutos).

Las imágenes resultantes de este estudio presentan un alto grado de similitud con las imágenes captadas por Bonfiglio et al. (2019) mediante SEM, quienes analizaron la estructura lignocelulósica del césped (*Panicum virgatum*) uruguayo al ser sometido al pretratamiento explosión de vapor. Los autores concluyeron que las fracturas y interrupciones observadas en la estructura se deben al efecto de explosión ocasionado por la descompresión rápida del vapor y los efectos de la autohidrólisis que sufrió la biomasa.

A partir de la similitud encontrada entre las imágenes obtenidas en el presente estudio (Figura 23) y las obtenidas por Bonfiglio et al. (2019), además de los resultados del análisis cuantitativo (lignina Klason) y cualitativo (FTIR) de lignina de la presente investigación; se puede afirmar con certeza que la cáscara de arroz sometida al pretratamiento explosión de vapor se vio afectada en su estructura lignocelulósica, disminuyendo su contenido de lignina, de modo que al aplicar 10 bar de presión y 12 minutos de tiempo de residencia, se obtuvo el mayor porcentaje de reducción de lignina (36 por ciento aproximadamente).

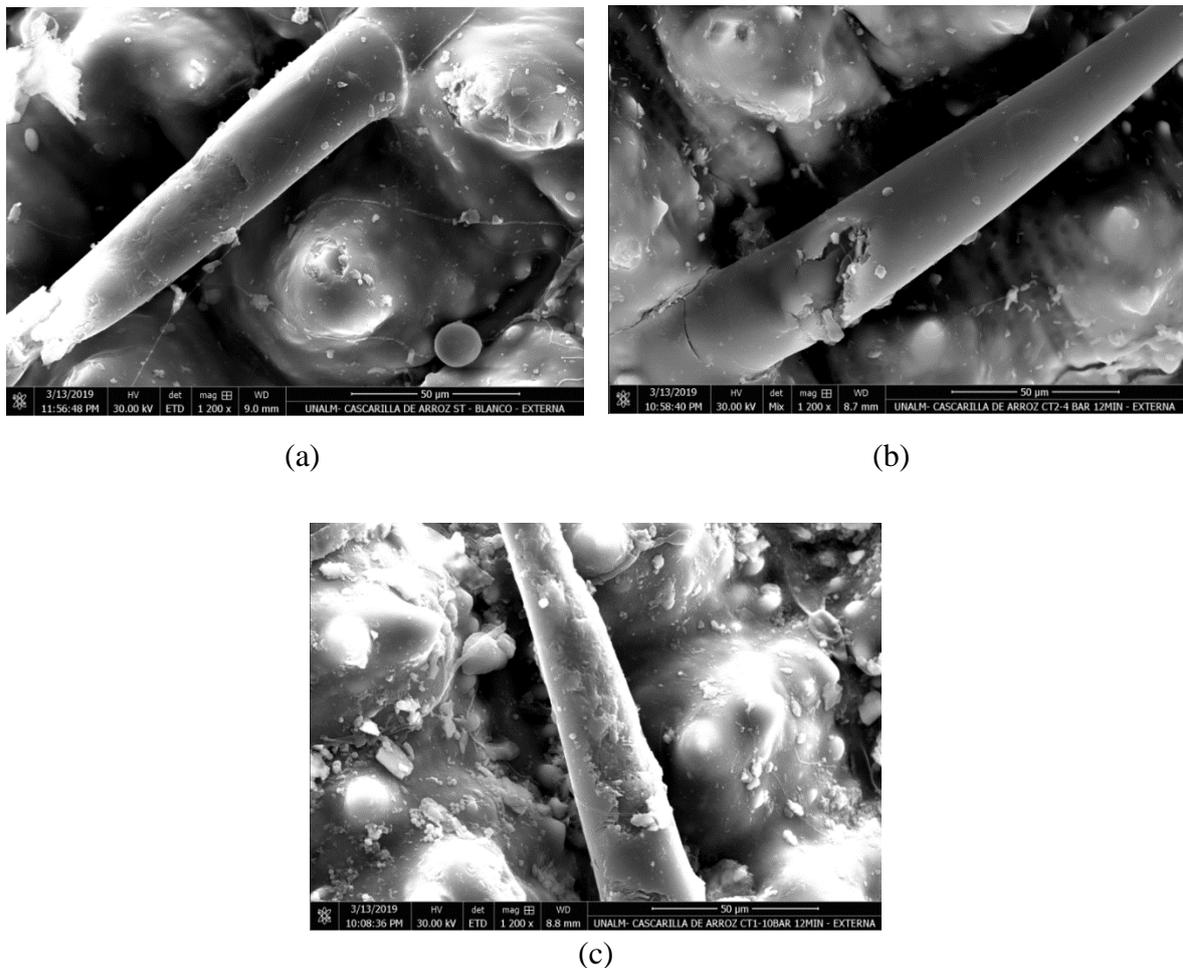


Figura 23: Imágenes de la cáscara de arroz correspondiente a las muestras ST, CT-1 y CT-2 analizadas por su cara externa a una magnificación de 1200 x. Nota: Imágenes (a) es muestra ST, (b) es muestra CT-1 y (c) muestra CT-2.

Fuente: Elaboración propia.

4.6 Aspectos ambientales

La identificación y análisis de los aspectos ambientales relacionados al proceso de explosión de vapor se realizó de manera descriptiva. La ISO 14001:2015 indica que el primer paso para identificar los aspectos ambientales es identificar los procesos que los originan, luego identificar las entradas y salidas de dichos procesos y finalmente, identificar los aspectos ambientales asociados. En ese sentido, se elaboró un diagrama de entradas y salidas del proceso explosión de vapor (Figura 24) y una matriz de identificación de aspectos e impactos ambientales (Tabla 10).

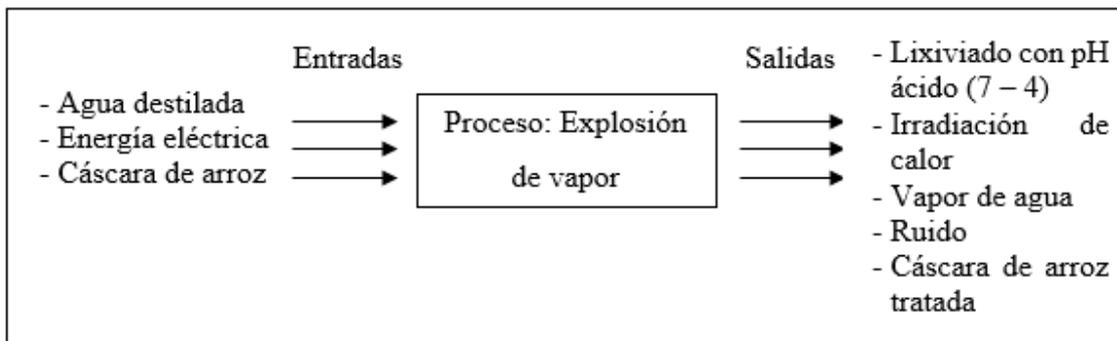


Figura 24: Diagrama de entradas y salidas del proceso explosión de vapor.
Fuente: Elaboración propia.

Tabla 10: Matriz de identificación de aspectos e impactos ambientales

Entradas	Salidas	Aspectos Ambientales	Impactos Ambientales
Agua destilada	Lixiviado de pH ácido (7 a 4)	Generación de aguas ácidas	Afectación / contaminación del agua de alcantarillado
	Vapor de agua	Generación de vapor de agua (GEI)	Afectación del aire por contribuir al cambio climático
		Generación de ruido	Afectación a la salud humana y perturbación del entorno acústico
Energía eléctrica	Irradiación de calor	Consumo de energía	Dependiendo del origen de la energía eléctrica (emisiones de GEI)
Cáscara de arroz	Cáscara de arroz tratada	^a	^a

Nota: ^a No existiría un aspecto ni impacto ambiental asociado por no haber interacción con el medio ambiente, sino que pasaría al siguiente proceso de producción de etanol 2G. Fuente: Elaboración propia.

Del proceso de identificación se encontró que los impactos ambientales asociados al pretratamiento explosión de vapor son (1) afectación de las aguas de alcantarillado por lixiviados ácidos, (2) contribución al cambio climático por la emisión de vapor de agua que un gas de efecto invernadero (GEI), (3) afectación a la salud y perturbación del ambiente por ruido y (4) consumo de energía, que dependiendo de su fuente puede estar asociado con la emisión de GEI, como es el caso de la energía proveniente de termoeléctricas. Cabe indicar que si la cáscara de arroz luego de ser tratada no será utilizada para ningún proceso sería considerada un residuo sólido; sin embargo, en el contexto que el pretratamiento explosión de vapor es el primer subproceso del proceso de producción de etanol 2G, la cáscara tratada sería considerada un insumo del siguiente proceso (hidrólisis), por lo cual no interactuaría con el medio ambiente y no sería considerada un aspecto ambiental ni poseería impactos asociados a ella. Rastogi y Shrivastava (2017), indican que una de las mayores desventajas del pretratamiento explosión de vapor es su alto costo, asociado al elevado consumo de energía que requiere; de modo que coincide con el tercer aspecto ambiental identificado.

Cabe indicar que el análisis de aspectos ambientales no considera evaluar la magnitud de los impactos ambientales asociados, toda vez que para ello se debería considerar información experimental de los pretratamientos que no se posee, tales como, periodicidad, tiempo de uso, cantidad de reactivos utilizados, sistema de tratamiento (batch o continuo), cantidad de lixiviados o reactivos recuperados, parámetros de funcionamiento de los equipos, etc.

V. CONCLUSIONES

1. Se encontró una ecuación matemática que permitió describir la relación entre la presión y temperatura en el reactor del equipo explosión de vapor. La ecuación encontrada fue la siguiente: $T=82.0997 \times P^{0.326452}$.
2. Los factores de severidad (FS) calculados estuvieron en el rango de 1,63 y 3,26.
3. Los resultados del análisis de componentes principales (ACP) mostraron que el pH se relaciona con la presión y FS, los cuales son factores propios del pretratamiento explosión de vapor. Esta relación debe su explicación a que al aumentar la severidad del pretratamiento, incrementa la hidrólisis de la hemicelulosa, produciendo ácidos orgánicos débiles que varía el pH.
4. Del análisis estadístico ANOVA, se encontró evidencia estadística suficiente para afirmar que el pretratamiento explosión de vapor genera efectos sobre el contenido de lignina en la cáscara de arroz ($p < 0,05$).
5. El contenido de lignina en la cáscara tratada tendió a disminuir en promedio al aumentar la presión, el tiempo de residencia y consecuentemente el FS; siendo el primero el factor que más influyó.
6. Al aplicar presiones de 4, 6 y 8 bar, el contenido de lignina promedio en la cáscara de arroz aumentó cuando el tiempo de residencia pasó de 8 a 10 minutos. Este comportamiento se debió a que las condiciones ácidas del medio ($pH < 7$) favoreció a que se diesen simultáneamente reacciones de despolimerización y repolimerización de la lignina.
7. Del análisis cualitativo mediante FTIR se comprobó que existen diferencias significativas entre el control y el pretratamiento más efectivo en reducir lignina (10 bar

y 12 minutos), principalmente en las bandas del espectro 3340 cm^{-1} , asociada a la estructura de la celulosa y lignina, y en la banda 1060 cm^{-1} , asociada a al anillo piranósico de la lignina.

8. Del análisis cualitativo mediante SEM se comprobó que la morfología de la cáscara de arroz cambia debido a los efectos del pretratamiento explosión de vapor, ocasionando fracturas y disrupciones en la estructura del mismo, observando estos cambios de manera notoria en la muestra a la cual se aplicó el pretratamiento más efectivo (10 bar y 12 minutos).
9. Los aspectos ambientales asociados al pretratamiento explosión de vapor son el consumo de agua, el consumo de energía y la generación de lixiviados ácidos; de los cuales.

VI. RECOMENDACIONES

- Automatizar la transferencia de vapor del calderín al reactor de modo que esta sea a un flujo constante y no dependa de la precisión del usuario o experimentador en abrir y cerrar las válvulas de transferencia.
- Acoplar alrededor del reactor una chaqueta metálica que permita el ingreso de vapor para procurar mantener la temperatura constante en el reactor.
- Modificar el diseño del reactor, debido a que su base plana dificulta la purga del agua de lavado, luego de haber realizado algún experimento. Se recomienda una base cilíndrica que facilite el escurrimiento del líquido.
- Complementar el estudio realizando pruebas para determinar el contenido de inhibidores en la cáscara de arroz luego de aplicar el pretratamiento explosión de vapor.
- Analizar la celulosa luego del pretratamiento explosión de vapor, de modo que esta reduzca al máximo su grado de cristalinidad y aumente la celulosa amorfa, así como aumente la porosidad de la matriz lignocelulósica.
- Analizar alternativas de uso o valorización del lixiviado generado para que no deba ser dispuesto o desperdiciado.

VII. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Aditiya, H. B., Mahlia, T. M. I., Chong, W. T., Nur, H., & Sebayang, A. H. (2016). Second generation bioethanol production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 66, 631–653. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.07.015>

Azadi, P., Malina, R., Barrett, S. R. H., & Kraft, M. (2017). The evolution of the biofuel science. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 1479–1484. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.181>

Bonfiglio, F., Cagno, M., Rey, F., Torres, M., Böthig, S., Menéndez, P., & Mussatto, S. I. (2019). Pretreatment of switchgrass by steam explosion in a semi-continuous pre-pilot reactor. *Biomass and Bioenergy*, 121 (December), 41–47. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.12.013>

Boonterm, M., Sunyadeth, S., Dedpakdee, S., Athichalinthorn, P., Patcharaphun, S., Mungkung, R., & Techapiesancharoenkij, R. (2016). Characterization and comparison of cellulose fiber extraction from rice straw by chemical treatment and thermal steam explosion. *Journal of Cleaner Production*, 134 (Part B), 592–599. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.09.084>

Brígida, A. I. S., Calado, V. M. A., Gonçalves, L. R. B., & Coelho, M. A. Z. (2010). Effect of chemical treatments on properties of green coconut fiber. *Carbohydrate Polymers*, 79(4), 832–838. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.10.005>

Cadena, C. G., & Bula, A. J. (2002). Estudio de la variación en la conductividad térmica de la cascarilla de arroz aglomerada con fibras vegetales. Universidad del Norte Colombia.

Codina Gironès, V., Moret, S., Peduzzi, E., Nasato, M., & Maréchal, F. (2017). Optimal use of biomass in large-scale energy systems: Insights for energy policy. *Energy*, 137, 789–797. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.05.027>

Cuervo, L., Folch-Mallol, J. L., & Quiroz Castañeda, R. E. (2014). Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol. ResearchGate.

Dagnino, E. P., Chamorro, E. R., Romano, S. D., Felissia, F. E., & Area, M. C. (2013). Optimization of the acid pretreatment of rice hulls to obtain fermentable sugars for bioethanol production. *Industrial Crops and Products*, 42(1), 363–368. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.019>

Dagnino, Eliana P., Felissia, F. E., Chamorro, E., & Area, M. C. (2017). Optimization of the soda-ethanol delignification stage for a rice husk biorefinery. *Industrial Crops and Products*, 97, 156–165. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.12.016>

Das, P., Stoffel, R. B., Area, M. C., & Ragauskas, A. J. (2019). Effects of one-step alkaline and two-step alkaline/dilute acid and alkaline/steam explosion pretreatments on the structure of isolated pine lignin. *Biomass and Bioenergy*, 120, 350–358. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.11.029>

Elliston, A., Wilson, D. R., Wellner, N., Collins, S. R. A., Roberts, I. N., & Waldron, K. W. (2015). Effect of steam explosion on waste copier paper alone and in a mixed lignocellulosic substrate on saccharification and fermentation. *Bioresource Technology*, 187, 136–143. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.089>

Favaro, L., Cagnin, L., Basaglia, M., Pizzocchero, V., van Zyl, W. H., & Casella, S. (2017). Production of bioethanol from multiple waste streams of rice milling. *Bioresource Technology*, 244, 151–159. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.108>

Fontecha, L. M. (2011). Evaluación de los pretratamientos con ácido sulfúrico diluido y AFEX en la biomasa lignocelulósica del tipo pasto gigante “*Pennisetum Sp.*”. Recuperado de <http://bdigital.unal.edu.co/4237/1/LadyMateusFontecha.2011.pdf>

Ghosh, S., Chowdhury, R., & Bhattacharya, P. (2017). Sustainability of cereal straws for the fermentative production of second generation biofuels: A review of the efficiency and economics of biochemical pretreatment processes. *Applied Energy*, 198, 284–298. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.12.091>

Guo, X., Yuan, H., Xiao, T., & Wu, Y. (2019). Application of micro-FTIR spectroscopy to study molecular association of adsorbed water with lignin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 1038–1043. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.193>

Henhapl, W., & Jones, C. B. (2005). *Microscopía de barrido electrónico*. Universidad de Malaga, 1(1), 14–16. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/0020-0190\(71\)90015-9](https://doi.org/10.1016/0020-0190(71)90015-9)

Huaripoma Vega, D. A. (2015). *Diseño de un Gasificador Downdraft invertido de 2600 Kcal/h que emplea Cascarilla de Arroz como Combustible (Tesis de maestría)*. Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú.

Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía (IDAE). (2007). *Energía de la biomasa*. Recuperado de https://www.idae.es/uploads/documentos/documentos_10374_Energia_de_la_biomasa_07_28e17c9c.pdf

International Organization for Standardization - ISO (2015). *ISO 14001:2015 (tercera edición)*.

Jakobson, J., Hortling, B., & Sundquist, J. (1995). Characterization of alkali soluble fraction of steam exploded birch wood. *Holzforschung*, 49(1), 51–59. Recuperado de <https://doi.org/10.1515/hfsg.1995.49.1.51>

Janet L., S., Jay, R., & Freyr, S. (2018). *Renewables 2018-Global status report. A comprehensive annual overview of the state of renewable energy. Advancing the global renewable energy transition-Highlights of the REN21 Renewables 2018 Global Status Report in perspective*. Recuperado de <https://doi.org/978-3-9818911-3-3>

Jolliffe, I. T. (2002). *Principal Component Analysis*. (2° ed.). Springer Series in Statistics (Vol. 98). Recuperado de <https://doi.org/10.1007/b98835>

Kaza, S., Yao, L., Bhada-Tata, P., & Van Woerden, F. (2018). What a waste 2.0 A global snapshot of solid waste management to 2050.

Kurokochi, Y., & Sato, M. (2015). Effect of Steam Explosion and Grinding on Binderless Board Made From Rice Straw. *Wood Research*, 60(5), 791–800.

Lavoine, N., Desloges, I., Dufresne, A., & Bras, J. (2012). Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carbohydrate Polymers*, 90(2), 735–764. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.026>

Lett, L. A. (2014). Las amenazas globales, el reciclaje de residuos y el concepto de economía circular. *Revista Argentina de Micrología*, 46(1), 1–2. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70039-2](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70039-2)

Li, J., Henriksson, G., & Gellerstedt, G. (2007). Lignin depolymerization/repolymerization and its critical role for delignification of aspen wood by steam explosion. *Bioresource Technology*, 98(16), 3061–3068. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.018>

López del Pino, S. J. (2017). UF1946: Desarrollo y plaicación de la metodología de evaluación de aspectos ambientales.

Maniet, G., Schmetz, Q., Jacquet, N., Temmerman, M., Gofflot, S., & Richel, A. (2017). Effect of steam explosion treatment on chemical composition and characteristic of organosolv fescue lignin. *Industrial Crops and Products*, 99, 79–85. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.015>

Margarita, Z.-D. C. L., Osney, P.-O., Antonio, R.-R. P., María, Z.-D. C. B., & Geraldo, L. (2015). Potencialidades del bagazo para la obtención de etanol frente a la generación de

electricidad. *Ingeniería, Investigación y Tecnología*, 16(3), 407–418. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.riit.2015.05.001>

Merino, L. (2009). *Energías renovables para todos*, 20. Recuperado de <http://www.fenercom.com/pdf/publicaciones/cuadernos-energias-renovables-para-todos.pdf>

Ministerio del Ambiente - MINAM. (2016). *Sexto informe nacional de residuos sólidos de la gestión del ámbito municipal y no municipal*.

Ministerio del Ambiente - MINAM. (2017). *Ley Integral de Gestión de Residuos Sólidos (Ley N° 1278)*, 607472–607488.

Moniruzzaman, M. (1996). Effect of steam explosion on the physicochemical properties and enzymatic saccharification of rice straw. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*, 59(3), 283–297. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/BF02783570>

Montgomery, D. C. (2004). *Diseño y análisis de experimentos*. Limusa Wiley. Recuperado de <https://doi.org/10.1109/RE.2014.6912298>

Morales de la Rosa, S. (2015). *Hidrólisis ácida de celulosa y biomasa lignocelulósica asistida con líquidos iónicos (Tesis de maestría)*. Universidad Autónoma de Madrid.

Morelos Gómez, J. (2016). Análisis de la variación de la eficiencia en la producción de biocombustibles en América Latina. *Estudios Gerenciales*, 32(139), 120–126. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.estger.2016.01.001>

Oladi, S., & Aita, G. M. (2017). Optimization of liquid ammonia pretreatment variables for maximum enzymatic hydrolysis yield of energy cane bagasse. *Industrial Crops and Products*, 103, 122–132. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.02.023>

Olmos, S. (2006). Apuntes de morfología, fenología, ecofisiología y mejoramiento genético del arroz. UNNE, 1–13.

Pérez Diaz, G. (2016). Producción de extracto enzimático de *Rhizomucor* y su aplicación en el desarrollo de un integrador de tiempo temperatura (Tesis doctoral). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Piqué, T. M., & Vázquez, A. (2012). Uso de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) en el estudio de la hidratación del cemento. *Concreto y Cemento. Investigacion y Desarrollo*, 3, 62–71. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/ccid/v3n2/v3n2a4.pdf>

Prinsen, P. (2010). Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla.

Rastogi, M., & Shrivastava, S. (2017). Recent advances in second generation bioethanol production: An insight to pretreatment, saccharification and fermentation processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 80, 330–340. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.225>

Renau-Piqueras, J., & Faura, M. (2005). Principios básicos del microscopio electrónico de barrido. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32(8), 323–334. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s10295-005-0259-5>

Romanzini, D., Ornaghi Junior, H. L., Amico, S. C., & Zattera, A. J. (2012). Preparation and characterization of ramie-glass fiber reinforced polymer matrix hybrid composites. *Materials Research*, 15(3), 415–420. Recuperado de <https://doi.org/10.1590/s1516-14392012005000050>

Sánchez, G., Linares, R., & Angulo, H. (1991). Vibraciones moleculares y espectrometría infrarrojo y Raman. Universidad del Valle.

Sanchez Ortiz, A. (2015). Síntesis de nanopartículas derivadas de biopolímeros extraídos de biomasa por métodos térmicos. Universidad Autónoma de Nuevo Leon.

Serrano Martínez, J. L. S. (2009). Instrumentacion y métodos de análisis químico.

Skoog, D., Holler, F. J., & Stanley R. Crocuh. (2008). Principios de análisis instrumental. Cengage learning ,6. Recuperado de <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Sluiter, J. B., Ruiz, R. O., Scarlata, C. J., Sluiter, A. D., & Templeton, D. W. (2010). Compositional analysis of lignocellulosic feedstocks . 1 . Review and description of methods. Agricultural and Food Chemistry, 9043–9053. Recuperado de <https://doi.org/10.1021/jf1008023>

Spiegeler, C., & Cifuentes, J. I. (2014). Definicion e informacion de energias renovables. Recuperado de [http://www.repositorio.usac.edu.gt/4455/1/definicion e informacion de energias renovables.pdf](http://www.repositorio.usac.edu.gt/4455/1/definicion_e_informacion_de_energias_renovables.pdf)

Stelte, W. (2013). Steam explosion for biomass pre-treatment. Danish Technological Institute, 1–15.

Toklu, E. (2017). Biomass energy potential and utilization in Turkey. Renewable Energy, 107, 235–244. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.02.008>

Tomczak, F., Satyanarayana, K. G., & Sydenstricker, T. H. D. (2007). Studies on lignocellulosic fibers of Brazil: Part III – Morphology and properties of Brazilian curauá fibers. Composites Part A: Applied Science and Manufacturing, 38(10), 2227–2236. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2007.06.005>

Valverde, A., Bienvenido, S., & José, M. (2007). Análisis comparativo de las características fisicoquímicas de la cascarilla de arroz. Universidad Tecnológica de Pereira, (37).

Verardi, A., Blasi, A., Marino, T., Molino, A., & Calabrò, V. (2017). Effect of steam-pretreatment combined with hydrogen peroxide on lignocellulosic agricultural wastes for bioethanol production: Analysis of derived sugars and other by-products. *Journal of Energy Chemistry*. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jechem.2017.11.007>

Vinuesa, P. (2016). *Correlación : teoría y práctica*. CCG-UNAM, 1–26. Recuperado de http://www.ccg.unam.mx/~vinuesa/R4biosciences/docs/Tema8_correlacion.pdf

Wang, Y., Gong, X., Hu, X., & Zhou, N. (2019). Lignin monomer in steam explosion assist chemical treated cotton stalk affects sugar release. *Bioresource Technology*, 343–348. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.008>

Yoon, H. H. (1998). Pretreatment of lignocellulosic biomass by autohydrolysis and aqueous ammonia percolation. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 15(6), 631–636. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/BF02698990>

Zhang, L. hui, Li, D., Wang, L. jun, Wang, T. peng, Zhang, L., Chen, X. D., & Mao, Z. huai. (2008). Effect of steam explosion on biodegradation of lignin in wheat straw. *Bioresource Technology*, 99(17), 8512–8515. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.03.028>

Zhao, C., Cao, Y., Ma, Z., & Shao, Q. (2017). Optimization of liquid ammonia pretreatment conditions for maximizing sugar release from giant reed (*Arundo donax* L.). *Biomass and Bioenergy*, 98, 61–69. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2017.01.001>

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Registro Fotográfico

a) Experimentación con equipo explosión de vapor



Cáscara de arroz en reactor



EPP



Pesando 600 g de cáscara de arroz para introducir al reactor



Muestras para prueba de determinación de humedad



Medición de volumen de lixiviado



Determinación de densidad aparente mediante método de la probeta

b) Análisis mediante método lignina Klason



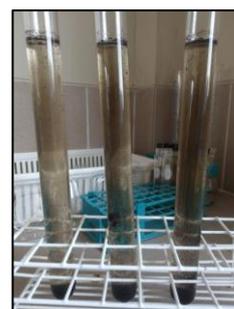
Extracción Soxhlet



Hidrólisis con ácido sulfúrico 72%



Pesaje de muestra



Muestra diluida en ácido sulfúrico al 4 %



Equipo para filtrar luego de diluir muestra al 4 %



Secado de muestras en estufa a 105°C

Anexo 2: Datos de temperatura, presión manométrica y tiempo en el reactor, y secuencia de obtención de ecuación matemática mediante método de iteraciones Gauss – Newton con Minitab 17

Datos

Código	Presión del experimento (bar)	Tiempo del experimento (min)	Tiempo en el reactor (min)	Presión en el reactor (bar)	Temperatura en el reactor (°C)
SE.1.1	4	6	0	0	25
SE.1.1	4	6	1	1	55
SE.1.1	4	6	2	1,8	85
SE.1.1	4	6	3	2,8	106
SE.1.1	4	6	4	3,9	127
SE.1.1	4	6	4,19	4	127
SE.1.1	4	6	5,19	4	130
SE.1.1	4	6	6,19	4	125
SE.1.1	4	6	7,19	4	126
SE.1.1	4	6	8,19	4	125
SE.1.1	4	6	9,19	4,1	129
SE.5.2	6	6	0	0	30
SE.5.2	6	6	1	1	85
SE.5.2	6	6	2	2,3	110
SE.5.2	6	6	3	3,5	130
SE.5.2	6	6	4	4,9	146
SE.5.2	6	6	5	3,8	130
SE.5.2	6	6	6	3,4	125
SE.5.2	6	6	7	4	143
SE.5.2	6	6	7,47	6	147
SE.5.2	6	6	8,47	6	149
SE.5.2	6	6	9,47	6,1	150
SE.5.2	6	6	10,47	6	150

Continuación.

Código	Presión del experimento (bar)	Tiempo del experimento (min)	Tiempo en el reactor (min)	Presión en el reactor (bar)	Temperatura en el reactor (°C)
SE.5.2	6	6	11,47	6	150
SE.5.2	6	6	12,47	6	150
SE.5.2	6	6	13,47	6,2	151
SE.16.2	10	12	0	0	29
SE.16.2	10	12	1	1	60
SE.16.2	10	12	2	1,6	80
SE.16.2	10	12	3	3	118
SE.16.2	10	12	4	5,4	140
SE.16.2	10	12	5	4,5	143
SE.16.2	10	12	6	6,2	148
SE.16.2	10	12	7	6,2	148
SE.16.2	10	12	8	6,6	151
SE.16.2	10	12	9	5,9	145
SE.16.2	10	12	10	5,5	143
SE.16.2	10	12	11	5	140
SE.16.2	10	12	12	4,8	136
SE.16.2	10	12	13	4,5	135
SE.16.2	10	12	14	6,8	154
SE.16.2	10	12	15	8,2	163
SE.16.2	10	12	16	7,5	157
SE.16.2	10	12	17	8,8	165
SE.16.2	10	12	18	8,8	164
SE.16.2	10	12	19	9,9	170
SE.16.2	10	12	19,38	10	171
SE.16.2	10	12	20,38	9,9	170
SE.16.2	10	12	21,38	10	170

Continuación.

Código	Presión del experimento (bar)	Tiempo del experimento (min)	Tiempo en el reactor (min)	Presión en el reactor (bar)	Temperatura en el reactor (°C)
SE.16.2	10	12	22,38	10	170
SE.16.2	10	12	23,38	10	170
SE.16.2	10	12	24,38	10,2	171
SE.16.2	10	12	25,38	10	171
SE.16.2	10	12	26,38	9,8	169
SE.16.2	10	12	27,38	10	170
SE.16.2	10	12	28,38	10	170
SE.16.2	10	12	29,38	10	170
SE.16.2	10	12	30,38	10,4	173
SE.4.2	4	12	0	0	32
SE.4.2	4	12	1	1	90
SE.4.2	4	12	2	3	123
SE.4.2	4	12	2,49	4	134
SE.4.2	4	12	3,49	4	135
SE.4.2	4	12	4,49	4	137
SE.4.2	4	12	5,49	4	137
SE.4.2	4	12	6,49	4	138
SE.4.2	4	12	7,49	4	136
SE.4.2	4	12	8,49	3,8	134
SE.4.2	4	12	9,49	4	136
SE.4.2	4	12	10,49	4	136
SE.4.2	4	12	11,49	4,1	137
SE.4.2	4	12	12,49	4	137
SE.4.2	4	12	13,49	4,1	138
SE.4.2	4	12	14,49	4	136

Nonlinear Regression: T reactor = Theta1 * 'P reactor' ^ Theta2

Method

Algorithm Gauss-Newton
Max iterations 200
Tolerance 0.00001

5 cases were not used because of numerical errors.

Starting Values for Parameters

Parameter	Value
Theta1	6
Theta2	6

Equation

T reactor = 82.0997 * 'P reactor' ^ 0.326452

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	SE Estimate
Theta1	82.0997	1.59962
Theta2	0.3265	0.01089

T reactor = Theta1 * 'P reactor' ^ Theta2

Lack of Fit

Source	DF	SS	MS	F	P
Error	74	3313.44	44.7762		
Lack of Fit	31	1771.86	57.1568	1.59	0.078
Pure Error	43	1541.58	35.8507		

Summary

Iterations	16
Final SSE	3313.44
DFE	74
MSE	44.7762
S	6.69151

Anexo 3: Resultados completos

Código	Presión (Bar)	Tiempo (min)	Temperatura (°C) T=f(P)	Factor de Severidad (FS)	Volumen lixiviado (mL)	pH lixiviado ^a	Humedad (%) ^a	Densidad aparente (kg/m ³) ^a	Extraíbles (%)	Lignina en cáscara de arroz (%) ^b
SE.1.1	4	6	129,09	1,63	480	5,99 ± 0,0	23,59 ± 0,47	129,5 ± 3,5	2,663	16,042 ± 0,81
SE.2.1	4	8	129,09	1,76	430	7,74 ± 0,26	21,55 ± 0,41	128,7 ± 2,7	1,249	16,754 ± 1,2
SE.3.1	4	10	129,09	1,86	500	6,07 ± 0,0	23,42 ± 0,71	133,1 ± 3,0	2,839	16,263 ± 1,41
SE.4.1	4	12	129,09	1,94	490	5,94 ± 0,0	41,97 ± 6,80	145,9 ± 10,9	4,197	17,162 ± 1,29
SE.5.1	6	6	147,36	2,17	580	6,62 ± 0,0	20,63 ± 1,09	133,2 ± 5,9	s.d.	s.d.
SE.6.1	6	8	147,36	2,30	470	6,19 ± 0,0	22,36 ± 1,35	138,0 ± 2,3	2,665	14,621 ± 1,14
SE.7.1	6	10	147,36	2,39	545	7,27 ± 0,1	26,88 ± 2,18	133,8 ± 2,3	s.d.	s.d.
SE.8.1	6	12	147,36	2,47	300	6,00 ± 0,0	16,24 ± 2,46	128,7 ± 1,0	3,603	14,024 ± 1,46
SE.9.1	8	6	161,87	2,60	592	6,89 ± 0,0	19,94 ± 0,26	122,8 ± 0,0	3,236	14,162 ± 0,91
SE.10.1	8	8	161,87	2,72	670	6,29 ± 0,0	20,56 ± 2,22	130,4 ± 2,8	3,021	13,115 ± 0,62 ^c
SE.11.1	8	10	161,87	2,82	590	4,77 ± 0,0	12,32 ± 1,58	112,6 ± 0,0	4,147	15,471 ± 0,45 ^c
SE.12.1	8	12	161,87	2,90	700	4,78 ± 0,1	19,58 ± 4,46	130,0 ± 2,5	2,821	12,764 ± 0,66
SE.13.1	10	6	174,10	2,96	620	4,70 ± 0,1	25,55 ± 2,13	134,0 ± 3,1	5,896	14,552 ± 0,8 ^c
SE.14.1	10	8	174,10	3,08	370	4,50 ± 0,0	26,79 ± 0,80	141,0 ± 12,7	6,658	13,155 ± 1,45 ^c
SE.15.1	10	10	174,10	3,18	635	4,56 ± 0,0	30,95 ± 1,57	133,2 ± 1,7	s.d.	s.d.
SE.16.1	10	12	174,10	3,26	590	4,20 ± 0,0	31,31 ± 1,47	142,3 ± 0,4	5,570	13,899 ± 0,68
SE.1.2	4	6	129,09	1,63	420	7,54 ± 0,0	22,32 ± 1,39	130,7 ± 2,7	1,349	15,849 ± 1,5
SE.2.2	4	8	129,09	1,76	420	5,97 ± 0,0	26,29 ± 4,95	127,0 ± 0,0	2,683	14,465 ± 0,24

Continuación

Código	Presión (Bar)	Tiempo (min)	Temperatura (°C) T=f(P)	Factor de Severidad (FS)	Volumen lixiviado (mL)	pH lixiviado ^a	Humedad (%) ^a	Densidad aparente (kg/m ³) ^a	Extraíbles (%)	Lignina en cáscara de arroz (%) ^b
SE.3.2	4	10	129,09	1,86	470	7,52 ± 0,5	21,90 ± 0,87	131,6 ± 3,1	2,431	17,615 ± 0,89
SE.4.2	4	12	129,09	1,94	575	6,55 ± 0,0	21,73 ± 2,56	128,3 ± 2,4	2,657	17,545 ± 1,12
SE.5.2	6	6	147,36	2,17	515	7,47 ± 0,4	20,60 ± 1,02	130,1 ± 0,4	2,353	14,914 ± 0
SE.6.2	6	8	147,36	2,30	570	6,15 ± 0,0	22,88 ± 1,06	129,3 ± 3,3	3,108	14,017 ± 0,77
SE.7.2	6	10	147,36	2,39	480	6,12 ± 0,0	20,58 ± 0,08	122,2 ± 3,4	2,181	17,093 ± 0,61
SE.8.2	6	12	147,36	2,47	620	5,77 ± 0,0	27,61 ± 3,71	128,3 ± 2,4	3,630	16,048 ± 0,32
SE.9.2	8	6	161,87	2,60	600	5,98 ± 0,0	28,72 ± 3,37	135,2 ± 4,5	3,737	14,945 ± 1,19
SE.10.2	8	8	161,87	2,72	670	4,53 ± 1,3	28,01 ± 0,97	131,5 ± 2,4	2,974	14,299 ± 0,43
SE.11.2	8	10	161,87	2,82	650	5,26 ± 0,1	23,87 ± 1,97	138,4 ± 4,0	1,890	14,256 ± 0,65
SE.12.2	8	12	161,87	2,90	690	3,83 ± 1,4	16,01 ± 1,08	124,6 ± 6,2	4,140	14,177 ± 0,84
SE.13.2	10	6	174,10	2,96	740	4,71 ± 0,1	13,20 ± 1,26	113,2 ± 0,0	6,459	13,768 ± 2,45
SE.14.2	10	8	174,10	3,08	730	4,32 ± 0,0	11,62 ± 0,72	116,4 ± 2,5	5,724	14,756 ± 1,02
SE.15.2	10	10	174,10	3,18	750	4,22 ± 0,0	20,91 ± 3,39	129,6 ± 7,1	4,479	12,813 ± 0,72
SE.16.2	10	12	174,10	3,26	790	4,23 ± 0,0	17,76 ± 0,91	132,2 ± 0,3	6,583	11,451 ± 1,81
SE.0.0	0	0	T.A.	0	-	-	8,049 ± 0,12	130,3 ± 1,0	1,972	16,042 ± 0,81
SE.0.0	0	0	T.A.	0	-	-	7,554 ± 0,29	126,2 ± 2,8	1,994	16,754 ± 1,2

Nota: s.d.= Sin dato. T.A. = Temperatura ambiente (20°C). ^a: Resultados ± desviación estándar para una muestra por duplicado. ^b: Resultados ± desviación estándar para una muestra por triplicado. ^c: Resultado corregido luego de ser evaluado mediante prueba estadística Q.

Anexo 4: Análisis estadístico

Prueba Q para descartar resultados atípicos de lignina

P (bar)	t (min)	r1	r2	r3	r4	r5	r6	n	x	s	Max	Min	2°max	2°min	Qmax	Qmin	Qtab
0	0	18,688	19,466	18,114	16,929	17,323	17,644	6	16,309	0,934	19,466	16,929	18,688	17,323	0,306	0,156	0,56
4	6	15,144	16,383	16,6	15,284	13,133 ^a	16,414	6	15,493	1,311	16,6	13,133	16,414	15,144	0,054	0,58 ^b	0,56
4	8	15,456	17,763	17,043	14,675	14,213	14,509	6	15,61	1,467	17,763	14,213	17,043	14,509	0,203	0,083	0,56
4	10	16,679	21,636 ^a	15,846	16,674	17,782	18,39	6	17,834	2,069	21,636	15,846	18,39	16,674	0,561 ^b	0,143	0,56
4	12	17,464	21,685 ^a	16,859	16,774	17,069	18,793	6	18,107	1,902	21,685	16,774	18,793	16,859	0,589 ^b	0,017	0,56
6	6	s.d.	s.d.	s.d.	14,519	13,363	16,862	3	14,914	1,783	16,862	13,363	14,519	14,519	0,67	0,33	0,88
6	8	14,042	13,926	15,895	13,29	13,978	14,784	6	14,319	0,906	15,895	13,29	14,784	13,926	0,426	0,244	0,56
6	10	s.d.	s.d.	s.d.	16,417	17,319	17,544	3	17,093	0,596	17,544	16,417	17,319	17,319	0,2	0,8	0,88
6	12	13,962	15,462	12,647	15,781	16,384	15,979	6	15,036	1,436	16,384	12,647	15,979	13,962	0,108	0,352	0,56
8	6	13,925	13,423	15,138	13,719	15,141	15,976	6	14,554	1,008	15,976	13,423	15,141	13,719	0,327	0,116	0,56
8	8	13,439	14,29	11,616 ^a	14,432	14,639	13,827	6	13,707	1,113	14,639	11,616	14,432	13,439	0,068	0,603 ^b	0,56
8	10	15,949	15,348	15,117	14,598	15,503	12,668 ^a	6	14,864	1,164	15,949	12,668	15,503	14,598	0,136	0,588 ^b	0,56
8	12	13,208	13,056	12,026	14,659	14,621	13,251	6	13,47	1,011	14,659	12,026	14,621	13,056	0,014	0,391	0,56
10	6	14,521	15,324	13,81	12,145	6,338 ^a	15,391	6	12,921	3,44	15,391	6,338	15,324	12,145	0,007	0,641 ^b	0,56
10	8	7,729 ^a	14,113	12,197	13,778	15,69	14,801	6	13,051	2,854	15,69	7,729	14,801	12,197	0,112	0,561 ^b	0,56
10	10	s.d.	s.d.	s.d.	12,988	12,05	13,401	3	12,813	0,693	13,401	12,05	12,988	12,988	0,306	0,694	0,88
10	12	14,001	13,215	14,48	12,97	11,747	9,636	6	12,675	1,76	14,48	9,636	14,001	11,747	0,099	0,436	0,56

Nota: s.d. = sin dato. $Q_{max} = \frac{\max - 2^{\circ}\min}{\max - \min}$. $Q_{min} = \frac{2^{\circ}\min - \min}{\max - \min}$. Qt = valor tabular. ^a Valor atípico. ^b $Q > Q_{tab}$ (criterio para identificar valores atípicos según la prueba estadística Q de Dixon).

El estadístico de prueba Q sirve para ayudar al investigador a identificar y descartar datos atípicos (out-layer) (Harris et. Al., 2007) con el fin reducir los errores relativos de una serie de datos que se analizará. El criterio para determinar si existe un dato atípico es si Q calculado es mayor al Q tabular (Qt), donde Q se calcula con las siguientes fórmulas para un Q máximo (Qmax) y un Q mínimo (Qmin):

$$Q_{\max} = \frac{\text{Max valor} - 2^{\circ}\text{max valor}}{\text{Rango de los datos}} \quad ; \quad Q_{\min} = \frac{2^{\circ}\text{min valor} - \text{Min valor}}{\text{Rango de los datos}}$$

La prueba Q se aplicó a todos los tratamientos posibles con un nivel de confianza de 90 por ciento ($\alpha = 0,1$), de modo que para cada uno existieron seis datos ($n=6$), excepto para tres de ellos, ya que los experimentos SE.5.1, SE.7.1 y SE.15.1 no pudieron ser completados, por los que para los tratamientos correspondientes a dichos experimentos solo se contó con tres datos ($n=3$).

Los resultados del análisis permitieron identificar siete valores atípicos correspondientes a los experimentos SE.1.2 (4bar y 6 min), SE.3.1 (4 bar y 10 min), SE.4.1 (4 bar y 12 min), SE.10.1 (8 bar y 8 min), SE.11.2 (8 bar y 10 min), SE.13.2 (10 bar y 6 min) y SE.14.1 (10 bar y 8 min), los cuales fueron descartados para los análisis posteriores.

Análisis por el método componentes principales (ACP):

Para este análisis se consideraron las variables: pH del lixiviado, humedad, densidad aparente, presión, tiempo y FS). El análisis se realizó utilizando el software Minitab 17[®] en su versión en inglés.

Valores propios de los componentes principales:

Componentes principales	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6
Valor propio	2,832	1,810	0,930	0,260	0,165	0,004
Proporción	0,472	0,302	0,155	0,043	0,027	0,001
Acumulativo	0,472	0,774	0,929	0,972	0,999	1,000

Vectores propios de los componentes principales:

Variables	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6
pH lixiviado	- 0,530	- 0,165	0,070	- 0,641	0,525	- 0,040
Humedad	- 0,198	0,640	0,216	0,463	0,538	0,008
Densidad Ap.	- 0,154	0,660	0,214	- 0,457	- 0,535	0,003
Presión	0,558	0,055	0,311	- 0,221	0,216	- 0,702
Tiempo	0,133	0,332	- 0,892	- 0,160	0,151	- 0,167
FS	0,572	0,116	0,101	- 0,303	0,282	0,691

Análisis de varianza para presión, tiempo y lignina

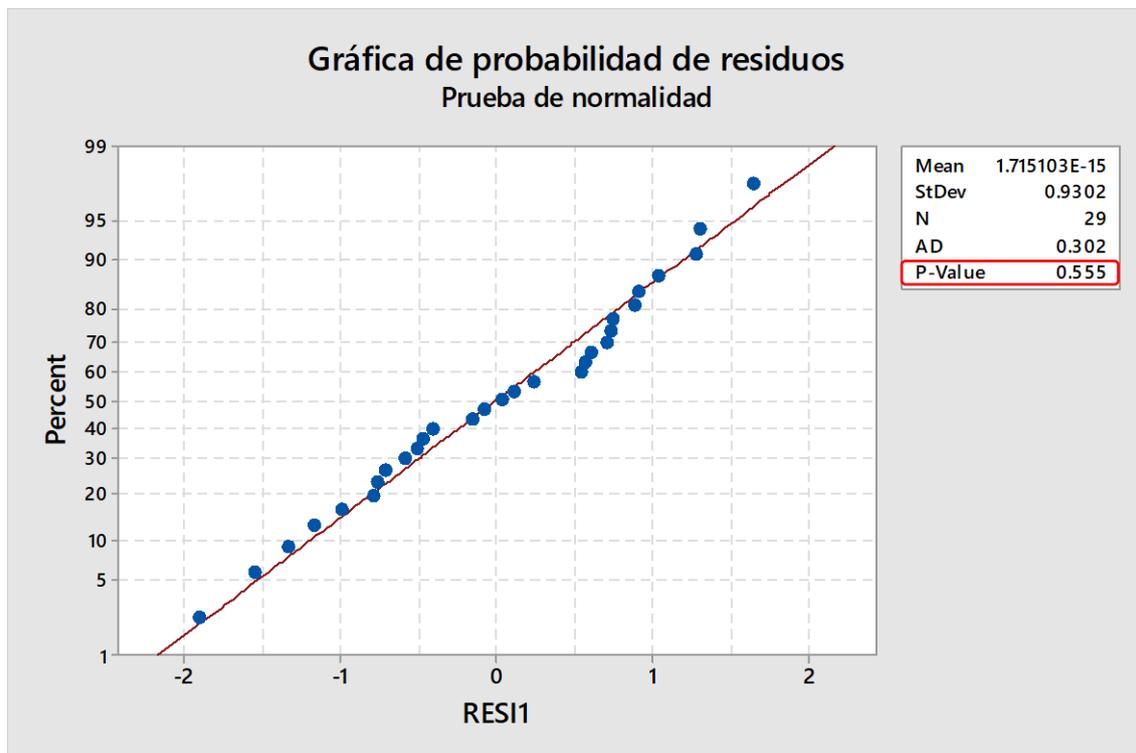
Se realizó el análisis de varianza con el objetivo de identificar si existe diferencia significativas en los tratamientos aplicados, considerando un diseño completamente al azar (DCA) y un arreglo bifactorial de cuatro niveles cada factor y dos repeticiones.

Supuesto de normalidad

Para el supuesto de normalidad se utilizó la prueba de Anderson Darling a partir de los errores residuales del modelo lineal entre los factores (presión y tiempo) y la variable respuesta (lignina). Se consideró un $\alpha = 0,05$

H_0 : Los errores se distribuyen normalmente

H_1 : Los errores no se distribuyen normalmente



p-valor = 0,555 > 0,05 ↔ No se rechaza H_0 :

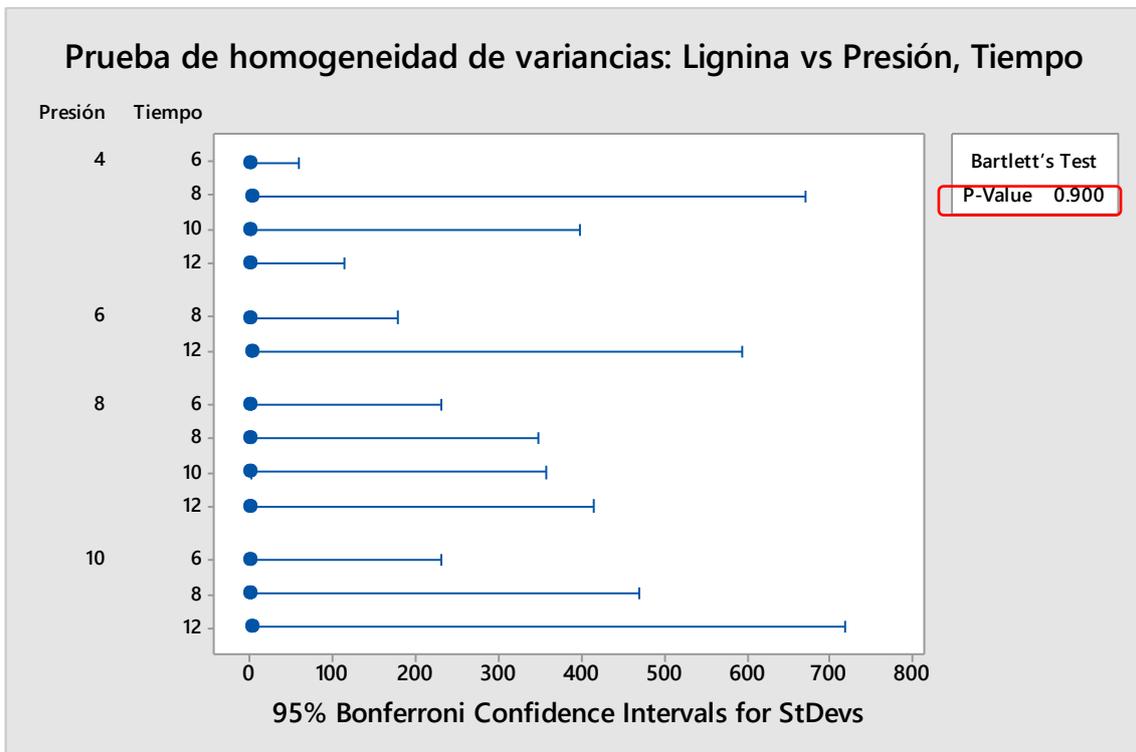
Por lo tanto: Se cumple el supuesto de normalidad.

Supuesto de homogeneidad de varianzas

Para el supuesto de homogeneidad de varianzas se utilizó la prueba de Barlett a partir de los errores residuales del modelo lineal entre los factores (presión y tiempo) y la variable respuesta (lignina). Se consideró un $\alpha = 0,05$.

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2 = \dots = \sigma^2$$

H_1 : Al menos un σ_1^2 es diferente



p-valor = 0,900 > 0,05 ↔ No se rechaza H_0 :

Por lo tanto: Se cumple el supuesto de homogeneidad de varianzas.

Conclusión:

Los resultados cumplen los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas por lo que se puede proceder a aplicar la prueba paramétrica análisis de varianza (ANOVA).

ANOVA (presión, tiempo y lignina)

Datos:

Factor	Niveles	N1	N2	N3	N4
Presión	4	4	6	8	10
Tiempo	4	6	8	10	12

Formulación de hipótesis

Para el efecto principal del factor Presión

- H_0 : Efectos de los tratamientos (α_i) = 0
- H_1 : Efectos de los tratamientos (α_i) $\neq 0$, para al menos un i

Para el efecto principal del factor Tiempo

- H_0 : Efectos de los tratamientos (β_j) = 0
- H_1 : Efectos de los tratamientos (β_j) $\neq 0$, para al menos un j

Para el efecto de la interacción entre los factores Presión y Tiempo

- H_0 : Efectos de los tratamientos ($\alpha\beta$)_{ij} = 0
- H_1 : Efectos de los tratamientos ($\alpha\beta$)_{ij} $\neq 0$, para al menos un i, j

Cuadro de análisis de varianza (ANOVA)

Fuente de variabilidad	G.L.	SC ajustada	CM ajustado	Fc	p-valor
Presión	3	39,433	13,144	12,96	0,000
Tiempo	3	3,656	1,219	1,20	0,348
Presión*tiempo	9	11,040	1,227	1,21	0,366
Error	13	13,187	1,014		
Total	28	66,420			

Resultados del análisis

Efectos	Resultado	
Para el efecto principal: presión	$p < 0,05$	Se rechaza H_0
Para el efecto principal: tiempo	$p < 0,05$	Se rechaza H_0
Para el efecto de la interacción entre la presión y tiempo	$p < 0,05$	Se rechaza H_0

Conclusión:

A un nivel de significancia del 5 %, se puede afirmar que hay evidencia estadística suficiente para aceptar que existe efecto de algún nivel de presión sobre el contenido de lignina en la cáscara de arroz.

A un nivel de significancia del 5 %, se puede afirmar que hay evidencia estadística suficiente para aceptar que existe efecto de algún nivel de tiempo sobre el contenido de lignina en la cáscara de arroz.

A un nivel de significancia del 5 %, se puede afirmar que hay evidencia estadística suficiente para aceptar que existe efecto de alguna interacción entre los niveles de presión y tiempo sobre el contenido de lignina en la cáscara de arroz.

Análisis de varianza para FS y lignina

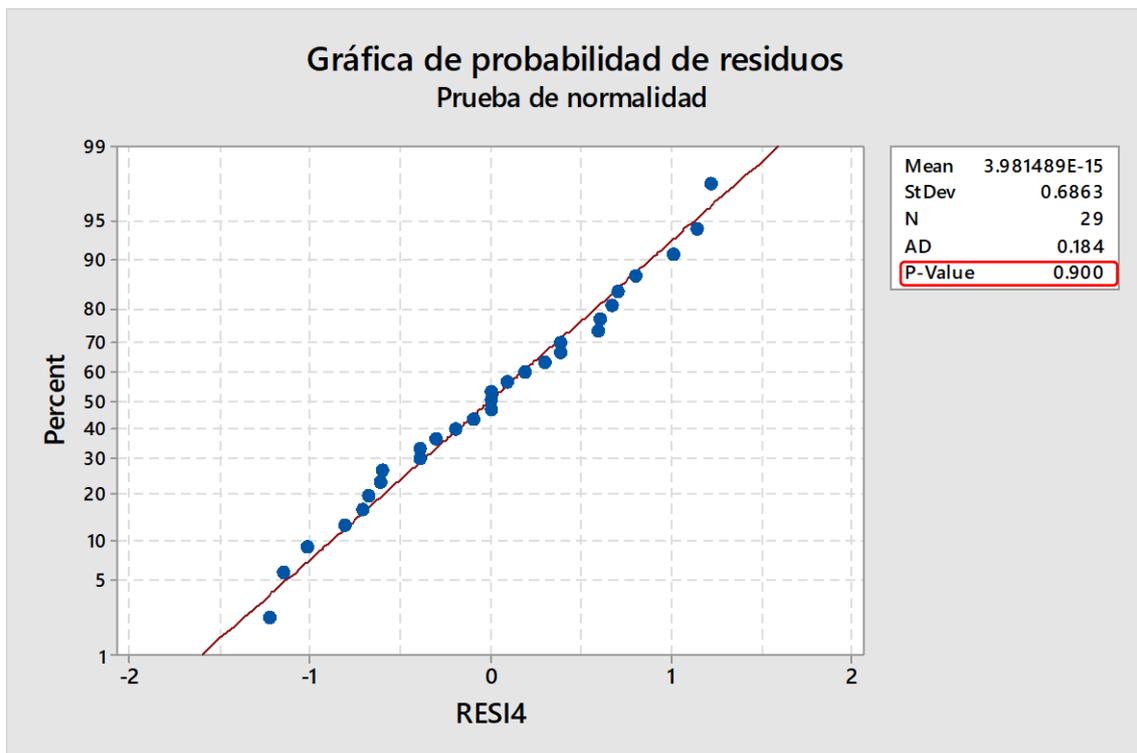
Se analizó también la relación entre el FS y la lignina con el fin de conocer si existen diferencias significativas a diferentes valores de FS (16 valores).

Supuesto de normalidad

Para el supuesto de normalidad se utilizó la prueba de Anderson Darling a partir de los errores residuales del modelo lineal entre el factor FS y la variable respuesta (lignina). Se consideró un $\alpha = 0,05$.

H₀: Los errores se distribuyen normalmente

H₁: Los errores no se distribuyen normalmente



p-valor = 0,900 > 0,05 ↔ No se rechaza H₀:

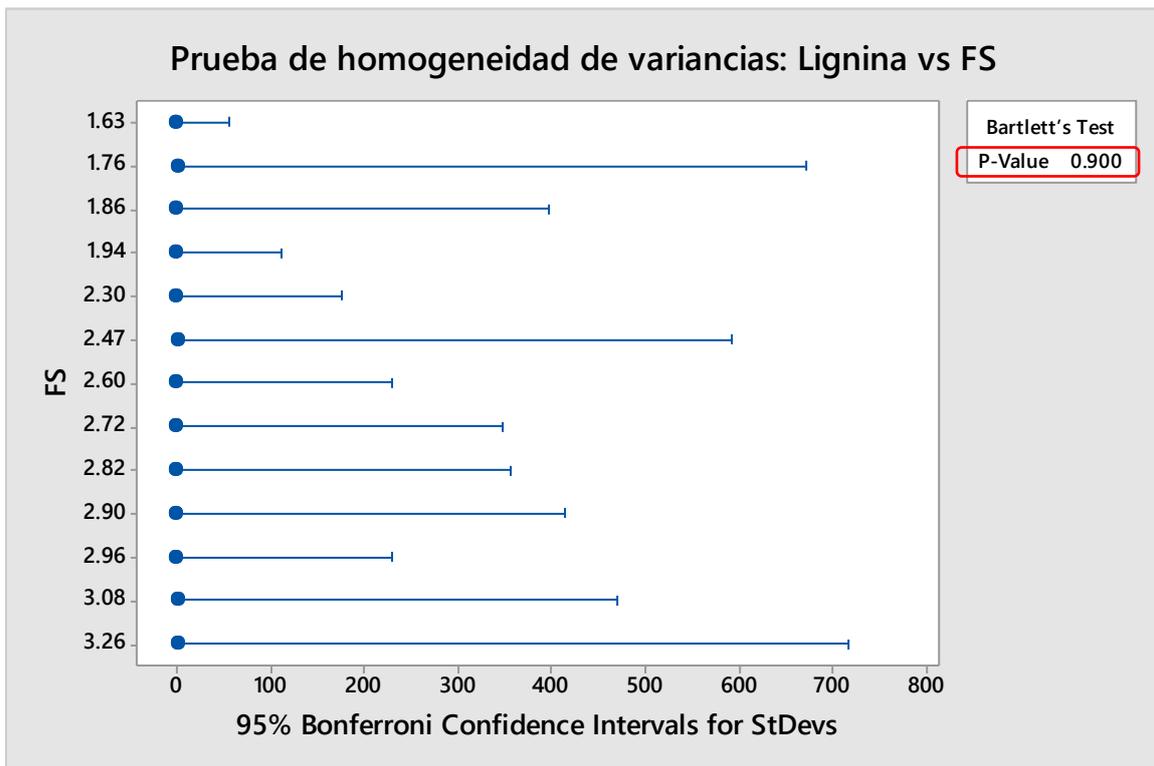
Por lo tanto: Se cumple el supuesto de normalidad.

Supuesto de homogeneidad de varianzas

Para el supuesto de homogeneidad de varianzas se utilizó la prueba de Barlett. Se consideró un $\alpha = 0,05$

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2 = \dots = \sigma^2$$

H_1 : Al menos un σ_1^2 es diferente



p-valor = 0,900 > 0,05 ↔ No se rechaza H_0 :

Por lo tanto: Se cumple el supuesto de homogeneidad de varianzas.

Conclusión:

Los resultados cumplen los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas por lo que se puede proceder a aplicar la prueba paramétrica análisis de varianza (ANOVA).

ANOVA (FS y lignina)

Datos:

Factor	Niveles	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8
FS	16	1,63	1,76	1,86	1,94	2,17	2,30	2,39	2,47
		N9	N10	N11	N12	N13	N14	N15	N16
		2,60	2,72	2,82	2,90	2,96	3,08	3,18	3,26

Nota: El análisis de varianza consideró un $\alpha = 0,05$

Formulación de hipótesis

H_0 : Efectos de los tratamientos (τ_i) = 0

H_1 : Efectos de los tratamientos (τ_i) \neq 0, para al menos un i

Cuadro de análisis de varianza (ANOVA)

Fuente de variabilidad	G.L.	SC ajustada	CM ajustado	Fc	p-valor
FS	15	53,23	3,549	3,50	0,014
Error experimental	13	13,19	1,014		
Total	28	66,42			

Resultados del análisis:

Efectos	Resultado
Para el efecto principal: FS	$p < 0,05$ Se rechaza H_0

Conclusión:

A un nivel de significancia del 5 %, se puede afirmar que hay evidencia estadística suficiente para aceptar que existe efecto de algún nivel de FS sobre el contenido de lignina en la cáscara de arroz.