

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS  
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



***Trabajo Fin de Grado***

**SIMULACIÓN DE UN PROCESO DE  
FABRICACIÓN DE BIOETANOL A PARTIR  
DE UN RESIDUO DEL ALGA *ULVA RIGIDA***

**(Simulation of a bioetanol manufacturing  
process using a residue of *Ulva rigida* as  
feedstock)**

Para acceder al Título de

Graduado/a en Ingeniería Química

Autor: Lien Ester Gallart Tauler

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>1.1. Producción de macroalgas en el mundo</b> .....	1
<b>1.2. Polisacáridos: Estructura y composición</b> .....	2
<b>1.2.1. Algas verdes</b> .....	3
<b>1.2.2. Polisacáridos presentes en otras macroalgas</b> .....	5
<b>1.3. Polisacáridos como precursores en la obtención de bio productos</b> .....	8
<b>1.4. Modelos de biorrefinería a partir de algas verdes</b> .....	10
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	17
<b>3. METODOLOGÍA</b> .....	18
<b>3.1. Caracterización de la pulpa</b> .....	18
<b>3.1.1. Acondicionamiento de la pulpa</b> .....	19
<b>3.1.2. Análisis de humedad, cenizas y extractivos</b> .....	19
<b>3.1.3. Análisis de holocelulosa, <math>\alpha</math>-celulosa y celulosa</b> .....	21
<b>3.1.4. Determinación de azúcares mediante HPLC.</b> .....	23
<b>3.1.5. Determinación de xiloglucano en la pulpa</b> .....	24
<b>3.3. Modelado en Aspen Plus</b> .....	25
<b>3.3.1. Hidrólisis</b> .....	28
<b>3.3.2. Fermentación</b> .....	29
<b>3.3.3. Purificación</b> .....	30
<b>4. RESULTADOS</b> .....	31
<b>4.1. Caracterización de la pulpa</b> .....	31
<b>4.2. Modelado en Aspen Plus</b> .....	34
<b>4.3. Análisis económico</b> .....	36
<b>4.4. Validación</b> .....	38
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	41
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	43

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Prominentes regiones costeras del mundo ricas en recursos de algas, materia prima potencial para la producción de bioetanol (Ramachandra and Hebbale, 2020).....	2
<b>Figura 2.</b> Estructura esquemática de la familia de polisacáridos presentes en <i>Ulva sp.</i> (Llano et al., 2020). .....	3
<b>Figura 3.</b> Nomenclatura y estructura de las principales unidades de disacárido repetitivo que comprenden ulvano. (Kidgell et al., 2019).....	4
<b>Figura 4.</b> Estructuras de carragenano (Cunha and Grenha, 2016). a) Estructura de las moléculas de agar b) Estructura idealizada de las unidades de agarosa (Cardoso et al., 2014; Lima et al., 2018). .....	6
<b>Figura 5.</b> Estructuras de las cadenas G y M de las laminarinas, de fucoidano y de alginato. ....	7
<b>Figura 6.</b> Modelos de biorrefinería a partir de algas verdes. (Elaboración propia) .....	12
<b>Figura 7.</b> Una representación esquemática del proceso que integra la producción de bioetanol con la extracción secuencial de productos de materia prima fresca de <i>U. fasciata.</i> (Trivedi et al., 2016). .....	13
<b>Figura 8.</b> Diagrama de una unidad de pirólisis (Dalmas et al., 2019).....	14
<b>Figura 9.</b> Etapas involucradas en el proceso general de Síntesis Fischer-Tropsch (FTS) desde la materia prima hasta los productos (Milledge et al., 2014).....	15
<b>Figura 10.</b> Diagrama de bloques para la conversión de algas marinas a gasolina a través de la digestión y MTG (Roesijadi, Jones and Zhu, 2010). .....	16
<b>Figura 11.</b> Caracterización de la pulpa de la <i>U. rigida.</i> .....	18
<b>Figura 12.</b> Triturado y tamizado de la pulpa.....	19
<b>Figura 13.</b> Cenizas. ....	20
<b>Figura 14.</b> Análisis de extractivos. ....	21
<b>Figura 15.</b> Análisis de holocelulosa. ....	21
<b>Figura 16.</b> Análisis de celulosa.....	22
<b>Figura 17.</b> Procedimiento de hidrólisis en dos pasos. ....	23
<b>Figura 18.</b> Diagrama del proceso de producción de bioetanol.....	26

## LISTA DE TABLAS

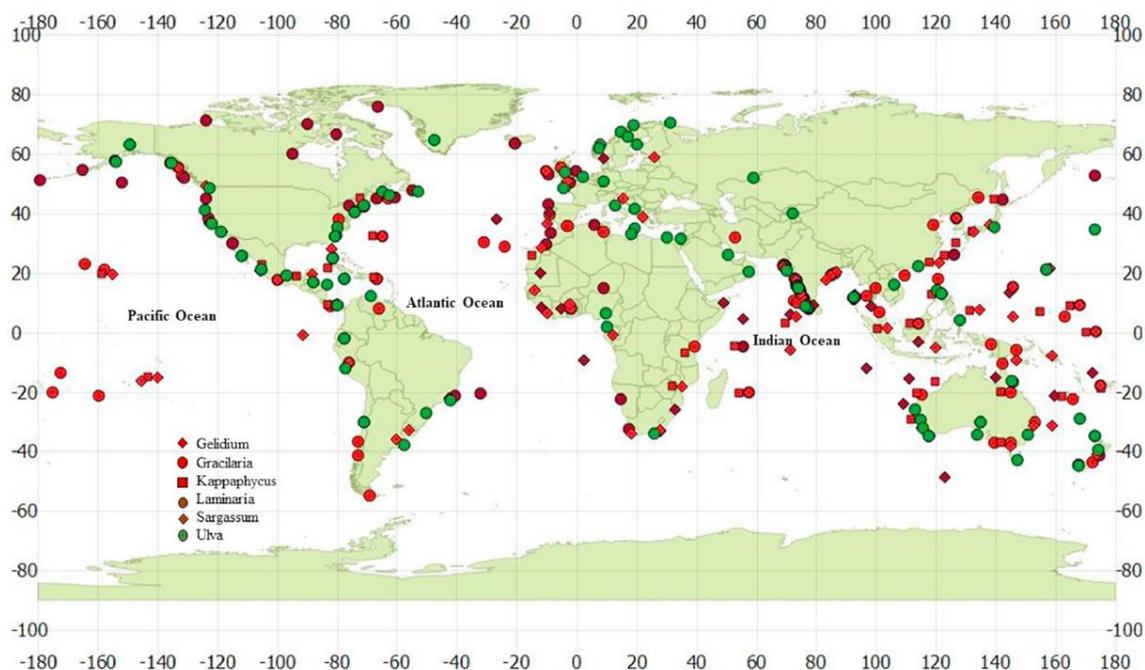
<b>Tabla 1.</b> Polisacáridos y sus aplicaciones en la obtención de bioproductos. ....	9
<b>Tabla 2.</b> Condiciones de los dos métodos de análisis por HPLC. ....	24
<b>Tabla 3.</b> Reacciones de hidrólisis en el primer reactor. ....	28
<b>Tabla 4.</b> Reacciones de hidrólisis en el segundo reactor. ....	29
<b>Tabla 5.</b> Reacciones en el fermentador. ....	29
<b>Tabla 6.</b> Caracterización de la pulpa <i>Ulva rigida</i> . ....	31
<b>Tabla 7.</b> Resultados hidrólisis en dos pasos. ....	33
<b>Tabla 8.</b> Corriente de entrada. ....	34
<b>Tabla 9.</b> Flujo y composición de las corrientes principales. ....	35
<b>Tabla 10.</b> Costes generales. ....	36
<b>Tabla 11.</b> Influencia del precio de la pulpa en los costes. ....	37
<b>Tabla 12.</b> Costes utilities. ....	37
<b>Tabla 13.</b> Comparación de inversión con plantas en funcionamiento. ....	38
<b>Tabla 14.</b> Validación hidrólisis simulada. ....	39
<b>Tabla 15.</b> Validación hasta la fermentación. ....	39

# 1. INTRODUCCIÓN

Las macroalgas constituyen un grupo diverso de organismos marinos eucariotas fotosintéticos. A diferencia de las microalgas que son unicelulares, estas son pluricelulares y poseen características similares a la de las plantas. (Roesijadi, Jones and Zhu, 2010). Las macroalgas marinas según su pigmentación se clasifican en tres grupos: verdes (Chlorophyceae), rojas (Rhodophyceae) y pardas (Phaeophyceae) (Harchi, Kachkach and Mtili, 2018). Las algas rojas capturan la luz con los pigmentos proteicos ficoeritrinas y como resultado tienen el característico color rojizo; las verdes lo hacen mediante la clorofila; y las pardas contienen el carotenoide fucoxantina como el pigmento dominante de captura de luz (Pulidindi et al., 2017). Las algas pardas generalmente son grandes, presentan una longitud desde 20 m, hasta especies más pequeñas de 30-60 cm. Las rojas son generalmente más pequeñas, van desde unos pocos centímetros hasta aproximadamente un metro de longitud. Las verdes presentan un rango de tamaño similar al de las rojas (Cunha and Grenha, 2016).

## 1.1. Producción de macroalgas en el mundo

La mayoría de las algas crecen ligadas a un sustrato duro (rocas cerca de la costa o superficies artificiales) a lo largo de las zonas costeras ricas en nutrientes (Figura 1), excepto el *Sargassum* que flota libremente en la superficie del agua. La producción mundial de macroalgas es de más de un millón de toneladas (materia de peso seco) en comparación con no más de 20.000 toneladas de producción de microalgas (Pulidindi et al., 2017). El cultivo de algas es una opción prometedora ya que el 70 % de la superficie de la Tierra está cubierta por agua. Principalmente se cultivan del género *Laminaria*, *Undaria*, *Poryphyra*, *Eucheuma*, *Enteromorpha* y *Gracilaria*, representando el 76 % de la producción total de la acuicultura de macroalgas. En los últimos años, los géneros de alga *Kappaphycus*, *Gelidium*, *Sargassum*, *Laminaria* y *Ulva* se han convertido en un recurso prometedor para la producción de biocombustibles, además para la fabricación de productos de valor añadido a partir de la extracción de ficocoloides y su aplicación en alimentos, cosméticos, fertilizantes y otros productos químicos (Ramachandra and Hebbale, 2020).



**Figura 1.** Prominentes regiones costeras del mundo ricas en recursos de algas, materia prima potencial para la producción de bioetanol (Ramachandra and Hebbale, 2020).

En el año 2016 las algas más cultivadas fueron las algas rojas *Eucheuma spp.* con un total de  $10,52 \cdot 10^6$  toneladas. Después de esta especie, las más producidas fueron: *Laminaria japonica* (alga parda)  $8,22 \cdot 10^6$  toneladas, la *Gracilaria spp.* (alga roja)  $4,15 \cdot 10^6$  toneladas y la *Undaria pinnatifida* (verde)  $2,07 \cdot 10^6$  toneladas.

Los principales países productores de algas a nivel mundial son China (47,88 %) e Indonesia (38,70 %), los cuales representan el 87 % del total de algas producidas. Les siguen Filipinas (4,68 %), R. de Corea (4,50 %), R.P.D de Corea (1,63 %), Japón (1,30 %) y Malasia (0,69 %). Esto evidencia que prácticamente toda la producción de algas se encuentra en Asia. Con apreciablemente menor contribución se encuentran países de África Oriental como Tanzania (0,40 %) y Madagascar (0,06 %). Por lo que el resto de países productores de algas equivalen solo al 0,18% (FAO, 2018).

## 1.2. Polisacáridos: Estructura y composición

Existe una gran variedad de polisacáridos de matriz compleja con importantes propiedades biomédicas, farmacéuticas o alimentarias en las diferentes especies de macroalgas marinas. Debido a esto, y por ser los precursores del modelo de biorrefinería

planteado en este TFG, se dedica un apartado específico a este tipo de compuestos orgánicos.

Se sabe que las macroalgas son ricas en polisacáridos, con concentraciones que pueden variar en el rango de 4 a 76 % del peso seco (Cardoso *et al.*, 2014). La estructura y composición de estos polisacáridos es heterogénea y compleja. Varían según la especie del alga, la estación del año, las condiciones bajo las que han sido cultivadas, de su recolección y crecimiento, entre otros muchos factores. Los polisacáridos generalmente encontrados en algas rojas son celulosa, agar y carragenano; en las algas pardas, celulosa, alginato, fucoidano y laminarina; los de algas verdes se exponen en el apartado siguiente especificados para el género *Ulva* (Ramachandra and Hebbale, 2020).

### 1.2.1. Algas verdes

En primer lugar, se expondrá la estructura y composición en concreto de los polisacáridos de un género de las algas verdes (*Ulva*), debido a que la especie de alga utilizada en este proyecto (*Ulva rigida*), pertenece a dicho género. Las especies de *Ulva* están constituidas por cuatro polisacáridos en la pared celular: ulvano, celulosa, xiloglucano y glucuronano (Figura 2). Además, presentan otro polisacárido, el almidón, el cual no se encuentra en la pared celular, sino que se encuentra rodeado por esta.

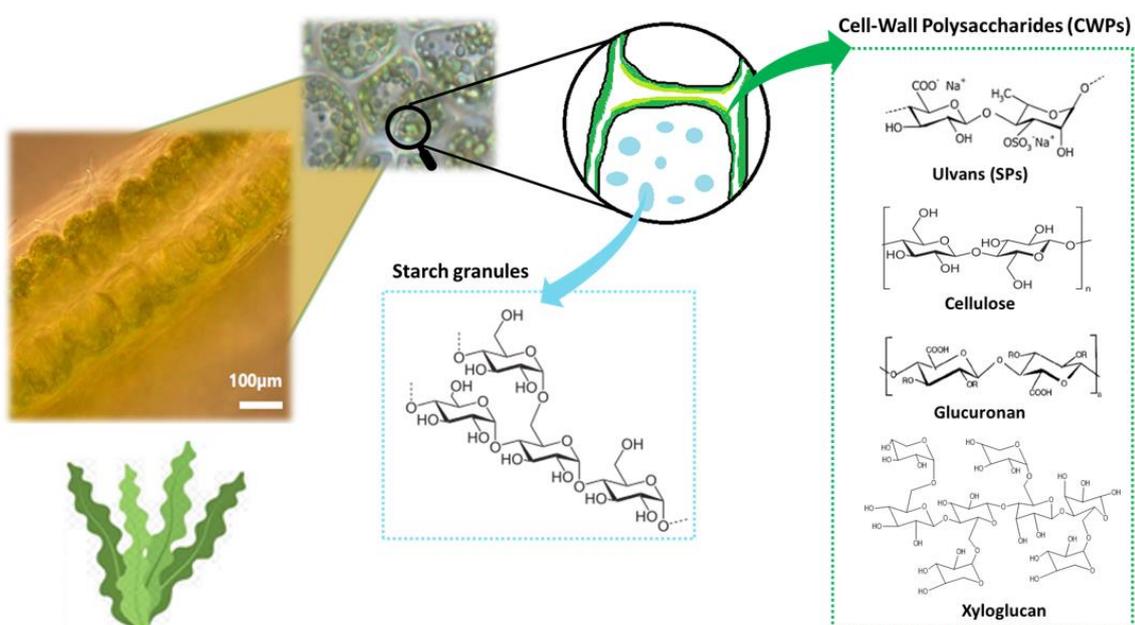
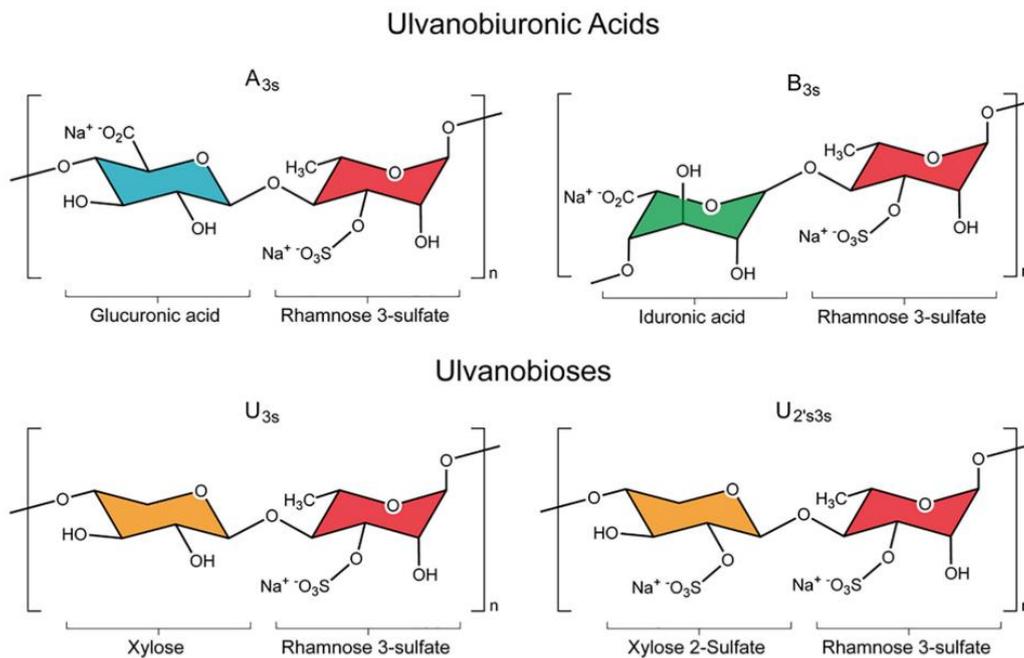


Figura 2. Estructura esquemática de la familia de polisacáridos presentes en *Ulva* sp. (Llano *et al.*, 2020).

### 1.2.1.1 Ulvano

Ulvano es un polisacárido de la pared celular que aporta del 9 al 36 % del peso seco de la biomasa de *Ulva* (Kidgell *et al.*, 2019) y está compuesto principalmente por ramnosa (16,8-45 %), ácido glucurónico (6,5-19 %), ácido idurónico (1,1-9,1 %) y xilosa (2,1-12 %) (Figura 3). Además, también han sido encontrados en el ulvano de algunas especies *Ulva* otros monosacáridos como glucosa (0,5-6,4 %), manosa, galactosa y arabinosa (Cunha and Grenha, 2016).



**Figura 3.** Nomenclatura y estructura de las principales unidades de disacárido repetitivo que comprenden ulvano. (Kidgell *et al.*, 2019)

### 1.2.1.2. Almidón, celulosa, xiloglucano y glucuronano

Tanto el almidón como la celulosa están compuestos por unidades de glucosa, pero con diferentes configuraciones espaciales y relaciones estequiométricas. La **celulosa** tiene una cadena lineal regular con enlaces 1,4-β-glucosídicos en paralelo, desarrollando una estructura cristalina estable, también apoyada por enlaces de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals, lo que los hace muy poco afectados por la descomposición enzimática y física. Por otro lado, el **almidón** tiene una configuración helicoidal abierta y débilmente ligada, lo que facilita la descomposición con enzimas, a través de una acción química o física (Offei, Mensah and Thygesen, 2018), este está constituido por amilosa y

amilopectina de manera similar a las plantas superiores (Guedes *et al.*, 2019). El porcentaje de celulosa en el alga *U. prolifera* es 19,4 % (Li *et al.*, 2016) y en la *U. pertusa* 6,7 % (Choi, Kang and Lee, 2013). El porcentaje de almidón puede ser 4,5 % como es en la *Ulva ohnoi* (Prabhu *et al.*, 2019) o mucho mayor 20,1 % como es en la *U. pertusa* (Choi, Kang and Lee, 2013).

El **xiloglucano** consiste en unidades repetidas de cuatro unidades  $\beta$ -D-glucosa enlazadas en (1 $\rightarrow$ 4), con tres residuos consecutivos sustituidos con  $\alpha$ -D-xilosa enlazadas (1 $\rightarrow$ 6) al esqueleto de glucano (Pérez-Almeida and Carpita, 2006). El xiloglucano analizado en algodón se compone de cuatro tipos de subunidades: decaacárido (glucosa / xilosa / galactosa / fucosa, 4: 3: 2: 1), nonaacárido (glucosa / xilosa / galactosa / fucosa, 4: 3: 1: 1), octaacárido (glucosa / xilosa / galactosa, 4: 3: 1) y heptaacárido (glucosa / xilosa, 4: 3) en una proporción de 2: 7: 1: 3. Al parecer todos los xiloglucanos están compuestos de unidades repetidas de heptaacáridos a las que probablemente se agregan cantidades variables de galactosa y fucosa durante la síntesis (Hayashi, 1989). En un análisis realizado al alga *Enteromorpha compressa* encontrado en bibliografía se obtuvieron dos fracciones constituidas mayoritariamente por glucosa y xilosa lo que evidenció la presencia de xiloglucano. El rendimiento de estas dos fracciones juntas a partir del alga despigmentada fue del 7 % en (Chattopadhyay *et al.*, 2007) y del 17 % en (Ray, 2006).

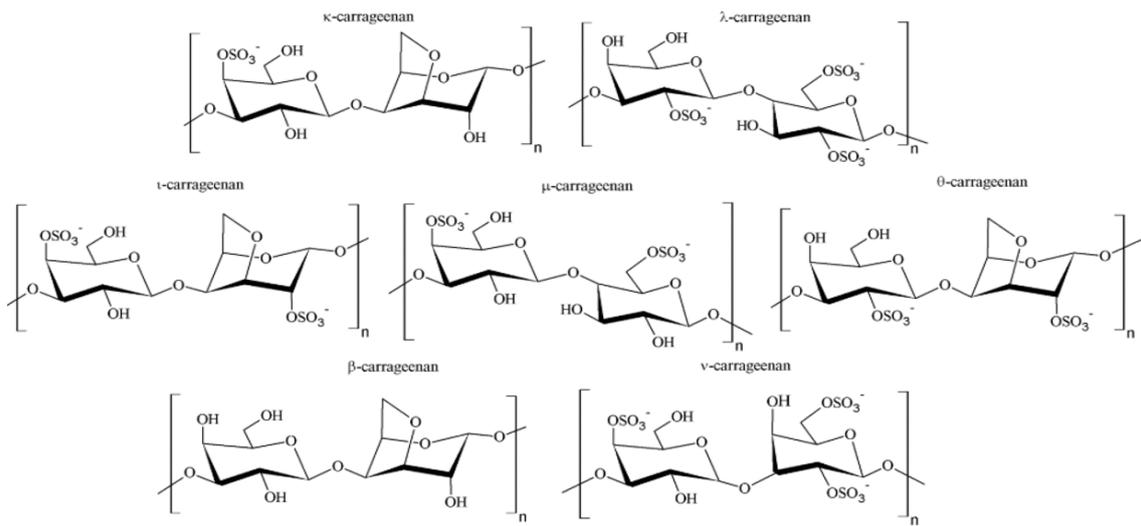
El **glucuronano** es un homopolisacárido que consiste en la repetición de ácidos glucurónicos unidos mediante enlaces 1,4 ( $\beta$ -(1,4)-D-poliácido glucurónico) (Kidgell *et al.*, 2019). En un estudio se obtuvo glucuronano a partir de *Ulva lactuca* con un rendimiento del 2,5 % (Redouan *et al.*, 2009).

### 1.2.2. Polisacáridos presentes en otras macroalgas

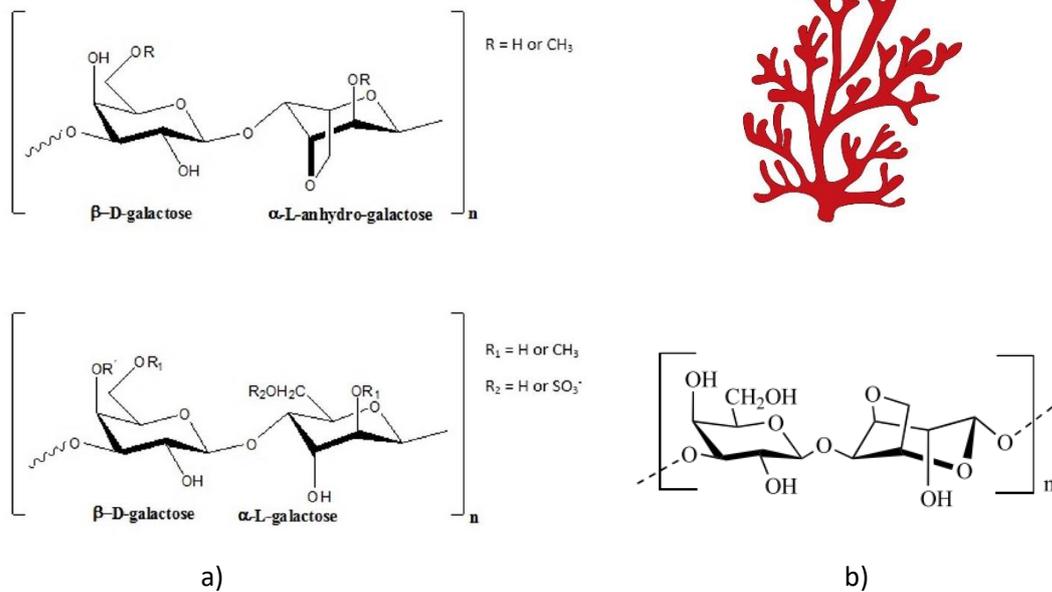
En términos de estructura química, el polisacárido **carragenano** se clasifica en varios tipos, que incluyen, entre otros,  $\kappa$ -,  $\lambda$ -,  $\iota$ -,  $\mu$ -,  $\theta$ -,  $\beta$ - y  $\nu$ -carragenanos (Figura 4), todos con 15-40 % de sulfato de éster con la excepción del  $\beta$ -carragenano, el cual carece de contenido de sulfato. Los carragenanos está formado por cadenas lineales de unidades repetidas de galactosa en configuración D y el copolímero anhidrogalactosa, unidas por alternados enlaces glicosídicos  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3) y  $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4) (Cunha and Grenha, 2016). El carragenano se puede extraer de varios tipos de algas rojas, como *Kappaphycus*,

*Gigartina*, *Eucheuma*, *Chondrus* e *Hypnea*, en las cuales representa hasta el 50 % del peso seco (Abdul Khalil *et al.*, 2018). El **agar** (Figura 4) consiste en una mezcla de al menos dos polisacáridos, agarosa y agaropectina. Típicamente, la agarosa es la fracción predominante de agar (50-90 %) y también la responsable de sus propiedades gelificantes. La agaropectina es un polisacárido de menor peso molecular que la agarosa y presenta propiedades espesantes. (Cardoso *et al.*, 2014). En el alga *Gracilaria verrucosa* el porcentaje de agar es aproximadamente un 30 % (Kumar *et al.*, 2013).

### Carragenano

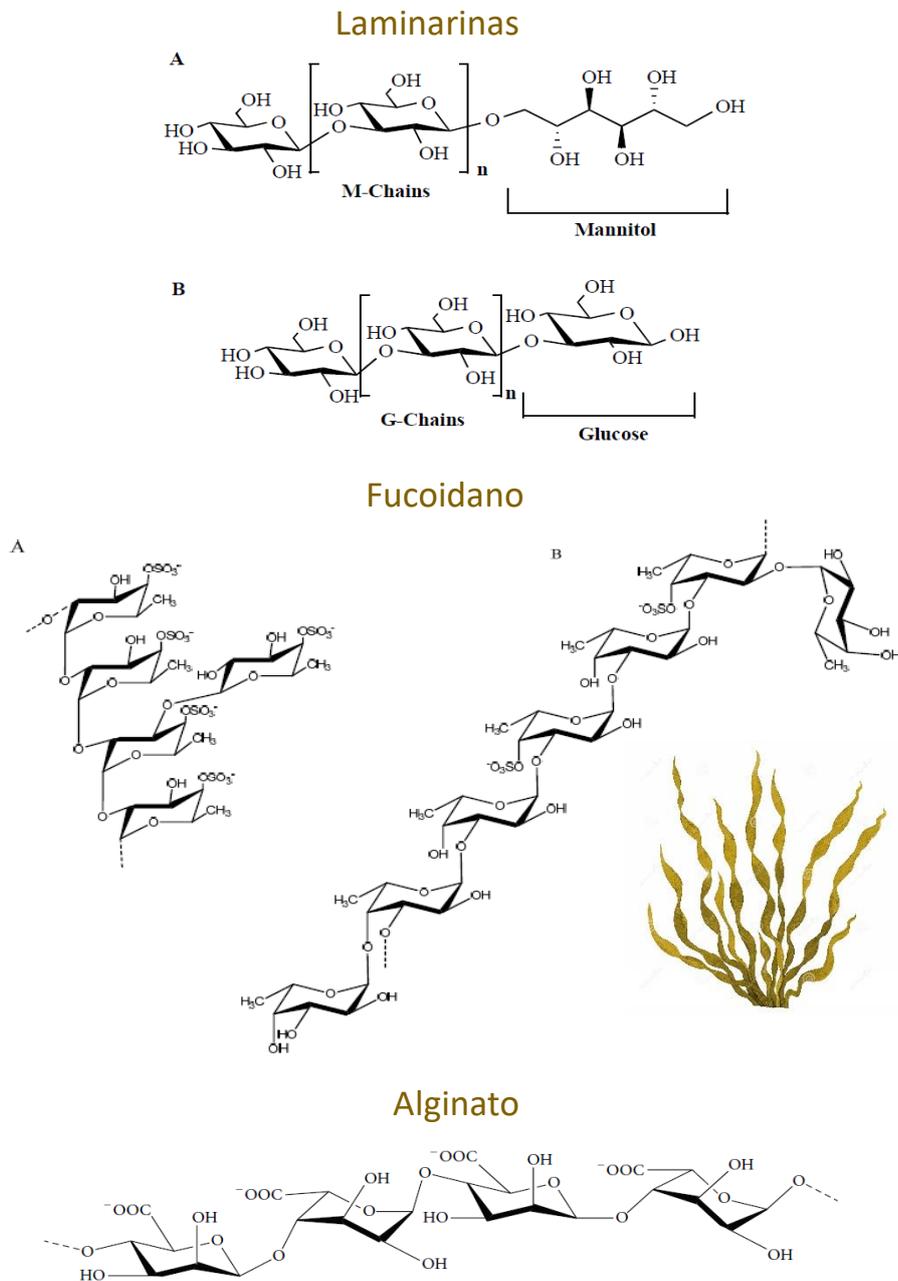


### Agar



**Figura 4.** Estructuras de carragenano (Cunha and Grenha, 2016). a) Estructura de las moléculas de agar  
b) Estructura idealizada de las unidades de agarosa (Cardoso *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2018).

Las **laminarinas** (Figura 5) son el principal polisacárido de almacenamiento de algas pardas (por ejemplo, *Laminaria spp.*, *Saccharina spp.*), su contenido puede representar hasta 32-35 % de peso seco. Son glucanos pequeños, con un grado de polimerización que varía entre 20 y 50 unidades (Cardoso *et al.*, 2014). Sus cadenas de carbohidratos están terminadas con D-manitol (las llamadas cadenas M) o contienen solo glucopiranososa (las llamadas cadenas G) (Fedorov *et al.*, 2013).



**Figura 5.** Estructuras de las cadenas G y M de las laminarinas, de fucoidano y de alginato. (Cardoso *et al.*, 2014; Jiao *et al.*, 2011; Ahmadi *et al.*, 2015)

La estructura de las paredes celulares de las algas pardas consiste en una matriz amorfa de polisacáridos ácidos, compuestos principalmente de **fucoidano** y ácido algínico (unidos entre sí por proteínas), que confieren dureza estructural y flexibilidad a las algas. El fucoidano es un polisacárido sulfatado que se compone de un esqueleto de fucosa (Figura 5). Puede diferir en estructura entre las especies de algas e incluso puede variar dentro de la misma especie. Generalmente constituye alrededor del 5 % al 10 % de la biomasa de algas secas (Cunha and Grenha, 2016). *Fucus vesiculosus* es la alga marina más rica en fucoidano, llegando a alcanzar hasta el 20 % en peso seco (Cardoso et al., 2014).

Los **alginatos** son los principales polisacáridos ácidos de la pared celular ampliamente distribuidos en las algas pardas. Son polisacáridos aniónicos lineales, compuestos de una estructura principal de ácido poli-D-glucurónico (bloques G) y ácido poli-D-manurónico (bloques M), tal y como se muestra en la Figura 5 (Ahmadi et al., 2015). En el alga *Nizimuddiniana zanardini*, el alginato representa un 24 % de su composición (Khajouei et al., 2018).

### 1.3. Polisacáridos como precursores en la obtención de bio productos

Las macroalgas han sido una parte importante de la dieta humana en muchos países asiáticos, y también se han utilizado tradicionalmente como medicamentos, esto se debe en gran parte a las propiedades de sus polisacáridos. Los polisacáridos que forman parte de las macroalgas marinas presentan múltiples y diversas aplicaciones, algunas de las cuales se resumen en la Tabla 1.

Debido a las propiedades antioxidantes y alta capacidad de hidratación del **ulvano**, se usa en productos de cuidado personal, y en el sector farmacéutico por ser un agente terapéutico activo. El **almidón** es un alimento básico para los humanos, para la mayoría representan >50% de la ingesta diaria de calorías. Por otro lado, los almidones modificados y las diferentes mezclas nativas a base de almidón son una alternativa de base biológica a los polímeros sintéticos biodegradables. Los **xiloglucanos** presentan una alta capacidad de retención de agua con una buena estabilidad al calor, a los ácidos y a los efectos de cizalla, por lo que son útiles en la industria alimentaria y química. El **carragenano** se usa a menudo en alimentos, ya que puede retener el agua de manera

eficiente mientras se espesa, estabiliza y mejora la apariencia y la aceptación de los alimentos. Alrededor del 80 % del **agar** producido a nivel mundial se usa para aplicaciones alimentarias, mientras que el 10-20 % restante se usa en las industrias farmacéutica y biotecnológica. Los **alginatos** han encontrado numerosas aplicaciones en la ciencia e ingeniería biomédica; es un sustrato adecuado para la absorción de metales pesados, ayuda a mejorar las vías naturales de desintoxicación en el cuerpo al tiempo que ayuda contra enfermedades crónicas. Las **laminarinas** presentes en las algas pardas son materias primas candidatas para la conversión en combustibles líquidos.

**Tabla 1.** Polisacáridos y sus aplicaciones en la obtención de bioproductos.

<b>Polisacáridos</b>	<b>Aplicaciones</b>
<p><b>Ulvano</b> (Cunha and Grenha, 2016) (Macías, 2019)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-actividad antioxidante→ conservante natural en el sector alimentario</li> <li>-efecto antilipidémico→ reduce el colesterol (LDL) y eleva los niveles del (HDL).</li> <li>-efecto inhibidor sobre el virus de la influenza A y actividad alta y específica contra el virus del herpes simple</li> <li>-alta capacidad de hidratación debido a la presencia del ácido glucurónico→ uso en productos para el cuidado personal</li> </ul>
<p><b>Almidón</b> (Prabhu et al., 2019)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-alimento básico→ principal fuente de energía</li> <li>-se utiliza en múltiples aplicaciones: fermentación, textiles, cosméticos, farmacéutica, envasado, polímeros sintéticos y en otros desarrollos tecnológicos</li> <li>- bioplásticos a base de almidón→80-85 % de los bioplásticos comercializados</li> </ul>
<p><b>Glucuronano</b> (Redouan et al., 2009)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- propiedades reológicas y biológicas</li> <li>- gelificante, espesante, hidratante, estabilizante, quelante o floculante</li> <li>- biológicamente activo en terapia y agronomía</li> </ul>
<p><b>Celulosa</b> (Freile-Pelegrín et al., 2020) (He et al., 2020)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- industria del papel</li> <li>- síntesis de carboximetilcelulosa, nanocompuestos, etc.</li> <li>- producción de biocombustibles, ej. bioetanol.</li> <li>- celulosa microcristalina (MCC), valioso aditivo en las industrias farmacéutica, alimentaria, cosmética y otras</li> </ul>
<p><b>Xiloglucano</b> (Llano, 2016) (Rivas Siota, 2014)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Se puede obtener: xilitol, etanol, furfural, butanol, polihidroxialcanoatos, polilactatos, 5-hidroximetilfurfural, ácido fórmico, ácido levulínico, y ácido acético</li> <li>- alimentos → espesantes, estabilizantes y sustituyentes de grasas o de almidón</li> <li>- mejora las propiedades térmicas y reológicas de algunos productos como helados, mayonesa y fideos</li> </ul>

**Tabla 1. (Cont.)**

<p><b>Carragenano</b></p> <p>(Abdul Khalil <i>et al.</i>, 2018)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- espesante, estabilizante → productos lácteos y en la industria de la panificación</li> <li>- propiedades farmacéuticas: anticoagulante, antitrombótico, antiviral, antitumoral, reductor del colesterol, actividad inmunomoduladora y antioxidante</li> <li>- producción de tetraciclina y clorotetraciclina, antibióticos semisintéticos, ácido D-aspartico y limpieza de efluentes industriales</li> <li>- espesante para pasta de dientes, como inhibidor de papiloma y en cosméticos, lociones, cremas, gotas para los ojos y supositorios</li> </ul>
<p><b>Agar</b></p> <p>(Abdul Khalil <i>et al.</i>, 2018)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- propiedades termo reversibles → material de impresión biomédico en odontología</li> <li>- alimentos: congelados, glaseados de panadería, merengues, geles de postre, etc.</li> <li>- aplicaciones industriales: apresto de papel, revestimiento, adhesivos, impresión / tintura textil, fundición e impresión</li> <li>- producir medios de crecimiento de grado farmacéutico, obtener anticuerpos monoclonales, interferones, esteroides y alcaloides, actúa como agentes de carga, laxantes, supositorios, cápsulas, tabletas y anticoagulantes en campos medicinales / farmacéuticos.</li> <li>- agar más altamente purificado → separación en biología molecular (electroforesis, difusión inmune y cromatografía en gel</li> </ul>
<p><b>Fucoidano</b></p> <p>(Cunha and Grenha, 2016)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- actividades biológicas → efecto antitumoral, antiviral, anticoagulante y actividades antiinflamatorias</li> <li>- potente efecto antiviral contra el virus del herpes simple tipo 1 (HSV-1), HSV-2 y el citomegalovirus humano</li> </ul>
<p><b>Alginato</b></p> <p>(Ahmadi <i>et al.</i>, 2015) (Abdul Khalil <i>et al.</i>, 2018)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- actividades antivirales → inhibitorio el virus de la hepatitis B (VHB)</li> <li>- estabilizante y espesante → alimentos como bebidas, gelatinas, helados y postres</li> <li>- materiales de impresión dental, y en materiales de curación de heridas</li> <li>- purificador de aguas residuales, en la industria de papel y textil, material para fibra artificial, emulsionante para la industria de pinturas y plásticos, lubricante</li> </ul>
<p><b>Laminarina</b></p> <p>(Roesijadi, Jones and Zhu, 2010) (Torres, Kraan and Domínguez, 2019)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- materias primas para la conversión en combustibles líquidos</li> <li>- forma soluciones viscosas y su principal potencial está en usos médicos y farmacéuticos, ej. sustrato para bacterias prebióticas</li> <li>- agente inhibidor de tumores, y como anticoagulante (después de modificaciones estructurales tales como sulfatación, reducción u oxidación).</li> </ul>

#### 1.4. Modelos de biorrefinería a partir de algas verdes

Las biorrefinerías con procesos integrados de conversión de biomasa pueden producir combustibles, electricidad y calor junto con productos químicos valiosos. Se cree que la implementación de un enfoque integrado de biorrefinería ayuda a hacer que la explotación de algas marinas para la bioenergía sea económicamente factible (Tedesco, 2017). En la Figura 6 se presenta un esquema donde se presentan distintas aplicaciones

de la pulpa del alga en biorrefinería, con la alternativa de hacerlo directamente a partir de la pulpa o a partir de una extracción secuencial a esta con KOH (Chattopadhyay *et al.*, 2007). Cabe destacar que la pulpa puede considerarse como un residuo o como un subproducto derivado de la obtención de ulvano hidrosoluble. Por este motivo, una biorrefinería de 3ª generación basada en este material, constituye una gran ventaja económica y ambiental, si bien es cierto que desde un punto de vista técnico, supone un reto la separación de sus principales constituyentes. Dependiendo de la ruta utilizada en la biorrefinería, se pueden obtener diferentes productos. Se pueden utilizar procesos químicos como la hidrogenación de glucosa a sorbitol, la oxidación de glucosa a glucónico y luego al ácido sacárico o la deshidratación ácida de xilosa a furfural. Otros productos obtenidos a partir de celulosa son: derivados de metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, carboximetilcelulosa, acetatos, nitrocelulosa, celulosa microcristalina, viscosa y nanocelulosa (Llano, 2016). A partir de la hidrólisis de xiloglucano se obtienen azúcares fermentables, siendo la glucosa y la xilosa los más abundantes, es a partir de la xilosa que se puede obtener xilitol mediante fermentación usando levaduras que incorporan la xilosa a su metabolismo, como *Kluyveromyces marxianus* (Martínez-Corona *et al.*, 2015). Otros posibles productos obtenidos a partir del polisacárido xiloglucano son: furfural, butanol, polihidroxialcanoatos (PHA), polilactatos (PLA) y 5-hidroximetilfurfural (Llano, 2016).

A partir de las algas se pueden extraer múltiples fracciones de manera secuencial y escalable. Cuatro fracciones (MRLE, lípidos, ulvano y celulosa) se extrajeron de la biomasa fresca de *U. fasciata* (Figura 7). La fracción residual rica en celulosa se hidrolizó enzimáticamente con celulosa. Posteriormente el hidrolizado se fermentó con cultivo fresco de *Saccharomyces cerevisiae* para obtener bioetanol. Una de las ventajas del proceso integrado sobre el proceso de extracción directa es que este proceso de biorrefinería extrae químicos económicamente importantes sin comprometer los rendimientos individuales y usa menos reactivos que si cada componente se extrajera individualmente. Por lo tanto, las ganancias económicas obtenidas de esta mejora en la eficiencia podrían reducir potencialmente los costos incurridos en la producción de bioetanol (Trivedi *et al.*, 2016).

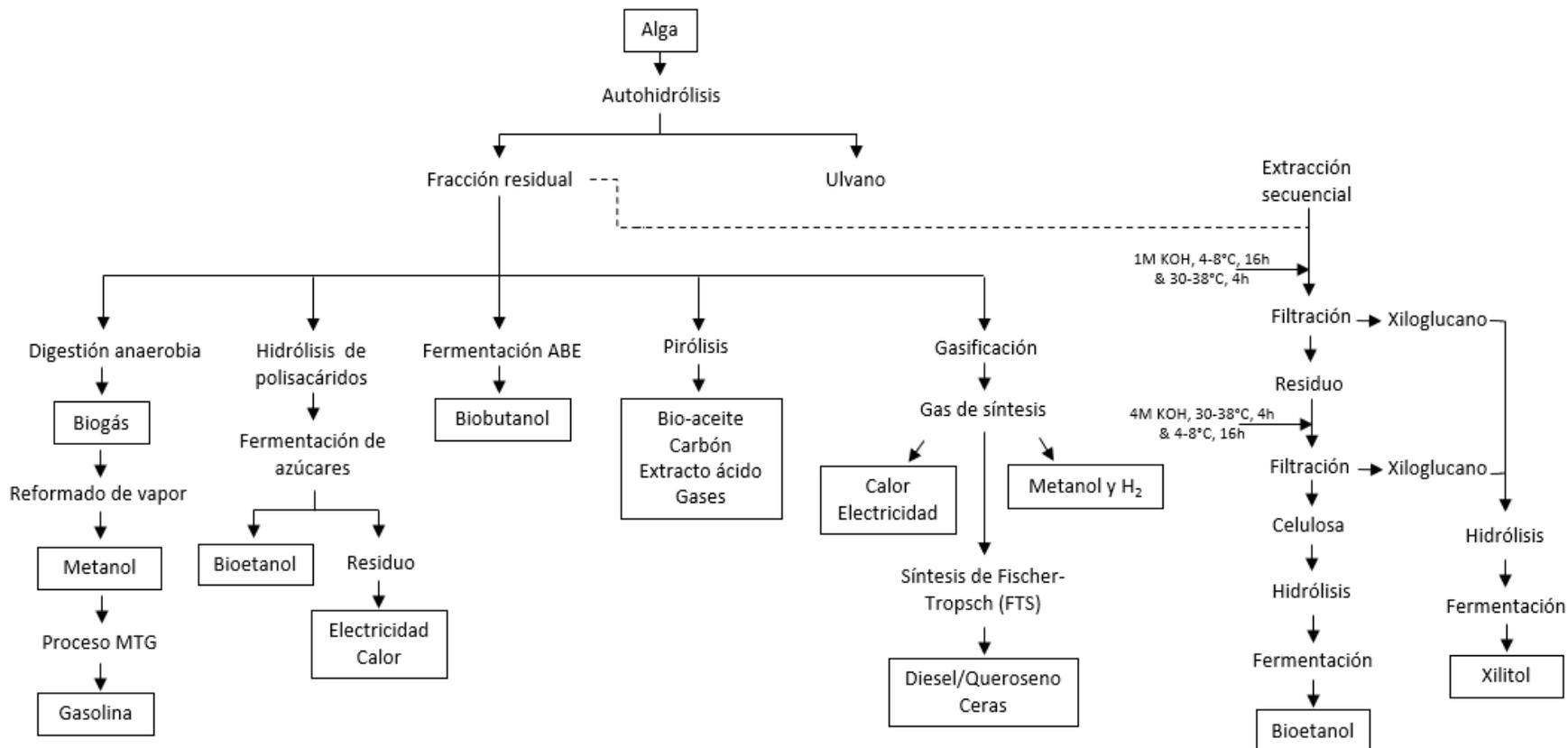
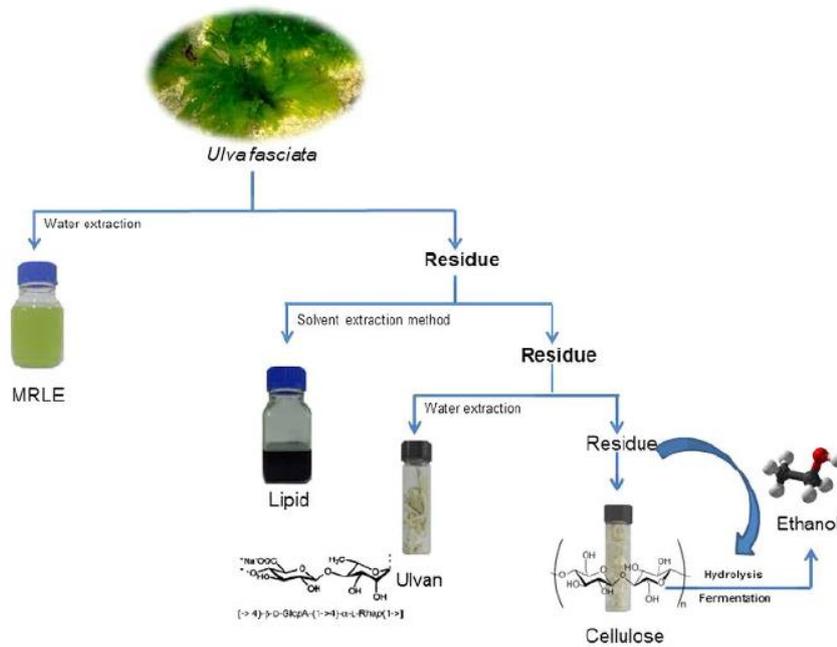


Figura 6. Modelos de biorrefinería a partir de algas verdes. (Elaboración propia)

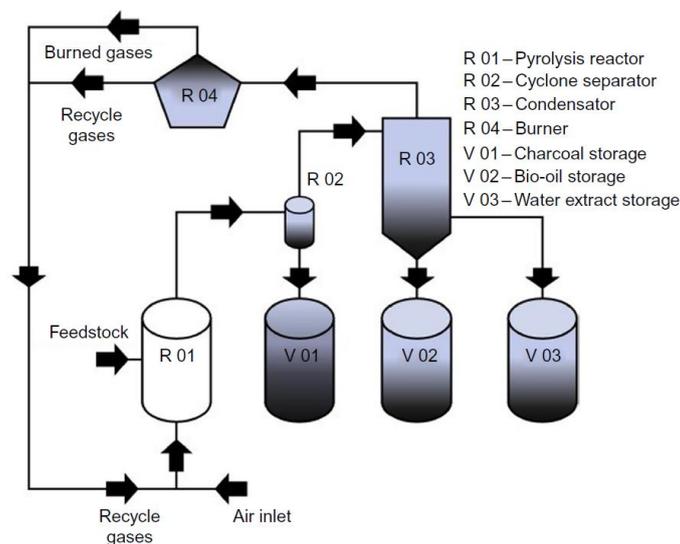


**Figura 7.** Una representación esquemática del proceso que integra la producción de bioetanol con la extracción secuencial de productos de materia prima fresca de *U. fasciata*. (Trivedi et al., 2016).

En la última década, se han publicado varios informes sobre el uso de macroalgas para la producción de n-butanol en una mezcla de acetona, butanol y etanol (**ABE**). El butanol, así como el etanol, se pueden usar como aditivos de gasolina o diésel. El butanol se puede producir mediante fermentación bacteriana mediante un proceso tradicionalmente conocido como fermentación ABE. Las algas verdes *Ulva lactuca* se probaron como materia prima potencial para la producción de biobutanol a través de una fermentación ABE. Para esto se sometieron a una de la hidrólisis ácida, y luego el hidrolizado se usó como sustrato para la producción de biobutanol usando *Clostridium beijerinckii* y *C. saccharoperbutylacetonicum*. Una fermentación representativa con *C. acetobutylicum* puede producir ABE en la proporción de acetona: butanol: etanol 3: 6: 1. (Cesário et al., 2018)

Una técnica termolítica alternativa para la conversión de biomasa en combustible es la **pirólisis**. Esta puede definirse en términos generales como la descomposición térmica (400-800 °C) de los componentes orgánicos de la biomasa seca por calentamiento en ausencia de aire (Milledge et al., 2014). Es un proceso físico-químico que resulta en la producción de una fase sólida rica en carbono y una fase volátil compuesta de gases y

vapores orgánicos condensables. Estos vapores orgánicos se condensan en dos fases diferentes: bioaceite y extracto ácido (Dalmas *et al.*, 2019). Un sistema de pirólisis rápida consiste básicamente en un reactor de lecho fluidizado, un ciclón, un condensador y una cámara de combustión, generalmente construida como se muestra en la Figura 8. El reactor de lecho fluidizado es donde realmente ocurre la pirólisis, los constituyentes restantes son responsables de la separación de fases. Los gases incondensables de la pirólisis se pueden combustionar para proporcionar calor al reactor, esto además evita la liberación de gases inflamables a la atmósfera. Después de la pirólisis, la mezcla gaseosa se envía a un ciclón, donde los componentes gaseosos y líquidos son separados por la fuerza centrífuga. Los productos gaseosos entran al condensador. Las fracciones condensables se separan por gravedad, por la parte inferior se utiliza una salida para la recolección de bio-aceite, mientras que el extracto ácido se recoge en el medio del condensador. Los gases y las partículas muy ligeras entran en una centrífuga ubicada en la parte superior del condensador, donde se condensan algunas partículas ligeras, lo que aumenta el rendimiento de las fases líquidas (Dalmas *et al.*, 2019).

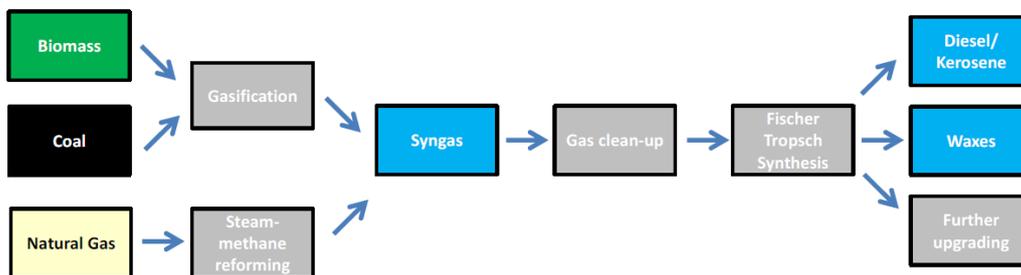


**Figura 8.** Diagrama de una unidad de pirólisis (Dalmas *et al.*, 2019).

La **gasificación** es la conversión de materia orgánica por oxidación parcial a alta temperatura (800-1000 °C) principalmente en una mezcla de gas combustible (gas de síntesis). El gas de síntesis es una mezcla de hidrógeno (30-40 %), monóxido de carbono (20-30 %) metano (10-15 %), etileno (1 %), nitrógeno, dióxido de carbono y vapor de

agua. El gas puede quemarse para producir calor o convertirse en electricidad y calor en sistemas combinados de turbinas de gas. El gas de síntesis producido a partir de la gasificación también se puede utilizar para producir metanol e hidrógeno como combustible para el transporte y otros usos, pero el costo del metanol producido a partir de metano a partir de biomasa se ha estimado en 1,5 a 4 veces mayor que a partir de gas combustible a partir de fósiles. Los procesos de gasificación implican una serie de etapas: inicialmente la pirólisis, donde se produce carbón, que luego se gasifica en presencia de un agente gasificador como  $O_2$  o  $H_2O$  para producir gas de síntesis (Milledge *et al.*, 2014).

El gas de síntesis de la gasificación de biomasa se puede convertir catalíticamente en hidrocarburos y agua a través de la Síntesis de Fischer-Tropsch (FTS) (Figura 9). Además, se pueden formar otros productos secundarios como hidrocarburos ramificados, aromáticos y oxigenados como los alcoholes. En FTS, el CO se adsorbe disociativamente sobre una superficie metálica, y luego es hidrogenado por  $H_2$  del gas de síntesis, formando un intermedio C1 que luego crece de manera similar y conduce a cadenas de hidrocarburos. Además de la fracción líquida, las ceras de cadena más larga también se producen a través de FTS y estas pueden transformarse a **diésel** mediante hidrocrqueo. (Milledge *et al.*, 2014).

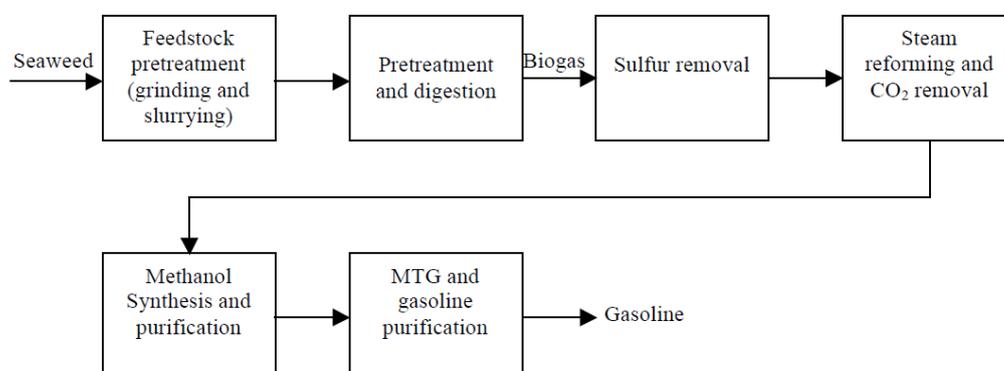


**Figura 9.** Etapas involucradas en el proceso general de Síntesis Fischer-Tropsch (FTS) desde la materia prima hasta los productos (Milledge *et al.*, 2014).

Varios grupos que evaluaron la idoneidad de la **digestión anaerobia** de algas desde la década de 1970 hasta la década de 1990 generalmente encontraron que las algas eran en su mayoría una biomasa adecuada para este proceso. Se ha sugerido que el uso de biogás de algas podría reducir las emisiones de GEI en un 42-82 % en comparación con

el uso de gas natural. Además, el digestato (material que queda después de la digestión anaerobia) contiene compuestos que contienen nitrógeno y fósforo, lo que lo convierte en un posible fertilizante derivado de algas o materia prima biológica, y podría agregar flujos de ingresos adicionales a este proceso (Milledge *et al.*, 2014).

El diagrama de flujo del proceso simplificado para la producción de Metanol a Gasolina (MTG) se muestra en la Figura 10. En este proceso, las algas se digieren primero para generar biogás, aproximadamente compuesto de 35 % en volumen de CO<sub>2</sub> y 65 % en volumen de CH<sub>4</sub>. Después de la eliminación del azufre, el biogás limpio se envía a un reformador de vapor para convertir el metano en CO y H<sub>2</sub> y ajustar la relación H<sub>2</sub>: CO a aproximadamente 2, según sea necesario para la síntesis de metanol. El gas reformado se envía a una unidad de amina para eliminar el CO<sub>2</sub>, se comprime y se convierte en metanol. El paso final convierte el metanol en gasolina a través del proceso MTG.



**Figura 10.** Diagrama de bloques para la conversión de algas marinas a gasolina a través de la digestión y MTG (Roesijadi, Jones and Zhu, 2010).

Después de las opciones de biorrefinería basadas en algas revisadas, teniendo en cuenta la composición de la pulpa procedente de la *Ulva rigida* (mayoritariamente polisacáridos), se decide optar por el análisis tecno-económico de un modelo de biorrefinería basado en la pulpa de *U. rigida* para la producción de etanol. Se trata de la opción más viable a priori a corto plazo. Además, los biocombustibles disminuyen la emisión de CO<sub>2</sub>, contribuyen a la seguridad y diversificación del abastecimiento energético, reduciendo la dependencia de los combustibles fósiles usados en automoción.

## 2. OBJETIVOS

Los biocombustibles están ganando una mayor atención pública y científica, impulsados por factores como fluctuaciones en los precios del petróleo, la necesidad de una mayor seguridad energética y la preocupación por las emisiones de gases de efecto invernadero de los combustibles fósiles. La producción de biocombustibles a partir de algas o macroalgas es una alternativa más sostenible y respetuosa con el medio ambiente.

El **objetivo global** del presente proyecto es simular un proceso de biorrefinería de 3ª generación para la obtención de bioetanol a partir del residuo resultante de la extracción de ulvano del alga *U. rigida*.

Para el logro de este objetivo se plantean los siguientes objetivos específicos:

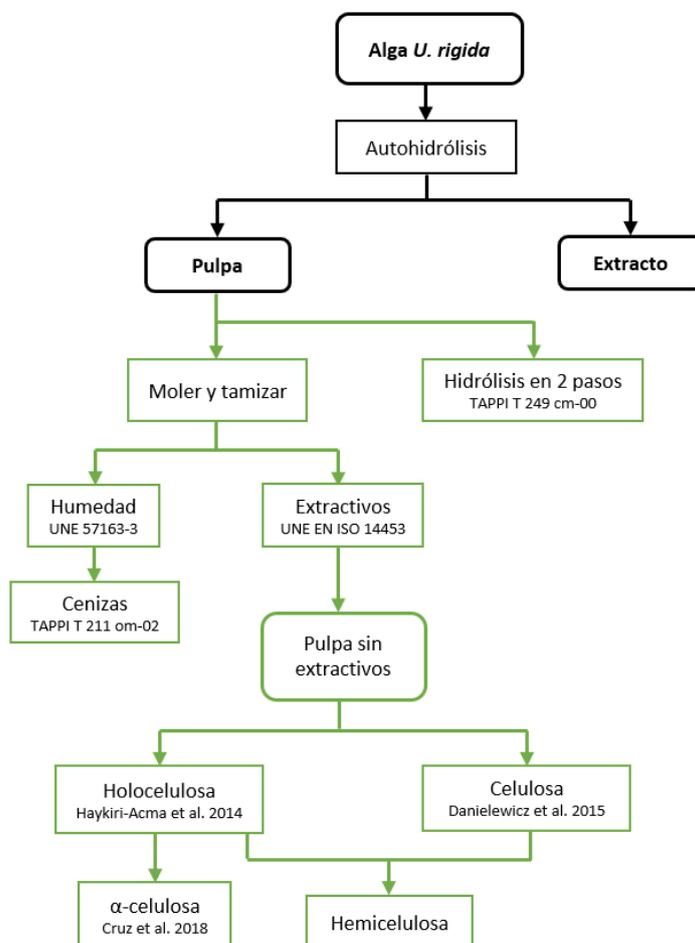
- Caracterizar la materia prima secundaria (pulpa de alga *U. rigida*) para conocer su composición mediante análisis de humedad, extractivos, cenizas, holocelulosa, celulosa y  $\alpha$ -celulosa.
- Determinar los azúcares presentes en la pulpa aplicando una hidrólisis ácida en dos pasos y determinando sus concentraciones mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).
- Realizar un modelo del proceso de producción de bioetanol utilizando el software Aspen Plus.
- Evaluar económicamente el proceso productivo simulado, comparar datos con plantas en funcionamiento y determinar el precio que debería tener la pulpa para que el proceso sea rentable.
- Validar el proceso simulado a partir de datos de procesos de producción de bioetanol de tecnólogos e investigadores encontrados en bibliografía.

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1. Caracterización de la pulpa

La pulpa utilizada en este proyecto es el residuo que se obtuvo del trabajo de fin de grado del curso 2018-2019 “Depolimerización de extractos de macroalgas marinas para el análisis de polisacáridos sulfatados mediante HLPC”. La *Ulva rigida* de la cual proviene este residuo fue proporcionada por la empresa INVESTALGA AHTI S.L.

Antes de realizar la propuesta de valorización para este residuo y su modelado, se aplicaron diversos métodos experimentales para caracterizarlo, y así conocer su composición, lo que permite tomar una mejor decisión en cuanto a qué es mejor producir. El camino seguido para ello se encuentra en la Figura 11, donde se observa que la pulpa se ha obtenido a partir de la autohidrólisis realizada al alga.



**Figura 11.** Caracterización de la pulpa de la *U. rigida*.

### 3.1.1. Acondicionamiento de la pulpa

La pulpa se muele desprovista de humedad. Luego se tamiza mediante una tamizadora Retsch. Para ello se utilizan tamices de luz de malla de 4 mm, 1 mm y 0,250 mm, se guarda lo que está por debajo de 0,250 mm, y lo que está por debajo de 1 mm se tamiza en otros tamices de 0,6 mm, 0,5 mm, y 0,03 mm (Figura 12).



Tamices. A la izquierda 4 mm, 1 mm y 0,250 mm; a la derecha 0,6 mm, 0,5 mm y 0,03 mm



Pulpa



Pulpa triturada en molinillo



Pulpa tamizada ( $d_p < 600 \mu\text{m}$ )

**Figura 12.** Triturado y tamizado de la pulpa.

### 3.1.2. Análisis de humedad, cenizas y extractivos

Para determinar el contenido de **humedad** de la pulpa el procedimiento a seguir se basa en la norma UNE 57163-3 (UNE, 2002). Para ello se pesan 3 crisoles secos y vacíos empleando una balanza analítica, y a cada uno se le añade 1 g de muestra (cantidad suficiente para poder realizar luego el análisis de cenizas). Luego se colocan en la estufa a 100-105 °C durante 24 h. Se dejan enfriar en el desecador y se pesan los crisoles. Por último, se determina el porcentaje de humedad de la pulpa mediante la ecuación 1.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Masa muestra húmeda (g)} - \text{Masa muestra seca (g)}}{\text{Masa muestra húmeda (g)}} \cdot 100 \quad (1)$$

El contenido de **cenizas** (Figura 13) se determinó en base a la norma TAPPI T 211 om-02 “Ash in Wood and Pulp” (TAPPI, 2002), pero a otra temperatura de operación siguiendo la normativa ASTM para la determinación de cenizas en biomasa. Para esto, los 3 crisoles

con muestra seca del análisis anterior se colocan en la estufa durante 24 h a 575 °C. Transcurrido este tiempo se colocan en el desecador y seguidamente se pesan. Después, se dejan otras 24 h a 900 °C y luego de enfriar se vuelven a pesar. Finalmente se determina el porcentaje de cenizas mediante la ecuación 2 (se utiliza la misma ecuación para las dos temperaturas, en un caso la masa del crisol lleno es después del análisis a 575°C y en el otro a 900°C).

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Masa crisol lleno } 575^{\circ}\text{C (g)} - \text{Masa crisol vacío(g)}}{\text{Masa muestra seca (g)}} \cdot 100 \quad (2)$$



**Figura 13.** Cenizas.

Para medir los **extractivos** se realizó una extracción sólido-líquido empleando un aparato Soxhlet (Figura 14) tomando como base la Norma UNE-EN ISO 14453:2014 (ISO, 2014). El objetivo de este análisis es cuantificar la cantidad de lípidos presentes en la pulpa.

Para ello se pesa 10 g de pulpa y se añade en un matraz suficiente volumen de acetona de tal manera que el matraz no se quede sin acetona durante la extracción. Se monta el extractor, se enciende la placa calefactora y a partir de que empieza a hervir se mide el tiempo. Para este análisis se realizó una tanda de 2 réplicas en un tiempo de 24 h, y otra tanda de 2 réplicas en un tiempo de 72 h. El resultado de este ensayo se calcula a partir de la ecuación 3.

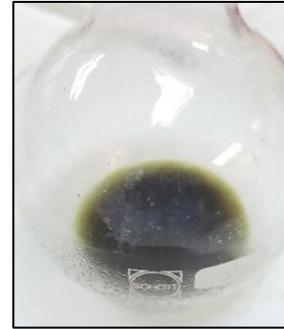
$$\% \text{ extractivos} = \frac{\text{Masa balón lleno (g)} - \text{Masa balón vacío (g)}}{\text{Masa muestra seca (g)}} \cdot 100 \quad (3)$$



Extracción inicio



Extracción tras 72horas



Extracto final disuelto en acetona

**Figura 14.** Análisis de extractivos.

### 3.1.3. Análisis de holocelulosa, $\alpha$ -celulosa y celulosa

Para determinar el contenido de **holocelulosa** en la pulpa se realizó el procedimiento descrito a continuación (Wahab *et al.*, 2013; Haykiri-Acma *et al.*, 2014). Se pesa 5 g de pulpa libre de extractivos en un erlenmeyer, en el cual se añade 160 mL de agua. Se coloca en un baño de aceite a 75-80 °C, se añaden 10 gotas de ácido acético glacial y 1,5 g de clorito sódico, se espera 1 h (se agita frecuentemente), se añaden nuevamente los reactivos, se espera 1 hora más y se repite una vez más. Se enfría, y a continuación, se filtra en placas porosas del número 1 ó 2 con agua fría, luego con acetona y nuevamente con agua fría. El sólido blanquecino que queda retenido en el filtro es la holocelulosa (Figura 15). Se seca a 100-105 °C en la estufa durante 24 horas. Finalmente se enfría y se pesa. Este experimento se realizó por triplicado.



**Figura 15.** Análisis de holocelulosa.

Para hallar el contenido de  **$\alpha$ -celulosa** en la pulpa se aplicó el procedimiento descrito a continuación (Cruz *et al.*, 2018). Se pesa en un Erlenmeyer 0,1 g de la holocelulosa obtenida en el procedimiento anterior. Se añade 8 mL de NaOH 17,5 % (m/v) y se espera 30 min a temperatura ambiente (se agita cada 10 min). A continuación, se agrega 8 mL de agua destilada y se esperan 30 min más. Finalmente se filtra en un filtro de microfibra de vidrio (diámetro de retención-1,2  $\mu$ m) con agua destilada, con 20 mL de CH<sub>3</sub>COOH 1 M durante 5 min y nuevamente con agua. El sólido blanco retenido en el filtro es la  $\alpha$ -celulosa. Se seca a 105 °C, se enfría y se pesa. Este ensayo se realizó por triplicado.

Para determinar la cantidad de **celulosa** que contiene la pulpa se aplicó el método Seifert (Danielewicz *et al.*, 2015) a la pulpa libre de extractivos. Se pesa 2 g de muestra en un matraz de 50 mL y se añaden 12 mL de acetyl acetona, 4 mL de 1,4-dioxano y 3 mL de HCl concentrado. Se pone a hervir en una placa calefactora a reflujo (Figura 16) durante 35 min. Una vez haya finalizado este tiempo, se enfría y se filtra con 100 mL de metanol, 300 mL de agua y 100 mL de acetona. Se seca en la estufa a 105 °C durante 1 h y 15 min, se deja enfriar en el desecador y finalmente se pesa. El sólido que se queda en el filtro es la celulosa. Este análisis se realizó por triplicado.



Montaje del Equipo

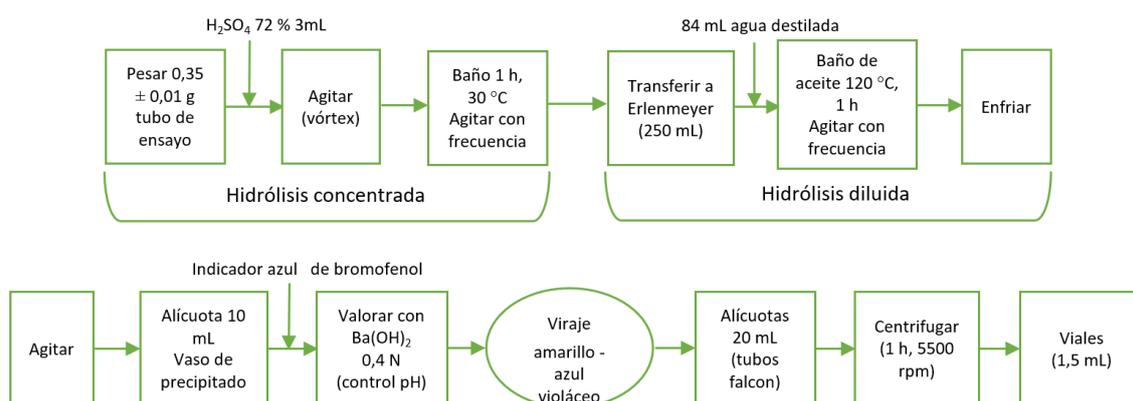


Celulosa

**Figura 16.** Análisis de celulosa.

### 3.1.4. Determinación de azúcares mediante HPLC.

Para determinar los azúcares presente en la pulpa se realizó la depolimerización de los polisacáridos mediante una hidrólisis en dos pasos (TAPPI, 2000; Llano *et al.*, 2015), primero con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 72 % en un baño de agua a 30 °C, que más adelante se diluye añadiendo 84 mL de agua y se cambia a un baño de aceite a 120 °C. El procedimiento a seguir es el mostrado en la Figura 17. La valoración se realiza con control del pH ya que al final sube súbitamente y en caso de estar por encima de pH neutro es posible revertir la reacción de los monosacáridos y que estos se vuelvan a asociar. Para preparar los viales se utiliza una jeringa con un filtro acoplado de 0,22 μm. Este análisis se realizó por triplicado.



**Figura 17.** Procedimiento de hidrólisis en dos pasos.

Para medir la cantidad de monosacáridos (ramnosa, glucosa, xilosa, arabinosa) y ácidos urónicos (glucurónico e idurónico) se aplica la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Para esto se utiliza un Equipo HPLC LGE (Low Pressure Gradiente System) de Shimadzu acoplado con un detector RID.

Para medir la concentración de los compuestos mencionados el primer paso es realizar una recta de calibrado mediante patrones. Para ello se preparan disoluciones de 5 g/L. Los gramos pesados necesarios se disuelven en fase móvil y se llevan a un matraz, donde se enrasan con esa fase móvil. A partir de esas disoluciones se realizan diluciones para preparar soluciones a distintas concentraciones de cada componente (0,25-0,5-1-1,5-2,5-5 g/L).

Tras pasar los patrones de un azúcar por la columna se obtienen los cromatogramas, los cuales dan a conocer el tiempo de retención de este, y las curvas para cada

concentración preparada. Integrando los picos de valle a valle se obtiene las áreas bajo las curvas, las cuales se representan frente al valor de concentración correspondiente y de esta manera se obtiene la recta de calibrado para cada azúcar.

Por último, se hacen pasar por la columna las muestras y sustituyendo en las ecuaciones de las rectas de calibrado obtenidas anteriormente las áreas de las curvas observadas se calculan las concentraciones de los monosacáridos y ácidos urónicos.

Para medir ramnosa, xilosa, arabinosa y glucurónico se utilizó una columna Shodex SH1011 y las condiciones que se encuentran en la Tabla 2. Debido a que la glucosa y el ácido idurónico tienen prácticamente el mismo tiempo de retención y por tanto coeluyen, se ha aplicado un método diferente para medir estos componentes. En este caso se utilizó una columna BioRad 87H y las condiciones presentes en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Condiciones de los dos métodos de análisis por HPLC.

Condición	Shodex SH1011	BioRad 87H
Temperatura	60 °C	60 °C
Volumen de inyección	20 µL	20 µL
Fase móvil	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 mM en agua ultrapura	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 mM en agua ultrapura
Caudal de la fase móvil	0,5 mL/min	0,15 mL/min

### 3.1.5. Determinación de xiloglucano en la pulpa

A partir de los resultados obtenidos de la hidrólisis en dos pasos y su respectivo análisis mediante HPLC se puede determinar la composición del polisacárido xiloglucano que hay en la pulpa. Para esto conocidos los resultados en % m/m de las concentraciones de xilosa y glucosa, lo primero es pasar esos datos a unidades de mmol de azúcar / g pulpa mediante las ecuaciones 4 y 5.

$$c_{\text{glu}} \left( \frac{\text{g glu}}{\text{g pulpa}} \right) \cdot \frac{1000 \text{ mg glu}}{1 \text{ g glu}} \cdot \frac{1}{M_{\text{glu}} \left( \frac{\text{mg}}{\text{mmol}} \right)} = c_{\text{glu}} \left( \frac{\text{mmol glu}}{\text{g pulpa}} \right) \quad (4)$$

$$c_{\text{xil}} \left( \frac{\text{g xil}}{\text{g pulpa}} \right) \cdot \frac{1000 \text{ mg xil}}{1 \text{ g xil}} \cdot \frac{1}{M_{\text{xil}} \left( \frac{\text{mg}}{\text{mmol}} \right)} = c_{\text{xil}} \left( \frac{\text{mmol xil}}{\text{g pulpa}} \right) \quad (5)$$

Para determinar la relación estequiométrica se normaliza uno de los azúcares, en este caso la xilosa a través de las ecuaciones 6 y 7.

$$\text{glu/xil} = \frac{c_{\text{glu}} \left( \frac{\text{mmol glu}}{\text{g pulpa}} \right)}{c_{\text{xil}} \left( \frac{\text{mmol xil}}{\text{g pulpa}} \right)} = \left( \frac{\text{mmol glu}}{\text{mmol xil}} \right) \quad (6)$$

$$\text{xil/xil} = \frac{c_{\text{xil}} \left( \frac{\text{mmol xil}}{\text{g pulpa}} \right)}{c_{\text{xil}} \left( \frac{\text{mmol xil}}{\text{g pulpa}} \right)} = \left( \frac{\text{mmol xil}}{\text{mmol xil}} \right) \quad (7)$$

Determinada la relación molar, se halla el porcentaje en base seca del xiloglucano en la pulpa mediante la ecuación 8.

$$\% \text{ Xiloglucano} \left( \frac{\text{g xil}}{\text{g pulpa}} \right) = \left( \frac{c_{\text{glu}} \left( \frac{\text{g glu}}{\text{g pulpa}} \right)}{M_{\text{glu}} \left( \frac{\text{g glu}}{\text{mol glu}} \right)} \cdot \frac{\text{xil/xil}}{\text{glu/xil}} \left( \frac{\text{mol xil}}{\text{mol glu}} \right) \cdot M_{\text{xil}} \left( \frac{\text{g xil}}{\text{mol xil}} \right) + C_{\text{xil}} \left( \frac{\text{g xil}}{\text{g pulpa}} \right) \right) \cdot 100 \quad (8)$$

### 3.3. Modelado en Aspen Plus

Es de interés actual producir combustibles a partir de biomasa de tercera generación, ya que la materia prima de primera generación ha creado mucha controversia debido a la competencia creada entre alimento y combustible. Por lo que en este proyecto se ha optado por modelar un proceso de producción de biocombustible. El diagrama del proceso del modelo realizado se muestra en la Figura 18.

Se ha simulado un proceso de producción de bioetanol a partir de la pulpa del alga *Ulva rigida* con el software Aspen Plus V10. Para ello se ha seleccionado el método termodinámico POLYNRTL. NRTL (Non-Random Two-Liquids) es un modelo basado en el cálculo de coeficientes de actividad de las mezclas no ideales de la fase líquida, por lo que permite modelar azeótropos, como es el caso del formado por la mezcla etanol-agua. Debido a que este método es útil para presiones bajas (<10 atm), y en el proceso simulado las hidrólisis tienen lugar a 12 atm y 15 atm respectivamente, se usó el método POLYNRTL, el cual emplea la ecuación de estado de Redlich-Kwong para la fase de vapor y que es apto para presiones moderadas.

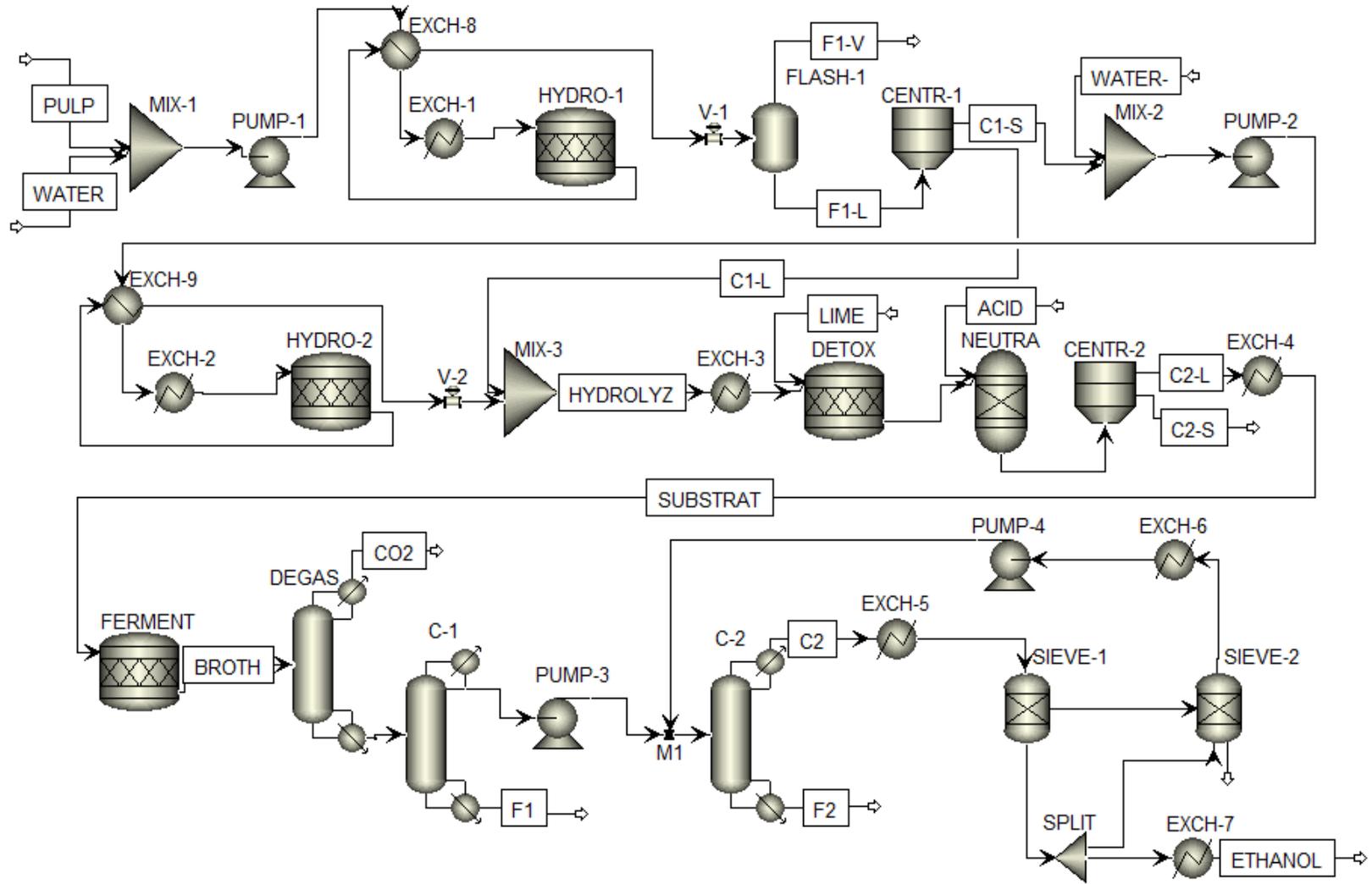


Figura 18. Diagrama del proceso de producción de bioetanol.

Se ha supuesto flujo de entrada de 400.000 t/año de pulpa lo que equivale en 8000 h/año a 50.000 kg/h. Esto se ha supuesto a partir de tamaños de planta y flujos de corriente de entrada encontrados en bibliografía tanto simulados (100.000 t/año de alga (Fasahati and Jay Liu, 2012); 80.000 t/año y 400.000 t/año de alga (Fasahati, Woo and Liu, 2015)) como de plantas españolas (Bioetanol Galicia 340.000 t/año de cereales, Biocarburantes Castilla y León 585.000 t/año de cereales, Ecocarburantes Españoles 300.000 t/año de cereales (Polit, Natural and Mart, 2017)).

Se ha realizado una hidrólisis en dos pasos, la primera a menor temperatura que la segunda, con el objetivo de hidrolizar principalmente la hemicelulosa en la primera ya que es más fácilmente hidrolizable (Rivas Siota, 2014), así se puede separar la fracción hidrolizada antes de la segunda hidrólisis a mayor temperatura donde se hidroliza la glucosa procedente de la celulosa y con esto se disminuye la degradación de la xilosa a otros componentes. La cantidad de agua necesaria que permite los procesos de hidrólisis se calculó teniendo en cuenta cargas de sólidos en los reactores del 30 % en peso (Humbird *et al.*, 2011; Fasahati, Woo and Liu, 2015). Después de la primera etapa de hidrólisis se separan parte de los vapores producidos en un flash (90 °C y 1 atm) para luego mediante una centrifugadora separar la fracción hidrolizada de la fracción sólida, y enviar esta última a la segunda etapa de hidrólisis donde se hidroliza principalmente la celulosa. Una vez juntadas las dos corrientes de hidrolizados se sube el pH a 10 con la adición de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  en un reactor a 30°C para transformar parte de los inhibidores de fermentación en sustancias menos tóxicas. Por otro lado, este proceso también degrada en cierta medida los azúcares. En este caso se ha supuesto una degradación del 50 % de inhibidores y 11,2 % de los azúcares basado en bibliografía (Llano, Ruiz and Fernández, 2017). Luego se añade  $\text{H}_2\text{SO}_4$  para llevar el pH hasta 5. Esta corriente es enviada a una centrifugadora donde se separa el sulfato de calcio precipitado en la corriente sólida.

La fracción líquida es enviada al fermentador para la formación del etanol. El caldo a la salida del fermentador es enviado a una columna donde se separa parte de los gases. La corriente obtenida por fondos se envía a una columna de destilación donde es separada la mayor cantidad de agua por colas, y el condensado es enviado a una segunda columna donde sale el etanol a una composición menor que el azeótropo. Debido a este azeótropo que se forma a 95,6 % (Offei, Mensah and Thygesen, 2018) no se puede llegar

a la pureza necesaria del etanol para su uso como combustible, por lo que se envían a dos tamices moleculares, obteniéndose de esta etapa etanol anhidro. El límite inferior al cual debe ingresar la fracción másica de etanol al tamiz molecular es 0,8 (Martín and Grossmann, 2011).

La pureza del etanol para su uso como biocombustible debe ser del 99,5-99,9 %, dependiendo de la temperatura (Otero, 2011). El precio de venta del etanol es de 743,24 €/t (ECHEMI.com, 2020a) y su poder calorífico es de 29,3 MJ/kg, 33 % menor que la gasolina (43,5 MJ/kg) (Rohstoffe, Niedersachsen and Nordrhein-westfalen, 2009). El uso de biodiesel y bioetanol reduce entre un 40 % y un 80 % de emisiones de dióxido de carbono con respecto a los combustibles fósiles (Otero, 2011).

### 3.3.1. Hidrólisis

En el primer reactor se opera a 170 °C y 15 atm, y es donde tiene lugar la hidrólisis de la hemicelulosa. Debido a que trabaja a una temperatura adecuada para evitar la formación de inhibidores, la conversión de la reacción de degradación de la xilosa es bastante pequeña. El uso de ácido sulfúrico diluido (0,5-1 %; 160-190 °C por 10 min) tiene la preferencia del Laboratorio Nacional de Energía Renovable de EE.UU. (Baeyens *et al.*, 2015). En este caso se utiliza ácido sulfúrico diluido al 0,7 % (Wyman *et al.*, 2004; Polit, Natural and Mart, 2017). Los datos de conversión de los polisacáridos fueron calculados a partir del artículo (Quintero and Cardona, 2011) y las condiciones de los reactores donde ocurren también fueron obtenidas partir de este. Las reacciones que dan lugar en esta etapa de hidrólisis se muestran a continuación en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Reacciones de hidrólisis en el primer reactor.

Compuesto	Reacción	Conversión	Referencia
Hemicelulosa	$(C_5H_8O_4)_m + m H_2O \rightarrow m C_5H_{10}O_5$	0,92	(Quintero and Cardona, 2011)
Celulosa	$(C_6H_{10}O_5)_n + n H_2O \rightarrow n C_6H_{12}O_6$	0,29	
Xilosa	$C_5H_{10}O_5 \rightarrow C_5H_4O_2 + 3 H_2O$	0,0046	
Trioleína	$C_{57}H_{104}O_6 + 3 H_2O \rightarrow C_3H_8O_3 + 3 C_{18}H_{34}O_2$	0,9	(Rajendran et al., 2014)
Tripalmitina	$16 C_{51}H_{98}O_6 + 135 H_2O \rightarrow 64 C_3H_8O_3 + 39 C_{16}H_{34}O$	0,9	
Proteína	$C_{13}H_{25}O_7N_3S + 6 H_2O \rightarrow 6.5 CO_2 + 6.5 CH_4 + 3 H_3N + H_2S$	0,9	

En el segundo reactor se introduce una corriente de ácido diluido al 1 % de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Wyman *et al.*, 2004), donde ocurre principalmente la hidrólisis de la celulosa. Las condiciones de este reactor son 200 °C y 15 atm. Debido a las altas temperaturas se degrada parte de la glucosa y de la xilosa a hidroximetilfurfural y furfural respectivamente, con las conversiones mostradas en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Reacciones de hidrólisis en el segundo reactor.

Compuesto	Reacción	Conversión	Referencia
Celulosa	$(C_6H_{10}O_5)_n + n H_2O \rightarrow n C_6H_{12}O_6$	0,96	
Hemicelulosa	$(C_5H_8O_4)_m + m H_2O \rightarrow m C_5H_{10}O_5$	0,069	(Quintero and Cardona, 2011)
Glucosa	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow C_6H_6O_3 + 3 H_2O$	0,27	
Xilosa	$C_5H_{10}O_5 \rightarrow C_5H_4O_2 + 3 H_2O$	0,1	(Zhang et al., 2009)

### 3.3.2. Fermentación

Debido a que en este caso hay disponible para fermentar tanto hexosa (glucosa) como pentosa (xilosa) es necesario un microorganismo que fermente sendos azúcares. En este caso, se ha optado por una cepa modificada genéticamente de la bacteria *Z. mobilis* y la fermentación se va a realizar a pH=5 (Leksawasdi, Joachimsthal and Rogers, 2015). En este proceso mediante una fermentación anaerobia a 38 °C y presión atmosférica, la glucosa y la xilosa se convierten en etanol con una conversión de 0,92 y 0,8 respectivamente (Martín and Grossmann, 2011). Las reacciones químicas mostradas en la Tabla 5 son las que se han tenido en cuenta en el reactor estequiométrico que simula la etapa de fermentación. Se han despreciado las reacciones secundarias ya que presentan una conversión muy baja.

**Tabla 5.** Reacciones en el fermentador.

Compuesto	Reacción	Conversión	Referencia
Glucosa	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2 C_2H_5OH + 2 CO_2$	0,92	(Martín and Grossmann, 2011)
Xilosa	$3 C_5H_{10}O_5 \rightarrow 5 C_2H_5OH + 5 CO_2$	0,8	

La concentración máxima de etanol alcanzada en la mayoría de los fermentadores está en torno al 11-12 % en peso ya que el etanol inhibe el sistema de 3 maneras, mediante

inhibición del crecimiento celular, inhibición de la fermentación y muerte celular (Baeyens *et al.*, 2015).

### 3.3.3. Purificación

Para el diseño de las columnas de destilación se usaron primeramente columnas DSTW para realizar una estimación de los parámetros necesarios a introducir en la RADFRAC, a partir de indicar la fracción requerida del componente ligero y el pesado en el destilado. Debido al azeótropo que forman el etanol y agua al 95,6 % de etanol se usan tamices moleculares para alcanzar el etanol anhidro, ya que debido a que las moléculas de agua (2,8 Å) son más pequeñas que las de etanol (4,4 Å), quedan atrapadas por los poros del tamiz (3 Å), mientras que las moléculas de etanol son más grandes que el tamaño de poro y por tanto no son retenidas. Un tamiz molecular puede adsorber agua hasta el 22 % de su propio peso (Baeyens *et al.*, 2015). Con el objetivo de permitir un proceso continuo se utilizan dos tamices, mientras uno está deshidratando el etanol el otro está siendo regenerado y viceversa. Esta regeneración se realiza enviando el 15 % de los vapores del etanol anhidro al segundo tamiz (Bastidas, Gil and Rodriguez, 2010). El tamiz que está deshidratando trabaja a 1,7 atm y el que está siendo regenerado a 0,14 atm y ambos a 116 °C (Rodríguez and Quintero, 2005; Daniel *et al.*, 2018). Al usar tamices moleculares, a diferencia de la destilación azeotrópica y extractiva, la corriente de producto no contiene un tercer componente, lo que evita problemas de toxicidad y por tanto es más amigable con el medio ambiente. Según lo buscado en bibliografía se encontró que el mejor desempeño para esta etapa de deshidratación la presentan los tamices moleculares, porque, aunque poseen un alto costo de capital en comparación con la destilación azeotrópica y la destilación extractiva, energéticamente son los más eficientes (Cifuentes *et al.*, 2004).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Caracterización de la pulpa

En este apartado se exponen los resultados de los procedimientos experimentales planteados (punto 3.1) para la caracterización de la pulpa procedente del alga *U. rigida* utilizada en este proyecto. Estos resultados son muy importantes ya que permiten conocer la composición de la pulpa, la cual influye en el rendimiento de la vía de valorización.

El primer análisis realizado fue de humedad, a partir del cual se obtuvo que la pulpa presenta un  $12,85 \pm 0,25$  % de humedad; teniendo en cuenta este valor se determinaron los resultados del resto de análisis y así expresarlos en base seca de la pulpa (Tabla 6).

**Tabla 6.** Caracterización de la pulpa *Ulva rigida*.

Análisis	Pulpa <i>U. rigida</i>
Cenizas (575 °C)	$7,10 \pm 0,36$ %
Cenizas (900 °C)	$6,10 \pm 0,32$ %
Extractivos (24 h)	$2,09 \pm 0,32$ %
Extractivos (72 h)	$2,41 \pm 0,34$ %
Holocelulosa	$52,92 \pm 1,58$ %
$\alpha$ -celulosa	$15,94 \pm 1,26$ %
Celulosa	$20,42 \pm 0,81$ %
Hemicelulosa	$32,50 \pm 1,68$ %

En cuanto a las cenizas, se considera que la pulpa presenta un bajo contenido debido a las condiciones controladas de cultivo de *U. rigida* de INVESTALGA AHTI S.L. comparándolo con el total de cenizas de algas *U. rigida*, 20,60 %; 8,1-25 %; 21,70 % (Paiva *et al.*, 2017; Kidgell *et al.*, 2019; Harchi, Kachkach and Mtili, 2018) y con la composición en la pulpa del alga *Ulva rigida* 19,2 % analizada en un estudio bibliográfico (Ray and Lahaye, 1995); lo cual para este proyecto es bueno ya que no se va a realizar valorización a partir de los minerales de la pulpa.

Debido a que para realizar los procedimientos de análisis de holocelulosa,  $\alpha$ -celulosa y celulosa se requiere la muestra libre de extractivos, se realizó el análisis oportuno para ello, a partir del cual se obtuvieron los resultados presentes en la Tabla 6. Al comparar los resultados de extractivos se puede decir que 24 h no es suficiente para extraer el total de lípidos de la pulpa, dado que se pasa de 2,09 % (24 h) a 2,41 % (72 h).

El porcentaje de extractivos es del mismo orden que en otras algas analizadas, por ejemplo, en las algas verdes el porcentaje de lípidos suele estar entre 2-3 % (Barbot, Alghaili and Benz, 2016), en la *U. fasciata*, *U. rigida* y *U. reticulada* entre 1,83-2,03 % (Trivedi *et al.*, 2016) y en otras algas *U. rigida*  $1,2 \pm 0,2$  % (Harchi, Kachkach and Mtili, 2018) y  $1,4 \pm 0,01$  % (Fernandes *et al.*, 2019).

El resultado de hemicelulosa se obtuvo por la diferencia entre la holocelulosa y la celulosa. Como se observa en la Tabla 6 el contenido de holocelulosa en la pulpa es aproximadamente la mitad, siendo el 32,5 % de la pulpa hemicelulosa. El contenido de hemicelulosa es mayor que en la pulpa de la *U. prolifera*  $15,8 \pm 0,2$  % (Li *et al.*, 2016) y similar a la fibra insoluble de la *U. lactuca*  $32,49 \pm 0,01$  % (Yaich *et al.*, 2015). Además, la pulpa presenta un  $20,42 \pm 0,81$  % de celulosa, similar a la *U. prolifera*  $21,3 \pm 0,3$  % (Li *et al.*, 2016) y un poco más que la fibra insoluble de *U. lactuca*  $16,59 \pm 0,33$  % (Yaich *et al.*, 2015).

A partir de los análisis experimentales realizados se obtiene que el  $\alpha$ -celulosa supone un 78,1 % de la celulosa total. Este dato es similar al de la pulpa de *Valoniopsis pachynema* donde un 87,3 % de la celulosa es  $\alpha$ -celulosa (Sanandiya *et al.*, 2017).

A partir de los datos obtenidos de los análisis en base húmeda se puede determinar qué tanto de la pulpa se caracterizó mediante la ecuación 9.

$$\begin{aligned}\% \text{ caracterizado} &= \% \text{ humedad} + \% \text{ cenizas} + \% \text{ extractivos} + \% \text{ holocelulosa} \quad (9) \\ \% \text{ caracterizado} &= 12,85 \% + 6,19 \% + 2,10 \% + 46,12 \% \\ \% \text{ caracterizado} &= 67,26 \%\end{aligned}$$

Aparte de los análisis realizados, para poder caracterizar en mayor medida la pulpa, sería necesario realizar análisis de lignina y de proteínas. Según bibliografía las proteínas presentes en el alga *Ulva rigida* representan en base seca un 15,78 % (Paiva *et al.*, 2017), un 18,2 % (Pezoa-Conte *et al.*, 2015), un 23,40 % (Harchi, Kachkach and Mtili, 2018), hasta un máximo de 25,9 % según (Kidgell *et al.*, 2019). En un estudio al alga *Ulva rigida*, se analizó la composición de la pulpa, la cual presentó un 12,4 % de proteínas (Ray and Lahaye, 1995).

En cuanto a la lignina en general en las algas verdes suele ser un pequeño porcentaje, por ejemplo, en algas *U. rigida*  $1,78 \pm 0,98 \%$  y  $2,2 \pm 0,01 \%$  (Harchi, Kachkach and Mtili, 2018; Fernandes *et al.*, 2019).

A partir de la hidrólisis en dos pasos realizada a la pulpa solo se identificó la presencia de glucosa y xilosa, lo que indica que el ulvano y el glucuronano se extrajeron totalmente en el extracto y que en la pulpa solo hay celulosa y hemicelulosa (específicamente xiloglucano).

Como resultados del análisis de azúcares, se obtuvieron a la salida de la columna HPLC las concentraciones de glucosa y xilosa mostrados en la Tabla 7. A partir de los cuales se determinó la relación molar glucosa / xilosa y el porcentaje de xiloglucano en la pulpa.

**Tabla 7.** Resultados hidrólisis en dos pasos.

Compuesto	Concentración
Glucosa	$8,83 \pm 2,92 \%$
Xilosa	$6,00 \pm 0,70 \%$
Xiloglucano (g xilosa / g pulpa seca)	$11,99 \pm 1,28 \%$
Relación molar glucosa / xilosa	1,23: 1

Los xiloglucanos están constituidos por cuatro unidades de  $\beta$ -D-glucosa por cada tres de  $\alpha$ -D-xilosa (glucosa / xilosa 4: 3 = 1,33: 1) (Hayashi, 1989; Pérez-Almeida and Carpita, 2006; Genovesi Barcelona, 2007). La relación molar de glucosa / xilosa (1,23: 1) obtenida en este proyecto es similar a lo citado en bibliografía. Estos resultados evidencian que en este análisis solo se hidrolizó el xiloglucano.

En dos extracción secuenciales realizadas a *Enteromorpha compressa* (Chattopadhyay *et al.*, 2007; Ray, 2006) se obtuvieron dos fracciones constituidas mayoritariamente por glucosa y xilosa lo que evidenció la presencia de xiloglucano. El rendimiento de estas dos fracciones juntas a partir del alga despigmentada fue del 7 % y del 17 % respectivamente. En este proyecto, teniendo en cuenta el rendimiento de la

autohidrólisis al alga *Ulva rigida* 1,15 g de extracto / 2,13 g de alga seca, el porcentaje en masa de xiloglucano expresado en g xilosa / g alga seca es 5,52 %.

## 4.2. Modelado en Aspen Plus

Para definir la composición de la corriente de entrada de la pulpa (Tabla 8) se usaron los resultados de caracterización descritos en el apartado anterior, los cuales se llevaron a base húmeda y además teniendo en cuenta la relación glucosa / xilosa 4: 3, se reajustaron los datos hemicelulosa y celulosa para que vaya acorde con las reacciones químicas ya que la de celulosa representa hexosa y la de hemicelulosa pentosa. La fracción de proteína se supuso del 32,74 % para completar la composición de la pulpa, lo que concuerda con bibliografía.

**Tabla 8.** Corriente de entrada.

Compuestos	m/m (%)
Humedad	12,85
Lípidos	2,10
Cenizas	6,19
Proteínas	32,74
Celulosa	35,23
Hemicelulosa	10,89

Como resultado de la simulación del proceso de producción de bioetanol se obtuvo un rendimiento de azúcares totales (después de las dos hidrólisis) de 0,476 g azúcares / g de pulpa seca, lo que disminuyó después de la etapa de detoxificación para la eliminación de inhibidores a 0,423 g azúcares / g de pulpa seca para ser fermentados.

A la salida del fermentador la concentración de etanol en el caldo resultó un 7,35 % (Tabla 9), que en ningún caso supera el 11-12 % a partir del cual tiene lugar la inhibición. El rendimiento de etanol obtenido a partir de la pulpa a la salida del fermentador es de 0,192 g etanol / g de pulpa seca. Este resultado es mayor que el reportado para las algas *Sargassum sp.* 0,112 g etanol / g de pulpa seca. (Sirajunnisa and Surendhiran, 2016).

El rendimiento de etanol a partir de los azúcares que entran al fermentador resultó 0,45 g etanol / g azúcar, lo que implica un rendimiento de la fermentación del 88,2 %. Este valor es similar al reportado para el alga verde *Ulva fasciata* 0,44 g / g azúcar (Trivedi et

al., 2016) y para la pulpa del alga roja *G. verrucosamayor* 0,43 g / g azúcar (Kumar *et al.*, 2013); mayor que en el alga roja *Gelidium amansii* 0,38 g / g azúcar (Park *et al.*, 2012), e igual que el reportado para *Ulva fasciata* 0,45 g / g azúcar (Trivedi *et al.*, 2013).

**Tabla 9.** Flujo y composición de las corrientes principales.

Corriente	HYDROLIZ	SUBSTRAT	BROTH	CO2	C1	C2	ETHANOL
T (°C)	98,1	38,0	38,0	21,9	65,3	75,8	25
P (atm)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Flujo másico (kg/hr)	132270,67	113669,60	113669,60	8524,26	16202,56	10971,84	8216,55
WATER	76,71	79,81	79,81	1,01	45,07	6,18	0,50
H2SO4	0,77	-	-	-	-	-	-
ETHANOL	-	-	7,35	2,16	50,46	87,70	99,50
CO2	0,30	0,31	7,33	95,29	1,31	1,94	-
GLUCOSE	11,41	11,81	0,94	-	-	-	-
XYLOSE	4,24	4,38	0,88	-	-	-	-
CELLULOS	0,44	0,01	0,01	-	-	-	-
HEMICELL	0,31	0,01	0,01	-	-	-	-
TRIPALMI	0,04	0,04	0,04	-	-	-	-
GLYCEROL	0,20	0,21	0,21	-	-	-	-
OLEIC-AC	0,35	0,36	0,36	-	-	-	-
1-HEXADE	0,27	0,28	0,28	-	-	-	-
PROTEIN	0,10	0,11	0,11	0,13	0,69	1,02	-
CH4	0,04	0,04	0,04	0,59	-	-	-
NH3	0,31	0,32	0,32	0,25	2,09	3,09	-
H2S	0,05	0,05	0,05	0,57	0,04	0,06	-
FURFURAL	0,05	0,05	0,05	-	0,34	-	-
HMF	2,01	2,08	2,08	-	-	-	-
TRIOLEIN	0,04	0,04	0,04	-	-	-	-
ASH	2,37	0,06	0,06	-	-	-	-
CA(OH)2	-	-	-	-	-	-	-
CASO4	-	0,03	0,03	-	-	-	-

Para alcanzar la pureza requerida de etanol primero se eliminaron parte de los gases en una columna de 5 platos, con una relación de reflujo molar (R:R) 0,0619 y relación de flujo molar destilado alimentación (D:F) 0,0364. En esta se eliminó principalmente el CO<sub>2</sub> saliendo por cabeza con una concentración en peso del 95,29 %. En la primera columna de eliminación de agua (10 platos, R:R 4,2, D:F 0,115) se recuperó por cabeza el 99,99 % de etanol con una concentración de 50,46 % en peso. En la segunda columna (15 platos, R:R 7,0, D:F 0,403) se recuperó por cabeza el 99,92 % de etanol con una

concentración de 87,7 % en peso. Todas las columnas operan a aproximadamente 1 atm, con una caída de presión de 0,1 psi por plato. Finalmente, a la salida de los tamices moleculares se obtuvo etanol con una pureza del 99,5 %. A partir del proceso simulado se obtuvo una producción de etanol de 249.670 L/día, lo que equivale en un año a  $83,2 \cdot 10^6$  L/año.

El dióxido de carbono liberado del proceso puede ser utilizado para alimentar cultivos de algas y los polisacáridos no fermentables junto con las proteínas pueden procesarse para alimentación animal (Guedes *et al.*, 2019).

### 4.3. Análisis económico

El proceso simulado estimó unos costes de capital a través de la herramienta Aspen Process Economic Analyzer (APEA) de  $28,5 \cdot 10^6$  € y unos costes de utilities de  $28,5 \cdot 10^6$  € /año (Tabla 10). Los costes del proceso simulado en este proyecto son menores que los encontrados en bibliografía, si bien es cierto que también es más pequeña la planta ( $83,2 \cdot 10^6$  L/año, 50.000 kg/h de pulpa) y que Aspen no tiene en cuenta toda la Ingeniería de detalle. Para una producción de etanol de  $227 \cdot 10^6$  L a partir de switchgrass, los costes de capital son de  $\$169 \cdot 10^6$  ( $149 \cdot 10^6$  €) (Martín and Grossmann, 2011).

**Tabla 10.** Costes generales.

Coste total de capital (€)	28.495.413
Coste total de operación (€/año)	34.307.701
Coste total de materias primas (€/año)	3.175.228
Venta de etanol anhidro (€/año)	53.843.456
Coste total de <i>utilities</i> (€/año)	26.585.815
Tasa de retorno (%/año)	20
Período de recuperación (años)	5,3
Coste de equipos (€)	7.999.699
Coste total de instalación (€)	14.560.786

En el proceso se utilizaron como reactivos  $H_2SO_4$  y  $Ca(OH)_2$ , los cuales tienen un precio de 37,91 €/t (96 % pureza) (ECHEMI.com, 2020b) y 125,20 €/t (95 % pureza) (INTRATEC, 2020) respectivamente. El precio de venta del etanol combustible como se mencionó anteriormente es 743,24 €/t. El precio del agua se asumió 1,7963 €/m<sup>3</sup>, el cual se calculó a partir de la tarifa de agua para suministros industriales de la empresa Aigües de

Barcelona para un caudal nominal de suministro de 160 m<sup>3</sup>/h (Barcelona, 2020). Los costes generales de la simulación incluyendo los totales de materias primas se encuentran en la Tabla 10, estos costes son tomando como precio de la pulpa 0 €/t, suponiendo que el proceso simulado sea creado para valorizar el residuo del alga *U. rigida* de una empresa que extraiga ulvano y lo comercialice.

Variando el precio de la pulpa, en la Tabla 11 se observa que el precio máximo de la pulpa para que el período de recuperación sea como máximo 10 años y por tanto el proceso pueda ser rentable es 22,26 €/t de pulpa seca. Se ha encontrado en bibliografía que el coste de producción de algas de género *Ulva* (como la utilizada en este proyecto) es 21 \$/t (18,51 €/t) (Roesijadi, Jones and Zhu, 2010). Además, el precio del alga parda *Laminaria Japonica* es 71,42 \$/t (62,97 €/t) en EE.UU. y 67,9 \$/t (59,87 €/t) en Corea del Sur (Okoli *et al.*, 2016).

**Tabla 11.** Influencia del precio de la pulpa en los costes.

Precio de la pulpa (€/t)	0	10,12	18,21	22,26
Coste total de operación (€/año)	34.307.701	38.505.308	41.864.099	43.542.613
Coste total de materias primas (€/año)	3.175.228	7.061.863	10.171.769	11.725.968
Período de recuperación (años)	5,3	6,8	8,7	10

Como se observa en la Tabla 12, el *utilitie* que más coste conlleva es el vapor, esto es debido a las altas temperaturas a las que ocurren las hidrólisis y a las necesidades de calentamiento en los rehervidores de las columnas de destilación.

**Tabla 12.** Costes utilities.

Utilities	Fluido	Coste (€/año)
Electricidad		1.004.661
Steam @100PSI	Steam	15.521.807
Steam @165PSI	Steam	3.385.068
Steam @400PSI	Steam	5.452.283
Cooling Water	Water	1.193.662
AP-UTIL-AGUA	Water	1.023
Refrigerante - Freón 12	Refrigerant	27.372

Como se aprecia en la Tabla 13 en comparación a plantas con flujos de entradas de materia prima similares, el coste de capital es bastante inferior. Esto es en parte debido

a que por ejemplo la Planta Ecocarburantes españoles, presenta más etapas en su proceso productivo que las que constituye el proceso modelado en este proyecto, como son: limpieza y molienda del grano, evaporación, concentración de las vinazas, para su posterior decantación y secado y así obtener DDGS (alimento proteico para la alimentación animal) y una planta de cogeneración. Además de emplear hidrólisis enzimática, la cual es más costosa que la hidrólisis ácida. En la tabla 13 se puede apreciar además que los m<sup>3</sup> obtenidos de etanol por tonelada de cereal son mayores que los obtenidos a partir de la pulpa, esto es debido a la mayor concentración de azúcares en las materias primas de biorrefinería de 1ª generación.

**Tabla 13.** Comparación de inversión con plantas en funcionamiento.

Planta	Capacidad de producción de bioetanol (m <sup>3</sup> /año)	Materia prima, cereal (t/año)	Inversión (millones €)
Ecocarburantes españoles (IDAE, 2002)	100.000	300.000	70,9
Bioetanol Galicia (ABENGOA, 2006)	176.000	340.000	92,1
Biocarburantes de Castilla y León (ABENGOA, 2006)	200.000	585.000	170
Presente proyecto	83.202	400.000	28,5

#### 4.4. Validación

En este apartado se han introducido los datos de entrada de tecnólogos e investigadores, para chequear la validez del modelo propuesto y simulado en este proyecto.

Quintero y Cardona realizan dos hidrólisis ácidas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, una a 170°C y la otra a 200°C, de este artículo se tomaron las conversiones de los polisacáridos en las etapas de hidrólisis. Los resultados al introducir los datos de corriente de entrada (Flujo másico: 10.000 kg/h, celulosa: 29,01 %, hemicelulosa: 26,94 %, lignina: 15,00 %, cenizas: 16,61, extractivos: 2,25 %, humedad: 10,20 %) y ajustar el resto de las entradas se muestran en la Tabla 14. Los resultados mostrados son a la salida del MIX-3, es decir después de las dos hidrólisis.

Cardona y Sánchez realizan una hidrólisis ácida con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, donde se hidroliza la hemicelulosa, luego separan la fracción sólida de la líquida, esta última es detoxificada

y enviada al fermentador. La fracción sólida va directamente al reactor de fermentación donde se le aplica hidrólisis enzimática y la fermentación a la celulosa simultáneamente. Al introducir en el modelo de Aspen realizado en este proyecto los datos de entrada de este artículo (Flujo másico: 160.950 kg/h, celulosa: 22,1 %, hemicelulosa: 9,9 %, lignina: 20,4 %, humedad: 47,4 %) y ajustar las cantidades de agua y reactivos de entrada al sistema, se obtuvieron los resultados presentes en la Tabla 14. Estos resultados son a la salida de la primera hidrólisis ya que sería lo equivalente a la hidrólisis ácida de Cardona et al. 2006. Además, este mismo artículo se usó también para validar el modelo hasta la fermentación, por lo que los resultados son a la salida del fermentador y estos se muestran en la Tabla 15.

Gutiérrez, Sánchez y Cardona realizan una hidrólisis ácida a 190°C y 12,2 atm, la fracción líquida resultante es detoxificada empleando columnas de intercambio iónico que eliminan las sustancias inhibitoras. Luego la fracción líquida detoxificada y la sólida (a la salida de la hidrólisis ácida) son enviadas a un reactor donde se hidroliza la celulosa con enzimas (celulasas) y se fermentan las pentosas y hexosas por medio del proceso de sacarificación y fermentación simultánea (SSCF). La composición y flujo de la corriente de entrada en este artículo (Flujo másico: 1913,1 kg/h, celulosa: 18,38 %, hemicelulosa: 12,52 %, lignina: 9,05 %, humedad: 56,84 %) es introducida en el modelado de Aspen ajustando el resto de las corrientes de entrada. Los resultados a la salida del SSCF se muestran en la Tabla 15.

**Tabla 14.** Validación hidrólisis simulada.

Flujo másico (kg/h)	Modelo Aspen	Referencia		Error relativo (%)
Xilosa	16.582	15.733	(Cardona and Sánchez, 2006)	-5,39
	2.785	2.815	(Quintero and Cardona, 2011)	1,06
Glucosa	2.497	2.532		1,37

**Tabla 15.** Validación hasta la fermentación.

Flujo másico (kg/h)	Modelo Aspen	Referencia		Error relativo (%)
Etanol	217	234	(Gutiérrez, Sánchez and Cardona, 2009)	7,22
	18.844	20.201	(Cardona and Sánchez, 2006)	6,72

En cuanto a la hidrólisis con respecto a Quintero, como era de esperar los resultados dan bastante parecidos, ya que la etapa de hidrólisis se realizó en base a ese artículo. En ambos casos de validación de hidrólisis los resultados son aceptables, ya que la desviación es menor que  $\pm 10\%$ .

En cuanto al proceso hasta la etapa de fermentación, con respecto a Gutiérrez y a Cardona, la desviación en ambos casos es menor que  $\pm 10\%$ , por lo que se puede considerar válido el modelo. Las diferencias son debido principalmente a que estos artículos realizan una hidrólisis enzimática para la celulosa, este tipo de hidrólisis permite una conversión alta del polisacárido con poca degradación, en comparación a la hidrólisis ácida. Además, realizan la sacarificación y fermentación simultánea de la celulosa por lo que se evita aún más la degradación de azúcares.

## 5. CONCLUSIONES

Luego de la realización y análisis de este proyecto se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- La pulpa presenta un bajo contenido en cenizas ( $7,10 \pm 0,36$  %) en comparación con los valores en algas encontrado en bibliografía, lo cual es debido a las condiciones controladas de cultivos del alga. En cuanto a lípidos su concentración es baja ( $2,41 \pm 0,34$  %), lo que evidencia que las algas verdes presentan un bajo contenido de estos componentes. La pulpa está mayormente constituida de holocelulosa ( $52,92 \pm 1,58$  %), siendo el  $20,42 \pm 0,81$  % celulosa y el  $32,50 \pm 1,68$  % hemicelulosa. El 78,1 % de la celulosa es  $\alpha$ -celulosa.
- Mediante el análisis de depolimerización de polisacáridos aplicando una hidrólisis en dos pasos y con el uso de un cromatógrafo se vio que en la pulpa solo hay presencia de glucosa y xilosa, por tanto, de celulosa y xiloglucano. Por lo que la hemicelulosa presente en la pulpa es xiloglucano.
- A partir de los resultados cromatográficos se obtuvo una relación molar glucosa / xilosa 1,23:1, y se conoce de bibliografía que el xiloglucano es un polisacárido que presenta una relación molar glucosa/xilosa 4:3. Además, se obtuvo un porcentaje de xiloglucano expresado en g xilosa / g pulpa seca de 11,99 %.
- A partir de la simulación del modelo realizado en Aspen plus para la fabricación de bioetanol, se obtuvo un rendimiento bastante alto de la fermentación 88,2 %, lo que equivale a 0,45 g de etanol/ g de azúcar.
- La concentración de bioetanol a la salida es del 99,5 %, lo que permite su uso como biocombustible. La producción obtenida es de  $83,2 \cdot 10^6$  L/año.
- Los costes de capital estimados son de  $28,5 \cdot 10^6$  €, los cuales son menores que otras plantas simuladas y que otras que se encuentran en funcionamiento de similar capacidad de entrada de materia prima, esto es en parte debido a que las plantas existentes presentan más etapas de valorización en su proceso de producción.
- Para que el proceso simulado sea viable económicamente la pulpa debería tener un precio máximo de 22,26 €/t de pulpa seca.

- Las etapas de hidrólisis y de fermentación simuladas han sido validadas introduciendo datos de flujos de corriente de entrada de materia prima de estudios realizados por tecnólogos e investigadores con errores relativos menores al 10 %, siendo 1,06 % el mínimo y 7,22 % el máximo.

### **Trabajo futuro**

- Realizar un análisis de ciclo de vida, para cuantificar la disminución del impacto ambiental con respecto a la producción de combustibles fósiles.
- Realizar análisis de sensibilidad a variables del proceso como el flujo de entrada de agua o las conversiones de azúcares en la fermentación.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Abdul Khalil, H. P. S. *et al.* (2018) 'A review of extractions of seaweed hydrocolloids: Properties and applications', *Express Polymer Letters*, 12(4), pp. 296–317. doi: 10.3144/expresspolymlett.2018.27.
- ABENGOA (2006) 'Primer productor europeo de bioetanol ( con capacidad de producción de 340 millones de litros ) y quinto en EE . UU . ( 415 millones de litros )', *Informe de Actividades 2006 ABENGOA*, pp. 29–42.
- Ahmadi, A. *et al.* (2015) 'Antiviral Potential of Algae Polysaccharides Isolated from Marine Sources : A Review', 2015. doi: 10.1155/2015/825203.
- Baeyens, J. *et al.* (2015) 'Challenges and opportunities in improving the production of bio-ethanol', *Progress in Energy and Combustion Science*. Elsevier Ltd, 47, pp. 60–88. doi: 10.1016/j.pecs.2014.10.003.
- Barbot, Y. N., Al-ghaili, H. and Benz, R. (2016) 'A Review on the Valorization of Macroalgal Wastes for Biomethane Production'. doi: 10.3390/md14060120.
- Barcelona, A. de (2020) 'La factura del agua para suministros comerciales / industriales año 2020', *Empresa Metropolitana de Gestió del Cicle Integral de l'Aigua, S.A.*, 777, pp. 2–3.
- Bastidas, P. A., Gil, I. D. and Rodriguez, G. (2010) 'Comparison of the main ethanol dehydration technologies through process simulation', *20th European Symposium on computer aided process engineering - ESCAPE20*, (November), pp. 1–6.
- Cardona, C. A. and Sánchez, O. J. (2006) 'Energy consumption analysis of integrated flowsheets for production of fuel ethanol from lignocellulosic biomass', 31, pp. 2447–2459. doi: 10.1016/j.energy.2005.10.020.
- Cardoso, S. *et al.* (2014) 'Bioproducts from Seaweeds: A Review with Special Focus on the Iberian Peninsula', *Current Organic Chemistry*, 18(7), pp. 896–917. doi: 10.2174/138527281807140515154116.
- Cesário, M. T. *et al.* (2018) 'Marine algal carbohydrates as carbon sources for the production of biochemicals and biomaterials', *Biotechnology Advances*, 36(3), pp. 798–817. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.02.006.
- Chattopadhyay, K. *et al.* (2007) 'Sulphated polysaccharides from Indian samples of *Enteromorpha compressa* (Ulvales, Chlorophyta): Isolation and structural features', *Food Chemistry*, 104(3), pp. 928–935. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.12.048.
- Choi, W. Y., Kang, D. H. and Lee, H. Y. (2013) 'Enhancement of the saccharification yields of *Ulva pertusa* kjellmann and rape stems by the high-pressure steam pretreatment process', *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18(4), pp. 728–735. doi: 10.1007/s12257-013-0033-x.
- Cifuentes, A. D. *et al.* (2004) 'II Simposio Sobre Biofábricas. Avances de la Biotecnología en Colombia', *Inmovilización de Lipasa Candida Rugosa en Soporte de Quitosano*, pp. 1–12.
- Cruz, N. *et al.* (2018) 'Impact of the chemical composition of pinus radiata wood on its physical and mechanical properties following thermo-hygro-mechanical densification', *BioResources*, 13(2), pp. 2268–2282. doi: 10.15376/biores.13.2.2268-2282.

- Cunha, L. and Grenha, A. (2016) 'Sulfated seaweed polysaccharides as multifunctional materials in drug delivery applications', *Marine Drugs*, 14(3). doi: 10.3390/md14030042.
- Dalmas, C. J. *et al.* (2019) *Production of biofuels from algae biomass by fast pyrolysis*. Second Edi, *Biofuels from Algae*. Second Edi. Elsevier B.V. doi: 10.1016/b978-0-444-64192-2.00018-4.
- Daniel, I. *et al.* (2018) 'Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Tucumán Escuela de Posgrado Tecnologías de deshidratación de bioetanol Trabajo Final Integrador para optar al Grado Académico', pp. 1–22.
- Danielewicz, D. *et al.* (2015) 'Selected Grass Plants as Biomass Fuels and Raw Materials for Papermaking. Part I. Calorific Value and Chemical Composition', *BioResources*, 10(4), pp. 8539–8551. doi: 10.15376/biores.10.4.8539-8551.
- ECHEMI.com (2020a) 'Ethanol Price Market Analysis - Echemi'. Available at: [https://www.echemi.com/productsInformation/pid\\_Seven2868-benzene.html](https://www.echemi.com/productsInformation/pid_Seven2868-benzene.html).
- ECHEMI.com (2020b) *Sulfuric Acid Price Market Analysis - Echemi*. Available at: [https://www.echemi.com/productsInformation/pid\\_Rock19440-sulfuric-acid.html](https://www.echemi.com/productsInformation/pid_Rock19440-sulfuric-acid.html).
- FAO (2018) 'The State of world fisheries and aquaculture 2018-Meeting the sustainable development goals.', *Rome*.
- Fasahati, P. and Jay Liu, J. (2012) *Process simulation of bioethanol production from brown algae, IFAC Proceedings Volumes (IFAC-PapersOnline)*. IFAC. doi: 10.3182/20120710-4-SG-2026.00055.
- Fasahati, P., Woo, H. C. and Liu, J. J. (2015) 'Industrial-scale bioethanol production from brown algae: Effects of pretreatment processes on plant economics', *Applied Energy*. Elsevier Ltd, 139, pp. 175–187. doi: 10.1016/j.apenergy.2014.11.032.
- Fedorov, S. N. *et al.* (2013) 'Anticancer and Cancer Preventive Properties of Marine Polysaccharides: Some Results and Prospects', pp. 4876–4901. doi: 10.3390/md11124876.
- Fernandes, H. *et al.* (2019) 'Bioresource Technology Sequential bioprocessing of *Ulva rigida* to produce lignocellulolytic enzymes and to improve its nutritional value as aquaculture feed', *Bioresource Technology*. Elsevier, 281(February), pp. 277–285. doi: 10.1016/j.biortech.2019.02.068.
- Freile-Pelegrín, Y. *et al.* (2020) 'Valorization of the filamentous seaweed *Chaetomorpha gracilis* (Cladophoraceae, Chlorophyta) from an IMTA system', *Journal of Applied Phycology*. Journal of Applied Phycology. doi: 10.1007/s10811-020-02066-8.
- Genovesi Barcelona, V. (2007) 'Caracterización de ZmXTH1, una nueva Xiloglucano endoTransglucosilasa-Hidrolasa en maíz'.
- Guedes, A. C. *et al.* (2019) *Algal spent biomass—A pool of applications*. Second Edi, *Biofuels from Algae*. Second Edi. Elsevier B.V. doi: 10.1016/b978-0-444-64192-2.00016-0.
- Gutiérrez, L. F., Sánchez, Ó. J. and Cardona, C. A. (2009) 'Bioresource Technology Process integration possibilities for biodiesel production from palm oil using ethanol obtained from lignocellulosic residues of oil palm industry', *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd, 100(3), pp. 1227–1237. doi: 10.1016/j.biortech.2008.09.001.
- Harchi, M. El, Kachkach, F. Z. F. and Mtili, N. El (2018) 'South African Journal of Botany Optimization of thermal acid hydrolysis for bioethanol production from *Ulva rigida* with yeast *Pachysolen tannophilus*', *South African Journal of Botany*. SAAB, 115, pp. 161–169. doi: 10.1016/j.sajb.2018.01.021.

- Hayashi, T. (1989) 'Xyloglucans in the primary cell wall', *October*, 2(1), pp. 1–19. doi: 10.1146/annurev.biochem.64.1.721.
- Haykiri-Acma, H. *et al.* (2014) 'Mineralogical characterization of chemically isolated ingredients from biomass', *Energy Conversion and Management*, 77, pp. 221–226. doi: 10.1016/j.enconman.2013.09.024.
- He, Q. *et al.* (2020) 'Highly crystalline cellulose from brown seaweed *Saccharina japonica* : isolation , characterization and microcrystallization Highly crystalline cellulose from brown seaweed *Saccharina japonica* : isolation , characterization and microcrystallization', *Cellulose*. Springer Netherlands, 25(10), pp. 5523–5533. doi: 10.1007/s10570-018-1966-1.
- Humbird, D. *et al.* (2011) 'Process design and economics for conversion of lignocellulosic biomass to ethanol', *NREL technical report NREL/TP-5100-51400*, 303(May 2011), pp. 275–3000. Available at: <http://www.nrel.gov/docs/fy11osti/51400.pdf>%5Cnpapers2://publication/uuid/49A5007E-9A58-4E2B-AB4E-4A4428F6EA66.
- IDAE (2002) 'Planta de producción de bioetanol de "Ecocarburantes Españoles, S.A."', *Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía*.
- INTRATEC (2020) *Calcium Hydroxide Prices*. Available at: <https://www.intratec.us/chemical-markets/calcium-hydroxide-price>.
- ISO (2014) 'International Standard. 14453:2014 Pulps--Determination of acetone-soluble matter'.
- Jiao, G. *et al.* (2011) 'Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae', pp. 196–223. doi: 10.3390/md9020196.
- Khajouei, R. A. *et al.* (2018) 'Extraction and characterization of an alginate from the Iranian brown seaweed *Nizimuddinina zanardini*', *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier B.V., 118, pp. 1073–1081. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.06.154.
- Kidgell, J. T. *et al.* (2019) 'Ulvan : A systematic review of extraction , composition and function', *Algal Research*. Elsevier, 39(March), p. 101422. doi: 10.1016/j.algal.2019.101422.
- Kumar, S. *et al.* (2013) 'Bioethanol production from *Gracilaria verrucosa*, a red alga, in a biorefinery approach', *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd, 135, pp. 150–156. doi: 10.1016/j.biortech.2012.10.120.
- Leksawasdi, N., Joachimsthal, E. L. and Rogers, P. L. (2015) 'Mathematical modeling of ethanol production from glucose / xylose mixtures by recombinant *Zymomonas mobilis* Mathematical modelling of ethanol production from glucose / xylose mixtures by recombinant *Zymomonas mobilis*', (May). doi: 10.1023/A.
- Li, Y. *et al.* (2016) 'Optimization study on the hydrogen peroxide pretreatment and production of bioethanol from seaweed *Ulva prolifera* biomass', *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd, 214, pp. 144–149. doi: 10.1016/j.biortech.2016.04.090.
- Lima, J. *et al.* (2018) 'Polysaccharides of red alga *Gracilaria intermedia* : structure , antioxidant activity and rheological behavior', 5169(2), pp. 178–186.
- Llano, T. *et al.* (2015) 'Evolution of lignocellulosic macrocomponents in the wastewater streams of a sulfite pulp mill: A preliminary biorefining approach', *Journal of Chemistry*, 2015. doi: 10.1155/2015/102534.

- Llano, T. (2016) *DEVELOPMENTS IN A SULPHITE PULPING PROCESS FOR THE VALORISATION OF ITS CARBOHYDRATE RESOURCES WITHIN THE BIOREFINERY CONCEPT*. Universidad de Cantabria.
- Llano, T. *et al.* (2020) 'Acid depolymerization of cell wall polysaccharides from Ulvan-rich extracts of green seaweeds.', in *II International Congress on BRESICT*.
- Llano, T., Ruiz, C. and Fernández, A. (2017) 'TRANSFORMACIÓN DE UNA FÁBRICA DE PASTA CELULÓSICA EN UNA BIORREFINERÍA ', 2016.
- Martín, M. and Grossmann, I. E. (2011) 'Energy Optimization of Bioethanol Production Via Hydrolysis of Switchgrass', *AIChE Journal*, 59(4), pp. 215–228. doi: 10.1002/aic.
- Martínez-Corona, R. *et al.* (2015) 'Effect of initial substrate concentration and agitation on xylitol production by fermentation of hydrolyzed tamarind seed media with *Kluyveromyces marxianus*', *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 14(2), pp. 393–403.
- Milledge, J. J. *et al.* (2014) 'Macroalgae-derived biofuel: A review of methods of energy extraction from seaweed biomass', *Energies*, 7(11), pp. 7194–7222. doi: 10.3390/en7117194.
- Offei, F., Mensah, M. and Thygesen, A. (2018) 'Seaweed Bioethanol Production : A Process Selection Review on Hydrolysis and Fermentation', pp. 1–18. doi: 10.3390/fermentation4040099.
- Okoli, C. O. *et al.* (2016) 'Design and economic analysis of a macroalgae-to-butanol process via a thermochemical route', 123, pp. 410–422. doi: 10.1016/j.enconman.2016.06.054.
- Otero, C. (2011) 'Producción de nuevos biocombustibles para automoción', *Lychnos*, (6), pp. 38–43.
- Paiva, L. *et al.* (2017) 'Nutritional and Functional Bioactivity Value of Selected Azorean Macroalgae: *Ulva compressa*, *Ulva rigida*, *Gelidium microdon*, and *Pterocladia capillacea*', *Journal of Food Science*, 82(7), pp. 1757–1764. doi: 10.1111/1750-3841.13778.
- Park, J. *et al.* (2012) 'Bioresource Technology Use of *Gelidium amansii* as a promising resource for bioethanol : A practical approach for continuous dilute-acid hydrolysis and fermentation', *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd, 108, pp. 83–88. doi: 10.1016/j.biortech.2011.12.065.
- Pérez-Almeida, I. and Carpita, N. C. (2006) 'Las  $\beta$ -galactosidasas y la dinámica de la pared celular', *Interciencia*, 31(7), pp. 476–483.
- Pezoa-Conte, R. *et al.* (2015) 'Deconstruction of the green alga *Ulva rigida* in ionic liquids: Closing the mass balance', *Algal Research*, 12, pp. 262–273. doi: 10.1016/j.algal.2015.09.011.
- Polit, E., Natural, D. E. L. M. and Mart, P. (2017) 'Biorrefinerías basadas en explotaciones agropecuarias y forestales'.
- Prabhu, M. *et al.* (2019) 'Starch from the sea : The green macroalga *Ulva ohnoi* as a potential source for sustainable starch production in the marine biorefinery', *Algal Research*. Elsevier, 37(November 2018), pp. 215–227. doi: 10.1016/j.algal.2018.11.007.
- Pulidindi, I. N. *et al.* (2017) 'POTENTIAL APPLICATIONS OF ULVA RIGIDA FOR BIOFUEL AND BIOCHEMICAL PRODUCTION', in *Program*.
- Quintero, J. A. and Cardona, C. A. (2011) 'Process simulation of fuel ethanol production from lignocellulosics using aspen plus', *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 50(10), pp. 6205–6212. doi: 10.1021/ie101767x.
- Ramachandra, T. V. and Hebbale, D. (2020) 'Bioethanol from macroalgae: Prospects and

- challenges', *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Elsevier Ltd, 117(February 2019), p. 109479. doi: 10.1016/j.rser.2019.109479.
- Ray, B. (2006) 'Polysaccharides from *Enteromorpha compressa*: Isolation, purification and structural features', 66, pp. 408–416. doi: 10.1016/j.carbpol.2006.03.027.
- Ray, B. and Lahaye, M. (1995) 'Cell-wall polysaccharides from the marine green alga *Ulva* "rigida" (Ulvales, Chlorophyta). Extraction and chemical composition', 274, pp. 251–261.
- Redouan, E. *et al.* (2009) 'Improved isolation of glucuronan from algae and the production of glucuronic acid oligosaccharides using a glucuronan lyase', *Carbohydrate Research*. Elsevier Ltd, 344(13), pp. 1670–1675. doi: 10.1016/j.carres.2009.05.031.
- Rivas Siota, S. (2014) *Valorización de Hemicelulosas de Biomasa Vegetal*. Universidad de Vigo.
- Rodríguez, M. I. and Quintero, J. A. (2005) 'Esquema tecnológico integral de la producción de bioetanol carburante', (July), p. 144.
- Roesijadi, G., Jones, S. B. and Zhu, Y. (2010) 'Macroalgae as a Biomass Feedstock: A Preliminary Analysis', *U.S. DEPARTMENT OF ENERGY*, pp. 1–50. doi: 10.2172/1006310.
- Rohstoffe, N., Niedersachsen, L. and Nordrhein-westfalen, L. (2009) 'Bioethanol'. Available at: [https://ec.europa.eu/energy/intelligent/projects/sites/iee-projects/files/projects/documents/biomotion\\_bioethanol\\_leaflet\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/energy/intelligent/projects/sites/iee-projects/files/projects/documents/biomotion_bioethanol_leaflet_en.pdf).
- Sanandiya, N. D. *et al.* (2017) 'Evaluation of cellulose of *Valoniopsis pachynema* (Martens) Børgesen for its applications in paper making', *Journal of Applied Phycology*. Journal of Applied Phycology, 29(3), pp. 1657–1662. doi: 10.1007/s10811-017-1051-4.
- Sirajunnisa, A. R. and Surendhiran, D. (2016) 'Algae – A quintessential and positive resource of bioethanol production: A comprehensive review', *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Elsevier, 66, pp. 248–267. doi: 10.1016/j.rser.2016.07.024.
- TAPPI (2000) 'Technical Association of the Paper Industry. Fibrous Materials and Pulp Testing T 1-200 Series. Test Method T 249 cm-00 Carbohydrate composition of extractive-free wood and wood pulp by gas-liquid chromatography.' Tappi Press: Atlanta, GA.
- TAPPI (2002) 'Technical Association of the Paper Industry. Fibrous Materials and Pulp Testing T 1-200 Series. Test Method T 211 om-02 Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 525°C'. Tappi Press: Atlanta, GA.
- Tedesco, S. (2017) 'Valorisation to biogas of macroalgal waste streams: a circular approach to bioproducts and bioenergy in Ireland', *Chemical Papers*. Springer International Publishing, 71(4), pp. 721–728. doi: 10.1007/s11696-016-0005-7.
- Torres, M. D., Kraan, S. and Domínguez, H. (2019) *Seaweed biorefinery*, *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. doi: 10.1007/s11157-019-09496-y.
- Trivedi, N. *et al.* (2013) 'Enzymatic hydrolysis and production of bioethanol from common macrophytic green alga *Ulva fasciata* Delile', *BIORESOURCETECHNOLOGY*. Elsevier Ltd, 150(2013), pp. 106–112. doi: 10.1016/j.biortech.2013.09.103.
- Trivedi, N. *et al.* (2016) 'An integrated process for the extraction of fuel and chemicals from marine macroalgal biomass', *Scientific Reports*. Nature Publishing Group, 6, pp. 1–8. doi: 10.1038/srep30728.
- UNE (2002) 'Spanish Standard. 57163-3:2002 Determinación del contenido en humedad por el método de la estufa.'

Wahab, R. *et al.* (2013) 'Chemical Composition of Four Cultivated Tropical Bamboo in Genus Gigantochloa', (July). doi: 10.5539/jas.v5n8p66.

Wyman, C. *et al.* (2004) *Hydrolysis of Cellulose and Hemicellulose, Polysaccharides*. doi: 10.1201/9781420030822.ch43.

Yaich, H. *et al.* (2015) 'Chemical composition and functional properties of dietary fibre extracted by Englyst and Prosky methods from the alga *Ulva lactuca* collected in Tunisia', *Algal Research*. Elsevier B.V., 9(2015), pp. 65–73. doi: 10.1016/j.algal.2015.02.017.