



UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

**“DEGRADACIÓN DE AZÚCARES POR
HIDRÓLISIS ÁCIDA”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO QUÍMICO**

**PRESENTA:
JOERIC AHUJA JIMÉNEZ**

**ASESOR:
DR. JAIME SAUCEDO LUNA**

MORELIA, MICHOACÁN, MARZO 2011



ÍNDICE

ÍNDICE.....	I
RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS	III
TABLAS.....	III
FIGURAS	IV
RESUMEN	1
CAPÍTULO 1.	3
INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	7
1.2 OBJETIVO.....	8
CAPÍTULO 2.	9
GENERALIDADES.....	9
2.1 BIOMASA.....	9
2.2 BIOCOMBUSTIBLES	13
2.3 BIOETANOL	16
2.4 ETANOL	18
2.5 CARBOHIDRATOS	20
2.6 REACCIONES QUÍMICAS DE LOS CARBOHIDRATOS	22
2.6.1 REACCIONES EN MEDIO ÁCIDO	22
2.6.2 REACCIONES EN MEDIO BÁSICO	23
2.7 EFECTO DE LA TEMPERATURA.....	23
2.8 MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS	23
2.8.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA	24
2.9 FRACCIONAMIENTO DE LOS MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS	26
2.10 HIDRÓLISIS DE LOS POLISACÁRIDOS	27
2.10.1 PROCESOS CON ÁCIDOS DILUIDOS	28
2.10.2 PROCESOS CON ÁCIDOS CONCENTRADOS	30
2.11 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)	30
2.12 ESPECTROFOTOMETRÍA	32
CAPÍTULO 3.	37

DESARROLLO DEL TRABAJO.....	37
3.1 MATERIA PRIMA.	37
3.2 HIDRÓLISIS DE LOS AZÚCARES	38
3.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS	39
3.4 ANÁLISIS DE LOS HIDROLIZADOS	43
CAPÍTULO 4.	45
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	45
4.1 COMPOSICIÓN INICIAL DE MEZCLA.	45
4.2 COMPOSICIÓN FINAL DEL RESIDUO.....	45
4.3 EFECTO DE LAS VARIABLES DE REACCIÓN EN EL PROCESO DE HIDRÓLISIS ÁCIDA DE AZÚCARES.....	52
4.3.1 EFECTO DEL TIEMPO DE REACCIÓN.....	52
4.3.1.1 GLUCOSA	52
4.3.1.2 XILOSA	54
4.3.1.3 ARABINOSA.....	55
4.3.2 EFECTO DE LA TEMPERATURA.....	57
4.3.2.1 GLUCOSA	57
4.3.2.2 XILOSA	58
4.3.2.3 ARABINOSA.....	59
4.4 CONDICIONES ÓPTIMAS DE MÍNIMA DEGRADACIÓN DE AZÚCARES	60
4.5 MODELO MATEMÁTICO DE LA HIDRÓLISIS ÁCIDA DE AZÚCARES	61
4.6 PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN.....	63
CAPÍTULO 5.	67
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
REFERENCIAS	68
PÁGINAS WEB.....	69

RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla 1 Tipos de residuos para la generación de energía	10
Tabla 2 Especificaciones de los azúcares utilizados para la hidrólisis ácida	37
Tabla 3 Cantidades de materia prima en la mezcla a hidrolizar al 1% de catalizador	38
Tabla 4 Cantidades de materia prima en la mezcla a hidrolizar al 2% de catalizador	38
Tabla 5 Factores experimentales del diseño de experimentos.....	39
Tabla 6 Factor de respuesta del diseño de experimentos.....	40
Tabla 7 Matriz de experimentación para la hidrólisis ácida de azúcares	40
Tabla 8 Composición inicial de la mezcla de azúcares a hidrolizar	45
Tabla 9 Concentraciones de azúcares degradados, g/l, en una primera experimentación... 46	
Tabla 10 Análisis de varianza para azúcares degradados.....	47
Tabla 11 Datos de azúcares residuales en una segunda experimentación para el ajuste de datos.....	49
Tabla 12 Análisis de varianza para azúcares degradados en una segunda experimentación para el ajuste de datos.....	50
Tabla 13 Condiciones óptimas para disminuir la degradación de azúcares durante la hidrólisis ácida.....	61
Tabla 14 Comparación de datos obtenidos con el modelo matemático y datos experimentales	62
Tabla 15 Comparación entre concentraciones obtenidas con el modelo matemático y concentraciones de azúcares de un proceso de sacarificación de azúcares a partir de bagazo de <i>Agave Tequilana</i>	62
Tabla 16 Concentración de furfural (g/l) a diferentes tiempos y temperaturas de reacción al 1% de catalizador en la mezcla a hidrolizar.	63
Tabla 17 Concentración de furfural (g/l) a diferentes tiempos y temperaturas de reacción al 2% de catalizador en la mezcla a hidrolizar.	64

FIGURAS

Figura 1 Reservas probadas de petróleo crudo en México reportadas al 1° de enero de cada año desde 1998 al 2009 (PEMEX, 2009).....	4
Figura 2 Volumen de producción de hidrocarburos en México del 2005 al 2009 (PEMEX, 2009).....	4
Figura 3 Principales sustancias involucradas en emergencias ambientales reportadas a la PROFEPA entre 1997 y 1999 (PROFEPA, 2002).	5
Figura 4 Tipos de tratamientos para la biomasa para su aprovechamiento en la generación de energía.....	11
Figura 5 Productos de degradación de la celulosa y hemicelulosa	28
Figura 6 Productos de degradación de la biomasa	29
Figura 7 Representación de una onda electromagnética.	33
Figura 8 Espectro electromagnético	34
Figura 9 Diagrama de flujo del proceso de la hidrólisis ácida de azúcares.....	43
Figura 10 Diagrama de Pareto estandarizada para azúcar residual.	47
Figura 11 Comportamiento de los azúcares degradados a las diferentes condiciones de reacción.....	48
Figura 12 Diagrama de Pareto estandarizada para azúcar residual (Segunda experimentación)	50
Figura 13 Comportamiento de los azúcares degradados a las diferentes condiciones de reacción en una segunda experimentación para el ajuste de datos.	51
Figura 14 Efecto del tiempo de reacción en la concentración de glucosa residual a diferentes temperaturas de reacción al 1% de catalizador.....	52
Figura 15 Efecto del tiempo de reacción en la concentración de glucosa residual a diferentes temperaturas de reacción al 2% de catalizador.....	53
Figura 16 Efecto del tiempo de reacción en la concentración de xilosa residual a diferentes temperaturas de reacción al 1% de catalizador.....	54
Figura 17 Efecto del tiempo de reacción en la concentración de xilosa residual a diferentes temperaturas de reacción al 2% de catalizador.....	54
Figura 18 Efecto del tiempo de reacción en la concentración de arabinosa residual a diferentes temperaturas de reacción al 1% de catalizador.....	55

Figura 19 Efecto del tiempo de reacción en la concentración de arabinosa residual a diferentes temperaturas de reacción al 2% de catalizador.....	56
Figura 20 Efecto de la temperatura de reacción en la concentración de glucosa residual a diferentes tiempos de reacción y al 1% de catalizador.....	57
Figura 21 Efecto de la temperatura de reacción en la concentración de glucosa residual a diferentes tiempos de reacción y al 2% de catalizador.....	58
Figura 22 Efecto de la temperatura de reacción en la concentración de xilosa residual a diferentes tiempos de reacción y al 1% de catalizador.....	58
Figura 23 Efecto de la temperatura de reacción en la concentración de xilosa residual a diferentes tiempos de reacción y al 2% de catalizador.....	59
Figura 24 Efecto de la temperatura de reacción en la concentración de arabinosa residual a diferentes tiempos de reacción y al 1% de catalizador.....	59
Figura 25 Efecto de la temperatura de reacción en la concentración de arabinosa residual a diferentes tiempos de reacción y al 2% de catalizador.....	60
Figura 26 Comportamiento del furfural como producto de degradación de los azúcares hidrolizados al 1% de Catalizador.....	65
Figura 27 Comportamiento del furfural como producto de degradación de los azúcares hidrolizados al 2% de Catalizador.....	66

RESUMEN

El uso del petróleo provocó un avance tecnológico y económico importante en todo el mundo y en el país, pero su producción y extracción intensiva ha hecho que las reservas mundiales y nacionales de este recurso no renovable decaigan de una manera alarmante¹, al grado que en pocos años no dispongamos de este recurso tan importante hoy en día.

La biomasa, es una fuente energética renovable integrada por una variedad relativamente amplia de recursos. La forma de aprovechar la biomasa depende de los diferentes tratamientos que se le pueden dar a la misma. La producción de biocombustibles tales como el etanol y el biodiesel a partir de biomasa tiene el potencial de sustituir cantidades significativas de combustibles fósiles en varias aplicaciones de transporte².

El proceso para la producción de bioetanol presenta diversas alternativas tecnológicas. Sin embargo es posible estudiarlo analizando el proceso desde 3 etapas principales las cuales pueden ser estudiadas de manera independiente. Las etapas son:

- Pretratamiento de la materia prima.
- Hidrólisis de los compuestos complejos para la formación de azúcares (sacarificación).
- Fermentación de azúcares para la obtención de alcohol.

La hidrólisis es un proceso químico que divide la molécula de celulosa adicionando agua. Las complejas estructuras de almidón, celulosa y hemicelulosa no pueden ser metabolizadas directamente por los microorganismos utilizados en la fermentación alcohólica, por lo que es necesario liberar las unidades monoméricas de azúcares, los cuales posteriormente pueden ser convertidos a etanol.

Dentro del proceso de hidrólisis ácida de la biomasa, para el rompimiento de la celulosa y hemicelulosa, se realiza tanto la generación de azúcares simples así como una degradación de los mismos azúcares en varios compuestos disminuyendo la cantidad de azúcares para fermentar, decreciendo así el rendimiento del proceso de obtención de bioetanol.

Dentro de este proceso, las condiciones de reacción importantes son temperatura, tiempo de reacción y porcentaje de catalizador en la mezcla de reacción. Como resultado de las experimentaciones de la hidrólisis ácida se obtuvieron las condiciones óptimas de mínima degradación que fueron del 1% de catalizador, 125 °C de temperatura y de 0 minutos de tiempo de reacción.

Así mismo el modelo matemático obtenido del proceso, se ajusta con un valor de R^2 de 98.85%

Por su parte, no se logró adecuadamente la identificación de todos los productos de degradación de los azúcares, reduciéndose así el panorama general acerca de los productos de degradación generados por las condiciones de reacción al proceso de hidrólisis ácida de azúcares.

CAPÍTULO 1.

INTRODUCCIÓN.

En México, cerca del 88% de la energía primaria que se consume proviene del petróleo³. Llega a nosotros cada día en una gran variedad de formas, así, la mayoría de las múltiples actividades humanas cotidianas e industriales involucran al petróleo. El petróleo, al ser una mezcla multi-componente de hidrocarburos ha sido tomado como la principal fuente de insumos para generar energía eléctrica, permite la producción de combustibles para los sectores de transporte e industrial. Además, es materia prima para la elaboración de una gran cantidad de productos como telas, medicamentos o polímeros, entre otros.

El uso del petróleo provocó un avance tecnológico y económico importante en todo el mundo y en el país, pero su producción y extracción intensiva ha hecho que las reservas mundiales y nacionales de este recurso no renovable decaigan de una manera alarmante, al grado que en pocos años no dispongamos de este recurso tan importante hoy en día. Al 1° de enero del 2009, México cuenta con reservas probadas de crudo (3P)⁴ por 43.6 MMMbpce (Millones de barriles de petróleo crudo equivalente)⁵ por ello, ocupa el lugar 12° en el mundo⁶. El decremento de las reservas de crudo en México desde 1998 hasta el 2009 se muestra en la Figura 1 y la producción de crudo en MMbpced (Millones de barriles de petróleo crudo equivalente diario) desde el 2005 al 2009 en la Figura 2. Este mismo consumo y dependencia económica ha orillado a una desesperada búsqueda de mantos petrolíferos para su obtención. Desafortunadamente, en México no existen las adecuadas leyes y tecnología para la exploración, extracción y manipulación de mantos profundos y difíciles de acceder.

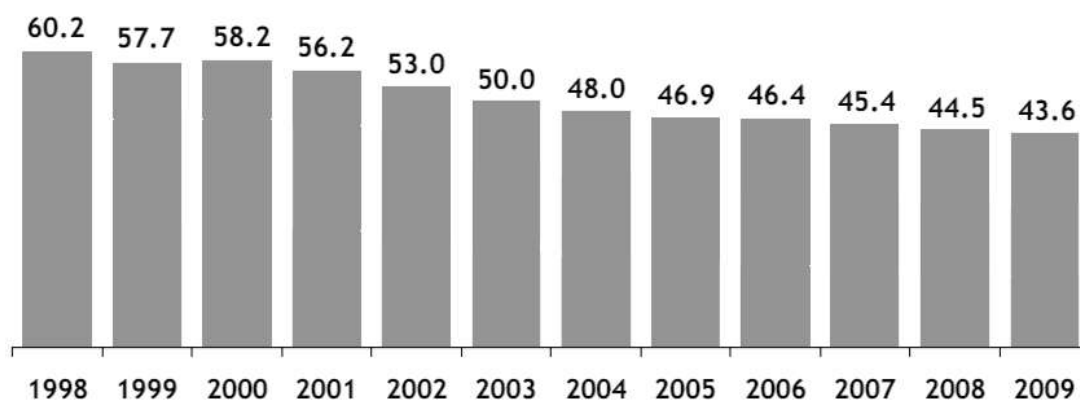


Figura 1 Reservas probadas de petróleo crudo (MMMbpce) en México reportadas al 1° de enero de cada año desde 1998 al 2009 (PEMEX, 2009)⁴

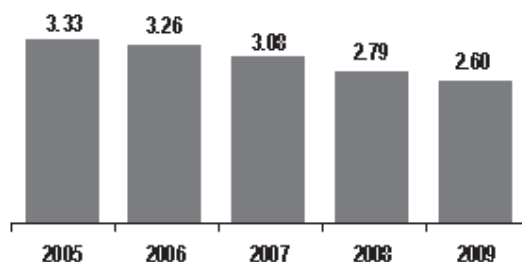


Figura 2 Volumen de producción de hidrocarburos (MMbpced) en México del 2005 al 2009 (PEMEX, 2009)⁵

Otro problema que hemos provocado con el uso de los hidrocarburos es un deterioro ambiental severo, generando cambios importantes en los ecosistemas, cambios climáticos originados en gran parte por la producción de gases de combustión del petróleo y sus derivados; una contaminación global que no solo el planeta se ve afectado, también la humanidad, ya que vive y consume los recursos naturales que en el planeta se generan¹. Se han producido cantidades muy grandes, pero muy difíciles de cuantificar, de residuos peligrosos. Aunado a lo anterior, la intensa actividad de las industrias, junto con accidentes durante el almacenamiento, transporte o trasvase de sustancias (fugas, derrames, incendios) y la disposición clandestina e incontrolada de residuos, contribuyen en gran medida a la contaminación de suelos⁶. Dentro de los compuestos peligrosos más comúnmente involucrados en emergencias ambientales, se encuentran el petróleo y sus derivados (gasolinas, combustóleo, diesel), agroquímicos, gas LP y natural, entre otros (Figura 3).

El número de sitios contaminados, aún en las estimaciones más conservadoras, asciende a varios miles de lugares cuyo riesgo potencial es desconocido. La superficie de suelo degradado por causas de contaminación en 1999 fue de 25,967 kilómetros cuadrados⁷.

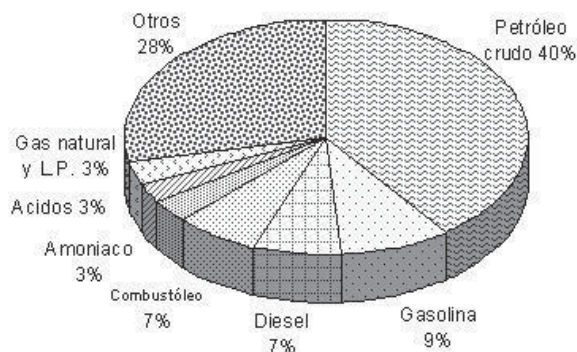


Figura 3 Principales sustancias involucradas en emergencias ambientales reportadas a la PROFEPA entre 1997 y 1999 (PROFEPA, 2002).

Al tener en cuenta que las reservas de petróleo se agotarán en un futuro no muy lejano y la demanda energética creciente de la población mundial se ha exigido una fuerte investigación en nuevas tecnologías e innovaciones en los procesos que interviene en la producción de energía, considerando su factibilidad económica, así como el cuidado y conservación del medio ambiente.

Una fuente renovable y con un fuerte potencial para cubrir esta demanda energética es la biomasa, que es una fuente energética renovable integrada por una variedad relativamente amplia de recursos, ya que se entiende por biomasa como cualquier materia orgánica reciente que haya derivado de plantas y animales como resultado del proceso de conversión fotosintético, entre lo que cabe citar los residuos agrícolas y forestales, los sub-productos biodegradables, residuos industriales, etc., así como los procedentes de cultivos agrícolas o forestales expresamente desarrollados para poder disponer de materias primas adecuadas para su transformación en energía renovable. Todos estos recursos pueden ser utilizados como combustibles, una vez tratados convenientemente⁸.

El valor energético de la biomasa de materia vegetal proviene originalmente de la energía química que se almacena en las plantas y los animales (que se alimentan de plantas u otros animales), o en los desechos que producen. Durante procesos de conversión tales como la combustión, la biomasa libera su energía a menudo en forma de calor y el carbón se oxida nuevamente a dióxido de carbono para restituir el que fue absorbido durante el crecimiento de la planta. Esencialmente, el uso de la energía de la biomasa es la inversa de la fotosíntesis⁹, por lo que se mantiene un balance global.

La forma de aprovechar la biomasa como recurso renovable puede ser por combustión directa, como tradicionalmente se ha realizado en México con la leña, o bien, mediante la conversión de biomasa en hidrocarburos por medio de diferentes tratamientos de la misma. La producción de biocombustibles tales como el bioetanol y el biodiesel tienen el potencial de sustituir cantidades significativas de combustibles fósiles en varias aplicaciones de transporte. La obtención de bioetanol a partir de material lignocelulósico involucra: el pretratamiento (procesamiento e hidrólisis de la lignocelulosa), detoxificación de la hemicelulosa, sacarificación enzimática de la celulosa, fermentación y recuperación del etanol, destilación y deshidratación¹⁰ para obtener etanol anhidro.

Un paso primordial en la obtención de bioetanol combustible a partir de material lignocelulósico es la sacarificación, que es realizada por varios métodos físicos entre los que se encuentran: molienda, explosión con vapor no catalizada, agua a alta temperatura en fase líquida; químicos: pre-tratamientos ácidos, alcalinos, ozonólisis; o biológicos: ataque enzimático a la estructura celulósica¹¹. Uno de los principales es la hidrólisis química a alta temperatura y con ácido sulfúrico diluido como catalizador. Por este tratamiento se logra descomponer la hemicelulosa y celulosa en pentosas y hexosas respectivamente para una posterior fermentación; la lignina permanece sin cambios en su estructura.

Debido a las condiciones de reacción de la hidrólisis ácida la obtención de azúcares se ve afectada por una degradación de los mismos al tiempo en que se están produciendo, disminuyendo de esta manera, el rendimiento del proceso de obtención de bioetanol.

Al analizar las condiciones de reacción de la hidrólisis ácida de monómeros de azúcares, podemos disminuir la obtención de subproductos y aumentar el rendimiento en la obtención de sacáridos a partir de biomasa y por lo tanto una mayor producción de bioetanol, contribuyendo de esta forma a una viabilidad económica del proceso para su uso como proceso de producción de energía renovable y disminuir el deterioro ambiental provocado por el uso de combustibles fósiles.

1.1 JUSTIFICACIÓN.

El siglo XXI no va a ser otro siglo más del petróleo. El panorama energético mundial y nacional nos indica que la decadencia en las reservas y en los depósitos naturales de este hidrocarburo es irreversible, debido a su sobreexplotación y dependencia económica. Aunado a esto, se estima que a mediano plazo ya no será posible cubrir la demanda mundial ni nacional. En nuestro país, es indispensable dejar nuestra dependencia económica y energética de los hidrocarburos; esta situación, sumada a la contaminación ambiental y al calentamiento global, provocados en gran medida por el uso de este tipo de combustibles, es un reto de enormes proporciones pero también una oportunidad para la implementación de energías renovables, como el bioetanol, en donde el proceso demanda la obtención eficiente de azúcares monoméricos para su posterior fermentación. Un tratamiento previo utilizado es la hidrólisis catalizada con ácido; sin embargo, la cinética de las reacciones corresponden a un equilibrio entre el rompimiento de los polímeros para dar azúcares monoméricos y la degradación de estos conforme se van produciendo por lo cual es necesario estudiar estos mecanismos de reacción y aprovechar al máximo estos recursos.

1.2 OBJETIVO.

El objetivo general es evaluar el grado de degradación de azúcares a diferentes condiciones de reacción (temperatura, tiempo de reacción y porcentaje de catalizador en la mezcla de reacción), para con un proceso análogo disminuir la degradación de azúcares en la sacarificación de biomasa lignocelulósica.

Los objetivos específicos son:

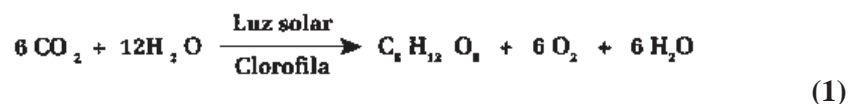
- Realizar la hidrólisis ácida de azúcares: glucosa, xilosa y arabinosa a diferentes condiciones de reacción. (temperatura, tiempo de reacción y porcentaje de catalizador en la mezcla de reacción), determinando las condiciones de mínima degradación de azúcares.
- Determinar el modelo matemático de la degradación de los azúcares.
- Evaluar los productos de degradación de los azúcares hidrolizados.

CAPÍTULO 2.

GENERALIDADES.

2.1 BIOMASA

En su más amplia acepción, se entiende por biomasa toda aquella materia viva presente en el planeta. Esto es, todo el conjunto de materia orgánica, ya sea vegetal, animal o procedentes de su transformación natural o artificial. Cualquier tipo de biomasa tiene en común el hecho de provenir, en última instancia, de la fotosíntesis vegetal. La fotosíntesis es un proceso por el cual los órganos (cloroplastos) presentes en las células vegetales son capaces de formar sustancias más complejas a partir del CO₂ existente en el aire, utilizando la energía solar como catalizador y promotor de esta reacción¹². En su forma más elemental se puede sintetizar:



Reacción de fotosíntesis¹³

Este proceso de captación de la energía solar y su acumulación en las plantas y árboles como energía química es un proceso conocido. Los carbohidratos, constituyen los productos químicos primarios en el proceso de bioconversión de la energía solar y al formarse aquellos, cada átomo-gramo de carbono (14 g) absorbe 112 kcal de energía solar, que es precisamente la que después se recupera, en parte con la combustión de la celulosa o de los combustibles obtenidos a partir de ella (gas, alcohol, etc.)¹⁴

Existen diferentes tipos o fuentes de biomasa, que pueden ser usados para cumplir con la demanda energética existente o futura. Los principales grupos en que se puede clasificar la biomasa, pueden ser:

- Biomasa natural: o la producida en los ecosistemas naturales, como los bosques.
- Biomasa residual: o los subproductos derivados de las actividades agrícolas, ganaderas y forestales. También se incluyen en este grupo los materiales biodegradables como los afluentes ganaderos o los fangos de depuradoras.
- Cultivos energéticos: constituidos por aquellos vegetales que están destinados, exclusivamente, a su aprovechamiento energético.
- Biomasa primaria: está constituida por los residuos y desechos agrícolas y forestales. Las explotaciones forestales dejan sobre el bosque gran cantidad de residuos.
- Biomasa secundaria: corresponde a la biomasa residual procedente de las industrias agroalimentarias y forestales, una vez que se han elaborado los productos o materiales principales.

Dentro de la clasificación de la biomasa primaria, algunos de los posibles residuos de posible aprovechamiento energético (Tabla 1) pueden ser¹¹:

Tabla 1 Tipos de residuos para la generación de energía

Residuos agrícolas	Residuos forestales	Residuos ganaderos
Residuos de cereales	Corteza	Purines
Residuos de leguminosas	Serrines	Estiércol
Residuos de tubérculos	Astillas (desperdicios)	Deyecciones
Residuos de cultivo industrial	Leñas	
Residuos de cultivos forrajeros	Desbroces	
Residuos de frutales	Restos de montes quemados	
Residuos de industrias agrícolas	Matorral	
	Maderas de baja calidad	
	Restos de industrias forestales	

En cuanto a los residuos industriales agroalimentarios, cabe señalar que los residuos con un posible uso energético importante viene dado por el tipo de residuos, así como del proceso al que es sometido con anterioridad, debido a que habría que hacer un análisis del tipo de residuo y los constituyentes del mismo para de esta forma poder definir su uso apropiado.

Ya que el aprovechamiento de la biomasa está asociado a los tratamientos a los que se puede someter la misma, que puede ser utilizada en forma sólida, líquida o gaseosa. El uso de un sistema u otro obedece a un mayor rendimiento de transformación energética.

De una manera más específica, de acuerdo al tipo de biomasa, los tratamientos a los que puede ser sometido cada uno de ellos son variados¹¹ (Figura 4):

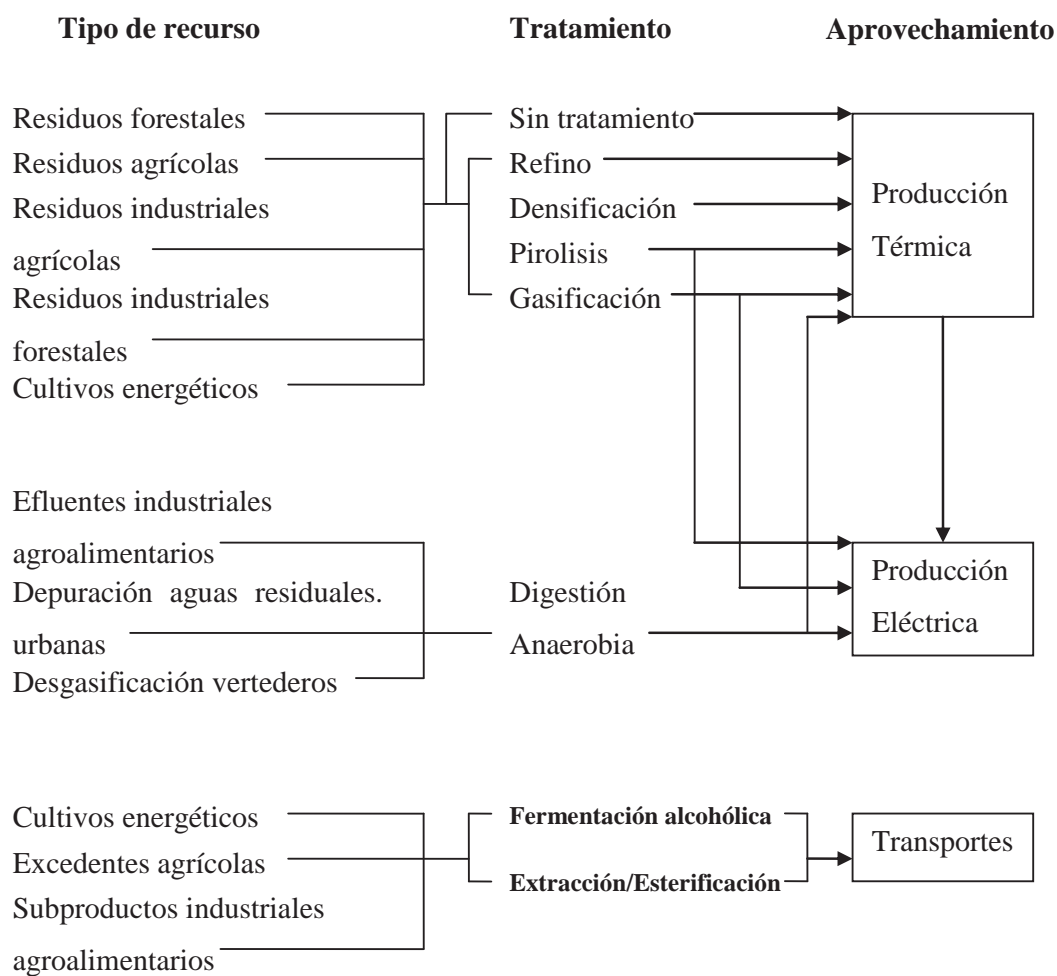


Figura 4 Tipos de tratamientos para la biomasa para su aprovechamiento en la generación de energía

Las diversas transformaciones o usos de la biomasa pueden englobarse en¹¹

- Combustión directa: que corresponde al sistema tradicional de la combustión de la biomasa en hogares; hoy en día, en modernos hornos de lecho fluidizado. El producto resultante es un gas inerte (CO_2 y H_2O)
- Vías termoquímicas: en determinadas condiciones de temperatura y presión, la biomasa sólida se transforma en otros subproductos sólidos, líquidos y gaseosos más adecuados a la aplicación que se deseé. Estas transformaciones, gracias al alto nivel tecnológico alcanzado, están substituyendo a las anteriores. Los productos resultantes son en su mayoría, gases y, en algunas transformaciones, también aparecen sólidos.
- Vías bioquímicas: como gran elemento diferenciador de las anteriores hay que destacar el hecho de que se producen a temperatura ambiente o cercana a ella. Están integradas por las transformaciones anaeróbicas y las fermentaciones alcohólicas. En este último grupo, merece destacarse la producción de bioetanol a partir de materiales azucarados.

No obstante, la biomasa es aprovechada principalmente para generar calor destinado a usos industriales y sobre todo domésticos. Sólo una parte de la misma, si bien, cada vez mas importante, es utilizada para generar electricidad. Normalmente, este tipo de aprovechamiento tiene lugar mediante sistemas de cogeneración, es decir, instalaciones que permiten la producción y aprovechamiento simultáneo de calor y electricidad.

La biomasa es la fuente energética renovable más utilizada en los países de la unión europea. En 2006, la biomasa representó casi el 52% del consumo total de energías renovables en España. Del total de biomasa consumida el 75% se destinó a la producción de calor (principalmente en el sector doméstico), el 15% a la producción de electricidad y el 5% restante a la producción de biocarburantes¹⁵.

La gran diversidad de constituyentes en la biomasa es una desventaja importante debido a que se tiene que realizar un análisis exhaustivo para poder canalizar los componentes importantes para el tipo específico de generación de energía, crear o modificar un proceso

específico para su tratamiento; por lo tanto, su uso es complicado, desde su obtención hasta su tratamiento final, aunque con el desarrollo constante en las tecnologías para su obtención y tratamiento, estas complicaciones podrán hacerse nulas en un futuro no muy lejano y poder así obtener los beneficios que se esperan con su uso.

2.2 BIOCOMBUSTIBLES

Buena parte de nuestra economía gira en torno al petróleo y sus derivados. La fabricación de combustibles a partir de residuos cumple con una doble expectativa: reducir la dependencia y solventar el problema de los residuos.

Desde el punto de vista medioambiental, según cálculos efectuados por Grassi y Bridewater (1990) 0.2 hectáreas de terreno producen 1 tonelada de biomasa. Cuando esta se quema genera 1.3 toneladas de CO₂ (principal gas integrante del efecto invernadero). Estas 1.3 toneladas son absorbidas por las 0.2 hectáreas, cerrándose así el ciclo del carbono. Por otra parte el oxígeno consumido en la combustión de la biomasa es restituido por la función fotosintética¹¹.

Los biocarburantes son combustibles líquidos provenientes de distintas transformaciones de la biomasa que pueden utilizarse en motores de combustión interna sustituyendo a los derivados de combustibles fósiles que se emplean en la actualidad.

La situación presente de los biocarburantes está relacionada con la idiosincrasia del sector agrario afectado por la política agraria de ayuda a la superficie sustituyendo las ayudas a la producción y otras reglamentaciones relativas a la producción y comercialización de productos agrícolas. En definitiva estas políticas tienden a reducir la producción agroalimentaria, limitando la producción de excedentes de determinados productos. La producción de materias primas para biocarburantes surge como la posibilidad de mantener en producción las tierras retiradas para la producción agroalimentaria¹¹.

Es importante señalar que el uso de especies agrícolas como el trigo, la cebada, el girasol o la canola, con fines energéticos, deben cumplir con una serie de requisitos:

- Son especies cuyos cultivos son conocidos por los agricultores.
- La posibilidad de utilizar los mismos medios de producción que para especies explotadas con destino alimentario, pudiéndose producir para ambas actividades.
- Se plantea este tipo de cultivo como alternativa a la producción.

Además, existen otras motivaciones diferentes a las puramente agrícolas:

- La introducción de los biocarburantes dentro del mercado de los combustibles convencionales no requiere la realización de infraestructuras, al poder utilizarse las ya existentes.
- Ventajas medioambientales frente a los combustibles fósiles.
- Mejora las posibilidades de autoabastecimiento energético al ser un recurso local
- Utiliza una fuente de energía renovable en un sector como el del transporte, el cual es extraordinariamente dependiente de los combustibles fósiles¹¹.

La biomasa puede ser transformada en combustibles líquidos o gaseosos transportables por procesos de conversión biológica o por acción termoquímica. Por la primera vía se obtienen metano y etanol y por la segunda vía, aceites y gas de síntesis (una mezcla de H_2 y de CO), que a su vez puede ser transformado en metano y en metanol. La acción termoquímica se basa en la descomposición térmica de la biomasa¹⁶.

En efecto, la producción de biocombustibles ha despertado gran interés, en los campos económico, social, ambiental, institucional y político. En primer lugar, los altos precios del petróleo hacen que los países que no son autosuficientes en el suministro de combustibles fósiles, invirtieran parte de sus divisas en la importación de hidrocarburos. En el orden social, la necesidad de diversificar las fuentes de energía y de investigar los recursos locales ha repercutido en una mayor generación de empleo, pues ha sido necesario contratar nueva mano de obra para explorar esta posibilidad. En el aspecto ambiental, los biocombustibles son menos contaminantes y tienen menor impacto sobre el cambio climático que los combustibles fósiles.

La utilización de biocombustibles tiene el potencial de sustituir cantidades significativas de combustibles fósiles en varias aplicaciones de transporte. Por ejemplo, el uso de etanol y otros alcoholes de origen biológico en el transporte se ha efectuado a escala industrial (especialmente en Brasil como combustible de automóviles, en forma casi pura). En Europa se recomienda la mezcla de una cantidad de un 5% de bioetanol con gasolina, práctica que comienza a extenderse. También se usa como aditivo de la gasolina en los EE.UU.¹⁷. El uso extenso del etanol en Brasil ha demostrado que los biocombustibles son técnicamente factibles en gran escala. La producción de biocombustibles en los EE.UU. y Europa (etanol y biodiesel) está aumentando; siendo la mayoría de los productos utilizados en mezcla de combustibles y es eficaz en la mayoría de los motores de ignición sin ninguna modificación.

Actualmente la producción de biocombustibles es apoyada con incentivos del gobierno, pero en el futuro, con el crecimiento de los sembrados dedicados a la bioenergía y las economías de la escala, las reducciones de costos pueden hacer competitivos a estos productos¹⁸.

Los biocarburos se dividen en dos grandes grupos: los bioaceites y los bioalcoholes. Los principales biocarburos son el bioetanol y el biodiesel. El primero se utiliza para sustituir parcialmente o totalmente a las gasolinas o a los aditivos que se emplean en los motores de explosión para aumentar el índice de octano; mientras que el biodiesel hace lo propio como sustituto del gasóleo de automoción.

El sistema más rápido es la producción de alcohol y ello pasa por la producción de vegetales ricos en materias azucaradas y su posterior fermentación. Los procesos de fermentación alcohólica de residuos agrícolas, agroalimentarios y forestales tienen un gran desarrollo debido a las cantidades importantes de hidratos de carbono que contienen los citados subproductos.

2.3 BIOETANOL

El alcohol etílico de origen vegetal, o bioetanol, se obtiene por fermentación de mostos azucarados, que dan lugar a “vinos” de grado alcohólico variable (normalmente entre el 10 y 15 % en volumen). Este alcohol se puede concentrar más tarde por destilación hasta la obtención del denominado alcohol hidratado (5% en volumen de agua o más) o llegar hasta el alcohol absoluto tras un proceso específico de deshidratación¹⁹.

Para su obtención pueden emplearse una gran cantidad de materias primas como cereales, remolacha y caña de azúcar. Otra alternativa es el uso de materiales lignocelulósicos y residuos de procesos agrícolas, forestales o industriales, con alto contenido en biomasa. Estos residuos tienen la ventaja de su bajo costo, ya que son la parte no necesaria de otros procesos agroindustriales.

El contenido de azúcares en estos materiales, se encuentran combinados en forma de sacarosa, almidón, hemicelulosa y celulosa; los cuales pueden ser convertidos a sus unidades monoméricas mediante la conversión de estos sustratos a azúcares fermentables en un proceso conocido como sacarificación.

El proceso para la producción de bioetanol presenta diversas alternativas tecnológicas. Sin embargo, es posible estudiarlo analizando el proceso desde tres etapas principales, las cuales pueden ser estudiadas de manera independiente. Las etapas son:

- Pretratamiento de la materia prima.
- Hidrólisis de los compuestos complejos para la formación de azúcares (sacarificación).
- Fermentación de azúcares para la obtención de alcohol²⁰.

La etapa de pretratamiento consiste en adecuar la materia prima para la extracción de azúcares y de esta manera alcanzar mejores resultados en las etapas siguientes (hidrólisis y fermentación). Desde el punto de vista económico, esta etapa es crítica, puesto que gran

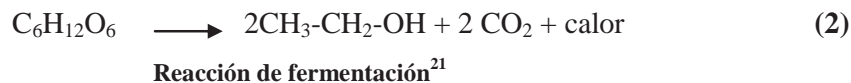
parte del costo de operación total del proceso corresponde a esta etapa. La tecnología empleada es sumamente variable ya que dependerá enteramente del tipo de material empleado para la producción de bioetanol, estos procesos pueden clasificarse en mecánicos, químicos y enzimáticos.

Los pretratamientos mecánicos son sencillos y comúnmente son empleados en conjunto con algún otro tratamiento. Los más usados son el proceso de molienda, ya sean en condiciones secas o húmedas, el proceso térmico o escaldado y el proceso de explosión de vapor. Todos ellos facilitan la transformación al exponer los materiales a la acción de los diferentes reactivos para la sacarificación en el caso de cereales y materiales lignocelulósicos o directamente para la fermentación en melazas y fuentes de azúcares simples como la caña de azúcar y la remolacha.

Los pretratamientos químicos consisten en la acción de algún químico, regularmente alguna base o ácido diluido, que permite la deslignificación de los materiales para el tratamiento posterior a los compuestos hidrolizables. Finalmente el pretratamiento enzimático busca la deslignificación mediante la acción de enzimas específica para esta acción cuyo desarrollo se encuentra actualmente en investigación²⁰.

La hidrólisis es un proceso químico que divide la molécula de celulosa adicionando agua. Las complejas estructuras de almidón, celulosa y hemicelulosa, no pueden ser metabolizadas directamente por los microorganismos utilizados en la fermentación alcohólica, por lo que es necesario liberar las unidades monoméricas de azúcares, los cuales posteriormente pueden ser convertidos a etanol. La acción de químicos o enzimas liberan hexosas y pentosas a partir de la hemicelulosa y alternativamente glucosa de la celulosa¹⁸.

De hecho se trata de una compleja sucesión de reacciones que, desde el punto de vista tecnológico puede reducirse a:



De acuerdo con esta reacción (2), 1 kg de glucosa genera 0.51 kg de etanol y 0.49 de anhídrido carbónico, si bien en la práctica los rendimientos reales son menores.

El etanol hidratado se puede utilizar directamente en los motores de explosión convencionales con ligeras modificaciones, con unos rendimientos análogos a los que se obtienen en los de gasolina. En Brasil funcionan varios millones de automóviles con alcohol hidratado. El etanol absoluto se puede utilizar en mezclas con gasolina (hasta un 22% en la actualidad), para aumentar el índice de octano y producir “supercarburantes sin plomo, que reducen las emisiones contaminantes, a partir de una combustión más completa y sin sustancias tóxicas que se generan al llevarse a cabo la combustión de combustibles a partir de petróleo¹⁷.

Algunas de las desventajas con su uso en los motores de combustión son:

- Un mayor consumo de etanol.
- Emisiones de aldehídos, y posible contenido de H_2SO_4 .
- Uso de metales que soporten la corrosión.

En conclusión, el principal inconveniente es el derivado de las propiedades corrosivas y disolventes del etanol y ello hay que tenerlo en cuenta en el diseño de un motor.

2.4 ETANOL

Para que los alcoholes sean materias tan importantes en la industria química, no sólo deben ser versátiles en sus reacciones, sino también accesibles en grandes cantidades y a bajo precio. Existen vías principales para obtener los alcoholes simples que son columna vertebral de la síntesis orgánica, vías que pueden utilizar todas las fuentes de materias primas orgánicas: petróleo, gas natural, carbón y biomasa.

El etanol o alcohol etílico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) es un alcohol que se emplea en las bebidas alcohólicas, dada su gran utilidad como disolvente en la química orgánica y como materia

prima para muchas síntesis, el etanol es uno de los alcoholes de más fácil adquisición y de uso más frecuente.

El etanol se prepara industrialmente mediante la hidratación del eteno, que es de fácil obtención a partir de fuentes de petróleo. El eteno y el vapor se dejan reaccionar a temperaturas elevadas en presencia de ácido fosfórico como catalizador.

El proceso de fermentación de carbohidratos es uno de los principales procesos para la obtención de alcohol etílico a partir de biomasa como materia prima, que actualmente está siendo muy utilizada debido a que es un proceso conocido y que la materia prima es más fácil de conseguir.

Muchos productos naturales contienen carbohidratos, incluyendo granos, el almidón y el azúcar. El contenido de azúcar en estos compuestos es el responsable de la formación de alcohol. El tipo de mezcla alcohólica depende de cómo se realice la fermentación, en la cual intervienen tres factores: si se deja que el dióxido de carbono escape, si se destila la mezcla o si se mezclan más sustancias.

De esta manera, al realizar la fermentación para la síntesis de etanol, un factor vital es la cantidad de azúcares simples presentes, para un buen rendimiento de obtención de alcohol, además de factores de reacción mencionados anteriormente. Por lo tanto, al obtener los azúcares a partir de la biomasa, es importante realizar la sacarificación con las condiciones adecuadas para un mayor rendimiento de azúcares y por consecuencia, un mayor rendimiento de etanol.

El proceso de fermentación en la producción de licores o vinos muy rara vez produce un contenido de alcohol mayor de 18% por volumen (36 de graduación normal). Los procesos industriales producen un etanol puro en un 95.6%, en el que el resto es agua. La destilación de una solución acuosa de etanol da una mezcla de etanol y agua de 95.6:4.4 (porcentaje en volumen) que hierve a 78.1 °C. Independientemente de la relación de etanol a agua en la

mezcla original, el destilado siempre contiene 95.6 de etanol y 4.4% de agua y se denomina mezcla azeotrópica. Aún cuando es una mezcla, tiene un punto de ebullición constante.

El etanol absoluto se obtiene al eliminar el agua que queda de etanol de 95.6%. Esto se puede lograr por medios químicos (al tratar con virutas de magnesio que reaccionan con el agua y forman hidróxido de magnesio y gas hidrógeno) o por destilación extractiva con benceno y 18.5% de etanol que hierve a 65 °C, temperatura menor a la del punto de ebullición del azeótropo etanol-agua. Así, esta mezcla azeotrópica destila primero y deja atrás el etanol puro, el cual se obtiene por destilación. El alcohol absoluto obtenido por este medio, no es propio para consumo humano, debido al benceno que es tóxico.

2.5 CARBOHIDRATOS

En las hojas de un vegetal se combinan los compuestos sencillos dióxido de carbono y agua para formar el azúcar glucosa. Este proceso, conocido como fotosíntesis, necesita la catálisis por la materia colorante verde llamada clorofila y requiere energía en forma de luz. Luego, se pueden combinar miles de moléculas de glucosa para generar las moléculas mucho más grandes de celulosa, la que representa el material de soporte de la planta²².

También se combinan moléculas de glucosa de forma ligeramente diferente para formar las grandes moléculas de almidón que se almacenan en las semillas, donde sirve de alimento para el desarrollo de un vegetal nuevo.

Al ser digerido el almidón por algún animal -algunos también se alimentan de celulosa- es degradado hasta la liberación de las unidades de glucosa originales, que pueden ser conducidas hasta el hígado por el riego sanguíneo, donde se recombinan a glicógeno, o almidón animal. Cuando surge la necesidad, puede ser degradado nuevamente este último hasta glucosa, que llega a los tejidos por el riego sanguíneo, donde se oxida finalmente a dióxido de carbono y agua, liberando así la energía proporcionada originalmente por la luz

solar. Parte de la glucosa es transformada en grasas y parte reacciona con compuestos nitrogenados para generar aminoácidos, que a su vez, se combinan para dar origen a las proteínas, que son una parte importante del cuerpo animal.

Glucosa, celulosa, almidón y glicógeno pertenecen a una clase de compuestos orgánicos conocidos como carbohidratos. El término carbohidrato se emplea para describir cualquier compuesto que esté formado primordialmente de carbono, hidrógeno y oxígeno y cuya fórmula molecular sea $C_x(H_2O)_y$. Estos compuestos se encuentran en muchas fuentes naturales, como la leche, los cereales, el pan, el azúcar de caña, la remolacha y todas las frutas. Los carbohidratos son una de las principales fuentes de energía para las plantas y los animales.

El término carbohidrato significa literalmente que el compuesto es un hidrato de carbono. Esto también está indicado por la manera en la que se escribe la fórmula general. La mayoría de los carbohidratos naturales contienen elementos diferentes al carbono, hidrógeno y oxígeno. En particular se encuentran con frecuencia el nitrógeno, el fósforo y el azufre. Los nombres azúcares y sacáridos son sinónimos y se aplican a los carbohidratos simples. Los tres nombres pueden usarse indistintamente.

Otra amplia definición a menudo observada al leer acerca de los carbohidratos se basa en los grupos funcionales en la molécula de los carbohidratos. Por estas definiciones los carbohidratos son polihidroxialdehídos o polihidroxicetonas, compuesto que contienen un gran número de grupos oxhidrilo ($-OH$) y una función carbonilo aldehídico o cetónico. Por lo tanto, los carbohidratos son polihidroxialdehídos, polihidroxicetonas o compuestos que por hidrólisis se convierten en aquellos. Un carbohidrato que no es hidrolizable a compuestos más simples se denomina monosacárido. Un carbohidrato que por hidrólisis da dos o más moléculas de monosacárido se conoce como polisacáridos.

Un monosacárido se puede clasificar aún más: si contiene un grupo aldehído es una aldosa, si contiene una función cetona, es una cetosa. Según el número de átomos de carbono que

contenga, el monosacárido se conoce como triosa, tetrosa, pentosa, hexosa y así sucesivamente. Una aldohexosa, por ejemplo, es un monosacárido de seis carbonos con una función aldehído, mientras que una cetopentosa es un monosacárido de cinco carbonos con una función cetona.

2.6 REACCIONES QUÍMICAS DE LOS CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos al contener un grupo aldehído o un grupo cetona y varios hidroxilos, están sujetos a cambios químicos debido a estas funciones que se encuentran en su estructura, los cuales se ven afectados por ácidos, por bases, por temperatura y por agentes oxidantes o reductores, que provocan una serie de reacciones importantes para los azúcares.

2.6.1 REACCIONES EN MEDIO ÁCIDO

En ácidos minerales diluidos se verifica una reversión de la hidrólisis glucosídica, es decir, la formación de glucósidos según un mecanismo conocido como reversión. En el caso de la glucosa, se ha demostrado la formación de todos los disacáridos posibles, y aún oligosacáridos de mayor número de restos de glucosa. Sin embargo, los principales son iso-maltosa y gentobiosa. En general, la isomerización de los azúcares en condiciones ácidas es muy lenta, comparada con la que se efectúa en medio alcalino. Las reacciones de deshidratación son más rápidas y se aceleran considerablemente a altas temperaturas. Los ácidos inorgánicos calientes producen moléculas cíclicas consideradas productos de degradación. Las hexosas generan hidroximetilfurfural, mientras que las pentosas producen 2-furaldehído.

2.6.2 REACCIONES EN MEDIO BÁSICO

En presencia de bases, tanto aldosas como cetosas son fácilmente enolizadas. Así por ejemplo, mediante el 1,2-enodiol común, los tres azúcares glucosa, fructosa y manosa se encuentran en equilibrio, en pequeñas concentraciones también aparece psicosa en equilibrio con fructosa por medio de una enolización en posición 2,3; mediante la isomerización resultante, conocida como transposición de Lobry de Bryn-van Ekenstein, puede obtenerse a partir de un solo azúcar cantidades variables de los otros isómeros. Esta reacción que también se verifica en disacáridos, juega un papel importante en la transformación de aldosas en cetosas. Así puede obtenerse lactulosa a partir de lactosa utilizando aluminato sódico como catalizador.

2.7 EFECTO DE LA TEMPERATURA

Las altas temperaturas aceleran considerablemente todos los cambios que le suceden a los monosacáridos en condiciones tanto ácidas como alcalinas; pero a pH neutro, catalizan las reacciones de caramelización y de oscurecimiento no enzimática. El calentamiento de los azúcares también favorece algunos mecanismos que implican la polimerización y la epimerización de los monosacáridos. Por ejemplo, cuando la glucosa se somete a tratamientos intensos se propicia la síntesis de oligosacáridos tales como gentiobiosa, isomaltosa, maltosa, panosa, celobiosa y otros más complejos.

2.8 MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS

La dependencia del petróleo y su pronta e inevitable escasez, han hecho que se realicen investigaciones e innovaciones para la búsqueda y el aprovechamiento de materiales alternativos al petróleo. La principal materia prima usada en la actualidad como una alternativa renovable de energía es la biomasa, cuya producción anual a nivel mundial es de 68.08 GTEP (GTEP = 10^9 TEP, TEP = toneladas equivalentes de petróleo)²³.

El uso de biomasa o de residuos lignocelulósicos como una alternativa importante de obtención de energía renovable, presenta beneficios tales como el uso de residuos de proceso, su aprovechamiento y así mismo un menor deterioro al ambiente, ya que estos residuos no se tiran y son reutilizados en la generación de energía. El interés actual por el uso de estos materiales se basa en la necesidad de aprovechar de forma racional las fuentes de materias primas naturales y renovables para obtener una amplia gama de productos adecuados a la gran demanda de energía actual y futura. Un uso eficiente de los constituyentes de biomasa y de residuos, la limitación en el impacto ambiental y la economía del proceso son factores clave en la búsqueda de métodos alternativos.

Entre los procesos alternativos para su aprovechamiento destacan los basados en la obtención de disoluciones de azúcares y su posterior transformación biotecnológica a una gran variedad de productos de alto valor agregado, que van desde moléculas sencillas (como ácido láctico, ácido cítrico, xilitol, etanol, etc.) a otras complejas (aromas o colorantes alimentarios) y una cantidad enorme de sustancias o compuestos útiles para la vida cotidiana.

2.8.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA

La composición química de los materiales lignocelulósicos es variada y heterogénea, por lo que es complicado aplicar un solo proceso a varios tipos de residuos o de materias primas para su tratamiento. Habrá que realizar una clasificación general de los tipos de componentes en dichos materiales.

Una primera división importante de la biomasa puede realizarse distinguiendo entre materiales no estructurales y materiales estructurales de la pared celular. Los materiales no estructurales comprenden principalmente a los constituyentes de los fluidos biológicos de la planta. Una característica distinguible es que son fáciles de separar de la materia prima, regularmente por medios meramente físicos y su porcentaje varía dependiendo del tipo de residuo.

Los materiales estructurales son celulosa, hemicelulosa y lignina, que forman la pared celular y dan rigidez y estructura a la planta. Presentan proporciones relativas del orden de 2:1:1 (celulosa:hemicelulosa:lignina). Estos valores son muy dependientes del material del que se trate, aunque es una aproximación válida.

La celulosa es un polímero lineal de fórmula $(C_6H_{10}O_5)_n$ constituido por unidades de glucosa unidas entre sí por enlaces 1-4. La glucosa es un monosacárido cíclico de seis átomos de carbono. En la naturaleza son muy frecuentes los polímeros de glucosa. La polimerización de glucosa conduce al almidón, compuesto vegetal de propiedades muy distintas a la celulosa. Las cadenas lineales de celulosa se asocian en sub-unidades, que a su vez se agrupan por enlaces de hidrógeno intermoleculares formando fibrillas.

Las fibrillas se unen en haces, dando lugar a secuencias alternadas de zonas amorfas y zonas cristalinas. La reacción química más característica de la celulosa es su hidrólisis a glucosa, mediante ácidos o enzimas, reacción que puede detenerse ahí o continuar para obtener productos de degradación para otros intereses.

La hemicelulosa es un conjunto de polímeros formados por distintos azúcares. Los principales monómeros que aparecen formando los polímeros son las hexosas: glucosa, manosa y galactosa; las pentosas: arabinosa y xilosa. Dentro de las hemicelulosas se distinguen normalmente entre la γ -celulosa (constituido por azúcares distintos a la glucosa) y la β -celulosa (constituida por unidades de glucosa). Las hemicelulosas son polímeros más cortos y más ramificados que la celulosa, o que le confiere una estructura amorfa.

La lignina es un polímero tridimensional amorfo compuesto principalmente por moléculas de fenilpropano unidas entre sí por enlaces tipo éter o carbono-carbono. Presenta en su estructura grupos hidroxilo y metoxilo, en cantidades muy dependientes del material considerado. Las funciones biológicas de la lignina son aglomerar las fibras de celulosas dándoles mayor rigidez, protegerlas de ataques externos (tanto ambientales como microbiológicos) y conferirle carácter hidrofóbico. Debido a estas funciones, presenta gran resistencia a los ataques químicos y biológicos, siendo uno de los polímeros naturales más resistentes. Todos los métodos empleados para aislarla provocan cambios en su estructura.

2.9 FRACCIONAMIENTO DE LOS MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS

El conjunto de procesos físicos y/o químicos que conducen a la separación selectiva de los polímeros que conforman la biomasa, son los procesos de fraccionamiento. Los polisacáridos, celulosa y hemicelulosa son hidrolizables en medio ácido con obtención de disoluciones azucaradas. La hemicelulosa es el polímero más fácilmente atacable mientras que la lignina se ve poco afectada por los ácidos y permanece como residuo sólido. Tratamientos alcalinos o tratamientos con agua caliente en condiciones moderadas disuelven solamente la hemicelulosa. Los polisacáridos son difíciles de oxidar, mientras que la lignina se degrada fácilmente por métodos oxidativos.

Los métodos de fraccionamiento pueden dividirse en tres grandes grupos:

- Métodos tradicionales: su primera etapa consiste en someter el material lignocelulósico a un pretratamiento que separa la totalidad de la lignina y parte de la hemicelulosa, dejando un residuo denominado pasta química de celulosa que se emplea comúnmente en la producción de papel. El separar la lignina es el objetivo básico de estos procesos, puesto que condiciona mucho la calidad del papel que se obtenga.
- Métodos modificados: la legislación es cada vez más restrictiva con las industrias contaminantes, por lo que la búsqueda de métodos alternativos menos o no contaminantes es una vía de investigación y desarrollo muy importante. Se buscan métodos de procesamiento alternativos que presenten un mayor rendimiento, menos efectos nocivos al ambiente y un mayor aprovechamiento de la materia prima. Algunos procesos son: auto-hidrólisis y explosión con vapor.
- Métodos alternativos: entre los métodos usados se encuentran: el proceso de hidrólisis de los polisacáridos y los métodos con ácidos.

2.10 HIDRÓLISIS DE LOS POLISACÁRIDOS

El mecanismo de la reacción de hidrólisis de los polisacáridos a monosacáridos en medios catalizados por ácidos procede por la ruptura del enlace en el que participa el oxígeno exocíclico, con la formación de ión carbonilo cíclico. En el caso de la hidrólisis, la formación de ión carbonilo se complica por los enlaces intermoleculares de las cadenas de celulosa (los que confieren cristalinidad a la estructura polimérica). Esto hace que la hidrólisis de las zonas amorfas de la celulosa transcurra mucho más deprisa que en las zonas cristalinas. En la misma línea, las hemicelulosas son hidrolizadas mucho más fácilmente que la celulosa.

De esta forma se pueden escoger las condiciones de operación, de forma que se ataque a las hemicelulosas (condiciones suaves) o a las dos fracciones (condiciones severas). Se distinguen así tres formas de actuar, según el fin que persigan:

- Solubilización de las hemicelulosas: denominado usualmente como prehidrólisis ácida. Se trata el material con ácidos diluidos y temperaturas elevadas que solubilizan las hemicelulosas. Aunque principalmente el ácido utilizado es el H_2SO_4 , pueden utilizarse otros suficientemente fuertes para generar el ión carbonilo y que la cinética de la reacción transcurra a velocidad aceptable.
- Solubilización global de todos los polisacáridos: se utilizan ácidos concentrados y temperaturas reducidas (20 – 50 °C), condiciones lo suficientemente severas para provocar la hidrólisis total de la celulosa y la hemicelulosa, dejando la lignina como residuo sólido.
- Solubilización en dos etapas de la hemicelulosa y de la celulosa: el material se trata en dos etapas, una primera etapa de prehidrólisis ácida con ácido diluido que solubiliza la hemicelulosa, que se separa del residuo sólido formado por celulosa y lignina, y una segunda etapa posterior con ácido concentrado que solubiliza la celulosa dejando la lignina en estado sólido.

2.10.1 PROCESOS CON ÁCIDOS DILUIDOS

Se ha propuesto secuencias de reacciones para la hidrólisis de la madera por disoluciones ácidas de la forma que se muestra en la Figura 5:

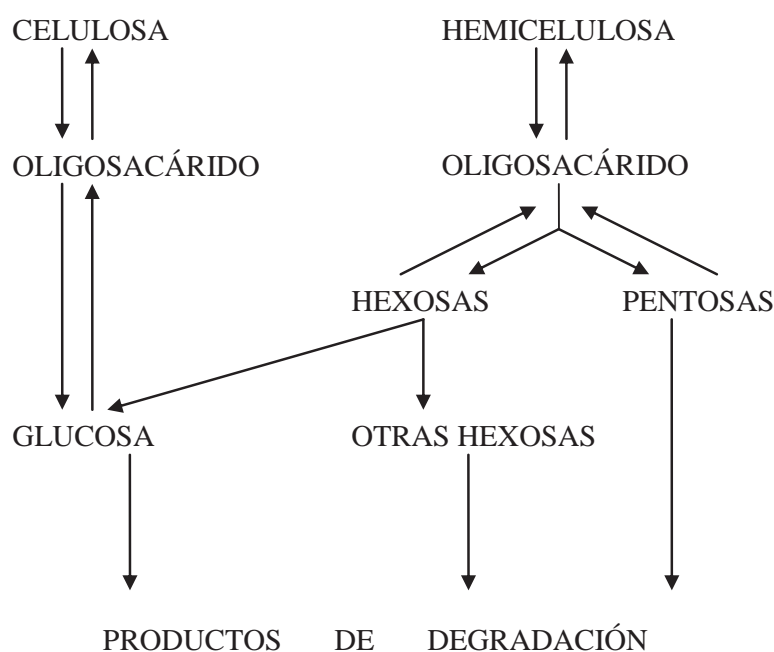


Figura 5 Productos de degradación de la celulosa y hemicelulosa

Hemicelulosa y celulosa, dos de los tres principales componentes de la biomasa, son polímeros a base de carbohidratos que se puede dividir en azúcares de peso molecular bajo por hidrólisis usando un catalizador ácido. La descomposición de los fragmentos C6 (por ejemplo, glucosa) conduce a la 5-hidroximetil-2-furaldehído como el producto intermedio, que posteriormente se re-hidrata para dar ácido levulínico y ácido fórmico como los productos finales. Hidrólisis de los azúcares de la hemicelulosa de C5 puede llevar a furfural. Además, otros constituyentes de la hemicelulosa pueden producir productos secundarios como el ácido acético y ácido galacturónico. La lignina, el tercer componente principal de la biomasa lignocelulósica, es una matriz polimérica con varios fenoles sustituidos presentes. Durante la hidrólisis ácida, varios componentes derivados de la lignina pueden formarse, aumentando la complejidad del producto. El esquema de reacción

simplificado está dado en la Figura 6. No se muestran explícitamente las reacciones que conducen a los materiales poliméricos insolubles no deseados, llamados huminas²⁴.

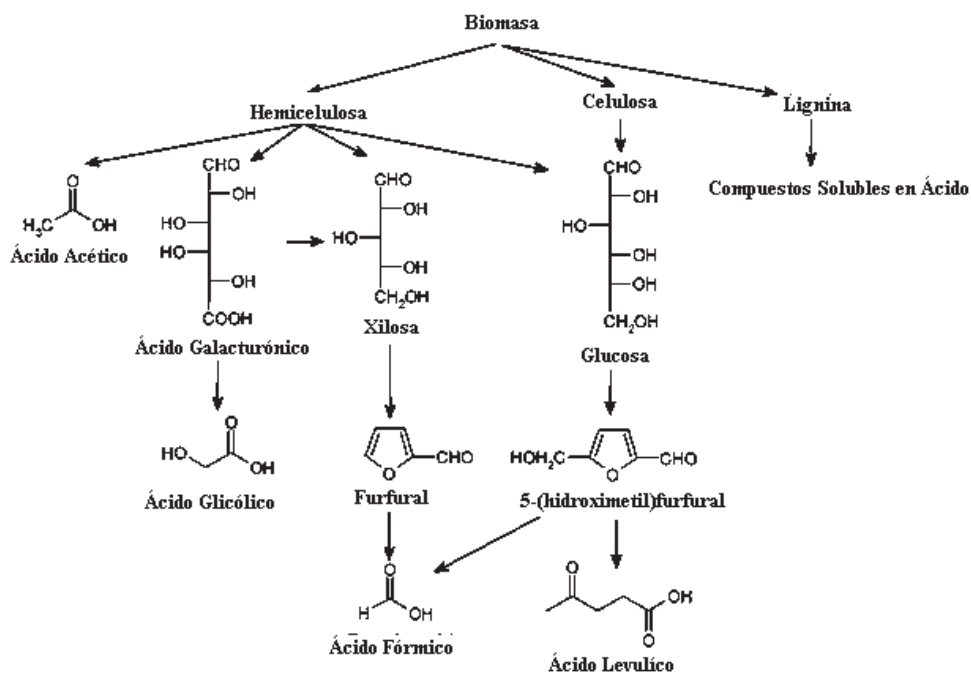


Figura 6 Productos de degradación de la biomasa²³

La hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa siguen procesos de hidrólisis análogos, aunque la celulosa necesita condiciones mas severas. El objetivo del tratamiento con ácidos diluidos es la solubilización de las hemicelulosas, dejando intactas las fracciones de celulosa y lignina.

La biomasa molida (tamaño de partícula 0.5 mm) se somete al proceso de hidrólisis con ácidos diluidos, generando una corriente que contiene una fracción sólida, mayormente compuesta de celulosa y lignina, y una líquida, que contiene productos de la despolimerización del xilano presente en la hemicelulosa. La hemicelulosa de maderas duras, bagazo y rastrojos de vegetales, están compuestos principalmente de pentosas, xilosa y arabinosa, y una pequeña fracción de hexosas, glucosa y manosa.

Por esta razón, en condiciones favorables para la hidrólisis de un material lignocelulósico se obtienen jarabes de hemicelulosa que contienen pentosas (xilosa y arabinosa) y hexosas (principalmente glucosa y manosa), además de presentar una concentración de 3–10 g/L de ácido acético, pequeñas concentraciones de furanos (furfural e hidroximetil-furfural) y fenólicos derivados de la hidrólisis parcial de la lignina¹⁵.

2.10.2 PROCESOS CON ÁCIDOS CONCENTRADOS

Los ácidos concentrados llegan a atacar los puentes de hidrógeno existentes entre las cadenas de celulosa, destruyendo su cristalinidad. Con ello se puede formar el ión carbonilo intermedio de la etapa de hidrólisis y ésta transcurrir a temperatura moderada (20 – 50 °C). Con esto se reduce la reacción de degradación, lo que permite rendimientos aceptables de glucosa en tiempos relativamente cortos (20 – 60 min).

Los ácidos empleados con esta metodología son el ácido sulfúrico, clorhídrico y fluorhídrico. El sulfúrico presenta problemas relativos a su recuperación. El uso de ácido clorhídrico tiene la ventaja de su fácil recuperación, dada su volatilidad, pero su alta corrosividad eleva los costos de mantenimiento. El fluorhídrico es también volátil, siendo fácil su recuperación, pero su peligrosidad y elevado precio juegan en su contra.

2.11 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)

Antes, la cromatografía de líquidos se llevaba a cabo en columnas de vidrio con diámetros de 1 a 5 cm y longitudes de 50 a 500 cm. Para asegurar unos caudales razonables, el diámetro de las partículas de la fase estacionaria sólida por lo general era de 150 a 200 μm , incluso así, los caudales eran bajos, llegando a unas pocas décimas de mililitro por minuto. En consecuencia, los tiempos de separación eran largos, a menudo de varias horas. En las primeras etapas del desarrollo de la cromatografía de líquidos, un factor importante para mejorar la eficiencia de la columna era disminuir el tamaño de las partículas de los rellenos, cuando se desarrolló la tecnología adecuada para producir y utilizar rellenos de

tamaños del orden de 3 a 10 μm . Este tipo de rellenos requiere de una instrumentación sofisticada para poder trabajar a altas presiones, lo que contrasta notablemente con las simples columnas de vidrio de la cromatografía de líquidos clásica cuyo caudal se debe a la gravedad.

La cromatografía de alta resolución (HPLC, High-performance liquid chromatography) es algo novedoso, puede operar a presiones mayores a 5000 psi (340 atm) y en tiempos de análisis relativamente cortos. Al desarrollarse la tecnología para generar los rellenos de tamaño de partícula más pequeños, al mismo tiempo, se desarrollaron materiales que fueran capaces de soportar presiones tan altas. Debido a las altas temperaturas normalmente usadas en los equipos de HPLC, los tipos de soporte de fase estacionaria son limitados y la separación es llevada a cabo por la variación en la composición de la fase móvil. Con volúmenes pequeños en la columna y velocidades de flujo relativamente altas, se pueden realizar fácilmente cambios en el solvente.

Los componentes importantes y esenciales en un HPLC son:

- Sistema de bombeo de alta presión: la bomba es una parte crítica, ya que es la que proporciona la presión en el sistema que puede alcanzar hasta 5000 psi, con una velocidad de flujo variable y reproducible con una pulsación mínima. Un factor importante es el flujo constante, si el área del pico es usado para cuantificar el análisis; puede ser obtenido mediante pistones múltiples.
- Una columna corta con una amplia variedad de fase estacionaria.
- Un sistema de detección sensible en línea.

La cromatografía de líquidos de alta eficacia o resolución, es la técnica analítica más ampliamente utilizada. Las razones de su uso constante, es su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para la separación de especies no volátiles o termolábiles y, sobre todo, su gran aplicabilidad a sustancias que son de primordial interés en la industria, en muchos campos de la ciencia y para la sociedad en general. Algunos ejemplos de estos materiales incluyen: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, fármacos, terpenoides,

plaguicidas, antibióticos, esteroides, especies órgano-metálicas y una variedad de sustancias inorgánicas.

El HPLC se utiliza ampliamente para la separación de mono y oligosacáridos. Ofrece análisis rápidos y cuantificación precisa. Sin embargo, un problema inherente en el análisis del HPLC es que los azúcares no contienen cromóforos compatibles para su detección por sistemas estándares UV/Vis, por lo que se han utilizado, alternativamente, otros métodos de detección como los de índice de refracción.

2.12 ESPECTROFOTOMETRÍA

Los métodos espectrofotométricos figuran entre las técnicas analíticas instrumentales más conocidas. La absorción de radiación ultravioleta y visible y la de fluorescencia molecular tienen una amplia aplicación en la medición cuantitativa de procesos relacionados con distintos campos de las ciencias naturales. Este tipo de métodos de análisis se basan en la medición de la luz y otras formas de radiación electromagnética, al estudio de las interacciones que suceden entre la radiación y la materia se denomina espectroscopia. Los métodos espectroscópicos de análisis miden la cantidad de radiación producida o absorbida por las especies atómicas o moleculares que se analizan. Estos métodos también se clasifican de acuerdo con la región del espectro electromagnético que se utiliza para la medición. Estas regiones incluyen los rayos γ , X, ultravioleta (UV), visible, infrarrojo (IR), las microondas y radiofrecuencias (RF). Además de la radiación electromagnética la espectroscopia también incluye técnicas de espectroscopía acústica, de masa y electrónica. Los métodos espectro químicos también han aportado las herramientas que posiblemente, son las que más se utilizan para elucidar estructuras moleculares, así como para identificar y obtener la composición cuantitativa y cualitativa de sustancias orgánicas e inorgánicas.

La radiación electromagnética es una forma de energía que se transmite por el espacio a velocidades muy altas. A la radiación electromagnética de la región UV/visible en ocasiones, a la del IR, la llamamos luz; aunque en sentido estricto, el término es apropiado

sólo para la radiación visible. La radiación electromagnética puede describirse como una onda que tiene propiedades de longitud de onda, frecuencia, velocidad y amplitud. La radiación electromagnética puede presentarse como oscilaciones sinusoidales perpendiculares de campos magnéticos y eléctricos, como se muestra en la Figura 7:

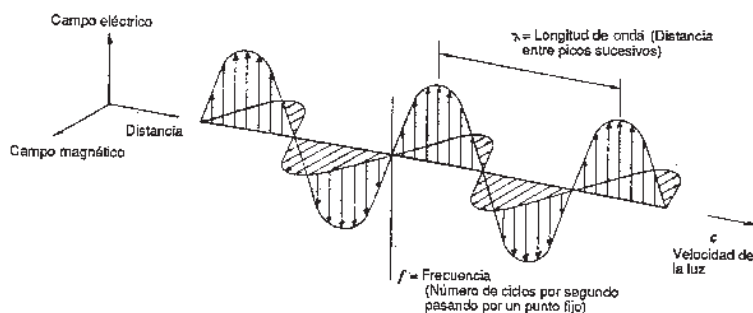


Figura 7 Representación de una onda electromagnética.

En el vacío, la luz viaja a su máxima velocidad, esta velocidad que se representa con el símbolo c , tiene un valor estimado de $2.99792 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$. La velocidad de la luz en el aire es de sólo un 0.03% menos que en el vacío. La velocidad de la luz en cualquier otro medio es menor que c , debido a las interacciones del campo electromagnético de la radiación con los electrones de los átomos o moléculas del medio. Dado que la frecuencia de la radiación es constante, la longitud de onda debe disminuir cuando pasa del vacío a un medio que contenga materia. En muchos tipos de interacción de la radiación electromagnética con la materia, es más adecuado considerar a la luz como paquete de fotones o cuantos, que también se consideran con propiedades de longitud de onda, frecuencia y número de onda. Estas interacciones son especialmente importantes en la espectroscopía, ya que son las que dan lugar a transiciones entre los diferentes niveles de energía de las especies químicas.

Otros tipos de interacciones, como la reflexión, refracción, la dispersión elástica, la interferencia y la difracción, están más relacionadas con las propiedades gruesas de la materia que con los niveles de energía de moléculas específicas o de átomos. Los tipos de interacción dependen estrechamente de la energía de la radiación que se utiliza y de la forma en que esta se detecta.

El espectro electromagnético abarca un intervalo muy amplio de energías (frecuencias), y por lo tanto, de longitudes de onda. Las principales regiones en que se divide el espectro se muestra en la Figura 8:

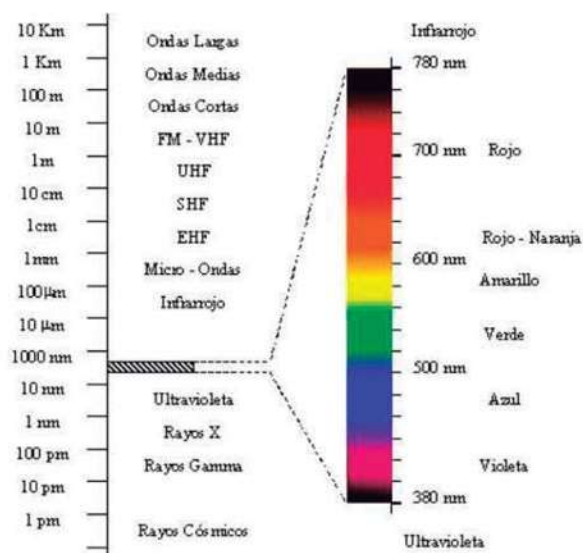


Figura 8 Espectro electromagn3tico

Observe que la regi3n visible, que percibe el ojo humano, es s3lo una parte m3nima de todo el espectro. La luz visible se distingue de los dem3s tipos de radiaci3n, tales como los rayos gamma (γ) o las ondas de radio, tan s3lo en la energ3a (frecuencia) de sus fotones. As3 mismo, se muestran las regiones del espectro utilizadas en los an3lisis espectrosc3picos, las transiciones at3micas y moleculares debidas a las interacciones de la radiaci3n con una muestra.

Al utilizar las interacciones de la radiaci3n con la materia a fin de obtener informaci3n de una muestra, esta se estimula de alguna forma, ya sea aplicando energ3a en forma de calor, de electricidad, de luz, de part3culas o somet3ndola a alguna reacci3n qu3mica. Antes de aplicar cualquiera de estos est3mulos, la sustancia a determinar o analito est3 predominantemente en su nivel m3s bajo de energ3a o estado fundamental. El est3mulo induce una transici3n determinada a un estado de energ3a superior o estado excitado. Para obtener informaci3n del analito o sustancia a determinar, como su naturaleza o concentraci3n, se mide la radiaci3n electromagn3tica emitida cuando 3ste regresa a su

estado basal, o puede medirse la cantidad de radiación electromagnética absorbida como consecuencia de la excitación.

Cuando la muestra se estimula con una fuente de radiación electromagnética externa, puede tener lugar varios procesos. Por ejemplo, la radiación puede ser dispersada o reflejada. Lo más importante es que la muestra absorba parte de la radiación incidente para que se promueva la transición del analito hacia un estado excitado. En la espectroscopía de absorción, se mide la cantidad de luz absorbida en función de la longitud de onda utilizada, lo cual puede dar información cualitativa y cuantitativa de la muestra.

Cada especie molecular tiene la capacidad de absorber su propia frecuencia característica de la radiación electromagnética. Este proceso transfiere energía a la molécula y provoca una disminución en la intensidad de la radiación electromagnética incidente, por consiguiente, la absorción de la radiación atenúa el rayo incidente de acuerdo a la ley de la absorción o también conocida como la ley de Lambert y Beer que proporciona información cuantitativa de cómo es que la atenuación de la radiación depende de la concentración de las moléculas que la absorben y de la distancia que recorre el rayo en el medio absorbente.

$$A = \log \frac{P_0}{P} = abc \quad (3)$$

De acuerdo con la ley de Beer (3), la absorbancia está relacionada linealmente con la concentración c de las especies absorbentes y con la longitud de la trayectoria de la radiación b en el medio absorbente; en este caso, a es una constante de proporcionalidad llamada absortividad.

Los instrumentos ópticos hacen referencia a los instrumentos analíticos de absorción. La mayoría de los instrumentos espectroscópicos de las regiones UV/vis e IR incluyen cinco componentes:

- Una fuente estable de energía radiante: existen muchas fuentes de radiación, de acuerdo a la longitud de onda que se va a usar, depende la fuente de radiación; también deben de proporcionar energía continua cuya potencia no cambie bruscamente en un intervalo de longitudes de onda. Algunos ejemplos son: lámparas de deuterio e hidrógeno, que es utilizada para longitudes de onda del alcance de la región ultravioleta; lámpara de wolframio, utilizada para la región del infrarrojo cercano.
- Un selector de longitud de onda que aísla una región del espectro para hacer la medición: estos elementos aumentan mucho la selectividad y sensibilidad de un instrumento óptico. Muchos equipos usan un monocromador o un filtro para aislar la banda de la longitud de onda deseada de manera que sólo se detecta y se mide la longitud de onda que se desea.
- Uno o más recipientes para la muestra: comúnmente llamadas celdas o cubetas, deben construirse de un material que deje pasar la radiación de la región espectral de interés. Por ejemplo, para la región ultravioleta, se requiere el uso de cuarzo o sílice fundida, ya que permite el paso de las longitudes de onda de esta región, no afectando la absorción o desorción de la radiación.
- Un detector de radiación, que convierte la energía radiante en una señal eléctrica que puede medirse.
- Un sistema que procesa y lee la señal, que consta, actualmente de una computadora.

Actualmente los instrumentos analíticos que se basan en la espectroscopía, tienen una tecnología muy avanzada, gracias a los materiales desarrollados especialmente para su uso y a la electrónica que hace una función vital en el funcionamiento de los equipos de análisis. Aunque el principio de funcionamiento aun es basado en la absorción y desorción de energía por parte de la materia, los equipos cada día son más sofisticados y gracias a esto, podemos realizar análisis más amplios y detallados de nuestras muestras.

CAPÍTULO 3.

DESARROLLO DEL TRABAJO.

3.1 MATERIA PRIMA.

Durante la hidrólisis ácida de los compuestos lignocelulósicos se liberan tanto hexosas como pentosas¹⁹. El monosacárido obtenido de la celulosa es la glucosa; la xilosa y arabinosa son los dos azúcares que se obtienen principalmente de la hemicelulosa²⁵. Por lo cual se utilizaron estos tres azúcares en la hidrólisis ácida en el presente trabajo. La lignina no sufre cambios con este tratamiento químico, por lo que no se consideró en los experimentos.

Los carbohidratos fueron adquiridos a diferentes empresas con las siguientes especificaciones (Tabla 2):

Tabla 2 Especificaciones de los azúcares utilizados para la hidrólisis ácida

Azúcar	Empresa	Pureza
Glucosa	Sigma	Minima 99%
Xilosa	Hycel	Minima 98%
Arabinosa	Sigma	Minima 99%

Como catalizador para las hidrólisis, se utilizó ácido sulfúrico (H_2SO_4) en diferentes concentraciones.

3.2 HIDRÓLISIS DE LOS AZÚCARES

La eficiencia en la hidrólisis de materiales lignocelulósicos depende de la concentración de catalizador, tiempo de reacción, concentración de enzimas y actividades hemicelulósicas²⁶. Para nuestro estudio, al realizarse una hidrólisis química ácida, sólo se tendrán en consideración la concentración de catalizador, el tiempo de reacción y la temperatura de reacción.

De acuerdo a la hidrólisis ácida del bagazo del *agave tequilana* realizada por Saucedo-Luna y colaboradores²⁷, las condiciones de reacción se tomaran de acuerdo a este proceso para poder analizar el comportamiento de los azúcares a las mismas condiciones de reacción. Las condiciones de reacción establecidas son: para el ácido sulfúrico, en concentraciones de 1 y 2 % de la mezcla a hidrolizar, los valores de temperatura tomados fueron 125, 150, 175 y 200 °C. Por último, los tiempos de reacción fueron de 0, 15, 30 y 45 minutos. El total de la mezcla a hidrolizar fue de 25 g de mezcla (ácido sulfúrico, agua y azúcares) como se muestra en la tabla 3 y 4.

Tabla 3 Cantidades de materia prima en la mezcla a hidrolizar al 1% de catalizador

Sustancia	Cantidad (g)
H ₂ SO ₄	0.25
Azúcares	2.50
H ₂ O	22.25
Total	25.00

Tabla 4 Cantidades de materia prima en la mezcla a hidrolizar al 2% de catalizador

Sustancia	Cantidad (g)
H ₂ SO ₄	0.50
Azúcares	2.50
H ₂ O	22.00
Total	25.00

3.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS

El tiempo de reacción, la temperatura de reacción y el porcentaje de catalizador en la mezcla están interrelacionados, de este modo un análisis de multi-variables o factores es requerido. Este obstáculo puede ser librado por el uso de la metodología de superficie de respuesta que analiza el efecto de las múltiples variables, independientemente o en combinación para un proceso dado con el mínimo número de experimentaciones conservando un alto grado de significancia estadística²⁸.

Con el objeto de evaluar la importancia e impacto en el proceso de las variables consideradas se realizó un diseño de experimentos multinivel utilizando el programa STATGRAPHICS Centurión XV. Las variables independientes consideradas fueron la temperatura (°C), catalizador (%) y el tiempo de reacción (min). Como variable respuesta se tomó la concentración de azúcar residual (g/l). El diseño de experimentos se estructuró de la forma siguiente:

Número de factores experimentales: 3

Número de bloques: 2

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 64

Aleatorizar: Sí.

Tabla 5 Factores experimentales del diseño de experimentos

Factores	Valor Bajo	Valor Alto	Niveles	Unidades
Temperatura	125.0	200.0	4	°C
Tiempo	0.0	45.0	4	Minutos
Catalizador	1.0	2.0	2	%

Tabla 6 Factor de respuesta del diseño de experimentos

Respuestas	Unidades
Azúcar Residual	g/l

Con los factores experimentales se generó una matriz de experimentación (Tabla 7) para las correspondientes corridas de las experimentaciones de la hidrólisis ácida de los azúcares.

Tabla 7 Matriz de experimentación para la hidrólisis ácida de azúcares

Bloque	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Catalizador (%)
1	175.0	0.0	1.0
1	150.0	45.0	1.0
1	150.0	0.0	2.0
1	175.0	30.0	1.0
1	175.0	30.0	2.0
1	200.0	30.0	2.0
1	125.0	45.0	1.0
1	150.0	30.0	1.0
1	125.0	0.0	1.0
1	175.0	15.0	2.0
1	200.0	0.0	1.0
1	200.0	0.0	2.0
1	125.0	15.0	2.0
1	150.0	15.0	1.0
1	175.0	45.0	1.0
1	175.0	45.0	2.0
1	125.0	15.0	1.0
1	200.0	15.0	2.0
1	125.0	45.0	2.0
1	150.0	30.0	2.0
1	150.0	0.0	1.0

“Degradación de Azúcares por Hidrólisis Ácida”

1	200.0	45.0	1.0
1	175.0	15.0	1.0
1	200.0	30.0	1.0
1	200.0	15.0	1.0
1	150.0	45.0	2.0
1	125.0	0.0	2.0
1	125.0	30.0	1.0
1	175.0	0.0	2.0
1	200.0	45.0	2.0
1	150.0	15.0	2.0
1	125.0	30.0	2.0
2	200.0	45.0	1.0
2	125.0	15.0	2.0
2	175.0	0.0	1.0
2	150.0	15.0	2.0
2	200.0	15.0	2.0
2	175.0	0.0	2.0
2	200.0	0.0	2.0
2	150.0	45.0	2.0
2	150.0	0.0	1.0
2	150.0	30.0	1.0
2	175.0	15.0	2.0
2	175.0	30.0	1.0
2	125.0	0.0	1.0
2	200.0	15.0	1.0
2	175.0	15.0	1.0
2	150.0	30.0	2.0
2	200.0	0.0	1.0
2	125.0	45.0	2.0
2	150.0	0.0	2.0
2	200.0	45.0	2.0

“Degradación de Azúcares por Hidrólisis Ácida”

2	125.0	0.0	2.0
2	125.0	30.0	1.0
2	175.0	45.0	2.0
2	200.0	30.0	2.0
2	125.0	15.0	1.0
2	150.0	15.0	1.0
2	125.0	30.0	2.0
2	200.0	30.0	1.0
2	150.0	45.0	1.0
2	175.0	30.0	2.0
2	125.0	45.0	1.0
2	175.0	45.0	1.0

Las muestras se llevaron a cabo utilizando un sistema de reactores múltiples (Parr Instruments, Modelo 500) provisto con 6 reactores con control independiente automatizado de temperatura, presión y agitación para cada reactor y un volumen de 75 ml cada uno.

El diagrama de flujo de proceso es mostrado en la Figura 9:

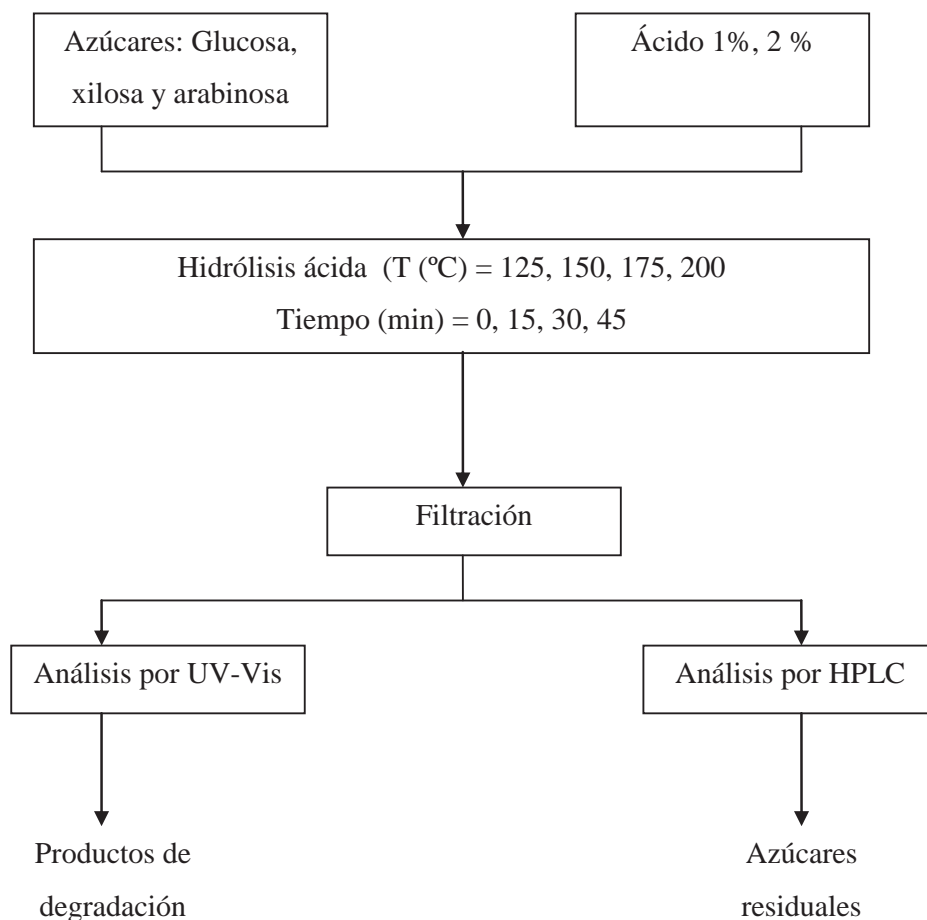


Figura 9 Diagrama de flujo del proceso de la hidrólisis ácida de azúcares

3.4 ANÁLISIS DE LOS HIDROLIZADOS

Después del filtrado, las muestras se preparan para su posterior análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Para el análisis de las muestras, se utilizó una columna MetaCarb 87 C de la empresa Varian Inc. con una longitud de 300 mm y un diámetro interno de 7.8 mm.

Las especificaciones del equipo utilizado son:

- Bomba cuaternaria Varian 350.
- Detector diferencial de índice de refracción Varian 800.

Las condiciones de operación utilizadas para el análisis fueron:

- Régimen de elusión: isocrático
- Presión: 122 atm
- Caudal de la fase móvil: 1 ml/min.
- Composición de la fase móvil: Agua
- Temperatura: 70 °C
- Volumen de inyección: 10 µl

Para la correcta cuantificación de los azúcares presentes en el hidrolizado, primero se realizaron estándares para cada uno de los monómeros para poder relacionar el área bajo la curva con la concentración de los carbohidratos.

Para la identificación de los productos de degradación se procedió a usar un espectrofotómetro marca Varian modelo Cary 50. En el cual primeramente se realizó un barrido para poder identificar en que longitud de onda se encontraban los elementos a identificar. Se prepararon estándares de concentración definida para la curva de calibración de concentración de los compuestos a identificar.

CAPÍTULO 4.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

4.1 COMPOSICIÓN INICIAL DE MEZCLA.

La composición inicial de la mezcla de azúcares a hidrolizar se muestra en la tabla 7.

Tabla 8 Composición inicial de la mezcla de azúcares a hidrolizar

Azúcar	Concentración (g/l)
Glucosa	59.42
Xilosa	73.63
Arabinosa	69.39

La solución azucarada se sometió a hidrólisis ácida manejándose dos concentraciones de ácido sulfúrico como catalizador al 1 y 2 %, a las temperaturas de 125, 150, 175 y 200 °C y con diferentes tiempos de reacción, los cuales fueron de 0, 15, 30 y 45 minutos.

4.2 COMPOSICIÓN FINAL DEL RESIDUO.

Al término de la hidrólisis ácida, se realizó el análisis de las cantidades residuales de los azúcares hidrolizados por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Los resultados se muestran a continuación. Analizaremos el efecto de cada una de las variables en la respuesta, después de la hidrólisis ácida de sacáridos.

Con la matriz de experimentación obtenida a partir del diseño de experimentos, se llevó a cabo la hidrólisis ácida de los azúcares a las diferentes condiciones de reacción. Estas experimentaciones dieron como resultado los datos mostrados en la Tabla 9:

Tabla 9 Concentraciones de azúcares degradados, g/l, en una primera experimentación.

Temperatura, °C	Tiempo, min	Catalizador, %	Azúcares residuales, g/l
125	0	1	88.97
150	0	1	77.91
175	0	1	10.48
200	0	1	0.00
125	15	1	93.00
150	15	1	62.14
175	15	1	14.82
200	15	1	38.49
125	30	1	79.11
150	30	1	54.86
175	30	1	9.02
200	30	1	4.57
125	45	1	44.13
150	45	1	39.24
175	45	1	14.98
200	45	1	3.73
125	0	2	162.69
150	0	2	121.68
175	0	2	29.89
200	0	2	0.89
125	15	2	85.42
150	15	2	66.56
175	15	2	3.20
200	15	2	0.18
125	30	2	84.37
150	30	2	51.72
175	30	2	48.83
200	30	2	2.56
125	45	2	82.55
150	45	2	38.20
175	45	2	1.38
200	45	2	5.16

El análisis correspondiente de los valores obtenidos en la experimentación de la hidrólisis ácida de azúcares se muestra en la Tabla 10:

Tabla 10 Análisis de varianza para azúcares degradados

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	35215.0	1	35215.0	106.86	0.0000
B:Tiempo	4183.97	1	4183.97	12.70	0.0017
C:% catalizador	701.532	1	701.532	2.13	0.1581
AA	535.545	1	535.545	1.63	0.2151
AB	2825.23	1	2825.23	8.57	0.0076
AC	1285.22	1	1285.22	3.90	0.0604
BB	16.5744	1	16.5744	0.05	0.8245
BC	374.33	1	374.33	1.14	0.2976
Error total	7579.83	23	329.558		
Total (corr.)	52717.2	31			

- R-cuadrada = 85.62 %
- Error estándar del est. = 18.1537

El diagrama de Pareto correspondiente (Figura 10) es:

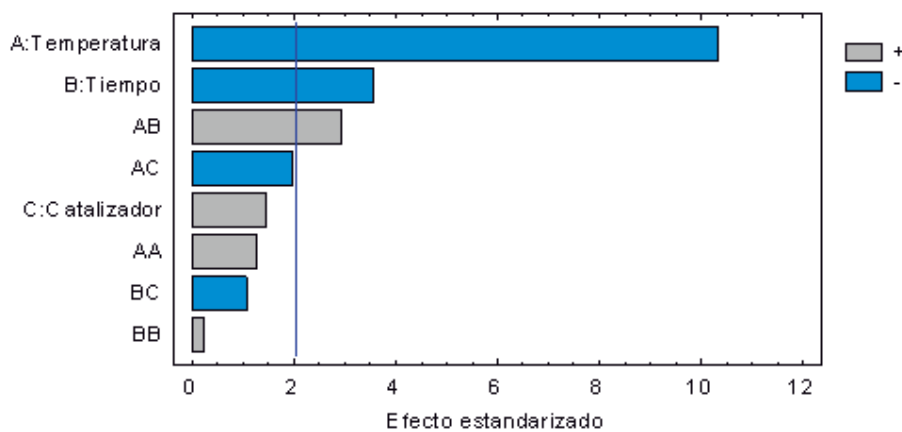


Figura 10 Diagrama de Pareto estandarizada para azúcar residual.

El comportamiento en un grafico de respuesta de los azúcares degradados se muestra a continuación (Figura 11).

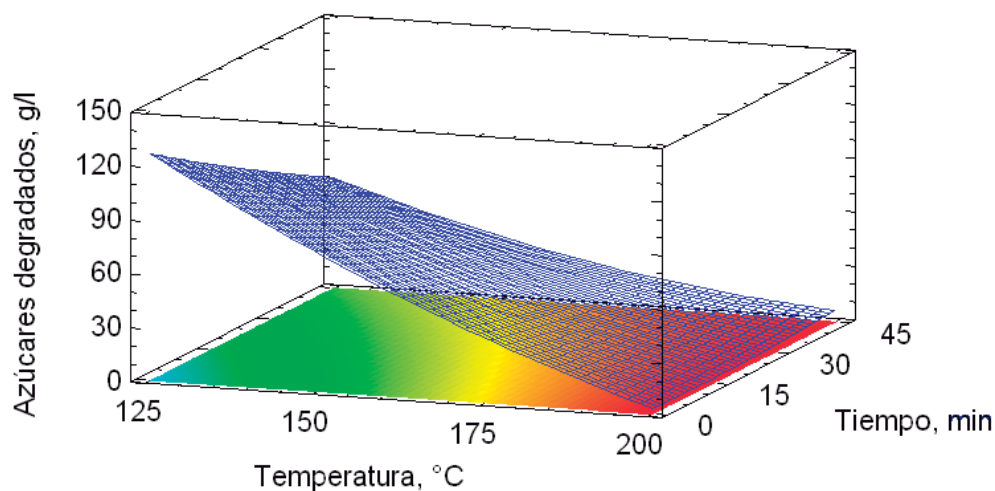


Figura 11 Comportamiento de los azúcares degradados a las diferentes condiciones de reacción.

Como podemos observar en el valor de $R^2 = 85.62\%$ el ajuste de los datos de azúcares degradados a las diferentes condiciones de reacción aun es bajo, por lo que se procedió a realizar experimentaciones para mejorar el ajuste de los datos de la hidrólisis ácida. Los datos obtenidos se muestran en las Tabla 11.

Tabla 11 Datos de azúcares residuales en una segunda experimentación para el ajuste de datos.

Temperatura, °C	Tiempo, min	Catalizador, %	Azúcares residuales, g/l
125	0	1	93.6
150	0	1	77.3
175	0	1	22.4
200	0	1	5.6
125	15	1	88.8
150	15	1	66.2
175	15	1	17.1
200	15	1	3.6
125	30	1	79
150	30	1	54.8
175	30	1	9.1
200	30	1	0.5
125	45	1	44
150	45	1	39.2
175	45	1	0
200	45	1	0
125	0	2	164.4
150	0	2	120
175	0	2	29.9
200	0	2	1.5
125	15	2	89.2
150	15	2	64.8
175	15	2	3.8
200	15	2	0.5
125	30	2	84.4
150	30	2	50.6
175	30	2	2.7
200	30	2	0.1
125	45	2	80.6
150	45	2	36.8
175	45	2	0.1
200	45	2	0

La Tabla 12, muestra el análisis de varianza para este ajuste de datos.

Tabla 12 Análisis de varianza para azúcares degradados en una segunda experimentación para el ajuste de datos.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	40998.4	1	40998.4	192.65	0.0000
B:Tiempo	6185.17	1	6185.17	29.06	0.0000
C:% catalizador	513.601	1	513.601	2.41	0.1340
AA	621.281	1	621.281	2.92	0.1010
AB	2428.35	1	2428.35	11.41	0.0026
AC	1046.53	1	1046.53	4.92	0.0367
BB	313.751	1	313.751	1.47	0.2370
BC	348.1	1	348.1	1.64	0.2137
Error total	4894.78	23	212.817		
Total (corr.)	57350.0	31			

- R-cuadrada = 91.46 %
- Error estándar del est. = 14.5882

El diagrama de Pareto correspondiente a estos datos (Figura 12):

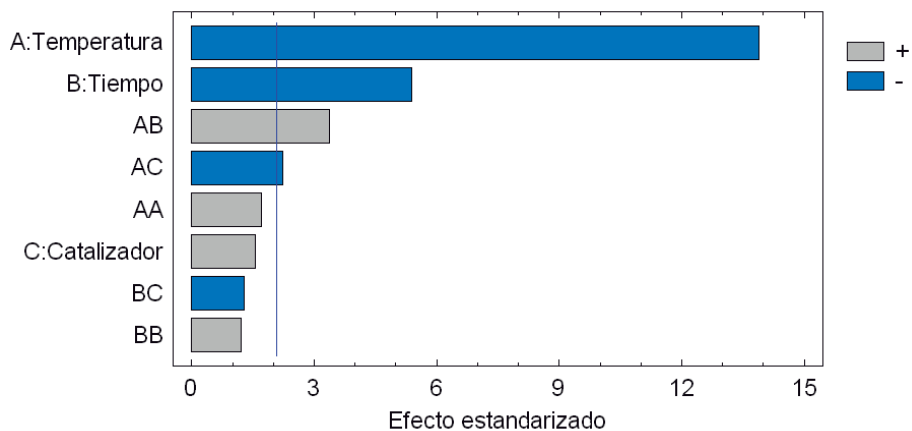


Figura 12 Diagrama de Pareto estandarizada para azúcar residual (Segunda experimentación)

Los azúcares residuales, g/l, en un grafico de superficie de respuesta tiene el siguiente comportamiento (Figura 13)

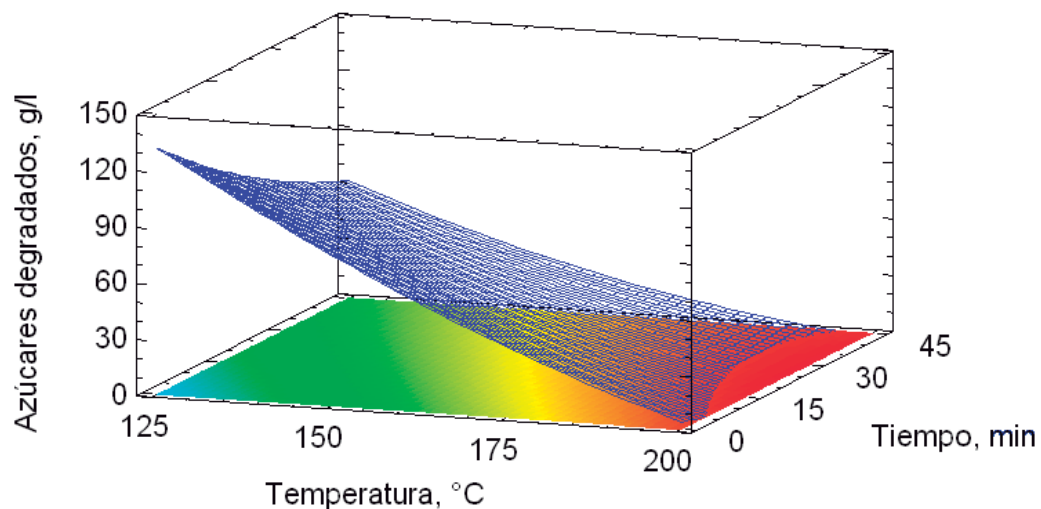


Figura 13 Comportamiento de los azúcares degradados a las diferentes condiciones de reacción en una segunda experimentación para el ajuste de datos.

Como podemos observar, el ajuste de los datos de la segunda experimentación nos proporciona mejores valores de R^2 . $R^2 = 91.46\%$ para mezclas de hidrolizados al 1 y 2% de catalizador.

4.3 EFECTO DE LAS VARIABLES DE REACCIÓN EN EL PROCESO DE HIDRÓLISIS ÁCIDA DE AZÚCARES

4.3.1 EFECTO DEL TIEMPO DE REACCIÓN

El tiempo de reacción influye en el punto en que la reacción llega al equilibrio, por lo que es importante conocer su efecto. Analizaremos el comportamiento en la concentración de cada azúcar hidrolizada a través del tiempo a una temperatura constante. En este trabajo se consideró que el tiempo cero es cuando se alcanza la temperatura deseada de reacción, debido a que a esa temperatura se evalúa la concentración de los azúcares en la mezcla hidrolizada.

4.3.1.1 GLUCOSA

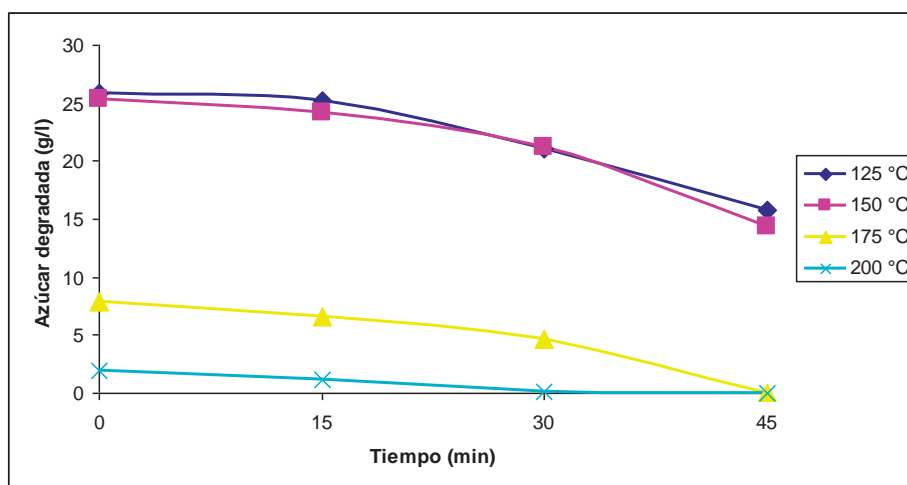


Figura 14 Efecto del tiempo de reacción en la concentración de glucosa residual a diferentes temperaturas de reacción al 1% de catalizador.

La concentración de glucosa residual al 1% de catalizador en la mezcla, decrece lentamente con respecto al tiempo a las diferentes temperaturas de reacción (Figura 14), en un promedio de 3.3, 3.6, 2.6 y 0.7 g/l a 125, 150, 175 y 200 °C respectivamente.

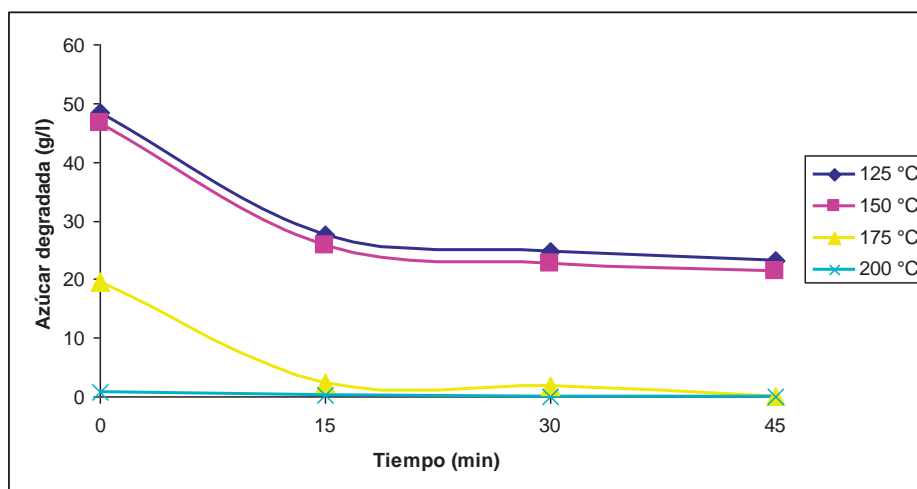


Figura 15 Efecto del tiempo de reacción en la concentración de glucosa residual a diferentes temperaturas de reacción al 2% de catalizador.

Como se puede observar (Figura 15) el incremento en el tiempo de reacción de 0 a 15 minutos en la mezcla al 2% de catalizador provoca un decremento en la concentración de glucosa residual considerable en tres temperaturas de reacción (125, 150 y 175 °C), mientras que para 200°C aun tiempo cero la cantidad de glucosa es casi nula. Posteriormente, la concentración de glucosa se mantiene constante con el incremento de tiempo a 30 y 45 minutos.

4.3.1.2 XILOSA

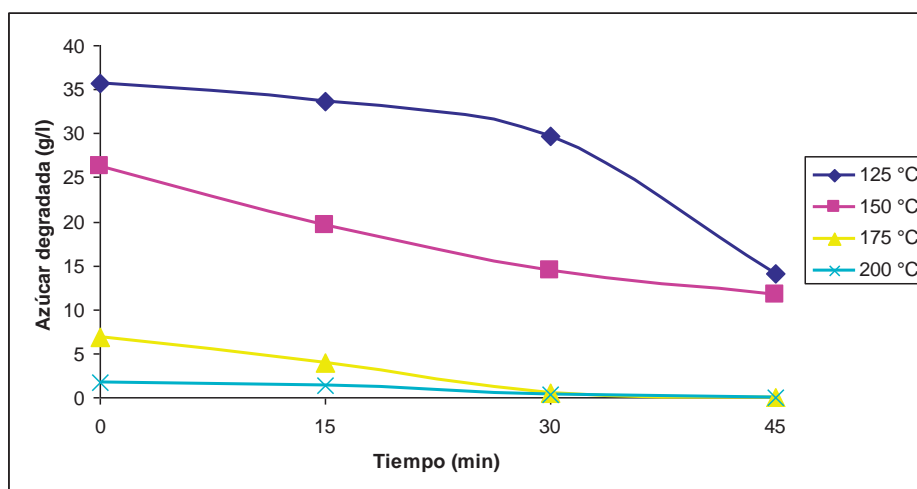


Figura 16 Efecto del tiempo de reacción en la concentración de xilosa residual a diferentes temperaturas de reacción al 1% de catalizador.

En la Figura 16, la degradación de la xilosa con el incremento del tiempo se ve poco afectada a las diferentes temperaturas de reacción.

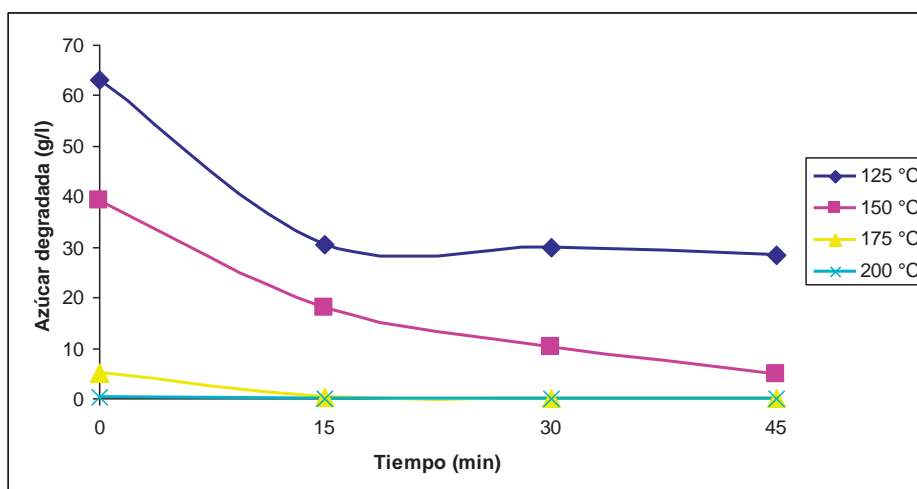


Figura 17 Efecto del tiempo de reacción en la concentración de xilosa residual a diferentes temperaturas de reacción al 2% de catalizador.

Al 2% de catalizador, la xilosa residual (Figura 17) en el intervalo de tiempo de 0-15 minutos presenta un descenso de hasta 24 g/l principalmente en las temperaturas de 125 y 150°C, no haciéndose notar este cambio de concentración a temperaturas superiores (175 y 200°C) donde la concentración al tiempo cero ya es baja para en un tiempo cero.

4.3.1.3 ARABINOSA

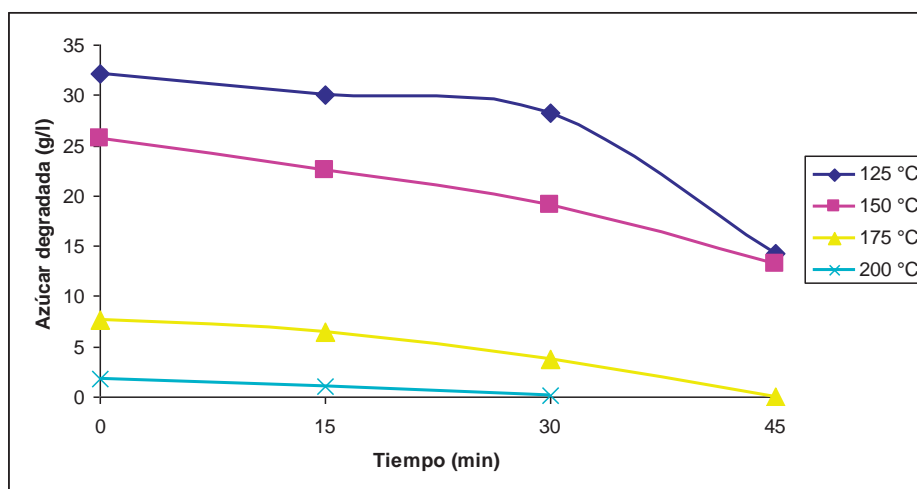


Figura 18 Efecto del tiempo de reacción en la concentración de arabinosa residual a diferentes temperaturas de reacción al 1% de catalizador.

A 125 y 150 °C, la degradación de la arabinosa con el aumento de tiempo de reacción aumenta en forma lenta. El tiempo de reacción no influye en gran medida en la degradación de azúcares al 1% de catalizador en la mezcla a hidrolizar.

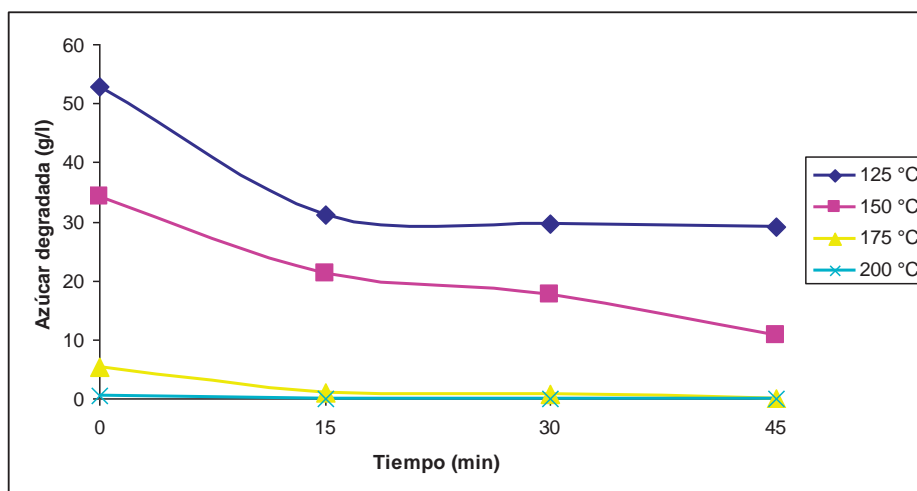


Figura 19 Efecto del tiempo de reacción en la concentración de arabinosa residual a diferentes temperaturas de reacción al 2% de catalizador.

El comportamiento en la concentración de la arabinosa (Figura 19), es nuevamente semejante a la glucosa y xilosa, donde a temperaturas bajas (125 y 150 °C) la concentración decrece en el intervalo de 0-15 minutos en forma brusca, para posteriormente decrecer lentamente, dándonos en este caso la importancia del tiempo de reacción en la concentración de azúcares, en específico en el lapso de tiempo de 0-15 minutos y a temperaturas bajas (125 y 150°C), ya que a temperaturas superiores (175 y 200 °C) la concentración de los azúcares es muy baja como para tener en cuenta, debido al objetivo de encontrar la mínima degradación de azúcares.

4.3.2 EFECTO DE LA TEMPERATURA

En las reacciones químicas, la temperatura es una variable importante, ya sea para iniciar la reacción, limitarla o controlarla. Por lo que observaremos el comportamiento de la concentración de los sacáridos hidrolizados a diferentes temperaturas, porcentaje de catalizador y a un tiempo constante. Recordamos que tomamos el tiempo cero, al momento en que se alcanza la temperatura deseada.

4.3.2.1 GLUCOSA

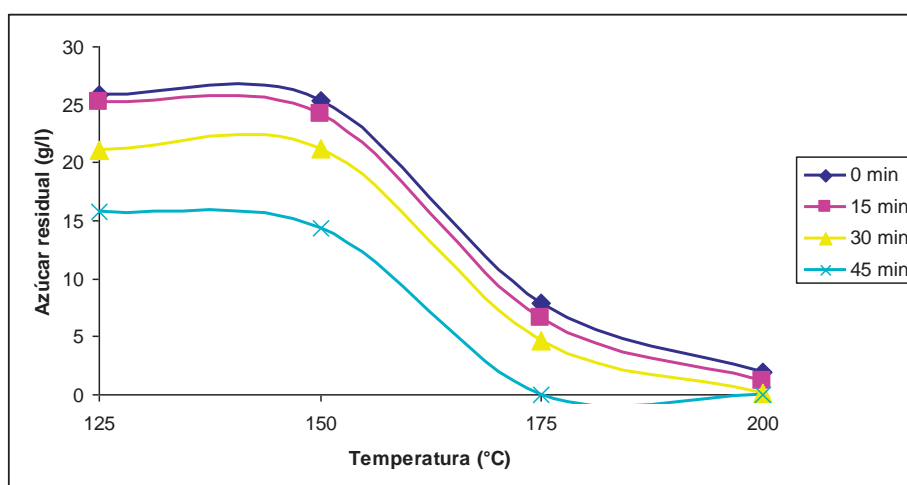


Figura 20 Efecto de la temperatura de reacción en la concentración de glucosa residual a diferentes tiempos de reacción y al 1% de catalizador.

La temperatura de reacción es una variable importante en toda reacción. La concentración de glucosa residual (Figura 20) muestra un decremento de un promedio de 16.5 g/l en el rango de 150 a 175 °C en los diferentes tiempos de reacción, por lo que la temperatura afecta de una manera similar a la concentración de glucosa independientemente del tiempo de reacción.

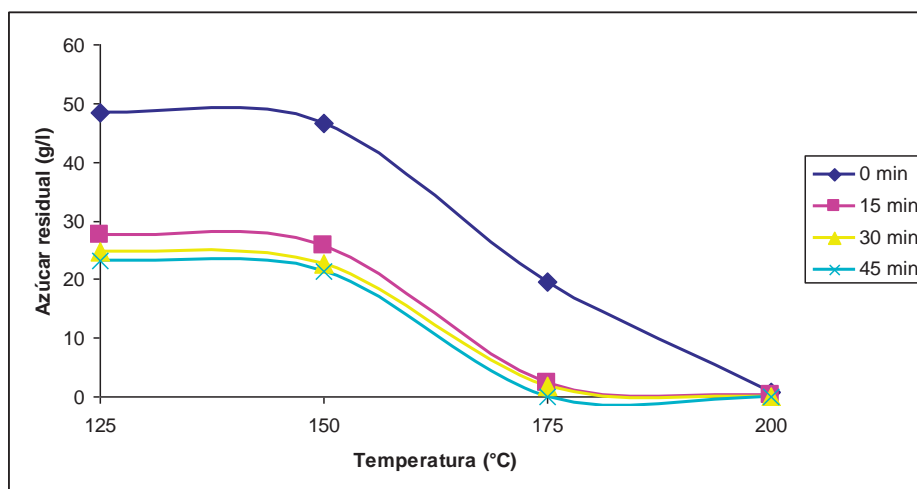


Figura 21 Efecto de la temperatura de reacción en la concentración de glucosa residual a diferentes tiempos de reacción y al 2% de catalizador.

Semejante al efecto de la temperatura en la concentración de glucosa al 1%, el comportamiento de la mezcla al 2% de catalizador (Figura 21), muestra el efecto en el aumento de temperatura de 150 a 175°C, mientras que antes y después de este rango de temperaturas la concentración de glucosa decrece en un promedio de 1.9 y 5.7 g/l en comparación al 23.1 g/l de el cambio de 150 a 175°C.

4.3.2.2 XILOSA

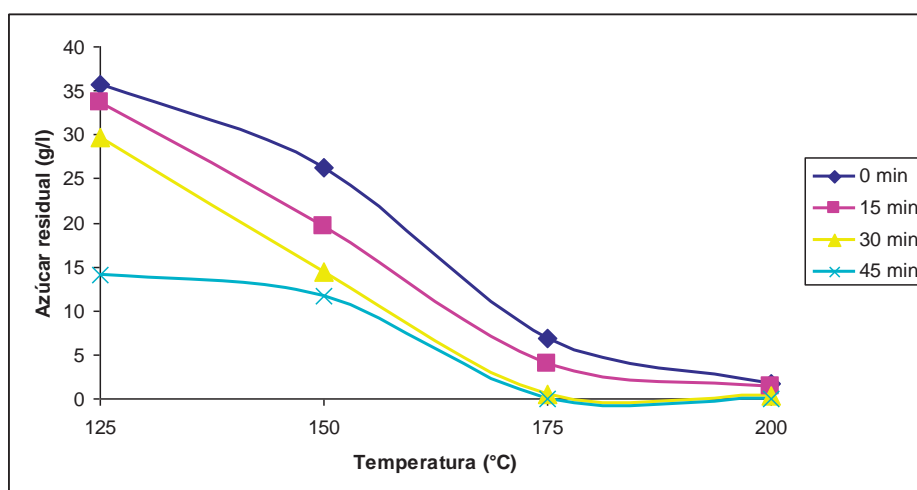


Figura 22 Efecto de la temperatura de reacción en la concentración de xilosa residual a diferentes tiempos de reacción y al 1% de catalizador.

Para la xilosa (Figura 22) el decremento de su concentración, es similar a la glucosa a los diferentes aumentos de temperatura y tiempos de reacción.

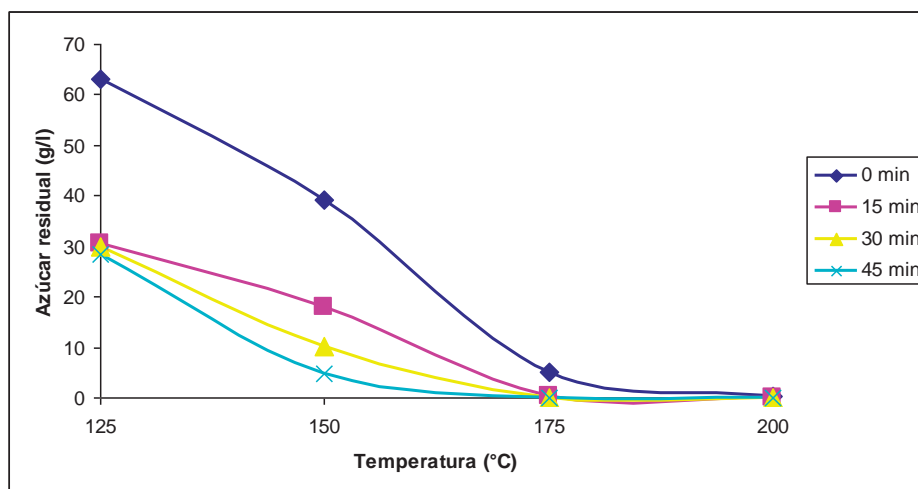


Figura 23 Efecto de la temperatura de reacción en la concentración de xilosa residual a diferentes tiempos de reacción y al 2% de catalizador.

Al incrementar la temperatura de reacción, la concentración de xilosa disminuye de manera importante a tiempo cero, llegando a ser casi la misma concentración a los diferentes tiempos de reacción en la temperatura de 175 °C. (Figura 23)

4.3.2.3 ARABINOSA

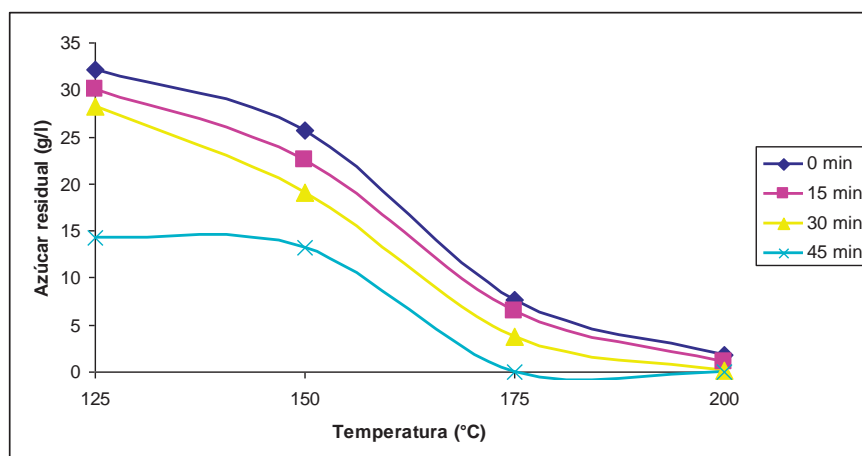


Figura 24 Efecto de la temperatura de reacción en la concentración de arabinosa residual a diferentes tiempos de reacción y al 1% de catalizador.

En la Figura 24, la concentración de arabinosa decrece similarmente en los diferentes tiempos de reacción, en un promedio de 11.9 g/l en el rango de temperatura de 125 a 175 °C, que posterior a esas temperaturas, la concentración tiende a cero. Por lo cual se deduce que la temperatura es la variable que influye más que el tiempo de reacción en la degradación de azúcares.

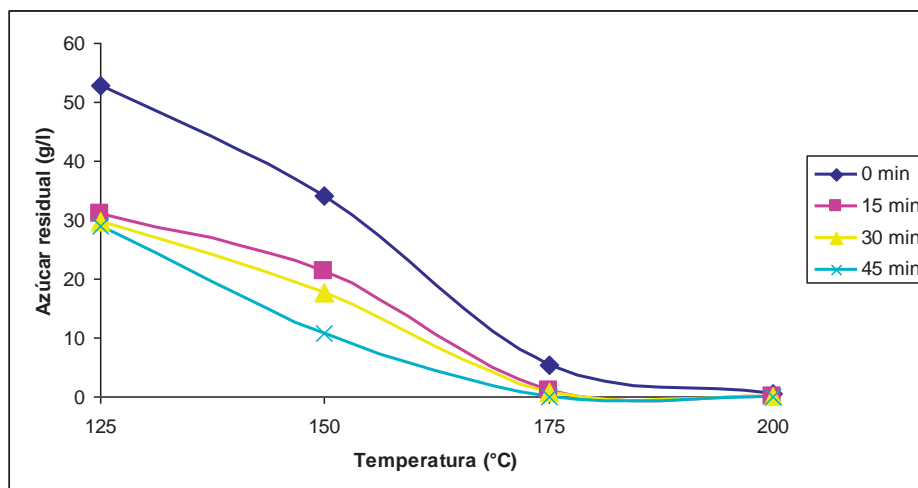


Figura 25 Efecto de la temperatura de reacción en la concentración de arabinosa residual a diferentes tiempos de reacción y al 2% de catalizador.

La influencia de la temperatura en la degradación de los azúcares, es importante, se observa que los cambios en la concentración son similares independientes del tiempo de reacción.

4.4 CONDICIONES ÓPTIMAS DE MÍNIMA DEGRADACIÓN DE AZÚCARES

Disminuir la degradación de azúcares durante la hidrólisis ácida a diferentes condiciones de reacción (porcentaje de catalizador en la mezcla, temperatura y tiempo de reacción) es uno el objetivo del trabajo presente. De acuerdo al análisis realizado anteriormente, se deduce que las condiciones óptimas para disminuir esta degradación de azúcares son (Tabla 13)

Tabla 13 Condiciones óptimas para disminuir la degradación de azúcares durante la hidrólisis ácida.

Catalizador, %	Temperatura, °C	Tiempo, min
1	125	0

4.5 MODELO MATEMÁTICO DE LA HIDRÓLISIS ÁCIDA DE AZÚCARES

Tomando en cuenta las condiciones óptimas de mínima degradación de azúcares en el apartado 4.4, el modelo matemático que describe el comportamiento de la mezcla de azúcares a esas condiciones (Tabla 13), el modelo matemático obtenido es:

$$\text{Azúcar residual} = 72.2875 - 0.317 * \text{Temperatura} + 0.775 * \text{Tiempo} + 138.975 * \text{Catalizador} + 0.0182667 * \text{Temperatura} * \text{Tiempo} - 0.598 * \text{Temperatura} * \text{Catalizador} - 3.81667 * \text{Tiempo} * \text{Catalizador} \quad (4)$$

Donde: azúcar (g/l), temperatura (°C). Este modelo matemático se ajusta con los siguientes datos:

- $R^2 = 98.85\%$
- Nivel de confianza del 95.0%.

En la Tabla 14, se muestra una comparación de datos obtenidos experimentalmente y datos proporcionados por el modelo matemático.

Tabla 14 Comparación de datos obtenidos con el modelo matemático y datos experimentales

Condiciones de reacción			Modelo matemático	Experimental	Dif.
Temperatura, °C	Tiempo, min	Catalizador, %			
150	0	1	74.0	77.3	-4.4
150	15	1	69.5	66.2	4.7
125	0	2	161.1	164.4	-2.0
125	15	2	92.5	89.2	3.6

El modelo matemático obtenido se evaluó con el proceso de obtención de bioetanol a partir de bagazo del *Agave Tequilana*²⁵ durante el proceso de hidrólisis ácida. La comparación entre las concentraciones de azúcares obtenidos con el modelo matemático y el proceso de obtención de bioetanol son mostrados en la Tabla 15.

Tabla 15 Comparación entre concentraciones obtenidas con el modelo matemático y concentraciones de azúcares de un proceso de sacarificación de azúcares a partir de bagazo de *Agave Tequilana*

Condiciones de reacción			Concentración de azúcares (g/l)		
Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Catalizador (%)	Proceso	Modelo matemático	Dif.
150	20	1	18.5	21.1	12.3
147	15	2	24.9	22.7	-9.7
147	15	2.3	25.8	22.2	-16.2

Como puede observarse en los resultados de la tabla 15, la diferencia entre los valores predichos por el modelo y los datos experimentales de sacarificación de biomasa lignocelulósica no son muy diferentes, con lo cual se puede contar con una herramienta más para la evaluación de azúcares fermentables en procesos de sacarificación.

4.6 PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN

Los datos obtenidos del furfural como uno de los productos de degradación de los azúcares se muestran en la Tabla 16 y 17, para 1 y 2% de catalizador respectivamente.

Tabla 16 Concentración de furfural (g/l) a diferentes tiempos y temperaturas de reacción al 1% de catalizador en la mezcla a hidrolizar.

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Concentración (g/l)
125	0	0.0014706
125	15	0.0012345
125	30	0.0014171
125	45	0.0027600
150	0	0.0034362
150	15	0.0069434
150	30	0.0072195
150	45	0.0029030
175	0	0.0054499
175	15	0.0108836
175	30	0.0089376
175	45	0.0065741
200	0	0.0051419
200	15	0.0100019
200	30	0.0060791
200	45	0.0029274

Tabla 17 Concentración de furfural (g/l) a diferentes tiempos y temperaturas de reacción al 2% de catalizador en la mezcla a hidrolizar.

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Concentración (g/l)
125	0	0.0003153
125	15	0.0008646
125	30	0.0015434
125	45	0.0029403
150	0	0.0058582
150	15	0.0074136
150	30	0.0097857
150	45	0.0090006
175	0	0.0115741
175	15	0.0077330
175	30	0.0098856
175	45	0.0068858
200	0	0.0057646
200	15	0.0047659
200	30	0.0029926
200	45	0.0017234

El comportamiento del furfural como uno de los productos de degradación de la hidrólisis ácida de los azúcares se muestran en las Figuras 26 y 27, para las mezclas al 1 y 2% de catalizador respectivamente.

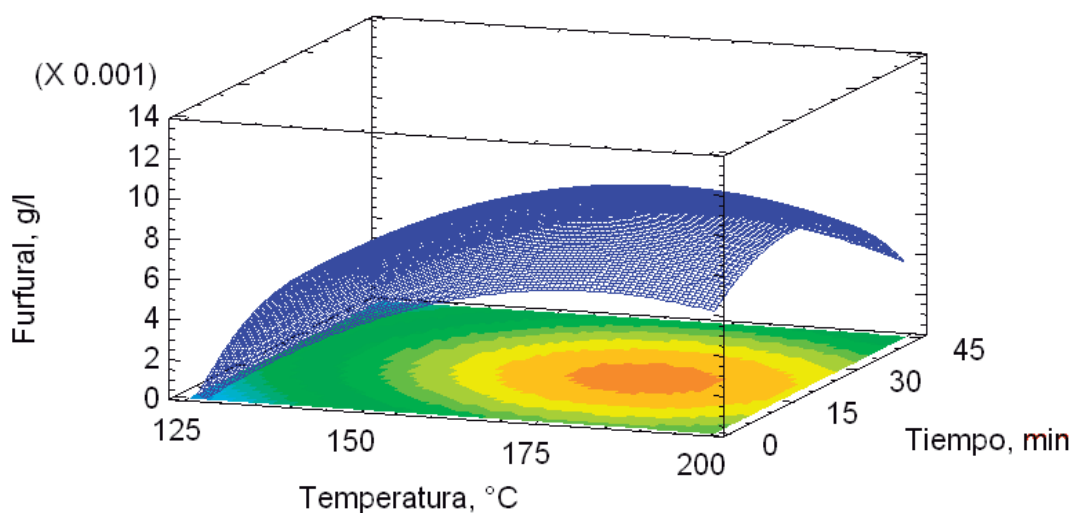


Figura 26 Comportamiento del furfural como producto de degradación de los azúcares hidrolizados al 1% de Catalizador

Como se puede observar en la Figura 32, el furfural aumenta su concentración conforme se aumenta la temperatura y el tiempo de reacción, llegando a ser su máximo entre 15 minutos y 175°C, con una concentración de 0.0108836 g/l, para después decrecer a temperaturas y tiempos de reacción mayores, lo cual indica que también sufre una degradación que de acuerdo a la Figura 6, se degrada a ácido fórmico.

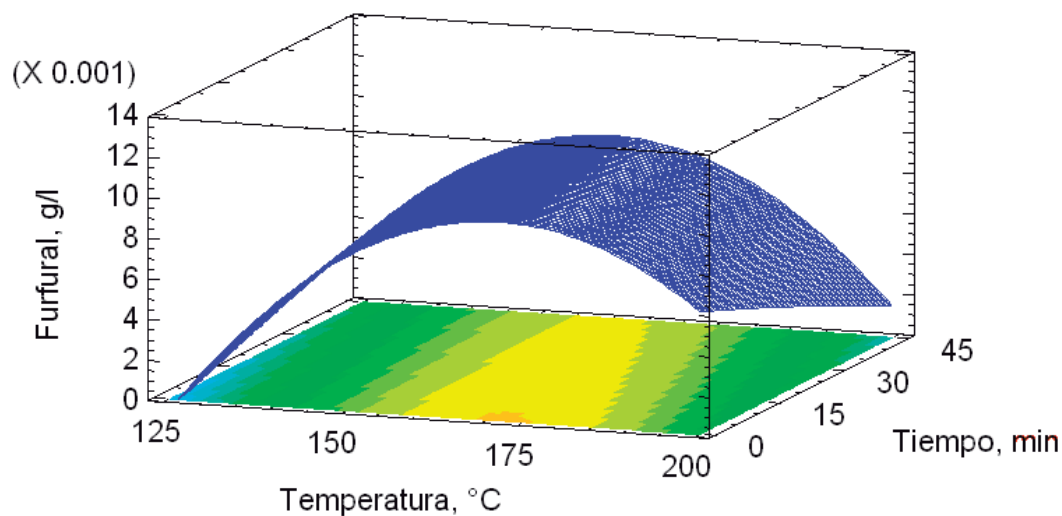


Figura 27 Comportamiento del furfural como producto de degradación de los azúcares hidrolizados al 2% de Catalizador

De una manera similar, en la Figura 33, la concentración del furfural aumenta, indicando una degradación de azúcares durante la hidrólisis ácida. También llegando a un valor máximo de concentración para posteriormente decrecer su concentración en el hidrolizado, por lo que los productos de segunda generación deben ser determinados.

CAPÍTULO 5.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo al análisis realizado y como era de esperarse, las condiciones óptimas de mínima degradación de azúcares son de 1% de catalizador, de 125 °C de temperatura y de 0 minutos de tiempo de reacción. Recordemos que el tiempo 0 es cuando se alcanza la temperatura de reacción deseada. En esas condiciones tenemos una cantidad óptima de azúcares fermentables para su posterior tratamiento, además de que los cambios en las concentraciones de azúcares no son muy abruptos, nos permite un mayor control del proceso respecto al tiempo.

Al comparar las concentraciones de azúcares con el modelo matemático obtenido y con datos experimentales, se observa la semejanza de los datos. De igual manera, la comparación con datos experimentales de sacarificación ácida de materiales lignocelulósicos da una semejanza de concentraciones de azúcares.

Por su parte, en los productos de degradación, en este caso el furfural que es el producto de degradación de la xilosa según la Figura 6, se presenta desde 125 °C de temperatura, observándose un pico máximo a los 175 °C y 30 minutos de tiempo de reacción en ambas concentraciones de catalizador; posteriormente, disminuye su concentración evidenciando su continua degradación a otros subproductos.

Se requiere la identificación y cuantificación de los productos de degradación de segunda generación, como ácido fórmico, ácido levulínico, etc. en siguientes trabajos para comprender mejor este proceso.

De igual forma, es necesario comparar estos resultados con aplicación directa a materiales lignocelulósicos para determinar si la tendencia se mantiene.

REFERENCIAS

- ¹ Pedro Ramos Castellano.(2004) Energías y medio ambiente. Ediciones Universidad Salamanca. ISBN 84-7800-577-3. Cap 1 y 4.
- ² Annie Dufey. (2006) Producción y comercio de biocombustibles y desarrollo sustentable: los grandes temas. International Institute for Environment and Development. Cap. 3. Pag. 4
- ⁸ José Sancho García, Rafael Miró Herrero, Sergio Gallardo Bermell. (2006) Gestión de la energía. Editorial de la UPV. ISBN 8483630036 Pag 111
- ¹⁰ O. E. Carreón Rodríguez, A. Ramos López (2009) Etanol Carburante, Biotecnología Año 2009, Volumen 13 No 3, Pag 87
- ¹¹ Adela Irmene Ortiz (2008). Pretratamiento de la biomasa lignocelulósica para la producción de biocombustibles: Aspectos técnicos y económicos. Presentación Power-Point
- ¹² Xavier Elías Castells, Tratamiento y valorización energética de residuos. (2005). Ediciones Díaz de Santos. ISBN 8479786949, 9788479786946. Cap 2. Pag. 117-118
- ¹³ José Enrique Tovar Vaneas, Anotaciones sobre ecología, Impresora Feriva, ISBN 958-8095-16-6, Cap. 10, Pag. 124
- ¹⁵ Ministerio de Educación, Política Social y Deporte, Gobierno de España (2008), Fuentes de energía para el futuro, Estilo Estugraf Impresores, S.L. ISBN 978-84-369-4675-8. Pag. 127
- ¹⁶ Mariano Seoáñez Calvo, Elena Bellas Velasco, Pilar Seoáñez Olié (2002). Tratado de la contaminación atmosférica. Mundi-Prensa Libros. ISBN 8484760359, 9788484760351
- ¹⁷ Julian Barquín (2004) Energía: técnica, economía y sociedad. Universidad Pontificia Comillas. ISBN 84-8468-134-3. Pag. 253
- ¹⁹ Pepa Mosquera Martínez, Luis Merino Ruesga. (2006). Empresa y energías renovables. FC Editorial. ISBN 8496169707, 9788496169708. Cap. 12, Pag. 197
- ²⁰ Alma Leticia Martínez, Erick Ocaranza Sánchez. Alternativas para la producción de biocombustibles en México. Ideas CONCYTEG. Año 4, Num.54, 2 de diciembre de 2009
- ²¹ American Chemical Society, (2005) Química, un proyecto de la ACS, Editorial Reverte, ISBN 978-84-291-7001-6, Pag. 418

- ²² Robert Thornton Morrison, Robert Neilson Boyd. (1998). Química Orgánica. Addison Wesley Longman de México. ISBN 968 444 340 4. Pag. 1257
- ²³ Norma Nudelman. (2004). Química sustentable. Ediciones UNT. Pag. 58
- ²⁴ B. Girisuta, L. P. B. M. Janssen y H. J. Heeres. (2006) A Kinetic Study on the Conversion of Glucose to Levulinic Acid, Chemical Engineering Research and Design
- ²⁵ Bozell JJ, Moens L, Elliott DC, Wang Y, Neuenschwander GG, Fitzpatrick SW, Bilski RJ, Jarnefeld JL. (2000). Production of levulinic acid and use as a platform chemical for derived products. Res Conserv Recycl 28:227-239
- ²⁶ Sung Y, Cheng J (2002) Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. Biores Technol 83:1–11
- ²⁷ Jaime Saucedo Luna, Jaime Castro Montoya, Mauro Manuel Martínez-Pacheco, Carlos Rubén Sosa-Aguirre, Jesús Campos-García. (2010) Efficient chemical and enzymatic saccharification of the lignocellulosic residue from agave tequilana bagasse to produce ethanol by *Pichia caribbica*. Society for Industrial Microbiology.
- ²⁸ K i, Chen X, Shen F, Su Y, Wan Y (2009) Optimization of enzymatic hydrolysis of wheat straw pretreated by alkaline peroxide using response surface methodology. Ind Eng Chem Res 48:7346–7353

PÁGINAS WEB

- ³ INEGI, <http://cuentame.inegi.org.mx/economia/petroleo/default.aspx?tema=S>
- ⁴ PEMEX, Glosario, http://www.pemex.com/files/dcf/glosario_031231.pdf
- ⁵ PEMEX, Reservas de hidrocarburos al 1 de enero del 2009, http://www.ri.pemex.com/files/content/dcf_ccw_r08_e%20090320.pdf
- ⁶ PEMEX, PEMEX en cifras, <http://www.pemex.com/>
- ⁷ INE (Instituto Nacional de Ecología). <http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/libros/372/fuentes.html>
- ⁹ Textos Científicos, <http://www.textoscientificos.com/energia/biomasa> Capítulo II
- ¹⁴ AVIZORA http://www.avizora.com/atajo/informes_varios/biocombustibles/0003_biomasa.htm
- ¹⁸ Biotechenergía. <http://www.biotechnergia.com/biomasa.pdf>