



Universidad Michoacana de San
Nicolás de Hidalgo

División de Estudios de Posgrado de la Facultad de
Ingeniería Química

**EFFECTO DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA Y DE LA
TRANSFERENCIA DE MASA EN LA VELOCIDAD DE
HIDRÓLISIS DE DIFERENTES MATERIALES
LIGNOCELULÓSICOS**

TESIS

Que presenta

Miguel Angel Zamudio Jaramillo

Para obtener el Título de

Doctor en Ciencias en Ingeniería Química

Asesor:

Doctor en Ciencias en Ingeniería Química
Agustín Jaime Castro Montoya

Morelia, Mich., Julio de 2014



Asunto: Aprobación de Impresión de Tesis

Oficio número 82/2014/2014.

Ing. J. Carlos Estrada Toledano
Jefe del Departamento de Titulación de la
U.M.S.N.H.
P r e s e n t e.-

Por este medio nos dirigimos a usted de la manera más atenta para notificarle que después de haberle dado seguimiento al desarrollo de la tesis: "EFECTO DE LA TRANSFERENCIA DE MASA Y EL TAMAÑO DE PARTÍCULA SOBRE LA VELOCIDAD DE HIDRÓLISIS DE LOS POLISACÁRIDOS DE VARIOS MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS". Después de haber revisado el manuscrito que presentó el alumno Miguel Angel Zamudio Jaramillo con matrícula 0970781G, concluimos que cumple con los requisitos académicos y con lo establecido en el Reglamento General de Estudios de Posgrado para el desarrollo de tesis.

Por lo anterior este Comité Tutorial da el aval para su impresión final.

Atentamente.
Morelia, Michoacán a 04 de Junio de 2014.


Presidente o Asesor: Dr. Agustín Jaime Castro Montoya 01000409

Vocales:


Dr. Rafael Maya Yescas 04002040


Dr. Jaime Saucedo Luna 89000498


Dr. Juan Carlos González Hernández 08006687


Dra. Ma. del Carmen Chávez Parga 07001002


Dr. Jaime Saucedo Luna
Coordinador del Doctorado en Ciencias en
Ingeniería Química



DEPARTAMENTO DE POSGRADO
DE POSGRADO
Facultad de Ingeniería Química / Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Francisco J. Mújica S/N / Col. Felicitas del Río / C.P. 58060 / Morelia, Michoacán / Tel. y Fax: 443. 327 3584

<http://posgrado.fiq.umich.mx/>

Vale más un grano de experiencia que una montaña de teorías.

Rafael Vidac

Ad astra per aspera.

Séneca

A prayer to the great nonlinear map in the sky

Stuart Kauffman

A mi esposa y compañera de vida Mariana Álvarez Navarrete a quien siempre ha estado a mi lado acompañado en este tiempo.

A mi Familia y mis hermanos de quienes he recibido prácticamente todo lo que soy.

Al Dr. Agustín Jaime Castro Montoya por todo su apoyo incondicional, sus consejos y guía durante este periodo.

Al Dr. Rafael Maya Yescas, al Dr. Jaime Saucedo Luna, a la Dra. Ma. del Carmen Chavez Parga y al Dr. Juan Carlos Hernández González, miembros del comité de evaluación de este trabajo.

Al Dr. José Guadalupe Rutiaga Quiñones y al Dr. Juan Zárate Medina por su apoyo para el enriquecimiento de este trabajo.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y al Instituto Tecnológico de Morelia por permitirme desarrollar este trabajo en sus instalaciones.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por la beca para estudios de posgrado otorgada para la realización de mis estudios de doctorado.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEORICO.....	4
Estructura de la biomasa lignocelulósica	4
Hemicelulosa	11
Lignina	12
Interacción de los componentes en la pared celular.	14
La hidrólisis ácida como punto limitante para la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica	15
Descripción del proceso general	15
Puntos clave para la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica.....	16
Reducción de tamaño	16
Hidrólisis de la celulosa.....	17
Cinética de la Hidrólisis ácida de la celulosa	19
Aspectos de química heterogénea de la reacción de hidrólisis.....	22
REVISION DE ANTECEDENTES	25
Introducción	25
Hidrolisis ácida y pasos de reacción	26
Resistencia externa y reología.....	29
Efecto del tamaño de partícula y resistencias internas.	31
Hipótesis.....	35
Objetivo general	35
Objetivos específicos	35
MATERIALES Y MÉTODOS	36
Recopilación de los materiales	36
Tratamiento de las muestras.....	36
Caracterización química.....	37

Reactor experimental	38
Diseño experimental y método de hidrólisis	38
Métodos analíticos	40
Análisis del tamaño de partícula y caracterización geométrica.....	41
Medición de las constantes de velocidad.....	43
Análisis estadístico y optimización	44
Análisis de la transferencia de masa y calor.	46
RESULTADOS	47
Caracterización de los materiales	47
Análisis de transferencia de calor en el reactor	52
Resultados de las cinéticas de hidrólisis.....	52
Optimización del proceso.....	63
Análisis de las constantes de velocidad.....	65
Análisis de la transferencia de masa y calor	67
Evolución del tamaño de partícula y de los sólidos.....	71
DISCUSION	75
CONCLUSIONES.....	78
Apéndice A: Conversión de tamaños de partícula.....	79
Apéndice B: Métodos de Análisis de los materiales lignocelulósicos	80
Apéndice C. Curvas estándar para la determinación de los carbohidratos por HPLC. ..	83
Apéndice D. Preparación del reactivo DNS.....	84
Apéndice E. Curva estándar para la medición de azúcares reductores por el método del ácido dinitrosalicílico DNS.....	85
Apéndice F. Curva estándar para la determinación de furanos.....	86
Apéndice G. Definición de los diámetros de Feret usados como medidas en la caracterización geométrica.....	87
REFERENCIAS.....	88

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Contenido en peso seco de celulosa, hemicelulosa y lignina de diferentes materiales lignocelulósicos</i>	4
<i>Tabla 2. DP de diferentes materiales</i>	5
<i>Tabla 3. Características de los puentes de hidrógeno en celulosa nativa</i>	7
<i>Tabla 4. Índice de Cristalinidad ICr de diferentes materiales lignocelulosícos</i>	9
<i>Tabla 5. Datos de poros de varias muestras de celulosa</i>	11
<i>Tabla 6. Requerimientos de energía para la molienda de materiales lignocelulósicos agrícolas</i>	18
<i>Tabla 7. Resumen de los métodos de degradación de la celulosa</i>	18
<i>Tabla 8. LODP de diferentes materiales</i>	24
<i>Tabla 9. Resumen de valores de difusión efectiva del ácido sulfúrico en diferentes sustratos</i>	33
<i>Tabla 10. Diseño experimental empleado</i>	39
<i>Tabla 11. Resumen de los parametros cinéticos and modelos usados para el cálculo de los módulos de Thiele y números de Prater</i>	46
<i>Tabla 12. Composición de los materiales lignocelulósicos analizados</i>	49
<i>Tabla 13. Características geométricas de las partículas analizadas</i>	51
<i>Tabla 14. Resultados de la optimización numérica del proceso de hidrólisis</i>	64
<i>Tabla 15. Resultados experimentales bajo las condiciones calculadas en la Tabla 12</i> ..	65
<i>Tabla 16. Constantes de velocidad (pseudo-primer orden) para la hidrólisis de celulosa y degradación de glucosa calculadas a partir de los datos experimentales</i>	66
<i>Tabla 17. Constantes de velocidad (pseudo-primer orden) para la hidrólisis de la hemicelulosa y degradación de la xilosa calculadas</i>	67
<i>Tabla 18. Thiele modulus and Prater number for reaction conditions*. References indicate the source for the reaction kinetic parameters</i>	71

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Estructura molecular de la celulosa.</i>	5
<i>Figura 2. Puentes de hidrógeno intra e intermoleculares en la molécula de la celulosa. Los puentes se muestran con líneas punteadas</i>	6
<i>Figura 3. Puentes de hidrógeno de la celulosa</i>	8
<i>Figura 4. Modelo fibrilar de flecos para la estructura supramolecular de la celulosa</i>	8
<i>Figura 5. Esquema de la estructura morfológica de una fibra de algodón</i>	10
<i>Figura 6. Rutas de reacción y transporte involucradas en el proceso de hidrólisis de biomasa.</i>	28
<i>Figura 7. Tamices de separación.</i>	37
<i>Figura 8. Difractómetro de rayos X SIEMENS D5000.</i>	38
<i>Figura 9. Reactor por lotes empleado para los experimentos de hidrólisis.</i>	39
<i>Figura 10. Cromatógrafo de líquidos de alta resolución HPLC.</i>	41
<i>Figura 11. Espectrofotómetro UV-Vis.</i>	41
<i>Figura 12. Capturas del software ImageJ utilizado para la medición de las partículas.</i>	42
<i>Figura 13. Pasos secuenciales de reacción considerados en la medición de las constantes de velocidad.</i>	43
<i>Figura 14. Muestras de los materiales lignocelulósicos.</i>	48
<i>Figura 15. Difractograma de rayos X de los diferentes residuos lignocelulósicos.</i>	50
<i>Figura 16. Índice de cristalinidad de los materiales lignocelulósicos.</i>	50
<i>Figura 17. Curva de calentamiento y enfriamiento del reactor empleado.</i>	52
<i>Figura 18. Cinéticas de hidrólisis de madera en el reactor por lotes.</i>	54
<i>Figura 19. Cinéticas de hidrólisis de bagazo de caña en el reactor por lotes.</i>	55
<i>Figura 20. Cinéticas de hidrólisis de bagazo de agave en el reactor por lotes.</i>	56
<i>Figura 21. Cinéticas de hidrólisis de bagazo de agave en el reactor por lotes.</i>	57
<i>Figura 22. Diagramas de Pareto de los parámetros del modelo de regresión para madera.</i>	59
<i>Figura 23. Diagramas de Pareto de los parámetros del modelo de regresión para bagazo de caña.</i>	60
<i>Figura 24. Diagramas de Pareto de los parámetros del modelo de regresión para bagazo de agave.</i>	61
<i>Figura 25. Diagramas de Pareto de los parámetros del modelo de regresión para rastrojo de maíz.</i>	62

<i>Figura 26. Diagramas de Pareto de los parámetros del modelo de regresión para las constantes de velocidad de hidrólisis de la celulosa.</i>	<i>69</i>
<i>Figura 27. Diagramas de Pareto de los parámetros del modelo de regresión para las constantes de velocidad de hidrólisis de la hemicelulosa.</i>	<i>70</i>
<i>Figura 28. Regiones limitadas por la difusión.....</i>	<i>72</i>
<i>Figura 29. Reducción del tamaño de partícula y de los sólidos remanentes en el proceso de hidrólisis.....</i>	<i>73</i>
<i>Figura 30. Ahorro de energía a partir de la optimización del tamaño de partícula.</i>	<i>77</i>

RESUMEN

La molienda de la biomasa es una operación que consume energía de manera intensiva y que tiene un efecto significativo en el rendimiento de energía de los procesos de producción de etanol debido a que el tamaño de partícula es un factor importante en la productividad de los métodos de sacarificación. Se optimizó el tamaño de las partículas de fibra para una gama muy amplia de condiciones de tratamiento (temperatura, agitación, y cargas de sólidos) para la hidrólisis ácida en un reactor discontinuo. La influencia de estos factores en la cinética de reacción y la tasa se evaluó para inferir un mecanismo de reacción para la reacción

Además, los efectos de transferencia de calor y de masa se analizaron mediante el cálculo del módulo de Thiele y el número Prater en diferentes condiciones experimentales. Los resultados de la optimización multivariada mostraron que con el uso de una fibra de longitud ponderada a diámetro (D_{L21}) de 1,21 a 2,68 mm, un mejor rendimiento y concentración en azúcares, y la producción de furanos se puede disminuir de manera significativa. La agitación permite una reducción del tamaño de partícula y la hidrólisis de los polisacáridos simultánea. Estudios de transferencia de masa y calor, sugieren que la difusión de ácido sólo es importante para la hidrólisis de la hemicelulosa a muy alta temperatura y que las partículas son casi isotérmicas. Estos resultados muestran que aproximadamente el 30% de la energía requerida para la molienda puede ser ahorrado mediante el uso de tamaño de partícula óptimo.

Palabras clave: hidrólisis, celulosa, hemicelulosa, etanol

ABSTRACT

Biomass milling is an intensively energy consuming operation that has a significant effect on energy yield of ethanol production processes as particle size is an important factor in productivity of saccharification methods. Fiber particle size was optimized for a very wide range of treatment conditions (temperature, agitation, and solid loads) for acid hydrolysis in a batch reactor. The influence of such factors in the reaction kinetics and rate was evaluated to infer a reaction mechanism for the reaction

Also, heat and mass transfer effects were analysed by calculating the Thiele and Prater modulus at experimental conditions. Multivariate optimization results show that using a length-weighted fiber mean diameter (D_{L21}) of 1.21-2.68 mm, a better sugar yield, concentration and lower furan production can be achieved. Agitation allowed a simultaneous particle size reduction and hydrolysis of polysaccharides. Heat and mass transfer studies suggest that acid diffusion is only important for hemicellulose hydrolysis at very high temperature and that particles are nearly isothermal. These results show that about 30% of the required energy for milling can be saved by using optimal particle size.

Key words: hydrolysis, cellulose, hemicellulose, ethanol

INTRODUCCIÓN

La producción de etanol como combustible a partir de biomasa lignocelulósica ha sido objeto de estudio de extensas investigaciones pues permite utilizar materiales que son abundantes para la producción de energía. El objetivo de tales investigaciones es la disminución del costo de producción e incrementar su factibilidad. Actualmente en países como Brasil, la producción de etanol ha sido una palanca de desarrollo social y económico y muchos otros países están siguiendo la misma tendencia dado el agotamiento de las reservas de petróleo.

En México se ha venido construyendo un marco legal e institucional sobre el etanol, cuyo objetivo es el impulso de la producción del mismo como agente oxigenante para las gasolinas. Dados los impedimentos legales para la utilización de cultivos alimentarios para la producción de etanol se vislumbra como alternativa el uso de biomasa lignocelulósica (restos de madera, residuos agrícolas y restos de papel) para este fin. Sin embargo, su uso plantea retos importantes ya que tienen una estructura muy resistente que dificulta su conversión a etanol. Sin embargo se han desarrollado muchas soluciones y alternativas para lograrlo de manera eficiente y económica.

El presente trabajo es una propuesta para un proyecto de investigación que busca dar bases metodológicas para incrementar el conocimiento de los mecanismos de difusión en los procesos de hidrólisis y la toma de decisiones respecto al tamaño de partícula en el uso de biomasa lignocelulósica. El objetivo último de esta investigación es la de contribuir al esfuerzo para ampliar el conocimiento técnico y científico de este tema que está dirigido hacia la búsqueda de un desarrollo sustentable en el tema energético.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La biomasa lignocelulósica comprende los residuos agroindustriales (provenientes de la agricultura) de la industria maderera (aserrín, viruta) y papel. Se ha considerado como alternativa para la producción de etanol, ya que no interfiere con la oferta y demanda de los productos alimentarios, buscando también un beneficio en el desempeño ambiental del sector industrial.

A grandes rasgos, la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica se compone de dos etapas principales: hidrólisis de la celulosa y fermentación. Se considera que la primera etapa es mucho más costosa en términos de materiales y energía. La hidrólisis ácida es el método más utilizado y considerado como el más económico. Consiste en la utilización de ácido sulfúrico diluido y concentrado así como el suministro de energía térmica para la descomposición de la celulosa y la hemicelulosa en azúcares fermentables. Durante este proceso, el ácido debe penetrar una estructura altamente organizada y heterogénea formada por polímeros de alto peso molecular, difundirse hacia las fibras de celulosa y atacar los enlaces glucosídicos para la liberación de unidades de glucosa de la celulosa. Si la velocidad de difusión es más lenta que la velocidad de reacción intrínseca, la difusión puede ser el paso que controla la velocidad global del proceso y se deben tomar medidas para incrementarla como puede ser la modificación del tamaño de partícula, el área disponible o la modificación del medio de difusión.

El objeto de estudio de esta investigación son las velocidades de difusión del ácido hacia el interior de las partículas de biomasa lignocelulósica y su relación con la velocidad de reacción. En este caso el trabajo se encuentra limitado a residuos de actividades agroindustriales y de la industria maderera. Se busca que dichos materiales se distinguan por su abundancia y factibilidad de uso como sustratos para la producción de etanol, dadas las actividades agroindustriales en la última década en el país.

Para poder llevar a cabo este estudio es necesaria la modelación geométrica y dinámica del proceso de reacción y de difusión para calcular los factores de efectividad para las reacciones y así conocer las condiciones bajo las cuales la velocidad de reacción es controlada por aspectos difusionales.

MARCO TEORICO

Estructura de la biomasa lignocelulósica

Los llamados residuos lignocelulósicos comprenden tres grupos principales a) residuos agroindustriales, b) residuos de la industria de la madera y c) residuos de papel. Son materiales que se distinguen por su abundancia, ya que se producen a razón de 10^{11} - 10^{12} toneladas anuales en la naturaleza. Estos materiales comprenden los polímeros más abundantes que existen en la tierra (Klemm *et al.*, 1998). A pesar de su diversidad, están compuestos por los mismos componentes principales (celulosa, la lignina y la hemicelulosa). En la Tabla 1 se muestra la composición de diferentes materiales.

Tabla 1. Contenido en peso seco de celulosa, hemicelulosa y lignina de diferentes materiales lignocelulósicos [1].

Material	% celulosa	% hemicelulosa	% lignina
Bagazo de caña	50	25	25
Maderas nobles	40-55	24-40	18-25
Maderas blandas	45-50	24-40	18-25
Cáscaras de nuez	25-30	25-30	30-40
Mazorcas de maíz	45	35	15
Pastos	25-40	35-50	10-30
Papel	85-99	0	0-15
Paja de Trigo	30	50	15
Hojas	15-20	80-85	0
Algodón	80-95	25-40	0
Papel periódico	40-55	25-40	18-30
Sólidos primarios de aguas residuales	8-15	-	24-29
Pasto de Bermuda	25	35.7	6.4
Pasto varilla	45	31.4	12
Fibra de palma	24	14	12.6
Rastrojo de agave	54.5	15.5	16.3

Celulosa

La estructura molecular de la celulosa se muestra en la Figura 1. La celulosa es un homopolímero lineal compuesto de unidades de D- anhidroglucopiranososa (ADP) unidas por enlaces β -1,4. La unidad básica de la celulosa es la celobiosa. Los extremos de una cadena de celulosa tienen propiedades químicas distintas. El Carbono 1 (C-1) tiene características reductoras, mientras que el C-6 no es reductor, por lo tanto es menos reactivo.

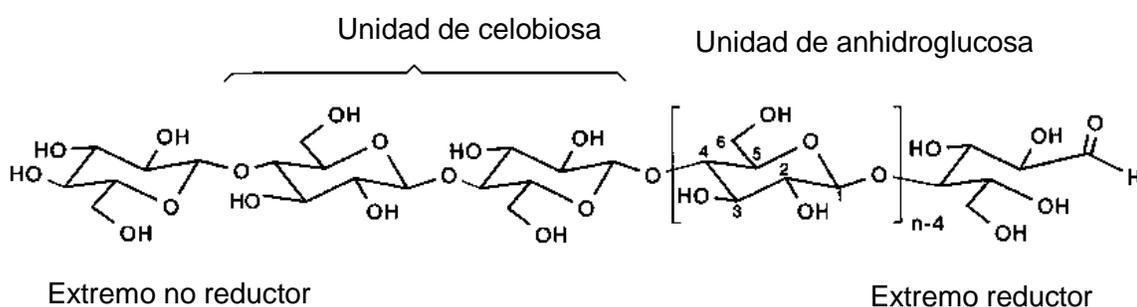


Figura 1. Estructura molecular de la celulosa.

El tamaño molecular de la celulosa puede ser definido por su grado de polimerización promedio (DP). La celulosa natural es polidispersa, es decir consiste en una mezcla de cadenas de longitud variable. En la Tabla 2 se muestran los rangos de DP de la celulosa aislada de diferentes fuentes naturales.

Tabla 2. DP de diferentes materiales [2].

Material	DP
Algodón nativo	Mas de 12000
Pulpa de madera	800-1800
Filamentos de celulosa artificiales	250-500
Polvos de celulosa producto de hidrólisis y desintegración mecánica	100-200

La presencia de puentes de hidrógeno intramoleculares e intermoleculares mostrados en la Figura 2 ocasionan que la molécula del polímero tenga una mayor rigidez que otros homopolímeros de glucosa como el almidón. Dicha rigidez también favorece la interacción entre cadenas distintas.

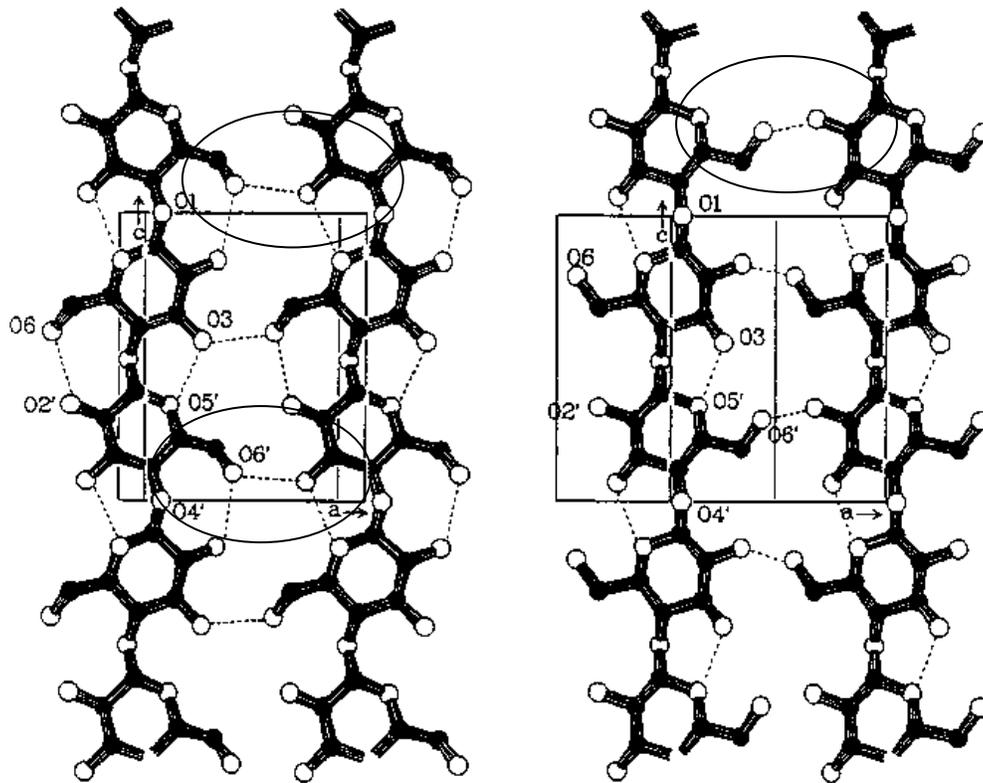


Figura 2. Puentes de hidrógeno intra e intermoleculares en la molécula de la celulosa. Los puentes se muestran con líneas punteadas [2].

Las cadenas de celulosa tienen una gran tendencia a agregarse en entidades altamente ordenadas. La razón de esta tendencia es la formación de una extensa red de puentes de hidrógeno como los mostrados en la Figura 2 por medio de líneas punteadas. De todos ellos, los formados entre O-6-H y O-3 de la otra cadena son los más importantes (Tabla 3) en cuanto a abundancia. Dicho enlace se muestra por medio de una elipse en la Figura 2.

Tabla 3. Características de los puentes de hidrógeno en celulosa nativa [2].

Tipo de enlace	Distancia, O ... H, Å	E_h , kJ mol ⁻¹
Intracadena	1.81	13.2
O3-H...O5	1.86	11.5
O2-H...O6	1.74	14.9
	1.91	10.0
Intercadena	1.96	8.6
O6-H...O3''	1.82	12.8

La celulosa puede ser considerada un polímero isotáctico de celulobiosa, es decir, los sustituyentes de la cadena principal están enlazados a un carbono quiral en la misma posición. Esta característica le da una gran regularidad espacial respecto a la formación de los puentes de hidrógeno y favorece la agregación de varias cadenas unidas por medio de puentes de hidrógeno formando capas de superficies formadas por cadenas de celulosa mostradas en la Figura 3 [3].

Sin embargo la estructura supramolecular no es del todo uniforme. Se puede considerar que existen zonas con nivel de ordenamiento alto basado en una red uniforme y cooperativa de puentes de hidrógeno; A estas zonas se les conoce como zonas microcristalinas, mientras que las zonas con nivel de ordenamiento bajo se les denomina zonas amorfas. La presencia de zonas intermedias puede despreciarse [2]. De esta forma la estructura se considera un modelo de dos fases: la cristalina y la amorfa. Las zonas cristalinas de la celulosa tienen una alta resistencia a la penetración por lo que las velocidades de reacción suelen ser varios órdenes de magnitud más lentas que en la fase amorfa [4]. El modelo fibrilar de flecos con dos fases (Figura 4) es el que se utiliza con mayor frecuencia para seguir el curso de las reacciones heterogéneas. La celulosa de distintas fuentes difiere en su grado de cristalinidad. La Tabla 4 muestra los grados de cristalinidad medida mediante difracción con rayos X de varias fuentes de celulosa.

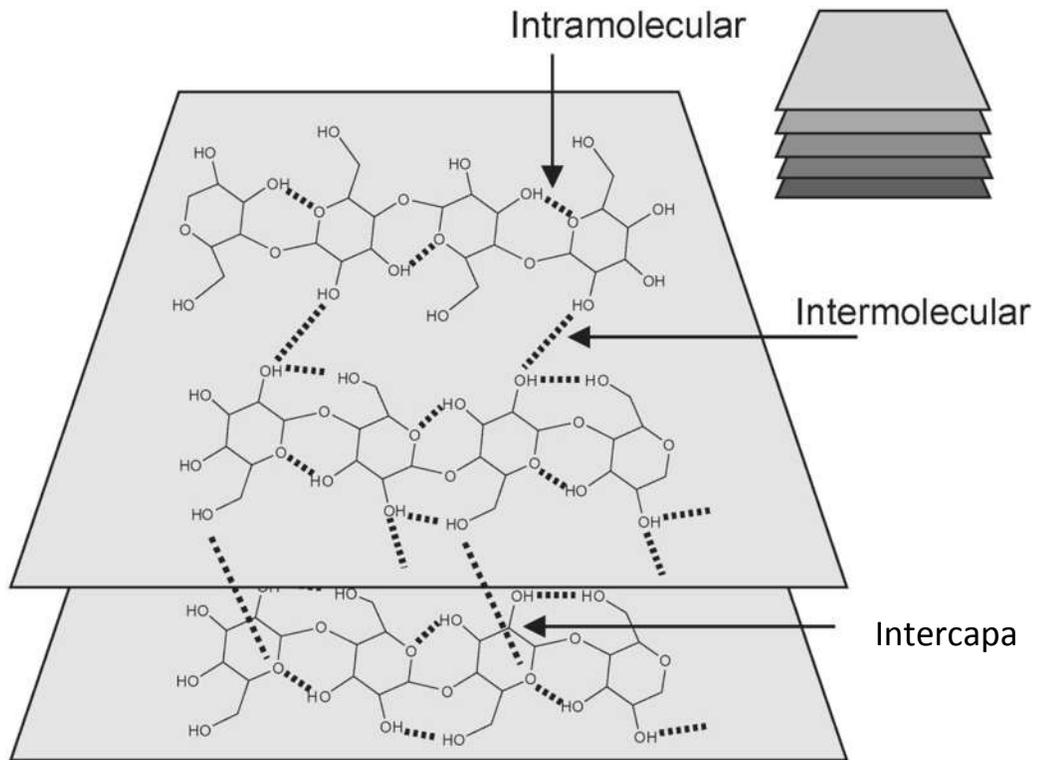


Figura 3. Puentes de hidrógeno de la celulosa [3].

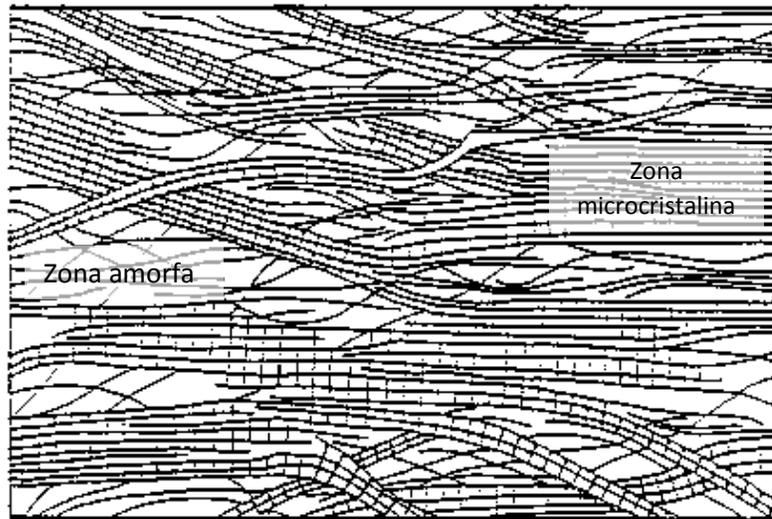


Figura 4. Modelo fibrilar de flecos para la estructura supramolecular de la celulosa [2].

Tabla 4. Índice de Cristalinidad ICr de diferentes materiales lignocelulósicos

Material	ICr, %	Referencia
Maderas nobles	53-58	[5]
Bagazo de caña	52	[6]
Rastrojo de maíz	30.8	[7]
Paja de cebada	76.5	[8]

La morfología superior de la celulosa puede ser considerada como una estructura altamente organizada de elementos fibrilares conformados por microfibrillas de celulosa. El diámetro de la fibrilla generalmente se encuentra en rangos de 30-5 nm, mientras que la longitud puede alcanzar algunos micrómetros (Figura 1).

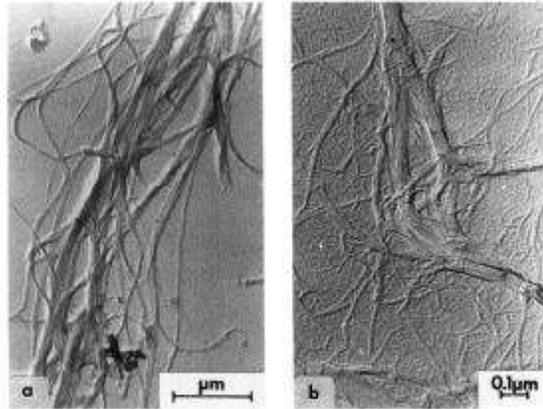


Figura 1. Microfibrillas aisladas de diferente origen. a) borras de algodón. b) pulpa al sulfito de abeto [2].

Las microfibrillas construyen estructuras complejas que forman las fibras de celulosa, que a su vez construyen la estructura de la pared celular vegetal. Dicha pared está formada por capas de diferente textura. A pesar de la diversidad de origen de los diferentes materiales lignocelulósicos, algunas similitudes generales pueden ser reconocidas. En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se muestra una fibra de algodón y una de abeto. La capa exterior P es delgada, sin embargo impide la absorción de líquido (hinchamiento) de las capas internas. Las capas siguientes S1 y S2 recorren en forma espiral la fibra de manera paralela. La capa T es comparativamente delgada y tiene la forma de una hélice lisa.

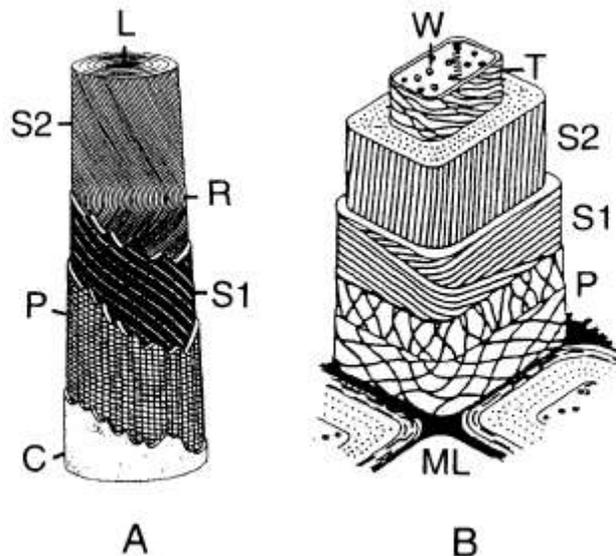


Figura 5. Esquema de la estructura morfológica de una fibra de algodón (A) y una fibra de abeto deslignificado (B). C-cutícula (rica en pectinas y en ceras), L-lumen, ML-lamela intermedia (principalmente lignina), P-pared primaria, R- inversa de la espiral de la fibrilla, S1, S2- pared secundaria, T- pared terciaria. W-capa rugosa [2].

De manera complementaria, la fibra de la pared celular tiene un sistema de poros, capilares, vacíos e intersticios. La información de la distribución de tamaño es importante para la descripción del sistema de poros que tiene una influencia decisiva en las reacciones químicas de la celulosa. La El hinchamiento de las cadenas de celulosa por medio de solventes incrementa los tres valores del sistema de poros mostrado en la Tabla 5. Este sistema de porosidad influye en la velocidad difusión de un soluto, siendo un factor que limita la velocidad de las reacciones químicas de la celulosa.

muestra datos obtenidos por difracción de Rayos X a bajos ángulos (SAXS).

El hinchamiento de las cadenas de celulosa por medio de solventes incrementa los tres valores del sistema de poros mostrado en la Tabla 5. Este sistema de porosidad influye

en la velocidad de difusión de un soluto, siendo un factor que limita la velocidad de las reacciones químicas de la celulosa.

Tabla 5. Datos de poros de varias muestras de celulosa calculados por medición SAXS [2].

Material	Volumen de poros %	Superficie interna de poros (m ² /g)	Parámetro de tamaño de poro promedio (nm)
Borras de algodón	1-7-1.8	5.3-6.0	11.6-13-1
Pulpa disuelta en sulfito	0.7-1.5	1.7-3.2	10.1-25.4
Pulpa al sulfito	1.2	3.7	13.1
Polvo de celulosa	1.4	5.2	10.4
Polvo de celulosa mercerizado	1.7	15.8	4.4
polvo de celulosa tratado enzimáticamente	2.5	6.2	15.9

Hemicelulosa

Las hemicelulosas son polisacáridos formados por un conjunto heterogéneo de polisacáridos, a su vez formados por un solo tipo de monosacáridos unidos por enlaces β -1,4 (fundamentalmente xilosa, arabinosa, galactosa, manosa, glucosa y ácido glucurónico) que forman una cadena lineal ramificada. Entre los monosacáridos de las ramificaciones destacan la glucosa, la galactosa o la fructosa. El ácido urónico contenido en ella es capaz de unirse a las otras moléculas mediante enlaces que constituyen la pared rígida que protege a la célula de la presión ejercida sobre esta por las células que la rodean. Las hemicelulosa de las maderas nobles contienen principalmente xilanos, mientras que las de las maderas blandas contienen principalmente glucomananos. Los xilanos son heteropolisacáridos con una cadena

principal de residuos de xilosa unidos por enlaces β -1,4. Además, los xilanos pueden contener arabinosa, ácido glucurónico o su 4-O-metil éter, además de los ácidos acético, ferúlico y p-cumárico. La frecuencia y composición de las ramificaciones depende de la fuente [9]. Un modelo de la pared celular de una fibra de maíz se muestra en la Figura 2. Los heteroxilanos se encuentran entrecruzados por medio de puentes diferúlicos, constituyen una red en la cual las microfibrillas de celulosa se encuentran insertas. Proteínas estructurales pueden estar unidas por medio de enlaces isoditirosina y con heteroxilanos ferulizados [10]. Por otra parte, el grado de polimerización de los xilanos de maderas nobles (150-200) es más alto que el de las maderas blandas (70-130).

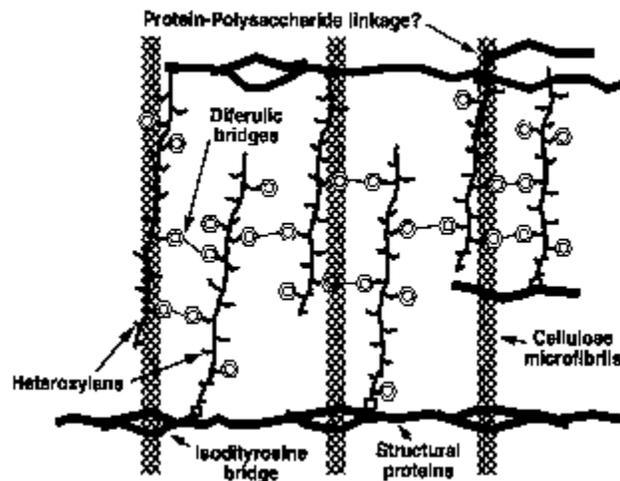


Figura 2. Modelo de las fibras de la pared celular de maíz [9].

Lignina

De todos los compuestos orgánicos producidos de manera natural, la lignina es probablemente el más recalcitrante (resistente a la degradación). Esto es consistente con su función biológica que es la de proporcionar rigidez al sistema vascular de las plantas para permanecer de pie y proteger sus polisacáridos estructurales (celulosa y hemicelulosa) del ataque de los microorganismos. La lignina es el compuesto aromático más abundante de la Tierra. Consiste principalmente de los enlaces intermonoméricos mostrados en la Figura 3. La estructura encerrada en un círculo en dicha figura (arilglicerol β aril éter) es cuantitativamente la más importante, constituyendo cerca del

50% del polímero. La lignina se encuentra ligada de manera covalente a las hemicelulosas por medio de enlaces éter entre carbonos bencílicos y los residuos de carbohidratos de la hemicelulosa. En plantas gramíneas, se pueden encontrar residuos de ácido hidroxicinámico en la lignina, unido a la hemicelulosa mediante enlaces éster [11].

Los hongos que degradan la lignina se enfrentan a muchos problemas. Debido a que el polímero es extremadamente grande y altamente ramificado, los mecanismos ligninolíticos deben ser extracelulares. El tipo de enlaces son de tipo éter y C-C por lo que dichos mecanismos deben ser oxidativos, no hidrolíticos. Además, la lignina consiste en unidades estereoirregulares, por lo que los agentes ligninolíticos deben ser mucho menos específicos que los biocatalizadores habituales. Finalmente, el hecho de que la lignina es insoluble en agua limita su biodisponibilidad a los sistemas ligninolíticos y hace que la ligninólisis sea un proceso lento [11]. La lignina llena los espacios entre la celulosa, la hemicelulosa y la pectina. Tiene semejanza con ciertos tipos de resinas de fenol y formaldehído que actúan como un pegamento para mantener la matriz unificada [12].

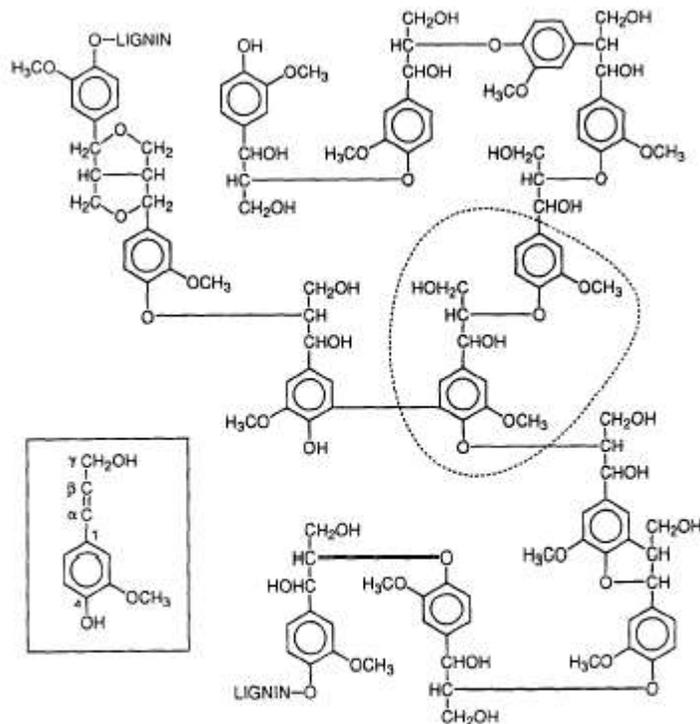


Figura 3. Estructuras más frecuentes de la lignina, la estructura encerrada en un círculo es la más abundante dentro del polímero. El cuadro muestra el alcohol coniferil, el bloque fundamental para la síntesis de la lignina [11].

Interacción de los componentes en la pared celular.

La Figura 4 muestra los diferentes niveles estructurales de que consisten las paredes celulares vegetales. La celulosa actúa como unidad fundamental de las microfibrillas, por otra parte, la hemicelulosa actúa como el componente que envuelve las microfibrillas, mientras que la lignina es la sustancia que se encuentra incrustada uniendo las células juntas y proporcionando rigidez a la pared celular [12]. Se cree que entre los diferentes tipos de polisacáridos existen enlaces covalentes que refuerzan la unión de todos los polímeros [11].

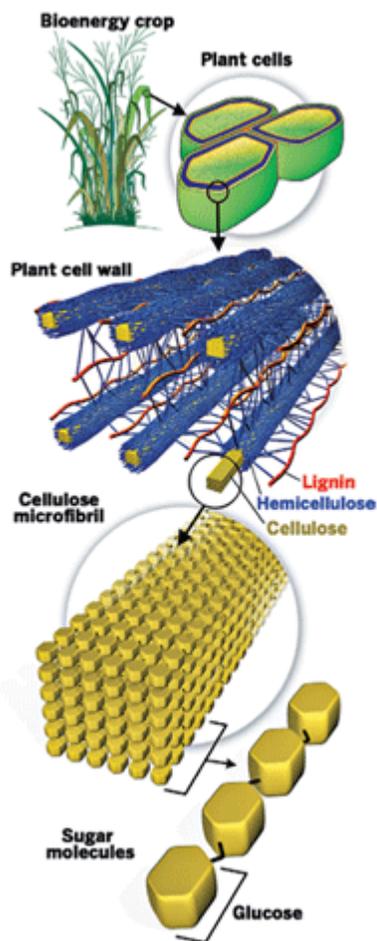


Figura 4. Estructura de las paredes celulares [12].

La hidrólisis ácida como punto limitante para la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica

La producción de etanol a partir de materiales lignocelulósicos ha tenido avances importantes, al punto de que ya existen plantas productoras desde hace algunos años. Sin embargo, en el proceso hay etapas que se distinguen por su alto costo y/o falta de conocimiento para lograr una optimización del proceso. A continuación se describe el proceso de producción de etanol, seguido de una revisión de algunas etapas que limitan el proceso.

Descripción del proceso general

El etanol puede ser producido a partir de materiales lignocelulósicos de varias maneras. Los principales procesos para el etanol se muestran en la Figura 5. Todos los procesos tienen los mismos componentes principales: hidrólisis de celulosa y hemicelulosa a monómeros fermentables, fermentación y recuperación del producto para posteriormente concentrarlo para la obtención de etanol anhidro. La razón de la primera de estas etapas es que los principales organismos que pueden producir etanol (principalmente levaduras) no son capaces de fermentar la celulosa. Además, la presencia de la lignina y la propia macroestructura de la lignocelulosa impiden la accesibilidad de las enzimas extracelulares de manera que el proceso sería extremadamente lento. Con el proceso de hidrólisis la celulosa se convierte en glucosa, mientras que la hemicelulosa se convierte en una gran diversidad de monómeros, principalmente pentosas. Estos monosacáridos son fermentados durante la segunda etapa, produciéndose etanol y otros compuestos de valor industrial (por ejemplo, xilitol y ácidos orgánicos). La recuperación del bioetanol se lleva a cabo por medio de procesos de filtración y destilación principalmente. La utilización del etanol requiere que se forme etanol anhidro por medio de la eliminación del agua. Sin embargo, esta etapa se ve dificultada por la formación de azeótropos (mezcla líquida de dos o más componentes que posee un único punto de ebullición constante y fijo) en la mezcla etanol-agua, resultado de la fermentación.

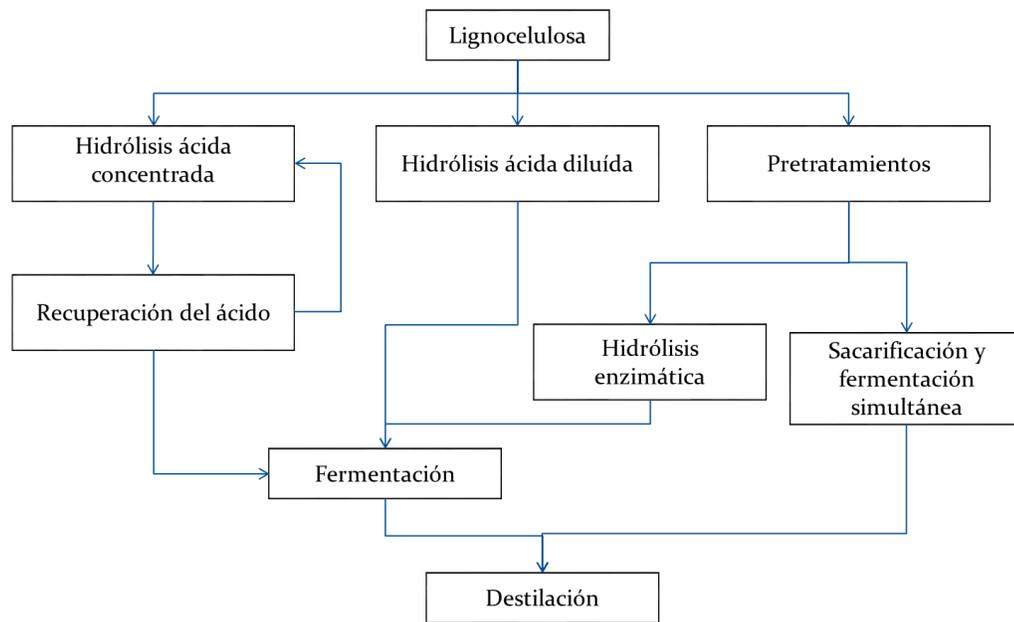


Figura 5. Principales rutas de producción de etanol a partir de la biomasa [13].

Puntos clave para la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica

Algunas revisiones sobre el estado del arte de las diferentes etapas de la producción de etanol [14] han identificado algunos puntos que por su costo falta de conocimiento limitan el proceso, los cuales se discuten en los siguientes apartados.

Reducción de tamaño

Los materiales lignocelulósicos suelen ser voluminosos, fuertes y duros. Para lograr la destrucción de la biomasa y lograr la conversión a azúcares fermentables, debe haber una reducción física de tamaño hasta el nivel de fibras para incrementar la superficie de reacción. Sin embargo, la reducción de tamaño no ha sido muy estudiada dado que los estudios sobre producción de etanol a partir de biomasa han sido llevados a cabo con materias primas que no requieren mucha energía para lograrlo como es el caso del maíz. Sin embargo, la reducción de tamaño consume energía de manera intensiva para algunas materias lignocelulósicas como son la madera, el bambú o arbustos. La mayoría de los procesos requieren de varias etapas de molienda para llegar a fibras de tamaño susceptibles de ser hidrolizadas. Siendo las etapas que muelen a tamaños más finos los que requieren un mayor consumo de energía [15]. Algunos cálculos [14] indican que la energía necesaria para reducir residuos de madera puede llegar a

corresponder a ser un 30% de la energía que el etanol obtenido puede suministrar por lo que es factor crítico para algunas materias primas. Algunos datos sobre consumo de energía en la reducción de tamaño se muestran en la Tabla 6. Tres factores afectan el consumo de energía durante la reducción de tamaño: el grado de reducción, el mecanismo de fibrilización y el tratamiento físico o químico anterior a la reducción de tamaño. Debido a que los estudios se han centrado en la hidrólisis y en la fermentación, hay un vacío de conocimiento sobre la eficiencia relacionada con el consumo de energía, superficie de sustrato y los pretratamientos (uso de ácidos, deslignificación o hinchamiento de la celulosa). Además se requiere la caracterización del sustrato. El diámetro medio de las partículas ha sido casi el único utilizado para caracterizar el tamaño de partícula del sustrato. Esto sería válido si se utilizaran esferas como modelo geométrico. Sin embargo, la mayoría de los métodos de reducción producen sustratos fibrosos [14] con una gran diferencia respecto a relación de aspecto (5:100, en otras palabras fibras cilíndricas). Como resultado los datos sobre caracterización son limitados en su validez.

Hidrólisis de la celulosa

La estructura de la celulosa descrita en apartados anteriores muestra que tiene varias características que le dan una extraordinaria resistencia al ataque de los microorganismos. Incluso aquellos organismos que producen enzimas capaces de degradar la celulosa se enfrentan a numerosos factores limitantes que ocasionan que se vuelva un proceso muy lento. En primer lugar, la celulosa se encuentra unida a la lignina y a la hemicelulosa. La lignina le confiere a la estructura una rigidez y unidad que es muy difícil de destruir.

La hemicelulosa se degrada con mayor facilidad, sin embargo el producto de la hidrólisis son principalmente carbohidratos de 5 carbonos, los cuales la mayoría de las levaduras no son capaces de convertir a etanol y son más susceptibles a la degradación a compuestos tóxicos para las levaduras como furfurales y huminas. Por último, la celulosa en la naturaleza suele tener muchas zonas que son cristalinas, que impiden el paso de las enzimas hacia los enlaces glucosídicos. Por estas razones se han optado por varios métodos de hidrólisis antes de llevar a cabo la fermentación.

Tabla 6. Requerimientos de energía para la molienda de materiales lignocelulósicos agrícolas [16].

Material	Tamaño de partícula	Consumo de energía kWh/ton	
		Molino de cuchillas	Molino de martillos
Maderas nobles	1.60	130	130
	2.54	80	120
	3.2	50	115
	6.35	25	95
Paja	1.60	7.5	42
	2.54	6.4	29
Rastrojo de maíz	1.60	NA*	14
	3.20	20	9.6
	6.35	15	NA*
	9.5	3.2	NA*

NA *- No disponible.

La Tabla 7 resume los principales métodos de hidrólisis de la celulosa. De ellos, el más utilizado industrialmente es la hidrólisis ácida [2]. Cabe señalar también que los métodos enzimáticos han recibido mucha atención por las ventajas ambientales que representa la no utilización de compuestos químicos corrosivos, además de la utilización de temperaturas moderadas.

Tabla 7. Resumen de los métodos de degradación de la celulosa [2].

Tipo de método	Métodos
Químico	Hidrólisis ácida concentrada
	Hidrólisis ácida diluida
	Hidrólisis enzimática
	Degradación alcalina
	Degradación oxidativa
Mecánico	Molienda seca
	Molienda húmeda y
	Agitación ultrasónica
Térmica	Tratamiento térmico a diferentes niveles de temperatura en varios medios
Radiación	Exposición a radiación UV/visible
	Exposición a radiaciones de alta energía

Existen dos tipos básicos de procesos de hidrólisis ácida: diluido y concentrado. Cada uno con diferentes variantes de proceso. Los procesos diluidos se llevan a cabo a altas temperaturas y presiones, tienen tiempos de reacción en el orden de segundos o minutos. A temperaturas moderadas, la sacarificación tiene bajos rendimientos debido a la descomposición de los azúcares. Una temperatura mucho más elevada $237\text{ }^{\circ}\text{C}$ favorece la hidrólisis de la celulosa. Sin embargo, la mayoría de los procesos diluidos están limitados a una eficiencia de recuperación de alrededor del 50%. La razón de esto es que los azúcares se convierten en otros compuestos, principalmente furanos. Desafortunadamente, las condiciones que causan la hidrólisis también favorecen la descomposición [10].

El método ácido concentrado utiliza temperaturas relativamente moderadas y solamente están involucradas presiones de bombeo. La principal ventaja de los procesos concentrados es la alta eficiencia de recuperación que puede ser cercana al 90% de los azúcares tanto de la hemicelulosa como de la celulosa. Las bajas presiones permiten el uso de materiales relativamente económicos como son tanques y tuberías de fibra de vidrio. Desafortunadamente es un proceso relativamente lento y el desarrollo de sistemas de recuperación de ácido ha tenido muchas dificultades. De no recuperarse el ácido, el proceso se vuelve excesivamente costoso, además de que se requieren de grandes cantidades de óxido de calcio para neutralizar el ácido en la solución de azúcares. Esta neutralización genera como producto grandes cantidades de sulfato de calcio, el cual requiere de remoción, creando costos adicionales [10].

Cinética de la Hidrólisis ácida de la celulosa

El mecanismo de hidrólisis de la celulosa sigue los pasos ilustrados por medio de la Figura 6 [2]. La ruta dominante consiste de las siguientes etapas:

- a) Formación de un ácido por adición de un protón
- b) La formación de un catión piranosil.
- c) La adición y la ruptura heterolítica de una molécula de agua, reemplazando además al grupo OR con un grupo hidroxilo y regenerando un ión H^+ .

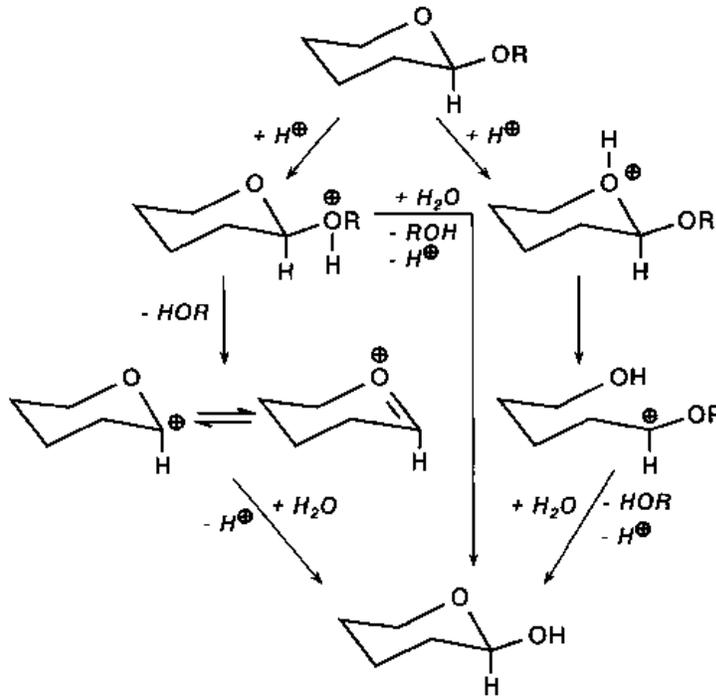


Figura 6. Pasos de la hidrólisis ácida de la celulosa [2].

La cinética global bajo condiciones homogéneas ha sido descrita [17] con dos reacciones consecutivas de pseudo primer orden (Figura 7). La primera corresponde a la hidrólisis de la celulosa seguida de la degradación de la glucosa. El principal producto de la degradación de la glucosa es el hidroximetilfurfural, el cual se convierte posteriormente en ácido levulínico y ácido fórmico. Dichos compuestos pueden inhibir la producción de etanol por parte de las levaduras.



Figura 7. Esquema de reacción de la celulosa. Los valores de k_1 y k_2 representan la constantes de reacción para ecuaciones de pseudo primer orden [17].

Sin embargo, otros investigadores [8] han propuesto otros mecanismos basados en el carácter bifásico de la celulosa (zonas amorfas y cristalinas). La Figura 8 muestra un modelo que supone que la celulosa no se degrada directamente en unidades de glucosa sino primero en glucanos de longitud variables (celo- m- osas, por ejemplo celobiosa, celotriosa etc.). Se modelan la reacciones por medio de 5 ecuaciones diferenciales, considerando reacciones de primer orden para cada componente de la Figura 8. En dicha figura se muestran también las constantes de reacción obtenidas

para cinéticas con residuos de cebada a temperaturas de 150-200 °C. Se puede observar que la constante de velocidad para la celulosa amorfa es casi 17 veces mayor que la de la cristalina. Esto es debido a que en la celulosa cristalina la accesibilidad es menor. También se observa que la constante de formación de glucosa es mucho mayor que su velocidad de descomposición.

Otro esquema de reacción es presentado en la Figura 9 [18]. Se muestra un esquema más completo que incluye la formación de hidroximetilfurfural y ácido levulínico y la descomposición directa de la celulosa.

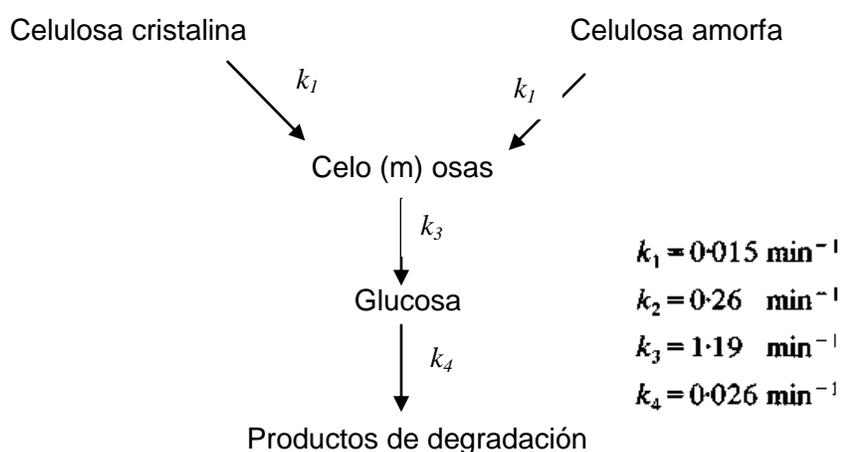


Figura 8. Esquema del mecanismo de hidrólisis de la celulosa en glucosa y productos de reacción [8].

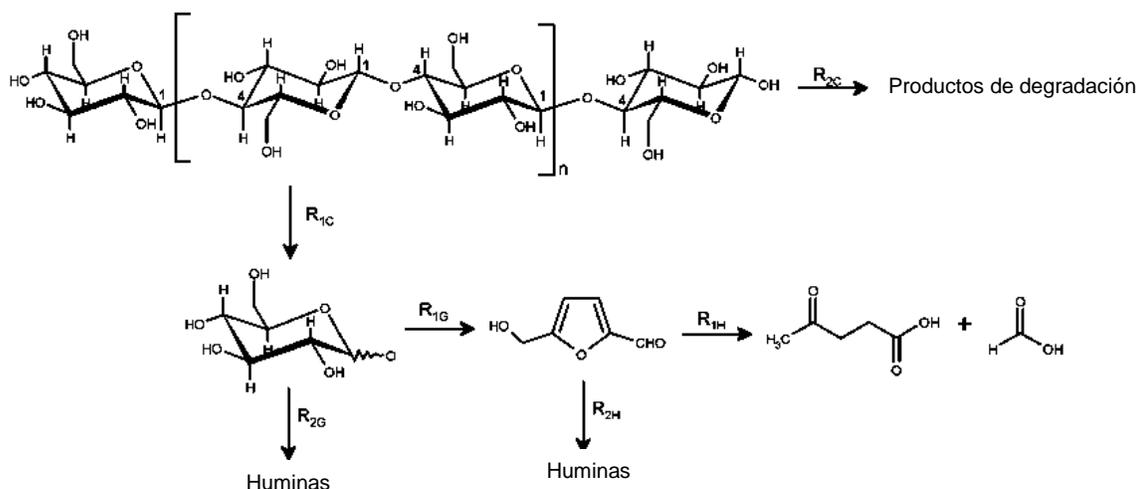


Figura 9. Esquema para la red de reacciones durante la hidrólisis ácida de la celulosa [18].

Aspectos de química heterogénea de la reacción de hidrólisis

La hidrólisis ácida de la celulosa es una reacción heterogénea, es decir que la velocidad de reacción se encuentra influida por factores físicos como son el grado de cristalización, barreras difusionales, conformación física y enlaces con otras sustancias y que representan la mayor parte de la resistencia global del proceso [4].

La hidrólisis de los puentes de hidrógeno también sigue una reacción de primer orden. Las constantes de primer orden siguen la ecuación de Arrhenius con una modificación para incluir un término correspondiente a la concentración de ácido. Ver Ec (1).

$$k_i = k_{i0} A^{mi} e^{-\frac{E_i}{RT}} \quad (1)$$

En donde mi es un exponente que muestra la dependencia de la constante con respecto a la concentración de ácido. k_{i0} y E_A son constantes análogas a las de la ecuación de Arrhenius. Sin embargo dichas ecuación aplican solamente bajo condiciones homogéneas (por ejemplo cuando se trata de oligosacáridos solubles en el medio hidrolítico). Además, durante la hidrólisis de la celulosa se forma un compuesto llamado hidrocélulosa, el cual es un polímero con menor grado de polimerización pero una tendencia más alta a cristalizarse. La velocidad de hidrólisis de la celulosa es uno o dos órdenes de magnitud menor que la obtenida en hidrólisis homogénea usando compuestos modelo solubles [4].

Para manejar cuantitativamente el cambio en el grado de polimerización (DP) durante la hidrólisis homogénea de la celulosa, es muy utilizado el “grado de ruptura” S definido según la Ec. (2), en donde DP_n es el grado de polimerización promedio. Se observa que cuando dicho valor alcanza el valor de 1, todos los enlaces glicosídicos han sido rotos.

$$S = \frac{1}{DP_n} \quad (2)$$

Siguiendo esta convención, la ecuación de primer orden estaría expresada en la Ec. (3). Al inicio del proceso la reacción puede ser aproximada a una reacción de orden cero con una velocidad de hidrólisis constante (Ec (4)). La energía de activación que gobierna la dependencia de la constante con la temperatura es de $131.9 \pm 0,02$ kJ/mol [2].

$$\frac{dS}{dt} = k(1 - S) \quad (3)$$

$$\frac{dS}{dt} = kt \quad (4)$$

Cabe recordar que dichas ecuaciones corresponden a una reacción homogénea. Dicha condición se consigue por medio de un hinchamiento intracristalino para convertir un sistema heterogéneo en uno homogéneo. La mayor parte de la ruptura de enlaces se lleva a cabo después de dilución y a altas temperaturas y con total accesibilidad a las cadenas macromoleculares.

El cambio en DP de la celulosa en un sistema catalizado por ácido se caracteriza por un decremento rápido, disminuyendo la velocidad hasta que DP llega a un valor constante ($LODP$) Esto se muestra en la Figura 10.

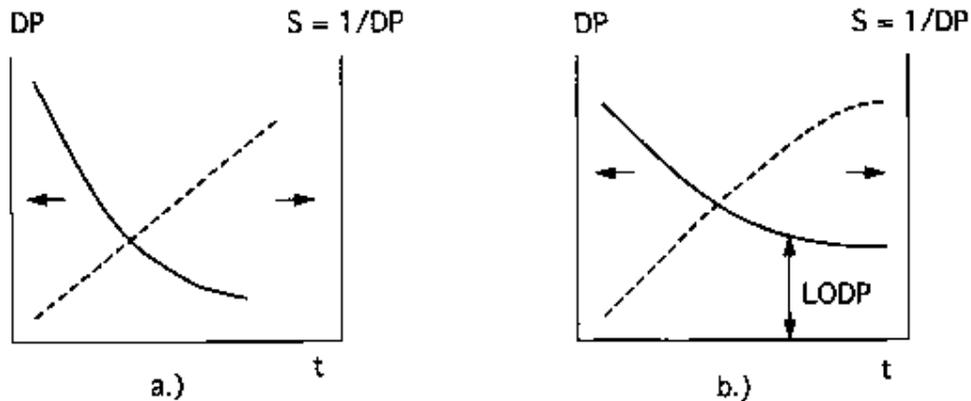


Figura 10. Cambios en el curso de la reacción con respecto a DP y S. a) Sistema homogéneo, b) Sistema heterogéneo [2].

El valor de $LODP$ está determinado por el tratamiento de la celulosa y por su estructura supramolecular y morfológica (Tabla 8) Un valor de $LODP$ más bajo corresponde a un mayor grado de accesibilidad y de rendimiento.

Tabla 8. LODP de diferentes materiales [2].

Material	LODP
Textil ramie	300
Pulpas de madera comercial	100-300
Pulpa de haya tratada con sulfitos	250-500
Pulpa de haya tratada con sulfitos , tratada a 140 °C	100-200
Borras de algodón, blanqueadas y desfibradas	140- 180
Pulpa de madera mercerizada	60-100
Rayon	25-40

REVISION DE ANTECEDENTES SOBRE FENÓMENOS DE TRANSPORTE Y EL TAMAÑO DE PARTÍCULA EN LA HIDRÓLISIS DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

Introducción

El etanol carburante es uno de los biocombustibles que tienen una industria más desarrollada con una producción mundial de alrededor de 14–26 Mton [13] y es utilizado como sustituto parcial o total de las gasolinas y como agente oxigenante de las mismas. Sus principales ventajas con respecto a los combustibles fósiles son: a) Una huella ecológica de CO₂ y superficie requerida menor [19]. b) reducción de emisiones de hidrocarburos y ozono [20]. c) Es una fuente renovable de energía d) Rendimiento energético positivo [21]. Actualmente cerca del 90% del etanol se obtiene principalmente de materias primas compuestas por azúcares simples o polisacáridos fáciles de degradar como el jugo de caña y el almidón. Sin embargo, existe preocupación acerca de los efectos económicos y ambientales que puede ocasionar la competencia por el uso de suelo con actividades prioritarias como la producción de alimentos. Es por esta razón que mucha investigación se ha centrado en la utilización de residuos lignocelulósicos para la producción de etanol carburante. Su utilización incrementaría el rendimiento energético por hectarea, además de evitar la competencia con la producción de alimentos. Los llamados residuos lignocelulósicos consisten principalmente de residuos agroindustriales, residuos de la industria de la madera y del papel. Son materiales que se distinguen por su abundancia, ya que en la naturaleza se producen a razón de 10¹¹-10¹² ton anuales. Estos materiales comprenden los polímeros más abundantes que existen en la tierra [2]. Para ser convertidos a etanol, dichos materiales deben ser convertidos en azúcares simples y fáciles de utilizar por los microorganismos que los convertirán en etanol. Sin embargo su resistencia a ser hidrolizados ha sido un reto en el cual se han logrado avances importantes. El método más empleado es la hidrólisis ácida y es además el más utilizado y estudiado. Dicho proceso consiste en tratar el material con algún ácido a temperaturas elevadas. En los primeros trabajos de modelamiento se trataba este proceso como una reacción pseudohomogénea de primer orden [17]. Sin embargo, existen fenómenos que no

pueden ser explicados por medio de esta simplificación ya que se trata de una reacción heterogénea. Se han encontrado diferencias en el rendimiento en reactores por lotes y continuos, siendo más efectivos los reactores continuos de percolación [4, 22, 23, 24, 25]. Por otra parte, las cargas elevadas de sólidos ejercen un efecto negativo sobre el rendimiento de azúcares obtenido [26]. Otro efecto que hay que explicar son las desviaciones de las predicciones del modelo de Arrhenius sobre el efecto de la temperatura sobre las constantes de velocidad [4], efectos del grado de cristalinidad de la celulosa en la velocidad de hidrólisis [8, 27] y efectos de la velocidad de reacción por velocidad de flujo en reactores continuos [4, 25]. Estas observaciones pueden deberse a limitaciones a la transferencia de masa y calor, la estructura interna del sólido o a aspectos relacionados con el equilibrio sólido líquido. Se ha realizado recientemente muchas investigaciones enfocadas a la comprensión de estos aspectos. Esta revisión se centra en los aspectos de la química heterogénea de la reacción de hidrólisis ácida de los diferentes materiales lignocelulósicos con el objetivo de establecer el estado del arte en este campo y focalizar áreas de oportunidad para investigación que permitan una comprensión integrada para el desarrollo de procesos más eficientes.

Hidrólisis ácida y pasos de reacción

Para realizar la hidrólisis ácida de los polisacáridos (celulosa y hemicelulosa) de los materiales lignocelulósicos, es necesario realizar la ruptura de los enlaces glicosídicos. En el método de hidrólisis ácida diluida, se utilizan temperaturas elevadas por periodos cortos de tiempo. La reacción consiste de 1) la adición de un protón y la formación de un ácido, 2) La formación de un catión piranosil y 3) La adición y la ruptura heterolítica de una molécula de agua, reemplazando además al grupo OR con un grupo hidroxilo y regenerando un ión H^+ . En un proceso real, se ponen en contacto una fase líquida y una sólida y se requiere que los reactivos (tanto los iones H^+ como el agua) sean transportados desde el cuerpo del líquido hacia la superficie y el interior del sólido hasta los sitios de reacción, que los productos de reacción (mono y oligosacáridos) se disuelvan en la fase líquida y sean transportados hacia el exterior. Durante este proceso se han reportado que pueden ocurrir reacciones de degradación [28], reincorporación de los hidrólizados hacia la fase sólida [4, 29] y reacciones de hidrólisis de

oligosacáridos en la fase líquida [4, 26]. Por otra parte, la forma cristalina o amorfa de los polisacáridos influye fuertemente en el mecanismo de reacción. En el caso de la celulosa, se considera que en las regiones cristalinas, la reacción procede en los extremos de las cadenas formando glucosa, mientras que en las regiones amorfas la reacción puede proceder en las partes intermedias produciendo oligosacáridos y posteriormente glucosa, sin embargo cuando el tratamiento es drástico la celulosa cristalina también produce oligosacáridos [4]. En la fase líquida siguen existiendo reacciones como son la ruptura de los oligosacáridos solubles en monómeros, la formación de complejos de la glucosa con la lignina soluble, así como la formación de productos de degradación a partir de la glucosa. La Figura 6 muestra las posibles rutas que se siguen en el proceso en los diferentes puntos de localización que proponemos. Respecto a la hemicelulosa, tradicionalmente se han considerado que existen dos fracciones una “fácil” y otra “difícil” de hidrolizar. Esto ha sido debido a la observación de que después de haberse hidrolizado el 70% de la hemicelulosa la velocidad de reacción disminuye drásticamente. Sin embargo, el trabajo experimental ha sido insuficiente para aclarar este aspecto. Jacobsen [26] propuso que la razón de la presencia de estas fracciones podrían ser a) limitaciones de transporte, por ejemplo difusión b) reacciones no-homogéneas en la interface o c) accesibilidad, por ejemplo algo de xilano estando ligado más íntimamente con la lignina.

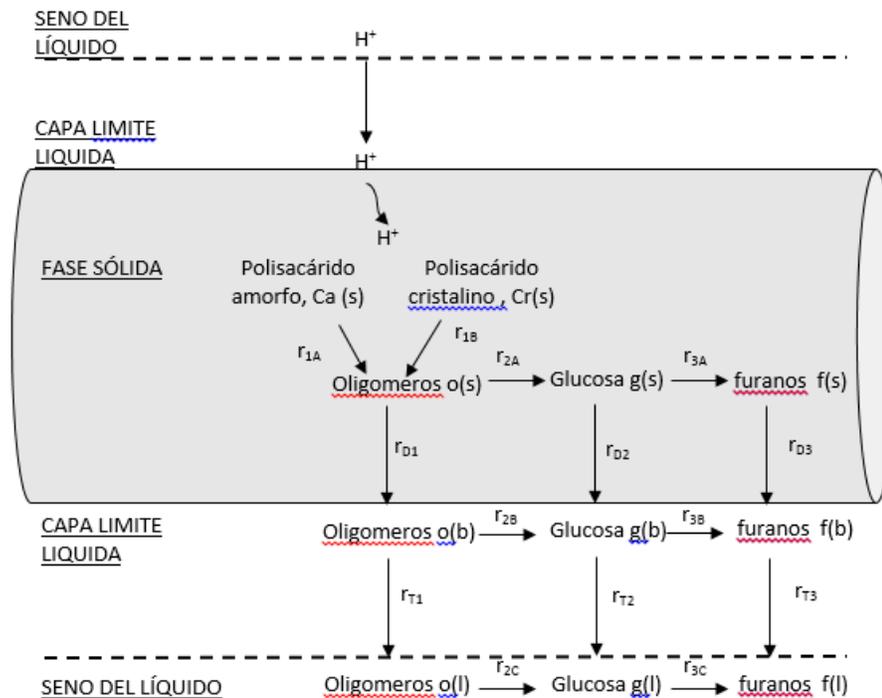


Figura 6. Rutas de reacción y transporte involucradas en el proceso de hidrólisis de biomasa. (s) significa presente en la fase líquida. (b) significa en la capa límite y (l) representa en la fase líquida.

Se han hecho comparaciones de diferentes modelos y por lo general se observa que mientras más compleja es la red de reacciones, la exactitud de los modelos tiende a ser más exacta. Sin embargo para fines de utilidad práctica es importante establecer la importancia relativa de cada una de las ramas del esquema de reacción, considerando que dicha importancia puede variar dependiendo de las condiciones de reacción.

Durante el proceso de hidrólisis también ocurren cambios en el sistema que han sido poco estudiados y modelados. Durante el proceso el tamaño de las partículas tienden a reducir su tamaño, el índice de cristalinidad de la celulosa tiende a aumentar debido a la remoción de la celulosa amorfa. Existen también cambios en la viscosidad del medio [30]. Todos estos aspectos prácticamente no han sido introducidos a los modelos de reacción.

Resistencia externa y reología

La velocidad con la cual el ácido se transporta a través de la capa hidrodinámica que se forma a la superficie de la partícula depende esencialmente de la reología del medio y de la agitación y, en menor medida del tamaño y geometría de las partículas. Las mediciones de la reología de las suspensiones de fibras de materiales lignocelulósicos son complicadas debido a fenómenos de sedimentación y a interacciones de entrecruzamiento de las fibras, lo que las hace materiales difíciles de caracterizar. Por otro lado las mediciones generalmente se realizan a temperaturas moderadas por lo que su validez de los parámetros viscoelásticos para el proceso termoquímico de hidrólisis es limitada. Varios estudios muestran que las suspensiones de diversos materiales lignocelulósicos exhiben comportamiento pseudoplástico [30, 31, 32, 33] es decir que la viscosidad disminuye con el aumento del esfuerzo de cizalla y se ha mostrado que los datos experimentales se ajustan a un modelo de un plástico de Bingham [33], exhibiendo una deformidad de fluencia significativa. El principal aspecto que determina la reología del medio de hidrólisis es el contenido de sólidos presentes. La mayoría de los trabajos relacionados con la hidrólisis de materiales lignocelulósicos utilizan una relación de líquido a sólidos elevada. Valores comunes son de 1:8 hasta 1:20 [8, 34, 35] debido a la naturaleza higroscópica del material y la necesidad de mantener húmedo el sólido. La viscosidad aparente de la suspensión se incrementa con la concentración de sólidos [30, 36] disminuye con el tamaño de partícula y también disminuye con la temperatura [30, 33]. En el proceso de hidrólisis se presentan modificaciones en la reología. Viamajala y col. [30] estudiaron la viscosidad de los hidrolizados de rastrojo de maíz encontrando que concentraciones de ácido mayores disminuyen la viscosidad final del medio. Erhardt y col. [33] sugirieron que dichos cambios se deben esencialmente a cambios en el tamaño de partícula durante el tiempo de reacción.

Algunos estudios sugieren una influencia importante de los patrones de flujo en el exterior de la partícula en la velocidad de hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa. La mayoría de estos estudios fueron realizados en reactores de percolación o de flujo continuo, encontrando una influencia importante de la velocidad de flujo en la solubilización de los azúcares hidrolizados [23, 24, 37] en algunos casos mejorando el

rendimiento de manera drástica [22]. Sin embargo la importancia de dicha influencia disminuye al incrementarse la concentración de ácido [25]. Estos estudios pueden indicar que la transferencia de masa externa ejerce una influencia en el proceso de dos maneras: 1) Determinando la velocidad de transporte de ácido o calor hacia la superficie de las partículas o 2) Influenciando la velocidad de solubilización de los productos de la hidrólisis (oligosacáridos y monosacáridos) hacia la fase líquida, en donde la reacción sería homogénea. Yang y col., [38] midieron el coeficiente de transporte de los oligosacáridos de xilosa formados hacia la fase líquida, encontrando que dichos coeficientes se incrementan con el aumento de la convección ya sea, aumentando el flujo en reactores continuos o incorporando la agitación, encontrando valores mayores por un orden de magnitud para reactores de lecho empacado. Sin embargo la importancia relativa de dichos efectos no ha sido estudiada por completo. Sin embargo Mittal y col., [39] construyeron un modelo para estimar los efectos de las resistencias a la solubilización de los productos de degradación de los xilanos (xilosa y xilooligómeros) encontrando que cantidades importantes de hidrolizados permanecen en el líquido retenido en los poros de la fase sólida debido a resistencias a la solubilización. Existe, por otro lado, poca información acerca del efecto de la agitación en la velocidad de reacción en la hidrólisis ácida y la mayor parte de los experimentos la relacionan con el proceso de hidrólisis enzimática en donde se ha observado una influencia muy importante de la agitación [40,41]. Como consecuencia existe poca información útil para el escalamiento de un proceso dado que la agitación es uno de los aspectos que son influenciados por el cambio de escala. La relación entre reología, velocidad de agitación y potencia requerida se suelen representar mediante gráficos de número de potencia vs Número de Reynolds. Palmqvist y col. [40] obtuvieron una relación entre ambas cantidades adimensionales encontrando una relación semejante a una ecuación lineal. Por otra parte Caldas y col., (2010) encontraron menores requerimientos de energía utilizando paletas inclinadas que turbinas tipo Rushton. Se debe, sin embargo establecer el costo/beneficio energético del uso de agitación para el proceso de hidrólisis. Es posible que a altas temperaturas disminuya la importancia de la agitación, sin embargo esto debe verificarse experimentalmente.

Kim y col., [42] encontraron que velocidades de agitación de 400-700 rpm, no tienen efecto en la velocidad de transporte del ácido sulfúrico hacia la partícula, sin embargo

no se provee una comparación con el proceso sin agitación, posiblemente esto indica que la velocidad necesaria para igualar la concentración de la superficie de la partícula a la del resto del líquido sea muy baja. Por otra parte, Zamudio y col., [43] encontraron que la agitación en combinación con ácido, es capaz de reducir el tamaño de partícula en bagazos, realizando un proceso de reducción de tamaño e hidrólisis de manera simultánea. En vista de lo anterior es posible que el patrón de flujos en el exterior de la partícula afecten sobre todo en la hidrólisis de la hemicelulosa y en la solubilización de los azúcares (mono y oligosacáridos) ya hidrolizados, No parece que a las temperaturas de hidrólisis ácida diluída sea un factor importante respecto al transporte de ácido a los sitios de reacción, sin embargo puede resultar útil para reducir el tamaño de las partículas.

Efecto del tamaño de partícula y resistencias internas

El tamaño de las partículas es un factor que generalmente es muy importante en las reacciones heterogéneas. Se mencionó que el tamaño de la partícula es capaz de modificar la reología del medio, sin embargo, es posible que tenga el efecto de determinar las velocidades de transporte de calor y masa hacia las zonas de reacción. Saeman y col.,[17] y Girisuta [18] encontraron que en la hidrólisis de la celulosa dicho tamaño no afecta la velocidad de hidrólisis en el intervalo de 40-840 μm sin embargo no es considerado el efecto de los demás polímeros (hemicelulosa y lignina). Debido a esto es poca la atención que este tema ha recibido. Para el caso de la hidrólisis de materiales lignocelulósicos por medio del método termoquímico generalmente se han utilizado tamaños de partículas de 10- 60 mesh [8, 22, 29, 42]. Sin embargo, la reducción de tamaño de las partículas es una etapa de consumo de energía muy intensivo y que en los balances de energía de los procesos de producción de etanol es poco atendido [44]. Existen varios estudios en los cuales se estima el consumo energético de la molienda de este tipo de materiales [16, 45, 46] en los cuales se han estimado los consumos energéticos correspondientes a la molienda de diferentes materiales lignocelulósicos encontrando consumos de hasta 19.7-130 Wh/Kg para maderas y de 1.6-42 Wh/Kg para residuos agrícolas (dependiendo principalmente del tamaño de partícula final requerido y del método de molienda) y estos consumos se

vuelven mayores a medida que el tamaño requerido es menor. La energía consumida puede ser hasta el 30% de la energía obtenida del etanol producido de materiales lignocelulósicos lo que compromete la sustentabilidad de este proceso. Es por esta razón que es necesaria la investigación de nuevas formas de reducción de tamaño que permitan reducir estos consumos. Por ejemplo, Zhu y col., [47]) lograron una reducción de hasta el 80% en el consumo energético utilizando un pretratamiento con ácido sulfúrico o bisulfito. Otro aspecto poco considerado son los métodos de caracterización de las partículas. Generalmente se ha utilizado el método de tamizado para caracterizar el tamaño de partícula de los materiales usados para estudio, sin embargo, es el área superficial la que determina la transferencia de masa y calor hacia la partícula. Zhu y col., 2011 [48] propone el concepto de la productividad superficial (para combinar el consumo energético con el rendimiento de azúcares) es decir, la productividad de azúcares por unidad de área producida por el método de molienda. Abaseed y col., [49], midieron la difusividad térmica de maderas encontrando valores de $2.63-1.27 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$ encontrando un efecto muy pequeño en ausencia de hemicelulosa. En ese mismo trabajo se realizaron simulaciones matemáticas para verificar el efecto del tamaño de la partícula en la transferencia de calor encontrando una distribución no homogénea de la temperatura en la partícula de manera que al inicio del proceso la velocidad de hidrólisis es máxima cerca de la superficie, sin embargo dicha zona de velocidad máxima de hidrólisis se desplaza después de un tiempo hacia el centro, mientras que la velocidad de descomposición de los azúcares es ahora máxima en la superficie, reduciéndose el rendimiento y aumentando los tiempos de procesamiento. Dicho efecto se vuelve mayor a medida que el tratamiento es más severo (temperatura y ácido). Por otra parte, el efecto de la distribución heterogénea de la temperatura debida al tamaño de partícula afecta más rápidamente al tiempo de procesamiento que al rendimiento final de los azúcares obtenidos. Es decir, es posible según estos resultados modificar ampliamente el tamaño de partícula sin afectar el rendimiento, Sin embargo esto debe demostrarse empíricamente. Por otro lado Kim y col. [42] midieron la difusividad del ácido hacia el interior de partículas de materiales lignocelulósicos (Tabla 9) encontrando valores mayores para residuos agrícolas que para maderas y una disminución exponencial de dichos valores con el aumento de la temperatura.

Tabla 9. Resumen de valores de difusión efectiva del ácido sulfúrico en diferentes sustratos [42].

Material	No de malla	Coeficiente de Difusividad cm ² /s		
		25 °C	50 °C	75 °C
Bagazo	14-20	3.59x10 ⁻⁶	5.02x10 ⁻⁴	7.25x10 ⁻⁶
	20-24	2.99x10 ⁻⁶	4.02x10 ⁻⁶	5.36x10 ⁻⁶
rastrojo de maíz	14-20	3.25x10 ⁻⁶	4.59x10 ⁻⁶	7.13x10 ⁻⁶
	20-24	2.69x10 ⁻⁶	4.48x10 ⁻⁶	7.01x10 ⁻⁶
Paja de arroz	14-20	5.79x10 ⁻⁶	1.16x10 ⁻⁵	2.01x10 ⁻⁵
	20-24	4.46x10 ⁻⁶	9.62x10 ⁻⁶	1.05x10 ⁻⁵
Álamo amarillo	14-20	1.73x10 ⁻⁶	2.78x10 ⁻⁶	4.34x10 ⁻⁶

Girisuta y col., [18] reporta a su vez un valor de $6.5 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para celulosa a 200 °C. Si consideramos que el módulo de Thiele es el principal criterio para determinar si existe una resistencia a la transferencia de masa, la transferencia de masa interna es limitante depende principalmente de la temperatura del proceso, esto es debido a que la importancia de la transferencia de masa es mayor a medida que la velocidad de reacción se incrementa por efecto de la temperatura y de la concentración de ácido. Se puede concluir por lo tanto, que la reacción de hidrólisis de los polisacáridos de los materiales lignocelulósicos es una reacción heterogénea en la cual están involucrados factores físicos y fenómenos de transporte que influyen notablemente sobre la velocidad de reacción y el rendimiento de los productos fermentables. Estos aspectos no han sido estudiados lo suficiente para poderlos incorporar en los modelos de reacción. Dada la complejidad de las reacciones químicas, los cambios en las fases líquida y sólida, así como la influencia de los fenómenos de transporte, es necesario realizar un estudio que demuestre la importancia relativa de cada uno de ellos para poder clarificar la forma de inhibir rutas indeseadas en el proceso con mayor eficacia, y de esta manera obtener mayores rendimientos, productos más concentrados y menores productos indeseables. Las tendencias como son la utilización de relaciones S/L más elevadas requieren una mayor comprensión sobre los factores que limitan las velocidades de reacción y, por lo tanto del rendimiento. La importancia de realizar esto

se remarca en el proceso del escalamiento de los procesos, ya que la mayoría de los estudios reportados se han realizado en reactores de nivel laboratorio y con volúmenes pequeños. Consideramos que el efecto del cambio de escala es un aspecto poco estudiado pero con una importancia relevante dada la naturaleza heterogénea de la reacción sobre todo en reactores de flujo continuo que han resultado más eficientes que los reactores por lotes. Consideramos también que el efecto del tamaño de partícula determina efectos difusivos, sin embargo este no es constante durante el proceso. Por otro lado es necesario establecer un compromiso razonable entre los beneficios de la reducción del tamaño de partícula y la energía requerida para alcanzarlo. Un estudio profundo de estos aspectos puede dar luz en el desarrollo de procesos más eficientes y sustentables.

Hipótesis

Bajo las condiciones en que se llevan a cabo la hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa para la producción de etanol en la mayoría de los procesos industriales la velocidad de reacción se encuentra controlada por la velocidad de difusión ($\phi > 3$).

Objetivo general

Delimitar las condiciones bajo las cuales el tamaño de partícula es el factor limitante para la velocidad de reacción en el proceso de hidrólisis ácida.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del tamaño de partícula en la velocidad de reacción
- Establecer un modelo matemático que establezca la relación entre el proceso de hidrólisis y los fenómenos de transferencia de masa
- Determinar experimentalmente los parámetros del modelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recopilación de los materiales

Las materias que se seleccionaron fueron madera de pino, bagazo de caña, bagazo de agave y rastrojo de maíz. La madera fue recolectada de un aserradero de la localidad de Loma Caliente en el municipio de Morelia Michoacán. Se recolectaron 300 kg de costera residual, la cual había sido secada al sol por aproximadamente 10 días. El bagazo de caña fue recolectado de un ingenio azucarero de la localidad de Taretan, Michoacán. La muestra consistió en 200 kg de material proveniente del proceso de extracción de jugo de caña. El material había sido dejado secado al sol aproximadamente 1 mes. El bagazo de agave se recolectó de una empresa productora del Atotonilco, Jalisco. La muestras consistió en aproximadamente 200 kg de bagazo de *agave Tequilana weber* cocido y húmedo proveniente de la producción de tequila. El rastrojo de maíz fue recolectado de 4 sembradíos de varias localizaciones de la ciudad de Morelia. Las piezas de rastrojo se limpiaron y se dejaron secar al sol por 2 días.

Tratamiento de las muestras

Los costales de muestras provenientes de las diferentes fuentes se dejaron secar al sol por 15 días en piso de cemento. Posteriormente se realizó un proceso de cuarteo para tomar una muestra representativa de montón total conforme a la norma mexicana NMX-AA-15-1985. Por medio de éste método se obtuvo una muestra representativa de 1 Kg para cada material. El material fue molido utilizando una máquina de picado de rastrojo de cuchillas y posteriormente, la muestra fue lavada con agua caliente a 60° C por 2 horas para eliminar los residuos sólidos. El material fue secado posteriormente a 60 °C por 2 h. Se procedió a clasificar las muestras por tamaño de partícula utilizando un tamizar vibratorio, con un tiempo de procesamiento de 30 min, utilizando tamices estándar de tamaño de malla 10, 20, 40, y 60 (ver **Apéndice A**). Las muestras posteriormente fueron almacenadas en bolsas herméticas a las cuales se les extrajo el aire por medio de una bomba de vacío y se almacenaron en congelación para evitar su degradación u oxidación.



Figura 7. Tamices de separación.

Caracterización química

Para la caracterización química se emplearon los métodos de la *Technical Association of the Pulp and Paper Industry* (TAPPI) y el *American National Standards Institute* (ANSI). Se realizaron las pruebas de humedad y sustancias extraíbles (TAPPI T-264), lignina insoluble en ácido (TAPPI T-222), holocelulosa (ANSI/ASTM D 1106-56), celulosa (ANSI/ASTM D 1103-60) y la hemicelulosa se calculó por diferencia de peso entre la celulosa y la holocelulosa. Los detalles de dichas técnicas se pueden encontrar en el **Apéndice**.

Para la medición del índice de cristalinidad se tomó 1g de muestras pulverizadas y secas de cada material. Se utilizó un difractómetro de rayos X SIEMENS D5000 (Figura 8) utilizando Cu K a 30 KV y 20 mA, el intervalo de ángulo utilizado fue de 10-70 grados y longitud de onda 1.546. Los datos fueron procesados por medio del programa Origin (OriginLab Corp) usando como método de suavizado la Transformada de Fourier. La cristalinidad de la biomasa se expresó mediante el índice de cristalinidad (Crl) el cual fue determinado mediante la fórmula $Crl(\%) = (I_{002} - I_{am}) / I_{002} \times 100$ en donde I_{002} es la intensidad para la porción cristalina de la biomasa (aproximadamente a $2\theta=22.5^\circ$) y I_{am} es el pico para la región amorfa a cerca de $2\theta=15.5^\circ$ [50].



Figura 8. Difractómetro de rayos X SIEMENS D5000.

Reactor experimental

Para los experimentos de hidrólisis de los diferentes materiales lignocelulósicos se utilizó un reactor de acero inoxidable SS304 de un Volumen interno de 50 mL aproximadamente (Figura 9). La temperatura interna se midió por medio de un termopar tipo K para un rango de 10-400 °C acoplado en un termopozo roscado recto de 3/8 NPT macho, diámetro exterior de 1/2", diámetro interior pasado de 1/4". El medio de calentamiento utilizado fue un baño de aceite. La agitación del reactor se realizó por medio de una barra magnética y una plancha de calentamiento (Isotemp) con agitación y regulación de las revoluciones por minuto.

Diseño experimental y método de hidrólisis

Se utilizó un diseño experimental central compuesto reducido de caras centradas, utilizando cuatro factores con tres niveles cada uno. Los factores utilizados fueron la velocidad de agitación (0, 600 y 1200 rpm), la temperatura (140, 175 y 210 °C), la relación Líquido/sólido (20,15 y 10) y el tamaño de malla empleado (60, 40 y 20). De esta forma se obtuvieron 18 tratamientos los cuales se muestran en la Tabla 10.

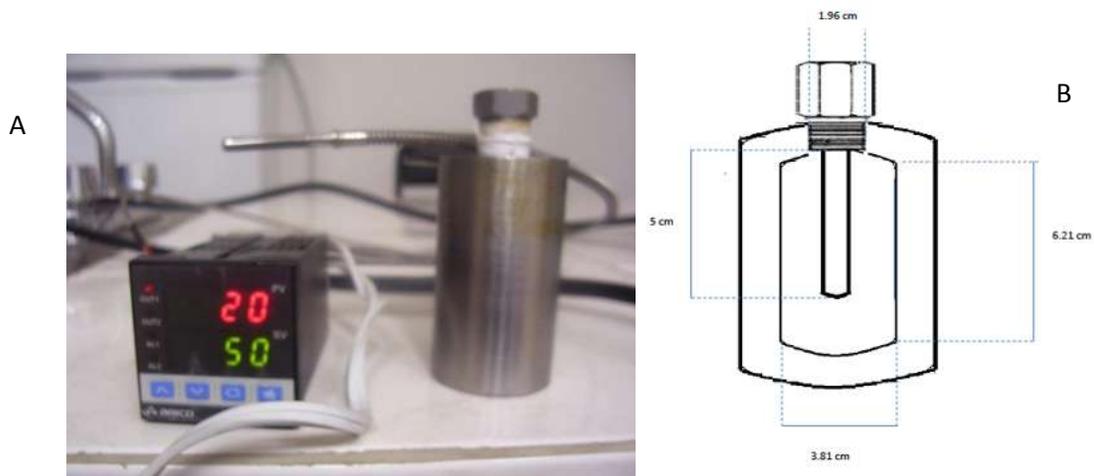


Figura 9. Reactor por lotes empleado para los experimentos de hidrólisis. A. Imagen del reactor. B. Esquema del reactor.

Tabla 10. Diseño experimental empleado.

L/S	T	ag	malla
10.0	140.0	1200.0	20.0
15.0	175.0	600.0	60.0
20.0	140.0	0.0	60.0
15.0	210.0	600.0	40.0
10.0	175.0	600.0	40.0
20.0	140.0	1200.0	60.0
15.0	175.0	600.0	20.0
15.0	175.0	0.0	40.0
20.0	210.0	0.0	20.0
15.0	175.0	1200.0	40.0
10.0	140.0	0.0	20.0
10.0	210.0	0.0	60.0
15.0	140.0	600.0	40.0
20.0	210.0	1200.0	20.0
20.0	175.0	600.0	40.0
15.0	175.0	600.0	40.0
10.0	210.0	1200.0	60.0
15.0	175.0	600.0	40.0

De cada tratamiento se realizaron cinéticas a tres diferentes tiempos, 5, 20 y 40 minutos y cada punto fue realizado por triplicado. Para cada experimento se utilizó una cantidad fija de 15 mL de una solución de ácido sulfúrico al 2%. El reactor junto con el líquido

fueron introducidos en el baño de aceite hasta alcanzar una temperatura de 70 ° C, tiempo después del cual se agregó la cantidad necesaria de los diferentes materiales lignocelulósicos para cada tratamiento correspondiente del diseño experimental. Inmediatamente el reactor fue cerrado y sellado hasta alcanzar la temperatura del tratamientos. Durante el proceso se cuidó que no existiera evaporación del líquido del interior. Una vez concluido el tiempo del tratamiento se enfrió el reactor hasta una temperatura menor a 40 °C al chorro de agua. El contenido del reactor fue extraído y se separaron las fases sólida y líquida para su análisis

Métodos analíticos

La concentración de Glucosa, xilosa y arabinosa de la fase líquida fue medida utilizando Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, Varian; ver Figura 10) utilizando una columna Metacarb. Como fase móvil se usó agua desionizada, a una velocidad de flujo de 1mL/min y un tiempo de 15 minutos y un detector de índice de refracción. Las concentraciones fueron calculadas usando las curvas estándar mostradas en el Apéndice C preparadas con glucosa y xilosa (Sigma).

El contenido de azúcares reductores en las muestras hidrolizadas se determinó utilizando el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) con glucosa como estándar. Éste método consiste en agregar 1,0 mL del reactivo de DNS (ver **Apéndice D**) a un volumen de 0,1 mL de muestra, calentar a ebullición durante 10 minutos. Una vez terminado el tiempo de reacción, se enfrió durante 5 minutos en un baño de agua a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia a 570 nm. Las mediciones se realizaron en un espectrofotómetro UV-Vis (Jenway; ver Figura 11). La concentración de las muestras fue calculada utilizando la curva de calibración del **Apéndice E**.

La presencia de furfural e hidroximetil furfural (furanos totales) se determinaron por medio de un espectrofotómetro UV marca Jenway mod. 6505 a una longitud de onda de 276 nm. Este método tiene una precisión similar a la del HPLC [51]. Las muestras fueron diluidas para alcanzar un rango de concentración de 0-10 mg/L. La concentración de furanos totales se realizó por medio de una curva patrón utilizando Furfural (J.T Bakker) como estándar (ver **Apendice F**)



Figura 10. Cromatógrafo de Líquidos de alta resolución HPLC.



Figura 11. Espectrofotómetro UV-Vis.

Análisis del tamaño de partícula y caracterización geométrica.

De las muestras hidrolizadas se extrajo el líquido del sólido por medio de filtración al vacío y el sólido se puso a secar a una temperatura de 80 °C por 6 horas en una estufa

FELISA. El sólido seco fue pesado para realizar la determinación de sólidos remanentes por gravimetría y posteriormente se fotografiaron mediante un microscopio digital GAM-100 (Stereon) todos los sectores de la muestra previamente esparcidas sobre una superficie rotulada. La determinación del tamaño de partícula se realizó mediante el análisis fotográfico. Las fotografías fueron analizadas mediante el software de procesamiento de imagen ImageJ 1.44p (Wayne Rasband, National Institutes of Health). Mediante este software se distinguieron las partículas del fondo mediante la aplicación de un umbral selectivo de color y las mediciones se realizaron comparando con una medida estándar conocida tomada del fondo de las fotografías [52]. Se tomaron como medidas el diámetro de Feret como longitud de las fibras y el diámetro mínimo de Feret como medida del diámetro de las fibras (ver **Apéndice G**).



Figura 12. Capturas del software ImageJ utilizado para la medición de las partículas. a) Fibras de biomasa b) Identificación c) mediciones del contorno de las partículas identificadas. Los cuadros tienen una medida estándar de 1 mm.

El diámetro medio ajustado como función de la longitud de las fibras (D_{L21}) fue calculado mediante la Ec (5). En donde n_i , L_i son el número y la longitud y de fibras con diámetro d_i . S_f^V es la relación área/ volumen media de las partículas. Esta ecuación asume que la relación entre longitud y diámetro es mayor a 5 [44].

$$D_{L21} = \frac{\sum_i n_i L_i d_i^2}{\sum_i n_i L_i d_i} \approx \frac{4}{S_f^V} \quad (5)$$

Dicho parámetro es el diámetro medio de las partículas conservando la misma relación área/volumen que la muestra poblacional de partículas analizadas. De cada muestra se tomaron medidas aleatorias de por lo menos 1000 partículas: Se utilizó en el análisis de

las imágenes la restricción de no tomar en cuenta las fibras que no aparecen completas en las fotografías o con un índice de solidez menor a 0.85, lo cual fue interpretado como fibras sobrepuestas.

Medición de las constantes de velocidad

Los resultados de cada tratamiento se graficaron con respecto al tiempo. Para medir la constante de velocidad se utilizó un modelo considerando pasos secuenciales de reacción mostrados en la Figura 13, el cual fue utilizado tanto para modelar la hidrólisis de la celulosa como de la hemicelulosa.



Figura 13. Pasos secuenciales de reacción considerados en la medición de las constantes de velocidad. A. Polisacárido B. Monómero C. Producto de degradación, furfural en el caso de la glucosa, hidroximetilfurfural en el caso de la xilosa.

Considerando el esquema de reacción las ecuaciones diferenciales que describen el comportamiento del sistema son las siguientes:

$$\begin{aligned}\frac{dC_A}{dt} &= -k_1 C_A \\ \frac{dC_B}{dt} &= k_1 C_A - k_2 C_B \\ \frac{dC_C}{dt} &= k_2 C_B\end{aligned}$$

En donde, C_A , C_B , y C_C son las concentraciones de los componentes del esquema de reacción de la Figura 13 y las k_i son las constantes de velocidad respectivas y t es el tiempo de reacción. La solución de las ecuaciones diferenciales mencionadas se muestra en las Ecs (6) y (7):

$$C_B = C_{A0} \left(\frac{k_1}{k_2 - k_1} \right) \left[e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t} \right] \quad (6)$$

$$C_c = C_{A0} \left(1 + \frac{1}{k_2 - k_1} \right) \left[k_2 e^{-k_1 t} + k_1 e^{-k_2 t} \right] \quad (7)$$

En donde C_{A0} es la concentración inicial de cada polisacárido en la mezcla de reacción. Para calcular las constantes de velocidad para cada tratamiento experimental se ajustó la Ec. (6) a los datos de concentración de azúcares monoméricos (glucosa y xilosa) mediante regresión no lineal utilizando el software Scientist (Micromath) mediante el algoritmo de Levenberg-Marquardt. Tras calcular las constantes de velocidad, se simularon curvas de producción de azúcares y degradación usando el método de Runge- Kutta de cuarto orden usando el software Labfit.

Análisis estadístico y optimización

Los resultados del diseño experimental se ajustaron a un modelo de segundo orden lineal que se muestra en la Ec. (8) para describir el efecto de todos los factores por el método de mínimos cuadrados y el significado de los parámetros fue evaluada en $\alpha = 0,05$.

$$y_n = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_j \sum_{i=1}^k \beta_{ik} x_i x_j + \varepsilon_i \quad (8)$$

Donde \hat{y}_n es cualquiera de las variables de respuesta (glucosa, xilosa y concentraciones de furano, y el rendimiento de la glucosa y xilosa); x_i y x_j son los $k = 5$ factores (velocidad de agitación, temperatura, relación L / S, tamaño y tiempo de partículas) y los coeficientes β son parámetros de regresión.

La optimización multivariada del proceso se realizó utilizando el enfoque de la función de Deseabilidad [53]. Este método consiste en transformar un problema multivariado a uno univariado mediante la definición de una función objetivo, donde la deseabilidad D (una medida de la "bondad" del proceso) es la variable para ser optimizada. D se

calcula a partir de las deseabilidades individuales de todas las variables de respuesta (d) utilizando la Ec (9).

$$D = (d_1 \times d_2 \times \dots \times d_n)^{(1/k)} \quad (9)$$

Donde:

$$d_i = \left\{ \begin{array}{ll} 0 & \hat{y}_i \leq y_{i^*} \\ \left[\frac{\hat{y}_i - y_{i^*}}{y_i^* - y_{i^*}} \right]^r & y_{i^*} \leq \hat{y}_i \leq y_i^* \\ 1 & \hat{y}_i \geq y_i^* \end{array} \right\}$$

Para las variables de respuesta a ser maximizadas (por ejemplo, las concentraciones de azúcares y sus rendimientos) y:

$$d_i = \left\{ \begin{array}{ll} 1 & \hat{y}_i \leq y_{i^*} \\ \left[\frac{\hat{y}_i - y_{i^*}}{y_{i^*} - y_i^*} \right]^r & y_{i^*} \leq \hat{y}_i \leq y_i^* \\ 0 & \hat{y}_i \geq y_i^* \end{array} \right\}$$

Para las variables de respuesta a ser minimizadas (en este caso, la concentración de furanos se minimizaría debido a su toxicidad para el proceso de fermentación posterior). y_i^* y y_i^* son los límites inferior y superior de variable respuesta y_i . La optimización de las condiciones de reacción sobre la deseabilidad del proceso se llevó a cabo usando el algoritmo Simplex mediante el software Statistica v8.0 ® (Statsoft). Puesto que la celulosa y la hemicelulosa tienen diferentes velocidades de reacción puede haber objetivos conflictivos para la glucosa y la concentración de xilosa. Esto también puede ocurrir entre los rendimientos de azúcar y concentraciones, ya que con una disminución de L/S (aumento de la carga sólida) las concentraciones de azúcar aumentarían y los rendimientos disminuirán. Para estudiar esto se realizaron varios intentos de optimización cambiar las variables objetivo de optimización para obtener recomendaciones para diferentes configuraciones de proceso (por ejemplo, procesos de dos etapas).

Análisis de la transferencia de masa y calor.

Con el fin de aclarar la función de transferencia de masa y calor en el proceso, el módulo de Thiele (ϕ) y número Prater (β) se calcularon en las condiciones iniciales de reacción experimentales utilizando $\phi = \frac{R}{2} \sqrt{\frac{k}{D_{eff}}}$ y $\beta = \frac{D_{eff} C_b \Delta H}{K_T T_b}$ [54]. Donde R es el radio de las fibras [3.8 kJ/mol; [55]], K_T es la conductividad térmica efectiva de la fase sólida, la cual fue calculada mediante $K_T = K_w(1 - \epsilon) + (K_{H_2O} \epsilon)$. En donde: $K_w = 0.14$ W/mK; $K_{H_2O} = 0.54$ W/mK, $\epsilon = 0.87$ [56], y T_b es la temperatura del seno del líquido. D_{eff} es el coeficiente de difusividad efectiva del ácido sulfúrico en el material lignocelulósico, el cual fue considerado como una propiedad dependiente de la temperatura y fue calculada con el modelo propuesto por Kim y col. [42]. Para simplificar, la hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa se modelaron como reacciones de primer orden y k es constante reacción de primer orden siguiendo una dependencia de la temperatura conforme el modelo de Arrhenius. La Tabla 11 resume los modelos de reacción, los parámetros y las referencias para el cálculo de constantes de velocidad y la difusividad efectiva en diferentes condiciones de reacción.

Tabla 11. Resumen de los parámetros cinéticos and modelos usados para el cálculo de los módulos de Thiele y números de Prater.

	Effective diffusivity	Ref.
$D_{eff} = D_0 e^{-\frac{E}{RT}}$	$D_0 = 6.08 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$, $E = 3500$ cal/mol	[42]
Cellulose hydrolysis		
$k = k_0 [H]^m e^{-\frac{E_A}{RT}}$	$E_A = 42.9$ kcal/mol, $k_0 = 4.12 \times 10^{18} \text{ s}^{-1}$, $m = 1.21$	[17]
$k = k_0 \% Ac^m e^{-\frac{E_A}{RT}}$	$E_A = 42.5$ kcal/mol, $k_0 = 2.15 \times 10^{17} \text{ s}^{-1}$, $m = 1.16$	[57]
$k = k_0 e^{-\frac{E_A}{RT}}$	$E_A = 33.2$ kcal/mol, $k_0 = 1.81 \times 10^{13} \text{ s}^{-1}$	[58]
Hemicellulose hydrolysis		
$k = k_0 e^{-\frac{E_A}{RT}}$	$E_A = 27.4$ kcal/mol, $k_0 = 8.82 \times 10^{11} \text{ s}^{-1}$	[34]
$k = k_0 \% Ac^m e^{-\frac{E_A}{RT}}$	$E_A = 26.7$ kcal/mol, $k_0 = 2.33 \times 10^{12} \text{ s}^{-1}$, $m = 0.68$	[59]
$k = k_0 \% Ac^m e^{-\frac{E_A}{RT}}$	$E_A = 30.9$ kcal/mol, $k_0 = 1.46 \times 10^{15} \text{ s}^{-1}$, $m = 1$	[60]

RESULTADOS

Caracterización de los materiales

Los materiales lignocelulósicos electos para este estudio (madera de pino, bagazo de caña, bagazo de agave y rastrojo de maíz), después de ser molidos y tamizados fueron separados en cinco fracciones retenidas en los tamices no 10, 20, 30, 40 y 60 (ver Figura 14). Para lograr una separación bien definida de los tamaños de partícula únicamente se utilizaron los sólidos retenidos en los tamices 20, 40 y 60. Este rango de partículas abarcó desde fibras largas hasta polvos finos.

La apariencia de las partículas es de una geometría semejante a fibras cilíndricas con extremos irregulares. Las fotografías de aumento mostraron muy pocas bifurcaciones en las fibras. Dado que el método de tamizado vibratorio separa en base a la dimensión más pequeña (diámetro de la fibra suponiendo una geometría cilíndrica).

Los resultados de los análisis químicos de los principales componentes de los materiales lignocelulósicos se muestran en la Tabla 12. Se observa que, en general el contenido de celulosa y hemicelulosa de los materiales es menor a lo reportado por Cardona [1], mostrados en la Tabla 1. Sin embargo, el contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina son dependientes de la variedad de la planta, el tipo de suelo, condiciones de cultivo, clima, estación, el grado de procesamiento del residuo y el tiempo de almacenamiento. De cualquier manera los datos pueden ser considerados como aproximados a los reportados en la literatura.

De cualquier manera puede observarse que el bagazo de agave es el material que contiene mayor proporción de celulosa. También puede observarse que los materiales contienen cantidades apreciables de humedad y de compuestos extraíbles.

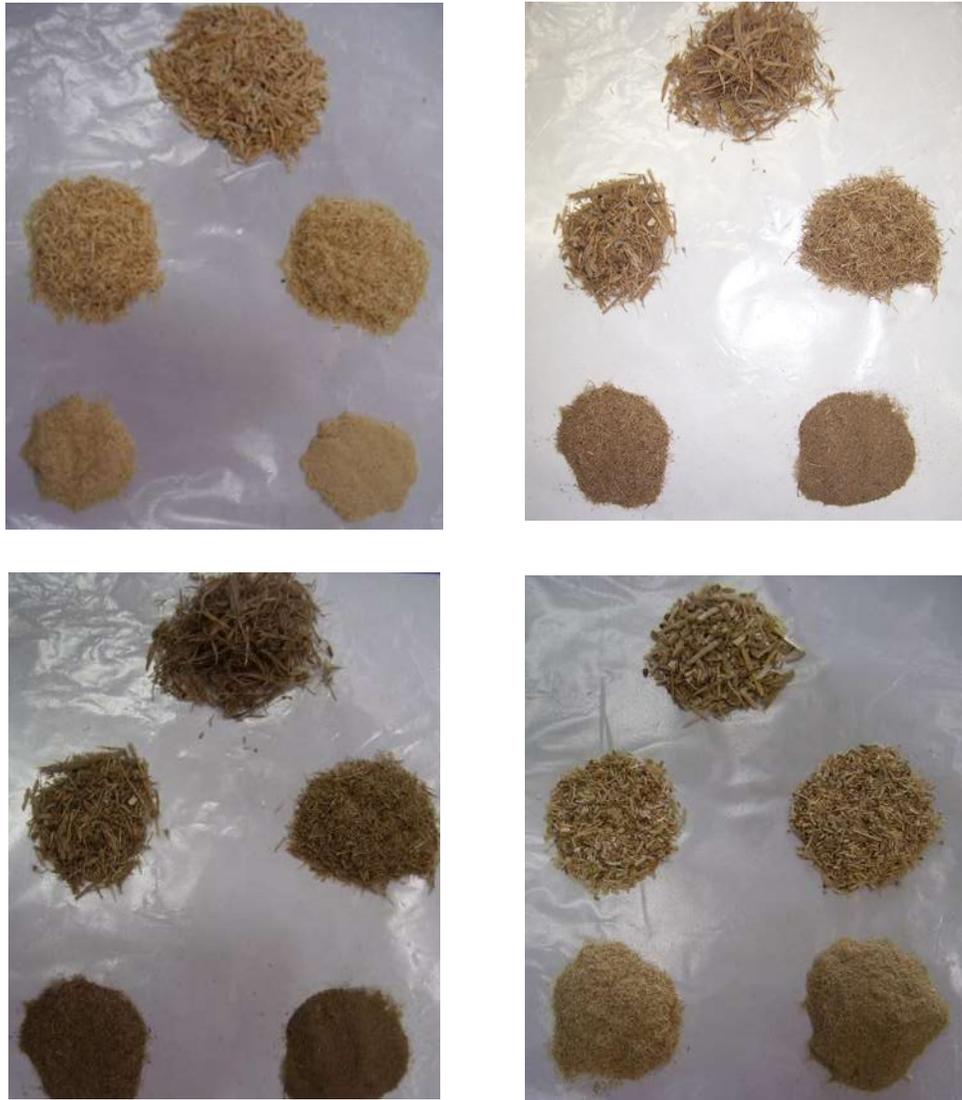


Figura 14. Muestras de los materiales lignocelulósicos. Cada muestra representa las fracciones retenidas en las mallas 10, 20, 30, 40, y 60 A. madera de pino. B. Bagazo de caña. C. Bagazo de agave. D. Rastrojo de maíz.

La Figura 15 muestra los difractogramas de rayos X para cada uno de los materiales. Se observa que el perfil de Intensidad característico de los materiales lignocelulósicos reportados en varias referencias [7,6],[61], mostrando un pico característico en el plano de 22° representando la difracción debido a la fracción cristalina de la celulosa. Los datos de la Figura 15 se utilizaron para calcular el índice de cristalinidad y los resultados se muestran en la Figura 16. Se puede observar que la madera fue el residuo con mayor índice de cristalinidad. Los valores de la Figura 16 se pueden

comparar con datos obtenidos de otros trabajos de investigación. El índice de cristalinidad de las maderas nobles reportado es de 53-58 [5], bagazo de caña 52 [6] y de rastrojo de maíz es de 30.8 [7]. No se encontraron datos para el rastrojo de agave. El índice que presenta mayor diferencia entre los resultados y lo reportado es el rastrojo de maíz. Dichas diferencias pueden depender principalmente del método de secado y del grado de humedad del material. También está reportado que el tipo de método de molienda puede modificar el índice de cristalinidad [62]. De los resultados del índice de cristalinidad resalta el bajo índice de cristalinidad del rastrojo de agave. Esto puede deberse a que el rastrojo ha pasado por un tratamiento térmico durante el proceso de elaboración de tequila. También es el material con mayor contenido de humedad, lo que favorece la formación de regiones amorfas dentro de la estructura de las fibras de celulosa.

Tabla 12. Composición de los materiales lignocelulósicos analizados.

Material	Humedad %	Extraíbles %	Celulosa %	Hemicel. %	Lignina %	Total
Madera de Pino	7.1±0.6	3.52±0.1	32.9±0.31	29.1±6.3	20±3.3	85.73±10.8
Bagazo de caña	8.4±0.2	3.2±0.2	35.8±3.9	20.3±0.21	22.1±0.3	89.8±4.81
Bagazo de agave	10.5±0.2	6.3±0.2	41±0.22	18.5±0.71	28.12	104.52±1.6
Rastrojo de maíz	5.3±0.4	1.3±0.82	38±1.5	24.2±4.2	28.24±4.1	97.24±10.5

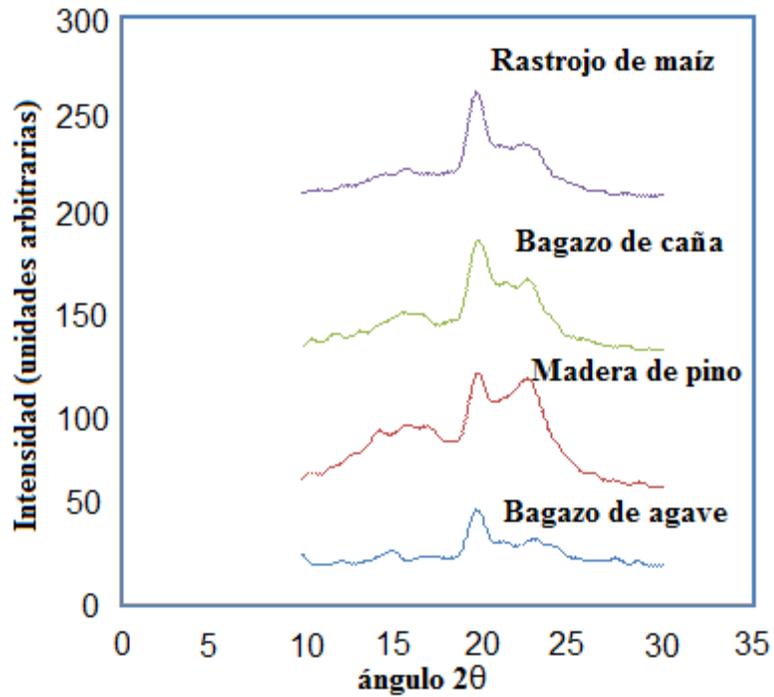


Figura 15. Difractograma de rayos X de los diferentes residuos lignocelulósicos. difractómetro de rayos X SIEMENS D5000 Cu K 30 KV y 20 mA, ángulo de 10-70 grados y longitud de onda 1.546.

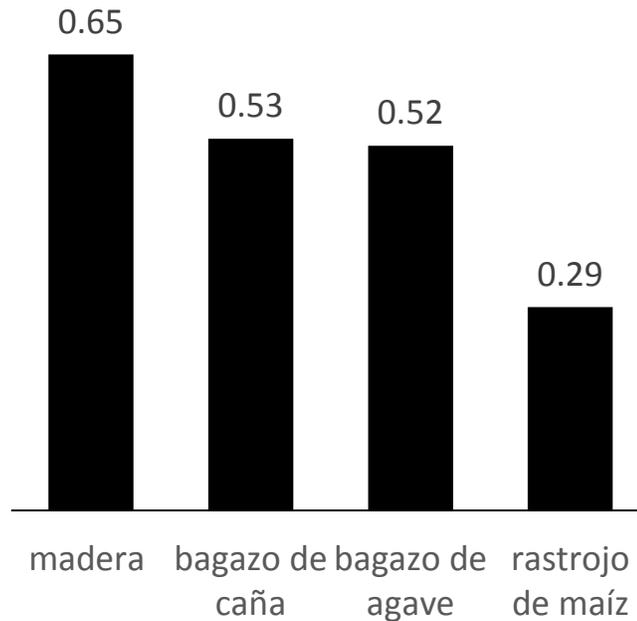


Figura 16. Índice de cristalinidad de los materiales lignocelulósicos.

En la Tabla 13 se observa que el rango de tamaño de partículas obtenido del proceso de molienda abarca desde fibras muy grandes, prácticamente sin moler y únicamente cortadas y desfibriladas, hasta un polvo muy fino y volátil ante corrientes de aire. Los datos sobre el diámetro medio ponderado a longitud (DL21) presentaron muy poca variabilidad dentro de cada fracción. Por el otro lado se observa también que, para todos los materiales las fracciones tienen tamaño de partículas que abarcan un orden de magnitud de diferencia. Se concluye por lo tanto que el método de molienda y clasificación permitió obtener muestras homogéneas, con diámetro de partícula aceptablemente definido y que abarcan un amplio rango para el tamaño de partícula. Dado que la reacción de hidrólisis se supondrá con flujo unidireccional hacia el centro de la partícula se utilizará como dimensión característica el valor de D_{L21} . Dicho diámetro representa el valor del diámetro único de las fibras, con el cual se mantiene la misma relación de Area superficial/volumen de la fibra que la muestra original. Un aspecto que también se puede resaltar es que en casi todas las muestras se mantiene aproximadamente la misma relación Diámetro/Longitud, con un valor cercano a 3. Este fenómeno puede deberse a diferencias entre a la resistencia mecánica longitudinal y la radial.

Tabla 13. Características geométricas de las partículas analizadas.

Madera	No de malla	Tamaño del tamiz (mm)	Diámetro medio de las fibras (mm)	Longitud media de las fibras (mm)	D_{L21} (mm)	Relación de diámetros media
Madera	20	0.84	1.98 ± 0.04	5.30 ± 0.13	2.10	3.15
	40	0.42	1.09 ± 0.03	3.01 ± 0.12	1.2	3.05
	60	0.25	0.14 ± 0.06	0.38 ± 0.24	0.20	3.22
Bagazo de caña	20	0.84	2.68 ± 0.04	7.30 ± 0.13	2.84	2.95
	40	0.42	1.11 ± 0.01	3.24 ± 0.12	1.31	2.78
	60	0.25	0.12 ± 0.08	0.38 ± 0.24	0.24	3.21
Rastrojo de maíz	20	0.84	1.75 ± 0.04	4.30 ± 0.13	2.13	3.16
	40	0.42	1.29 ± 0.01	3.01 ± 0.12	1.32	3.01
	60	0.25	0.15 ± 0.01	0.38 ± 0.24	0.22	3.19
Bagazo de agave	20	0.84	1.81 ± 0.03	3.30 ± 0.13	1.86	2.84
	40	0.42	1.01 ± 0.02	3.01 ± 0.12	1.17	3.19
	60	0.25	0.16 ± 0.05	0.38 ± 0.24	0.18	3.14

Análisis de transferencia de calor en el reactor

La Figura 17 muestra los cambios de temperatura durante el periodo de calentamiento y enfriamiento del reactor. La primera sección de dicha curva presenta una forma sigmoïdal típica de un cuerpo hueco sumergido en un fluido de calentamiento. Se determinó que el reactor es capaz de alcanzar la máxima temperatura empleada en nuestros experimentos (210 °C) en aproximadamente 240 s. El tiempo de enfriamiento bajo el chorro de agua fue de aproximadamente 70 s. Durante este periodo no se observaron cantidades apreciables de glucosa y xilosa, sin embargo se observaron en análisis en HPLC cantidades no determinadas de oligosacáridos no identificados en los tratamientos más severos.

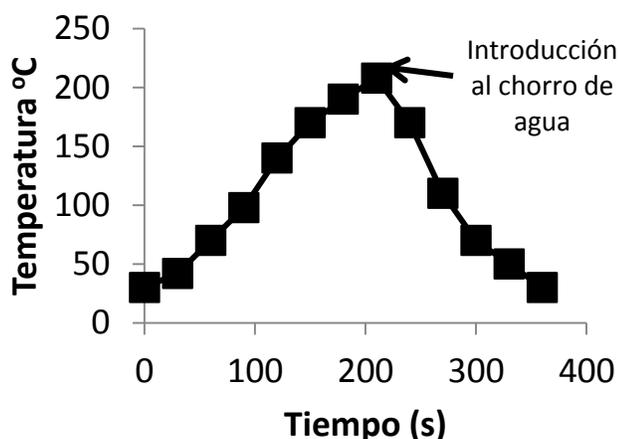


Figura 17. Curva de calentamiento y enfriamiento del reactor empleado.

Resultados de las cinéticas de hidrólisis

Las Figuras 6-9 muestran las cinéticas de producción de azúcares en los experimentos de hidrólisis realizados en el reactor conforme al diseño de la Tabla 10 para cada uno de los 4 materiales lignocelulósicos utilizados en este estudio. De las curvas presentadas en las Figuras 6-9 podemos distinguir los varios patrones comunes. Los principales productos de hidrólisis detectados fueron la xilosa y la glucosa. Se puede observar que, en todas las curvas, la xilosa aumenta de manera más rápida que la glucosa y también se degrada más rápidamente. Este efecto es debido a que la

hemicelulosa, formada en su mayor parte por xilano, se degrada más rápidamente por tener una estructura amorfa. En consecuencia, las máximas concentraciones de xilosa y glucosa no coinciden en la mayoría de las pruebas, por lo que es recomendable un proceso en dos etapas o considerar un compromiso entre dichas concentraciones. Para todos los materiales y en todos los tratamientos se observa un comportamiento parabólico en la curva de concentración de los azúcares. Esto se debe a la degradación de la xilosa en hidroximetilfurfural y de la glucosa en furfural. Esto se puede comprobar observando que en la mayoría de los tratamientos se obtuvieron concentraciones apreciables de furanos los cuales representan la mezcla de furfural, hidroximetilfurfural y compuestos semejantes. También se puede observar que, en la mayoría de los tratamientos la concentración de dichos compuestos excede después de cierto tiempo la concentración de inhibición que es aproximadamente 1.5 g/L [63], [64], por lo que dichos tratamientos, después de dicho tiempo, no serían aptos para un proceso fermentativo posterior o requerirían de algún proceso de destoxificación. Por otra parte, se encontró la presencia de otros azúcares como arabinosa, celobiosa, así como oligosacáridos no identificados, así como ácidos orgánicos como ácido acético. Por simplicidad y por no tratarse del objeto de estudio no se muestran en las curvas cinéticas. Respecto al ajuste del modelo presentado en las Ecs. (6) y (7), se encontró que fue aceptable para las curvas de glucosa y xilosa en la mayoría de los tratamientos. El valor de R^2 de todas las curvas se mantuvo en un rango de 0.76 a 0.88, lo que indica que la ecuación de pseudo-primer orden describe adecuadamente el comportamiento del proceso. Sin embargo, el modelo no fue capaz de ajustarse adecuadamente a los datos de furanos. Esto se atribuye a dos razones. En primer lugar dicha variable es la suma de dos compuestos (furfural e hidroximetilfurfural) y el método analítico empleado no es capaz de diferenciarlos puesto que ambos absorben luz a la misma longitud de onda. En segundo lugar, el modelo no considera que dichos compuestos se degradan en ácidos orgánicos [18] y pueden formar complejos de alto peso molecular. Entre los diferentes materiales se pueden observar diferencias significativas tanto en la velocidad de producción de los azúcares, las máximas concentraciones y en los rendimientos. En general, la madera presentó una velocidad más lenta de hidrólisis. El bagazo de caña permitió obtener las concentraciones de azúcares más altas.

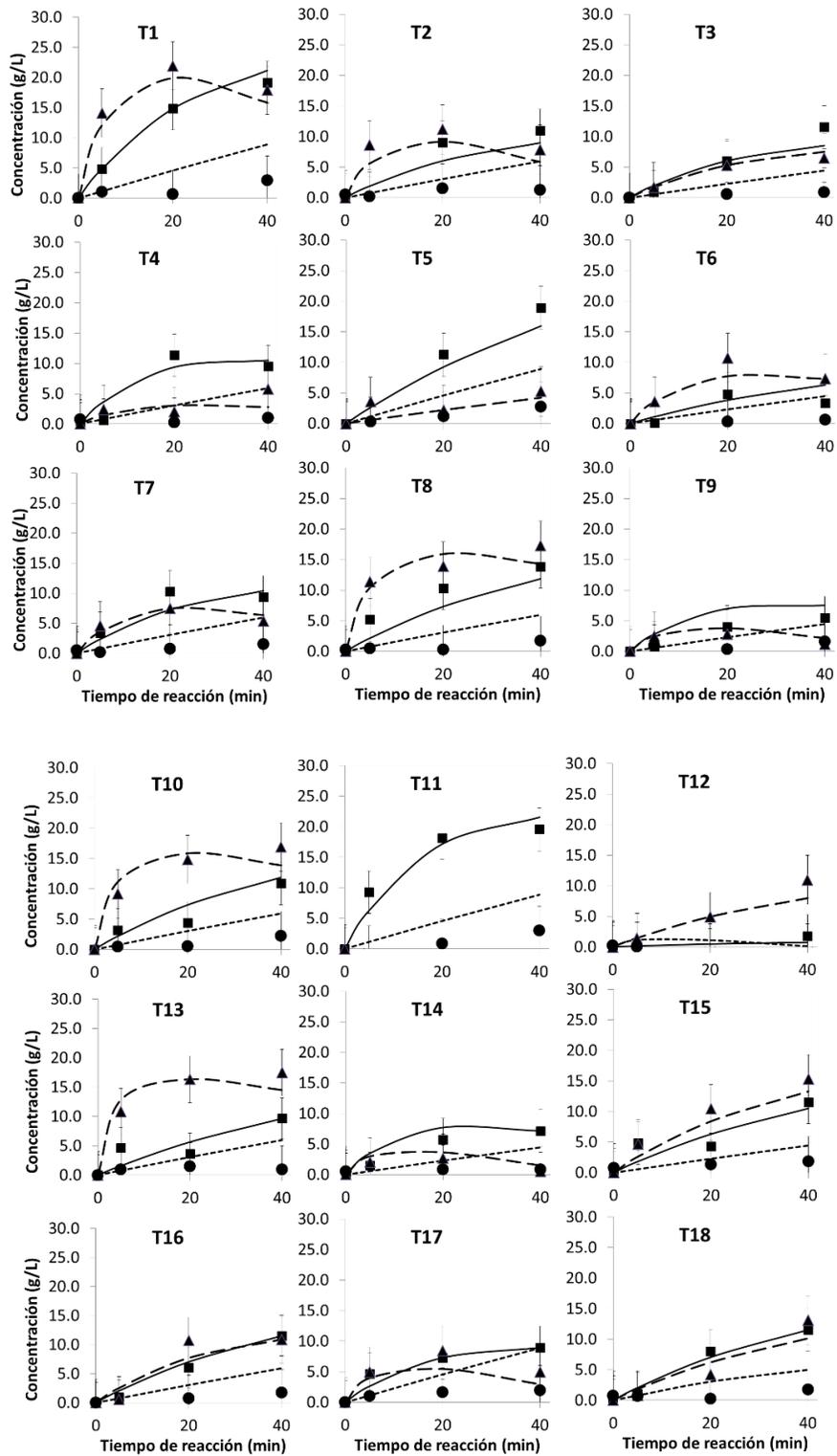


Figura 18. Cinéticas de hidrólisis de madera en el reactor por lotes. Datos experimentales: Xilosa (▲), glucosa (■), Furanos (●). Las líneas representan el modelo ajustado: (- - -) Xilosa, (-) Glucosa, (· · ·) Furanos. Ver la Tabla 10 para detalles de los tratamientos.

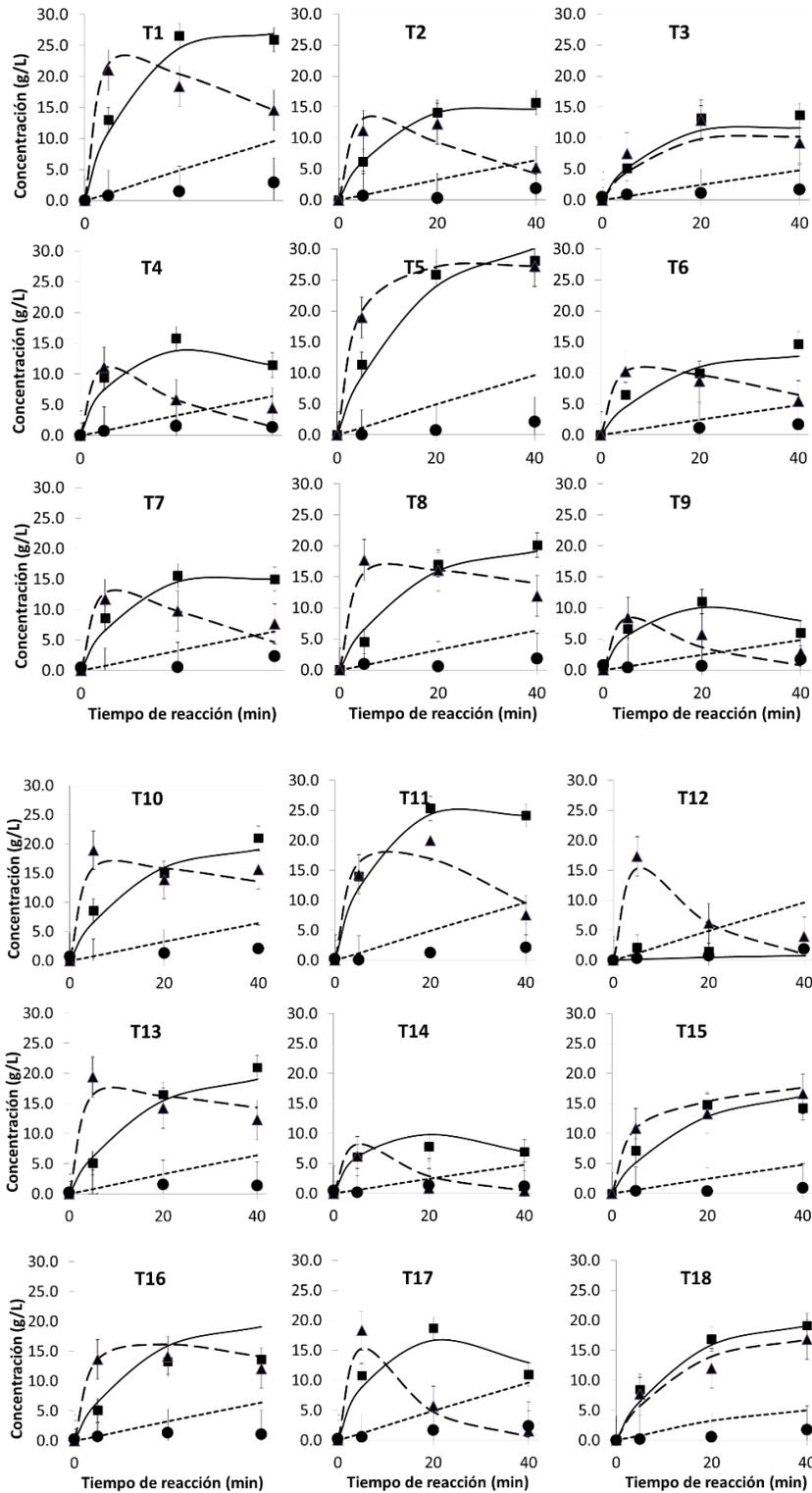


Figura 19. Cinéticas de hidrólisis de bagazo de caña en el reactor por lotes. Datos experimentales: Xilosa (▲), glucosa (■), Furanos (●). Las líneas representan el modelo ajustado: (- - -) Xilosa, (—) Glucosa, (···) Furanos. Ver la Tabla 10 para detalles de los tratamientos.

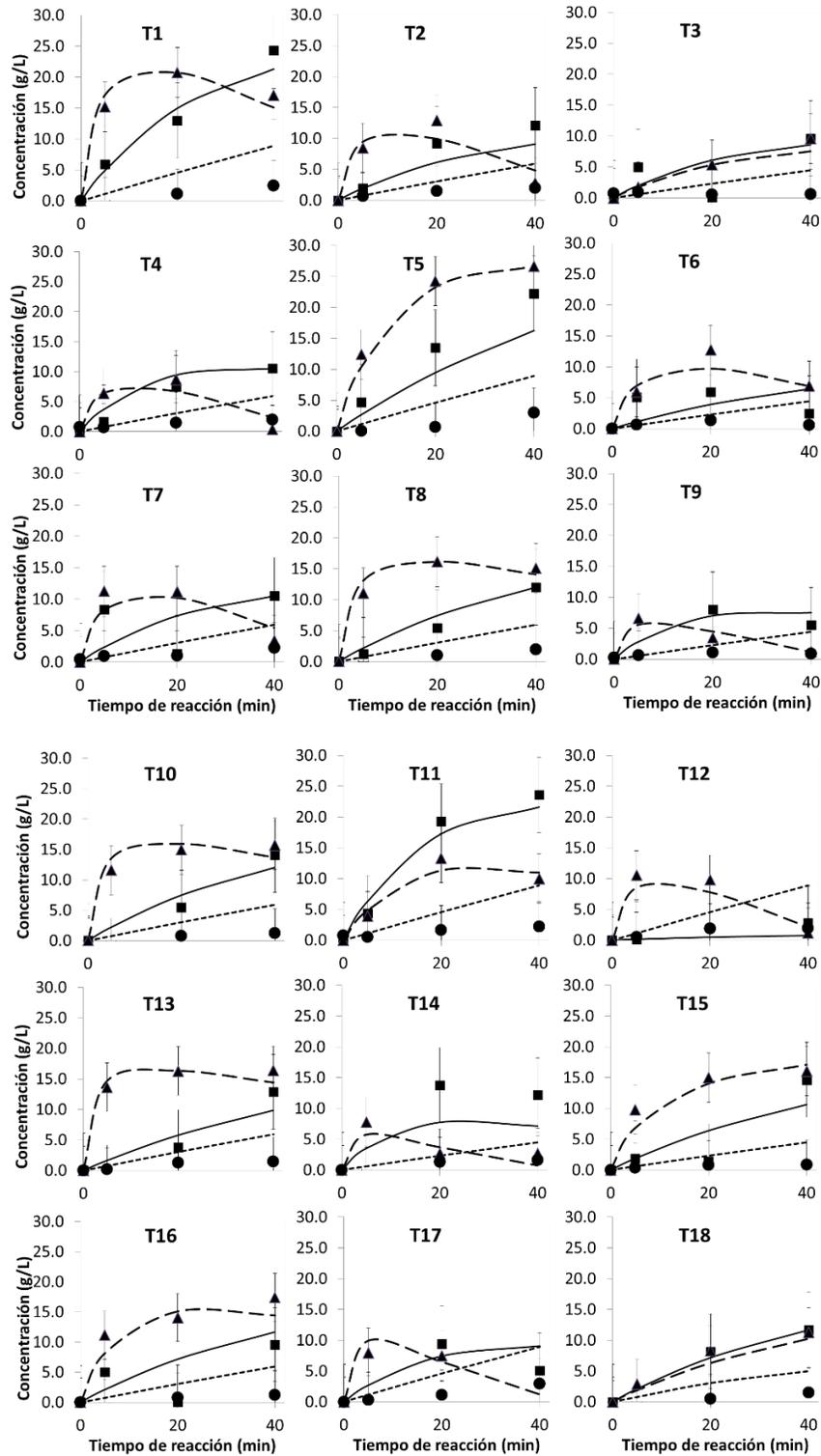


Figura 20. Cinéticas de hidrólisis de bagazo de agave en el reactor por lotes. Datos experimentales: Xilosa (▲), glucosa (■), Furanos (●). Las líneas representan el modelo ajustado: (- - -) Xilosa, (-) Glucosa, (···) Furanos. Ver la Tabla 10 para detalles de los tratamientos.

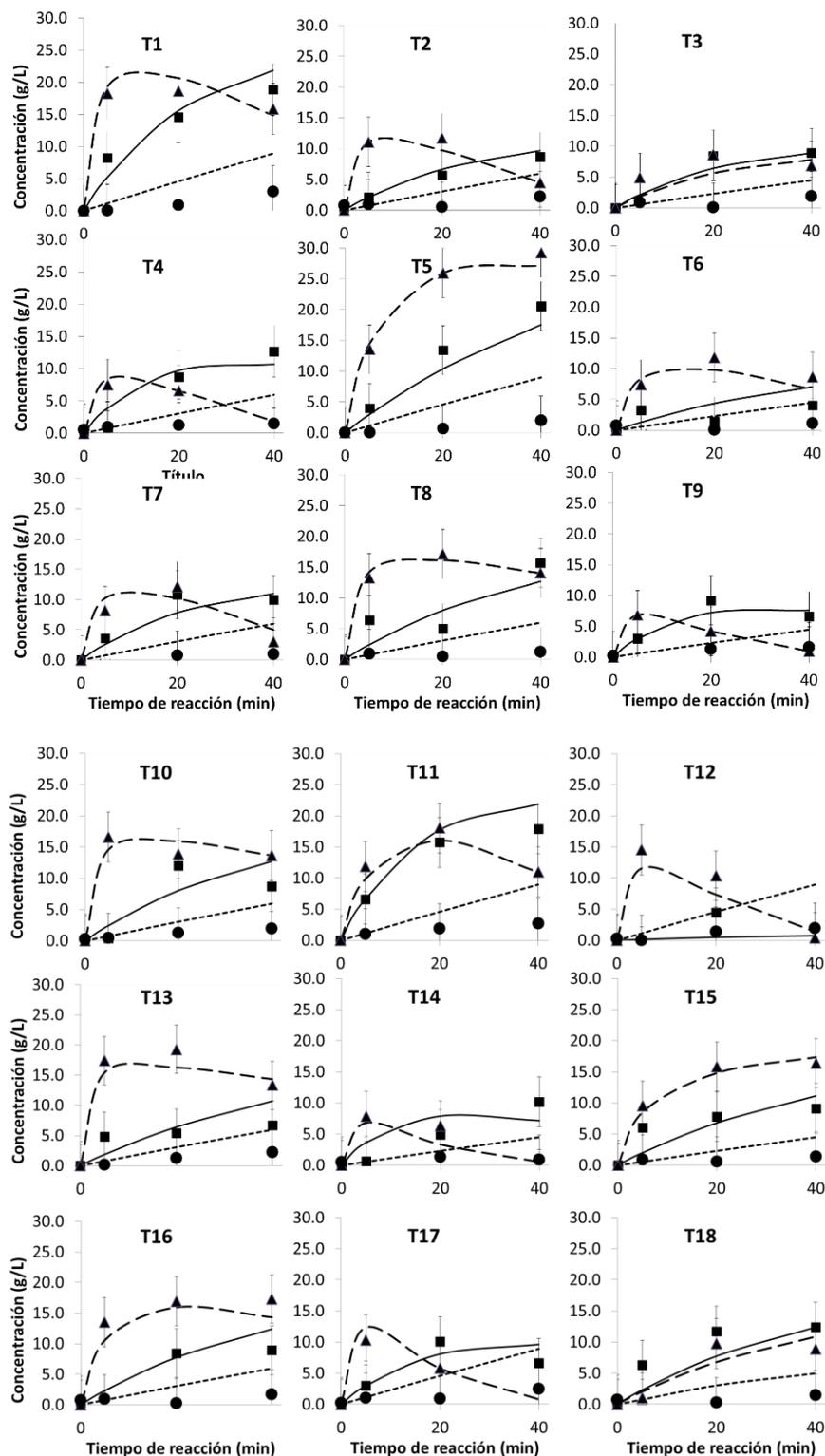


Figura 21. Cinéticas de hidrólisis de bagazo de agave en el reactor por lotes. Datos experimentales: Xilosa (▲), glucosa (■), Furanos (●). Las líneas representan el modelo ajustado: (- - -) Xilosa, (-) Glucosa, (···) Furanos. Ver la Tabla 10 para detalles de los tratamientos.

Los diagramas de Pareto que se muestran en desde la Figura 22 hasta la Figura 25 son el resultado del análisis estadístico de las curvas cinéticas. Deben interpretarse de la siguiente manera. Los efectos aparecen del lado izquierdo junto a los valores de t-student para sus respectivos coeficientes de regresión. Están ordenados de menor a mayor, de manera que se pueden hacer comparaciones sobre la magnitud de sus efectos, así como conocer la dirección del efecto por su signo. Los efectos que cumplan la condición $|t| > 1.93$ son considerados significativos ($P < 0.05$). En general, se puede observar que los múltiples factores cuadráticos e interacciones que son significativos para todas las variables de respuesta indican que se trata de un proceso cuyas variables están íntimamente relacionadas. El hecho de que muchos efectos son significativos solo cuando están en interacción con el tiempo indica también que los factores dependen de propiedades que están cambiando con el tiempo conforme la reacción avanza. De los factores involucrados el más importante es el tiempo, sin embargo por ser obvio, la discusión de los resultados se centrará sobre los demás factores de operación. Se puede observar de los diagramas de Pareto que, los diferentes materiales, a pesar de sus diferencias estructurales siguen algunos patrones comunes. La relación de L/S afecta negativamente la concentración y rendimiento de glucosa y xilosa, sin embargo, ejerce un efecto positivo en interacción con la agitación, el tamaño de partícula o la temperatura en magnitud mayor. Esto es mucho más visible en el caso de la xilosa. El tamaño de partícula afecta de manera diferente a cada material. Como efecto individual ejerce un efecto muy pequeño que ejerce sobre las concentraciones y rendimientos de ambos azúcares, sin embargo afecta positivamente, en un efecto de mayor magnitud cuando está en interacción con la temperatura, altas cargas de sólidos o la agitación. Altas cargas de sólidos tienden a favorecer la formación de furanos, sin embargo en algunas interacciones con el tamaño de partícula pueden hacer que disminuya este efecto. La agitación parece no ejercer ningún efecto de manera individual, sin embargo en interacción con la temperatura y el tamaño de partícula ejerce efectos tanto positivos (aumento de la concentración de azúcares) como negativos (aumento en la concentración de furanos) en el proceso.

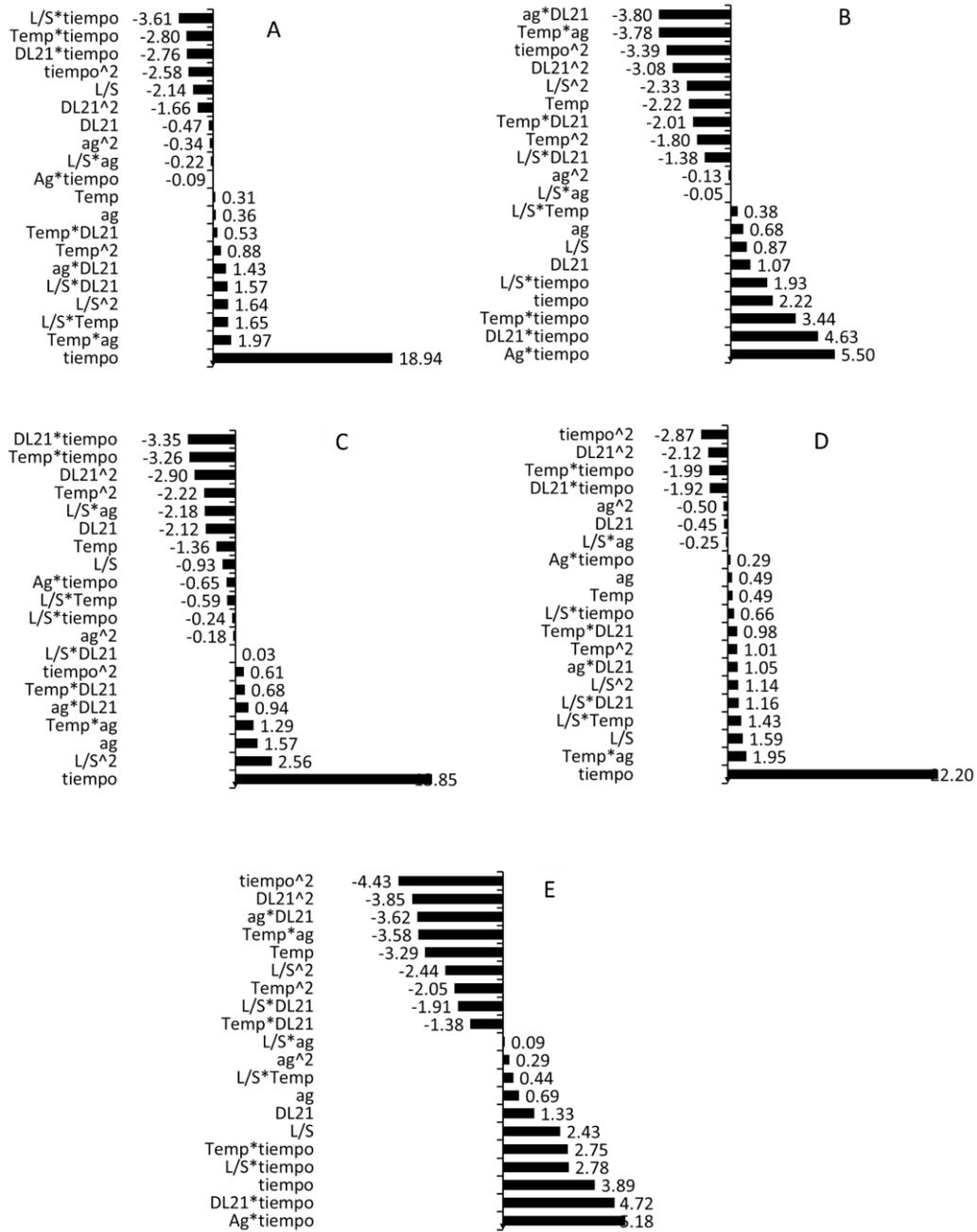


Figura 22. Diagramas de Pareto de los parámetros del modelo de regresión para madera. Las cifras de las barras corresponden al valor de t -student del parámetro correspondiente al factor tabulado en la izquierda del gráfico. Los parámetros con un valor absoluto de $|t| > t_{crit} = 1.93$ son estadísticamente significativos ($P < 0.05$). A. Concentración de xilosa B. Concentración de glucosa. C. Concentración de furanos. D. Rendimiento de xilosa E. Rendimiento de glucosa.

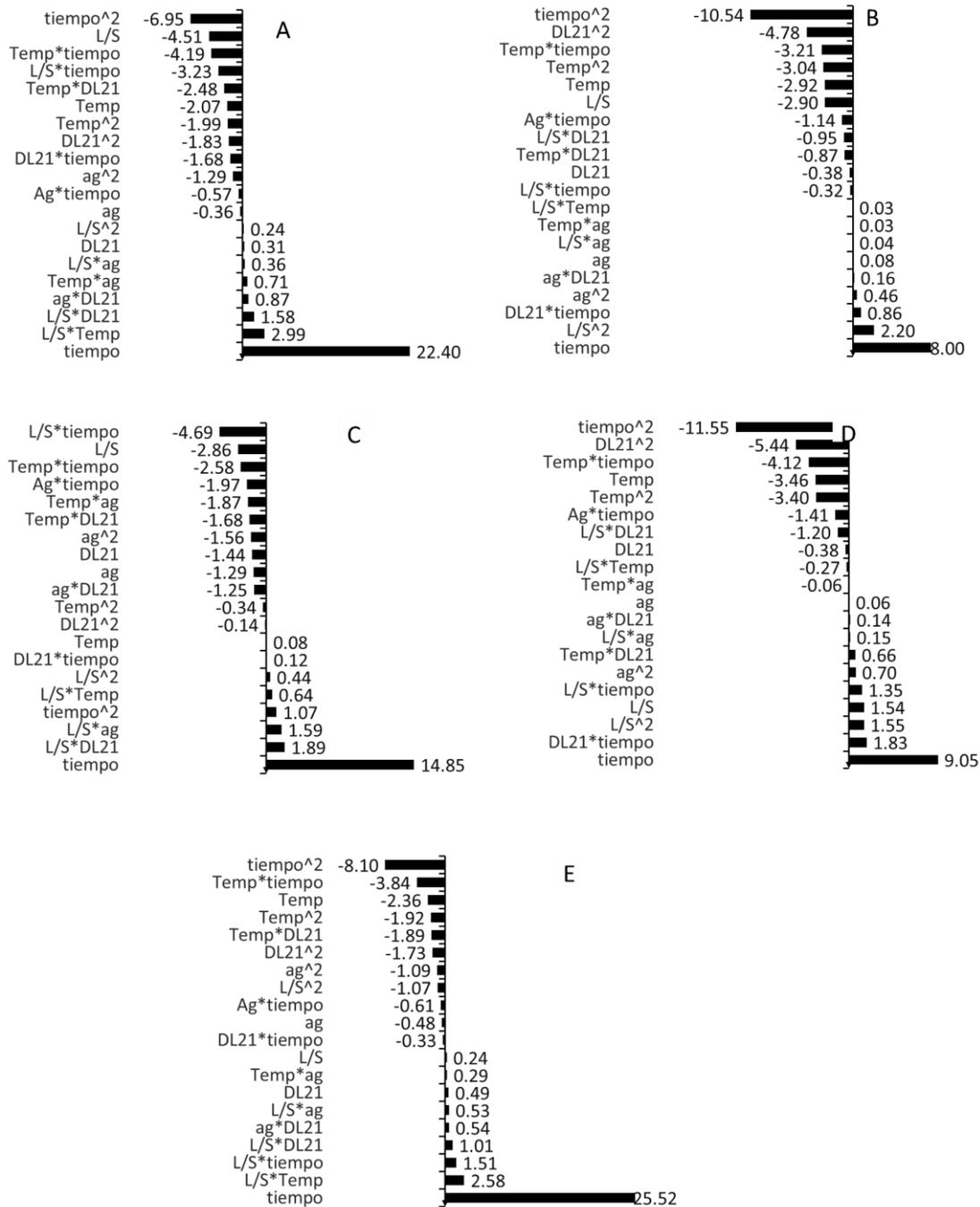


Figura 23. Diagramas de Pareto de los parámetros del modelo de regresión para bagazo de caña. Las cifras de las barras corresponden al valor de t student del parámetro correspondiente al factor tabulado en la izquierda del gráfico. Los parámetros con un valor absoluto de $|t| > t_{crít} = 1.93$ son estadísticamente significativos ($P < 0.05$). A. Concentración de xilosa B. Concentración de glucosa. C. Concentración de furanos. D. Rendimiento de xilosa E. Rendimiento de glucosa.

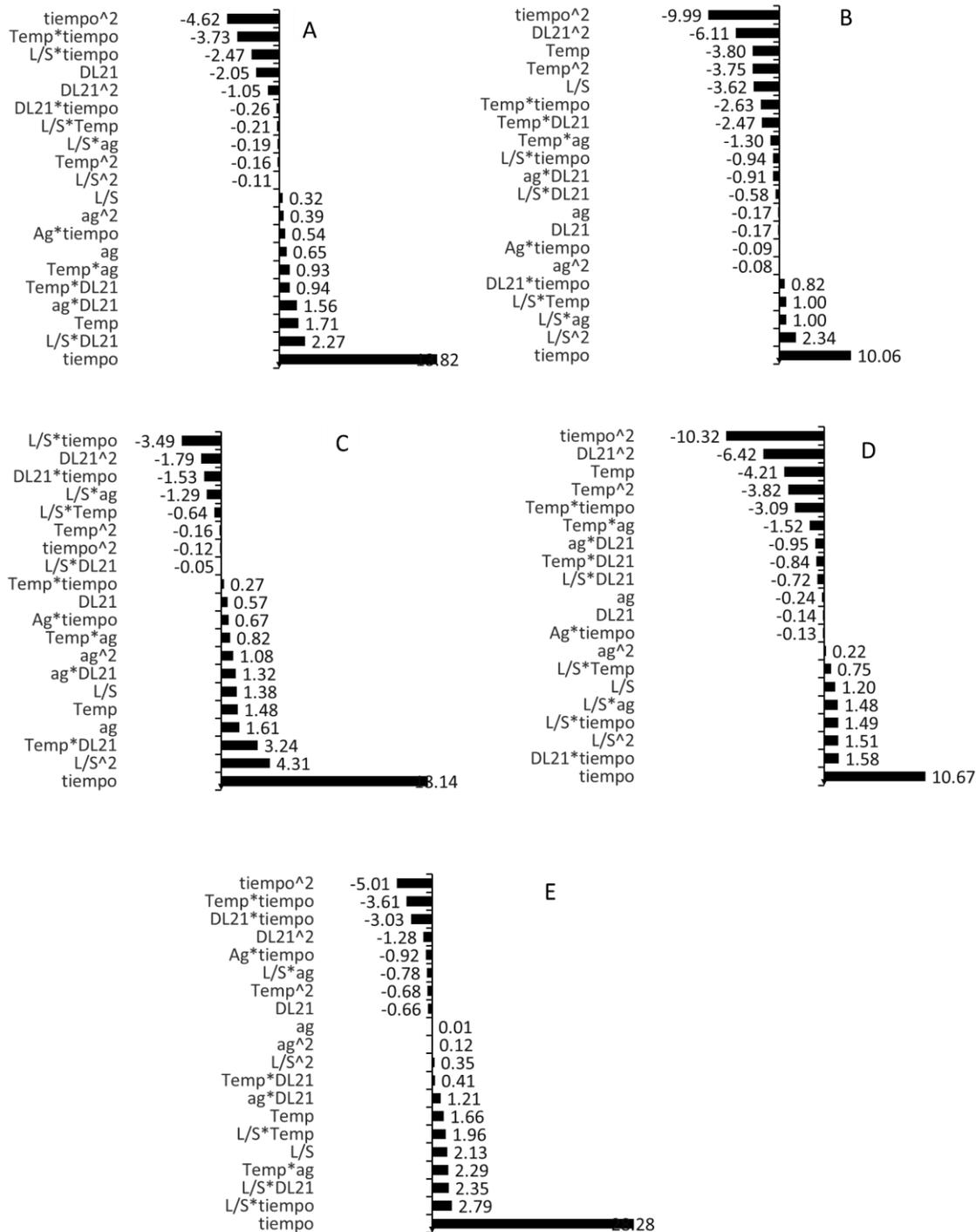


Figura 24. Diagramas de Pareto de los parámetros del modelo de regresión para bagazo de agave. Las cifras de las barras corresponden al valor de t student del parámetro correspondiente al factor tabulado en la izquierda del gráfico. Los parámetros con un valor absoluto de $|t| > t_{crít} = 1.93$ son estadísticamente significativos ($P < 0.05$). A. Concentración de xilosa B. Concentración de glucosa. C. Concentración de furanos. D. Rendimiento de xilosa E. Rendimiento de glucosa.

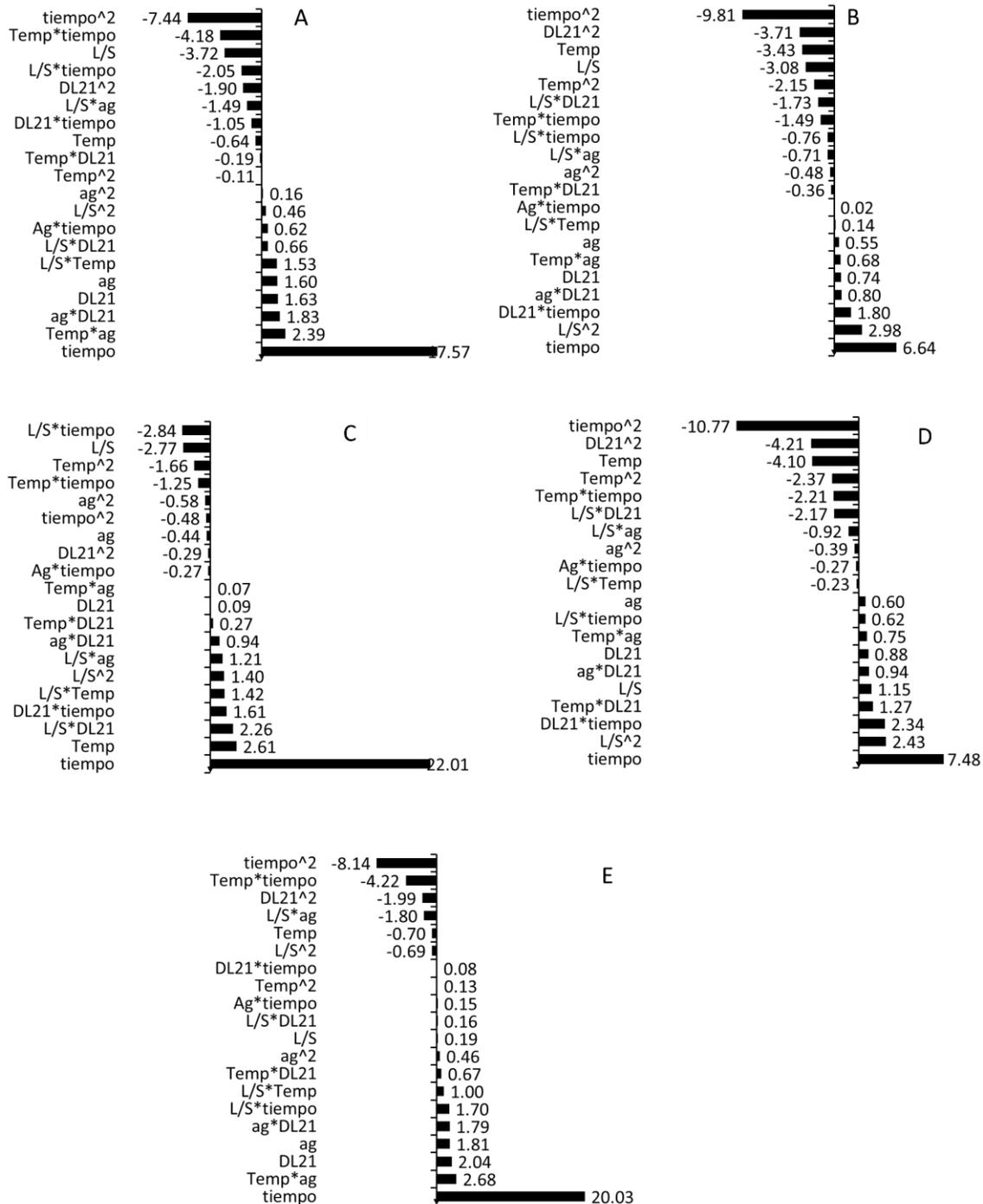


Figura 25. Diagramas de Pareto de los parámetros del modelo de regresión para rastrojo de maíz. Las cifras de las barras corresponden al valor de t student del parámetro correspondiente al factor tabulado en la izquierda del gráfico. Los parámetros con un valor absoluto de $|t| > t_{crít} = 1.93$ son estadísticamente significativos ($P < 0.05$). A. Concentración de xilosa B. Concentración de glucosa. C. Concentración de furanos. D. Rendimiento de xilosa E. Rendimiento de glucosa.

Optimización del proceso

Debido a la naturaleza compleja del proceso no es posible discernir a simple vista las mejores condiciones para el proceso. Por esta razón, se realizó una optimización numérica de las variables de respuesta. La optimización se realizó siguiendo varios criterios. Se buscó maximizar la concentración, rendimiento de azúcares y minimizar la concentración de furanos, de manera que la concentración de inhibición por furanos (1.5 g/L) fuera una restricción para el proceso. Los resultados se muestran en la Tabla 14. Se puede observar que, para la mayoría de los materiales, las condiciones óptimas se desplazan hacia la región de altas cargas de sólidos, bajas temperaturas y altos tiempos. También se puede observar que existe un conflicto entre objetivos entre las variables de respuesta referentes a glucosa y a xilosa, sin embargo, también se observa que el método de optimización encontró un compromiso adecuado entre dichas variables, obteniendo rendimientos, concentraciones de azúcares aceptables y con baja formación de furanos. Por otra parte, los resultados numéricos fueron confirmados experimentalmente y los resultados se muestran en la Tabla 15. Se puede observar que las pruebas experimentales difieren significativamente de lo predicho por los resultados de la Tabla 14. No obstante, el patrón de comportamiento se mantiene respecto a los resultados teóricos y se logró una concentración y rendimientos mayores que las cinéticas realizadas con anterioridad y se logró mantener la concentración de furanos por debajo del valor de inhibición. Por otra parte, hay que considerar que estas condiciones se tratan de óptimos locales ya que la concentración de ácido sulfúrico se mantuvo constante. También es necesario recordar que, por el tipo de método de agitación, estos datos sean dependientes de la escala y varíen en función de un cambio en la forma del agitador.

Tabla 14. Resultados de la optimización numérica del proceso de hidrólisis.

Grupos de variables optimizadas		Valores de los factores a condiciones óptimas					Valores predichos para las variables de respuesta a condiciones óptimas				
		L/S	T °C	Ag. rpm	D _{L21} mm	t (min)	[Gluc] (g/L)	[Xil] (g/L)	[Furan] (g/L)	Rend xil %	Rend gluc%
Madera	max [glu] + max rend gluc+ min [fur]	6	142	180	3	35	67.1	15.1	0.3	20.1	64.1
	max [xil] + max rend xil+ min [fur]	7	119	600	3	35	25.3	27.2	0.4	46.5	30.4
	max [glu]+ max [xil] + max rend gluc+ max rend xil+ min [fur]	9	125	550	3	24	31.7	27.4	1.1	61.8	50.1
Caña	max [glu] + max rend gluc+ min [fur]	8	175	1200	1.16	20	43.4	5.7	0.05	11.34	62.0
	max [xil] + max rend xil+ min [fur]	20	140	0	1.63	30	16.8	12.0	0.84	64.27	64.4
	max [glu]+ max [xil] + max rend gluc+ max rend xil+ min [fur]	10	157	0	1.16	30	17.5	17.9	1.14	95.68	66.9
Agave	max [glu] + max rend gluc+ min [fur]	10	210	600	1.16	20	17.8	6.9	1.14	18.32	34.1
	max [xil] + max rend xil+ min [fur]	10	140	0	0.22	20	15.8	10.7	0.01	28.64	30.2
	max [glu]+ max [xil] + max rend gluc+ max rend xil+ min [fur]	15	140	0	0.69	30	15.4	16.7	0.59	66.76	44.0
Maíz	max [glu] + max rend gluc+ min [fur]	5	140	0	1.63	20	70.3	19.4	0.03	25.87	67.0
	max [xil] + max rend xil+ min [fur]	20	140	0	2.10	20	3.9	17.9	0.08	95.41	15.0
	max [glu]+ max [xil] + max rend gluc+ max rend xil+ min [fur]	10	140	0	1.63	20	17.3	19.4	0.02	90.56	66.0

Tabla 15. Resultados experimentales bajo las condiciones calculadas en la Tabla 12.

Grupos de variables optimizadas		Valores predichos para las variables de respuesta a condiciones óptimas				
		[Gluc] (g/L)	[Xyl] (g/L)	[Furan] (g/L)	Rend xil %	Rend gluc %
Madera	max [glu] + max rend gluc+ min [fur]	67.6	15.5	1.21	20	64
	max [xil] + max rend xil+ min [fur]	25.1	27.3	1.0	46	30
	max [glu]+ max [xil] + max rend gluc+ max rend xil+ min [fur]	31.1	27.4	1.1	61	50
Caña	max [glu] + max rend gluc+ min [fur]	43.40	1.82	0.04	11.09	10.07
	max [xil] + max rend xil+ min [fur]	9.91	10.58	0.70	25.54	25.96
	max [glu]+ max [xil] + max rend gluc+ max rend xil+ min [fur]	14.31	17.08	0.63	39.77	39.44
Agave	max [glu] + max rend gluc+ min [fur]	2.76	5.83	0.15	6.79	32.28
	max [xil] + max rend xil+ min [fur]	1.96	2.63	0.00	3.91	22.01
	max [glu]+ max [xil] + max rend gluc+ max rend xil+ min [fur]	5.04	15.36	0.42	37.00	32.28
Maíz	max [glu] + max rend gluc+ min [fur]	42.35	10.80	0.01	16.21	19.52
	max [xil] + max rend xil+ min [fur]	1.57	5.06	0.04	22.59	12.16
	max [glu]+ max [xil] + max rend gluc+ max rend xil+ min [fur]	4.19	16.62	0.02	44.97	46.95

Análisis de las constantes de velocidad

Las constantes de velocidad de los tratamientos experimentales, incluyendo tanto la hidrólisis de los polisacáridos y la degradación de los azúcares a furanos se muestran en la Tabla 16 y la Tabla 17. Se puede observar que, en general la velocidad de hidrólisis de ambos polímeros es más rápida que la de la degradación de los azúcares formados como producto. Todo esto es coherente con lo que se conoce sobre el proceso y por lo reportado en la literatura. Las constantes k_1 para todos los materiales son alrededor de un 20-80% de las reportadas usando celulosa y xilano aislado. Esto se debe a que las constantes calculadas, en realidad son constantes de velocidad global de varios fenómenos secuenciales y paralelos, como son los procesos de transporte del ácido, productos y transporte de calor intra y extra partícula lo que indica que el proceso está influenciado por alguno de estos fenómenos heterogéneos. El mismo patrón puede ser aplicado a los datos para la hemicelulosa.

La Figura 26 muestra los factores que afectan la constantes de velocidad de hidrólisis para celulosa y la hemicelulosa, encontrando que ambas están influenciadas de manera significativa por el tamaño de partícula, la agitación y la carga de sólidos. Y, aunque el efecto individual sea menor, las interacciones entre dichos factores afectan de manera positiva al proceso, lo que indica que los resultados mostrados previamente en la Tabla 14 son coherentes con los resultados del análisis de las constantes de velocidad. Todo esto indica que hay factores que no están siendo considerados en el análisis. En la sección de discusión se hablará más al respecto.

Tabla 16. Constantes de velocidad (pseudo-primer orden) para la hidrólisis de celulosa y degradación de glucosa calculadas a partir de los datos experimentales.

	L/S	T (oC)	Ag (rpm)	Mesh no	Madera		Caña		Agave		Maíz	
					k ₁ (min ⁻¹)	k ₂ (min ⁻¹)	k ₁ min ⁻¹	k ₂ min ⁻¹	k ₁ min ⁻¹	k ₂ min ⁻¹	k ₁ min ⁻¹	k ₂ min ⁻¹
T1	10	140	1200	20	0.036	0.004	0.109	0.004	0.035	0.004	0.037	0.004
T2	15	175	600	60	0.021	0.010	0.094	0.010	0.020	0.010	0.022	0.010
T3	20	140	0	60	0.029	0.009	0.102	0.009	0.028	0.009	0.030	0.009
T4	15	210	600	40	0.042	0.019	0.116	0.019	0.042	0.019	0.044	0.019
T5	10	175	600	40	0.019	0.001	0.092	0.001	0.018	0.001	0.020	0.001
T6	20	140	1200	60	0.016	0.005	0.090	0.005	0.016	0.005	0.018	0.005
T7	15	175	600	20	0.026	0.010	0.099	0.010	0.025	0.010	0.027	0.010
T8	15	175	0	40	0.023	0.001	0.097	0.001	0.023	0.001	0.025	0.001
T9	20	210	0	20	0.044	0.022	0.117	0.022	0.043	0.022	0.045	0.022
T10	15	175	1200	40	0.023	0.001	0.097	0.001	0.023	0.001	0.025	0.001
T11	10	140	0	20	0.047	0.008	0.121	0.008	0.047	0.008	0.049	0.008
T12	10	210	0	60	0.001	0.026	0.001	0.026	0.001	0.026	0.001	0.026
T13	15	140	600	40	0.017	0.001	0.091	0.001	0.017	0.001	0.019	0.001
T14	20	210	1200	20	0.056	0.026	0.130	0.026	0.056	0.026	0.058	0.026
T15	20	175	600	40	0.026	0.003	0.100	0.001	0.026	0.001	0.028	0.001
T16	15	175	600	40	0.022	0.001	0.096	0.001	0.022	0.001	0.024	0.001
T17	10	210	1200	60	0.020	0.030	0.094	0.030	0.020	0.030	0.022	0.030
T18	15	175	600	40	0.022	0.001	0.096	0.001	0.022	0.001	0.024	0.001

Análisis de la transferencia de masa y calor

Los resultados para el cálculo del módulo de Thiele para la difusión intrapartícula del ácido sulfúrico y para el número de Prater se muestran en la Tabla 18. Se puede observar que ϕ en la mayoría de los casos es inferior a 1,3 de forma que el transporte de ácido hacia el centro de la partícula no es limitante de la velocidad. Esto es consistente con los cálculos transmitidos por Vidal [65] que mostró resultados similares utilizando simulaciones dinámicas.

Tabla 17. Constantes de velocidad (pseudo-primer orden) para la hidrólisis de la hemicelulosa y degradación de la xilosa calculadas a partir de los datos experimentales.

	L/S	T °C	Ag (rpm)	Mesh no	madera		caña		agave		maíz	
					k ₁ min ⁻¹	k ₂ min ⁻¹						
T1	10	140	1200	20	0.127	0.017	0.466	0.017	0.218	0.117	0.273	0.017
T2	15	175	600	60	0.086	0.040	0.424	0.040	0.177	0.040	0.231	0.040
T3	20	140	0	60	0.168	0.034	0.507	0.034	0.260	0.034	0.314	0.034
T4	15	210	600	40	0.022	0.071	0.360	0.071	0.113	0.071	0.168	0.071
T5	10	175	600	40	0.007	0.000	0.345	0.000	0.098	0.000	0.152	0.000
T6	20	140	1200	60	0.066	0.020	0.405	0.020	0.157	0.020	0.212	0.020
T7	15	175	600	20	0.051	0.037	0.389	0.037	0.142	0.037	0.196	0.037
T8	15	175	0	40	0.177	0.007	0.515	0.007	0.268	0.007	0.323	0.007
T9	20	210	0	20	0.052	0.080	0.391	0.080	0.143	0.080	0.198	0.080
T10	15	175	1200	40	0.200	0.008	0.539	0.008	0.291	0.008	0.346	0.008
T11	10	140	0	20	0.006	0.030	0.292	0.030	0.045	0.030	0.099	0.030
T12	10	210	0	60	0.013	0.010	0.352	0.095	0.105	0.095	0.159	0.095
T13	15	140	600	40	0.256	0.006	0.594	0.006	0.347	0.006	0.402	0.006
T14	20	210	1200	20	0.069	0.095	0.407	0.095	0.160	0.095	0.214	0.095
T15	20	175	600	40	0.044	-0.007	0.383	0.007	0.136	0.007	0.190	0.007
T16	15	175	600	40	0.033	0.007	0.371	0.007	0.124	0.007	0.178	0.007
T17	10	210	1200	60	0.044	0.109	0.383	0.109	0.136	0.109	0.190	0.109
T18	15	175	600	40	0.000	0.007	0.000	0.007	0.000	0.007	0.000	0.007

Por el contrario, en el caso de hemicelulosa, solo los tratamientos de alta temperatura / partículas pequeñas bajo satisficieron $\phi < 1.3$ lo que muestra un fuerte efecto de limitación de transferencia de masa tratamientos de alta temperatura con partículas

grandes. Para extender los resultados a otras condiciones de tratamiento se delimitaron las condiciones para las limitaciones de transferencia de masa. La línea trazada en la Figura 28 muestra un límite para condiciones limitadas de transferencia de masa ($\phi > 1,3$). Esto significa que los tratamientos bajo la línea no estarían restringidos para la transferencia de ácido dentro de la fibra. Puesto que la hemicelulosa tiene una velocidad de hidrólisis más rápida, la transferencia de masa es más importante y la región no restringida es más estrecha. Sin embargo la mayoría de los procesos para la hidrólisis de xilano se llevan a cabo a bajas temperaturas (110-140°C).

En esas condiciones los tamaños de partícula pueden ser grandes y sin restricciones de transferencia de masa como se puede observar en la figura. 16b. Las condiciones óptimas calculadas en la Tabla 8 también se encuentran en la región no restringida de la Figura 28 .

En el caso de transferencia de calor, los gradientes de temperatura son insignificantes como muestran los números Prater en la Tabla 18. Dichos valores están cerca de cero, lo que significa que las partículas son casi isotérmicas y la diferencia máxima de temperatura es menor que 0.1°C. Esto significa que la diferencia de temperatura entre la superficie y el centro de la partícula es insignificante.

Esto es concordante con los resultados de Abasaeed[49] y Tillman [66] quienes llevaron a cabo simulaciones para predecir el efecto de la transferencia de calor en diferentes tamaños de partículas y mostraron muy poco efecto sobre la celulosa y la hidrólisis de hemicelulosa en las condiciones ensayadas en este trabajo.

Es importante señalar que estos cálculos son principalmente sobreestimaciones. Los módulos de Thiele y números Prater reales deberían ser aún menores, ya que la porosidad aumentaría a medida que la reacción se desarrolla debido a la solubilización de los azúcares y la fragmentación de los polisacáridos; esto significa que la difusividad efectiva y la conductividad térmica aumentarían también. Por otra parte, el tamaño de partícula se reduciría pequeño a medida que el proceso se lleva a cabo y la reducción de tamaño fue más evidente en los experimentos agitados. Todos esos cambios durante el proceso de apoyo a las conclusiones de que el efecto del tamaño de

partícula en los datos experimentales mostrados en la Figura 28 no está relacionada con el transporte calor dentro de la partícula y la transferencia de ácido.



Figura 26. Diagramas de Pareto de los parámetros del modelo de regresión para las constantes de velocidad de hidrólisis de la celulosa. Las cifras de las barras corresponden al valor de t student del parámetro correspondiente al factor tabulado en la izquierda del gráfico. Los parámetros con un valor absoluto de $|t| > t_{crít} = 1.93$ son estadísticamente significativos ($P < 0.05$). A. Madera B. Bagazo de caña. C. bagazo de agave D. Rastrojo de maíz.

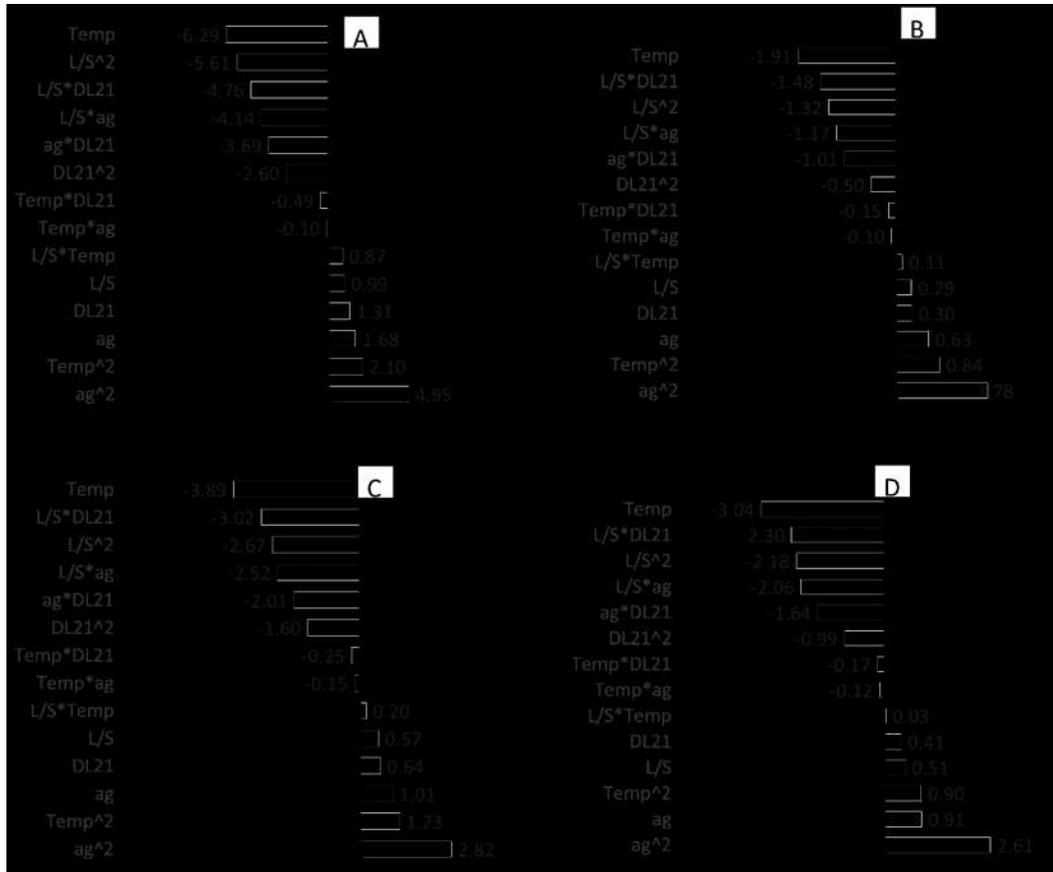


Figura 27. Diagramas de Pareto de los parámetros del modelo de regresión para las constantes de velocidad de hidrólisis de la hemicelulosa. Las cifras de las barras corresponden al valor de t student del parámetro correspondiente al factor tabulado en la izquierda del gráfico. Los parámetros con un valor absoluto de $|t| > t_{crít} = 1.93$ son estadísticamente significativos ($P < 0.05$). A. Madera B. Bagazo de caña. C. Bagazo de agave D. Rastrojo de maíz.

Tabla 18. Módulos de Thiele y números de Prater para las condiciones de reacción. Las referencias indican la Fuente de los parámetros cinéticos de reacción.

Temp °C	D _{L21} mm	Deff m ² /s	Cellulose			Hemicelulosa			Número de Prater	ΔT _{max} °C
			φ[17]	φ [57]	φ [58]	φ [34]	φ [59]	φ [60]		
140	1.2	8.56E-10	0.036	0.066	0.028	1.318	2.441	0.527	1.18E-04	0.05
175	0.2	1.19E-09	0.024	0.041	0.017	0.399	0.713	0.188	1.52E-04	0.07
140	0.2	8.56E-10	0.003	0.006	0.003	0.128	0.237	0.051	1.18E-04	0.05
210	1.2	1.59E-09	0.810	1.248	0.545	6.616	11.493	3.592	1.88E-04	0.09
175	1.2	1.19E-09	0.153	0.255	0.110	2.500	4.474	1.179	1.52E-04	0.07
140	0.2	8.56E-10	0.003	0.006	0.003	0.128	0.237	0.051	1.18E-04	0.05
175	2.1	1.19E-09	0.251	0.419	0.180	4.113	7.359	1.939	1.52E-04	0.07
175	1.2	1.19E-09	0.153	0.255	0.110	2.500	4.474	1.179	1.52E-04	0.07
210	2.1	1.59E-09	1.333	1.452	0.896	10.882	18.905	5.909	1.88E-04	0.09
175	1.2	1.19E-09	0.153	0.255	0.110	2.500	4.474	1.179	1.52E-04	0.07
140	2.1	8.56E-10	0.036	0.066	0.028	1.318	2.441	0.527	1.18E-04	0.05
210	0.2	1.59E-09	0.129	0.199	0.087	1.055	1.833	0.573	1.88E-04	0.09
140	1.2	8.56E-10	0.022	0.040	0.017	0.801	1.484	0.320	1.18E-04	0.05
210	2.1	1.59E-09	1.333	1.352	0.896	10.882	18.905	5.909	1.88E-04	0.09
175	1.2	1.19E-09	0.153	0.255	0.110	2.500	4.474	1.179	1.52E-04	0.07
175	1.2	1.19E-09	0.153	0.255	0.110	2.500	4.474	1.179	1.52E-04	0.07
210	0.2	1.59E-09	0.129	0.199	0.087	1.055	1.833	0.573	1.88E-04	0.09
175	1.2	1.19E-09	0.153	0.255	0.110	2.500	4.474	1.179	1.52E-04	0.07

Evolución del tamaño de partícula y de los sólidos remanentes

La Figura 29 muestra que el tamaño de partícula se reduce a medida que la reacción se lleva a cabo, pero este efecto es más agudo en grandes partículas de los tratamientos. La agitación provoca una reducción aún mayor de la fibra D_{L21} debido a la tensión de cizallamiento causadas por barra magnética lograr un proceso de molienda y sacarificación simultánea.

La Figura 30 muestra los cambios durante el proceso de hidrólisis de un experimento seleccionada en la que se utiliza una velocidad de agitación moderada y se consigue una gran reducción del tamaño de partícula como proceso tuvo lugar. Zhu y col. [47] molió la biomasa de madera pretratada con ácido y reportaron un ahorro del 80% del consumo energético. Estos resultados pueden ser utilizados para desarrollar un proceso de molienda y de sacarificación simultánea. Esto es interesante, ya que los esfuerzos de muchos trabajos están orientados a aumentar las cargas sólidas por lo que las concentraciones más altas pueden alcanzarse sin comprometer el rendimiento ya que las materias primas pueden ser un 40% de los costos de los productos [67].

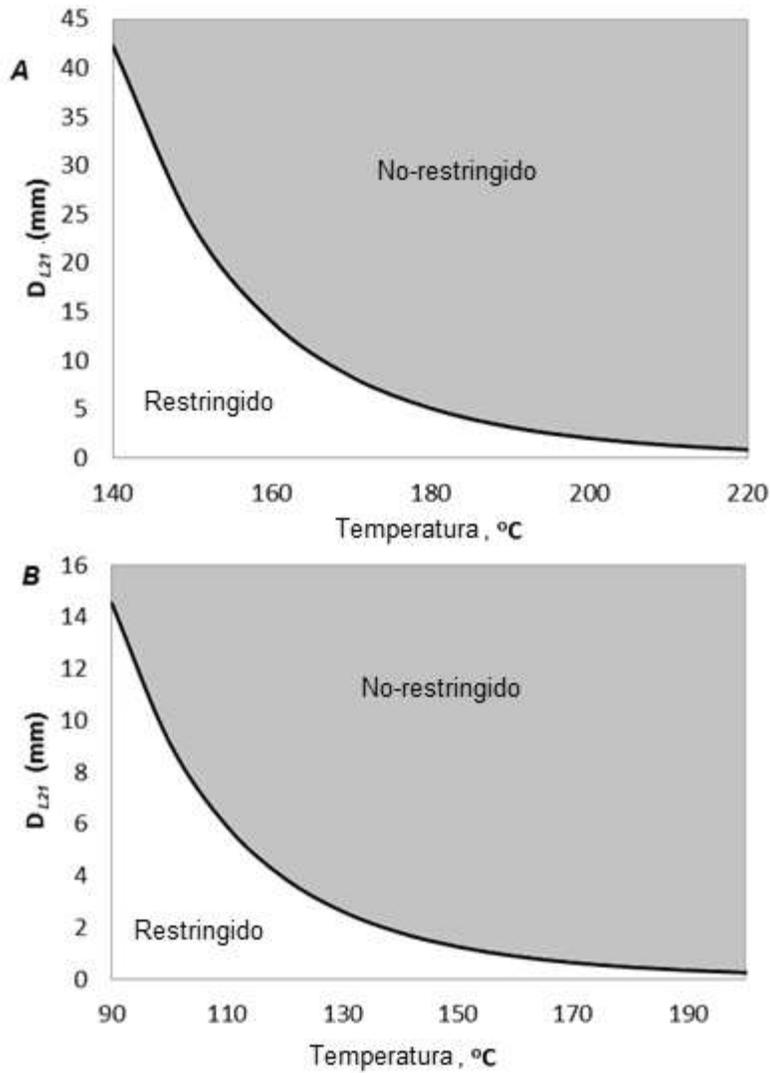


Figura 28. Regiones limitadas por la diffusion. A) Celulosa B) Hemicelulosa. Los parámetros cinéticos y sus referencias se resumen en la Tabla 11. Las líneas representan los tratamientos con $\phi=1.3$ para la media de los resultados.

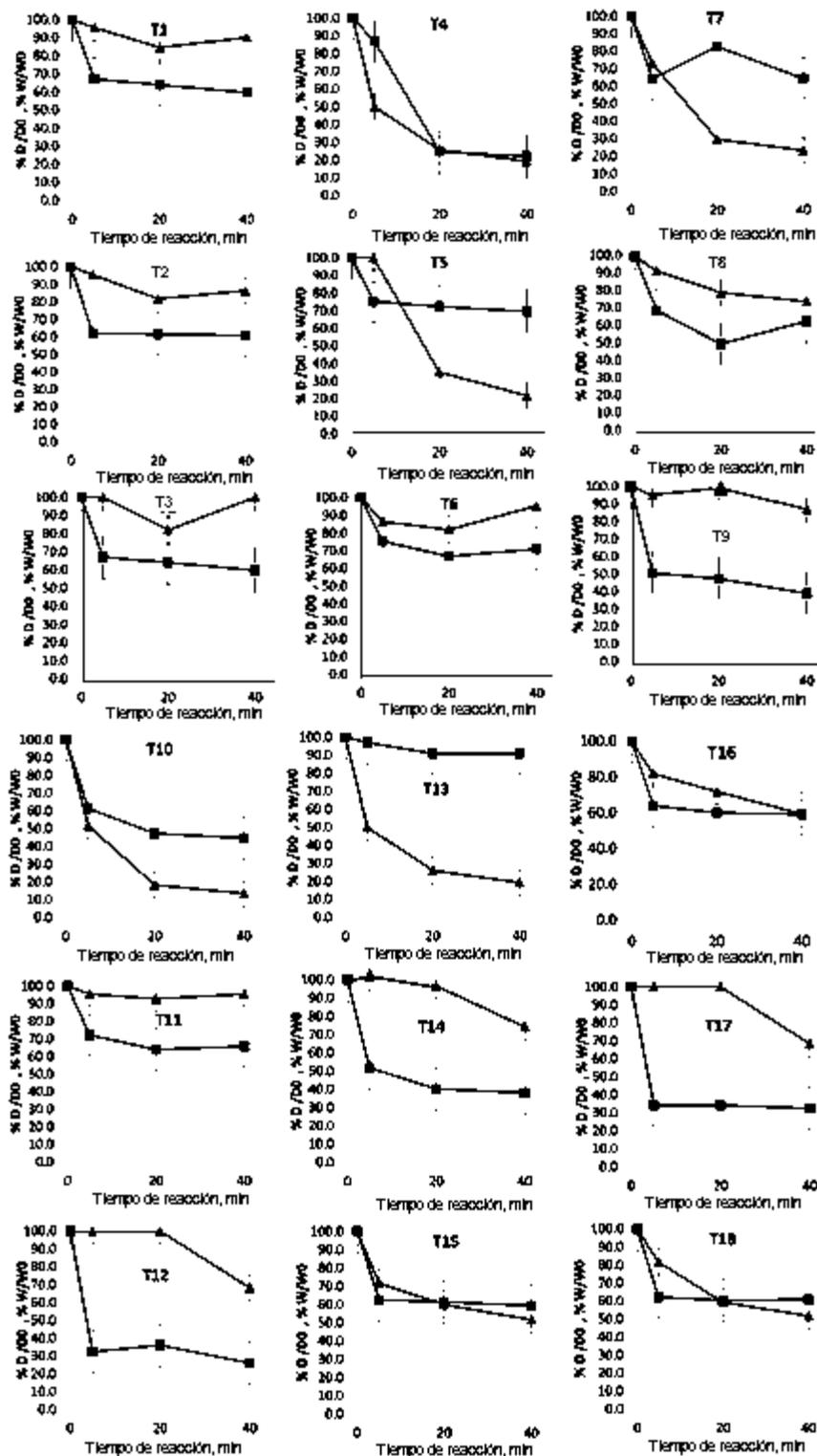


Figura 29. Reducción del tamaño de partícula y de los sólidos remanentes en el proceso de hidrólisis. D/D_0 (▲) es la relación del D_{L21} de las fibras entre el diámetro inicial, W/W_0 (■) es la relación de los sólidos remanentes entre el peso seco inicial. Ver la *Tabla 10* para las condiciones de los tratamientos. Las barras de error representan el intervalo de confianza al 95 % calculado a partir de datos replicados.

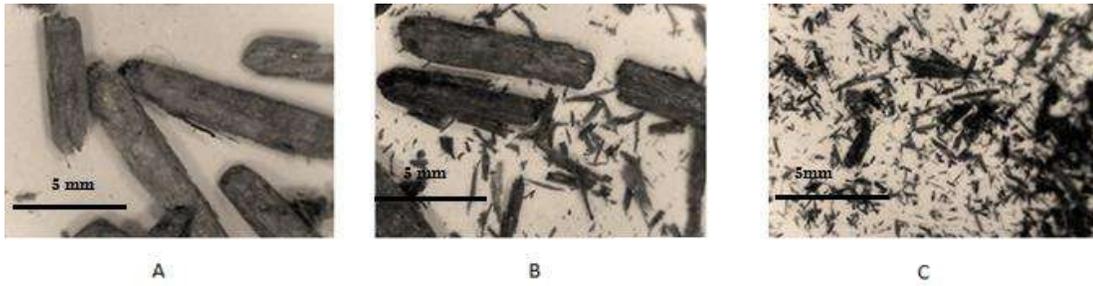


Figura 30. Imágenes fotográficas de fibras tratadas. Condiciones: Temp 175 °C; L/S 15, 600 rpm, D_{L21} inicial =2.1mm, H_2SO_4 0.4%. A) 5 min. B) 20 min. C) 40 min.

DISCUSION

La mayoría de los estudios relacionados con el estudio de la hidrólisis de los materiales lignocelulósicos se basan en la suposición de que el rendimiento debe ser inferior a mayor tamaño de partícula debido a los gradientes de masa y de calor entre el centro de partículas y la superficie. Los datos obtenidos en este trabajo indican que puede que no sea totalmente cierto y que se puede encontrar un tamaño óptimo para el proceso. La razón de este efecto queda por explicar, pero se sugiere una hipótesis de trabajo. Un tamaño pequeño de las partículas de biomasa exhibe mayores propiedades de absorción de agua y líquidos provocando menos disponibles en la fase líquida. Esto ha sido estudiado en trabajos relacionados con el uso de estos materiales como agentes de absorción de líquidos [68],[69]. La hidrólisis de la celulosa en oligómeros se lleva a cabo sobre todo en la fase sólida pero la ruptura de los oligómeros monómero se localiza en la fase líquida. Los oligómeros producidos tienen menor solubilidad que los azúcares monoméricos [38], los oligómeros liberados podrían recondensar a la fase sólida y se transforman en un derivado no-azúcar como lo reporta Xiang [28]. Un mayor tamaño permitiría una mayor cantidad de líquido libre para la hidrólisis externa a tener lugar y un mejor rendimiento de conversión. En los hidrolizados se encontraron cantidades significativas de azúcares oligómeros celobiosos y una mayor carga sólida tuvo un efecto negativo sobre la deseabilidad. Sin embargo, la relación entre la absorción de líquidos y el rendimiento a la glucosa que tenga que ser probado experimentalmente y la importancia relativa de la hipótesis expuesta tenga que ser evaluado. La solubilidad de la celobiosa es de alrededor de 12 g/mL lo que indica que los efectos mencionados anteriormente solo podrían ser válidos para oligosacáridos de mayor grado de polimerización. Es posible que otros efectos como la adhesión de las partículas finas también estén involucrados. Se requieren más estudios para clarificar esta cuestión.

El respeto al consumo de energía para la molienda, Figura 30 muestra los datos de consumo de molienda de la madera obtenida de Miao et al [15]. Se puede observar que para alcanzar el tamaño de partícula más pequeño, el consumo de energía aumenta de manera exponencial. Nuestros resultados muestran que una combinación de un tamaño

de partícula grande y agitación permite una carga sólida más concentrada y concentraciones de azúcar y de los rendimientos. La línea discontinua en la Figura 30 representa el ahorro de energía para la operación de molienda. Indica que el uso de tamaño óptimo de fibra puede ahorrar alrededor de 892 kJ / kg (278 Wh/kg), que representa aproximadamente el 30% del consumo total de energía para la molienda de la madera como un pretratamiento para el proceso de etanol.

El consumo de energía en la agitación también debe ser considerado. Por ejemplo, de acuerdo con los datos reportados por Palmqvist y col. [40], para agitar una suspensión de fibras de aproximadamente 2-10 mm, con una L / S de 10 a 600 rpm durante aproximadamente 40 min se requiere un consumo de energía de 300 kJ / L. El consumo de energía real sería menor que esto, ya que el tamaño de partícula se reduce a medida que la hidrólisis se lleva a cabo y las propiedades utilizadas para los cálculos en el trabajo mencionado se encuentran en cerca de la temperatura ambiente. En el proceso real, una alta temperatura reduciría la viscosidad y por lo tanto, el consumo de energía de agitación. Es importante señalar que estos datos serían dependiente de la escala y de que la tasa de agitación óptima sería cambiar a diferentes geometrías del impulsor.

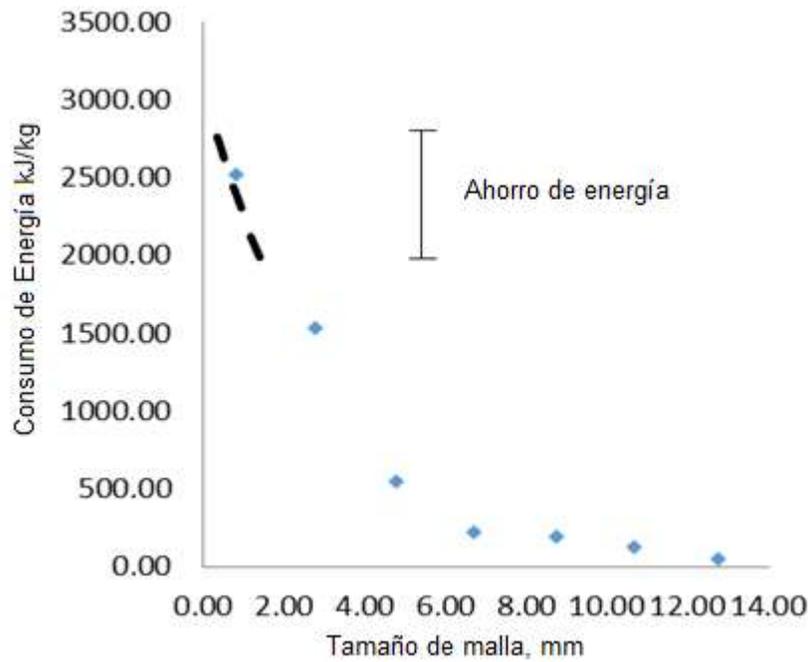


Figura 30. Ahorro de energía a partir de la optimización del tamaño de partícula. Los datos son fueron tomados de Miaio y col. [15]. La línea de guiones es una extrapolación de una función exponencial ajustada por regresión a los datos experimentales reportados.

CONCLUSIONES

En este trabajo se exploró el efecto del tamaño de partícula y la transferencia del ácido sulfúrico intrapartícula para conocer su importancia relativa durante el proceso de hidrólisis de la biomasa lignocelulósica. Se encontraron relaciones muy complejas, sinérgicas y dependientes del tiempo entre los diferentes factores explorados. En general se encontró que el tamaño de partícula puede ser optimizado y que no necesariamente un tamaño de partícula fino favorece la concentración de azúcares y sus rendimientos. Los resultados de optimización indican que se pueden tener altas concentraciones utilizando tamaños de partícula grandes siempre y cuando vayan acompañados de altas cargas de sólidos y utilizando agitación moderada a alta para conseguir un proceso de sacarificación y molienda simultaneo con un ahorro significativo de energía debido a la molienda. Se encontró una influencia muy baja del transporte del ácido al interior de la partícula indicando que es posible que los efectos observados no están relacionados de manera significativa a los gradientes de concentración de ácido ni de calor.

Estos resultados pueden contribuir al desarrollo de procesos en los cuales se pueda mejorar la tasa de retorno energético de la producción de etanol y otros biocombustibles, todo esto en la búsqueda de procesos más sustentables.

Apéndice A: Conversión de tamaños de partícula

Designación de tamiz	
Standard	Mesh
25.4 mm	1 in.
22.6 mm	7/8 in.
19.0 mm	3/4 in.
16.0 mm	5/8 in.
13.5 mm	0.530 in.
12.7 mm	1/2 in.
11.2 mm	7/16 in.
9.51 mm	3/8 in.
8.00 mm	5/16 in.
6.73 mm	0.265 in.
6.35 mm	1/4 in.
5.66 mm	No.3 1/2
4.76 mm	No. 4
4.00 mm	No. 5
3.36 mm	No. 6
2.83 mm	No. 7
2.38 mm	No. 8
2.00 mm	No. 10
1.68 mm	No. 12
1.41 mm	No. 14
1.19 mm	No. 16
1.00 mm	No. 18
0.841 mm	No. 20
0.707 mm	No. 25
0.595 mm	No. 30
0.500 mm	No. 35
0.420 mm	No. 40
0.354 mm	No. 45
0.297 mm	No. 50
0.250 mm	No. 60
0.210 mm	No. 70
0.177 mm	No. 80
0.149 mm	No. 100
0.125 mm	No. 120
0.105 mm	No. 140
0.088 mm	No. 170
0.074 mm	No. 200
0.063 mm	No. 230
0.053 mm	No. 270
0.044 mm	No. 325
0.037 mm	No. 400

Apéndice B: Métodos de Análisis de los materiales lignocelulósicos

Análisis de humedad y de extraíbles. Adaptado de la norma TAPPI T264 [70].

1. Obtención de la muestra libre de extraíbles.
 - 1.1. Pesar 5 g de material (A) en un cartucho para extracción Soxhlet, colocando una malla de acero fina para evitar la pérdida de material.
 - 1.2. Extraer con 200 mL de solventes (primero agua, después etanol y por último acetona) por 6-8 h, manteniendo el líquido en ebullición de manera que la frecuencia de sifoneo no sea menor a 4 veces por hora.
 - 1.3. Después de extraer con acetona, transferir el material a un embudo Büchner y lavar usando succión, usando varias porciones de agua caliente para remover la acetona.
 - 1.4. Transferir la muestra a un matraz Erlenmeyer de 1 L y añadir 500 mL de agua destilada en ebullición. Calentar el matraz por 1 h en el baño de agua caliente. Cubrir el matraz con un vidrio de reloj para evitar la evaporación. Mantener el agua a temperatura de ebullición y cubrir el matraz en el baño con agua caliente. Después de la extracción, filtrar en un embudo Büchner a través de un papel filtro Whatman No 5 y lavar con 500 mL de agua destilada en ebullición. Permitir que la madera se seque al aire ambiente y pesar en balanza analítica (B). Determinar la fracción extraída mediante la fórmula:

$$\text{Contenido de extraíbles \%} = (A-B)/A \cdot 100$$

- 1.5. Mezclar y almacenar en un contenedor hermético en un lugar fresco. Determinar el contenido de humedad. Paso 2.
2. Contenido de humedad
 - 2.1. Tomar una muestra de aproximadamente 2 g (A) proveniente del paso 1.5 en un frasco previamente tarado. Secar por 2 h en un horno a 105 ± 3 °C, enfriar en un desecador, cambiar el tapón y abrir el tapón para igualar la presión del aire y el peso. Regresar la botella al horno por 1 h; repetir el enfriamiento y pesado de la misma manera por periodos de 1 h hasta que se alcance peso constante (B), es decir hasta que no cambie el peso en las pesadas sucesivas en más de 0.002 g.
 - 2.2. Calcular el porcentaje de humedad en el material en la madera de acuerdo con la ecuación:

$$\text{Contenido de humedad \%} = (A-B)/A \cdot 100$$

Determinación de lignina insoluble en ácido. Adaptada de la norma TAPPI T-222 [71].

1. Permitir que la muestra alcance la humedad de equilibrio con la atmósfera y pesar un espécimen de prueba de 1 g equivalente en peso seco.
2. Colocar en un vaso de precipitado que la muestra y añadir 15 mL de ácido sulfúrico frío (10-15 °C) al 72%. Añadir el ácido gradualmente mientras agita y se macera el material con una barra de vidrio. Mantener el matraz en un baño a 2 ± 1 °C mientras se realiza la dispersión del material.
3. Después de que el material ha sido dispersado, cubrir el vaso de precipitado con un vidrio de reloj y mantenerlo en un baño a 20 ± 1 °C por 2 h. Agitar el material frecuentemente durante este periodo para asegurar una disolución completa
4. Añadir entre 300 a 400 mL de agua a un matraz y transferir el material desde el vaso al matraz. Lavar y diluir con agua a un 3% de concentración de ácido sulfúrico, a un volumen total de 575 mL.
5. Ebullición la solución por 4 h, manteniendo un volumen constante usando la adición frecuente de agua caliente.
6. Permitir que el material insoluble (lignina) se sedimente, manteniendo el matraz en una posición inclinada. Si la lignina fue finalmente dispersada, puede requerir un periodo más largo para sedimentar.
7. Sin agitar el precipitado, decantar o sifonar la solución sobrenadante por medio de un crisol filtro. Transferir la lignina cuantitativamente al filtro, usando agua caliente y una varilla con guarda de hule.
8. Lavar la lignina libre de ácido con agua caliente.
9. Secar el crisol filtro con lignina en un horno a 105 ± 3 °C a peso constante. Enfriar en un desecador y pesar
10. Calcular el contenido de lignina en los especímenes de la siguiente manera:

$$\text{Lignina, \%} = A \cdot 100 / W$$

Donde:

A= peso de la lignina, g

W= peso seco del espécimen, g

Determinación de holocelulosa y hemicelulosa. Adaptado de la norma ANSI/ASTM D 1106-56 [72].

1. Se pesan 2 g de muestra (P1), con precisión de 0,0001 g, en un matraz Erlenmeyer de 250 ml de capacidad y se añaden 63 ml de agua desionizada.
2. A la suspensión se le añaden 0,2 mL de CH_3COOH y 0,6 g de NaClO_2 .
3. Se cubre con un vidrio de reloj y se introduce al baño maría (70-80 °C), agitando de vez en cuando. Este proceso se repite dos veces más.
4. Al finalizar la tercera hora, se coloca el Erlenmeyer en un baño de agua-hielo hasta que la temperatura baje a los 10 °C. Se filtra en placa filtrante, previamente pesada (P2) y se lava con agua desionizada hasta la eliminación de la coloración amarilla.

5. Posteriormente se lava con agua desionizada, se deja secar a 60 °C y se pesa (P3). Al sólido obtenido se le determinan los porcentajes de humedad (% Hholo). El contenido de holocelulosa se calcula de acuerdo con la expresión:

$$\text{Holocelulosa (\%)} = [(P3 - P2) \times (100 - \% \text{ Hholo})] / [P1 \times (100 - \% \text{ H})]$$

donde % H es el porcentaje de agua con respecto a muestra liofilizada y molida.

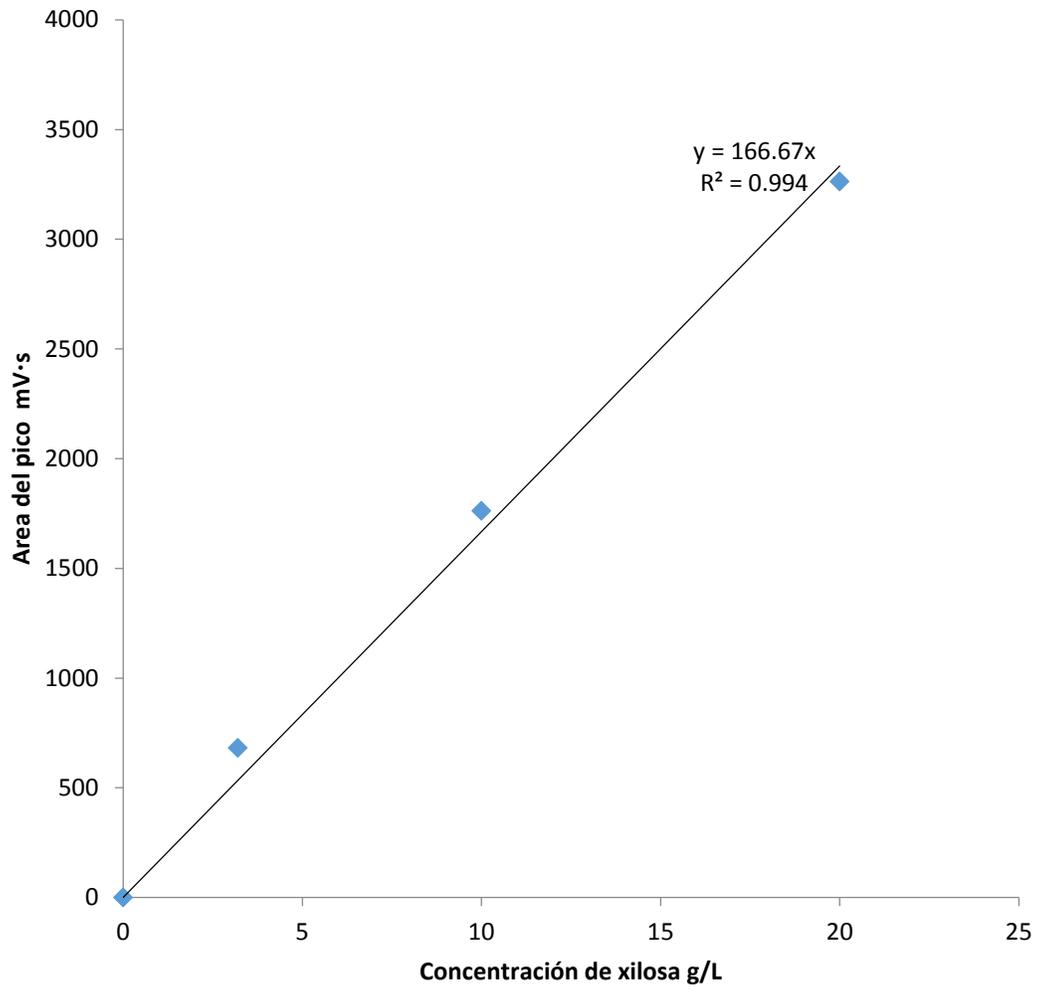
Determinación de celulosa. Adaptado de la norma ANSI/ASTM D 1103-60 [73].

Procedimiento:

1. Se pesa 1 g de holocelulosa (P1), con precisión de 0,0001 g, en un erlenmeyer de 100 mL.
2. Se añaden 5 ml de NaOH 17,5% mezclando con una varilla de vidrio. Cada 5 minutos se añaden 2,5 ml de NaOH 17,5% hasta consumir un total de 12,5 ml y se mantiene 30 minutos a temperatura ambiente.
3. Se añaden 16,5 ml de agua desionizada a 20 °C para pasar de NaOH 17,5% a 8,3%, se mezcla bien y se mantiene durante 1 hora a temperatura ambiente.
4. Se filtra en placa filtrante de peso conocido (P2) y se lava con 50 ml de NaOH 8,3% y posteriormente con agua desionizada.
5. Se repite el lavado con NaOH 8,3% y agua desionizada dos veces. Se corta la succión y se añaden 7,5 ml de CH₃COOH 10% y se deja en contacto 3 minutos. Se vuelve a conectar el vacío y se lava con agua desionizada hasta neutralidad del filtrado.
Se seca a 105 °C en estufa durante 12 horas y se pesa (P3). El contenido en celulosa se calcula de acuerdo con la expresión:

$$\text{Celulosa (\%)} = [(P3 - P2) \times (\% \text{ MOcel}) \times (\% \text{ Holocelulosa}) \times 100] / [P1 \times (\% \text{ MOholo}) \times (100 - \% \text{ Hholo})]$$

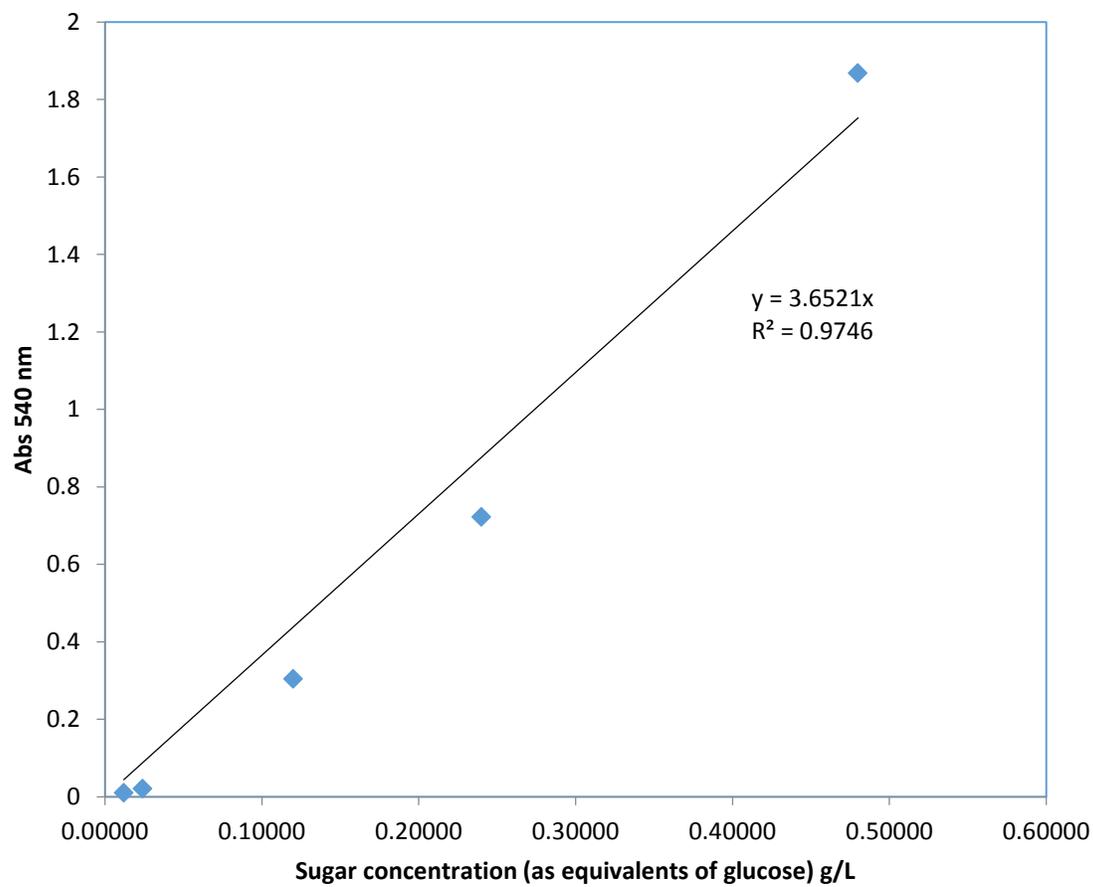
Apéndice C. Curvas estándar para la determinación de los carbohidratos por HPLC.



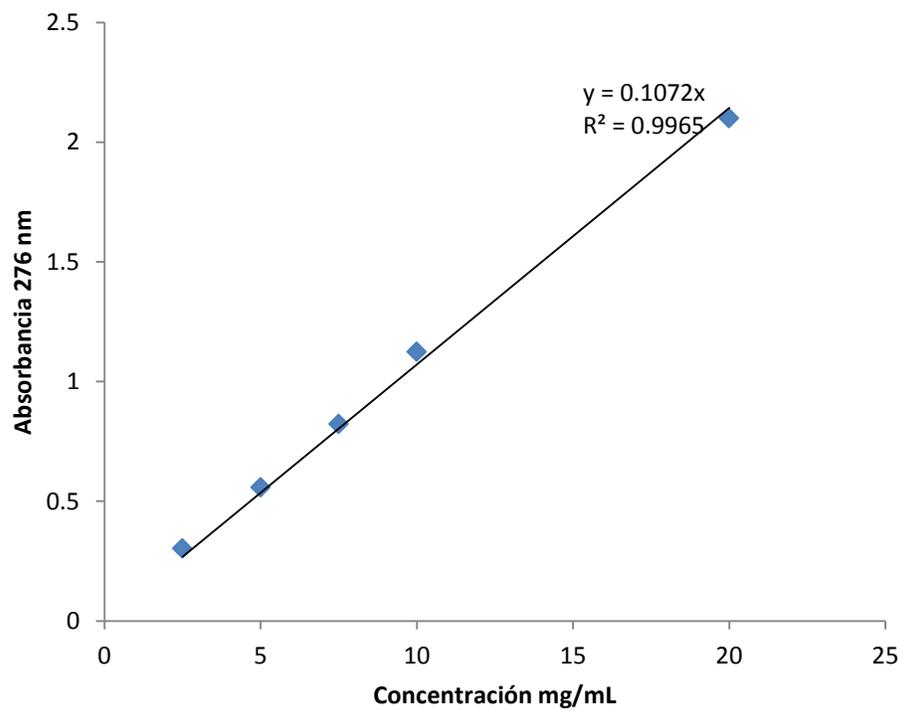
Apéndice D. Preparación del reactivo DNS

- Pesar 4 g de NaOH y Disolverlos de 250 mL de agua destilada y 75 g de Tartrato de sodio y potasio.
- Agregara 2,5 g de DNS, bajo calentamiento a baño de María.
- Aforara 500 mL con agua destilada.
- Almacenar a temperatura ambiente y proteger de la Luz.

Apéndice E. Curva estándar para la medición de azúcares reductores por el método del ácido dinitrosalicílico DNS.



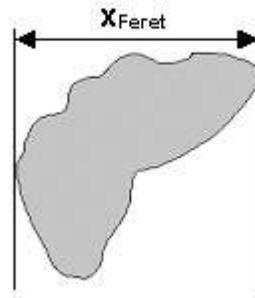
Apendice F. Curva estándar para la determinación de furanos



Apéndice G. Definición de los diámetros de Feret usados como medidas en la caracterización geométrica.

Díametro de Feret

No es un diámetro en su sentido real, sino la base común de un grupo de diámetros derivados de la distancia de dos tangentes al contorno de la partícula en una orientación bien definida. En palabras más simples, el método corresponde a la medición por un medidor de deslizamiento (principio de calibre deslizante)



Díametro de Feret máximo o mínimo

Díametro máximo o mínimo de todos los diámetros de Feret después de considerar todas las orientaciones. Los diámetros de Feret para un número suficiente de ángulos se calculan, y se selecciona el máximo o mínimo. Si una partícula tiene una forma irregular, el diámetro de Feret por lo general varía mucho más que con partículas de forma regular. Por tanto, el máximo puede ser significativamente mayor y el mínimo significativamente menor que el diámetro del círculo equivalente.

Valor medio de los diámetros de Feret

La media de todos los diámetros de Feret después de explorar todas las orientaciones posibles (0-180°)

Díametro de Feret a 90° del valor máximo del diámetro de Feret

En primer lugar, el diámetro de Feret máxima se calcula. El resultado es el diámetro de Feret medido con un ángulo de 90 grados a la del diámetro de Feret máximo.

Díametro de Feret a 90° del valor mínimo del diámetro de Feret

En primer lugar, el diámetro de Feret mínimo, se calcula. El resultado es el diámetro de Feret medido con un ángulo de 90 grados a la del diámetro mínimo de Feret.

REFERENCIAS

- [1] Cardona CA, Sánchez ÓJ. Fuel ethanol production: process design trends and integration opportunities. *Bioresource technology*. 2007;98 (12):2415–57.
- [2] Heinze U, Wagenknecht W. *Comprehensive cellulose chemistry: functionalisation of cellulose*. 1998;
- [3] Dhepe PL, Fukuoka A. Cellulose conversion under heterogeneous catalysis. *ChemSusChem*. 2008;1(12):969–75.
- [4] Xiang Q, Lee Y, Pettersson PO, Torget RW. Heterogeneous aspects of acid hydrolysis of α -cellulose. In: *Biotechnology for Fuels and Chemicals*. Springer; 2003. p. 505–14.
- [5] Lee C-L. *Studies on the Crystallinity of Wood Cellulose Fibres by X-ray Methods*. 1955.
- [6] Binod P, Satyanagalakshmi K, Sindhu R, Janu KU, Sukumaran RK, Pandey A. Short duration microwave assisted pretreatment enhances the enzymatic saccharification and fermentable sugar yield from sugarcane bagasse. *Renewable Energy*. 2012;37(1):109–16.
- [7] Pang F, Xue S, Yu S, Zhang C, Li B, Kang Y. Effects of combination of steam explosion and microwave irradiation (SE-MI) pretreatment on enzymatic hydrolysis, sugar yields and structural properties of corn stover. *Industrial Crops and Products*. 2013;42:402–8.
- [8] Sidiras D, Koukios E. Acid saccharification of ball-milled straw. *Biomass*. 1989;19(4):289–306.
- [9] Saha BC. Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2003;30(5):279–91.
- [10] Badger P. Ethanol from cellulose: A general review. *Trends in new crops and new uses*. 2002;:17–21.
- [11] Hammel K. Fungal degradation of lignin. Driven by nature: plant litter quality and decomposition. 1997;:33–45.
- [12] Ritter SK. Lignocellulose: A complex biomaterial. *Plant Biochemistry*. 2008;86(49):15.

- [13] Galbe M, Zacchi G. A review of the production of ethanol from softwood. *Applied microbiology and biotechnology*. 2002;59(6):618–28.
- [14] Zhu J, Wang G, Pan X, Gleisner R. The status of and key barriers in lignocellulosic ethanol production: A technological perspective. In: Presented as a Keynote Lecture at the International Conference on Biomass Energy Technologies, Guangzhou, China. 2008.
- [15] Miao Z, Grift T, Hansen A, Ting K. Energy requirement for comminution of biomass in relation to particle physical properties. *Industrial crops and products*. 2011;33(2):504–13.
- [16] Cadoche L, López GD. Assessment of size reduction as a preliminary step in the production of ethanol from lignocellulosic wastes. *Biological Wastes*. 1989;30(2):153–7.
- [17] Saeman JF. Kinetics of wood saccharification-hydrolysis of cellulose and decomposition of sugars in dilute acid at high temperature. *Industrial & Engineering Chemistry*. 1945;37(1):43–52.
- [18] Girisuta B, Janssen L, Heeres H. Kinetic study on the acid-catalyzed hydrolysis of cellulose to levulinic acid. *Industrial & engineering chemistry research*. 2007;46(6):1696–708.
- [19] Stoeglehner G, Narodoslowsky M. How sustainable are biofuels? Answers and further questions arising from an ecological footprint perspective. *Bioresource Technology*. 2009;100(16):3825–30.
- [20] Agarwal AK. Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines. *Progress in energy and combustion science*. 2007;33(3):233–71.
- [21] Drapcho CM, Nhuan NP, Walker TH. *Biofuels engineering process technology*. McGraw-Hill New York, US; 2008.
- [22] Song S, Lee Y. Acid hydrolysis of wood cellulose under low water condition. *Biomass*. 1984;6(1):93–100.
- [23] Brennan MA, Wyman CE. Initial evaluation of simple mass transfer models to describe hemicellulose hydrolysis in corn stover. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2004;115(1):965–76.

- [24] Torget RW, Kim JS, Lee Y. Fundamental aspects of dilute acid hydrolysis/fractionation kinetics of hardwood carbohydrates. 1. Cellulose hydrolysis. *Industrial & engineering chemistry research*. 2000;39(8):2817–25.
- [25] Liu C, Wyman CE. The effect of flow rate of very dilute sulfuric acid on xylan, lignin, and total mass removal from corn stover. *Industrial & engineering chemistry research*. 2004;43(11):2781–8.
- [26] Jacobsen SE, Wyman CE. Cellulose and hemicellulose hydrolysis models for application to current and novel pretreatment processes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2000;84(1):81–96.
- [27] Zhao H, Kwak JH, Wang Y, Franz JA, White JM, Holladay JE. Effects of crystallinity on dilute acid hydrolysis of cellulose by cellulose ball-milling study. *Energy & fuels*. 2006;20(2):807–11.
- [28] Xiang Q, Lee YY, Torget RW. Kinetics of glucose decomposition during dilute-acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2004;115(1):1127–38.
- [29] Kim JS, Lee Y, Torget RW. Cellulose hydrolysis under extremely low sulfuric acid and high-temperature conditions. In: *Twenty-Second Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*. 2001. p. 331–40.
- [30] Viamajala S, McMillan JD, Schell DJ, Elander RT. Rheology of corn stover slurries at high solids concentrations-effects of saccharification and particle size. *Bioresource technology*. 2009;100(2):925–34.
- [31] Pimenova NV, Hanley TR. Measurement of rheological properties of corn stover suspensions. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2003;106(1):383–92.
- [32] Pimenova NV, Hanley TR. Effect of corn stover concentration on rheological characteristics. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2004;114(1):347–60.
- [33] Ehrhardt M, Monz T, Root T, Connelly R, Scott C, Klingenberg D. Rheology of dilute acid hydrolyzed corn stover at high solids concentration. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2010;160(4):1102–15.
- [34] Aguilar R, Ramirez J, Garrote G, Vazquez M. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. *Journal of Food Engineering*. 2002;55(4):309–18.

- [35] Sanchez G, Pilcher L, Roslander C, Modig T, Galbe M, Liden G. Dilute-acid hydrolysis for fermentation of the Bolivian straw material Paja Brava. *Bioresource technology*. 2004;93(3):249–56.
- [36] Roche CM, Dibble CJ, Knutsen JS, Stickel JJ, Liberatore MW. Particle concentration and yield stress of biomass slurries during enzymatic hydrolysis at high-solids loadings. *Biotechnology and bioengineering*. 2009;104(2):290–300.
- [37] Pettersson PO, Torget RW, Eklund R, Xiang Q, Lee Y, Zacchi G. Simplistic modeling approach to heterogeneous dilute-acid hydrolysis of cellulose microcrystallites. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2003;106(1):451–5.
- [38] Yang B, Gray MC, Liu C, Lloyd TA, Stuhler SL, Converse AO, et al. Unconventional relationships for hemicellulose hydrolysis and subsequent cellulose digestion. In: *ACS symposium series*. 2004. p. 100–25.
- [39] Mittal A, Chatterjee SG, Scott GM, Amidon TE. Modeling xylan solubilization during autohydrolysis of sugar maple and aspen wood chips: Reaction kinetics and mass transfer. *Chemical Engineering Science*. 2009;64(13):3031–41.
- [40] Wiman M, Palmqvist B, Tornberg E, Lidén G. Rheological characterization of dilute acid pretreated softwood. *Biotechnology and bioengineering*. 2011;108(5):1031–41.
- [41] Benny P, Magnus W, Gunnar L. Effect of mixing on enzymatic hydrolysis of steam-pretreated spruce: a quantitative analysis of conversion and power consumption. *Biotechnology for Biofuels*. 4.
- [42] Kim SB, Lee Y. Diffusion of sulfuric acid within lignocellulosic biomass particles and its impact on dilute-acid pretreatment. *Bioresource technology*. 2002;83(2):165–71.
- [43] Zamudio M, Saucedo J, Maya-Yescas R, Alvarez Navarret e M, Castro Montoya A. Efectos heterogeneos durante el proceso de hidrólisis ácida de bagazo de caña para la producción de etanol. In: *Memorias de la XXXIV reunión anual AMIDIQ*. 2013.
- [44] Zhu J, Wang G, Pan X, Gleisner R. Specific surface to evaluate the efficiencies of milling and pretreatment of wood for enzymatic saccharification. *Chemical Engineering Science*. 2009;64(3):474–85.

- [45] Schell DJ, Harwood C. Milling of lignocellulosic biomass. *Applied Biochemistry and biotechnology*. 1994;45(1):159–68.
- [46] Bitra VS, Womac AR, Igathinathane C, Miu PI, Yang YT, Smith DR, et al. Direct measures of mechanical energy for knife mill size reduction of switchgrass, wheat straw, and corn stover. *Bioresource technology*. 2009;100(24):6578–85.
- [47] Zhu W, Zhu J, Gleisner R, Pan X. On energy consumption for size-reduction and yields from subsequent enzymatic saccharification of pretreated lodgepole pine. *Bioresource technology*. 2010;101(8):2782–92.
- [48] Zhu Y, Malten M, Torry-Smith M, McMillan JD, Stickel JJ. Calculating sugar yields in high solids hydrolysis of biomass. *Bioresource technology*. 2011;102(3):2897–903.
- [49] Abasaeed A, Lee Y, Watson J. Effect of transient heat transfer and particle size on acid hydrolysis of hardwood cellulose. *Bioresource technology*. 1991;35(1):15–21.
- [50] Segal L, Creely J, Martin A, Conrad C. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*. 1959;29(10):786–94.
- [51] Martinez A, Rodriguez ME, York SW, Preston JF, Ingram LO. Use of UV absorbance to monitor furans in dilute acid hydrolysates of biomass. *Biotechnology progress*. 2008;16(4):637–41.
- [52] Abràmoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ. Image processing with ImageJ. *Biophotonics international*. 2004;11(7):36–42.
- [53] Derringer G. Simultaneous optimization of several response variables. *J. Quality Technol*. 1980;12:214–9.
- [54] Bischoff KB. *Chemical reactor analysis and design*. John Wiley & Sons Inc; 1990.
- [55] Kuniyama K, Ogawa H. Acid hydrolysis of cellulose in a differential scanning calorimeter. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 1985;30(1):49–59.
- [56] (US) FPL. *Wood handbook: wood as an engineering material*. United States Government Printing; 1987.
- [57] Thompson DR, Grethlein HE. Design and evaluation of a plug flow reactor for acid hydrolysis of cellulose. *Industrial & Engineering Chemistry Product Research and*

Development. 1979;18(3):166–9.

- [58] Wu Z, Lee Y. Nonisothermal simultaneous saccharification and fermentation for direct conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. In: *Biotechnology for Fuels and Chemicals*. Springer; 1998. p. 479–92.
- [59] Jin Q, Zhang H, Yan L, Qu L, Huang H. Kinetic characterization for hemicellulose hydrolysis of corn stover in a dilute acid cycle spray flow-through reactor at moderate conditions. *Biomass and Bioenergy*. 2011;35(10):4158–64.
- [60] Chen R, Wu Z, Lee Y. Shrinking-bed model for percolation process applied to dilute-acid pretreatment/hydrolysis of cellulosic biomass. *Applied biochemistry and biotechnology*. 1998;70(1):37–49.
- [61] Loh Y, Sujan D, Rahman M, Das C. Sugarcane bagasse—The future composite material: A literature review. *Resources, Conservation and Recycling*. 2013;75:14–22.
- [62] da Silva AS, Teixeira RSS, de Oliveira Moutta R, Ferreira-Leitão VS, de Barros R da RO, Ferrara MA, et al. Sugarcane and woody biomass pretreatments for ethanol production. 2013;
- [63] LU P, CHEN L, Li G, SHEN S, WANG L, JIANG Q, et al. Influence of furfural concentration on growth and ethanol yield of *Saccharomyces kluyveri*. *Journal of Environmental Sciences*. 2007;19(12):1528–32.
- [64] Ask M, Bettiga M, Mapelli V, Olsson L, others. The influence of HMF and furfural on redox-balance and energy-state of xylose-utilizing *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Biofuels*. 2013;6(1):22.
- [65] Vidal Jr BC, Dien BS, Ting K, Singh V. Influence of feedstock particle size on lignocellulose conversion—a review. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2011;164(8):1405–21.
- [66] Tillman L, Abaseed A, Lee Y, Torget R. Effect of transient variation of temperature on acid hydrolysis of aspen hemicellulose. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 1989;20(1):107–17.
- [67] Hamelinck CN, Hooijdonk G van, Faaij AP. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle-and long-term. *Biomass and bioenergy*. 2005;28(4):384–410.

- [68] Pearson E, Leavengood S, Reeb J, others. Comparison of the absorptive capacity of shavings of western juniper, western redcedar, and douglas-fir for animal bedding. *Forest Products Journal*. 2000;50(6):57–60.
- [69] Airaksinen S, Heinonen-Tanski H, Heiskanen M. Quality of different bedding materials and their influence on the compostability of horse manure. *Journal of equine veterinary science*. 2001;21(3):125–30.
- [70] TAPPI method T 264 om-88, 1988a. Preparation of wood for chemical analysis. In: *Tappi Test Methods*. Tappi Press, Atlanta, GA, USA.
- [71] TAPPI method T 222 om-88, 1988b. Acid-insoluble Lignin in Wood and Pulp. TAPPI Press, Atlanta, GA, USA.
- [72] ANSI/ASTM., 1977a. Standard test methods for lignin in wood D 1106-56. American National Standard Institute, Washington DC.
- [73] ANSI/ASTM., 1977b. Standard test methods for alpha-cellulose in wood D 1103-60. American National Standard Institute, Washington DC