



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**DISEÑO DE UNA BIOREFINERÍA A PEQUEÑA ESCALA
A PARTIR DE BAGAZO DE AGAVE**

TESIS presentada por:

BLANCA ANGÉLICA GARCÍA GARCÍA

**A la División de Estudios de Posgrado de la
Facultad de Ingeniería Química como
Requisito parcial para obtener el
grado de:**

**DOCTORA EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

Bajo la asesoría del: D.C.IQ. Agustín Jaime Castro Montoya

Morelia, Mich., agosto del 2020

RESUMEN

DISEÑO DE UNA BIOREFINERÍA A PEQUEÑA ESCALA A PARTIR DE BAGAZO DE AGAVE

Por

Blanca Angélica García García

Agosto 2020

Doctora en Ciencias en Ingeniería Química

Dirigida por: Dr. Agustín Jaime Castro Montoya

La naturaleza limitada de las reservas fósiles y las preocupaciones ambientales que conllevan su uso y extracción son cada vez mayores y están instando a reemplazar los procesos químicos a base de petróleo, con procesos basados en recursos renovables. En décadas pasadas, la estrategia de diseño se enfocaba hacia la producción a gran escala de monoproducto, haciendo que la producción no fuera económicamente viable. Es por ello que la presente tesis tiene como objetivo estudiar técnica económica y ambientalmente unidades de biorefinería a pequeña escala para producir etanol, xilitol, furfural, ácido láctico y ácido succínico a partir de microorganismos nativos y modificados genéticamente, empleando como materia prima bagazo de agave. Este trabajo está desarrollado bajo el marco del proyecto SMIBIO en el cual participan un consorcio de 5 países europeos y 5 países latinoamericanos liderados por el Laboratorio Nacional de Energía y Geología (LNEG) de Portugal.

Del análisis desarrollado se observó que las biorefinerías a pequeña escala son una alternativa para el uso de residuos del proceso de producción del tequila. Los escenarios que emplean microorganismos modificados genéticamente son los que presentan una mejor evaluación, ya que reducen el consumo de agua fresca puesto que no es necesaria la etapa de detoxificación y con ello se reducen costos de equipo y procesamiento. Los índices ambientales que están orientados al consumo y uso energético para ambos esquemas muestran que los procesos no son sostenibles en este aspecto. A pesar de ello, aquellos escenarios que emplean los microorganismos modificados tienen un mejor porcentaje.

Palabras Clave: Biorefinería, Pequeña escala, Bagazo Agave

ABSTRACT

DESIGN OF A SMALL-SCALE BIOREFINERY

FROM AGAVE BAGASSE

By

Blanca Angélica García García

August 2020

Ph. D of Science in Chemical Engineering

Directed by: Ph. D. Agustín Jaime Castro Montoya

The limited nature of fossil reserves and the environmental concerns associated with their use and extraction are increasing and are prompting the replacement of petroleum-based chemical processes with processes based on renewable resources. In past decades, the design strategy focused on large-scale single-product production, rendering production economically unviable. That is why, this thesis aims to study economically and environmentally small-scale biorefinery units to produce ethanol, xylitol, furfural, lactic acid and succinic acid from native and genetically modified microorganisms, using agave bagasse as raw material. This work is developed under the framework of the SMIBIO project in which a consortium of 5 European countries and 5 Latin American countries participate, led by the National Laboratory of Energy and Geology (LNEG) of Portugal.

From the analysis carried out, it was observed that small-scale biorefineries are an alternative for the use of residues from the tequila production process. The scenarios that use genetically modified microorganisms are those that present a better evaluation, since they reduce the consumption of fresh water since the detoxification stage is not necessary and with this, equipment and processing costs are reduced. The environmental indices that are oriented to energy consumption and use for both schemes show that the processes are not sustainable in this regard. Despite this, those scenarios that use modified microorganisms have a better percentage.

Key Words: Biorefinery, Small scale, Agave bagasse

DEDICATORIA

A Dios por estar siempre conmigo, forjar
día a día mi camino, acompañarme y
levantarme en mi continuo tropiezo.

A mis padres por todo su amor, su apoyo,
incondicional, entrega y sacrificios.

A mi hijo por ser mi motivo de alegría y
superación.

A Salvador Muñoz Ortiz, por su amor,
apoyo y compañía

A los que físicamente no están por su guía,
ejemplo y cuidado.

CONTENIDO

RESUMEN	ii
ABSTRACT	iii
DEDICATORIA	iv
INDICE DE TABLAS	vii
INDICE DE FIGURAS	viii
AGRADECIMIENTOS	x
GLOSARIO.....	xi
Capítulo I. INTRODUCCION	13
1.1 Justificación.....	15
1.2 Alcance.....	16
1.3 Hipótesis	16
1.4 Objetivos.....	17
1.4.1 Objetivo General	17
1.4.2 Objetivos Especificos.....	17
Capítulo 2. MARCO TEORICO.....	18
2.1 Biorefinerías a Pequeña Escala	22
2.2 Transporte.....	23
2.3 Materias Primas.....	24
2.4 Beneficios del Agricultor.....	25
2.5 Microorganismos Modificados Genéticamente	27
2.5.1. Gel Electroforesis	28
2.5.2. ADN Recombinante.....	29
2.5.3. Vectores.....	31
2.5.4. Técnica de la PCR.....	31
2.5.5. Biochips	31
Capítulo 3. METODOLOGIA.....	32
3.1 Etapa I: Definición	32
3.2 Etapa II: Simulación	32
3.2.1. Descripción de los Procesos	33
3.2.2. Extracción de Azúcares: Esquema Convencional	35
3.2.3. Extracción de Azúcares: Esquema no convencional.....	37

3.2.4.	Producción de Etanol	39
3.2.5.	Producción de Xilitol.....	41
3.2.6.	Producción de Furfural	43
3.2.7.	Producción de Lactato	44
3.2.8.	Producción de Succinato.....	45
3.2.9.	Sistema de Cogeneración	45
3.3	Etapa III Análisis.....	46
3.3.1	Análisis Económico	46
3.3.2	Análisis Ambiental	48
Capítulo 4. RESULTADOS		49
4.1	Determinar las ventajas del bagazo de agave <i>Tequilana</i> frente a otros residuos agroindustriales en el país.	49
4.2	Definir la zona bajo estudio tomando en cuenta factores socioeconómicos. .	50
4.3	Identificar los productos derivados de la biorefinería, analizando sus características y atractivo comercial.....	51
<input type="checkbox"/>	Etanol.....	51
<input type="checkbox"/>	Xilitol	52
<input type="checkbox"/>	Furfural	53
<input type="checkbox"/>	Ácido Láctico	56
<input type="checkbox"/>	Ácido Succínico.....	58
4.4	Plantear escenarios atractivos de producción.....	61
4.5	Realizar el diseño conceptual de los módulos de biorefinería, empleando la estrategia de jerarquía, secuenciación e integración.....	63
4.6	Realizar el análisis económico de los módulos de biorefinería, analizando la rentabilidad con base al índice del valor presente neto.	73
4.7	Análisis Ambiental RESUTADO	82
Capítulo 5. CONCLUSIONES		87
REFERENCIAS		88

INDICE DE TABLAS

Tabla I Modelo cinético y parámetros utilizados en la hidrólisis ácida de CCS	35
Tabla II Modelo cinético y parámetros utilizados en la sacarificación enzimática	36
Tabla III Datos experimentales utilizados en la hidrólisis de ácido diluido	38
Tabla IV Modelo cinético y parámetros utilizados en la sacarificación enzimática	38
Tabla V Modelo cinético y parámetros empleados en la fermentación para producir etanol en el esquema convencional	40
Tabla VI Datos experimentales utilizados en la fermentación para producir etanol bajo el esquema no convencional	41
Tabla VII Modelo cinético para la producción de xilitol en el esquema convencional.....	42
Tabla VIII Datos experimentales empleados para la producción de xilitol en el esquema no convencional	43
Tabla IX Datos experimentales utilizados para la fermentación de lactato	44
Tabla X Datos experimentales para la fermentación de succinato	45
Tabla XI Parámetros empleados para el análisis de flujo de caja descontado	46
Tabla XII Precios/Costos de materia prima, servicios, insumos y productos empleados en el análisis económico	47
Tabla XIII Principales residuos agroindustriales en México	49
Tabla XIV Fábricas de tequila en Jalisco	50
Tabla XV Descripción de los casos de estudio.....	62
Tabla XVI Rendimientos de producción de etanol escenarios A_{Zm} y A_{Ec}	71
Tabla XVII Rendimientos de producción de etanol y xilitol escenarios B_{ZmCm} y B_{Ec}	71
Tabla XVIII Rendimientos de producción escenario C_{ZmCmF}	72
Tabla XIX Consumo de agua de los escenarios que emplean <i>E. Coli</i>	72
Tabla XX Análisis de sensibilidad del valor presente neto del escenario C_{ZmCmF}	78
Tabla XXI Costo de producción y valor presente neto del escenario D_{Ec}	79
Tabla XXII Costo de producción de la cartera considerando costo de materia prima de 10 US\$/ton	81
Tabla XXIII Costo de producción de la cartera considerando costo de materia prima de 40 USD/Ton	82
Tabla XXIV Indicadores empleados en el análisis ambiental con la herramienta GREENSCOPE	83
Tabla XXV Comparativo de los indicadores para la producción de Etanol a partir de <i>Z. Mobilis</i> y la cepa <i>E. Coli</i>	84
Tabla XXVI Comparativo de los indicadores para la producción de etanol y xilitol a partir de <i>Z. mobilis</i> , <i>C. mogii</i> y las cepas <i>E. Coli</i>	85
Tabla XXVII Comparativo de los indicadores para la producción de etanol, xilitol y furfural a partir de <i>Z. Mobilis</i> , <i>C. mogii</i> y ciclodeshidratación y las cepas <i>E. Coli</i>	86

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Esquema General de una Biorefinería.....	18
Figura 2 Criterios para la clasificación de las biorefinerías.	19
Figura 3 Rutas de conversión de la biomasa en combustibles y energía.....	20
Figura 4 Diagrama de flujo del esquema de biorefinería convencional	34
Figura 5 Diagrama de flujo del esquema de biorefinería no convencional	34
Figura 6 Zona Bajo Estudio Ruta del Tequila Jalisco	50
Figura 7 Derivados del bioetanol por catálisis	52
Figura 8 Productos químicos derivados del furfural	55
Figura 9 Diagrama de usos comerciales y aplicaciones del ácido láctico	57
Figura 10 Compuestos químicos derivados del ácido láctico.....	57
Figura 11 Productos químicos sintetizados a partir del ácido succínico	59
Figura 12 Diagrama de bloques de la producción de etanol a partir de <i>Zymomonas mobilis</i>	63
Figura 13 Diagrama de bloques de la producción de Etanol a partir de <i>E. Coli</i> MS04.....	64
Figura 14 Diagrama de bloques de la producción de etanol a partir de <i>Z. mobilis</i> y xilitol a partir de <i>C. moggi</i>	65
Figura 15 Diagrama de bloques producción de etanol y xilitol a partir de las cepas <i>E. Coli</i> MS04 y <i>E. Coli</i> W3110 respectivamente.	66
Figura 16 Diagrama de bloques de producción de etanol por medio de <i>Z. Mobilis</i> , xilitol a partir de <i>C. Mogii</i> y furfural por la ciclodeshidratación de la xilosa	67
Figura 17 Diagrama de bloques de la biorefinería a partir de cepas de <i>E. Coli</i> modificadas genéticamente para la producción de etanol, xilitol, lactato y succinato.....	68
Figura 18 Diagrama de bloques de la producción de xilitol a partir de <i>E. coli</i> w3110.....	69
Figura 19 Diagrama de bloques de la producción de ácido láctico a partir de <i>E. coli</i> AV03	70
Figura 20 Diagrama de bloques de la producción de ácido succínico a partir de <i>E. coli</i> AS1600	70
Figura 21 Comparativo de la distribución de costos escenarios A_{Zm} y A_{Ec}	73
Figura 22 Costo de producción de etanol a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario A_{Zm}	74
Figura 23 Valor presente neto (MUS\$) de la producción de etanol a diferentes costos de materia prima escenario A_{Zm}	74
Figura 24 Costo de producción de etanol a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario A_{Ec}	75
Figura 25 Valor presente neto (MUS\$) de la producción de etanol a diferentes costos de materia prima escenario A_{Ec}	75
Figura 26 Costo de producción de etanol y xilitol a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario B_{ZmCm}	76

Figura 27 Valor presente neto (MUS\$) de la producción de etanol y xilitol a diferentes costos de materia prima escenario B_{ZmCm}	76
Figura 28 Costo de producción de etanol y xilitol a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario B_{Ec}	77
Figura 29 Valor presente neto (MUS\$) de la producción de etanol y xilitol a diferentes costos de materia prima escenario B_{Ec}	77
Figura 30 Costo de producción de etanol, xilitol y furfural a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/ton) escenario C_{ZmCmF}	78
Figura 31 Costo de producción de xilitol a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario E_{Ec}	79
Figura 32 Costo de producción de lactato a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario F_{Ec}	80
Figura 33 Costo de producción de succinato a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario G_{Ec}	80

AGRADECIMIENTOS

A Dios por forjar día a día mi camino, acompañarme y levantarme en mi continuo tropiezo. Gracias por permitirme cumplir otra meta a pesar de mis dudas en el camino. Te agradezco por la maravillosa familia que me has dado mis abuelos, padres, hermano, hijo y esposo, así como las personas que has puesto en mi camino. Gracias señor por los obstáculos todas esas dificultades y malos momentos pues gracias a ello me he dado cuenta de tu infinito amor y misericordia.

A mi papá Armando García Martínez, por ser mi ejemplo de estudio y dedicación, gracias por todo tu apoyo e indudable amor.

A mi mamá Yolanda García López, decir todo es poco, gracias por siempre estar a mi lado tanto en alegrías como tristezas, gracias por ser mi incondicional por todo tu amor y entrega, por creer en mí aún cuando ni yo misma lo hago, por tus desvelos, regaños y sabios consejos.

A los que físicamente no están (mis abuelos) pero que siguen vivos en nuestro pensamiento gracias a ustedes por los excelentes padres que formaron y por ser una motivación más para luchar por mis sueños.

A mi bebé Mahdi, gracias por llegar a mi vida, ser mi luz en los momentos más difíciles y mi razón de vivir y ser mejor día con día.

A Salvador Muñiz Ortiz, gracias por tu amor, por estar a mi lado, y apoyarme incondicionalmente.

Agradezco a todos aquellos que han sido parte de mi formación académica, en especial a mi asesor el Dr. Agustín Jaime Castro Montoya por su confianza, consejos y guía durante mi formación universitaria gracias por todo su apoyo y motivación por invitarnos día con día a seguir soñando con aquello que deseamos y enseñarnos que con esfuerzo se puede lograr, nunca se lo he externado pero agradezco que no sólo busca formarnos como profesionales si no que busca hacernos mejores personas íntegras y con valores firmes.

También quiero externar mi agradecimiento al Dr. Carlos Ariel Cardona Alzate, y al Dr. Alfredo Martínez Jiménez, por la invitación y confianza para formar parte del proyecto SMIBIO, agradezco por su amistad y apoyo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACyT por el apoyo financiero otorgado durante la realización de este proyecto.

GLOSARIO

Análisis heurístico	Técnica que permite evaluar de manera objetiva diferentes aspectos de un proceso con la finalidad de determinar si este cumple o no ciertas especificaciones.
Antropogénico	Efecto ambiental provocado por la acción del hombre.
Biocombustible	Combustible obtenido a partir de materias primas orgánicas.
Bioeconomía	Es un modelo económico basado en la producción de recursos biológicos renovables y la conversión de estos recursos en productos con valor agregado, como bioproductos, bioenergía y servicios.
Biomasa	El término biomasa alude a toda la materia orgánica procedente de plantas y desechos de animales, así como los residuos provenientes de la actividad agrícola y otros residuos de carácter urbano.
Biomasa Lignocelulósica	Se refiere a toda la materia orgánica vegetal.
Bioproducto	Resultado de la aplicación de la biotecnología en un proceso industrial a partir de materias primas renovables.
Biorefinería	Son instalaciones que integran procesos de conversión de biomasa de forma sostenible para la obtención de un amplio espectro de bioproductos ya sean energéticos, alimenticios, químicos entre otros.
Building block	Es un término en inglés empleado en la química verde para referirse a las moléculas con múltiples grupos funcionales que poseen el potencial para ser transformados en nuevas familias de moléculas con aplicaciones útiles. El término se traduce en piezas elementales verde o bloques modulares sostenibles.
Celulosa	Es un biopolímero compuesto únicamente de moléculas de β -glucosa, es la biomolécula más abundante pues forma la mayor parte de la biomasa terrestre.
Commodities	Son los productos que se destinan para uso comercial es decir bienes básicos y no cuentan con algún valor agregado, ya que se encuentran sin procesar por eso se utilizan como materias primas para la producción de otros bienes.
Cultivo energético	Son plantas de crecimiento rápido destinadas únicamente a la obtención de energía o como materia prima para la producción de biocombustibles.
Descentralizar	Proceso de distribuir o dispersar funciones, poderes, personas o cosas fuera de una ubicación o autoridad central.
Economía de escala	Es el poder que tiene una empresa cuando alcanza un ritmo óptimo de producción para ir produciendo más a menor coste, puesto que a medida que la producción en una empresa crece, sus costes por unidad producida se reducen.
Etil terc-butil éter (ETBE)	Es un compuesto que se emplea comúnmente como un aditivo para la gasolina oxigenada a partir del petróleo crudo. La cual genera beneficios de calidad de aire iguales o mayores que el etanol.

Fuentes antropogénicas	Son los procesos que causan efectos en el medio ambiente por acción del hombre.
Hemicelulosa	Es un heteropolisacárido que forma parte de las paredes de las células vegetales, recubriendo la superficie de las fibras de celulosa. Se encuentra formado por polisacáridos fundamentalmente xilosa, arabinosa, galactosa, manosa, glucosa y ácido glucurónico.
Lignina	Es un polímero polifenólico de estructura compleja que forman materiales estructurales importantes en los tejidos de soporte de plantas vasculares, algunas algas e insectos.
Microorganismos modificados genéticamente	Son microorganismos que han sido manipulados genéticamente, para mejorar sus características.
Petroeconomía	Es un modelo económico basado en la explotación del petróleo para la producción de productos de valor agregado, energía y servicios.
Plataforma de biorefinería	Es un concepto similar al utilizado en la industria petroquímica, para clasificar las biorefinerías de tal manera que las plataformas son grupos de productos intermedios a través de los cuales se puede llegar de unas materias primas a unos productos finales.
Recursos renovables	Son recursos naturales que se pueden restaurar mediante procesos naturales a una velocidad superior a la del consumo por los seres humanos.
Refinación	Proceso industrial mediante el cual se van eliminando impurezas de una sustancia o metal.
Residuo agroindustrial	Son los desechos agroindustriales de naturaleza orgánica.
RSU	Los residuos sólidos urbanos, son aquellos desechos generados en casa-habitación, que resultan de la eliminación de los materiales que utilizan en sus actividades domésticas.
Sostenible	Que es compatible con los recursos de que dispone una región, una sociedad etc. Estando en condiciones de conservarse o reproducirse por sus propias características.
Sustentable	Se refiere a los sistemas biológicos que pueden conservar la diversidad y la productividad a lo largo del tiempo, sin comprometer la condición de generaciones futuras.

Capítulo I. INTRODUCCION

El uso de fuentes fósiles como matriz energética ha sido un gran motor para el desarrollo de la sociedad a nivel mundial, ya que se consideran como un recurso primario para la generación de energía. Especialmente para el desarrollo de combustibles líquidos utilizados para la generación de calor, electricidad o como fuente de energía para vehículos. Siendo este último, el sector transporte el que tiene un mayor consumo de combustible debido a su rápido crecimiento. De acuerdo con el informe International Energy Outlook 2016, se estima que el consumo de combustible aumenta en un promedio de 1.1% cada año, lo cual representa el 62% del aumento total de los combustibles líquidos utilizados (IEA 2016).

De tal manera que, el uso desmedido de los combustibles fósiles ha ocasionado problemas y preocupación sobre aspectos económicos, de seguridad energética, ambientales como el calentamiento global y agotamiento de los mismos. A medida que este recurso se agota, la importancia de hacer una transición hacia un esquema energético sustentable se hace más evidente. Las proyecciones de la Agencia Internacional de Energía (IEA por sus siglas en inglés) indican que probablemente exista un pico mundial en la demanda de petróleo entre los años 2020 y 2040 (IEA 2016). La perspectiva de este pico representa una seria amenaza económica para los países dependientes de esta fuente no renovable, en los que sus ingresos petroleros superan el 10% del Producto Interno Bruto (PIB) (Van de Graaf and Verbruggen 2015). Con respecto a las emisiones mundiales relacionadas con la energía, estas aumentarían de 32.2 a 43.2 mil millones de toneladas (T) entre 2012 y 2040 (Abdul-Manan, Arfaj, and Babiker 2017). Lo cual representa el 35% de las emisiones totales. Según la IEA, la demanda mundial de petróleo debería reducirse en al menos un 0.8% en promedio cada año entre 2013 y 2040 para mantener el calentamiento global por debajo de los 2 °C (IEA, 2011)

Una alternativa a esta problemática es la diversificación de la matriz energética con la inclusión de fuentes de energía renovables como lo es la biomasa, para la generación de biocombustibles y bioproductos de interés por medio de su transformación en las biorefinerías. En términos de biomasa países de América Latina como México poseen un gran potencial en fuentes de biomasa por su ubicación geográfica y biodiversidad. El uso de la biomasa como fuente de energía permite no solo reducir los gases efecto invernadero si no también descentralizar las fuentes de energía ya que los combustibles fósiles tienen una distribución altamente localizada en zonas del mundo que además tienen una situación política inestable, lo que ocasiona que se encarezcan, de esta manera a través del uso de la biomasa se pueden distribuir los puntos de generación de energía.

Dentro de las políticas bioenergéticas, se ha puesto énfasis en los biocombustibles para su uso en transporte, ya que este sector representa la mayor fuente antropogénica de emisión de gases de efecto invernadero. Debido a que la combustión de un biocombustible produce globalmente menos gases de efecto invernadero durante su ciclo de vida, ya que parte del CO₂ emitido a la atmósfera al quemarlo fue fijado originalmente por el proceso de fotosíntesis durante el desarrollo de la biomasa que le dio origen. Es por ello que, en décadas pasadas, la estrategia del diseño de biorefinerías para lidiar con la demanda de biocombustibles, había sido enfocada en la producción de biocombustibles especialmente etanol a gran escala haciendo que el proceso de producción no fuera económicamente viable, una estrategia para solucionar esto es la reducción de costos mediante el uso de economías de escala y excelencia operativa. Además, del cambio de enfoque de monoproducto hacia la diversificación de la cartera de producción lo que permite la valorización de toda la biomasa a través del uso eficiente y efectivo.

1.1 Justificación

La naturaleza limitada de las reservas fósiles y las preocupaciones ambientales que conllevan su uso y extracción son cada vez mayores y están instando a reemplazar los procesos químicos a base de petróleo, con procesos basados en recursos renovables. Actualmente se estima una producción 170 mil millones de toneladas de recursos renovables por año, de los cuales solo 3.5% está siendo utilizado. La biomasa como fuente de energía es muy diversa, abarca desde desechos agroindustriales hasta cultivos energéticos. La producción de energía a partir de ella ofrece grandes ventajas pues resulta en un procesamiento más barato, renovable y genera menos emisiones contaminantes que los procesos de refinación del petróleo.

En México se generan grandes cantidades de residuos agroindustriales, que no tienen una disposición adecuada y generan contaminación al medio ambiente. Asimismo, existen plantas que presentan un elevado potencial para ser cultivos energéticos. Una alternativa para su aprovechamiento consiste en su transformación mediante el concepto de biorefinería. Los estudios realizados en este campo se han enfocado en su mayoría al desarrollo de biocombustibles especialmente bioetanol. Sin embargo, en ellos se ha demostrado que para hacer económicamente viable el proceso se requiere procesar grandes cantidades de materia prima.

Lo anterior supone riesgos en cuanto a los requerimientos y disponibilidad de materia prima de tal forma que para garantizar la viabilidad de este tipo de sistemas de producción, su diseño requiere de evaluaciones y comparaciones de las circunstancias nacionales y locales, así como la influencia de la logística, el tipo de materia prima, el costo del transporte y la integración de los procesos, ya que la idoneidad de los diferentes sistemas dependerá en gran medida de las estructuras de los mercados existentes y no de evaluaciones aisladas.

Este proyecto se centra en el uso del bagazo de agave, residuo agroindustrial producido por las tequileras. A pesar de que en el país los principales residuos para la producción de energía corresponden al bagazo de caña de azúcar y al rastrojo de maíz, en el desarrollo de este proyecto consideramos el uso del bagazo de agave debido a que estos residuos tienden a concentrarse en zonas geográficas relativamente pequeñas y no se utilizan ampliamente para la alimentación animal, de tal forma que los residuos podrían ser un importante suministro

local de recursos bioenergéticos, así a pesar de no ser uno de los principales residuos para México, la alta concentración del bagazo de agave ton/área lo hace muy atractivo para la conversión, además de que esta planta, no es un cultivo alimenticio básico y no requiere riego lo que lo hace un excelente candidato para la investigación.

Este trabajo tiene como objetivo estudiar técnica económica y ambientalmente unidades de biorefinería a pequeña escala. Está desarrollado bajo el marco del proyecto SMIBIO en el cual participan un consorcio de 5 países europeos y 5 países latinoamericanos liderados por el Laboratorio Nacional de Energía y Geología (LNEG) de Portugal. Se realiza el análisis a pequeña escala, ya que estas unidades tienen el potencial de aliviar los costos relacionados con el transporte y el procesamiento y aumentar los ingresos al permitir el uso eficiente y efectivo de la materia prima, evitando procesamiento innecesario y transporte limitado.

1.2 Alcance

El proyecto contempla la investigación científica sobre aspectos relacionados con el aprovechamiento de la biomasa para la producción de biocombustibles y productos químicos de base biológica a pequeña escala, para un área de cobertura nacional. Todo lo anterior con base en una estrategia de ingeniería de procesos.

1.3 Hipótesis

Si se analiza el potencial de los residuos disponibles en el país acoplado con aspectos sociales, como la disponibilidad de materia prima y aspectos logísticos en la transformación biológica de éstos. Es posible obtener bioproductos de una manera eficiente, por medio de la integración de tecnologías a pequeña escala mediante un enfoque de ingeniería de procesos, cumpliendo con los criterios del concepto de biorefinería.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Realizar el diseño, así como el análisis tecno-económico y ambiental de biorefinerías a pequeña escala para la elaboración de productos de valor agregado a partir de los residuos generados por la industria tequilera del país.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Determinar las ventajas del bagazo de agave *Tequilana* frente a otros residuos agroindustriales en el país.
- Definir la zona bajo estudio tomando en cuenta factores socioeconómicos.
- Identificar los productos derivados de la biorefinería, analizando sus características y atractivo comercial.
- Plantear escenarios atractivos de producción.
- Realizar el diseño conceptual de los módulos de biorefinería, empleando la estrategia de jerarquía, secuenciación e integración.
- Realizar la modelación y simulación de los escenarios planteados.
- Realizar el análisis económico de los módulos de biorefinería, analizando la rentabilidad con base al índice del valor presente neto.
- Realizar en análisis ambiental de los escenarios propuestos.

Capítulo 2. MARCO TEORICO

En un mundo que se mueve hacia el uso de las energías limpias, el uso eficiente y sostenible de la energía a partir de la biomasa, para la generación de electricidad, producción de biocombustibles, productos químicos y alimentos en complejos industriales denominados biorefinerías, está demostrando ser una estrategia económica y políticamente correcta. En la **Figura 1** se muestra un esquema general de una biorefinería.

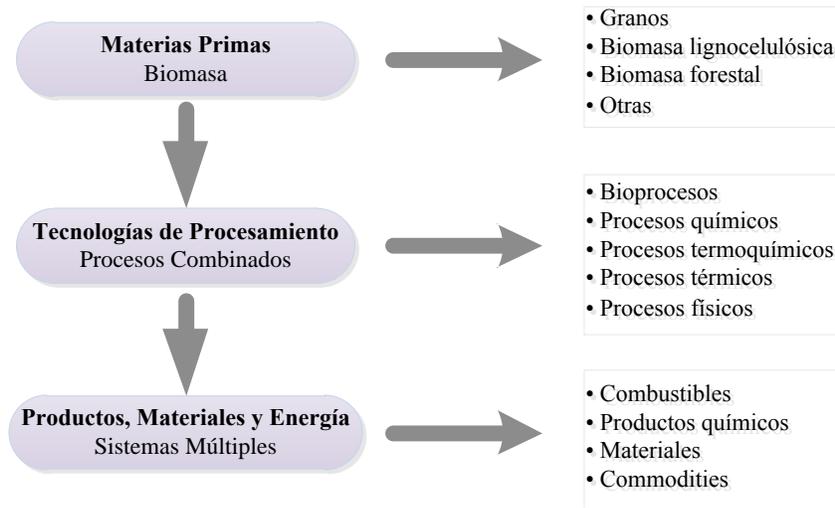


Figura 1 Esquema General de una Biorefinería Tomada de (B. Kamm and Kamm 2006).

La definición de ésta, muestra que las biorefinerías no necesariamente incluyen un único proceso o tecnología, y que diferentes rutas pueden desarrollarse en función de las materias primas utilizadas y los productos a obtener con base a la composición inicial de la biomasa utilizada. La clasificación de las biorefinerías en diferentes tipos es abordada por (Cherubini et al. 2009). El principal criterio empleado en la clasificación **Figura 2** corresponde a la ruta de procesamiento para la obtención del producto final. Dicha categorización se basa en cuatro características principales, las cuales son capaces de identificar, clasificar y describir los diferentes sistemas de biorefinerías, tales son: plataformas, productos (energía, biomateriales y químicos), materias primas y rutas y/o procesos de conversión.

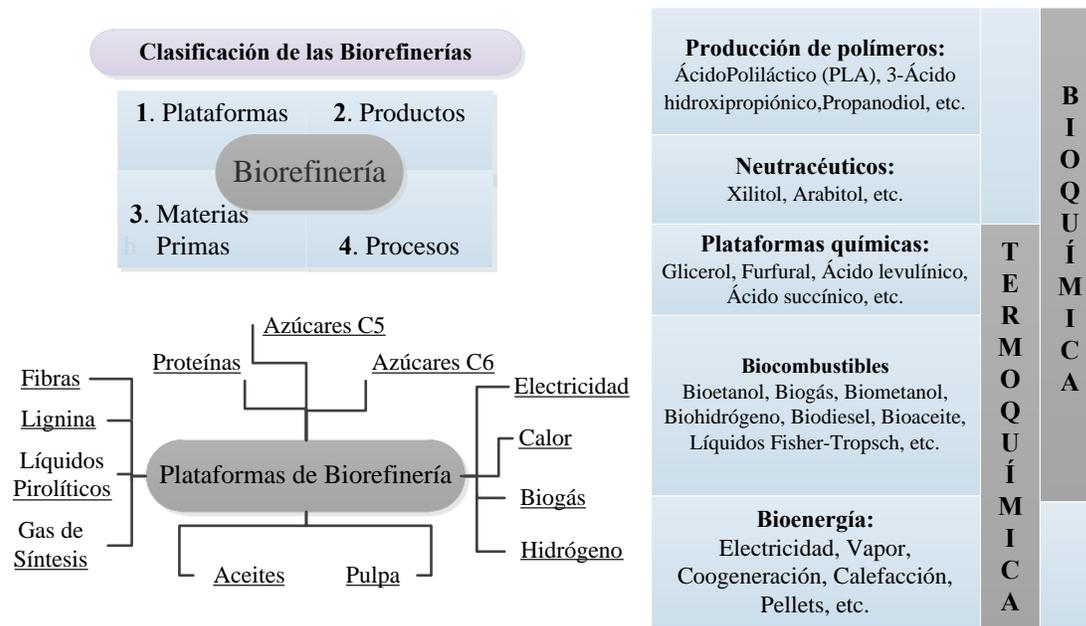


Figura 2 Criterios para la clasificación de las biorefinerías tomado de (Cherubini et al. 2009)

Se definen como plataformas (azúcares C5/C6, gas de síntesis, biogás) a los productos intermedios capaces de conectar diferentes sistemas de biorefinerías y procesos. Las plataformas (bioquímica y/o termoquímica) también están relacionadas con los productos finales, que son clasificados a su vez como bioproductos energéticos (bioetanol, biodiésel, biogás, bioenergía) y bioproductos no energéticos (como biomateriales, alimentos, biomoléculas, etc.). En cuanto a las materias primas empleadas se encuentran los “cultivos energéticos” y los residuos de la agricultura, silvicultura, comercio e industria (paja, cortezas, virutas de madera, aceites, bagazo de caña, etc.).

La diferenciación en el sistema de clasificación también se ha realizado por el tipo de proceso de conversión: que corresponde a los procesos bioquímicos (fermentación, conversión enzimática), termoquímicos (gasificación, pirólisis), químicos (hidrólisis ácida, síntesis, esterificación), y procesos mecánicos (fraccionamiento, prensado, reducción de tamaños) como los mostrados en la **Figura 3**.

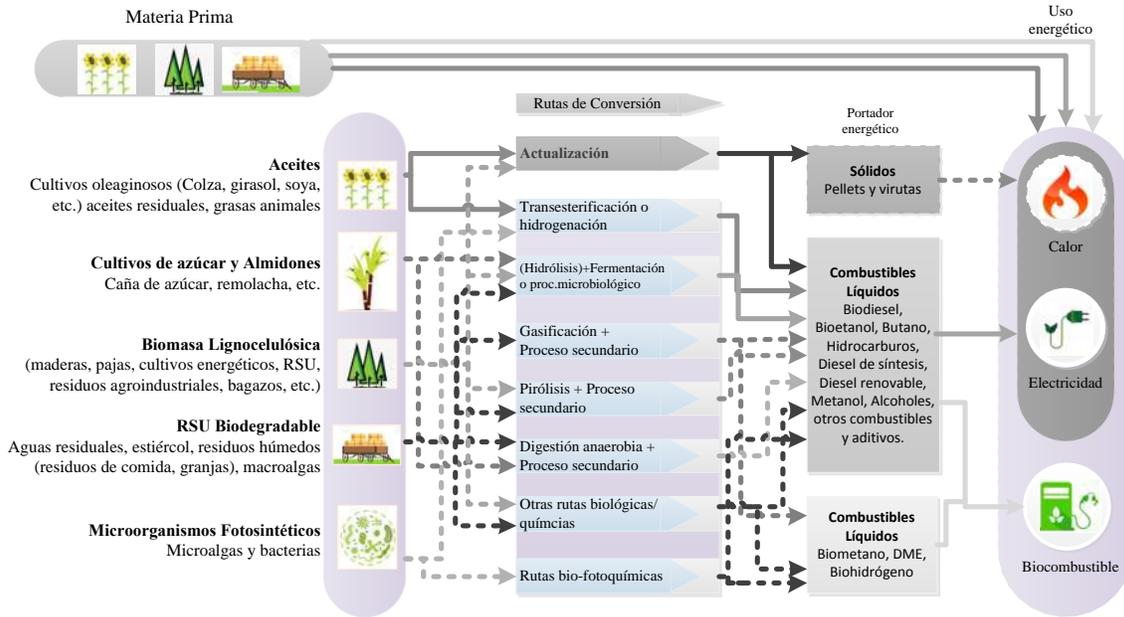


Figura 3 Rutas de conversión de la biomasa en combustibles y energía tomado de (Galán et al.2015) y modificado

El empleo de la biomasa para la generación de energías limpias a través de biorefinerías ofrece ciertas ventajas, como la eficiencia energética esto debido a la estrecha integración entre la generación de energía y la síntesis química, ya que, el uso de energía en una biorefinería con multiproductos tiene mayor eficiencia que los sistemas independientes que producen los mismos y gracias a este sistema multiproducto se logra la reducción de los costos de los productos finales, y depende menos de las fluctuaciones de precios en el mercado. Además, brinda la oportunidad de generar combustibles alternativos y con ello reducir las emisiones de gases efecto invernadero ya que en la combustión de los mismos se libera el CO₂ que ha sido fijado por medio de la fotosíntesis.

Estos sistemas emergentes de producción son la principal vía para el desarrollo de la bioeconomía (Dávila, Rosenberg, and Cardona 2017; Moncada B, Aristizábal M, and Cardona A 2016). Y en relación con su diseño, modelación y evaluación, existe un gran número de investigaciones (Chandel et al. 2012; Dias et al. 2013; Gheewala, Damen, and Shi 2013; Keller, Rettenmaier, and Reinhardt 2015; Maity 2015; Parajuli et al. 2015; Pereira et al. 2014; Rabelo et al. 2011; Renó et al. 2014), por mencionar algunas, mismas que aún se encuentran en etapa de investigación y desarrollo. Debido a la importancia de este tema para

llevar a cabo esta transición se han desarrollado grupos de trabajo en la Agencia Internacional de Energía (IEA) dedicados específicamente a los estudios tecnológicos y de mercado en el tema de las biorefinerías; la Tarea 42 – Biorefinería (IEA 2016). Así como proyectos en el tema se están ejecutando en la Unión Europea (BIOCORE, 2014). Un informe fue elaborado sobre los impactos económicos de las biorefinerías tropicales en la provincia de Queensland, en Australia (O’Hara and Glenn 2017).

Sin embargo, existen instalaciones industriales que ya son una realidad en países como Alemania, Reino Unido y Suecia. En Alemania se tiene el caso de Verbio y Biowert. La primera empresa se dedica a la producción de bioetanol, biodiesel, glicerina, biogás y biofertilizantes, a partir de colza y centeno (Verbio,2017) y la segunda obtiene fibras celulósicas de alta calidad, bionutrientes y biogás a partir de hierba (Biowert, 2017). Otro caso de implementación de biorefinerías son British Sugar y Ensus en Reino Unido, estas empresas elaboran varios bioproductos a partir de la remolacha azucarera y maíz como azúcar, bioetanol, piensos, bioheat, y electricidad (Biowert,2017). La mayoría de estas biorefinerías obtienen su cartera de bioproductos a partir de materias primas de primera generación, las cuales se encuentran enfocadas principalmente a la industria alimenticia.

Existe otro caso de lo expuesto anteriormente Örnköldsvik, Suecia, donde se encuentra actualmente operando una planta piloto que produce etanol a partir de madera. En esta planta se hacen variaciones de la cadena de proceso para encontrar la configuración óptima que asegure eficiencia y bajos costos. Otros modelos de plantas lo son Iogen (planta biotecnológica canadiense) que utiliza residuos agrícolas para generar etanol, una planta que depende de DOE (Departamento de Energía de Estados Unidos) que produce biocombustible a partir de material lignocelulósico, BCI (BC International) planta estadounidense que posee licencia para fermentar otras azúcares de seis carbonos diferentes de glucosa, entre otras (Pitt, Haag, and Lee 1983).

2.1 Biorefinerías a Pequeña Escala

En décadas pasadas, la estrategia del diseño de biorefinerías para lidiar con la demanda de biocombustibles y las problemáticas asociadas al uso de fuentes fósiles había sido el enfocarse en la producción a gran escala, específicamente del bioetanol haciendo que el proceso de producción no fuera económicamente viable.

Sólo unos pocos autores han reconocido el entorno físico como un factor determinante y clave para la sostenibilidad del proceso (van der Hilst et al. 2010). Por lo que una estrategia para solucionar esto es la optimización tecnológica y la reducción de costos mediante el uso de economías de escala. Además de una ubicación estratégica de los sitios para procesar la biomasa y una buena logística del transporte de materia prima y producto final (Johan P. M. Sanders, Annevelink, and van der Hoeven 2009).

Lo anterior ha sido demostrado en estudios a base de remolacha azucarera en donde biorefinerías a pequeña escala han demostrado obtener un procesamiento de la remolacha más rentable y sostenible que el que se tiene actualmente a escalas más grandes (Bruins and Sanders 2012; J. P.M. Sanders et al. 2012).

De esta manera se observa que las biorefinerías a pequeña escala tienen el potencial de aliviar costos relacionados con el transporte y procesamiento, gracias a la reutilización local de materiales como agua, materia orgánica y calor, y a su vez aumentan los ingresos al permitir el uso eficiente y efectivo de los cultivos. Sin embargo, la valorización de todo el cultivo a pequeña escala implica que los procesos de biorefinería deben diseñarse de tal manera que se minimicen los costos de capital.

Para llevar a cabo esto (Bruins and Sanders, 2012) publicaron un conjunto de reglas de diseño para la producción a pequeña escala.

- Determinar el nivel de procesamiento que se requiere para el producto y hacia qué sector va dirigido.
- Hacer productos intermedios estables para minimizar los efectos de estacionalidad con el menor número posible de operaciones unitarias intensivas en capital y de bajo consumo energético.

- Rediseñar el proceso para disminuir los requisitos de inversión de capital, por ejemplo, disminuir las pérdidas de energía y exergía a través de operaciones de intercambio de calor (Lange 2001).
- Integrar el uso y producción de energía mediante el uso de biogás y ciclos combinados de generación de calor y energía.
- Finalmente, dejar en el campo lo que es requerido para la fertilidad del suelo.

Para determinar la escala óptima de operación para un proceso específico, se deben tener en cuenta diferentes efectos opuestos.

Los sistemas a gran escala pueden tener mayores rendimientos y por lo tanto son más baratos por cantidad de producto. Sin embargo, el transporte de materias primas a la planta de procesamiento y el transporte de productos residuales al sitio de disposición u otras industrias puede ser un contribuyente importante a los costos generales, dependiendo de la distancia de transporte. Mientras que los sistemas a pequeña escala pueden tener tecnologías de proceso simples, menos costosas y la posibilidad de aumentar el empleo rural. Por otro lado, mientras que las refinerías de petróleo se benefician de las economías de escala, las biorefinerías obedecen a diferentes reglas y a la pequeña escala.

2.2 Transporte

La motivación más mencionada para el preprocesamiento de biomasa a pequeña escala es la reducción de los costos de transporte. Los costos de transporte pueden ser una parte importante del costo de procesamiento, y se dedica una gran cantidad de esfuerzo a la logística para optimizar la distancia de carga y transporte. Se han realizado estudios donde la mitad del costo variable de procesamiento variable, corresponde al costo del transporte de materia prima (Sánchez and Cardona 2007).

Una biorefinería descentralizada a pequeña escala, puede reducir estos costos, aunque todavía resulta necesario realizar un análisis de logística cuidadoso de la cadena de suministro.

2.3 Materias Primas

Las materias primas que tienen un alto contenido de agua requieren de un pre procesamiento local para eliminar el agua y los minerales que contienen antes de ser transportadas a la biorefinería para su procesamiento. Lo cual genera dos beneficios mantener la fertilidad del suelo, y un transporte de materia prima efectivo, esto genera costos de procesamiento adicional que se realizan a gran escala para densificar los productos antes del transporte. En cuanto a los flujos de residuos agrícolas muy dispersos, como líquidos estiércol o aguas residuales domésticas resulta mejor que no sean transportados ya que se pueden usar para distritos de pequeña escala de calefacción u otros fines, al alimentarlos en instalaciones de biogás. Esto también crea posibilidades para la reutilización de agua, minerales y materia orgánica para riego y fertilización.

Las estrategias de densificación o deshidratación se pueden acoplar a procesos de pretratamiento que se preparan para la conversión downstream. En general, la separación de cultivos en varias fracciones aumenta el valor global de la biomasa.

Las fracciones principales son una fracción de lignocelulosa que puede ser utilizado en plantas de energía, una fracción de proteína que se puede utilizar para fines alimenticios de ganado y una fracción de minerales que pueden reciclarse como fertilizantes (Tekin and Bayramoğlu 1998).

Separación en la fuente de estas tres fracciones reducirán los costos de transporte cuando los pasos de procesamiento posteriores se encuentren en diferentes ubicaciones. Por ahora esto puede ser una declaración idealista, pero ya en el 2000, un proyecto denominado Progras7 produjo tres fracciones. Donde la industria papelera estaba interesada en la fracción de fibra de la hierba, la industria alimenticia en la fracción proteica y el residuo podría ser reciclado al campo (Czarnikow, 2013)

Este proceso obtiene más valor de la biomasa, en comparación con el uso como alimento para el ganado, y utiliza una fuente barata de biomasa que es abundante y disponible.

Como se mencionó, varias fracciones de la biomasa producida pueden permanecer en el centro de acopio o granja para evitar hacer gastos innecesarios. Por algunas fracciones como agua, materia orgánica residual, minerales, y arena, incluso resulta benéfico mantenerlos en

el sitio ya que los minerales se pueden reutilizar en el campo, especialmente el nitrógeno, fosfato y potasio pueden usarse como fertilizantes. De esta manera se evita la creación de flujos de residuos que ocurren en una fábrica centralizada.

Cuando el proceso es acoplado a la producción de energía en el sitio. La energía se puede vender a la red eléctrica, pero también se puede usar en otros procesos al igual que el calor producido, generando así mayores ingresos a la cadena de producción.

2.4 Beneficios del Agricultor

El preprocesamiento local o descentralizado implica integración de parte de la cadena de valor agrícola en el campo, liderando a la redistribución de los ingresos en la cadena. El procesamiento a pequeña escala de la materia prima puede hacerse cerca del lugar de producción por el agricultor, generando incentivos para que los agricultores aumenten su productividad, y se reduzcan los costos de transporte de materia prima.

Lo anterior ha tomado gran interés en los grupos de estudio dedicados al impulso de biorefinerías por lo que se han desarrollado proyectos de investigación contextualizados en diferentes países, para la promoción de las biorefinerías a pequeña escala. Entre ellos podemos mencionar los siguientes:

- Proyecto: **ERA-NET LAC SMIBIO (11/2015 - 10/2018, ELAC2014/BEE-0249)**

El objetivo del proyecto SMIBIO es contribuir al desarrollo de unidades de biorrefinería a pequeña escala, capaces de procesar diferentes tipos de biomasa producida en reducidas zonas rurales y urbanas, tanto en Europa como en los países pertenecientes a CELAC (Comunidad de Estados Latinoamericanos y el Caribe) (ERA-NET LAC SMIBIO,2015)

- Biorrefinería verde a pequeña escala: **GRASSA!**

Instalación de proceso modular, móvil y a pequeña escala (Holanda). Proteínas de alto valor y productos basados en fibra a partir de residuos agrícolas ricos en proteínas (GRASSA).

- Refinería de almidón de yuca a pequeña escala: **DADTCO**.

La AMPU (Unidad de Procesado Móvil Autónoma) procesa tubérculos de yuca (menos de 24 horas después del cosechado) en pasta de yuca que, a su vez, es refinada en una MRU (Unidad de Refino Móvil) para producir pasta de almidón de yuca (DATCO).

- Digestión anaerobia rápida a pequeña escala: **Micro H2AD**.
Una tecnología innovadora a pequeña escala para la eliminación rápida y segura de efluentes orgánicos basada en la digestión anaerobia rápida desarrollada por Lindhurst Innovation Engineering (Micro H2AD).
- Plantas de etanol de maíz a pequeña escala: **MiniDest**.

Las MiniDest son plantas pequeñas, modulares, automáticas y de operación remota, desarrolladas por Porta. Estas mini destilerías se instalan en establecimientos agropecuarios con la finalidad de producir etanol de maíz y alimento animal, generando valor en origen. Permiten integrar la agricultura y la ganadería con un proceso industrial sostenible, promoviendo un modelo de negocio basado en la economía circular (MiniDest).

- Distrito modular Agrobioenergético: **Hephaestus**.

Hephaestus es un concepto para producir energía y biocombustible a partir de cultivos no alimentarios. Es el primer distrito modular AgroBioEnergético (ABE). No se trata sólo de una planta de producción, es un proyecto integrado a nivel local “desde la semilla hasta el barril”(Hephaestus)

- Planta de pirólisis móvil: **Nettenergy**.

El concepto presentado por Nettenergy es la planta de pirólisis móvil autárquica. Dicha planta móvil puede convertir la biomasa en varios productos (biocarbón, vinagre de madera, aceite de pirólisis, gas de madera) mediante la tecnología PyroFlash (Nettenergy).

- Proyecto: **Biorefinery Glas**.

El Proyecto Biorefinery Glas demostrará una biorefinería móvil a pequeña escala en varias granjas en el sudoeste de Irlanda (Biorefinery Glas).

2.5 Microorganismos Modificados Genéticamente

Todo organismo, aún el más simple, contiene una enorme cantidad de información. Esta información se encuentra almacenada en una macromolécula que se halla en todas las células: el ADN, el cual está dividido en gran cantidad de subunidades (la cantidad varía de acuerdo con la especie) llamadas genes. Cada gen contiene la información necesaria para que la célula sintetice una proteína. Así, el genoma va a ser el responsable de las características del individuo.

Los genes controlan todos los aspectos de la vida de cada organismo, incluyendo metabolismo, forma, desarrollo y reproducción. De tal manera, que la carga genética de un determinado organismo no puede ser idéntica a la de otro, aunque se trate de la misma especie. Sin embargo, debe ser, en rasgos generales, similar para que la reproducción se pueda concretar. Y es que una de las propiedades más importantes del ADN, y gracias a la cual fue posible la evolución, es la de dividirse y fusionarse con el ADN de otro individuo de la misma especie para lograr descendencia diversificada. Otra particularidad de esta molécula es su universalidad. No importa lo diferente que sean dos especies: el ADN que contengan será de la misma naturaleza: ácido nucleico.

La ingeniería genética se ha desarrollado durante varias décadas y cada vez tiene más aplicaciones prácticas. Como la obtención de proteínas de interés médico y económico ya sean antibióticos, enzimas, hormonas (insulina, eritropoyetina, entre otros), vacunas, proteínas sanguíneas. También se ha empleado en la mejora genética de vegetales y animales para obtener una mayor producción y mejor calidad nutricional, para la biodegradación de residuos se ha hecho la clonación de genes bacterianos productores de enzimas que degradan sustancias tóxicas o contaminantes, así mismo la modificación de bacterias para la producción de compuestos químicos de valor agregado.

Esta ciencia es una rama de la biotecnología que se basa en la manipulación genética de organismos con un propósito determinado en su mayoría se ha enfocado al desarrollo de fármacos y nuevas terapias enfocadas a enfermedades genéticas, aunque recientemente se han llevado a cabo numerosas investigaciones enfocadas hacia la mitigación del impacto ambiental.

En ella se trata de aislar el gen que produce una sustancia e introducirlo en otro ser vivo que sea más sencillo de manipular. Lo que se consigue es modificar las características hereditarias de un organismo de una forma dirigida por el hombre, alterando su material genético. El proceso puede utilizarse ya en bacterias y en células eucariotas vegetales o animales y levaduras, ya sea por la supresión de cierto fragmento del genoma, su modificación, duplicación e incluso sustitución por un fragmento de otro organismo. Una vez adicionada o modificada la carga cromosómica, el organismo en cuestión sintetiza la proteína deseada y el aumento del rendimiento de la producción puede obtenerse mediante el aumento en la población portadora, dando lugar con ello a los microorganismos genéticamente modificados (OMG). Las bases de la ingeniería genética han consistido en resolver el problema de la localización e inserción de genes y la multiplicación redituable de las factorías logradas.

Las técnicas utilizadas por la ingeniería genética son varias, y cada una atiende un aspecto de la tarea de preparación y solución de los problemas específicos de esta tecnología. Sin embargo, muchas de ellas han tenido éxito en otros campos tecnocientíficos.

2.5.1. Gel Electroforesis

El problema de encontrar, separar y analizar los fragmentos de ADN correspondiente a un gen específico se logró resolver sobre la base de los estudios de Linus Pauling que demostraron que las moléculas migran a distintas velocidades hacia los polos magnéticos: se colocan porciones de ADN sobre un gel de agarosa. y se les permite que migren hacia los polos del campo magnético. La senda seguida por el ADN y las manchas formadas se tornan visibles en una película de rayos X. Esta técnica permite tratar con bajas concentraciones de ADN, de hasta 100 nanogramos y su objetivo es mediante un método bioquímico, basado en reacciones enzimáticas poder analizar de forma rápida la variabilidad genética que se puede encontrar en una población determinada. La práctica de la electroforesis de enzimas en gel aplica la afirmación teórica de que el producto de un gen, será una proteína que tendrá actividad enzimática. El método consiste en obtener las enzimas del material que se desea conocer empaparlas en papel secante, e introducir estos papeles en el gel. Posteriormente habrá que someterlo a la electroforesis para lograr la migración de las proteínas que será diferencial dependiendo de la carga eléctrica de la proteína.

2.5.2. ADN Recombinante

Esta técnica permite aislar un gen de un organismo, para su posterior manipulación e inserción en otro diferente. De esta manera podemos hacer que un organismo animal, vegetal, bacteria, hongo, o un virus, produzcan una proteína que le sea totalmente extraña. Se emplea normalmente para la producción de proteínas en gran escala.

El desarrollo de la tecnología del ADN recombinante fue posible gracias a varias líneas de investigación

- El conocimiento de las enzimas de restricción
- La replicación y reparación de ADN
- La replicación de virus y plásmidos
- La síntesis química de secuencias de nucleótidos

Las etapas de la técnica de ADN recombinante se pueden resumir de la siguiente manera:

- **Determinación del Gen para la Característica De Interés**

Cuando se encuentra una característica en un organismo que resulta interesante para transferir a otro organismo, debe verificarse que es producto de un gen. Para ello se identifica el gen de interés por medio de cruzamientos a partir de una característica que se expresa, y se verifican las proporciones mendelianas. Si la característica se atribuye a una proteína, que es producto directo de un gen, será más sencillo transferir esa característica a un organismo que no la tiene.

- **Clonación del Gen De Interés**

Para llevar a cabo esta tarea se llevan a cabo varias técnicas:

- Extracción de ADN
- Búsqueda de un gen entre la mezcla de genes del ADN
- Secuenciación
- Construcción del vector recombinante

El ADN de interés se inserta en plásmidos-vectores que son moléculas de ADN lineales o circulares en las cuales se puede clonar un fragmento de ADN. Los más usados son los plásmidos de origen bacteriano.

- **Caracterización del Gen de Interés**

A partir de conocer la secuencia del gen se puede, mediante bioinformática, comparar esta secuencia con las de genes ya conocidos para determinar a qué gen se parece, y se le asigna una posible función. Una vez predicha la función del gen clonado por medio de análisis informático, se debe proceder a confirmar la función real in vivo, ósea corroborar que en un sistema biológico funciona acorde a lo que se prevé. Para ello se suele transferir el gen a un organismo modelo, en el cual se pueda expresar el gen y medir su función.

- **Modificar el Gen de Interés**

Si así se desea se puede agregar, deletar o mutar secuencias dentro de la región codificante, y agregar secuencias (promotor, terminador, intrones) para que se pueda expresar en el sistema de interés. El promotor es una región fundamental del gen ya que determina cuándo y dónde se expresará el gen.

- **Transformación de un Organismo con el Gen de Interés**

Una vez hecha la construcción genética con el gen y promotor deseado, se elige el método de transformación más indicado para el organismo que se desea modificar.

- **Caracterización del OMG**

Una vez obtenido el microorganismo modificado genéticamente (OMG), se le analiza desde el punto de vista molecular y biológico. Para ello se debe demostrar, entre otras cosas si tiene una o más copias del transgén y cómo y en qué tejidos se expresa el gen. Para analizar en qué tejido, momento y cantidad se expresa el gen se analiza la presencia del ARN mensajero y de la proteína recombinante codificados por el transgén. Para la caracterización biológica, el OMG se analiza desde el punto de vista del objetivo.

2.5.3. Vectores

Cuando se pretende que las “factorías” biotecnológicas (o una célula) produzcan un material específico, debe dársele la orden específica, esto es proveerle de los genes necesarios. Para ello se debe agregar a su ADN natural un complemento génico (previamente determinado y aislado), lo que es posible por medio de un vector o transportador. Estos vectores permiten obtener múltiples copias de un trozo específico de ADN, lo que proporciona una gran cantidad de material fiable con el que trabajar. El proceso de transformación de una porción de ADN en un vector se denomina clonación

2.5.4. Técnica de la PCR

También existen métodos para amplificar una determinada secuencia o fragmento de ADN. La más conocida es la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa PCR. Así se consigue multiplicar un determinado fragmento de ADN millones de veces para poder tener una cantidad suficiente para estudiarlo. Sin esta técnica serían imposibles los estudios de ADN para el reconocimiento de la paternidad o en caso de delito, pues la cantidad de ADN presente en las células es tan pequeña, del orden de picogramos, que se necesitaría una gran cantidad de material celular para tener una cantidad apreciable de ADN.

2.5.5. Biochips

Los últimos avances en biología molecular, especialmente en genética y genómica, ha llevado a la aparición de numerosas técnicas experimentales. Entre estas herramientas destacan los biochips, que permiten conocer mutaciones genéticas en los pacientes. De este modo, la comunidad científica dispondrá del material adecuado para afrontar el reto que se le plantea tras haberse completado la primera fase del Proyecto Genoma: estudiar la función de los genes, las diferencias genéticas individuales y su incidencia en el desarrollo de las enfermedades. Estos biochips son dispositivos miniaturizados en los que se pueden depositar decenas de miles de sondas de material genético conocido en posiciones predeterminadas, constituyendo una matriz.

Capítulo 3. METODOLOGIA

La metodología que se llevó a cabo en este trabajo se divide en tres etapas: Definición, Simulación y Análisis. La primera de ellas corresponde a un análisis heurístico donde se busca contextualizar los escenarios de estudio, para ello se llevaron a cabo las siguientes actividades:

3.1 Etapa I: Definición

- Definición, y análisis de disponibilidad y accesibilidad de la materia prima.
- Definición de la cartera de productos.
- Definición de los escenarios.
- Definición de las tecnologías de proceso.
- Diseño preliminar del diagrama de flujo.
- Balance de masa preliminar.
- Análisis económico preliminar.
- Selección de escala.

3.2 Etapa II: Simulación

Seguida de la etapa de simulación para lo cual se llevó a cabo la síntesis de los diagramas de flujo de cada uno de los escenarios propuestos en la etapa anterior, así como el análisis económico y ambiental. La síntesis de las biorefinerías se realizó por medio del software de simulación Aspen Plus v8.4 (Aspen Technology, Inc., EE. UU.), con el objetivo de generar los balances de masa y energía, mientras que el software MATLAB R2013b se empleó para realizar el análisis cinético. El modelo termodinámico Non-Random Two Liquid (NRTL) fue empleado para calcular los coeficientes de actividad de la fase líquida, mientras que el modelo Soave Redlich Kwong se aplicó para la descripción de la fase líquida y vapor cuando el modelo NRTL no predecía las propiedades de los compuestos, conforme (Cardona Alzate and Sánchez Toro 2006; Quintero, Moncada, and Cardona 2013). Las propiedades físicas de la mayoría de los compuestos poliméricos, como la hemicelulosa, se obtuvieron de estudios reportados por el Laboratorio Nacional de Energía (NREL) de los Estados Unidos de América (Humbird et al. 2002), mientras los compuestos más comunes se tomaron de la

biblioteca Aspen Plus. Durante el proceso se simularon diferentes escenarios de producción combinada a los cuales llamamos esquema convencional (escenarios de producción donde se emplean rutas químicas y bioquímicas a partir de microorganismos nativos) y no convencional (escenarios de producción donde únicamente se emplean rutas bioquímicas a partir de microorganismos modificados genéticamente) ambos esquemas partiendo de una alimentación de 410 ton/año de materia prima considerando 335 días laborables, dicha escala se determinó a partir de los resultados preliminares del análisis heurístico. Con lo anterior, fue posible estimar el capital total de inversión de la plataforma y con ello realizar el análisis económico. Los modelos cinéticos utilizados para los cálculos de la etapa de hidrólisis fueron tomados de (Jin et al. 2011) para el esquema de biorefinería convencional y (Vargas-Tah et al. 2015) para el esquema de biorefinería no convencional. El modelo cinético para la desintoxicación fue tomado de (Martinez et al. 2002). La etapa de fermentación para la producción de etanol combustible se calculó utilizando el modelo cinético reportado por (Leksawasdi, Joachimsthal, and Rogers 2001), y de los datos experimentales reportados por Daniela Parra. El modelo cinético utilizado para el cálculo de la producción de xilitol se tomó de (Tochampa et al. 2005) y (Cirino, Chin, and Ingram 2006). Para la producción de furfural, las condiciones de reacción se tomaron de (Agirrezabal-Telleria, Gandarias, and Arias 2013). Los datos para la producción de ácido láctico se tomaron de (Utrilla et al. 2016), y para la producción de ácido succínico de los datos reportados por (Sawisit et al. 2015).

3.2.1. Descripción de los Procesos

Los procesos involucrados en diferentes esquemas de biorefinería se describen a continuación. La **Figura 4** muestra el esquema convencional de biorefinería (utiliza microorganismos sin modificaciones genéticas, como *Zymomonas mobilis* y *Candida mogii*). Por otro lado, la **Figura 5**, muestra la biorefinería basada en el esquema no convencional, que utiliza diferentes cepas de *Escherichia coli* que se obtuvieron mediante ingeniería metabólica. Ambas biorefinerías implican la extracción de azúcar de la materia prima (bagazo de agave) para obtener una corriente sólida y líquida que será transformada por medio de la fermentación en compuestos de valor agregado como bioetanol, xilitol, furfural, lactato y succinato, junto con la producción de electricidad a través de un sistema de cogeneración.

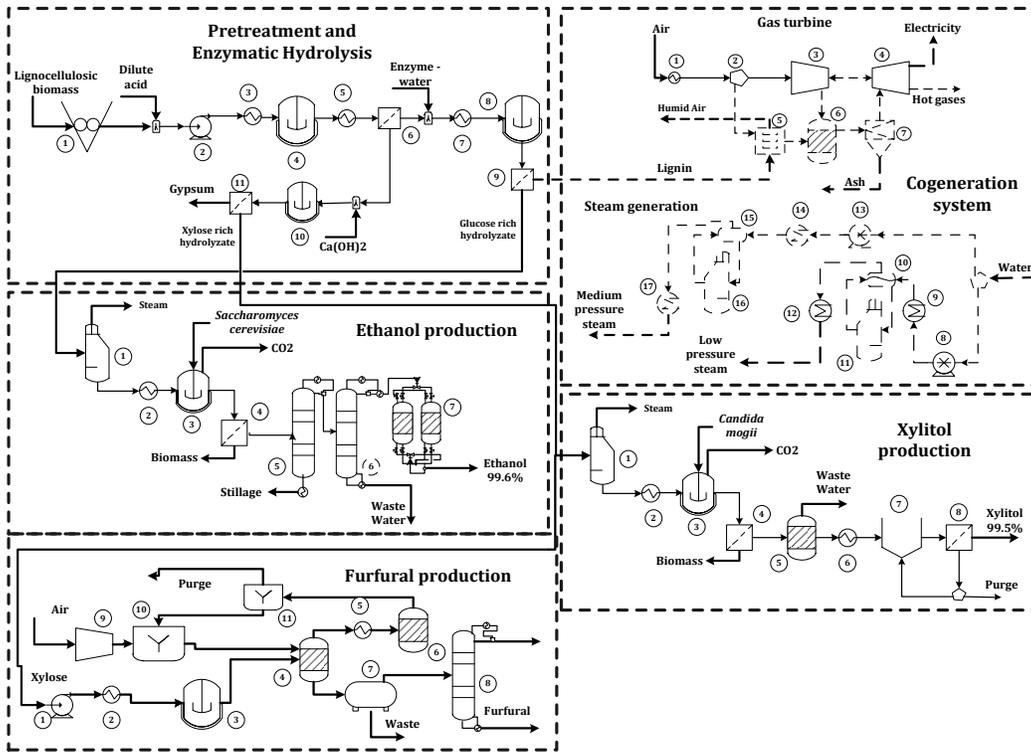


Figura 4 Diagrama de flujo del esquema de biorefinería convencional

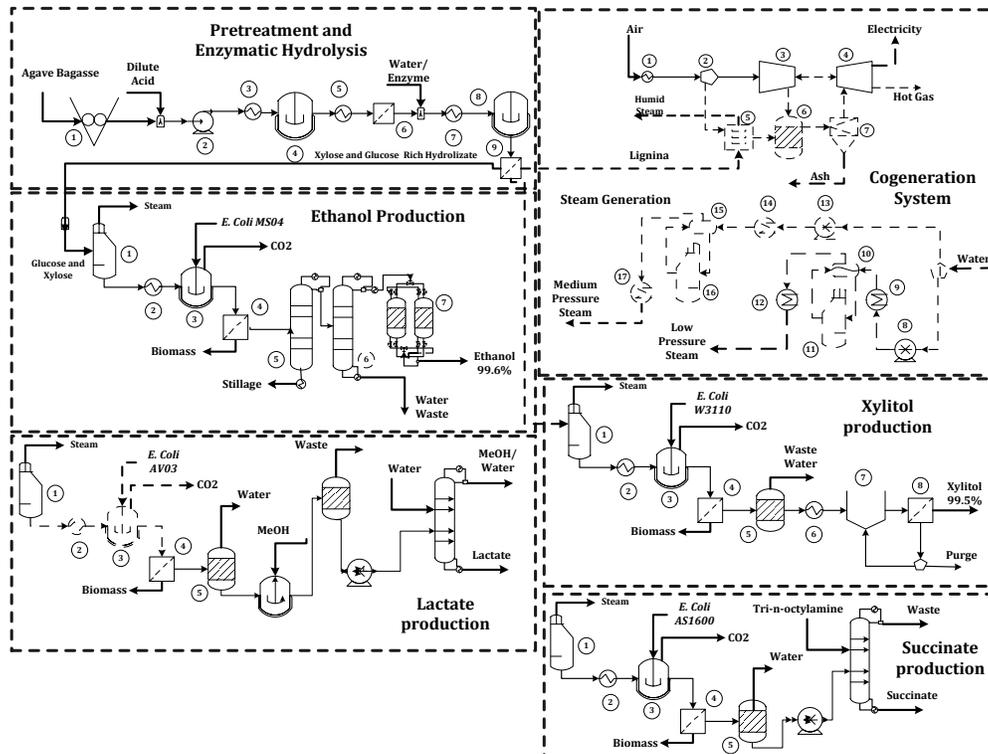


Figura 5 Diagrama de flujo del esquema de biorefinería no convencional

3.2.2. Extracción de Azúcares: Esquema Convencional

El proceso de conversión comienza con un tratamiento previo físico que consiste en la molienda del bagazo de agave para obtener un tamaño de partícula de 6 mm. Después de eso, la corriente se dirige a un pretratamiento termoquímico donde la fracción de hemicelulosa se hidroliza utilizando (2% p/p, H₂SO₄) basado en las expresiones cinéticas de (Jin et al. 2011) a 121 °C. La **Tabla 1** muestra el modelo cinético y los parámetros utilizados. A partir de este paso, se obtienen dos corrientes y se separan por filtración. La fracción sólida se envía a una hidrólisis enzimática a 35°C para convertir la celulosa en glucosa de acuerdo con el modelo cinético y los parámetros reportados por (Morales-Rodriguez et al. 2011).

Tabla I Modelo cinético y parámetros utilizados en la hidrólisis ácida de CCS

Modelo Cinético	Parámetros
Xilano a Xilosa [X] $[X] = \frac{k_1[X_{np}]}{k_2 - k_1}(e^{-k_1t} - e^{-k_2t}) + [X_o]e^{-k_2t}$	$[X_{np}] = 20.75 \text{ g xilosa/l}$
Celulosa a Glucosa [G] $[G] = [G_p](1 - e^{-k_3t})$	$k_1 = 0.03522 \text{ min}^{-1}$ $k_2 = 0.00381 \text{ min}^{-1}$
Formación de furfural [F] $[F] = [F_p](1 - e^{-k_4t})$	$[G_p] = 8.02 \text{ g/l}$ $k_3 = 0.01134 \text{ min}^{-1}$
Formación de Ácido Acético [A] $[A] = [A_p](1 - e^{-k_5t})$	$[F_p] = 1.81 \text{ g/l}$ $k_4 = 0.0045 \text{ min}^{-1}$
$[X_{np}] =$ Concentración potencial de xilano	$[A_p] = 4.55 \text{ g/l}$
$[G_p], [F_p]$ and $[A_p]$ = Concentración potencial de Glucosa, Furfural y Ácido Acético.	$k_5 = 0.04188 \text{ min}^{-1}$

Tabla II Modelo cinético y parámetros utilizados en la sacarificación enzimática

Modelo Cinético	Parámetros
Celulosa a Celobiosa	
$r_1 = \frac{k_{1,r} C_{E_{1B}} R_s C_s}{1 + \frac{C_{G_2}}{K_{1G2}} + \frac{C_G}{K_{1IG}} + \frac{C_{Xy}}{K_{1IXy}}}$	$k_{1r} = 22.3 \text{ g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
	$k_{2r} = 7.18 \text{ g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
	$k_{3r} = 285.5 \text{ g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
Celulosa a Glucosa	
$r_2 = \frac{k_{2,r}(C_{E_{1B}} + C_{E_{2B}})R_s C_s}{1 + \frac{C_{G_2}}{K_{2IG2}} + \frac{C_G}{K_{2IG}} + \frac{C_{Xy}}{K_{2IXy}}}$	$E_{a_1} = E_{a_2} = E_{a_3} = -$
	$23190 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}$
	$K_{1G2} = 0.015 \text{ g/l}$
	$K_{1IG} = 0.1 \text{ g/l}$
	$K_{1IXy} = 0.1 \text{ g/l}$
	$K_{2IG2} = 132.0 \text{ g/l}$
	$K_{2IG} = 0.04 \text{ g/l}$
	$K_{2IXy} = 0.2 \text{ g/l}$
	$K_{3IXy} = 201 \text{ g/l}$
	$K_{3M} = 24.3 \text{ g/l}$
	$E_{1max} = 0.06 \text{ g/g}$
	$E_{2max} = 0.01 \text{ g/g}$
	$E_{a,1} = 111600 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}$
	$K_{1ad} = 0.4 \text{ g/g}$
	$K_{2ad} = 0.1 \text{ g/g}$
Celobiosa a Glucosa	
$r_3 = \frac{k_{3,r} C_{E_{2F}} C_{G_2}}{K_{3M} \left(1 + \frac{C_G}{K_{3IG}} + \frac{C_{Xy}}{K_{3IXy}} \right) + C_{G_2}}$	
Adsorción enzimática	
$C_{E_{iB}} = \frac{E_{i_{max}} K_{i_{ad}} C_{E_{iF}} C_s}{1 + K_{i_{ad}} C_{E_{iF}}}$	
Enzima	
$C_{E_{iT}} = C_{E_{iF}} + C_{E_{iB}}$	
Reactividad del Sustrato	
$R_s = \frac{C_s}{S_0}$	
Dependencia de la Temperatura	
$k_{ir} = k_{ir(T_1)} \exp\left(-\frac{E_{ai}}{RT}\right)$	
C_{G_2} [Celobiosa], C_G [Glucosa], C_{Xy} [Xilosa], C_s [Celulosa]	

La **Tabla II** resume el modelo cinético y los parámetros utilizados en la simulación para la sacarificación enzimática. La corriente líquida que contiene el licor hemicelulósico se envía a una etapa de desintoxicación utilizando cal para eliminar compuestos tóxicos como el furfural y el hidroximetilfurfural (HMF) de acuerdo con (Mussatto and Roberto 2004). Se producen dos corrientes de licor, uno de ellos rico en glucosa que se usa totalmente para

producir etanol, y el otro rico en xilosa que se divide en dos fracciones iguales para producir xilitol y furfural. Finalmente, la corriente sólida rica en lignina con celulosa y la hemicelulosa restante se llevan a un sistema de cogeneración, donde se utiliza para producir calor y electricidad que abastecen el proceso en general.

3.2.3. Extracción de Azúcares: Esquema no convencional

La extracción de azúcares para este esquema de biorefinería es similar al esquema convencional, pero el pretratamiento termoquímico con ácido diluido se realiza en diferentes condiciones: 1% p/p de H₂SO₄ a 130°C y 1 atm de presión manométrica según los datos reportados por (Vargas-Tah et al. 2015).

Usando estas condiciones, la degradación de la xilosa a furanos es mínima, por lo que la formación de furfural es despreciable, y la cantidad de hidroximetilfurfural (HMF) es muy baja, la concentración total formada de furano permanece por debajo de 0,1 g/l. Anteriormente (Zaldivar, Martinez, and Ingram 1999) reportó que las cepas fermentativas de *Escherichia coli* no se inhiben cuando la concentración total de furano está por debajo de 1 g / l, de tal manera que la etapa de desintoxicación no es necesaria con lo que se reducen los costos de capital invertidos en equipos y ahorra el consumo de agua.

La **Tabla III** muestra los datos experimentales utilizados para la hidrólisis ácida. Finalmente, las corrientes de xilosa y glucosa se mantienen en una sola corriente que se lleva a cabo en la etapa de esterilización para dar lugar a la etapa de fermentación. La fracción de la corriente sólida junto con el jarabe rico en xilosa se envía a la etapa de hidrólisis enzimática a 50 °C y pH 4.8 para convertir la celulosa en glucosa, la **Tabla IV** muestra los datos experimentales reportados por (Vargas-Tah et al. 2015).

Tabla III Datos experimentales utilizados en la hidrólisis de ácido diluido

Condiciones	
[H ₂ SO ₄]	1 % (w/w)
Temperatura	130 °C
Tiempo	8 min
pH	1
Componente	Concentración Promedio (g/L)
Glucose	2.15
Xylose	9.6
Total Sugars	11.75
Furfural	0
HMF	0.06

Tabla IV Modelo cinético y parámetros utilizados en la sacarificación enzimática

Condiciones	
15 FPU/ g de glucano	
Temperatura	50 °C
pH	4.8
Agitación	150 rpm
Componente	Concentración a 24 h de la sacarificación (g/L)
Glucosa	41.58
Xilosa	31.49

3.2.4. Producción de Etanol

La corriente de glucosa se envía a un proceso de esterilización a 121 °C. Luego, esta corriente se envía a una etapa de fermentación para el esquema de biorefinería convencional. La fermentación se produce utilizando *Z. mobilis* en función de la cinética reportada por (Leksawasdi, Joachimsthal, and Rogers 2001) a 30°C.

La **Tabla V** muestra los parámetros cinéticos. Para la biorefinería no convencional, la fermentación se realiza de acuerdo con las cinéticas reportadas por Daniela Parra 2017 como se muestra en la **Tabla VI**, utilizando solo el 25% de la corriente de licor rica en xilosa y glucosa (el 75% restante del licor se usa para obtener otros productos de fermentación como se describe a continuación).

La purificación del etanol para ambas biorefinerías se lleva a cabo utilizando un tren de separación. Primero, la biomasa celular se separa del caldo de cultivo, luego el etanol se concentra en una columna de concentración donde, se alcanza el 54% de pureza en peso, este destilado pasa a una columna de rectificación donde se alcanza la concentración azeotrópica y finalmente se lleva a tamices moleculares, para eliminar el agua y alcanzar una pureza del 99,6% (Pitt, Haag, and Lee 1983).

Tabla V Modelo cinético y parámetros empleados en la fermentación para producir etanol en el esquema convencional

Modelo Cinético	Parámetros
	$\alpha = 0.65$
Consumo de Glucosa	$u_{max1} = 0.31$ $u_{max2} = 0.1$
$Rs_1 = \alpha q s_{max1} \left(\frac{Cs_1}{Ks s_1 + Cs_1} \right) \left(1 - \frac{Cp - Pis_1}{Pms_1 - Pis_1} \right) \left(\frac{Kis_1}{kis_1 + Cs_1} \right) C_x$	$Ks x_1 = 1.45$ $Ks x_2 = 4.91$
Consumo de Xilosa	$Pm x_1 = 57.2$ $Pm x_2 = 56.3$
$Rs_2 = (1 - \alpha) q s_{max2} \left(\frac{Cs_2}{Ks s_2 + Cs_2} \right) \left(1 - \frac{Cp - Pis_2}{Pms_2 - Pis_2} \right) \left(\frac{Kis_2}{kis_2 + Cs_2} \right) C_x$	$kix_1 = 200$ $kix_2 = 600$ $Pix_1 = 28.9$ $Pix_2 = 26.6$
Producción de Etanol	$q s_{max1} = 10.9$ $q s_{max2} = 3.27$
$Rp = \left[\alpha q p_{max1} \left(\frac{Cs_1}{Ksp_1 + Cs_1} \right) \left(1 - \frac{Cp - Pip_1}{Pmp_1 - Pip_1} \right) \left(\frac{Kip_1}{kip_1 + Cs_1} \right) + (1 - \alpha) q p_{max2} \left(\frac{Cs_2}{Ksp_2 + Cs_2} \right) \left(1 - \frac{Cp - Pip_2}{Pmp_2 - Pip_2} \right) \left(\frac{Kip_2}{kip_2 + Cs_2} \right) \right] C_x$	$Ks s_1 = 6.32$ $Ks s_2 = 0.03$ $Pm s_1 = 75.4$ $Pm s_2 = 81.2$ $Kis_1 = 186$ $Kis_2 = 600$ $Pis_1 = 42.6$ $Pis_2 = 53.1$
Crecimiento de Biomasa	$q p_{max1} = 5.12$ $q p_{max2} = 1.59$
$Rx = \left[\alpha u_{max1} \left(\frac{Cs_1}{Ks x_1 + Cs_1} \right) \left(1 - \frac{Cp - Pix_1}{Pm x_1 - Pix_1} \right) \left(\frac{Kix_1}{kix_1 + Cs_1} \right) + (1 - \alpha) u_{max2} \left(\frac{Cs_2}{Ks x_2 + Cs_2} \right) \left(1 - \frac{Cp - Pix_2}{Pm x_2 - Pix_2} \right) \left(\frac{Kix_2}{kix_2 + Cs_2} \right) \right] C_x$	$Ksp_1 = 6.32$ $Ksp_2 = 0.03$ $Pmp_1 = 75.4$ $Pmp_2 = 81.2$ $Kip_1 = 186$ $Kip_2 = 600$ $Pip_1 = 42.6$ $Pip_2 = 53.1$

Tabla VI Datos experimentales utilizados en la fermentación para producir etanol bajo el esquema no convencional

Condiciones		
	Temperatura	37°C
	Tiempo	36 h
	Agitación	150 rpm
Componente	Concentración Inicial Promedio (g/L)	Concentración Final Promedio (g/L)
Células	0.24	2.35
Glucosa	32.45	0
Xilosa	24.5	0.89
Etanol	0	32.5

3.2.5. Producción de Xilitol

El licor rico en xilosa se divide y el 50% de la corriente en el esquema convencional, va al proceso de esterilización a 121 °C y luego a la etapa de fermentación, de acuerdo con la cinética reportada por (Tochampa et al. 2005).

Los azúcares son bio-transformados por *Candida mogii* a 30°C en condiciones aeróbicas con una concentración de oxígeno del 20% según el modelo cinético que se muestra en la **Tabla VII**. Para el esquema no convencional, el 25% del licor es rico en xilosa y glucosa se envía a la etapa de fermentación para producir xilitol a 30 °C de acuerdo con los datos reportados por (Cirino, Chin, and Ingram 2006) y los datos experimentales mostrados en la **Tabla VIII**. El 75% restante se usa para obtener otros productos de fermentación.

Tabla VII Modelo cinético para la producción de xilitol en el esquema convencional

Modelo Cinético	Parámetros
Tasa de Crecimiento de la Biomasa	
$\frac{dC_x}{dt} = \mu \cdot C_x$	
Tasa Específica de Crecimiento (Un sustrato)	
$\mu = \mu_{xit}^{max} \frac{C_{xit}^{in}}{K_{s,xit} + C_{xit}^{in}}$	
Tasa de absorción de Xilosa	
$\frac{dC_{xyl}}{dt} = -q_{xyl} \cdot C_{xyl}$	
Tasa de absorción específica de Xilosa	
$q_{xyl} = q_{xyl}^{max} \frac{C_{xyl}}{K_{s,xyl} \left(1 + \frac{C_{glc}}{K_{i,glc}}\right) + C_{xyl}}$	
Formación de Xilitol	
$\frac{dC_{xit}}{dt} = r_{xit} \cdot C_x$	$\mu_{xit}^{max} = 0.189 \text{ h}^{-1}$
Tasa específica de formación de Xilitol	$q_{xyl}^{max} = 0.342 \text{ g xylose g DCW}^{-1} \text{ h}^{-1}$
$r_{xit} = \frac{MW_{xit}}{MW_{xyl}} \cdot q_{xyl}$	$K_{s,xyl} = 11.761 \text{ g/l}$
C_x = Concentración de Biomasa	$K_{s,xit} = 16.068 \text{ g/l}$
μ_{xit}^{max} = Máxima tasa de crecimiento específico en xilosa	$K_{i,glc} = 0.100 \text{ g glucose/l}$
$K_{s,xit}$ = Constante de saturación de Monod	
C_{xit}^{in} = Concentración de xilitol dentro de la célula	
C_{xyl} = Concentración de Xilosa	
q_{xyl}^{max} = Máxima tasa de absorción específica de xilosa	
$K_{s,xyl}$ = Constante de saturación	
$K_{i,glc}$ = Constante para la inhibición de la absorción de xilosa por glucosa	
C_{xyl} = Concentración de Xilosa	
C_{glc} = Concentración de Glucosa	
$\frac{MW_{xit}}{MW_{xyl}}$ = Relación de peso molecular entre el Xilitol y la Xilosa	

Tabla VIII Datos experimentales empleados para la producción de xilitol en el esquema no convencional

Condiciones			
Temperatura	30 °C	pH	7
Tiempo	48 h	Agitación	450 rpm
Componente	Concentración Inicial Promedio (g/L)		Concentración Final Promedio (g/L)
Cell	0.035		3.5
Glucose	27		0
Xylose	60.8		0
Xylitol	0		38

Después de la fermentación, para ambos esquemas, la corriente resultante se filtra para separar la biomasa y la temperatura se aumenta a 40 °C utilizando una operación de evaporación instantánea para concentrar el xilitol obtenido. El siguiente paso es aislar el metabolito del caldo de fermentación, por lo que se evapora para facilitar la cristalización, se agrega etanol de la corriente de salida obtenida, para llevar a cabo la cristalización a 5 °C (Parajó, Domínguez, and Domínguez 1998).

3.2.6. Producción de Furfural

Para la biorefinería convencional, el 50% de la corriente rica en xilosa se separa para producir furfural mediante la ciclodeshidratación de la xilosa, para lo cual el licor se envía a un reactor a 180 °C y 10 bares. Después de eso, el aire se alimenta como un agente de separación en una proporción de 30:1, para eliminar el furfural a medida que se genera (Agirrezabal-Telleria, Gandarias, and Arias 2013).

Para recuperar la fracción líquida, la corriente se despresuriza. La siguiente etapa corresponde a la purificación del furfural para el cual se utiliza un proceso de extracción líquido-líquido que utiliza tolueno como disolvente en una relación 1:1 (v/v) para recuperar el furfural del agua. Finalmente, la corriente que contiene el tolueno y el furfural se envía a un proceso de destilación en el que el furfural se obtiene como parte superior del producto y el tolueno se recircula en el proceso.

3.2.7. Producción de Lactato

El lactato solo se produce en el esquema no convencional, donde el 25% del licor rico en xilosa y glucosa se envía a la etapa de fermentación para producir lactato, el 75% restante se utiliza para obtener otros productos de fermentación. La corriente de azúcares se envía a la etapa de fermentación donde la producción de lactato se lleva a cabo de acuerdo con los datos experimentales mostrados en la **Tabla IX** y reportados por (Utrilla et al. 2016).

El método de purificación utilizado para el lactato es la esterificación y la destilación reactiva. El primer paso es concentrar la solución de ácido láctico que proviene del fermentador del 10% al 70%, luego esta corriente se alimenta a un reactor junto con metanol, en condiciones de ebullición. La reacción de esterificación se produce entre el ácido láctico y el metanol para formar lactato de metilo y agua. El alto punto de ebullición de las impurezas presentes en el caldo de fermentación permite que se separen a través de una purga en la corriente inferior del reactor, donde esta corriente se puede recuperar para mejorar la economía del proceso. Mientras tanto, la corriente de vapor que contiene metil-lactato, agua y metanol se alimenta a la columna de destilación reactiva, de modo que el metil-lactato reacciona con el agua para dar lugar al lactato que se obtiene como un producto líquido, mientras que el metanol y el agua son obtenidos como productos volátiles (Kumar et al. 2006).

Tabla IX Datos experimentales utilizados para la fermentación de lactato

Condiciones		
	Temperatura	30°C
	Tiempo	48 h
Componente	Concentración Inicial Promedio (g/L)	Concentración Final Promedio(g/L)
Células	0.242	3.12
Glucosa	41.60	1.36
Xilosa	30.90	6.20
Arabinosa	4.05	2.05
Ácido Acético	4.09	4.23
Lactato	0	63.38

3.2.8. Producción de Succinato

El succinato solo se produce en el esquema no convencional, donde solo el 25% del licor rico en xilosa y glucosa se envía a la etapa de fermentación para producir succinato, el 75% restante se utiliza para obtener otros productos de fermentación. La corriente de azúcares se envía a la etapa de fermentación donde la producción de succinato se lleva a cabo de acuerdo con los datos experimentales reportados por (Sawisit et al. 2015) **Tabla X**.

La purificación de succinato se lleva a cabo mediante extracción reactiva utilizando tri-n-octilamina, ya que el uso de aminas terciarias hidrófobas se ha considerado como un método de purificación eficaz y económico y el proceso se realiza a temperatura y presión normales (Cheng et al. 2012).

Tabla X Datos experimentales para la fermentación de succinato

Condiciones		
	Temperatura	30 °C
	Tiempo	48 h
Componente	Concentración Inicial Promedio (g/L)	Concentración Final Promedio (g/L)
Células	0.037	1.9
Glucosa	50	2
Xilosa	50	4
A. Acetico	0	4
A. Succinico	0	85

3.2.9. Sistema de Cogeneración

La tecnología utilizada para la cogeneración es el ciclo combinado de gasificación integrada de biomasa (BIGCC), para producir gas de síntesis, utilizando aire como agente gasificante. En términos generales, el proceso consiste en una turbina de gas que extrae energía de una combustión de flujo de gas.

3.3 Etapa III Análisis

3.3.1 Análisis Económico

Para determinar qué tipo de biorefinería es la ideal para procesar la biomasa disponible, se debe realizar la evaluación económica y de sostenibilidad de los diferentes escenarios. Para ello, es necesario comenzar por el balance de masa y energía del proceso, que debe ser lo más riguroso posible, en este estudio el análisis económico se llevó a cabo con la finalidad de conocer el o los procesos más rentables a la escala seleccionada.

Dicho análisis se estimó en dólares estadounidenses para un periodo de 10 años bajo las siguientes condiciones **Tabla XI**, una tasa de interés anual del 14%, empleando el método de depreciación de línea recta, el impuesto sobre la renta (ISR) empleado fue del 35%, el tiempo de construcción asignado fue de 3 años, la producción en el arranque se tomó tal como lo expone Perry-Green, finalmente el capital de trabajo se determinó considerando un 5% del capital fijo de inversión. Los precios y datos económicos fueron calculados a una tasa de cambio de 18.6 pesos mexicanos por dólar. Con los datos obtenidos del análisis, se generaron los flujos de caja correspondientes y se realizó el análisis de rentabilidad del proceso.

Tabla XI Parámetros empleados para el análisis de flujo de caja descontado

Vida de la planta	10 Años
Depreciación	Línea Recta
Tasa de Interes Anual	14%
ISR	35%
Financiamiento	Sin Financiamiento
Periodo de construcción	3 Años
Primeros 12 meses, gastos	8%
Siguientes 12 meses, gastos	60%
Últimos 12 meses, gastos	32%
Capital de Trabajo	5% del capital fijo de inversión
Tasa de Cambio	18.6 MXN/USD

Y en la **Tabla XII** se muestran los costos y precios de las materias primas, servicios e insumos para los procesos. Es importante hacer mención que actualmente el bagazo de agave no tiene costo. Sin embargo, para fines de análisis se estableció un valor arbitrario tomado de un productor de agave.

Tabla XII Precios/Costos de materia prima, servicios, insumos y productos empleados en el análisis económico

Compuesto	Unidad	Precio
Bagazo Agave ^a	US\$/ton	9.00
Ácido sulfúrico ^b	US\$/ton	94.00
Etanol ^c	US\$/ton	950.00
Hidróxido de calcio ^b	US\$/ton	85.00
Xilitol ^c	US\$/ton	4000.00
Furfural ^f	US\$/ton	900.00
Lactato ^c	US\$/ton	1450.00
Succinato ^c	US\$/ton	2060.00
Enzimas	US\$/ton EtOH	176.10
Agua ^d	US\$/m ³	1.45
Electricidad ^d	US\$/kWh	0.062
MP Vapor ^e	US\$/ton	8.18
BP Vapor ^e	US\$/ton	1.57
Operador ^d	US\$/h	1.38
Supervisor ^d	US\$/h	0.55

^a Tomado de Agriscape

^b Tomado de ICIS pricing (ICIS Chemical Pricing, Price reports for chemicals 2010).

^c Tomado de Alibaba International Prices (“ALIBABA 2014 International Prices”).

^d Precios típicos en México.

^e Tomado de (Botero 2012)

^f Costo estimado de gas en un period de 2015 – 2035 (NME, N.m.y.E. LyD considers risky the propose of an energetic development based on shale gas 2013).

3.3.2 Análisis Ambiental

Siendo la sostenibilidad una característica propia de una biorefinería, es necesario disponer de una herramienta que permita evaluar los impactos que provoca el proceso de conversión de la biomasa. Para este estudio se empleó la metodología de la herramienta GREENSCOPE de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). Dicha metodología, está definida para evaluar la sostenibilidad a partir de cuatro áreas principales: Medio Ambiente (66), Economía (33), Eficiencia (26) y Energía (14).

Esta herramienta fue aplicada para realizar la comparación de los escenarios que fabrican el mismo producto a partir del esquema convencional y no-convencional, ya que éstos emplean diferentes cinéticas de reacción y condiciones de operación en el pretratamiento, así como etapas de procesamiento. De esta manera la evaluación de sostenibilidad permite describir qué tan bien el escenario analizado utiliza los insumos de masa y energía para fabricar un producto valioso, pero a su vez satisface las necesidades sociales y ambientales, al tiempo que maximiza sus beneficios económicos.

Capítulo 4. RESULTADOS

4.1 Determinar las ventajas del bagazo de agave *Tequilana* frente a otros residuos agroindustriales en el país.

Un factor clave en la realización de una biorefinería a pequeña escala exitosa, es el desarrollo de sistemas de transformación descentralizados, altamente eficientes y rentables de materias primas biológicas domésticas para el desarrollo de productos de base biológica, y la integración exitosa en las infraestructuras existentes. Es por ello que las biorefinerías se desarrollarán a partir de residuos agroindustriales (bagazo de agave).

Los principales residuos generados en México para la producción de energía y productos químicos son el rastrojo de maíz y el bagazo de caña **Tabla XIII**. A pesar de que la producción de bagazo de agave es mucho menor con respecto a los otros residuos, éste posee una gran ventaja pues tiende a concentrarse en una zona geográfica relativamente pequeña, lo que facilita su accesibilidad y disminuye el coste de transporte, además de que no se utiliza ampliamente para la alimentación animal, así dichos residuos podrían ser un importante suministro local de recursos bioenergéticos. Con lo cual se estaría cerrando el ciclo de producción del Tequila.

Tabla XIII Principales residuos agroindustriales en México

Residuos	%	Usos Actuales	Competitividad	Disponibilidad Millones de Ton/Año
Rastrojo de Maíz	30	Alimento de ganado		21.2
Bagazo de Caña	60	10% Energía, 50% Fertilizante		10
Rastrojo de Sorgo	50	25% Fertilizante, 25% Alimento de ganado		7.2
Rastrojo de Trigo	50	25% Fertilizante, 25% Alimento de ganado		4.41
Bagazo de Agave	30	10% Alimento ganado, 15% Combustible, 5% Construcción		1.15

4.2 Definir la zona bajo estudio tomando en cuenta factores socioeconómicos.

La producción de tequila en el país se concentra en el estado de Jalisco con el 90% de la producción nacional. De acuerdo con el Consejo Regulador del Tequila (CRT) se produjeron 228.5 Millones de litros de tequila en el año 2016, equivalentes a 1.15 Millones de toneladas de bagazo de las cuales solo una pequeña porción se utilizó para la preparación de abono. De tal manera, que la localización geográfica del área bajo estudio comprende un radio de 50 km de la denominada ruta del tequila en el estado de Jalisco **Figura 6**. Que conforme a los datos reportados por el CRT en el año 2016 produjo 1.04 Millones de toneladas de bagazo.

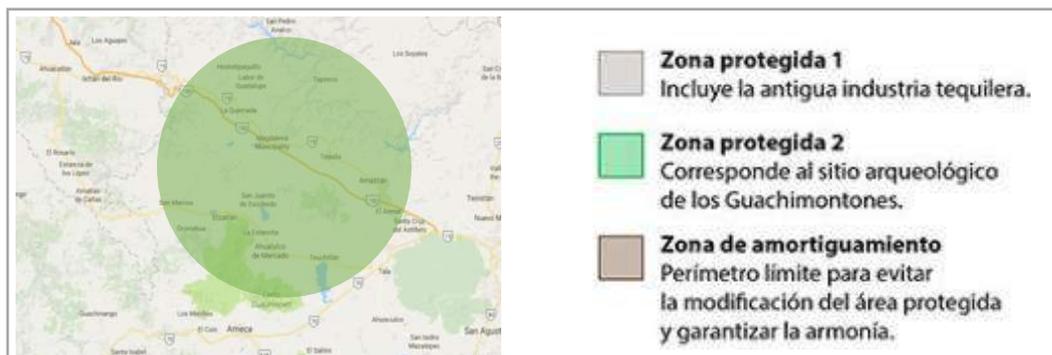


Figura 6 Zona Bajo Estudio Ruta del Tequila Jalisco

La ruta del Tequila cuenta con un total de 150 fábricas tequileras **Tabla XIV**. En el 2015 entre las micro, pequeñas y medianas empresas produjeron el 20% de la producción anual que fue de 47.6 Millones de litros de Tequila.

Tabla XIV Fábricas de tequila en Jalisco

Nº	Tipo de Empresa
110	Micro
12	Pequeñas
14	Medianas
14	Grandes
Total	150

4.3 Identificar los productos derivados de la biorefinería, analizando sus características y atractivo comercial.

La cartera de producción seleccionada para la biorefinería se determinó con base a criterios establecidos dentro del proyecto SMIBIO. Donde se buscó que fueran productos sustitutivos a los productos petroquímicos, y que un bajo volumen de producción generara ganancias elevadas. Es decir, productos que fueran la principal utilidad del proceso para que fueran intermediarios en la producción de otros compuestos químicos como el bioetanol.

A continuación, se muestra la cartera de producción de los módulos de biorrefinería:

- **Etanol**

El etanol (C_2H_5OH) también denominado alcohol etílico, es producido vía química mediante la hidratación del etileno o por vía bioquímica a partir de la fermentación alcohólica de hidratos de carbono. Es ampliamente utilizado en las industrias alimenticia, farmacéutica, cosmética y de combustibles. Siendo ésta última la que ha desarrollado mayor auge durante los últimos años, con el fin de mitigar los impactos ambientales negativos causados por el uso de combustibles fósiles convencionales. Como consecuencia el bioetanol se ha convertido en el biocombustible más utilizado con una producción mundial estimada de más de 100 mil millones de litros en el 2011 y con un aumento de producción esperado de alrededor del 3-7% en los años 2012-2015 (Ferreira Capellaro et al. 2012). Así dentro de esta industria los usos particulares corresponden a su uso en la fabricación del ETBE (aditivo aumentador de octanos), como combustible en mezcla (etanol-gasolina o etanol, Diesel) y como combustible directo para motores especializados que funcionan a base de bioetanol.

El desarrollo del mercado del bioetanol ha ido acompañado de un creciente interés en su uso como materia prima renovable, para la fabricación de productos químicos de base biológica (Rass-Hansen et al. 2007; Weusthuis, Aarts, and Sanders 2011). Por otra parte, fue identificado recientemente como una de las posibles materias primas biológicas superiores para la industria química (Bozell and Petersen 2010). Avances tecnológicos significativos también se han logrado en la conversión catalítica de bioetanol, por ejemplo, deshidratación,

deshidrogenación, oxidación, reformado, gasificación, descomposición, acoplamiento, entre otras, haciendo de este compuesto un “building block”, algunos de los productos químicos que han sido sintetizados con éxito a partir del bioetanol se muestran en la **Figura 7**. Esta perspectiva de producción en crecimiento y avances tecnológicos para su conversión a productos químicos a granel en conjunto con la promesa de nuevas tecnologías para celulosa barata, podrían funcionar como pilares sólidos para crear una biorefinería competitiva en sistemas basados en bioetanol como componente químico.

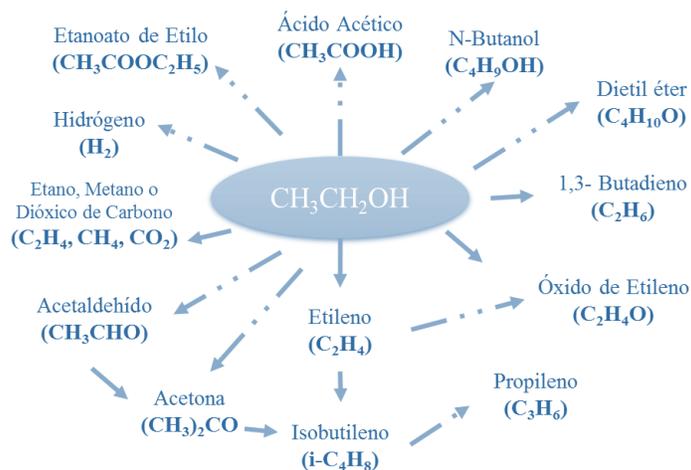


Figura 7 Derivados del bioetanol por catálisis

- **Xilitol**

El xilitol es un alcohol pentahidroxilado de la xilosa, producido a partir de hidrogenación catalítica o por la biosíntesis de la xilosa obtenida por la hidrólisis de los materiales lignocelulósicos (Martínez et al. 2002; Parajó, Domínguez, and Domínguez 1998). Posee gran interés comercial debido a sus propiedades fisicoquímicas que facilitan su uso en las siguientes industrias. La industria dental, ya que al no ser utilizado por los microorganismos de la flora bucal *Sterptococcus mutans* y *Lacyobacillus acidophilus*, (Mäkinen et al. 2001; Söderling et al. 2011), se evita la formación de ácidos que atacan el esmalte dental e induce a la desmineralización de éste en los dientes. Por el aumento de la concentración de los iones calcio y fosfato; revirtiendo de esta manera lesiones recién formadas.

En la industria farmacéutica debido a que, al contrario de los azúcares convencionales, su metabolismo es independiente de la insulina, lo que permite su consumo por personas diabéticas (Mäkinen 2000; Mäkinen et al. 2001). Se ha reportado que puede ser empleado como agente en la prevención de otitis media aguda, osteoporosis e infecciones pulmonares; todo esto debido a la inhibición de enzimas fundamentales para el crecimiento y metabolismo bacteriano, desórdenes en el metabolismo de lípidos, lesiones renales y parenterales (Camaño et al. 2011).

En la industria cosmética, como conservador de los productos de belleza, humectante, hidratante y estabilizador microbiológico de la piel, pues mantiene en equilibrio la presencia o ausencia de microorganismos, toxinas y metabolitos en la piel. Mientras que, en la industria alimenticia se emplea como edulcorante para la producción de gomas de mascar, pastillas y dulces así como en la elaboración de pan debido a su bajo poder calórico y calor negativo de disolución (Parajó, Domínguez, and Domínguez 1998; Rodríguez-Chong et al. 2004). Que corresponde a 2.4 Kcal/g para el xilitol y 4.0 Kcal/g para la sacaros (Martinez et al. 2002).

Aunque el xilitol tiene más de 20 años en el mercado, su reciente éxito se debe a sus propiedades anticariogénicas, ha sido admitido en 28 países alrededor del mundo y a pesar de su fácil producción, sólo existen seis empresas que se dedican a su elaboración, distribuidas en Finlandia, Suiza, Japón y China. Siendo los principales países consumidores Estados Unidos, Canadá, Alemania, Francia y Japón. Por lo cual producir xilitol en México abriría la posibilidad de reducir las importaciones de esta azúcar y tendría un mercado potencial por su cercanía con los principales países consumidores.

- **Furfural**

El furfural (2-furaldehído $C_5H_4O_2$), es un aldehído aromático muy versátil. Fue aislado por primera vez en 1832 por el químico alemán Johann Wolfgang Döbereiner, que produjo una pequeña cantidad de furfural como subproducto de la síntesis del ácido fórmico (Döbereiner, 1832). Algunos años más tarde, en 1840, el químico escocés John Stenhouse lo obtuvo por destilación de biomasa agraria en presencia de ácido sulfúrico y determinó la fórmula empírica. Por vía química, la xilosa es el material de partida convencional para su producción,

en donde el tratamiento de la xilosa en una mezcla de tolueno-agua a 160°C empleando catalizadores de zirconia modificada da una selectividad del 45% hacia furfural con una conversión del 95%.

Este compuesto es material de partida para la síntesis industrial de diversos productos químicos, generalmente a través de la formación de alcohol furfurílico. Es miscible con muchos disolventes exceptuando los compuestos alifáticos saturados y un extractante selectivo en el refinado de aceites lubricantes, combustibles diesel y aceites vegetales. La química del furfural se encuentra bien desarrollada, a partir de él se puede obtener una gran variedad de productos químicos mediante reacciones químicas simples, en la literatura hay descritas más de 50 (Gandini and Belgacem 1997; Birgit Kamm, Gruber, and Kamm 2005). Dentro de los usos más destacados se encuentran el uso como fungicida, nematicida, adhesivo, para la producción de resinas, disolventes, aditivos de combustibles y precursor de productos químicos y polímeros (Gandini and Belgacem 1997; Zeitsch, 2000).

En la **Figura 8**, se muestra un árbol resumido de algunos de los productos químicos/bioquímicos técnicamente viables derivados del furfural. Los principales son el furano, ácido furoico, y los alcoholes furfurílico y tetrahidrofurfurílico. Sin embargo, las aplicaciones del furfural van más allá, existen descritos numerosos procesos que permiten obtener otros compuestos industriales que al día de hoy se sintetizan a partir de fuentes petroquímicas. Entre ellos cabe destacar el tetrahidrofurano (THF), que actualmente se obtiene principalmente a partir de la deshidratación del 1,4-butanodiol; el butadieno, que es un subproducto del craqueo de alcanos; la ϵ -caprolactama, que se obtiene desde la ciclohexanona.

Todos estos compuestos dan lugar a un gran número de polímeros industriales, como poliamida, diferentes tipos de Nylon o caucho (B. Kamm and Kamm 2006; Birgit Kamm, Gruber, and Kamm 2005). Recientemente varios procesos han sido propuestos como vía de obtención de combustibles líquidos por transformación catalítica de la biomasa, a través del furfural. El primero de ellos es la obtención de metil tetrahidrofurano (MTHF), que se emplea como base del combustible denominado serie.

Por otro lado, la formación de furfurilidencetona, que se ha utilizado como monómero para la fabricación de resinas furánicas, así como aromatizante alimentario. De tal manera que, este compuesto puede asimismo ser un intermedio en la obtención tanto de aditivos de gasolinas, como de alcanos.

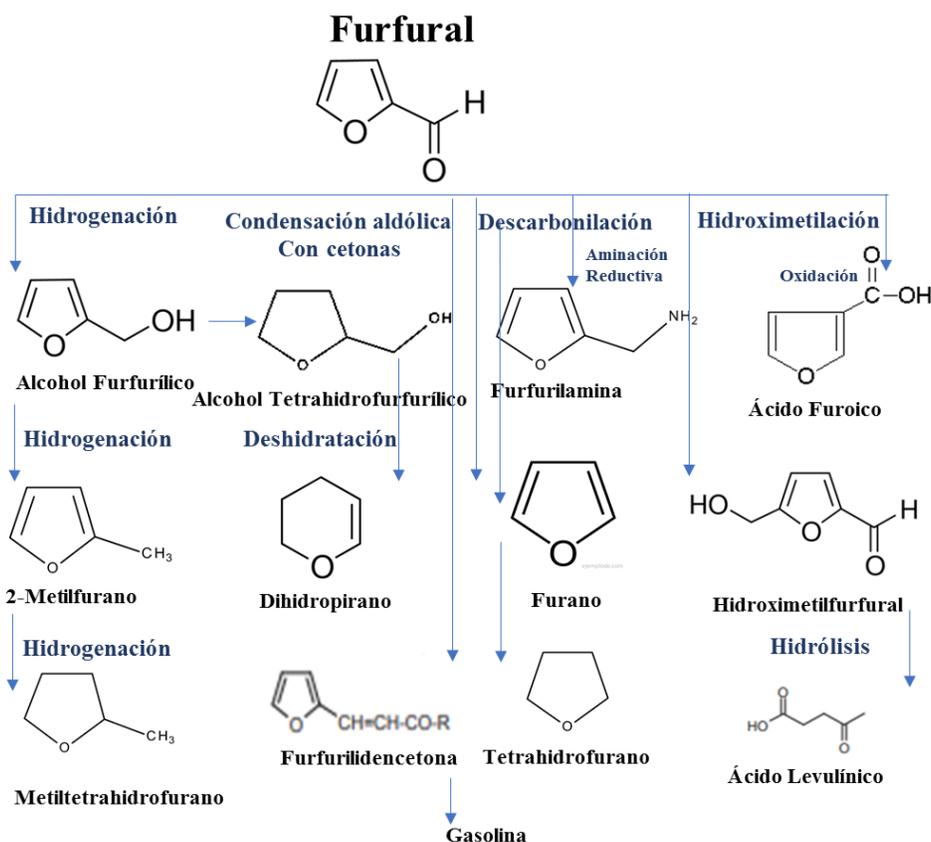


Figura 8 Productos químicos derivados del furfural

Los niveles de producción actual son del orden de 300 000 ton al año, siendo China el país con mayor capacidad de producción a nivel mundial (80% de la producción de furfural en el mercado) que a su vez consume el 72%, según datos del 2010. La demanda del mercado mundial de disolvente furfural fue de 89 300 ton en 2014 y se espera que llegue a 253 300 ton en 2022, creciendo a una tasa compuesta anual del 16,9% desde 2015 hasta 2022. Además, cabe destacar que entre el 60-65% del furfural sintetizado en la industria se emplea para la producción de alcohol furfurílico, el cual se emplea en su mayoría para la producción

de resinas de fundición ya que éstas poseen muy buenas propiedades de resistencia a la corrosión, térmicas y fortaleza física, entre otras.

El alcohol furfurílico y su derivado tetra hidrogenado se obtienen por hidrogenación del furfural. La furfurilamina se consigue por aminación reductiva y el ácido furoico por oxidación. Otros derivados, como las furfurildencetonas, se producen por condensación aldólica. Por último, el furfural es la llave para la producción comercial de furano por descarboxilación catalítica y tetrahidrofurano por la hidrogenación del anterior. Esto compete con la producción petroquímica a partir de la deshidratación del 1,4-butanediol, siendo una alternativa basada en la biomasa.

- **Ácido Láctico**

El ácido láctico (ácido 2-hidroxiopropanoico, $\text{CH}_3\text{-CH(OH)-COOH}$), es el hidroxiácido de origen natural más sencillo que existe (John, Nampoothiri, and Pandey 2007). Debido a sus aplicaciones versátiles **Figura 9**, en la industria alimenticia, química, cosmética y farmacéutica es el ácido hidroxicarboxílico más importante (Datta and Henry 2006). Lo que lo hace un químico de plataforma ya que, mediante rutas químicas y biotecnológicas puede transformarse en productos químicos valiosos como el ácido pirúvico, ácido acrílico, 1,2-propanodiol, éster de lactato. Recientemente hay un incremento en la demanda del ácido láctico para la producción de ácido poliláctico (PLA), el cual es un plástico biodegradable, biocompatible y ambientalmente amigable.

El ácido láctico se puede obtener vía química y biotecnológica, la primera presenta la desventaja de que no es estereoselectiva, pues se obtiene una mezcla racémica con propiedades distintas a las de los enantiómeros por separado. Mientras que a través de la ruta biotecnológica es posible el isómero L(+) o D(-).



Figura 9 Diagrama de usos comerciales y aplicaciones del ácido láctico Tomado de (Alvarado 2006.)

En la **Figura 10**, se muestra un esquema de los compuestos químicos derivados del ácido láctico. Esta versatilidad del monómero se debe a que contiene dos grupos funcionales reactivos (el grupo carboxilo y el grupo hidroxilo) por lo cual, mediante hidrogenación da lugar al óxido de propileno, a través de la descarboxilación forma acetaldehído, por medio de la deshidratación se obtiene ácido acrílico, el ácido propanoico se obtiene a través de una reducción, por medio de la condensación se da lugar al compuesto 2,3-pentanodiona, a través de la autoesterificación se obtiene lactida y por la polimerización el ácido poli-láctico.

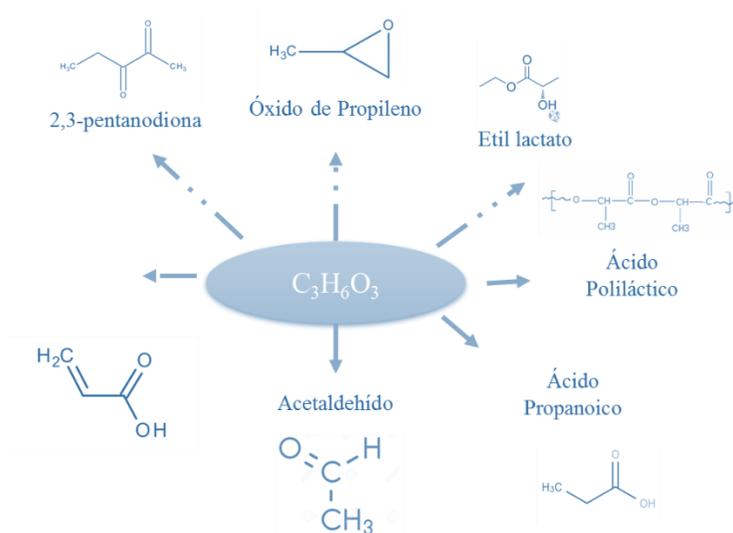


Figura 10 Compuestos químicos derivados del ácido láctico

Algunos observadores indican que la producción de ácido láctico tiene un incremento del 12-15% anual (Joglekar et al., 2006) y se proyecta un aumento en la demanda del 45.5% anual para el uso de polímeros biodegradables (Jarvis, 2001). El precio comercial del ácido láctico varía entre 1.38 US\$/kg (para 50% de pureza) y 1.54 US\$/kg (para 88% de pureza) (Alvarado, 2006.).

La producción sintética de este tiene un costo entre 1.30 y 1.40 US\$/kg.(Åkerberg and Zacchi 2000); pero para ser competitivo el costo del monómero debe ser menor a 0.8 US\$/kg, (Datta et al. 1995). De tal forma, que aún existen variables que deben ser estudiadas para producir ácido láctico por medios biotecnológicos en el rango de costos señalado, como el desarrollo de microorganismos de alto desempeño en la producción de ácido láctico, la disminución de los costos de las materias primas y los procesos fermentativos.

En cuanto a la demanda del ácido láctico en el mundo está entre 130,000 a 150,000 toneladas métricas por año (Alvarado, 2006). Este compuesto posee un uso potencial como insumo para aplicaciones de gran volumen, con ventas proyectadas que exceden los \$3 billones anuales sólo en Estados Unidos. Para resumir, cabe decir que el mercado mundial para sustitución de solventes sería de US\$4.5 billones/año, el de polímeros biodegradables US\$0.9 billones/año y el de químicos oxigenados US\$5.4 billones/año (Andrés and Zuluaga 2007).

- **Ácido Succínico**

El ácido succínico, también conocido como ácido butanedioico, es un ácido dicarboxílico que tiene la fórmula molecular $C_4H_6O_4$. Ha sido producido por fermentación microbiana pero actualmente, la mayor parte de ácido succínico disponible es obtenido por síntesis química a partir de derivados del petróleo (GLP), para su uso en la industria agrícola, alimenticia, farmacéutica, química y cosmética (Zeikus, Jain, and Elankovan 1999).

Este ácido ha sido definido como un “building block”, pues se puede utilizar como un precursor de muchos productos químicos industriales importantes como el ácido adípico, 1,4-butanodiol, tetrahidrofurano, N-metilpirrolidinona, 2-pirrolidinona, sales de succinato y gamma-butirolactona **Figura 11**.

Además, de que se espera una demanda creciente de ácido succínico ya que su uso es extendido a la síntesis de polímeros biodegradables tales como succinato de polibutirato (PBS) y poliamidas (Nylon, 4), y varios solventes verdes (Willke and Vorlop 2004). No obstante, el mercado global de ácido succínico (15,000 ton en 1997 con un promedio anual tasa de crecimiento de 6-10% por año) es mucho menor en comparación con la del químico competidor, anhídrido maleico (213,000 ton) en 1997 con una tasa media de crecimiento anual del 3,6% por año) (Willke and Vorlop 2004; Zeikus, Jain, and Elankovan 1999). Esto se debe parcialmente al alto costo de conversión de anhídrido maleico a ácido succínico por el proceso químico, que limita el uso de ácido succínico para el amplio rango de aplicaciones.

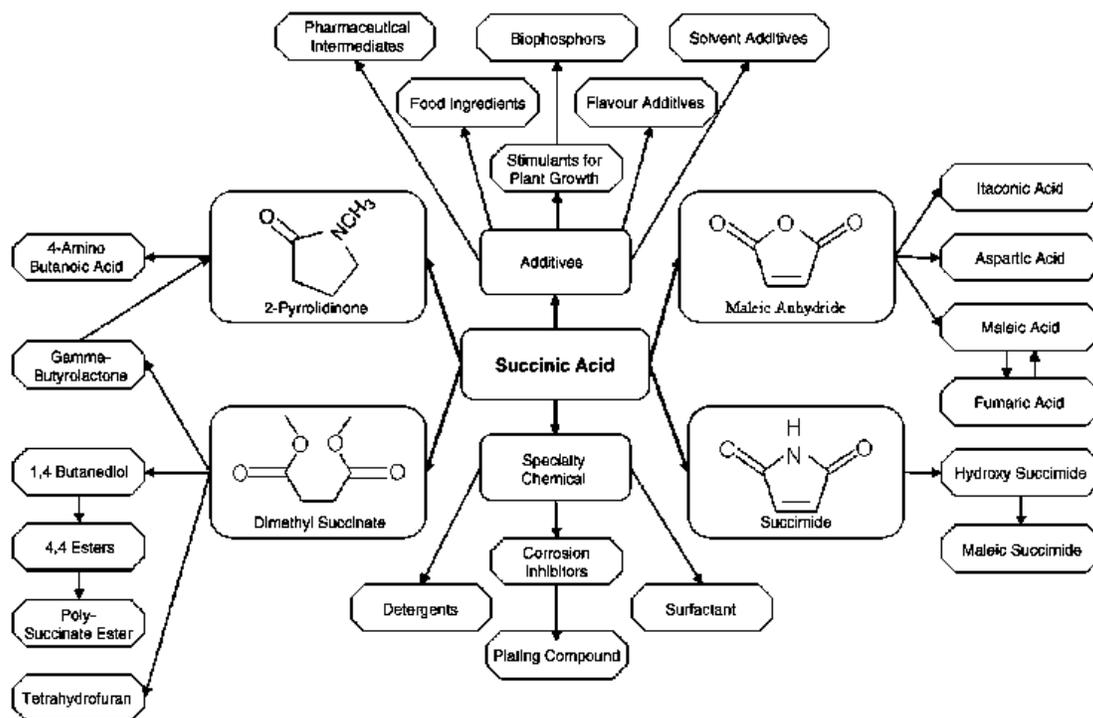


Figura 11 Productos químicos sintetizados a partir del ácido succínico Tomado de (Song and Lee 2006)

Por otro lado, un análisis reciente mostró que la producción fermentativa de ácido succínico a partir de recursos renovables puede ser más rentable que los procesos basados en petróleo (Zeikus, Jain, and Elankovan 1999). Ya que el ácido succínico se produce principalmente por el anhídrido maleico a partir de n-butano. El cual se vende a un precio de US\$ 5.9 a 9.0 kg dependiendo de su pureza, de tal forma que su costo de producción se ve afectado por varios factores, incluido el rendimiento y productividad del ácido succínico, los costos de las materias primas y el método de recuperación.

Particularmente, el costo del anhídrido maleico es el costo que contribuye más significativamente al costo general de producción de ácido succínico. Con base a reportes en el 2002, el anhídrido maleico elaborado a partir de n-butano se vendió a un precio de venta promedio de US\$ 0.977 kg. Considerando que el rendimiento total de conversión de anhídrido maleico a ácido succínico es 95% (w/w), el costo de la materia prima principal en el proceso químico es de US\$ 1.027 kg de ácido succínico. Por otro lado, se producen más de 30,000,000 t de glucosa anualmente en todo el mundo, y se vende a un precio de alrededor de US\$ 0.39 kg (Song and Lee 2006).

Suponiendo que el rendimiento de ácido succínico del 91% (p / p) en la glucosa (Cheon, Yup Lee, and Nam Chang 2008), el costo de la materia prima en el bioproceso es de US\$ 0,428 kg de ácido succínico.

Por lo tanto, está claro que la producción fermentativa de ácido succínico a partir de recursos renovables puede competir con el proceso químico, además de que el CO₂, es fijado durante la fermentación proporcionando así una ventaja adicional al proceso fermentativo. Diferentes tipos de bacterias producen succinato, pero pocas especies lo hacen como producto principal. Las bacterias más competentes para la producción de ácido succínico son, entre otras, *Anaerobiospirillum succiniciproducens*, *Manheimia succiniciproducens*, *Actinobacillus succinogenes ZT130* y especies de *Escherichia coli* modificadas genéticamente (Zeikus, Jain, and Elankovan 1999).

Para la producción de succinato *E. coli* es uno de los organismos más estudiados en su totalidad como consecuencia del amplio conjunto de herramientas genéticas disponibles y al hecho del crecimiento celular rápido en medios de cultivos simples.

El potencial de mercado para el ácido succínico en sí y sus derivados se estima que es más de 270,000 ton/año en 2004 (Willke and Vorlop 2004). El tamaño del mercado potencial estimado para los polímeros polisuccinato ésteres y poliamidas que se pueden sintetizar a partir de succínico el ácido es de hasta 27 millones de toneladas por año en 2001 (Song and Lee 2006). Aunque la economía general aún limita la producción de ácido succínico de base biológica, la evaluación del costo de la materia prima y la estimación del tamaño potencial del mercado sugiere claramente que el proceso actual será reemplazado por el sistema de producción fermentativo en un futuro cercano.

4.4 Plantear escenarios atractivos de producción.

Para la evaluación de los sistemas de biorefinería basados en bagazo de agave, nueve escenarios fueron planteados, en cada uno de ellos se considera la producción de electricidad por medio de un sistema de cogeneración. Dichos escenarios fueron planteados para la producción stand alone y como biorefinería de los productos: Etanol, Xilitol, Ácido Láctico y Ácido Succínico. Para ello se evaluaron dos vías biotecnológicas de producción empleando microorganismos nativos y microorganismos modificados genéticamente. En la **Tabla XV** se describen los escenarios, los productos obtenidos, microorganismos y cinéticas empleadas.

Tabla XV Descripción de los casos de estudio

Scn	Componente	Microorganismo	Referencia
A_{Zm}	Etanol de azúcares (C5, C6) y cogeneración	<i>Z. Mobilis</i>	(Leksawasdi, Joachimsthal, and Rogers 2001)
A_{Ec}	Etanol de azúcares (C5, C6) y cogeneración	<i>E. Coli Strain MS04</i>	Datos Experimentales Daniela Parra 2017
B_{ZmCm}	Etanol de azúcares (C6) y Xilitol de (C5) azúcares	<i>Z. Mobilis & C. Mogii</i>	(Leksawasdi, Joachimsthal, and Rogers 2001; Tochampa et al. 2005)
B_{Ec}	Etanol de azúcares (C5, C6) y Xilitol de azúcares (C5, C6)	<i>E. Coli Strain MS04 & E. Coli Strain w3110</i>	Datos Experimentales Daniela Parra 2017, (Cirino, Chin, and Ingram 2006)
C_{ZmCmF}	Etanol de azúcares (C6), Xilitol de (C5) azúcares y Furfural de (C5) azúcares	<i>Z. Mobilis, C. Mogii & Ciclodeshidratación de la xilosa</i>	(Leksawasdi, Joachimsthal, and Rogers 2001; Tochampa et al. 2005) (Agirrezabal-Telleria, Gandarias, and Arias 2013)
D_{Ec}	Etanol de (C5, C6) azúcares, Xilitol de azúcares (C5, C6), Lactato de azúcares (C5, C6), and Succinato de azúcares (C5, C6)	<i>E. Coli MS04, E. Coli W3110, E. Coli AV03, E. Coli AS1600a</i>	Datos Experimentales Daniela Parra 2017, (Cirino, Chin, and Ingram 2006) (Utrilla et al. 2016) (Sawisit et al. 2015)
E_{Ec}	Xilitol de azúcares (C5, C6)	<i>E. Coli strain W3110</i>	(Cirino, Chin, and Ingram 2006)c
F_{Ec}	Lactato de azúcares (C5, C6)	<i>E. Coli strain AV03</i>	(Utrilla et al. 2016)
G_{Ec}	Succinato de azúcares (C5, C6)	<i>E. Coli strain AS1600a</i>	(Sawisit et al. 2015)

4.5 Realizar el diseño conceptual de los módulos de biorefinería, empleando la estrategia de jerarquía, secuenciación e integración.

Con la finalidad de establecer las corrientes de entrada y salida del proceso primarias, identificar la secuencia de procesamiento conforme a los requerimientos de los productos, así como determinar aquellos escenarios en los cuales se pudiera integrar las corrientes del proceso. Se realizó el diseño conceptual de los escenarios planteados, en las Figuras 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20 se indican los diagramas de bloques de cada uno de ellos.

En los diagramas se observa un código de colores el cual se estableció para determinar el grado de madurez de las tecnologías propuestas para el procesamiento de la materia prima. Tomando el valor 3 aquellas tecnologías que se encuentran ya maduras y bien establecidas en la industria, el número 2 corresponde a aquellas que ya se encuentran en operación a nivel industrial sin embargo aún no se han optimizado y finalmente el número 1 que corresponde a aquellas tecnologías que aún se encuentran en desarrollo o a nivel de planta piloto. Lo anterior para ver la viabilidad tecnológica de cada escenario planteado.

Escenario Az_m

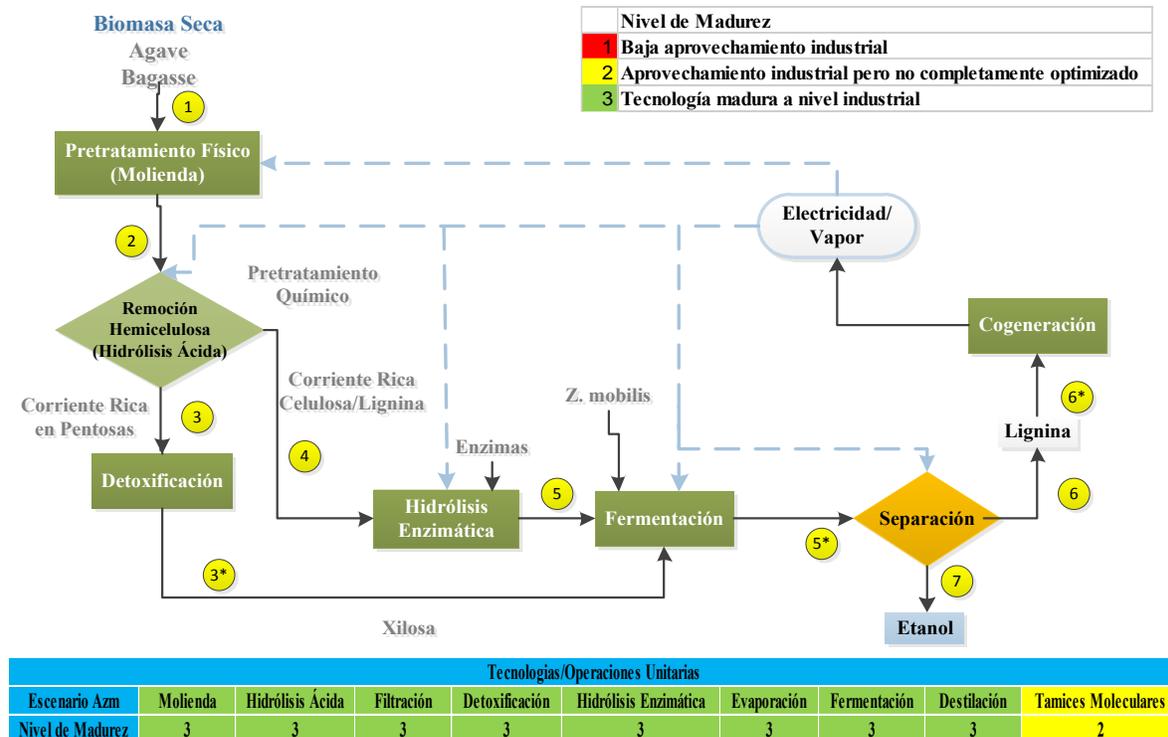


Figura 12 Diagrama de bloques de la producción de etanol a partir de *Zymomonas mobilis*

El escenario AZM, considera la producción de etanol a partir de los azúcares de C₅ y C₆ presentes en la materia prima, el proceso de conversión inicia con un pretratamiento físico que consiste en la molienda del bagazo, posteriormente pasa a un pretratamiento termoquímico donde se lleva a cabo la hidrólisis de ácido diluido empleando H₂SO₄ al 2% basado en las expresiones cinéticas reportados por (Jin et al. 2011) a 100 °C. La corriente rica en xilosa es enviada a un proceso de detoxificación mientras que la corriente rica en celulosa y lignina se envía a una etapa de hidrólisis enzimática para hacer accesible la glucosa presente en la matriz celulósica, más tarde ambas corrientes la rica en xilosa y la rica en glucosa se unen para pasar a la fermentación empleando *Z. mobilis*. Finalmente, la purificación del etanol se realiza empleando un tren de separación, que consiste en una columna de concentración donde se alcanza el 54% de pureza, pasa a una columna de rectificación en donde se alcanza la concentración azeotrópica, y es llevada a tamices moleculares para alcanzar una pureza del 99.6%. Finalmente, la corriente rica en lignina con celulosa y hemicelulosa remanente es llevada a un sistema de cogeneración, donde es aprovechada para la producción de calor y electricidad que abastece al proceso global.

Escenario A_{Ec}

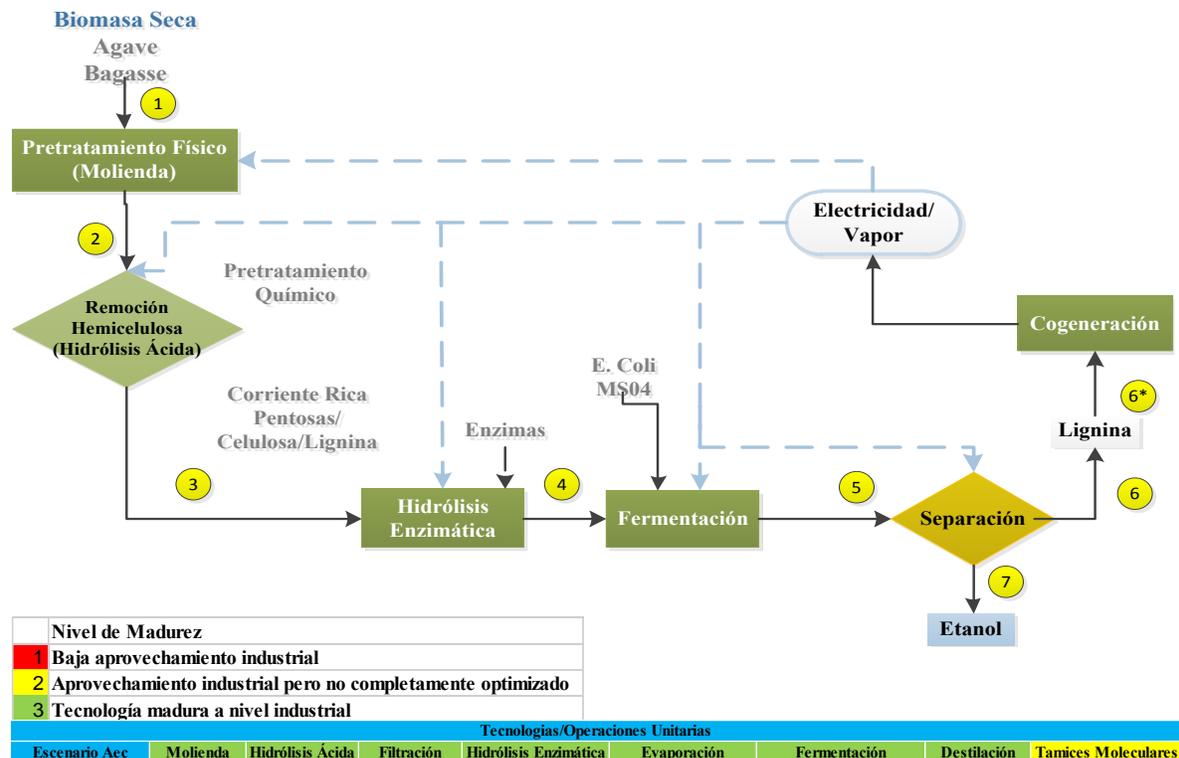


Figura 13 Diagrama de bloques de la producción de Etanol a partir de *E. Coli* MS04

El proceso inicia de igual forma que en el escenario A_{Zm} , a diferencia de que en este escenario el pretratamiento termoquímico con ácido diluido se realiza a diferentes condiciones (ácido sulfúrico al 1%) a 130°C y 1 atm conforme a los datos reportados por (Vargas-Tah et al. 2015), en los cuales muestra que a estas condiciones no se degrada la xilosa por lo que no hay formación de furfural siendo la cantidad de hidroximetilfurfural (HMF) prácticamente despreciable. De tal manera que no hay inhibición de la cepa por presencia de subproductos no deseados, ahorrando con ello la etapa de detoxificación lo cual genera un impacto positivo en el proceso pues hay un ahorro de equipo y consumo de agua. Las siguientes etapas de procesamiento son las mismas que en el escenario anterior.

Escenario BzMCm

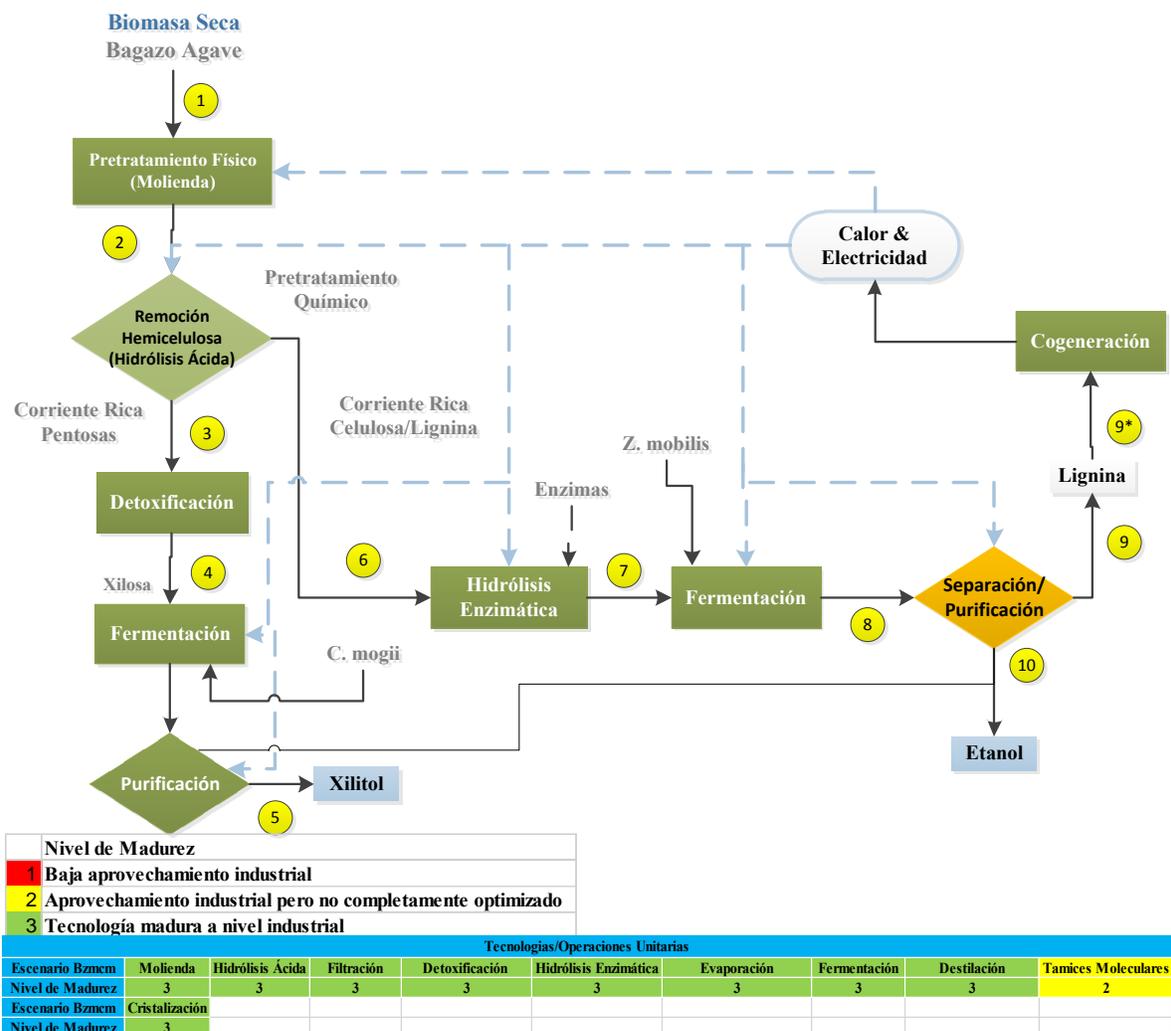


Figura 14 Diagrama de bloques de la producción de etanol a partir de *Z. mobilis* y xilitol a partir de *C. mogii*

En el escenario B_{ZmCm}, después de la hidrólisis ácida se hace pasar la corriente rica en pentosas a una etapa de detoxificación con la finalidad de remover los subproductos como el hidroximetil furfural HMF y el furfural. Posteriormente el 100% de la corriente se va a la etapa de fermentación donde conforme a la cinética reportada, es transformada por la *C. mogii* a 30°C en condiciones aerobias con una concentración de oxígeno del 20%. Después de la fermentación, la corriente resultante se filtra para separar la biomasa y la temperatura se incrementa a 40°C empleando una operación de evaporación simultánea para concentrar el xilitol obtenido.

El siguiente paso es aislar el metabolito del caldo de fermentación por lo cual se evapora para facilitar la cristalización, se agrega etanol de la corriente de salida obtenida, para disminuir drásticamente la solubilidad del xilitol y sobresaturar la solución para llevar a cabo la cristalización a 5°C (Parajó, Domínguez, and Domínguez 1998).

Escenario B_{Ec}

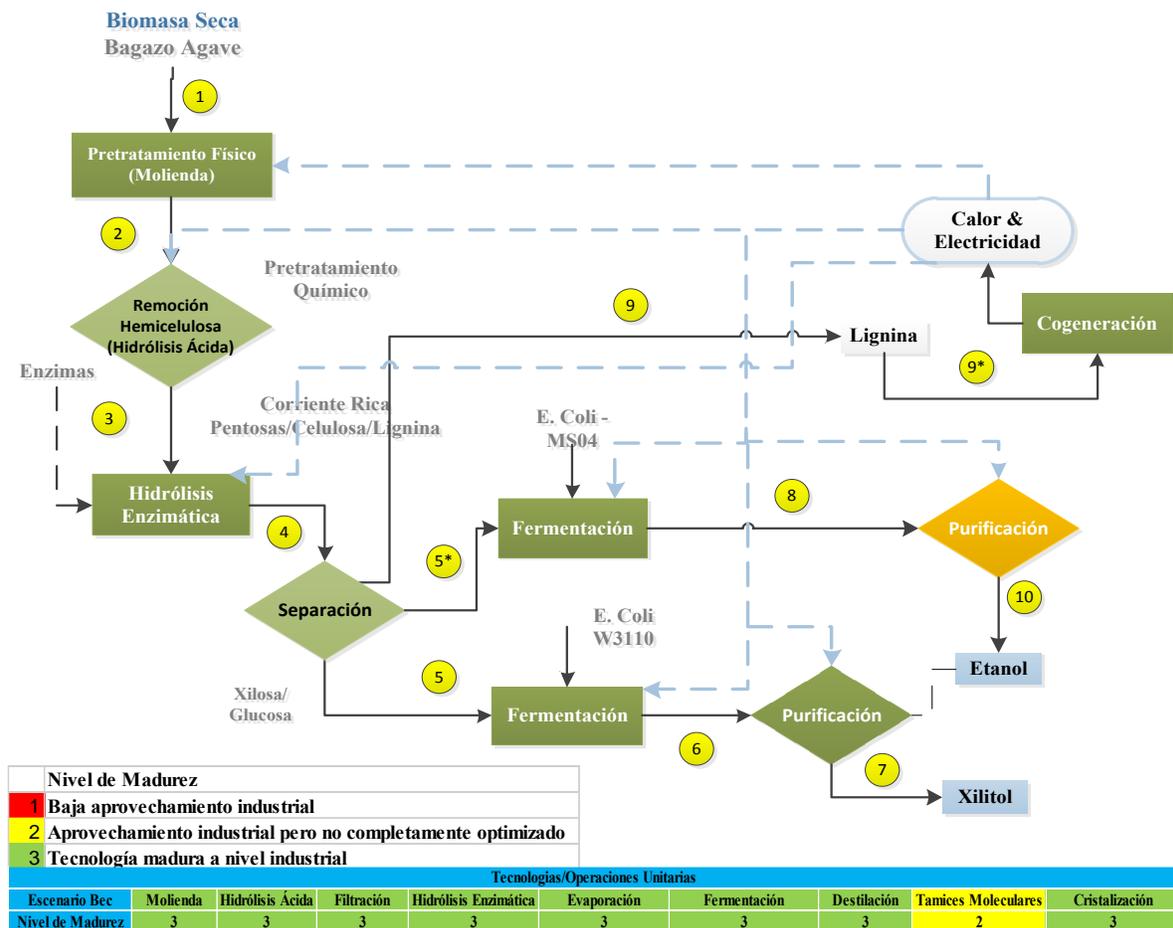


Figura 15 Diagrama de bloques producción de etanol y xilitol a partir de las cepas *E. Coli* MS04 y *E. Coli* W3110 respectivamente.

Se lleva a cabo el mismo procedimiento eliminando la etapa de detoxificación obteniendo una corriente rica en xilosa y glucosa que es separada al 50% para posteriormente llevarse a las etapas de fermentación donde por medio de las cepas reportadas se obtiene etanol y xilitol.

Escenario Cz_mC_mF

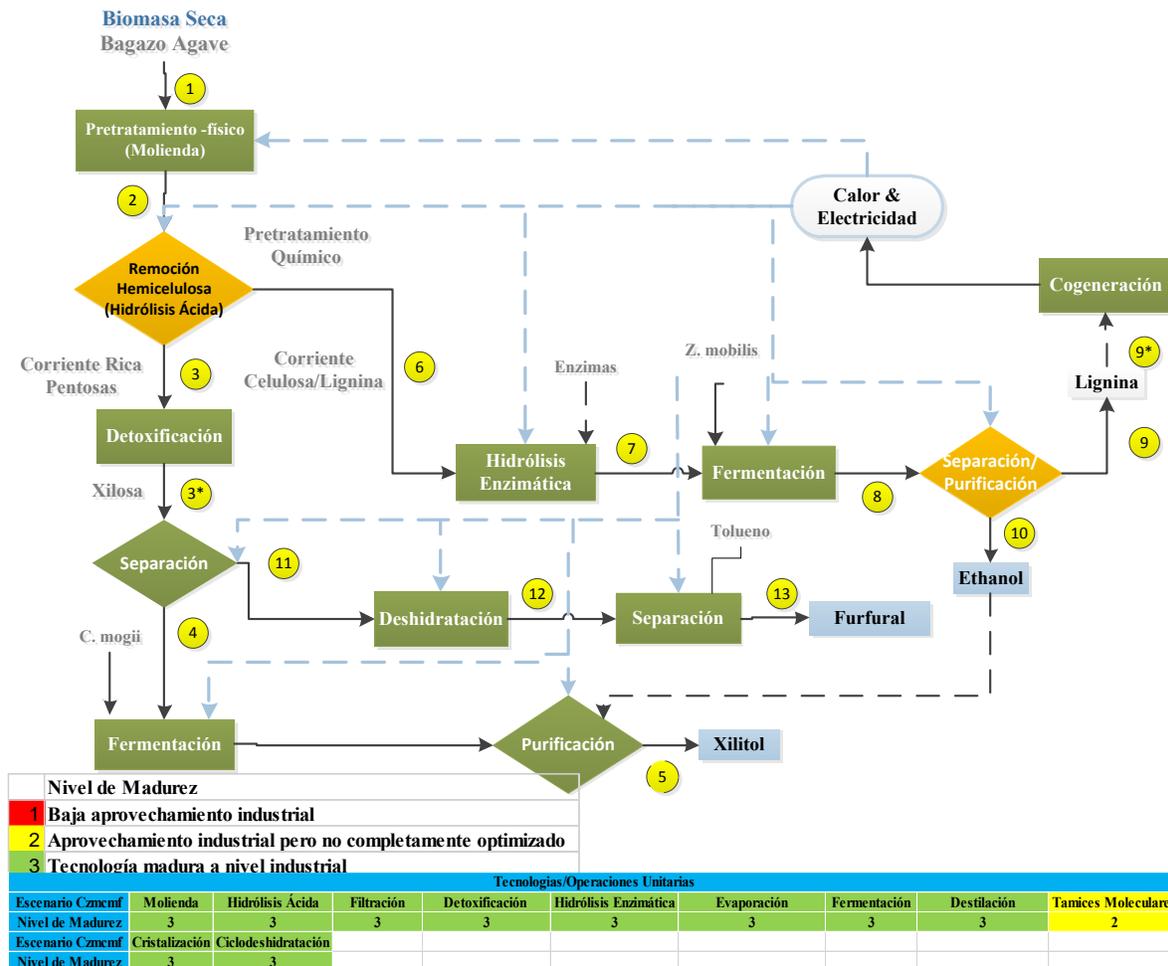


Figura 16 Diagrama de bloques de producción de etanol por medio de *Z. Mobilis*, xilitol a partir de *C. Mogii* y furfural por la ciclodeshidratación de la xilosa

En este escenario, el 50% de la corriente rica en glucosa se separa para producir furfural vía ciclodeshidratación de la xilosa, para ello el licor es enviado a un reactor que se encuentra a una temperatura de 180°C y 10 bares. Después de ello, aire es alimentado como agente de separación en una relación de 30:1, para remover el furfural a medida que se va generando (Agirrezabal-Telleria, Gandarias, and Arias 2013). La corriente resultante es despresurizada para recuperar la fracción líquida. La siguiente etapa corresponde a la purificación del

furfural para lo cual se emplea un proceso de extracción líquido-líquido utilizando tolueno como solvente en una relación 1:1 (v/v), para recuperar el furfural del agua. Finalmente, la corriente que contiene el tolueno y furfural es enviada a un proceso de destilación, en donde el furfural es obtenido como producto de fondos y el tolueno es recirculado al proceso.

Escenario DEc

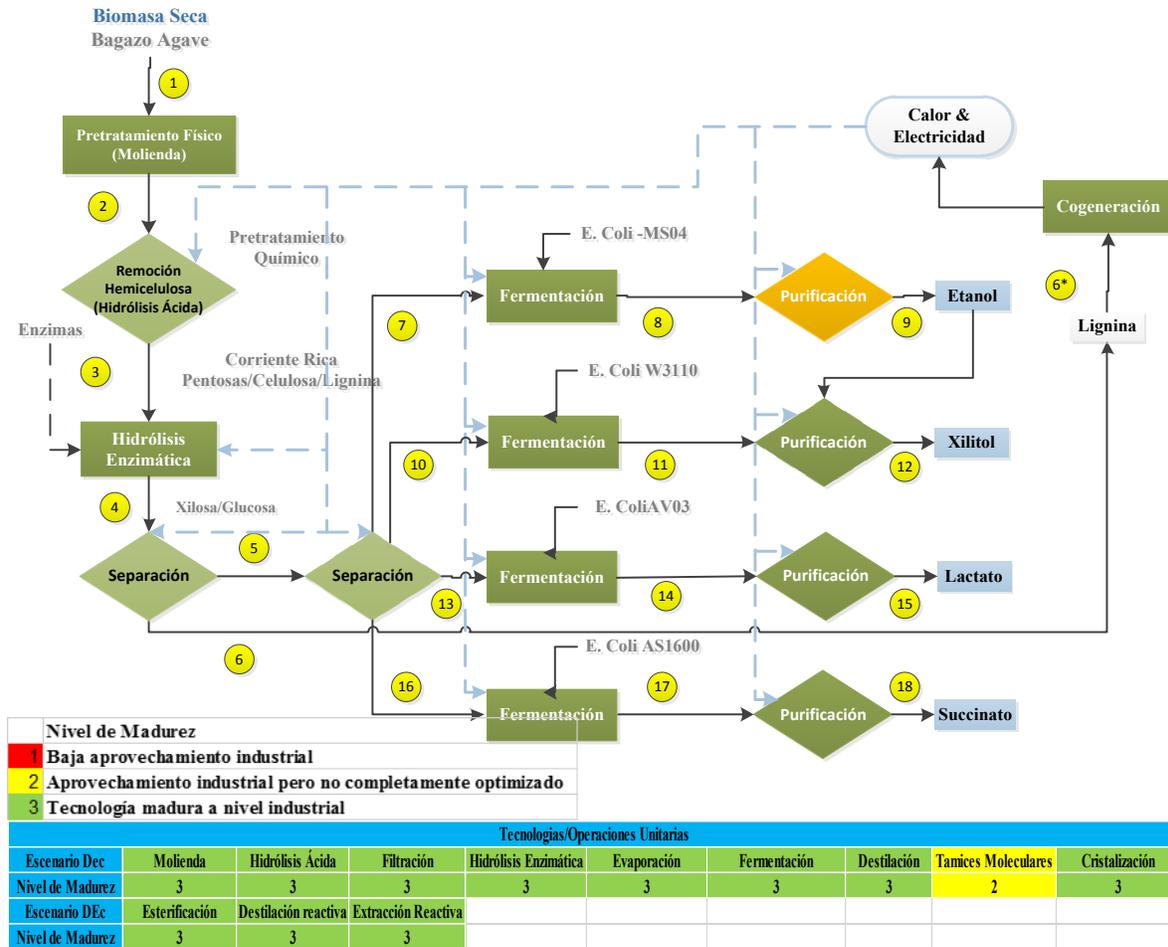


Figura 17 Diagrama de bloques de la biorefinería a partir de cepas de *E. Coli* modificadas genéticamente para la producción de etanol, xilitol, lactato y succinato.

El escenario DEc, muestra un esquema de biorefinería, en el que se producen productos de valor agregado como lo es el lactato, succinato y xilitol para compensar la producción de etanol en dicho escenario el 25% de los azúcares totales se destina para la producción de cada uno de estos compuestos. El método de purificación empleado para el lactato es por medio de esterificación y destilación reactiva, el primer paso consiste en concentrar la solución de ácido láctico que proviene del fermentador del 10% al 70%, posteriormente esta corriente es

alimentada aun reactor junto con metanol, en condiciones de ebullición. La reacción de esterificación ocurre entre el ácido láctico y el metanol para formar lactato de metilo y agua. El elevado punto de ebullición de las impurezas presentes en el caldo de fermentación permite que puedan ser separadas a través de una purga en la corriente de fondos del reactor. Donde esta corriente puede recuperarse para mejorar la economía del proceso. Mientras que, la corriente de vapor que contiene lactato de metilo, agua y metanol es alimentada a la columna de destilación reactiva, de tal manera que el lactato de metilo reacciona con el agua para dar lugar al lactato el cual se obtiene como producto de fondos, mientras que como materia volátil se obtiene metanol y agua (Kumar et al. 2006). En cuanto a la purificación del succinato esta se lleva a cabo por medio de extracción reactiva empleando tri-n-octilamina, ya que emplear aminas terciarias hidrofóbicas, ha sido considerado como un método de purificación eficaz y económico durante los últimos años, ya que el proceso se opera a temperatura y presión normal. En las **Figuras 18, 19 y 20** se muestran los diagramas de bloques para la producción stand alone de los productos de mayor valor agregado en este estudio.

Escenario EEC

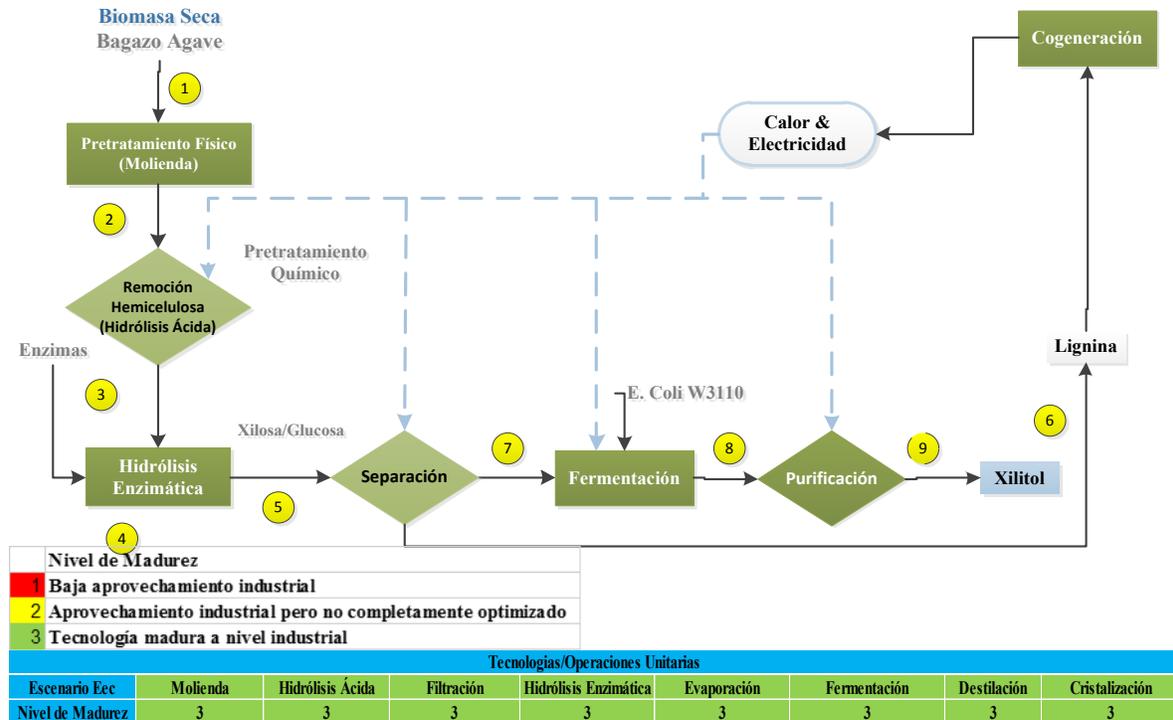


Figura 18 Diagrama de bloques de la producción de xilitol a partir de *E. coli* w3110

Escenario FEc

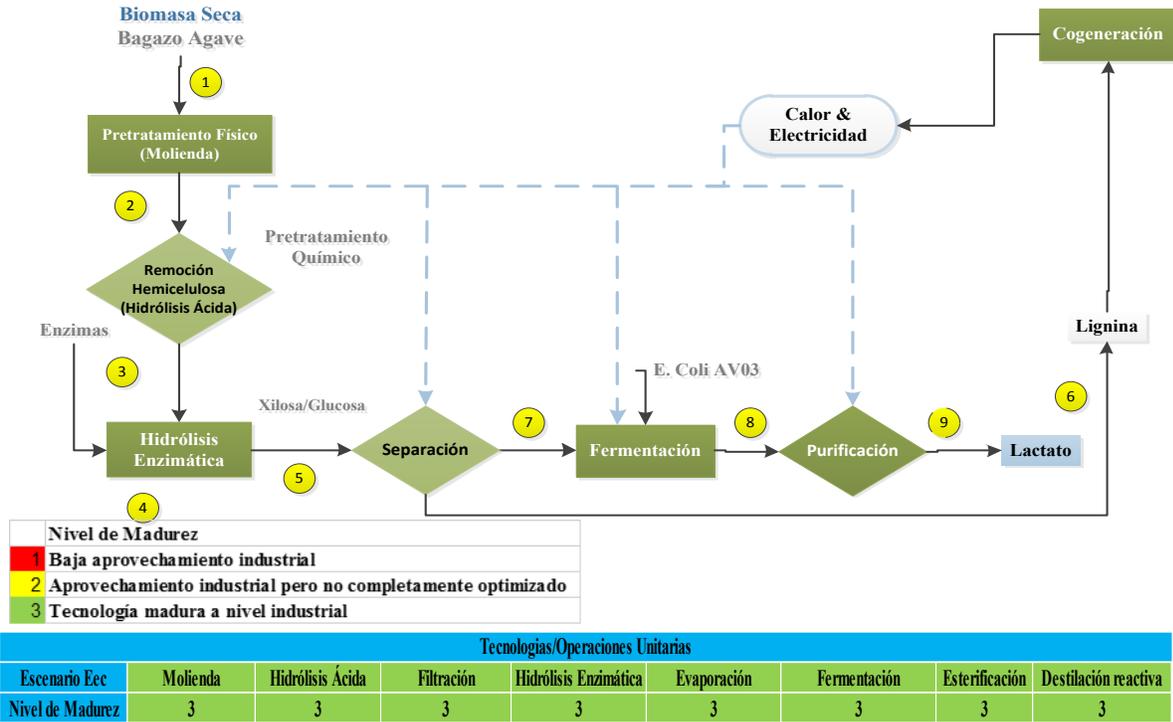


Figura 19 Diagrama de bloques de la producción de ácido láctico a partir de *E. coli* AV03

Escenario GEc

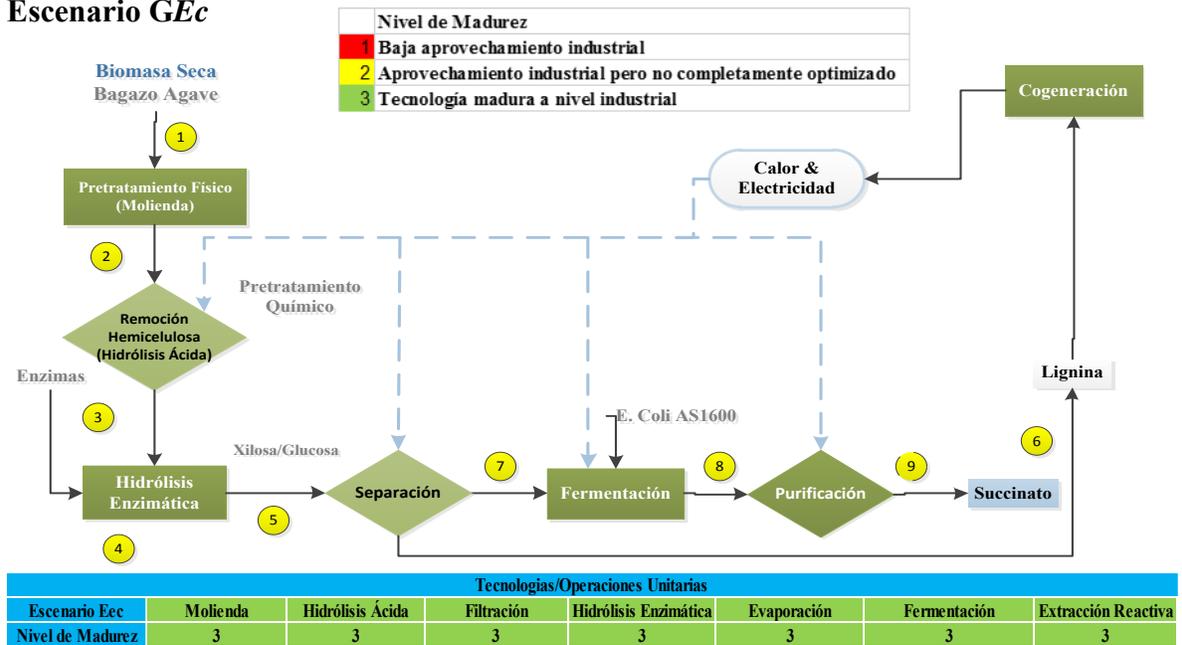


Figura 20 Diagrama de bloques de la producción de ácido succínico a partir de *E. coli* AS1600

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de la etapa de simulación:

Al llevar a cabo la simulación de los escenarios se realizó un comparativo de los rendimientos de producción como se muestra a continuación. En la **Tabla XVI** se muestran los rendimientos para los escenarios de producción stand alone de etanol donde se concluye, que la producción de etanol a partir de la cepa MS04 de E. Coli presenta un rendimiento de producción mayor de etanol. Es decir, se produce el doble de etanol por kilogramo de bagazo con ella que con *Z. mobilis*, además de que el proceso presenta una reducción del 27% en el consumo de agua.

Tabla XVI Rendimientos de producción de etanol escenarios A_{Zm} y A_{Ec}

A_{Zm} <i>Z. Mobilis</i>		A_{Ec} <i>E. Coli MS04</i>	
8.465	Kg H ₂ O/Kg Bagazo	6.2195	Kg H ₂ O/Kg Bagazo
0.1508	Kg Etanol/ Kg Bagazo	0.3131	Kg Etanol/ Kg Bagazo

En cuanto a la producción combinada de etanol y xilitol **Tabla XVII**, los rendimientos son muy similares, cabe destacar que en el escenario B_{ZmCm} los azúcares de C₅ son empleados únicamente para la producción de xilitol, mientras que en el escenario B_{Ec} , la producción de los compuestos químicos se obtiene a partir de la mezcla de azúcares de C₅ y C₆. Cabe destacar que al igual que en el análisis anterior el escenario que emplea E. Coli logra un ahorro en el consumo de agua del 15% lo anterior se debe a que en ellos no se lleva a cabo la etapa de detoxificación lo que supone un ahorro en el proceso tanto de agua como económico.

Tabla XVII Rendimientos de producción de etanol y xilitol escenarios B_{ZmCm} y B_{Ec}

B_{ZmCm}		B_{Ec}	
<i>Z. Mobilis</i> y <i>C. Moggi</i>		<i>E. Coli MS04</i> y <i>E. Coli w3110</i>	
8.5307	Kg H ₂ O/Kg Bagazo	7.2914	Kg H ₂ O/Kg Bagazo
0.1294	Kg Etanol/ Kg Bagazo	0.1108	Kg Etanol/ Kg Bagazo
0.0213	Kg Xilitol/ Kg Bagazo	0.1296	Kg Xilitol/ Kg Bagazo

En el escenario que conforma el esquema de biorefinería con mayor número de productos para microorganismos nos modificados genéticamente el consumo de agua por kilogramo de materia prima se mantiene con respecto a los escenarios anteriores **Tabla XVIII**.

Tabla XVIII Rendimientos de producción escenario $C_{Zm}C_{mF}$

8.5307	Kg H ₂ O/Kg Bagazo
0.1295	Kg Etanol/ Kg Bagazo
0.0134	Kg Xilitol/ Kg Bagazo
0.0131	Kg Furfural/ Kg Bagazo

Mientras que, en el esquema de biorefinería de microorganismos modificados genéticamente (escenario D_{Ec}) se observa una reducción en el consumo de agua. Lo anterior debido a la distribución de las corrientes; ya que las corrientes con mayor consumo de agua corresponden a las de producción de etanol y xilitol. Y al reducir en un 25% de la materia prima de éstas, para dar lugar a la formación de lactato y succinato, un impacto positivo se genera en el consumo de agua.

En la **Tabla XIX** se muestran los consumos de agua por kilogramo de bagazo de los escenarios D_{Ec} , E_{Ec} , F_{Ec} , y G_{Ec} , donde se concluye que el escenario con menor consumo de agua corresponde al escenario G_{Ec} .

Tabla XIX Consumo de agua de los escenarios que emplean *E. Coli*

Consumo de agua Escenario D_{Ec}	
5.9344	Kg H ₂ O/Kg Bagazo
Consumo de agua Escenario E_{Ec}	
8.0042	Kg H ₂ O/Kg Bagazo
Consumo de agua Escenario F_{Ec}	
5.1002	Kg H ₂ O/Kg Bagazo
Consumo de agua Escenario G_{Ec}	
4.229	Kg H ₂ O/Kg Bagazo

4.6 Realizar el análisis económico de los módulos de biorefinería, analizando la rentabilidad con base al índice del valor presente neto.

Los resultados del análisis económico mostraron que, para los escenarios evaluados con microorganismos no modificados genéticamente el costo de producción más elevado corresponde al costo de servicios con el 46% del costo total como se muestra en la **Figura 21**. Y en los escenarios con *E. Coli* el costo más elevado es el de las materias primas.

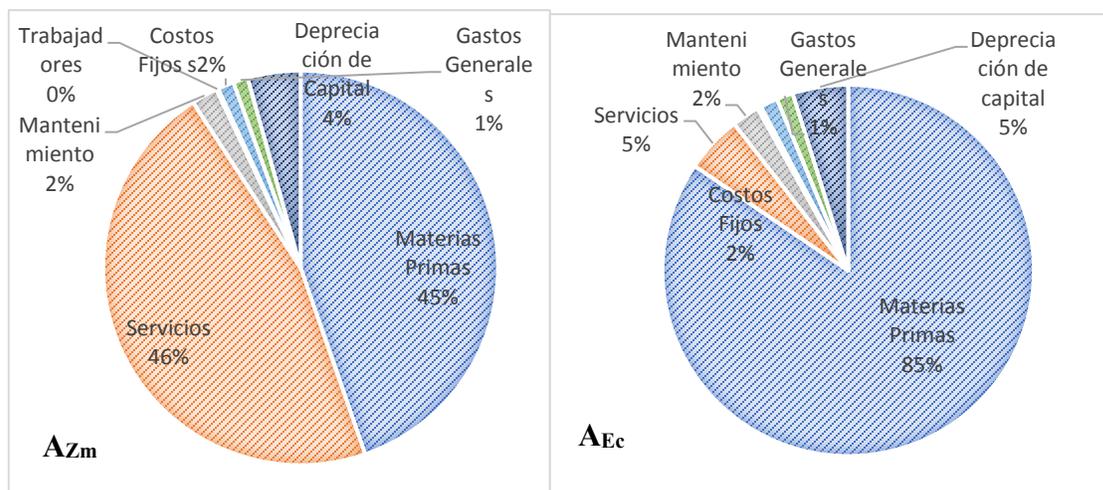


Figura 21 Comparativo de la distribución de costos escenarios A_{Zm} y A_{Ec}

Con la finalidad de determinar el comportamiento de los costos de producción de los compuestos químicos y del valor presente neto se realizó un análisis de sensibilidad variando el costo de la materia prima desde, el costo actual (ningún costo), el precio establecido 10 US\$/kg hasta el precio 40 US\$/kg, que es el costo de la materia prima más cara reportada, dentro del grupo SMIBIO. A continuación, se muestran los gráficos con los resultados generados.

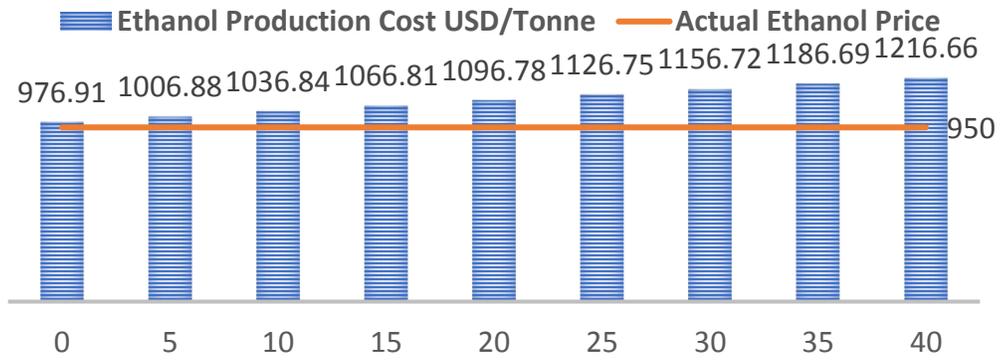


Figura 22 Costo de producción de etanol a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario A_{Zm}

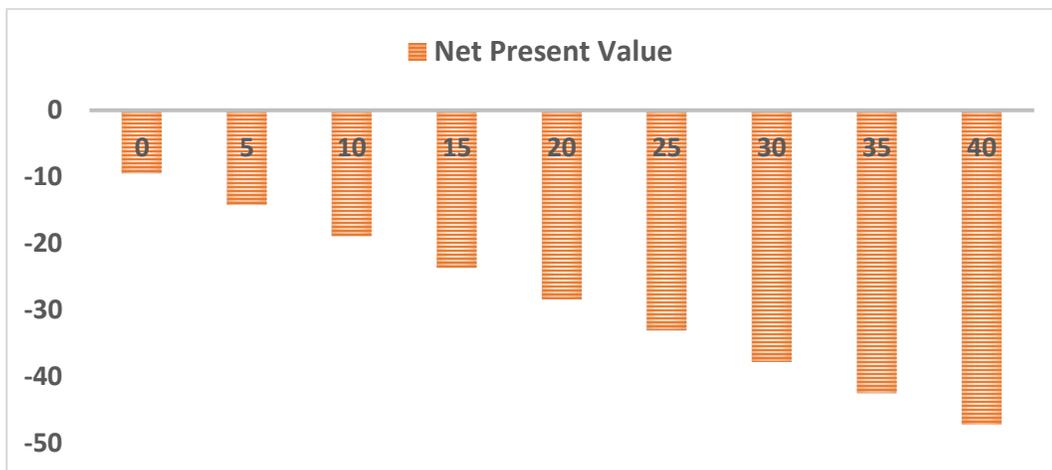


Figura 23 Valor presente neto (MUS\$) de la producción de etanol a diferentes costos de materia prima escenario A_{Zm}

De las **Figuras 22 y 23** se concluye que la producción de etanol con *Z. mobilis* no es un proceso económico factible a esta escala. En el caso actual donde la materia prima no tiene costo, el costo de producción de etanol es 3% mayor del precio de venta de etanol.

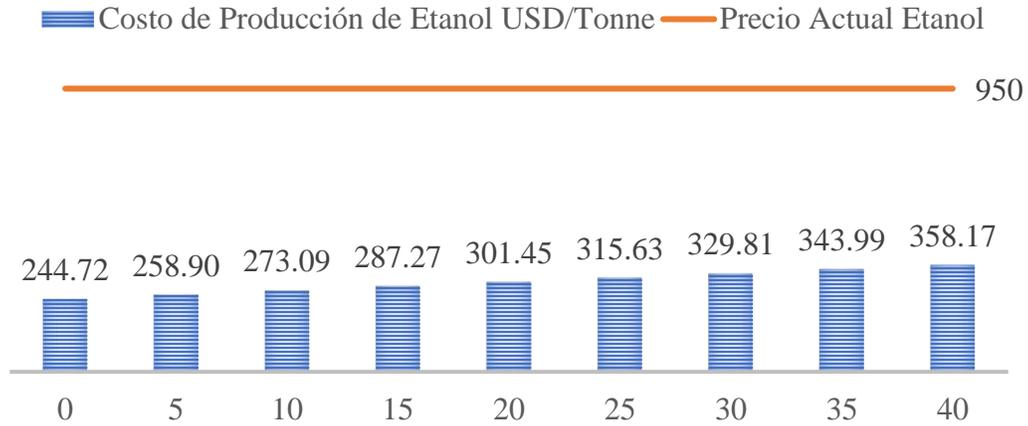


Figura 24 Costo de producción de etanol a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario A_{Ec}

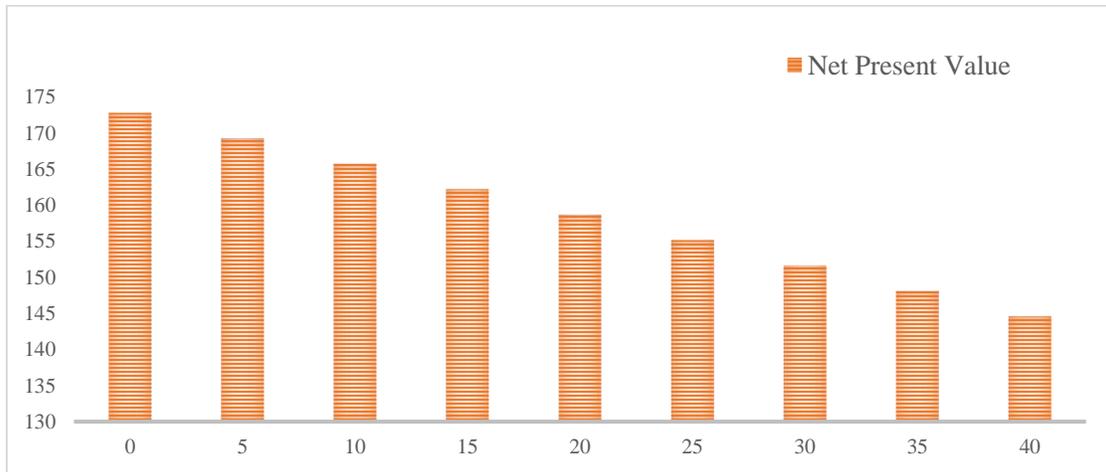


Figura 25 Valor presente neto (MUS\$) de la producción de etanol a diferentes costos de materia prima escenario A_{EC}

La biorefinería con cogeneración y producción de etanol a partir de C₅ y C₆ usando *E. coli* muestra que el costo de producción de etanol es siempre menor utilizando un precio de bagazo de agave de 0 a 40 US\$/ton. Hay una reducción del 75% en el precio de venta si la materia prima principal es gratis y 62% con un costo de 40 US\$/ ton, **Figura 24 y 25**.

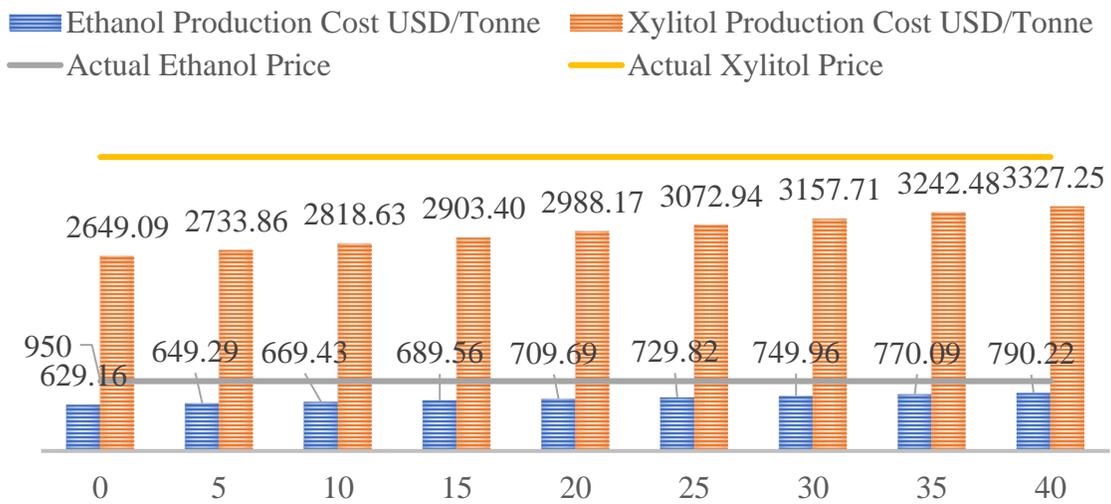


Figura 26 Costo de producción de etanol y xilitol a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario B_{ZmCm}

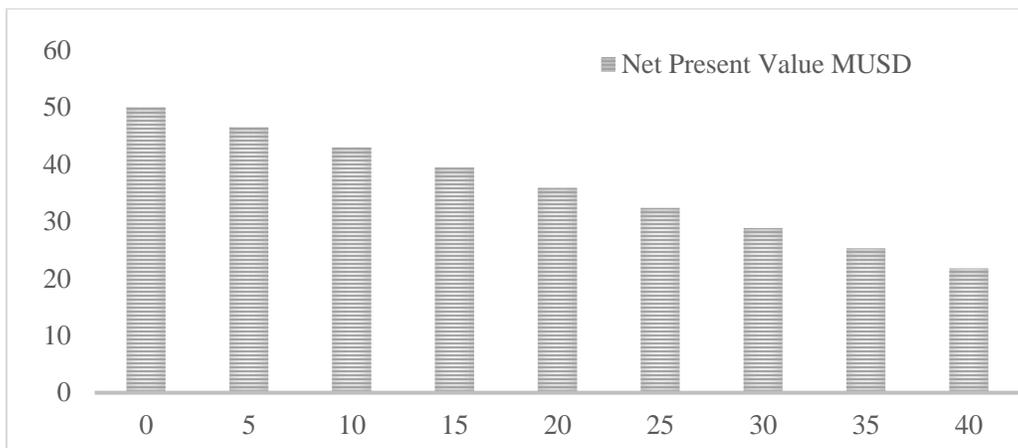


Figura 27 Valor presente neto (MUSD) de la producción de etanol y xilitol a diferentes costos de materia prima escenario B_{ZmCm}

Las Figuras 26 y 27 indican que la coproducción de etanol (de C₆) con *Z. mobilis*, xilitol (de C₅) con *C. mogii* y cogeneración hace que el costo de producción sea factible para ambos productos: obteniendo una reducción del 17% y 16% menos que los precios del mercado del etanol y xilitol, respectivamente, considerando 40 US\$/ton como precio para la materia prima.

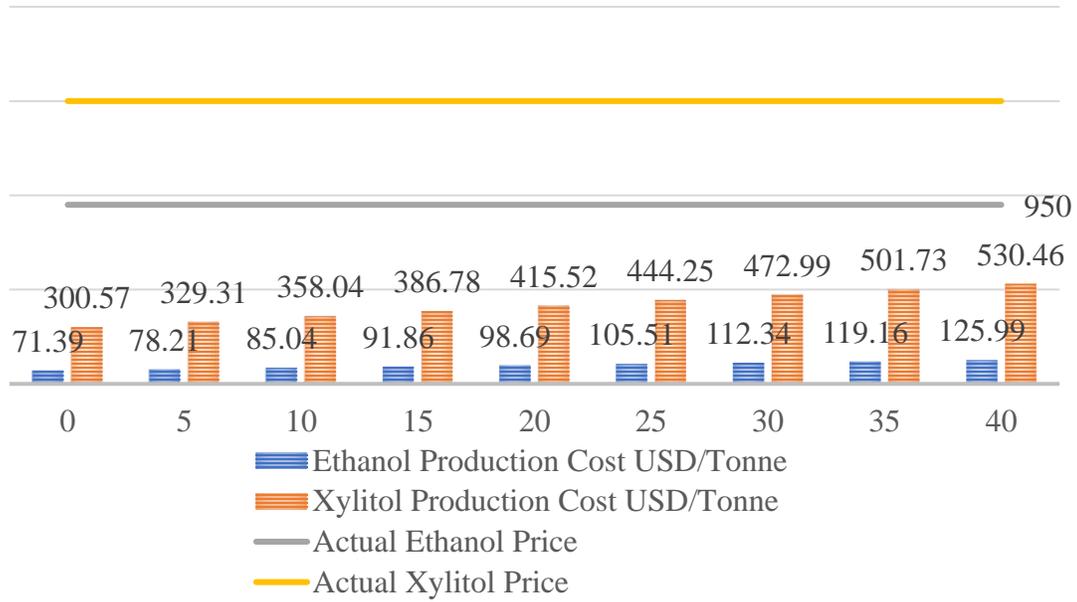


Figura 28 Costo de producción de etanol y xilitol a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario B_{Ec}

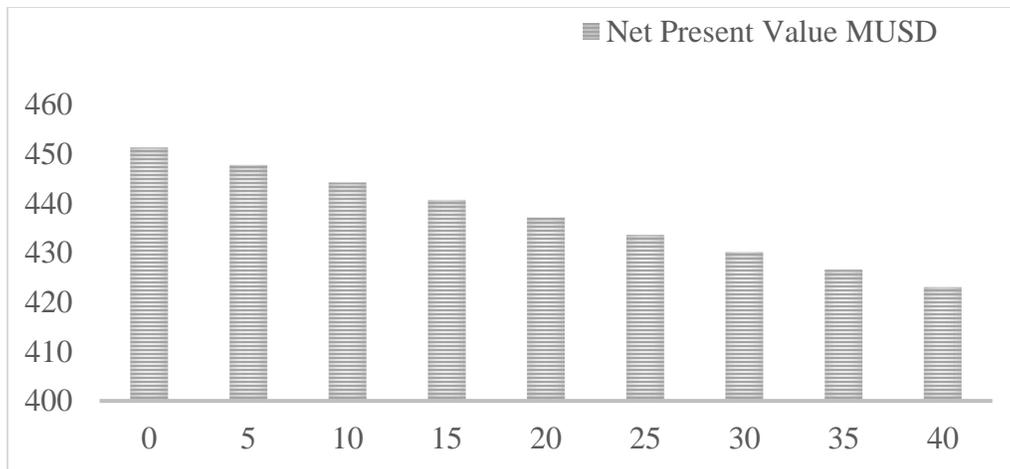


Figura 29 Valor presente neto (MUS\$) de la producción de etanol y xilitol a diferentes costos de materia prima escenario B_{Ec}

Las Figuras 28, 29 del escenario B_{Ec}, indican que la coproducción de etanol y xilitol a partir de *E. Coli*, hacen que el costo de producción sea más factible para ambos productos que en el escenario B_{ZmCm}, ya que, la reducción en el precio de venta considerando que el costo de la materia prima es de 40 US\$/ton es del 86% y 87% respectivamente. Por lo tanto, el valor

presente neto de este escenario es más atractivo económicamente. El valor actual es de 423 MUS\$/ton frente a 21.8 del escenario B_{ZmCm}

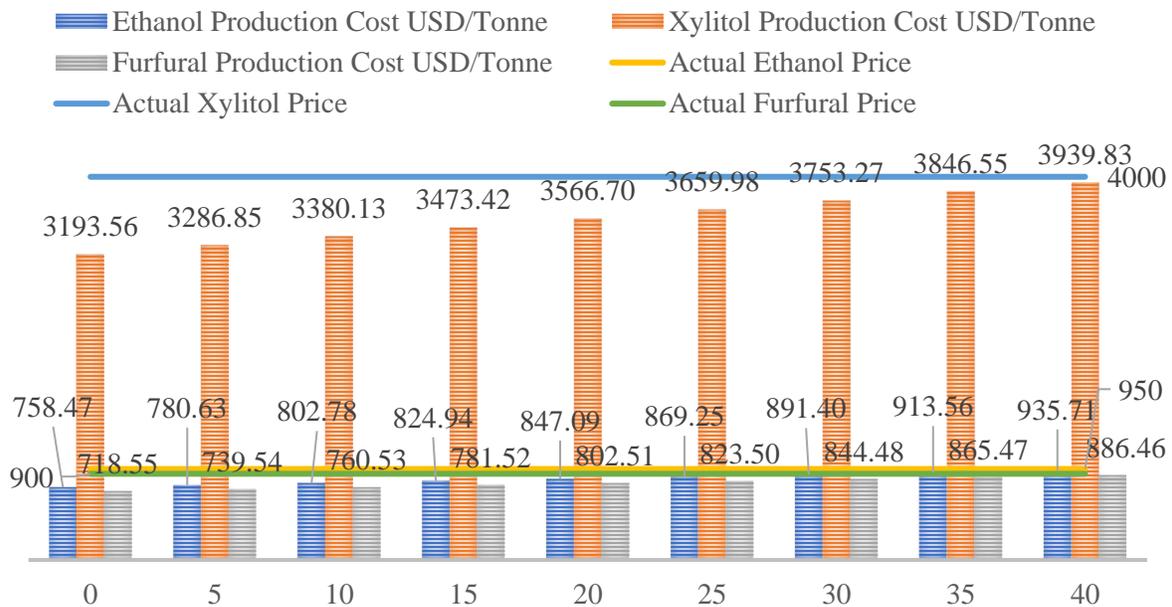


Figura 30 Costo de producción de etanol, xilitol y furfural a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/ton) escenario C_{ZmCmF}

Tabla XX Análisis de sensibilidad del valor presente neto del escenario C_{ZmCmF}

Costo Materia Prima US\$/Ton	Valor Presente Neto MUS\$
0	32.88
5	29.35
10	25.82
15	22.28
20	18.75
25	15.22
30	11.69
35	8.16
40	4.63

Del análisis del escenario C_{ZmCmF} se obtuvieron reducciones en el costo de producción del 20% para etanol, 21% para furfural y 19% para xilitol para el costo actual del bagazo de agave **Figura 30**. En cuanto al valor presente neto, a pesar de que se obtuvieron valores positivos no es el escenario más atractivo económicamente **Tabla XX**.

En la **Tabla XXI** se muestra el costo de producción y el valor presente neto para el escenario D_{Ec} , en donde es posible determinar que, de los escenarios evaluados hasta este punto, el escenario D es el que presenta mayor reducción en el costo de producción y el mayor valor presente neto.

Tabla XXI Costo de producción y valor presente neto del escenario D_{Ec}

Costo Materia Prima	Costo de producción US\$/ Ton				Valor presente neto MUS\$
	Etanol	Xilitol	Lactato	Succinato	
0	44.03	185.38	67.2	95.47	549.08
5	49.81	209.73	76.03	108.01	545.55
10	55.59	234.07	84.85	120.55	542.02
15	61.37	258.42	93.68	133.08	538.48
20	67.16	282.76	102.5	145.62	534.95
25	72.94	307.11	111.33	158.16	531.42
30	78.72	331.45	120.15	170.7	527.89
35	84.5	355.79	128.98	183.23	524.35
40	90.28	380.14	137.8	195.77	520.82

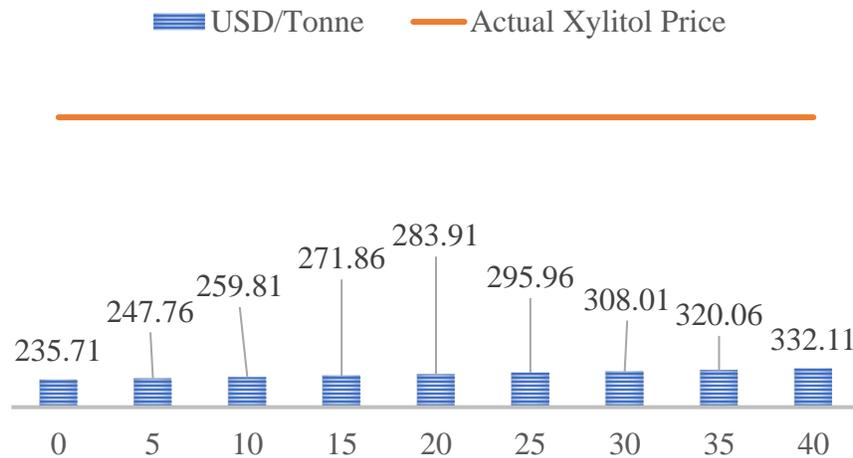


Figura 31 Costo de producción de xilitol a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario E_{Ec}

El escenario de producción de xilitol, es el proceso más rentable como se puede observar en la **Figura 31** lo anterior se debe al elevado precio de venta del mismo.

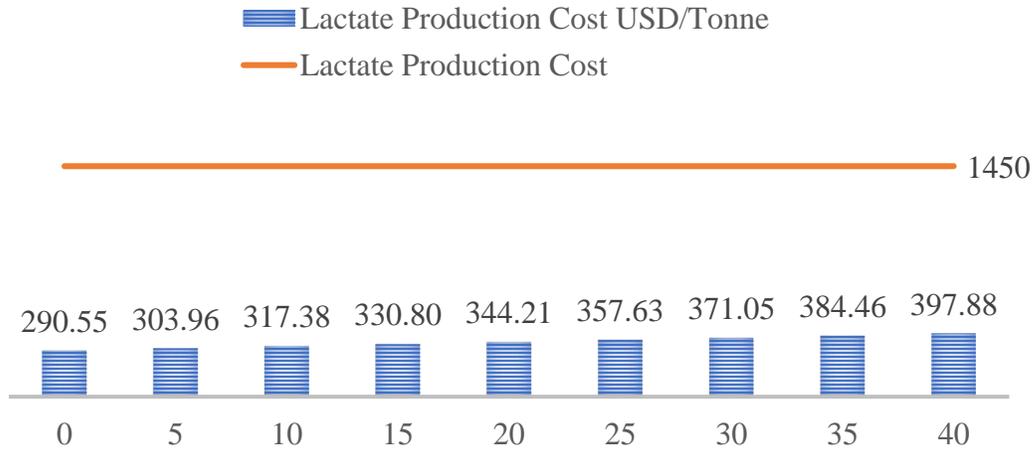


Figura 32 Costo de producción de lactato a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario F_{Ec}

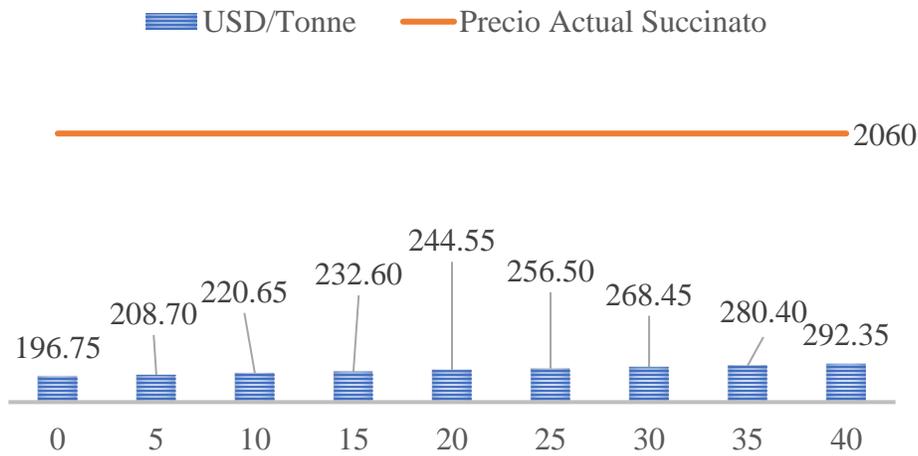


Figura 33 Costo de producción de succinato a partir de diferentes costos de materia prima (US\$/Ton) escenario G_{Ec}

Tanto la producción de lactato como succinato resultan atractivas **Figuras 32 y 33**. Sin embargo, el escenario con mayor rentabilidad corresponde al de la producción de xilitol. Finalmente, en las siguientes tablas se muestra un comparativo del costo de producción para todos los escenarios evaluados, considerando un costo de materia prima de 10 US\$/ton y 40 US\$/ton.

Tabla XXII Costo de producción de la cartera considerando costo de materia prima de 10 US\$/ton

Scn.	Producto	Costo	Unidad
A _{Zm}	Etanol	1006.88	US\$/Ton
	Electricidad	0.0677	US\$/Kw
A _{Ec}	Etanol	273.09	US\$/Ton
	Electricidad	0.0178	US\$/Kw
B _{ZmCm}	Etanol	669.43	US\$/Ton
	Xilitol	2818.63	US\$/Ton
	Electricidad	0.0437	US\$/Kw
B _{Ec}	Etanol	85.04	US\$/Ton
	Xilitol	358.04	US\$/Ton
	Electricidad	0.0055	US\$/Kw
C _{Zm+Cm+F}	Etanol	802.78	US\$/Ton
	Xilitol	3380.13	US\$/Ton
	Furfural	760.53	US\$/Ton
	Electricidad	0.0524	US\$/Kw
D _{Ec}	Etanol	55.59	US\$/Ton
	Xilitol	234.07	US\$/Ton
	Lactato	84.85	US\$/Ton
	Succinato	120.55	US\$/Ton
	Electricidad	0.0036	US\$/Kw
E _{Ec}	Xilitol	259.81	US\$/Ton
	Electricidad	0.004	US\$/Kw
F _{Ec}	Lactato	317.38	US\$/Ton
	Electricidad	0.0135	US\$/Kw
G _{Ec}	Succinato	220.65	US\$/Ton
	Electricidad	0.0066	US\$/Kw

Es posible observar que, para todos los escenarios evaluados, el costo de producción es menor que el precio de venta de los productos. Siendo los más atractivos son aquellos en los que se usa la bacteria *E. coli*.

Tabla XXIII Costo de producción de la cartera considerando costo de materia prima de 40 USD/Ton

Scn.	Producto	Costo	Unidad
A _{Zm}	Etanol	1216.656	USD/Ton
	Electricidad	0.0794	USD/Kw
A _{Ec}	Etanol	358.168	USD/Ton
	Electricidad	0.0234	USD/Kw
B _{ZmCm}	Etanol	790.22	USD/Ton
	Xilitol	3327.25	USD/Ton
	Electricidad	0.0515	USD/Kw
B _{Ec}	Etanol	125.98	USD/Ton
	Xilitol	530.46	USD/Ton
	Electricidad	0.0082	USD/Kw
C _{Zm+Cm+F}	Etanol	935.71	USD/Ton
	Xilitol	3939.83	USD/Ton
	Furfural	886.46	USD/Ton
	Electricidad	0.061	USD/Kw
D _{Ec}	Etanol	90.28	USD/Ton
	Xilitol	380.14	USD/Ton
	Lactato	137.8	USD/Ton
	Succinato	195.77	USD/Ton
	Electricidad	0.0059	USD/Kw
E _{Ec}	Xilitol	332.11	USD/Ton
	Electricidad	0.0051	USD/Kw
F _{Ec}	Lactato	397.88	USD/Ton
	Electricidad	0.017	USD/Kw
G _{Ec}	Succinato	292.35	USD/Ton
	Electricidad	0.0088	USD/Kw

4.7 Análisis Ambiental RESULTADO

Para el análisis ambiental se utilizó la metodología de la herramienta GREENSCOPE de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), se llevó a cabo la

investigación de los indicadores de sostenibilidad adecuados para evaluar los escenarios de simulación planteados para la producción de etanol, xilitol, furfural, ácido láctico y ácido succínico la **Tabla XXIV** muestra los indicadores empleados.

Tabla XXIV Indicadores empleados en el análisis ambiental con la herramienta GREENSCOPE

Indicador	Definición
1. $N_{\text{haz. mat.}}$	Número de sustancias peligrosas alimentadas al proceso.
2. $m_{\text{haz. mat.}}$	Masa total de sustancias peligrosas alimentadas al proceso.
3. $m_{\text{haz. mat. spec.}}$	Masa total de sustancias peligrosas alimentadas al proceso por unidad de producto valioso
4. $m_{\text{PBT mat.}}$	Masa total de sustancias que tienen propiedades de persistencia, bioacumulativas y tóxicas (PBT) utilizadas por el proceso
6. $HH_{\text{irritation}}$	Irritación dérmica y ocular para humanos y animales en términos de un volumen hipotético de sustancias irritantes en el lugar de trabajo por masa de producto valioso.
7. $HH_{\text{chronic toxicity}}$	Esto se expresa como un volumen de aire contaminado a un valor de umbral de lugar de trabajo por unidad de masa de producto valioso. Aspectos considerados: carcinogenicidad, mutagenicidad, toxicidad reproductiva, inmunotoxicidad de sensibilización, otra toxicidad específica (hígado, pulmón, neural) y olor a humanos y animales.
10. $SH_{\text{reac/dec I}}$	Aspectos considerados: Estabilidad térmica, incompatible con aire, agua, ácido, metal, sustancias orgánicas y reacción exotérmica ".
12. $SH_{\text{acute tox.}}$	Toxicidad aguda para humanos y animales.
13. FTA	FTA es la probabilidad de falla del sistema si se conoce la confiabilidad de los componentes individuales.
19. EH_{air}	Carcinogenicidad, mutagenicidad, toxicidad reproductiva, sensibilización al ser humano y al medio ambiente.
22. $EH_{\text{bioacc.}}$	Acumulación en cadena alimentaria, suelo y materia orgánica.
48. EYR	EYR es la relación entre el valor energético de los productos y la energía total consumida por el proceso.
50. BF_M	BFM es la relación entre las salidas totales del proceso de energía sobre la energía no renovable en las entradas del proceso.
51. RI	RI es la relación entre el consumo de energía renovable y la energía total suministrada al proceso. Se encuentra entre 0 y 1.

Esta herramienta fue aplicada para realizar la comparación de los escenarios que fabrican el mismo producto a partir del esquema convencional y no-convencional, ya que éstos emplean diferentes cinéticas de reacción y condiciones de operación en el pretratamiento, así como etapas de procesamiento. De esta manera la evaluación de sostenibilidad permite describir

qué tan bien el escenario analizado utiliza los insumos de masa y energía para fabricar un producto valioso, pero a su vez satisface las necesidades sociales y ambientales, al tiempo que maximiza sus beneficios económicos. La **Tabla XXV** muestra los resultados obtenidos del escenario A_{Zm} y A_{Ec} , en el cual se puede observar que los resultados no difieren mucho. Sin embargo, el esquema que emplea OMG, presenta valores más atractivos.

Tabla XXV Comparativo de los indicadores para la producción de Etanol a partir de *Z. Mobilis* y la cepa *E. Coli*

Indicador	Escenario A_{Zm} SUST.(%)	Escenario A_{Ec} SUST(%)
1. $N_{haz. mat.}$	92.31	92.31
2. $m_{haz. mat.}$	99.85	100
3. $m_{haz. mat. spec.}$	99.85	100
4. $m_{PBT mat.}$	100	100
6. $HH_{irritation}$	98.19	100
7. $HH_{chronic toxicity}$	98.11	100
10. $SH_{reac/dec I}$	86	100
12. $SH_{acute tox.}$	98.81	100
13. FTA	50	50
19. EH_{air}	98.11	100
22. $EH_{bioacc.}$	99.91	99.96
48. EYR	0	0
50. BF_M	0	28.6
51. RI	0	0

De igual manera los resultados obtenidos del análisis del escenario B que corresponde a la producción de etanol y xilitol fueron similares como se observa en la **Tabla XXVI**, la principal diferencia al igual que en el caso anterior radica en la relación entre las salidas totales del proceso de energía sobre la energía no renovable en las entradas del proceso, mientras que en la biorefinería convencional el porcentaje es 0 en la no convencional se tiene

un valor del 25%, es decir se tiene un aprovechamiento del 25% de la energía obtenida del proceso.

Tabla XXVI Comparativo de los indicadores para la producción de etanol y xilitol a partir de *Z. mobilis*, *C. mogii* y las cepas *E. Coli*

Indicador	Escenario B_{ZmCm} Sust.(%)	Escenario B_{Ec} Sust.(%)
1. N _{haz. mat.}	92.31	92.31
2. m _{haz. mat.}	99.84	100
3. m _{haz. mat. spec.}	99.84	100
4. m _{PBT mat.}	100	100
6.HH _{irritation}	95.42	100
7.HH _{chronic toxicity}	95.22	100
10.SH _{reac/dec I}	86	86
12. SH _{acute tox.}	96.98	100
13. FTA	50	50
19. EH _{air}	95.22	100
22. EH _{bioacc.}	95.5	99.93
48. EYR	0	0
50. BF _M	0	25
51. RI	0	0

La **Tabla XXVII** muestra el comparativo de los resultados de los esquemas de biorefinería más completos estudiados en el caso convencional se refiere a la producción de etanol, xilitol y furfural a partir de *Z. mobilis*, *C. mogii* y el furfural mediante la ciclodeshidratación de la xilosa. Por otro lado, en el caso no convencional la producción de etanol, xilitol, ácido láctico y ácido succínico a partir de diferentes cepas de *E. coli* modificadas genéticamente. El resultado obtenido es muy similar a los reportados anteriormente donde el escenario más sostenible conforme a la evaluación realizada corresponde al que emplea microorganismos

modificados genéticamente, lo anterior se atribuye a la reducción en el consumo de agua, debido a la eliminación de la etapa de detoxificación, con lo cual no solo se reduce el consumo de agua, sino también de compuestos que resultan tóxicos y reducción en costos de equipo.

Tabla XXVII Comparativo de los indicadores para la producción de etanol, xilitol y furfural a partir de *Z. Mobilis*, *C. mogii* y ciclodeshidratación y las cepas E. Coli

Indicador	Escenario C_{ZmCmF} Sust.(%)	Escenario D_{Ec}
1. N _{haz. mat.}	92.31	92.31
2. m _{haz. mat.}	99.84	100
3. m _{haz. mat. spec.}	99.84	100
4. m _{PBT mat.}	100	100
6. HH _{irritation}	95.41	100
7. HH _{chronic toxicity}	95.21	100
10. SH _{reac/dec I}	86	86
12. SH _{acute tox.}	96.96	100
13. FTA	50	50
19. EH _{air}	95.22	100
22. EH _{bioacc.}	95.21	100
48. EYR	0	0
50. BF _M	0	24.2
51. RI	0	0

Capítulo 5. CONCLUSIONES

Se observó que las biorefinerías a pequeña escala como alternativa para el uso de residuos y/o complemento del proceso de producción del tequila tradicional a gran escala tienen la capacidad para aumentar la sostenibilidad general del procesamiento de la materia prima. Como reducir el uso de energía y la huella de carbono al reducir los movimientos de transporte. Además, la inclusión de microorganismos modificados genéticamente brinda oportunidades para omitir ciertas operaciones unitarias y utilizar tecnologías menos costosas. Superando con ello las economías de escala convencional en capital y gastos operativos. Con un enfoque integral a lo largo de la cadena de valor, la introducción de biorefinerías a pequeña escala puede ayudar a enfrentar los desafíos de la industria de biocombustibles, al tiempo que beneficia a las personas, el planeta y la economía.

Dentro de las ventajas de la biorefinería a pequeña escala se tienen transportes reducidos, y con ello deterioro reducido de la materia prima, disminución en el tratamiento de residuos, aumento de los ingresos hacia los agricultores y reducción del agotamiento del agua local. Así como la capacidad de expandir rápidamente la capacidad, ser más flexible con las regulaciones. Además de que la construcción secuencial de varias biorefinerías a pequeña escala podría además reducir la economía de escala en gastos de capital debido a unidades múltiples y economías de aprendizaje. Además, si se utilizan operaciones unitarias intensivas se pueden disminuir aún más los gastos de capital.

En cuanto al análisis ambiental los escenarios del esquema no convencional son los que presentan una mejor evaluación, alcanzando en la mayoría de ellos el puntaje más alto correspondiente al 100%. Sin embargo, el esquema no convencional también presenta valores que demuestran que son procesos sostenibles. Los índices ambientales que están orientados al consumo y uso energético para ambos esquemas muestran que los procesos no son sostenibles en este aspecto. A pesar de ello, aquellos escenarios que emplean la bacteria *E. coli* tienen un mejor porcentaje. Por lo tanto, de los resultados obtenidos anteriormente referente al consumo de agua fresca, así como los obtenidos de la evaluación con la metodología GREENSCOPE se llega a la conclusión de que los escenarios más sostenibles son los del esquema no convencional.

REFERENCIAS

- Abdul-Manan, Amir F.N., Abdullah Arfaj, and Hassan Babiker. 2017. "Oil Refining in a CO₂ Constrained World: Effects of Carbon Pricing on Refineries Globally." *Energy* 121: 264–75.
- Agirrezabal-Telleria, I., I. Gandarias, and P. L. Arias. 2013. "Production of Furfural from Pentosan-Rich Biomass: Analysis of Process Parameters during Simultaneous Furfural Stripping." *Bioresource Technology* 143: 258–64.
- Åkerberg, Christina, and Guido Zacchi. 2000. "An Economic Evaluation of the Fermentative Production of Lactic Acid from Wheat Flour." *Bioresource Technology* 75(2): 119–26.
- "ALIBABA 2014 International Prices."
- Aline. *International Energy Agency. Redrawing the Energy-Climate Map. World Energy Outlook Special Report.* www.worldenergyoutlook.org/energyclimatemap (August 6, 2020).
- Alvarado, Carlos. "Biotechnological Production of Lactic Acid and Its Recent Applications." https://www.academia.edu/28488273/Biotechnological_Production_of_Lactic_Acid_and_Its_Recent_Applications (August 8, 2020).
- Andrés, Diego, and Suárez Zuluaga. 2007. *EVALUACIÓN Y SIMULACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO CON Lactobacillus Casei ATCC 7469.*
- "Biocore Project." <http://www.biocore-europe.org/> (August 7, 2020).
- "BIOWERT - Bio Based Industry."
- Botero, Jonathan Moncada. 2012. "Design and Evaluation of Sustainable Biorefineries from Feedstocks in Tropical Regions."
- Bozell, Joseph J., and Gene R. Petersen. 2010. "Technology Development for the Production of Biobased Products from Biorefinery Carbohydrates—the US Department of Energy's 'Top 10' Revisited." *Green Chemistry* 12(4): 539–55. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2010/gc/b922014c> (August 8, 2020).
- Bruins, Marieke E., and Johan P.M. Sanders. 2012. "Small-Scale Processing of Biomass for Biorefinery." *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 6(2): 135–45. <http://doi.wiley.com/10.1002/bbb.1319> (August 7, 2020).
- Camaño, Irina Herazo, Irina Cristina Herazo Camaño, Danella Ruiz Cárdenas, and Guillermo Segundo Arrázola Paternina. 2011. "Utilización de Candida Guilliermondii Aislada Del Corozo Chiquito (Bactris Guineensis) En La Producción de Xilitol." *Revista Colombiana de Biotecnología* 13(1): 52–57. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/22937> (August 8, 2020).
- Cardona Alzate, C. A., and O. J. Sánchez Toro. 2006. "Energy Consumption Analysis of Integrated Flowsheets for Production of Fuel Ethanol from Lignocellulosic Biomass." *Energy* 31(13): 2447–59.

- Chandel, Anuj K et al. 2012. "Sugarcane Bagasse and Leaves: Foreseeable Biomass of Biofuel and Bio-Products Second Generation Cellulosic Ethanol from Sugarcane Biomass View Project Biological Detoxification of Sugarcane Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate Employing *Issatchenkia Occidentalis* and *Issatchenkia Orientalis* View Project Mini-Review Sugarcane Bagasse and Leaves: Foreseeable Biomass of Biofuel and Bio-Products." *Article in Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 87(1): 11–20. www.soci.org (August 7, 2020).
- Cheng, Ke Ke et al. 2012. "Downstream Processing of Biotechnological Produced Succinic Acid." *Applied Microbiology and Biotechnology* 95(4): 841–50. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-012-4214-x> (August 7, 2020).
- Cheon, Pyung, Sang Yup Lee, and Ho Nam Chang. 2008. "Succinic Acid Production by *Anaerobiospirillum Succiniciproducens* ATCC 29305 Growing on Galactose, Galactose/Glucose, and Galactose/Lactose." *J. Microbiol. Biotechnol* 18(11): 1792–96.
- Cherubini, Francesco et al. 2009. "Toward a Common Classification Approach for Biorefinery Systems." *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 3(5): 534–46. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/bbb.172> (August 7, 2020).
- Cirino, Patrick C., Jonathan W. Chin, and Lonnie O. Ingram. 2006. "Engineering *Escherichia Coli* for Xylitol Production from Glucose-Xylose Mixtures." *Biotechnology and Bioengineering* 95(6): 1167–76. <https://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/bit.21082> (August 7, 2020).
- Czarnikow Redefined*. www.czarnikow.com (August 7, 2020).
- Datta, Rathin et al. 1995. "Technological and Economic Potential of Poly(Lactic Acid) and Lactic Acid Derivatives." *FEMS Microbiology Reviews* 16(2–3): 221–31. <https://academic.oup.com/femsre/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6976.1995.tb00168.x> (August 8, 2020).
- Datta, Rathin, and Michael Henry. 2006. "Lactic Acid: Recent Advances in Products, Processes and Technologies - A Review." *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 81(7): 1119–29. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jctb.1486> (August 8, 2020).
- Dávila, Javier A., Moshe Rosenberg, and Carlos A. Cardona. 2017. "A Biorefinery for Efficient Processing and Utilization of Spent Pulp of Colombian Andes Berry (*Rubus Glaucus* Benth.): Experimental, Techno-Economic and Environmental Assessment." *Bioresource Technology* 223: 227–36.
- Dias, Marina O.S. et al. 2013. "Biorefineries for the Production of First and Second Generation Ethanol and Electricity from Sugarcane." *Applied Energy* 109: 72–78.
- Ferreira Capellaro, Angélica et al. 2012. "Internationalisation of Brazilian Ethanol: An Analysis of the Current Scenario." *African Journal of Business Management* 6(42): 10677–86. <http://www.academicjournals.org/AJBM> (August 7, 2020).
- Galán, Ernesto Macías et al. *RENEWABLES 2015 GLOBAL STATUS REPORT Annual Reporting on Renewables: Ten Years of Excellence 2015 2 REN 21 STEERING*

COMMITTEE INDUSTRY ASSOCIATIONS Rainer Hinrichs-Rahlwes European Renewable Energies Federation (EREF) INTERNATIONAL ORGANISATIONS Irene Giner-Reichl Global Forum on Sustainable Energy (GFSE) MEMBERS AT LARGE NATIONAL GOVERNMENTS SCIENCE AND ACADEMIA EXECUTIVE SECRETARY.

- Gandini, Alessandro, and Mohamed Naceur Belgacem. 1997. "Furans in Polymer Chemistry." *Progress in Polymer Science (Oxford)* 22(6): 1203–1379.
- Gheewala, Shabbir H., Beau Damen, and Xunpeng Shi. 2013. "Biofuels: Economic, Environmental and Social Benefits and Costs for Developing Countries in Asia." *Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change* 4(6): 497–511.
- Van de Graaf, Thijs, and Aviel Verbruggen. 2015. "The Oil Endgame: Strategies of Oil Exporters in a Carbon-Constrained World." *Environmental Science & Policy* 54: 456–62. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1462901115300587> (August 6, 2020).
- van der Hilst, F. et al. 2010. "Potential, Spatial Distribution and Economic Performance of Regional Biomass Chains: The North of the Netherlands as Example." *Agricultural Systems* 103(7): 403–17.
- Humbird, D et al. 2002. *Process Design and Economics for Biochemical Conversion of Lignocellulosic Biomass to Ethanol: Dilute-Acid Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Corn Stover*. <http://www.osti.gov/bridge> (August 7, 2020).
- "ICIS Chemical Pricing. Price Reports for Chemicals." 2010.
- IEA. 2016. *World Energy Outlook 2016 World Energy Outlook Special Report: Water-Energy Nexus*. OECD. <https://doi-org.focus.lib.kth.se/10.1787/weo-2016-en> (August 6, 2020).
- "Jarvis, L. (2001) Lactic Acid Outlook up as Polylactide Nears Market. Chem Market Rep 259: 5–14 - Buscar Con Google." https://www.google.com/search?q=Jarvis%2C+L.+%282001%29+Lactic+acid+outlook+up+as+polylactide+nears+market.+Chem+Market+Rep+259%3A+5-14&rlz=1C1HLDY_esMX720MX720&oq=Jarvis%2C+L.+%282001%29+Lactic+acid+outlook+up+as+polylactide+nears+market.+Chem+Market+Rep+259%3A+5-14&aqs=chrome..69i57.834j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8 (August 8, 2020).
- Jin, Qiang et al. 2011. "Kinetic Characterization for Hemicellulose Hydrolysis of Corn Stover in a Dilute Acid Cycle Spray Flow-through Reactor at Moderate Conditions." *Biomass and Bioenergy* 35(10): 4158–64.
- Joglekar, H.G. et al. "Comparative Assessment of Downstream Processing Options for Lactic Acid." *Separation and Purification Technology* 52(1): 1–17. https://www.academia.edu/13778336/Comparative_Assessment_of_Downstream_Processing_Options_for_Lactic_Acid (August 8, 2020).
- John, Rojan P., K. Madhavan Nampoothiri, and Ashok Pandey. 2007. "Fermentative Production of Lactic Acid from Biomass: An Overview on Process Developments and Future Perspectives." *Applied Microbiology and Biotechnology* 74(3): 524–34.

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17225102/> (August 8, 2020).
- Kamm, B., and M. Kamm. 2006. "Biorefineries - Multi Product Processes." *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology* 105: 175–204.
- Kamm, Birgit, Patrick R. Gruber, and Michael Kamm. 2005. 1–2 Biorefineries-Industrial Processes and Products: Status Quo and Future Directions *Biorefineries-Industrial Processes and Products*. eds. Birgit Kamm, Patrick R. Gruber, and Michael Kamm. Wiley. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9783527619849> (August 8, 2020).
- Keller, Heiko, Nils Rettenmaier, and Guido Andreas Reinhardt. 2015. "Integrated Life Cycle Sustainability Assessment - A Practical Approach Applied to Biorefineries." *Applied Energy* 154: 1072–81.
- Kumar, Rakesh, Hemant Nanavati, Santosh B Noronha, and Sanjay M Mahajani. 2006. "A Continuous Process for the Recovery of Lactic Acid by Reactive Distillation." *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 81(11): 1767–77. <http://doi.wiley.com/10.1002/jctb.1603> (August 7, 2020).
- Lange, Jean Paul. 2001. "Fuels and Chemicals Manufacturing: Guidelines for Understanding and Minimizing the Production Costs." *CATTECH* 5(2): 82–95.
- Leksawasdi, Noppol, Eva L. Joachimsthal, and Peter L. Rogers. 2001. "Mathematical Modelling of Ethanol Production from Glucose/Xylose Mixtures by Recombinant *Zymomonas Mobilis*." *Biotechnology Letters* 23(13): 1087–93.
- Maity, Sunil K. 2015. "Opportunities, Recent Trends and Challenges of Integrated Biorefinery: Part II." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 43: 1446–66.
- Mäkinen, K. K. 2000. "The Rocky Road of Xylitol to Its Clinical Application." *Journal of Dental Research* 79(6): 1352–55. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10890712/> (August 8, 2020).
- Mäkinen, K.K. et al. 2001. "Comparison of Erythritol and Xylitol Saliva Stimulants in the Control of Dental Plaque and Mutans Streptococci." *Caries Research* 35(2): 129–35. <https://www.karger.com/Article/FullText/47444> (August 8, 2020).
- Martinez, E. A. et al. 2002. "USO DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS PARA LA PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE XILITOL USE OF DIFFERENT RAW MATERIALS FOR BIOTECHNOLOGICAL XYLITOL PRODUCTION USO DE DIFERENTES MATERIAS PRIMAS PARA Á PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓXICA DE XILITOL." *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 3(5): 295–301. <https://doi.org/10.1080/11358120209487742> (August 7, 2020).
- Moncada B, Jonathan, Valentina Aristizábal M, and Carlos A. Cardona A. 2016. "Design Strategies for Sustainable Biorefineries." *Biochemical Engineering Journal* 116: 122–34.
- Morales-Rodriguez, Ricardo, Krist V. Gernaey, Anne S. Meyer, and Gürkan Sin. 2011. "A Mathematical Model for Simultaneous Saccharification and Co-Fermentation (SSCF) of C6 and C5 Sugars." *Chinese Journal of Chemical Engineering* 19(2): 185–91.

Mussatto, Solange Inês, and Inês Conceição Roberto. 2004. “Alternatives for Detoxification of Diluted-Acid Lignocellulosic Hydrolyzates for Use in Fermentative Processes: A Review.” *Bioresource Technology* 93(1): 1–10.

“NME, N.m.y.E. LyD Considers Risky the Propose of an Energetic Development Based on Shale Gas.” 2013.

O’Hara, Ian M., and Dianne Glenn. 2017. “The Economic Case for Bioeconomy Development in Australia.” *Industrial Biotechnology* 13(2): 65–68. <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ind.2016.29046.imo> (August 7, 2020).

Parajó, Juan Carlos, Herminia Domínguez, and José Manuel Domínguez. 1998. “Biotechnological Production of Xylitol. Part 1: Interest of Xylitol and Fundamentals of Its Biosynthesis.” *Bioresource Technology* 65(3): 191–201.

Parajuli, Ranjan et al. 2015. “Biorefining in the Prevailing Energy and Materials Crisis: A Review of Sustainable Pathways for Biorefinery Value Chains and Sustainability Assessment Methodologies.” *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 43: 244–63.

Pereira, Lucas G. et al. 2014. “Butanol Production in a Sugarcane Biorefinery Using Ethanol as Feedstock. Part II: Integration to a Second Generation Sugarcane Distillery.” *Chemical Engineering Research and Design* 92(8): 1452–62.

Pitt, W. W., G. L. Haag, and D. D. Lee. 1983. “Recovery of Ethanol from Fermentation Broths Using Selective Sorption–Desorption.” *Biotechnology and Bioengineering* 25(1): 123–31.

Please Send the Interim Report to: Calleranet-Lac@cyted.Org PROJECT 1 St ERANet-LAC Joint Call.

“Profile: Biorefinery Glas - Small-Scale Farmer-Led Green Biorefineries.” <https://biorrefineria.blogspot.com/2018/12/profile-biorefinery-glas-small-scale-farmer-led-green-biorefineries.html> (August 7, 2020).

“Profile: DADTCO – Small-Scale Processing for the Cassava Revolution in Africa.” <https://biorrefineria.blogspot.com/2017/04/profile-dadtco-small-scale-processing-for-the-cassava-revolution-in-Africa.html> (August 7, 2020).

“Profile: Hephaestus – Modular AgriBioEnergetic Districts.” <https://biorrefineria.blogspot.com/2018/11/profile-hephaestus-modular-agribioenergetic-districts.html> (August 7, 2020).

“Profile: Micro H2AD – Small-Scale Fast Anaerobic Digestion.” <https://biorrefineria.blogspot.com/2017/10/profile-micro-h2ad-small-scale-fast-anaerobic-digestion-small-scale-biorefining.html> (August 7, 2020).

“Profile: MiniDest – The Small-Sized Corn Ethanol Plants of Porta.” <https://biorrefineria.blogspot.com/2017/10/profile-minidest-small-sized-corn-ethanol-plant-Porta-small-scale-biorefineries.html> (August 7, 2020).

“Profile: Nettenergy - The Autarkic Mobile Pyrolysis Plant.” <https://biorrefineria.blogspot.com/2018/12/profile-nettenergy-autarkic-mobile->

- pyrolysis-plant-small-scale-biorefineries.html (August 7, 2020).
- “Projects - Grassa.” <https://grassa.nl/en/projects/> (August 7, 2020).
- Quintero, Julián A., Jonathan Moncada, and Carlos A. Cardona. 2013. “Techno-Economic Analysis of Bioethanol Production from Lignocellulosic Residues in Colombia: A Process Simulation Approach.” *Bioresource Technology* 139: 300–307.
- Rabelo, S. C., H. Carrere, R. Maciel Filho, and A. C. Costa. 2011. “Production of Bioethanol, Methane and Heat from Sugarcane Bagasse in a Biorefinery Concept.” *Bioresource Technology* 102(17): 7887–95.
- Rass-Hansen, Jeppe, Hanne Falsig, Betina Jørgensen, and Claus H. Christensen. 2007. “Bioethanol: Fuel or Feedstock?” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 82(4): 329–33. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jctb.1665> (August 8, 2020).
- Renó, Maria Luiza Grillo et al. 2014. “Sugarcane Biorefineries: Case Studies Applied to the Brazilian Sugar-Alcohol Industry.” *Energy Conversion and Management* 86: 981–91.
- Rodríguez-Chong, Antonio, José Alberto Ramírez, Gil Garrote, and Manuel Vázquez. 2004. “Hydrolysis of Sugar Cane Bagasse Using Nitric Acid: A Kinetic Assessment.” *Journal of Food Engineering* 61(2): 143–52. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877403000803> (August 8, 2020).
- Sánchez, J, and Carlos A Cardona. 2007. “Trends in Biotechnological Production of Fuel Ethanol from Different Feedstocks.” www.sciencedirect.com (August 8, 2020).
- Sanders, J. P.M. et al. 2012. “Process Intensification in the Future Production of Base Chemicals from Biomass.” *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 51: 117–36. <https://research.utwente.nl/en/publications/process-intensification-in-the-future-production-of-base-chemical> (August 7, 2020).
- Sanders, Johan P. M., Bert Annevelink, and Diederik van der Hoeven. 2009. “The Development of Biocommodities and the Role of North West European Ports in Biomass Chains.” *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 3(3): 395–409. <http://doi.wiley.com/10.1002/bbb.146> (August 7, 2020).
- Sawisit, Apichai et al. 2015. “Mutation in GalP Improved Fermentation of Mixed Sugars to Succinate Using Engineered Escherichia Coli AS1600a and AM1 Mineral Salts Medium.” *Bioresource Technology* 193: 433–41.
- Söderling, Eva et al. 2011. “The Effect of Xylitol on the Composition of the Oral Flora: A Pilot Study.” *European journal of dentistry* 5(1): 24–31. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21311610> (August 8, 2020).
- Song, Hyohak, and Sang Yup Lee. 2006. “Production of Succinic Acid by Bacterial Fermentation.” *Enzyme and Microbial Technology* 39(3): 352–61.
- Tekin, T., and M. Bayramoğlu. 1998. “Exergy Analysis of the Sugar Production Process from Sugar Beets.” *International Journal of Energy Research* 22(7): 591–601. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/%28SICI%291099->

- 114X%2819980610%2922%3A7%3C591%3A%3AAID-ER360%3E3.0.CO%3B2-D (August 7, 2020).
- “The Chemistry and Technology of Furfural and Its Many By-Products, Volume 13 - 1st Edition.” <https://www.elsevier.com/books/the-chemistry-and-technology-of-furfural-and-its-many-by-products/zeitsch/978-0-444-50351-0> (August 8, 2020).
- Tochampa, Worasit et al. 2005. “A Model of Xylitol Production by the Yeast *Candida Mogii*.” *Springer* 28(3): 175–83. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00449-005-0025-0> (June 17, 2020).
- Utrilla, José et al. 2016. “Production of D-Lactate from Sugarcane Bagasse and Corn Stover Hydrolysates Using Metabolic Engineered *Escherichia Coli* Strains.” *Bioresource Technology* 220: 208–14. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27573474/> (August 7, 2020).
- Vargas-Tah, Alejandra et al. 2015. “Non-Severe Thermochemical Hydrolysis of Stover from White Corn and Sequential Enzymatic Saccharification and Fermentation to Ethanol.” *Bioresource Technology* 198: 611–18.
- “VERBIO AG - Verbio.” <https://www.verbio.de/en/> (August 7, 2020).
- Weusthuis, Ruud A., Jac M.M.J.G. Aarts, and Johan P.M. Sanders. 2011. “From Biofuel to Bioproduct: Is Bioethanol a Suitable Fermentation Feedstock for Synthesis of Bulk Chemicals?” *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 5(5): 486–94. <http://doi.wiley.com/10.1002/bbb.307> (August 8, 2020).
- Willke, Th, and K. D. Vorlop. 2004. “Industrial Bioconversion of Renewable Resources as an Alternative to Conventional Chemistry.” *Applied Microbiology and Biotechnology* 66(2): 131–42. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15372215/> (August 8, 2020).
- Zaldivar, Jesus, Alfredo Martinez, and Lonnie O. Ingram. 1999. “Effect of Selected Aldehydes on the Growth and Fermentation of Ethanogenic *Escherichia Coli*.” *Biotechnology and Bioengineering* 65(1): 24–33. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/%28SICI%291097-0290%2819991005%2965%3A1%3C24%3A%3AAID-BIT4%3E3.0.CO%3B2-2> (August 7, 2020).
- Zeikus, J. G., M. K. Jain, and P. Elankovan. 1999. “Biotechnology of Succinic Acid Production and Markets for Derived Industrial Products.” *Applied Microbiology and Biotechnology* 51(5): 545–52. <https://link.springer.com/article/10.1007/s002530051431> (August 8, 2020).