



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"

# UNIVERSIDAD DE SONORA

## DIVISIÓN DE INGENIERÍA

### POSGRADO EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA

#### DETERMINACIÓN DEL MECANISMO DE HIDRÓLISIS ÁCIDA DE HEMICELULOSA DE *Cenchrus ciliaris*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
DOCTOR EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA

PRESENTA:

**KAREEN KRIZZAN ENCINAS SOTO**

**DIRECTOR: DR. MANUEL PEREZ TELLO**

**CO-DIRECTOR: DR. ABRAHAM ROGELIO MÁRTIN GARCÍA**

Hermosillo, Sonora

Junio, 2016

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## OFICIO DE APROBACIÓN DEL JURADO

## OFICIO DE AUTORIZACIÓN DE EXAMEN DE GRADO

## RESUMEN

En el presente trabajo se realizó un estudio teórico-experimental con el fin de determinar los mecanismos de la hidrólisis ácida de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*. La parte experimental incluyó tres etapas: degradación de los carbohidratos puros producidos durante la hidrólisis (xilosa, glucosa, arabinosa); hidrólisis de los homopolímeros individuales: xilán, glucán, y arabinán; y la hidrólisis de hemicelulosa extraída de *Cenchrus ciliaris*. Los experimentos se realizaron en un reactor intermitente a 120 °C en condiciones tales que se minimizaron los efectos de transferencia de masa externa a las partículas. La concentración de ácido sulfúrico en la solución acuosa se especificó en 0, 0.05 y 0.15 M. Las variables de salida incluyeron las concentraciones de xilosa, glucosa, arabinosa, y furfural en la solución acuosa como funciones del tiempo. La caracterización de las partículas se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de barrido, análisis termogravimétrico y difracción de luz láser para la determinación de tamaño de partícula. La parte teórica consistió en el desarrollo de modelos cinéticos para las etapas de degradación de los compuestos puros, la hidrólisis de los homopolímeros y la hidrólisis de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*. Se encontró que la composición de la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* se puede representar por una fórmula empírica que contiene 55 unidades de xilosa, 25 unidades de glucosa, y 19 unidades de arabinosa. Los resultados de la parte teórica indican que las constantes de formación de los carbohidratos obtenidas en las etapas de hidrólisis de homopolímeros y hemicelulosa no son significativamente diferentes. Por lo tanto, la cinética de la hidrólisis de la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* puede representarse a partir de la cinética de los homopolímeros que la componen. La hidrólisis de la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* se propone que ocurre en dos etapas consecutivas: (a) el ataque del ion hidronio al homopolímero para formar un complejo en la superficie del sólido (paso controlante), y (b) la formación del monómero a partir del complejo en la superficie con la consecuente regeneración del ion hidronio. El modelo de hidrólisis desarrollado presenta una concordancia razonable con los datos experimentales con un coeficiente de correlación de 0.90.

## ABSTRACT

In this work, an experimental and theoretical study on the acid hydrolysis of hemicellulose from *Cenchrus ciliaris* was conducted. The experimental part included three stages, degradation of pure carbohydrates produced during the hydrolysis (xylose, glucose, arabinose); hydrolysis of the individual homopolymers: xylan, glucan, and arabinan; and the hydrolysis of hemicellulose from *Cenchrus ciliaris*. The experiments were conducted in a batch reactor at 120 ° C under conditions in which the effects of mass transfer around the particles were minimized. The concentration of sulfuric acid in the aqueous solution was set to 0, 0.05 and 0.15 M. Output variables included the concentrations of xylose, glucose, arabinose, and furfural in the aqueous solution as functions of time. Particle characterization was conducted by scanning electron microscopy, thermogravimetric analysis, and laser diffraction analysis for particle size measurement. The theoretical part consisted of the development of kinetic models for the degradation of the pure carbohydrates, the hydrolysis of the homopolymers, and the hydrolysis of hemicellulose from *Cenchrus ciliaris*. The composition of hemicellulose from *Cenchrus ciliaris* can be represented by an empirical formula containing 55 units of xylose, 25 units of glucose, and 19 units of arabinose. The results of the theoretical study indicate that the carbohydrate formation constants obtained in stages of homopolymers and hemicellulose hydrolysis are not significantly different. Therefore, the kinetics of the hydrolysis of the hemicellulose of *Cenchrus ciliaris* can represent from the kinetics of the homopolymers that composes it. The hydrolysis of the hemicellulose of *Cenchrus ciliaris* is assumed to occur in two consecutive stages: (a) the attack of the hydronium ion to the homopolymer to form a complex on the solid surface (controlling step), and (b) the formation of the monomer from the complex on the solid surface and further regeneration of the hydronium ion. The kinetic model showed good agreement with the experimental data, with a correlation coefficient of 0.90.

---

## **DEDICATORIA**

A Dios, por haberme dado la vida y permitirme haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres, por ser mi pilar más importante y brindarme su amor incondicional.

A mis hermanos, por demostrarme su cariño y apoyo sin importar nuestra diferencia de opiniones.

---

---

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN .....	IV
ABSTRACT .....	V
LISTA DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE TABLAS .....	XII
AGRADECIMIENTOS.....	XIV
CAPÍTULO 1 .....	1
INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS .....	1
1.1 Objetivo General.....	3
1.2 Objetivos Específicos .....	4
CAPÍTULO 2.....	5
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1 Producción de bioetanol .....	5
2.1.1 Materiales lignocelulósicos para producción de bioetanol .....	8
2.1.2 Carbohidratos Producidos Durante la Hidrólisis .....	13
2.1.3 Homopolímeros .....	17
2.1.4 Productos de Degradación.....	20
2.2 Pretratamiento de Biomasa Lignocelulósica.....	21
2.2.1 Tipos de Pretratamiento .....	25
2.3 Modelos Cinéticos.....	30
CAPÍTULO 3.....	35
METODOLOGÍA .....	35
3.1 Diseño Experimental .....	37
3.2 Degradación de Carbohidratos .....	41
3.3 Hidrólisis de Homopolímeros y Hemicelulosa .....	44
3.4 Aislamiento de Hemicelulosa de <i>Cenchrus ciliaris</i> .....	44

---

<b>3.5 Caracterización de Partículas .....</b>	<b>51</b>
<b>3.6 Formulación de los Modelos Cinéticos .....</b>	<b>53</b>
3.6.1 Degradación de Carbohidratos en Solución .....	54
3.6.2 Hidrólisis ácida de Homopolímeros.....	56
3.6.3 Hidrólisis ácida de Hemicelulosa de <i>Cenchrus ciliaris</i> .....	61
<b>CAPÍTULO 4.....</b>	<b>65</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>65</b>
4.1 Composición Química de la Hemicelulosa de <i>Cenchrus ciliaris</i> .....	65
4.2 Caracterización de Partículas .....	68
4.3 Degradación de Carbohidratos.....	74
4.4 Hidrólisis de Homopolímeros .....	82
4.5 Hidrólisis de Hemicelulosa .....	89
4.6 Aplicación del Modelo .....	92
<b>CAPÍTULO 5.....</b>	<b>106</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>106</b>
5.1 Conclusiones.....	106
5.2 Recomendaciones.....	108
<b>CAPÍTULO 6.....</b>	<b>109</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>109</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>117</b>
Datos Cinéticos de la Degradación de Carbohidratos Puros.....	117
Desarrollo de Ecuaciones del Modelo Heterogéneo .....	118
Curvas de Calibración de Carbohidratos .....	124
Datos Experimentales de Concentraciones de Carbohidratos .....	129
Pruebas de Hipótesis.....	136
Artículo Publicado.....	145

---

---

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura de celulosa. ....	11
<b>Figura 2.</b> Estructura de hemicelulosa.....	12
<b>Figura 3.</b> Estructura de lignina. ....	13
<b>Figura 4.</b> Esquema del pretratamiento ácido de material lignocelulósico (Liu & Fei, 2013). .....	14
<b>Figura 5.</b> Estructura de glucosa.....	16
<b>Figura 6.</b> Estructura de xilosa. ....	16
<b>Figura 7.</b> Estructura de arabinosa.....	17
<b>Figura 8.</b> Visualización de la numeración de carbonos y la numeración beta en molécula de glucosa.....	18
<b>Figura 9.</b> Cadena de xilanos.....	19
<b>Figura 10.</b> Cadena de arabinanos. ....	20
<b>Figura 11.</b> Estrategia general del presente trabajo. ....	36
<b>Figura 12.</b> Esquema de la metodología teórico-experimental. ....	37
<b>Figura 13.</b> Diagrama esquemático del reactor utilizado en los experimentos de degradación e hidrólisis.....	40
<b>Figura 14.</b> Rampa de calentamiento típica del reactor durante la experimentación. ...	41
<b>Figura 15.</b> Sistema HPLC Varian ProStar para la identificación de especies en solución. .....	43
<b>Figura 16.</b> Etapas de reducción de tamaño de <i>Cenchrus Ciliaris</i> .....	46
<b>Figura 17.</b> Secuencia de pasos de la Extracción Química de Hemicelulosa (Luke, 2010). .....	47
<b>Figura 18.</b> Sistema experimental para la ultrafiltración de Hemicelulosa de <i>Cenchrus ciliaris</i> . ....	51
<b>Figura 19.</b> Sistema experimental para la hidrólisis de homopolímeros.....	56
<b>Figura 20.</b> Representación esquemática del modelo cinético de la hidrólisis ácida de hemicelulosa de <i>Cenchrus ciliaris</i> . ....	62
<b>Figura 21.</b> Mecanismo propuesto de hidrólisis de hemicelulosa. ....	63
<b>Figura 22.</b> Microscopia de homopolímero xilán.....	69

<b>Figura 23.</b> Microscopia de homopolímero glucán.....	69
<b>Figura 24.</b> Microscopia de homopolímero arabinán. ....	70
<b>Figura 25.</b> Distribución de tamaño de las partículas de xilán comercial determinada mediante la técnica de difracción de luz láser. ....	72
<b>Figura 26.</b> Análisis termogravimétrico de partículas.....	74
<b>Figura 27.</b> Degradación de xilosa a 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (6). ....	76
<b>Figura 28.</b> Degradación de glucosa a 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (6). ....	78
<b>Figura 29.</b> Degradación de glucosa a $[H_2SO_4]= 0.15$ M y 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (6). ....	79
<b>Figura 30.</b> Degradación de arabinosa durante 2 horas a 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (6). ....	80
<b>Figura 31.</b> Hidrólisis de xilán $[H_2SO_4]= 0.05$ M a 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (16). ....	83
<b>Figura 32.</b> Hidrólisis de xilán $[H_2SO_4]= 0.15$ M a 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (16). ....	84
<b>Figura 33.</b> Hidrólisis de glucán a 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (16).....	86
<b>Figura 34.</b> Hidrólisis de arabinán a 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (16). ....	88
<b>Figura 35.</b> Muestras congeladas de Hemicelulosa de <i>Cenchrus ciliaris</i> . ....	89
<b>Figura 36.</b> Muestras al inicio (imagen superior) y final (imagen inferior) del proceso de liofilización de hemicelulosa de <i>Cenchrus ciliaris</i> . ....	90
<b>Figura 37.</b> Muestra Liofilizada de Hemicelulosa de <i>Cenchrus ciliaris</i> . ....	91
<b>Figura 38.</b> Hemicelulosa de <i>Cenchrus ciliaris</i> . ....	91
<b>Figura 39.</b> Aplicación del modelo a $[H_2SO_4]=0.05$ M y 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (24). ....	94
<b>Figura 40.</b> Aplicación del modelo a $[H_2SO_4]=0.15$ M y 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (24). ....	95
<b>Figura 41.</b> Comparación de intervalos de confianza de constantes de formación. La letra indica el carbohidrato. Los números representan: $[H_2SO_4]= 0.05$ y $0.15$ M, respectivamente. ....	99

---

<b>Figura 42.</b> Comparación de intervalos de confianza de constantes de degradación. La letra indica el carbohidrato. Los números representan: $[H_2SO_4]= 0.05$ y $0.15$ M, respectivamente.....	102
<b>Figura 43.</b> Grafica de la Curva de calibración de Glucosa.....	125
<b>Figura 44.</b> Grafica de la Curva de calibración de Xilosa.....	126
<b>Figura 45.</b> Grafica de la Curva de calibración de Arabinosa.....	126
<b>Figura 46.</b> Grafica de la Curva de calibración de Furfural.....	127

---

---

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Propiedades Físicas y Químicas del Etanol. ....	7
<b>Tabla 2.</b> Rendimiento de xilosa en hidrólisis ácida de materiales lignocelulósicos (Maki-Arvela et al., 2011). ....	9
<b>Tabla 3.</b> Modelos pseudohomogéneo en hidrólisis ácida de materiales lignocelulósicos. ....	31
<b>Tabla 4.</b> Diseño Experimental para la Degradación de Carbohidratos en Solución a 120 °C. ....	38
<b>Tabla 5.</b> Diseño Experimental para Hidrólisis de Homopolímeros y Hemicelulosa a 120 °C. ....	39
<b>Tabla 6.</b> Clasificación científica de <i>Cenchrus ciliaris</i> . ....	45
<b>Tabla 7.</b> Características de <i>Cenchrus ciliaris</i> (Marshall et al., 2012). ....	45
<b>Tabla 8.</b> Composición química de <i>Cenchrus ciliaris</i> (Lozano et al., 2001). ....	46
<b>Tabla 9.</b> Valores de concentración de $H_3O^+$ a 120 °C como función de la concentración de ácido sulfúrico. ....	54
<b>Tabla 10.</b> Composición estimada de la hemicelulosa de <i>Cenchrus ciliaris</i> a partir de los experimentos de hidrólisis a 120 °C. ....	66
<b>Tabla 11.</b> Área Superficial de Homopolímeros. ....	70
<b>Tabla 12.</b> Porcentaje promedio de partículas. ....	71
<b>Tabla 13.</b> Constante cinética de degradación de xilosa. ....	76
<b>Tabla 14.</b> Constante cinética de degradación de arabinosa. ....	81
<b>Tabla 15.</b> Constante cinética de formación de xilosa a partir de la hidrólisis de xilán. .	84
<b>Tabla 16.</b> Constante cinética de formación de glucosa a partir de la hidrólisis de glucán. ....	87
<b>Tabla 17.</b> Constante cinética de formación de arabinosa a partir de la hidrólisis de arabinán. ....	89
<b>Tabla 18.</b> Constantes cinéticas de degradación de carbohidratos a partir de la hidrólisis de hemicelulosa de <i>Cenchrus ciliaris</i> . ....	97
<b>Tabla 19.</b> Constantes cinéticas de formación de carbohidratos a partir de la hidrólisis de hemicelulosa de <i>Cenchrus ciliaris</i> . ....	97

---

---

<b>Tabla 20.</b> Coeficiente de correlación entre datos experimentales y predicción del modelo. .....	98
<b>Tabla 21.</b> Resultados de pruebas de hipótesis.....	103
<b>Tabla 22.</b> Concentraciones molares de carbohidratos en las hidrólisis a 120° C.....	117
<b>Tabla 23.</b> Degradaciones de xilosa a 120° C. ....	129
<b>Tabla 24.</b> Degradaciones de glucosa a 120° C. ....	130
<b>Tabla 25.</b> Degradación de glucosa durante 2 horas a 120° C. ....	130
<b>Tabla 26.</b> Degradación de arabinosa durante 2 horas a 120° C.....	131
<b>Tabla 27.</b> Hidrólisis de xilán a 120° C. ....	132
<b>Tabla 28.</b> Hidrólisis de glucán a 120° C. ....	133
<b>Tabla 29.</b> Hidrólisis de arabinán a 120° C. ....	133
<b>Tabla 30.</b> Hidrólisis de hemicelulosa: [H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]= 0.05 M, 120° C. ....	134
<b>Tabla 31.</b> Hidrólisis de hemicelulosa: [H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]= 0.15 M, 120° C. ....	135

---

---

## AGRADECIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a Conacyt por el apoyo brindado a lo largo de la investigación. Asimismo a las instituciones como el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo y Michigan Technological University.

El presente trabajo de tesis fue realizado en las instalaciones de la Universidad de Sonora, en el cual de manera directa o indirecta han intervenido diferentes personas. En esta sección aprovecho para agradecer a aquellas personas que me brindaron su paciencia, conocimientos y experiencia para poder llevar a cabo mi trabajo; ya que sin ellos no hubiera sido posible.

Primero que, a nadie, a mi director de tesis Dr. Manuel Pérez Tello, por haberme brindado la oportunidad de trabajar bajo su tutela, por ser una persona paciente y transmitirme de la mejor manera sus conocimientos y experiencia, ya que con su dirección y apoyo esta tesis ha podido ser concluida.

Un especial agradecimiento a mi co-director Dr. Abraham Rogelio Martín García, por brindarme su apoyo en la etapa experimental de la investigación, por instruirme de la mejor manera para entender y utilizar los equipos necesarios, ya que sin su ayuda este trabajo estaría inconcluso.

Es importante mencionar a todas aquellas personas, tanto docentes que transmitieron sus conocimientos de la mejor manera, hasta el personal administrativo y amigos que hicieron de mi estadía en la Universidad de Sonora más amena. A ustedes: Dr. Agustín Gómez Álvarez, Dr. Víctor Manuel Sánchez Corrales, Ing. Manuel Balcázar Meza, Dr.

---

Esther Carrillo Pérez, M. C. Erika Denisse Nevarez Llamas, M. C. Alejandro Esteban Murillo Luke, Ing. Anya Isabel Argüelles Pesqueira, Ing. Ana Bertha Quijada Larrañaga.

## CAPÍTULO 1

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El consumo excesivo de combustibles fósiles, en particular en las grandes áreas urbanas, se ha convertido en una fuente de contaminación durante las últimas décadas. Con el incremento de la población humana y el aumento de la prosperidad industrial, el consumo mundial de energía se ha incrementado gradualmente. La producción anual mundial de petróleo comenzará a disminuir en un futuro próximo (Reis, 1998). Por lo tanto, las fuentes renovables se han convertido en alternativas energéticas para suplir la falta de combustibles fósiles en el futuro.

Países de todo el mundo han considerado políticas estatales hacia la utilización de biomasa para satisfacer sus futuras demandas de energía con el fin de cumplir los objetivos de reducción de dióxido de carbono como se especifica en el Protocolo de Kyoto, y de la misma manera para reducir el consumo de combustibles fósiles. La biomasa puede ser una fuente de combustible para el transporte, tales como el etanol. El etanol es en la actualidad el combustible líquido más utilizado para los vehículos de motor (Demirbas, 2005).

La producción mundial de etanol por vías biotecnológicas fue de 31 mil millones de litros en 2001, la cual se incrementó a 39 mil millones de litros en 2006, y se espera llegar a los 100 millones de litros en 2015 (Taherzadeh & Karimi, 2007). Brasil y Estados Unidos son los dos principales productores de etanol, su producción conjunta representa el 62% de la producción mundial (Kim & Dale, 2004).

Las principales materias primas para la producción de etanol son aquellas que contienen un alto contenido de sacarosa, almidón o celulosa. La producción de etanol a gran escala se basa principalmente en los azúcares contenidos en la caña de azúcar en Brasil o en contenidos de almidón, principalmente de maíz, en Estados Unidos. La producción actual de etanol basado en maíz pone en riesgo el abastecimiento de este alimento a la humanidad. En contraste, la producción de este biocombustible a partir de materiales lignocelulósicos evita la competencia existente entre alimentos y combustibles causado por la producción de bioetanol a partir de cereales. Se ha estimado que 442 mil millones de litros de bioetanol pueden ser producidos a partir de biomasa lignocelulósica (Sarkar et al., 2012), y que los residuos de los cultivos totales y perdidos pueden producir 491 mil millones de litros de bioetanol por año, alrededor de 16 veces más a la producción actual de bioetanol en el mundo (Kim & Dale, 2004). La mayoría de los materiales lignocelulósicos son renovables, de bajo costo y se encuentran disponibles en abundancia; éstos incluyen residuos de cultivos, pastos, aserrín, madera, entre otros.

En este trabajo se propone como materia prima para la obtención de bioetanol la especie de pasto denominada *Cenchrus ciliaris*, también conocida como zacate *buffel*. El zacate *buffel* cubre el 8% de la superficie de acuerdo a un estudio realizado a 1,850,000 hectáreas centradas en Hermosillo, Sonora, México (Franklin et al., 2006).

Entre las tecnologías disponibles para el pretratamiento de estos materiales se encuentra la hidrólisis ácida (Um & van Walsum, 2009), cuyo objetivo es liberar carbohidratos fermentables de la hemicelulosa y exponer la celulosa para una hidrólisis enzimática posterior. La hidrólisis ácida de hemicelulosa es una de varias técnicas aplicada a la biomasa que tiene por objetivos producir una serie de carbohidratos fermentables, siendo la mayoría de cinco carbonos (Um & van Walsum, 2009); y exponer las fibras de celulosa para un tratamiento posterior, el cual tiene como finalidad la fermentación para producir etanol como combustible (Wang et al., 2009).

La hidrólisis ácida de la hemicelulosa consiste en poner en contacto el material sólido con una solución acuosa ácida, típicamente de  $H_2SO_4$ ; lo cual genera un sistema heterogéneo. Sin embargo, la gran mayoría de los investigadores en esta área han analizado sus datos experimentales considerando el proceso como pseudohomogéneo (Yat et al., 2008). Esta aproximación fue propuesta en los años 40's y, aunque se han reportado variaciones al modelo original (Wyman et al., 2003), el fundamento del mismo ha permanecido hasta la fecha en la literatura.

Debido a la complejidad de los fenómenos que ocurren durante su pretratamiento ácido, hasta la fecha se desconocen los mecanismos de hidrólisis ácida de la hemicelulosa. El esclarecimiento de dichos mecanismos sería de utilidad ya que ayudaría a establecer las condiciones de operación apropiadas para la liberación de los carbohidratos fermentables con miras al procesamiento de *Cenchrus ciliaris* a escala comercial. La principal motivación del presente estudio fue desarrollar un mecanismo de reacción de la hidrólisis ácida de la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*.

Como hipótesis principal, se plantea que la hidrólisis de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* puede ser representado a partir de los mecanismos de reacción de los homopolímeros que forman parte de su estructura molecular.

## 1.1 Objetivo General

Determinar el mecanismo de reacción de la hidrólisis ácida de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* a partir de los mecanismos de reacción de los homopolímeros de carbohidratos que la componen.

## 1.2 Objetivos Específicos

- Determinar la composición de la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*.
- Determinar cuantitativamente el efecto de concentración de ácido en la hidrólisis ácida de los oligómeros presentes en la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*: xilán, glucán y arabinán.
- Establecer los mecanismos de reacción de cada oligómero y su correspondiente modelo cinético fundamental.
- Realizar experimentos de hidrólisis ácida de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* y obtener los correspondientes datos cinéticos.
- Proponer un mecanismo de reacción y desarrollar un modelo cinético de la hidrólisis ácida de la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*.

## CAPÍTULO 2

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Se realizó una búsqueda de literatura sobre los aspectos relevantes relacionados a la presente investigación. Éstos incluyen: (a) producción de etanol, (b) materiales lignocelulósicos para la producción de este biocombustible, (c) los carbohidratos que se obtienen en la hidrólisis ácida, (d) los homopolímeros que producen estos carbohidratos, los productos de degradación generados a partir de la hidrólisis de materiales lignocelulósicos y (e) los modelos cinéticos reportados para representar la hidrólisis ácida de hemicelulosa desarrollados actualmente. Dichos puntos se detallan a continuación.

#### 2.1 Producción de bioetanol

El etanol o alcohol etílico tiene por fórmula química condensada:  $C_2H_5OH$ . Aunque el etanol tiene una variedad de aplicaciones en la industria química, farmacéutica, petroquímica y otras, en el presente trabajo la relevancia del etanol se relaciona directamente a su uso como combustible en los motores de combustión interna. En la actualidad, el etanol se produce mediante dos métodos: el petroquímico a partir de la hidratación del etileno, y el biotecnológico a partir de la fermentación de azúcares. En la literatura, al etanol producido por la segunda vía se le denomina comúnmente bioetanol.

La Tabla 1 resume las propiedades físicas y químicas del etanol. En relación a su uso como combustible, se hace notar que el etanol posee un octanaje de 108 el cual se clasifica como alto (Balat, 2009). El índice de octano es una medida de la calidad del combustible el cual está relacionado con el tiempo requerido para su ignición. El índice

de octano es una escala arbitraria en la cual el cero corresponde al n-heptano y el 100 al 2,2,4 trimetil pentano (Cardoso et al., 2001). A mayor índice de octano, menor es el tiempo requerido para la ignición del combustible y viceversa. Por lo anterior, los combustibles con índices de octano más altos son los preferidos para el encendido por chispa en los motores de combustión interna. Un combustible oxigenado como el etanol proporciona un valor antidetonante razonable (Balat & Balat, 2009).

El bioetanol es el biocombustible más utilizado para el transporte en todo el mundo. El bioetanol y las mezclas bioetanol-gasolina tienen una larga historia como combustibles alternativos para el transporte. Se ha utilizado en Alemania y Francia desde principios de 1894 en la industria de los motores de combustión interna (Demirbas & Karslioglu, 2007). Brasil ha utilizado bioetanol como combustible a partir de 1925. En este periodo, la producción de bioetanol fue 70 veces mayor que la producción y el consumo de la gasolina (Lang et al., 2001). El uso de bioetanol como combustible estaba muy avanzado en Europa y los Estados Unidos hasta el año 1900. Debido a que se hizo más caro de producir que el combustible a base de petróleo, sobre todo después de la Segunda Guerra Mundial, el potencial del bioetanol fue ignorado hasta la crisis del petróleo de la década de 1970 (Demirbas et al., 2009). Desde la década de 1980, ha habido un creciente interés en el uso de bioetanol como combustible para el transporte alternativo.

El bioetanol es un combustible derivado de fuentes de materias primas renovables y representa un importante combustible líquido para vehículos de motor. La producción de bioetanol como combustible de transporte puede ayudar a reducir la acumulación de CO<sub>2</sub> en la atmósfera mediante dos vías: sustituyendo a los combustibles fósiles y reciclando el CO<sub>2</sub> que se libera cuando se quema como combustible. Una ventaja importante de bioetanol a partir de cultivos es que reduce la emisión de gases de efecto invernadero (Demirbas, 2007).

**Tabla 1.** Propiedades Físicas y Químicas del Etanol.

<b>Propiedad</b>	<b>Etanol C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH</b>
Peso Molecular (g/mol)	46
Peso Específico	0.788 (298 K)
Densidad de Vapor relativo al aire	1.59
Densidad del Líquido (g cm <sup>-3</sup> a 298 K)	0.79
Punto de Ebullición (K)	351
Punto de Fusión (K)	129
Calor de Evaporación (Btu/lb)	410
Poder Calorífico (kBTU gal <sup>-1</sup> )	
Inferior	74
Superior	85
Índice de Octano	108
Viscosidad a 20 °C (mPa·s)	1.074
Punto de Inflamación (K)	287
Inflamabilidad/Explosión	
Limites	
(%) Inferior (LFL)	3.3
(%) Superior (UFL)	19
Temperatura de Autoignición (K)	636
Solubilidad en H <sub>2</sub> O (%)	Miscible (100%)
Azeótropo con H <sub>2</sub> O	95 % EtOH
Energía Mínima de Ignición en el aire (mJ)	0.23

El bioetanol puede producirse a partir de diversos tipos de materias primas, las cuales se clasifican en tres categorías: (1) materias primas que contienen sacarosa, tales como caña de azúcar, remolacha, sorgo dulce y frutas; (2) materiales de almidón como el maíz, milo, trigo, arroz, papas, yuca, camote y cebada, y (3) materiales lignocelulósicos como madera, paja y pastos en general.

En la actualidad, la producción de bioetanol a escala comercial se realiza a partir de materias primas como el maíz, caña de azúcar y trigo. Un problema importante en la producción de bioetanol es la disponibilidad de materias primas, ya que ésta puede variar considerablemente de una temporada a otra y depende de la ubicación geográfica. Generalmente se utiliza biomasa agrícola localmente disponible para la producción (Mojovic et al., 2009). Como ejemplos, Brasil utiliza caña de azúcar; Estados Unidos procesa principalmente almidón de maíz, y en Europa se utilizan el trigo y la cebada.

### **2.1.1 Materiales lignocelulósicos para producción de bioetanol**

En los últimos años se ha incrementado el número de investigaciones relacionadas a la producción de bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos, tales como mazorcas de maíz, paja de trigo, cáscaras de nuez, papel, periódico, hojas y gramíneas (Sun & Cheng, 2002). La producción de xilosa en la hidrólisis ácida de biomasa a partir de diferentes materiales lignocelulósicos ha sido estudiada ampliamente. El rendimiento de producción de xilosa está directamente relacionado con la economía del proceso, debido a que generalmente este carbohidrato constituye hasta un tercio de la proporción total de carbohidratos en materiales lignocelulósicos (Hinman et al., 1992). En la Tabla 2 se muestran algunos rendimientos de producción de xilosa en hidrólisis con ácido sulfúrico diluido a partir de materiales lignocelulósicos.

**Tabla 2.** Rendimiento de xilosa en hidrólisis ácida de materiales lignocelulósicos (Maki-Arvela et al., 2011).

Material	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]	Temperatura (° C)	Tiempo de procesamiento (min)	Rendimiento *(%)
Paja de trigo	2 % en peso	90	720	97
Paja de arroz	1 % en peso	121	27	77
Restos de maíz	1 % en peso	140	40	82
Residuos de la producción de aceite de oliva	0.25 M	220	80	80
Bagazo de caña de azúcar	0.035 M	160	15	88
Virutas de árboles de madera blanda	0.7 % en peso	190	3	70.3
Astillas de Eucalipto	0.5 % en peso	140	10	21.18
Roble rojo	0.8 % en peso	190	0.67	87
Madera de álamo	0.5 % en peso	140	16	76.4
Álamo	0.9 % en peso	180	1	80

\* Cantidad de xilosa recuperada entre la cantidad máxima que puede ser recuperada a partir de la biomasa por la hidrólisis ácida.

El creciente interés por los materiales lignocelulósicos es debido a que dichos materiales representan una fuente de materia prima renovable, económica y abundante la cual no pone en riesgo el suministro de alimentos para consumo humano, a la vez que requieren de un costo razonable de procesamiento. El presente trabajo se enfoca en la utilización

de un material lignocelulósico: *Cenchrus ciliaris*, también conocido coloquialmente como zacate *buffel*.

En general, los componentes de un material lignocelulósico se pueden clasificar principalmente en celulosa (30-50 %), hemicelulosa (15-35 %) y lignina (10-20 %) (Mielenz, 2001; PETTERSEN, 1984). La celulosa y hemicelulosa representan aproximadamente el 70% de la biomasa y están estrechamente relacionadas con la lignina a través de sus enlaces covalentes e hidrogenados que hacen la estructura robusta y resistente a cualquier tratamiento (Knauf & Moniruzzaman, 2004; Mielenz, 2001).

### **Celulosa**

La celulosa (Figura 1) es un componente lineal estructural de la pared celular de una planta que consiste en una cadena larga de monómeros de glucosa  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) unidos a enlaces glicosídicos, que pueden alcanzar varios miles de unidades de glucosa de largo. Los extensos enlaces de hidrógeno entre moléculas dan lugar a una estructura de matriz cristalina y fuerte (Ebringerova et al., 2005). Esta reticulación de numerosos grupos hidroxilo constituye las microfibrillas que proporcionan a la molécula más fuerza y compactación. Por otra parte, aunque los materiales ricos en almidón requieren temperaturas de sólo 60-70 °C, la celulosa requiere 320 °C, así como una presión de 25 MPa para pasar de una estructura cristalina rígida a una estructura amorfa en agua (Deguchi et al., 2006). La celulosa es el principal componente de las paredes celulares en algunas plantas, su composición es de aproximadamente 30 % peso. Algodón y pasta química de lino representan las fuentes más puras de celulosa (80-95 % y 60-80 %, respectivamente), mientras que las maderas suaves y duras contienen aproximadamente un 45% de celulosa (Demirbas, 2005; PETTERSEN, 1984).

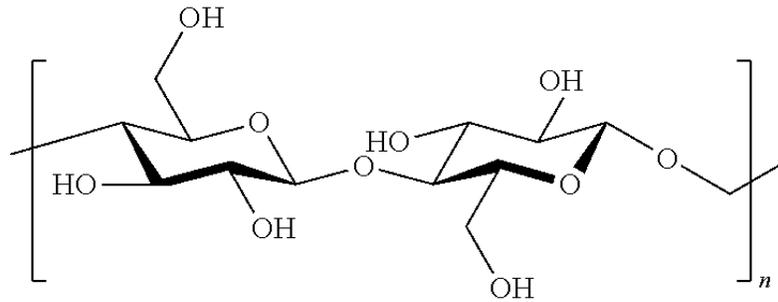
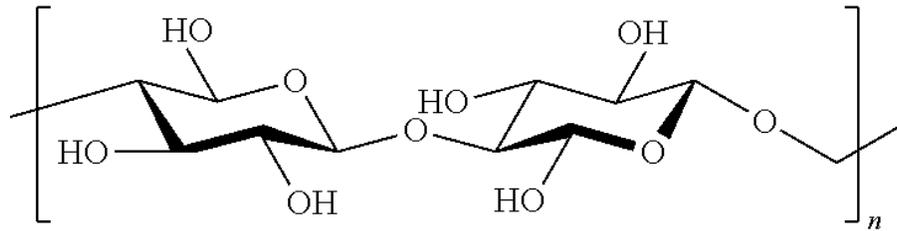


Figura 1. Estructura de celulosa.

### Hemicelulosa

La hemicelulosa (Figura 2) es amorfa y variable, la cual forma una estructura de heteropolímeros incluyendo hexosas (D-glucosa, D-galactosa y D-manosa), así como pentosas (D-xilosa y L-arabinosa) y puede contener ácidos de azúcar (ácidos urónicos), llamados, D-glucurónico, ácidos D-galacturónico y metil-galacturónicos (MCMILLAN et al., 1994; Saha, 2003). Su cadena principal se compone de xilano  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4)-enlazados, que incluyen D-xilosa (casi 90%) y L-arabinosa (aproximadamente 10%). Las frecuencias en su ramificación varían dependiendo de la naturaleza y la fuente de las materias primas. Las hemicelulosas de madera blanda son típicamente glucomananos, mientras que las hemicelulosas de madera dura se componen con más frecuencia de xilanos (MCMILLAN et al., 1994). Aunque el componente más abundante en la hemicelulosa es xilano, la composición varía en cada material lignocelulósico. La hemicelulosa requiere una amplia gama de enzimas para ser completamente hidrolizada en monómeros libres, debido a la diversidad de azúcares.



**Figura 2.** Estructura de hemicelulosa.

## Lignina

La lignina (Figura 3) es un biopolímero aromático y rígido con un peso molecular de 10,000 Da unido a través de enlaces covalentes a xilanos (hemicelulosa) de las porciones que confieren rigidez y alto nivel de compactación de la pared celular vegetal (Mielenz, 2001). La lignina se compone de tres monómeros fenólicos de alcohol fenil propiónico llamados, cumarilo, coniferil y alcohol sinapílico. La biomasa leñosa forestal está compuesta principalmente de polímeros de celulosa y lignina. Cortezas de madera blanda tienen el nivel más alto de lignina (30-60 %) seguido de las cortezas de madera dura (30-55 %), mientras que las gramíneas y los residuos agrícolas contienen el nivel más bajo de lignina (10-30 % y 3-15 %, respectivamente) (Demirbas, 2005; PETTERSEN, 1984). Por el contrario, los residuos de cultivos tales como restos de maíz, arroz y pajitas de trigo se componen principalmente de un heteropolímero semicelulósico que incluye un gran número de azúcares (5 carbonos) pentosa principalmente de xilosa.

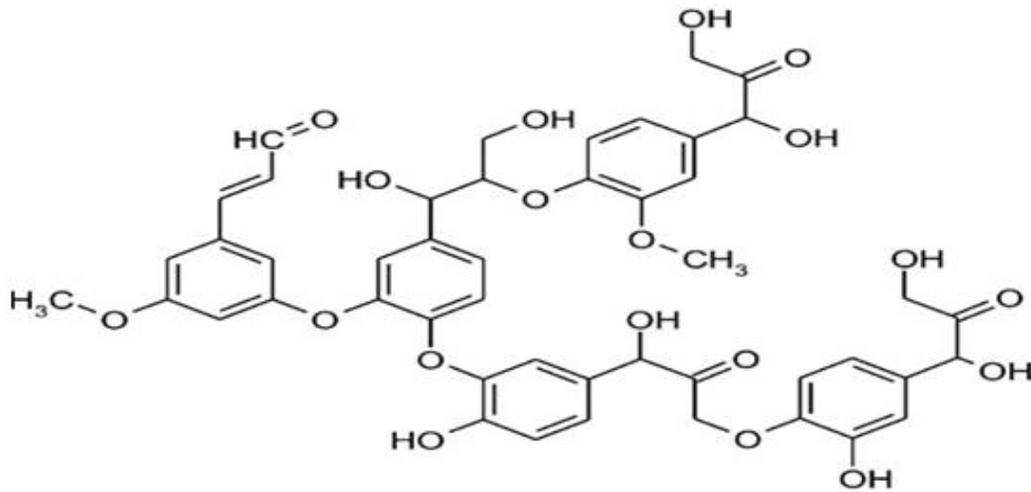
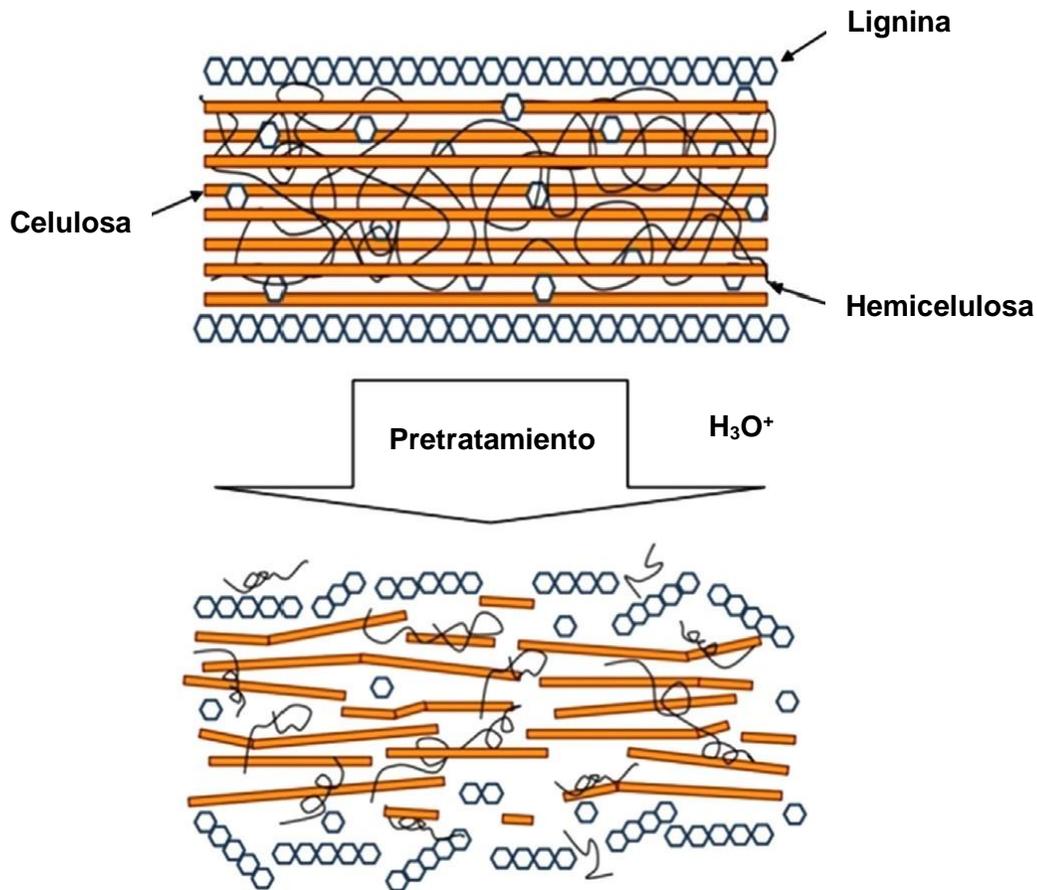


Figura 3. Estructura de lignina.

### 2.1.2 Carbohidratos Producidos Durante la Hidrólisis

El objetivo de la hidrólisis de hemicelulosas con ácidos diluidos es liberar la mayor parte de los azúcares contenidos en la hemicelulosa manteniendo intactas a la celulosa y lignina, como se muestra en la Figura 4. Esto implica que los parámetros de hidrólisis ácida, tales como la temperatura, concentración de ácido, y la relación: cantidad de biomasa/volumen de solución en el reactor deben ser optimizados. En general, cuando la temperatura es demasiado alta (mayor de 135 °C), se presentan reacciones secundarias no deseadas, tales como la producción de furfural, 5 hidroximetil furfural y ácido acético. Como resultado, el proceso muestra baja selectividad debido a la disolución de la lignina y la celulosa.



**Figura 4.** Esquema del pretratamiento ácido de material lignocelulósico (Liu & Fei, 2013).

En una revisión de literatura reciente (Sun & Cheng, 2002) se muestra que la mayoría de los estudios realizados sobre la hidrólisis ácida de la biomasa o de residuos tuvieron como objetivo la hidrólisis enzimática y posterior fermentación de los azúcares para producir etanol. La hidrólisis ácida de hemicelulosa es más rápida que la de celulosa, debido a que se realiza como una etapa de pretratamiento de la biomasa (Canettieri et al., 2007; Duarte et al., 2009; Esteghlalian et al., 1997; Taherzadeh et al., 1997) seguida por hidrólisis ácida o enzimática del residuo a alta temperatura, tales como la celulosa. A partir de este punto, los azúcares fermentables se transforman en etanol. Las enzimas

se pueden separar fácilmente, a un bajo costo, a partir de azúcares solubles por adsorción para una hidrólisis posterior (Zhu et al., 2009c).

Los azúcares producidos a partir de la hidrólisis ácida de la hemicelulosa son materia prima para la síntesis de productos farmacéuticos y agentes que promueven la salud. Los azúcares más abundantes en la naturaleza son la D-glucosa, D-fructosa, D-galactosa y D-manosa (hexosas), así como D-xilosa, L-arabinosa y D-ribosa (pentosas).

Los azúcares de la hemicelulosa son fáciles de separar a partir de la biomasa lignocelulósica (Aguilar et al., 2002; Kim et al., 2002) debido a sus estructuras y porque generalmente no son cristalinos. Después de la hidrólisis con ácido diluido de biomasa, un residuo sólido, que contiene celulosa y lignina, se puede separar por filtración (Aguilar et al., 2002). Cuando los azúcares se producen a partir de biomasa, no son necesarios varios pasos para obtener los azúcares puros. El hidrolizado contiene azúcar que se neutraliza después de la hidrólisis ácida. A partir de entonces, la sal formada, tal como yeso o sulfato de bario (Ingle et al., 1976) debe ser filtrada. Cabe señalar que si se utilizan ácidos orgánicos, se pueden evaporar, evitando así la etapa de neutralización, y no se forman residuos sólidos (Fanta et al., 1984). Posteriormente, los azúcares monoméricos pueden ser separados a diferentes fracciones de azúcar con la ayuda de técnicas de separación cromatográfica. La separación se facilita mediante el uso de diferentes tipos de resinas de intercambio aniónicas o catiónicas.

## **Glucosa**

La glucosa (Figura 5) es una importante unidad en el polisacárido de celulosa y se puede obtener a partir de ésta a través de reacciones no catalíticas (Malaluan, 1995) o catalíticas ácidas (MALESTER et al., 1992; MOK et al., 1992; Saeman, 1945) en condiciones hidrotermales. La celulosa se hidroliza y descompone a la glucosa como producto intermedio y otros productos pirolíticos (MOK et al., 1992).

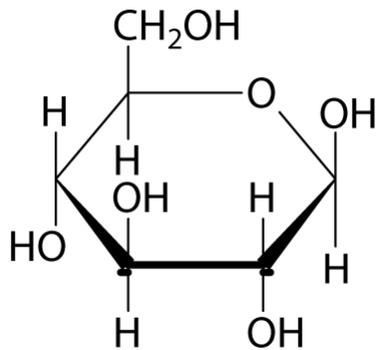


Figura 5. Estructura de glucosa.

### Xilosa

La xilosa (Figura 6) es la segunda azúcar más abundante en la biomasa lignocelulósica después de la glucosa. Es siempre el monómero de azúcar presente en gran cantidad, pero algunos monosacáridos (arabinosa, manosa, ramnosa, glucosa) o ácidos urónicos (glucurónico, manurónico, galacturónico) también están presentes (Ebringerova & Heinze, 2000). Estos polímeros pueden ser hidrolizados fácilmente a azúcares monoméricos, por el uso de ácidos minerales, así como enzimas de hemicelulasa (CHEN & GONG, 1985).

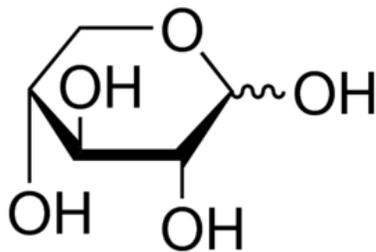


Figura 6. Estructura de xilosa.

## Arabinosa

La arabinosa (Figura 7) es un monosacárido de cinco carbonos con un grupo aldehído por lo que pertenece al grupo de las aldosas y dentro de éste al de las aldopentosas. De las dos formas D y L, como isómeros ópticos, ampliamente extendido en la naturaleza es la L-arabinosa, siendo uno de los constituyentes de la pectina y la hemicelulosa. La arabinosa puede encontrarse principalmente en la goma arábica.

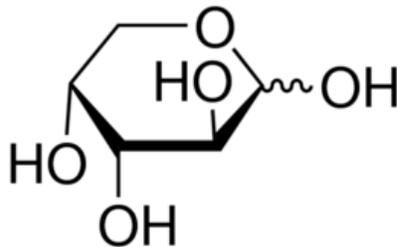


Figura 7. Estructura de arabinosa.

### 2.1.3 Homopolímeros

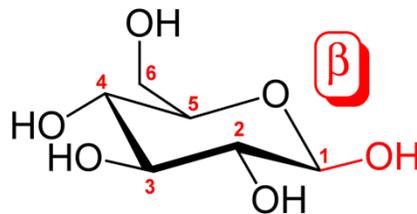
#### Glucán

Una molécula de glucano es un polisacárido de monómeros de D-glucosa, unidos por enlaces glucosídicos (Ooi & Liu, 2000). Los glucanos son un grupo muy diverso de moléculas que pueden variar en relación a su masa molecular, solubilidad, viscosidad, y configuración tridimensional. Normalmente se presentan como celulosa en las plantas, el salvado de los granos de cereales, la pared celular de la levadura del pan, algunos hongos, setas y bacterias. Algunas formas de glucanos son útiles en la nutrición humana como agentes de textura y como suplementos de fibra soluble, pero pueden ser problemáticos en el proceso de elaboración de la cerveza.

Los glucanos son polisacáridos que sólo contienen glucosa como componentes estructurales, y están vinculados con enlaces glucosídicos  $\beta$ .

En general, se distingue entre enlaces  $\alpha$ - y  $\beta$ -glucosídicos dependiendo de si los grupos sustituyentes de los carbonos que flanquean el oxígeno del anillo están apuntando en la misma dirección o contraria en la forma estándar de elaboración de los azúcares. Un vínculo  $\alpha$ -glucosídico de D-azúcar deriva de un plano inferior de azúcares, el hidroxilo (u otro grupo sustituyente) deriva de otros puntos de carbono por encima del plano (configuración opuesta), mientras que un vínculo  $\beta$ -glucosídico emana por encima del dicho plano.

Los números 1,4 y 6 identifican los átomos de carbono en cada extremo del enlace glucosídico. La numeración se inicia junto al oxígeno del anillo como se muestra en la Figura 8.



**Figura 8.** Visualización de la numeración de carbonos y la numeración beta en molécula de glucosa.

Por definición, los beta-glucanos son cadenas de D-polisacáridos de glucosa, unidas por enlaces glucosídicos tipo beta. Estos anillos D-glucosa de seis caras pueden ser conectados unos a otros, en una variedad de posiciones en la estructura del anillo de D-

glucosa. Algunos compuestos de beta-glucano, se repiten continuamente debido a la unión de D-glucosa en posiciones específicas. Un ejemplo de esto es la celulosa, la cual se compone de una larga cadena de moléculas de D-glucosa, unidas unas a otras, una y otra vez, en la posición  $\beta$  (1,4), véase Figura 1.

### Xilán

El xilano (Figura 9) es el polisacárido predominante en la hemicelulosa y ésta a su vez es el segundo polímero más abundante en la naturaleza (Schadel et al., 2010).

Los xilanos constituyen el polisacárido estructural no celulósico más abundante en angiospermas, llegando a representar un 20-30% del peso seco de la corteza. Estos polisacáridos están formados por una cadena de residuos de xilosa unidos por enlaces  $\beta$  (1-4). A esta cadena principal se unen cadenas laterales que contienen arabinosa y otros azúcares. Las cadenas laterales varían con la especie de procedencia y dependiendo de que la pared sea primaria o secundaria. En cualquier caso, la distribución de cadenas laterales no sigue un patrón regular.

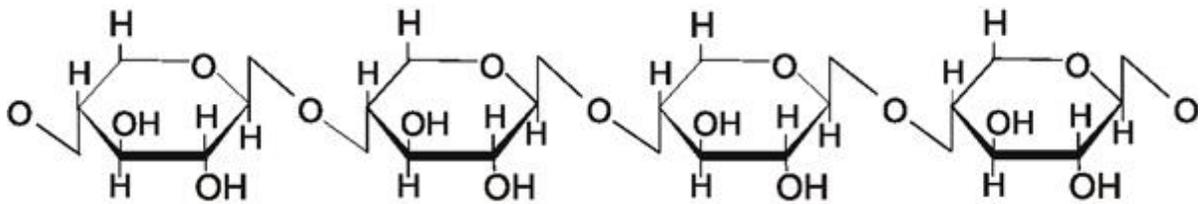


Figura 9. Cadena de xilanos.

## Arabinán

Dentro del término pectinas se incluye un grupo relativamente heterogéneo de moléculas incluyendo polisacáridos ácidos y neutros, entre los que destacan principalmente los arabinanos. El arabinano (Figura 10) es una molécula ramificada que contiene una cadena principal de arabinosas unidas por enlaces  $\alpha$  (1-5) con cadenas laterales de una sola arabinosa, unidas a la cadena principal. Cada cadena de arabinano está constituida por un total de 20-30 residuos de arabinosa (Kaur et al., 2009); primero adopta una forma lineal y después se ramifica.

Los arabinanos del tipo que se asocian con pectinas pueden ser de genuina aparición natural, por ejemplo, en semillas de mostaza blanca. Sin embargo, polisacáridos que contienen una alta proporción de residuos de arabinosa en tipos similares, por ejemplo, de la remolacha azucarera pueden también resultar de la degradación durante condiciones alcalinas de extracción.<sup>2</sup>

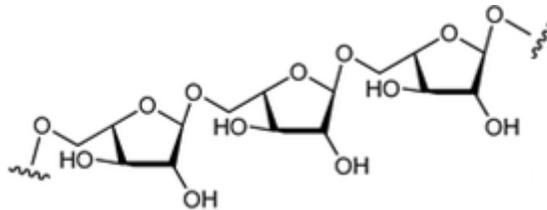


Figura 10. Cadena de arabinanos.

### 2.1.4 Productos de Degradación

#### Furfural

El furfural es un producto importante de la etapa de pretratamiento en la etapa de la degradación de la xilosa a través de productos intermedios. La conversión de azúcares

de cinco carbonos a furfural procede en dos pasos: la hidrólisis de xilán a xilosa seguida de la deshidratación de xilosa a furfural. La D-xilosa se puede convertir cuantitativamente a furfural en condiciones ácidas. Se han estudiado varios ejemplos de la producción de furfural a partir xilosa de *Eucalyptus globulus* sometido a autohidrólisis (García-Domínguez et al., 2013).

El furfural se produce comercialmente a partir de materiales lignocelulósicos agrícolas en las condiciones ácidas que implican la hidrólisis ácida y la reacción de deshidratación. Recientemente, el furfural también ha sido identificado como un precursor potencial para la producción de biocombustibles (Lange et al., 2012).

## **2.2 Pretratamiento de Biomasa Lignocelulósica**

La producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica comprende las siguientes etapas principales: la hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa, la fermentación de azúcar, la separación de los residuos de lignina y, finalmente, la recuperación y purificación del etanol para cumplir con las especificaciones de los combustibles. El trabajo de la hidrólisis de lignocelulosa a monosacáridos fermentables es aún técnicamente problemático porque la digestibilidad de la celulosa se ve obstaculizada por muchos factores estructurales y de composición físicoquímicos. Debido a estas características estructurales, el pretratamiento es un paso esencial para la obtención de azúcares fermentables potencialmente en la etapa de hidrólisis. El objetivo del pretratamiento es romper las estructuras de la lignina y la celulosa para mejorar la accesibilidad a las enzimas de celulosa durante la etapa de hidrólisis (Mosier et al., 2005).

Un gran número de enfoques de pretratamiento se han investigado en una amplia variedad de materias primas tipos y hay varios artículos de revisión recientes que ofrecen una visión general sobre esto (Carvalho et al., 2008; Hendriks & Zeeman, 2009; Taherzadeh & Karimi, 2008; Yang & Wyman, 2008). Además de ser considerado un paso crucial en la conversión biológica de etanol, el pretratamiento de la biomasa representa uno de los principales costos económicos en el proceso. La conversión de lignocelulosa a etanol se basa en la hidrólisis enzimática, la cual se ha descrito como la segunda etapa del proceso con mayor costo precedido por el costo de materias primas (Mosier et al., 2005).

Dado que diferentes materiales lignocelulósicos poseen diferentes características fisicoquímicas, es necesario utilizar tecnologías de pretratamientos adecuados basados en las propiedades de la biomasa lignocelulósica de cada materia prima. La elección de determinado pretratamiento tiene un impacto significativo en las siguientes etapas del esquema global de la conversión en términos de digestibilidad de la celulosa, la generación de compuestos tóxicos potencialmente inhibitorios para la levadura, los requisitos de energía de agitación, la demanda de energía en el proceso y tratamiento de aguas residuales en las etapas subsecuentes del proceso (Galbe & Zacchi, 2007).

Otros estudios (Sun & Tomkinson, 2002) describen los parámetros de recuperación de pentosa, tamaño de partícula necesario de la materia prima, concentración de compuestos tóxicos formados durante el pretratamiento y la demanda de energía como factores decisivos en un pretratamiento eficaz.

Dentro de los factores clave para un pretratamiento eficaz de la biomasa lignocelulósica se deben tener en cuenta varias propiedades en el proceso de pretratamiento para un bajo costo (Yang & Wyman, 2008).

- Los altos rendimientos de varios cultivos, tiempos de cosecha. Varios pretratamientos han demostrado ser más adecuados para específicos materiales de alimentación. Por ejemplo, los métodos de pretratamiento con base alcalina, tales como cal, fibra de explosión amoniaco (AFEX), y la percolación de reciclada de amoníaco (ARP), pueden reducir efectivamente el contenido de lignina de residuos agrícolas, pero son menos satisfactorios para el procesamiento de sustrato recalcitrantes como las maderas blandas (Chandra et al., 2007). Los procesos de pretratamiento basados en ácido han demostrado ser eficaces en una amplia gama de sustrato lignocelulósico, pero son relativamente caros (Mosier et al., 2005).
- Sólido pretratado altamente digerible. Celulosa desde el pretratamiento debe ser altamente digerible con rendimientos superiores al 90% en menos de cinco y preferiblemente menos de 3 días con carga de la enzima menor que 10 FPU/g de celulosa (Yang & Wyman, 2008).
- Degradación de azúcares no significativa. Los altos rendimientos cercanos al 100% de celulosa y hemicelulosa azúcares fermentables, debe lograrse a través etapa de pretratamiento.
- Importe mínimo de compuestos tóxicos. El líquido hidrolizado de pretratamiento deberá ser fermentable a un bajo costo, para un alto rendimiento en la etapa de acondicionamiento. Condiciones severas durante pretratamiento conduce a una degradación parcial de hemicelulosa y la generación de compuestos tóxicos derivados de la descomposición de azúcar, lo que podría afectar a la hidrólisis procedimiento y etapas de fermentación (Oliva et al., 2003). Los compuestos tóxicos generados y sus cantidades dependen de la materia prima y la severidad del pretratamiento. Los productos de degradación del pretratamiento de

materiales lignocelulósicos se pueden dividir en las siguientes clases: ácidos carboxílicos, derivados de furano y compuestos fenólicos. Los principales derivados de furano son furfural y 5-hidroximetilfurfural (HMF) derivados de la degradación de pentosas y hexosas, respectivamente (Palmqvist & Hahn-Hagerdal, 2000). Los ácidos débiles, son en su mayoría acético y formico y compuestos ácidos fenólicos levulínico que incluyen alcoholes, aldehídos, cetonas y ácidos (Klinke et al., 2002).

- Reducción del tamaño de la biomasa no es obligatorio. Molienda o trituración de la materia prima a pequeños tamaños de partículas antes de pretratamiento son costosas tecnologías de uso intensivo de energía.
- Operación de tamaño razonable y reactores de costos moderados. Reactores de pretratamiento deben ser de bajo costo a través de minimizar su volumen, el empleo de materiales de construcción adecuadas para ambientes químicos altamente corrosivos, y mantener las presiones de operación razonable.
- No producción de residuos de desechos sólidos. Los productos químicos formados durante el acondicionamiento de hidrolizado en preparación para las etapas posteriores de procesamiento o eliminación no deberán presentar desafíos.
- Eficacia en el bajo contenido de humedad. El uso de materias primas de alto contenido de materia seca ayudaría a reducir el consumo de energía durante el pretratamiento.
- La obtención de una alta concentración de azúcar. La concentración de azúcares de las operaciones de pretratamiento e hidrólisis enzimática deberá estar por

encima de 10% para asegurar una concentración adecuada de etanol y para mantener la recuperación y el bajo costo de agua.

- La compatibilidad de fermentación. La distribución de recuperación de azúcar entre el pretratamiento y la hidrólisis enzimática posterior debe ser compatible con la elección de un organismo capaz de fermentar pentosas (xilosa y arabinosa) en hemicelulosa.
- Recuperación de lignina. La lignina y otros componentes deben ser recuperados para simplificar los procesos posteriores y para su conversión en coproductos valiosos (Yang & Wyman, 2008).
- Requisitos de calor y energía mínimos. Las demandas de calor y electricidad del pretratamiento deben ser bajas y/o compatible con el proceso térmico integrado.

### 2.2.1 Tipos de Pretratamiento

Los métodos de pretratamiento se pueden dividir en diferentes categorías: física (fresado y rectificado), físico-química (explosión de vapor, hidrotermólisis, oxidación húmeda, etc), productos químicos (alcalinos, ácido diluido, agentes oxidantes y disolventes orgánicos), biológicos, eléctricos, o una combinación de éstos (Alvira et al., 2010; Chiaramonti et al., 2012; Hendriks & Zeeman, 2009; Kumar et al., 2009). Los siguientes procesos de pretratamiento han sido desarrollados para la conversión biológica de la biomasa lignocelulósica a los combustibles y otros productos químicos valiosos.

- **Pretratamiento Físico:** Se utiliza para aumentar la accesibilidad del área superficial y el tamaño de poro de lignocelulosas, y para disminuir la cristalinidad y el grado de polimerización de la celulosa presente en lignocelulosas. Diferentes

tipos de procesos físicos tales como la molienda (molienda por bolas, molienda de dos rodillos, molienda por martillos y molienda coloidal), astillado y/o irradiación (rayos gamma y haz de electrones) se pueden utilizar para mejorar la digestibilidad enzimática de materiales residuales lignocelulósicos (Zhu et al., 2009a). La reducción de tamaño se utiliza en la mayoría de los estudios de investigación de la hidrólisis, pero hay poca información disponible acerca de las características del consumo de sustrato y la energía en el proceso (Zhu et al., 2010). Teniendo en cuenta el requisito de alta energía de la molienda a escala industrial y el aumento en las demandas de energía, es poco probable que la molienda se considere económicamente viable (Hendriks & Zeeman, 2009). La reducción de tamaño es uno de los métodos más eficaces para aumentar la accesibilidad enzimática para lignocelulosas. Sin embargo, muchos de los métodos físicos para la reducción del tamaño (molienda y la trituración) no son económicamente factible debido a requisito de alta energía. En este contexto, la extrusión es un método nuevo y pretratamiento físico prometedor para la conversión de biomasa para la producción de biocombustibles. En la extrusión, los materiales se someten a calor, se mezclan y cortan, lo que se traduce en modificaciones físicas y químicas en la biomasa después de pasar a través de la extrusora. La extrusora tiene muchas ventajas, tales como la capacidad de proporcionar de alto esfuerzo cortante, la transferencia de calor y mezcla rápida (Karunanithy & Muthukumarappan, 2010).

- **Pretratamiento Físicoquímico:** Pretratamientos que combinan tanto los procesos químicos y físicos son de importancia en la disolución de la hemicelulosa y la alteración de la estructura de la lignina, que proporciona una mejorada accesibilidad de la celulosa para enzimas hidrolíticas (Chandra et al., 2007; Hendriks & Zeeman, 2009). Esta categoría incluye la gran mayoría de los métodos de pretratamiento, como la explosión de vapor, agua caliente líquida, explosión de fibra amoníaco, oxidación húmeda, percolación de amoníaco reciclado, amoníaco acuoso, y explosión de CO<sub>2</sub> (Kumar et al., 2009). Recientemente, se han propuesto los líquidos iónicos y disolventes a base de

celulosa en los procesos de fraccionamiento de lignocelulosa (Sathitsuksanoh et al., 2012; Zhu et al., 2009b). Estos tipos de pretratamientos dependen de las condiciones del proceso y disolventes utilizados que afectan a las propiedades físicas y químicas de la biomasa.

- **Pretratamiento Biológico:** Se asocia principalmente con la acción de hongos que son capaces de producir enzimas para degradar la lignina, hemicelulosa y polifenoles presentes en la biomasa. Ha despertado interés por sus posibles ventajas sobre pretratamientos físico/químicos como sustrato y reacción específica, por su bajo consumo de energía, la no generación de compuestos tóxicos y el alto rendimiento de los productos deseados (Saritha et al., 2012). Sin embargo, sus desventajas son tan evidentes como sus ventajas, ya que el pretratamiento biológico es un proceso muy lento y requiere un control cuidadoso de las condiciones de crecimiento y gran espacio para su realización (Chandra et al., 2007). Además, la mayoría de los microorganismos lignolíticos solubilizan/consumen no sólo la lignina, sino también la hemicelulosa y la celulosa (Kuhar et al., 2008; Singh et al., 2008). Por lo tanto, el pretratamiento biológico enfrenta desafíos técnico-económicos y lo que lo convierte menos atractivo comercialmente. Además, el pretratamiento de la biomasa es un problema mundial que exige un proceso respetuoso con el medio ambiente. Por lo tanto, el interés se ha dirigido a un método biológico, y reciente los estudios muestran el creciente interés en esta dirección (Bak et al., 2010; Dias et al., 2010; Ma et al., 2010). Los microorganismos, principalmente hongos pardos, blancos y blandos, actinomicetos y bacterias, que degradan la lignina, hemicelulosa y muy poco de la celulosa han sido reportados por varios investigadores (Fissore et al., 2010; Ray et al., 2010; Sanchez, 2009; Saritha et al., 2012). Varios hongos de descendencia blanca como *Phanerochaete chrysosporium*, *Ceriporia lacerate*, *Cyathus stercolerus*, *Ceriporiopsis subvermisporea*, *Pycnoporus cinnabarinus* y *Pleurotus ostreatus* han mostrado eficiencia de deslignificación en diferente biomasa lignocelulósica (Shi et al., 2009). La

deslignificación de lignina por estos hongos toma semanas para lograr resultados significativos, pero se han empleado por ser muy selectivos y eficiente.

- **Pretratamiento Químico:** Se ha convertido en uno de los métodos más prometedores para mejorar la biodegradabilidad de la celulosa mediante la eliminación de la lignina y/o hemicelulosas, y para disminuir el grado de polimerización y la cristalinidad del componente celulósico en lignocelulosas (Agbor et al., 2011; Mtui, 2009). Se ha investigado extensamente para ser utilizado para deslignificación de material celulósico en la industria de pulpa y papel. También se ha utilizado para mejorar la digestibilidad de la biomasa en un proceso de pretratamiento industrial (Wyman et al., 2005). Además, hay algunos productos químicos, que se han informado que tienen efecto significativo sobre la estructura nativa de la biomasa lignocelulósica, no producen residuos tóxicos para los procesos posteriores, y donde las reacciones se llevan a cabo a presión y temperatura ambiente (Mtui, 2009). Productos químicos que van desde agentes oxidantes, alcalinos, ácidos y sales pueden utilizarse para degradar la lignina, hemicelulosa y celulosa a partir de residuos lignocelulósicos. Ácidos orgánicos tales como ácido oxálico, ácido acetilsalicílico y ácido salicílico también se pueden usar como catalizadores, considerando que un orgánico o una mezcla de disolvente orgánico acuoso con ácidos inorgánicos (HCl o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) también se utiliza para romper los enlaces de lignina y hemicelulosa (Carvalho et al., 2008). Sin embargo, se prefiere no utilizar ácidos concentrados debido a que son corrosivos y deben ser recuperados para hacer el pretratamiento económicamente factible (Agbor et al., 2011; Prasad et al., 2007).

### 2.2.1.1 Hidrólisis ácida

El pretratamiento con hidrólisis ácida mejora la hidrólisis enzimática de biomasa lignocelulósicas para liberar azúcar fermentable (Kumar et al., 2009). La producción de etanol lignocelulósico que implica hidrólisis ácida seguida de sacarificación enzimática

utilizando la enzima celulasa ha sido reportada por la mayoría de los investigadores (Araque et al., 2008). El pretratamiento con ácido depende de parámetros tales como el tipo de ácido, la concentración de ácido, relación de sólido a líquido y la temperatura. Ácidos inorgánicos tales como ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido clorhídrico y ácido fosfórico han sido utilizados en el pretratamiento lignocelulósico. Algunos ácidos orgánicos tales como ácido peracético, ácido maleico, entre otros, también se han estudiado para el pretratamiento (Chiaramonti et al., 2012; Yat et al., 2008; Zhao et al., 2008). Los diferentes procesos de pretratamiento ácido para diversas materias primas se han resumido en la Tabla 2.

### **Ácido Sulfúrico Diluido**

El pretratamiento con ácido sulfúrico ha sido ampliamente estudiado debido a su alta actividad catabólica. El pretratamiento ácido requiere alta temperatura (mayor a 120 °C) y presión (mayor a 2 atm). También el pretratamiento con ácido diluido es el proceso más eficaz para materiales lignocelulósicos, porque genera cantidades más bajas de productos de degradación que los pretratamientos con ácido concentrado (Pingali et al., 2010; Wyman et al., 2005). Se puede utilizar ya sea como un pretratamiento de lignocelulosas para la hidrólisis enzimática, o como el método para hidrolizar las lignocelulosas en azúcares fermentables en la hidrólisis ácida de dos etapas. Generalmente, en los pretratamientos ácidos se realizan diluciones de ácidos que van desde el 0.1% al 2% en peso.

El pretratamiento con ácido permite hidrolizar las hemicelulosas, especialmente xilano presente en el material lignocelulósico. Las hemicelulosas pueden ser degradadas en xilosa, manosa, ácido acético, galactosa, glucosa, etc. A las altas temperaturas y presiones a menudo utilizados en los procesos industriales, la glucosa y la xilosa se degradan en productos tales como furfural e hidroximetilfurfural, respectivamente, y otras formas de degradación como ácido fórmico y ácido levulínico.

## 2.3 Modelos Cinéticos

El modelo clásico de la cinética de hidrólisis de hemicelulosa se refiere a menudo como pseudo-homogéneo, el cual fue utilizado como una buena representación a pesar de que el proceso es en realidad heterogéneo. En los pasados 10 a 20 años, las deficiencias de este modelo se han demostrado en diversos estudios y el interés por los aspectos heterogéneos de este proceso ha aumentado.

Los modelos cinéticos son valiosos en el diseño del proceso, y varios de ellos han sido aplicados a pretratamiento para describir la degradación de la hemicelulosa como la descomposición de xilano durante el pretratamiento con ácido diluido de biomasa celulósica (Jacobsen & Wyman, 2000). Algunos modelos asumen que la hemicelulosa sigue una cinética de reacción homogénea para formar xilosa y otros azúcares (Aguilar et al., 2002; Bustos et al., 2003; Morinelly et al., 2009).

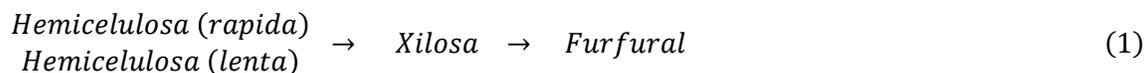
En la Tabla 3 se muestra un resumen representativo de artículos recientes sobre hidrólisis ácida de diferentes materiales lignocelulósicos en los cuales se emplea la aproximación de modelo pseudohomogéneo para representar la cinética de la degradación.

Un modelo muy utilizado postula que la hidrólisis se puede representar como una reacción de pseudo-primer orden consecutivo y homogénea que avanza en dos etapas sucesivas: en primer lugar, la hidrólisis de xilano en xilosa; y segundo, la degradación de la xilosa a furfural (Seaman). Para los fines de descripción global del proceso de hidrólisis, un modelo bifásico supone que se presentan dos reacciones de primer orden paralelas; específicamente una reacción de hidrólisis rápida y una reacción de hidrólisis lenta, donde la primera parte de la hemicelulosa tiende a hidrolizar más rápido que la otra parte.

**Tabla 3.** Modelos pseudohomogéneo en hidrólisis ácida de materiales lignocelulósicos.

Título	Modelo	Ref.
<i>Low Liquid Hemicellulose Hydrolysis of Hydrochloric Acid</i>	$\text{Hemicelulosa} \xrightarrow{k_1} \begin{matrix} \text{Xilan I} \\ \text{Xilan II} \end{matrix} \xrightarrow[k_3]{k_2} \text{Oligomeros} \xrightarrow{k_4} \text{Xilosa} \xrightarrow{k_5} \text{Productos degradación}$	(Mehlberg & Tsao, 1979)
<i>Optimal Kinetic Design of Furfural Reactors</i>	$\text{Hemicelulosa} \xrightarrow{k_1} \begin{matrix} \text{Xilan I} \\ \text{Xilan II} \end{matrix} \xrightarrow[k_3]{k_2} \text{Xilosa} \xrightarrow{k_4} \text{Productos degradación}$	(Marton, 1987)
<i>Principles of Biomass Refining</i>	$\text{Hemicelulosa} \xrightarrow{k_1} \begin{matrix} \text{Xilan I} \\ \text{Xilan II} \end{matrix} \xrightarrow[k_3]{k_2} \text{Xilosa} \xrightarrow[k_5]{k_4} \begin{matrix} \text{Productos de degradación} \\ \text{Furfural} \end{matrix}$	(Marton et al., 1989)
<i>Kinetics of straw hydrolysis</i>	$\text{Hemicelulosa} \xrightarrow{k_1} \text{Xilosa} \xrightarrow{k_2} \text{Productos degradación}$	(Grant et al., 1977)
<i>Kinetic modeling of hemicellulose-derived biomass hydrolysis under high pressure CO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O mixture technology</i>	$\text{Xilan} \xrightarrow{k_1} \text{Xilooligosacáridos} \xrightarrow{k_2} \text{Xilosa} \xrightarrow{k_3} \text{Furfural} \xrightarrow{k_4} \text{Productos degradación}$	(Relvas et al., 2015)
<i>Kinetic study of the extraction of hemicellulosic carbohydrates from sugarcane bagasse by hot water treatment</i>	$\text{Polímero} \xrightarrow{k_1} \text{Monómero} \xrightarrow{k_2} \text{Producto Descomposición}$	(Vallejos et al., 2015)
<i>Estudio cinético de la formación de xilosa por hidrólisis con ácido sulfúrico diluido de Cenchrus ciliaris</i>	$\text{Hemicelulosa} \xrightarrow{k_1} \text{Xilosa} \xrightarrow{k_2} \text{Furfural}$	(Encinas Soto, 2010)

En consecuencia, el xilano se clasifican en una fracción “fácil de hidrolizar” (rápida) y una fracción “difícil de hidrolizar” (lenta) (Kobayashi & Sakai, 1956; Lu & Mosier, 2008; Mehlberg & Tsao, 1979; Yat et al., 2008). La Ec. (1) muestra la reacción de hidrólisis de hemicelulosa según el modelo bifásico:



Por otra parte, se desarrolló una variación a este modelo de descomposición parcial de hemicelulosa que representa la estructura heterogénea de la hemicelulosa de la biomasa considerando dos tipos de hemicelulosas, de las cuales una reacciona más rápido que otra. Las fracciones rápidas y lentas en estos modelos se postularon para formar oligómeros de xilosa y xilosa monomérica (llamado simplemente xilosa), y finalmente furfural por reacciones irreversibles, de primer orden, como en la que se muestra en la Ec. (2). Varios investigadores han aplicado este tipo de modelo (Jacobsen & Wyman, 2002; Lu & Mosier, 2008; Schell et al., 2003).



Este modelo no distingue diferencias en los mecanismos de reacción entre hemicelulosas de reacción rápida y lenta, es decir, ambos son irreversibles y de primer orden. Las hemicelulosas en biomasa son polisacáridos con una cadena principal de pentosas a la que se adjuntan diferentes grupos laterales de hexosas y pentosas. Como los grupos laterales se eliminan por hidrólisis, los xilanos de cadena más larga y otros en la cadena principal pueden ser hidrolizados con mayor eficacia.



Los modelos presentados anteriormente, basados en la aproximación pseudohomogénea, han sido reportados en la literatura para representar a la hidrólisis ácida de una variedad de materiales. En la actualidad, los mecanismos de reacción que rigen la hidrólisis ácida de los materiales lignocelulósicos son desconocidos. Con el fin de alcanzar los objetivos de este trabajo, se desarrolló una metodología de carácter teórico-experimental. Los detalles de la misma se presentan en el Capítulo 3.

## CAPÍTULO 3

### METODOLOGÍA

La finalidad del trabajo es el desarrollo de un modelo heterogéneo que describa el mecanismo de hidrólisis ácida de hemicelulosa. Para un mejor entendimiento de la hidrólisis de hemicelulosa se estudiaron la etapa de degradación de los carbohidratos en la solución ácida y la etapa que representa la parte heterogénea del proceso de hidrólisis de homopolímeros. Posteriormente, se acoplaron los parámetros cinéticos obtenidos de los experimentos al modelo de hidrólisis desarrollado. La Figura 11 muestra la estrategia general seguida en el presente trabajo.

Por lo anterior, se propuso una metodología de carácter teórico-experimental mostrada en la Figura 12. El objetivo de la metodología experimental fue la obtención de datos cinéticos en las etapas de degradación de carbohidratos, hidrólisis de homopolímeros y de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*. La degradación de carbohidratos fue estudiada para cuantificar el efecto del ácido en cada uno de ellos. La hidrólisis de homopolímeros proporcionó información sobre la formación de carbohidratos de forma individual. La hidrólisis de hemicelulosa se estudió para establecer el mecanismo global. Los datos obtenidos en las etapas mencionadas se validaron con el desarrollo de los modelos propuestos para los carbohidratos, homopolímeros y hemicelulosa. El desarrollo de los modelos validados se describe con mayor detalle en la sección 3.6.

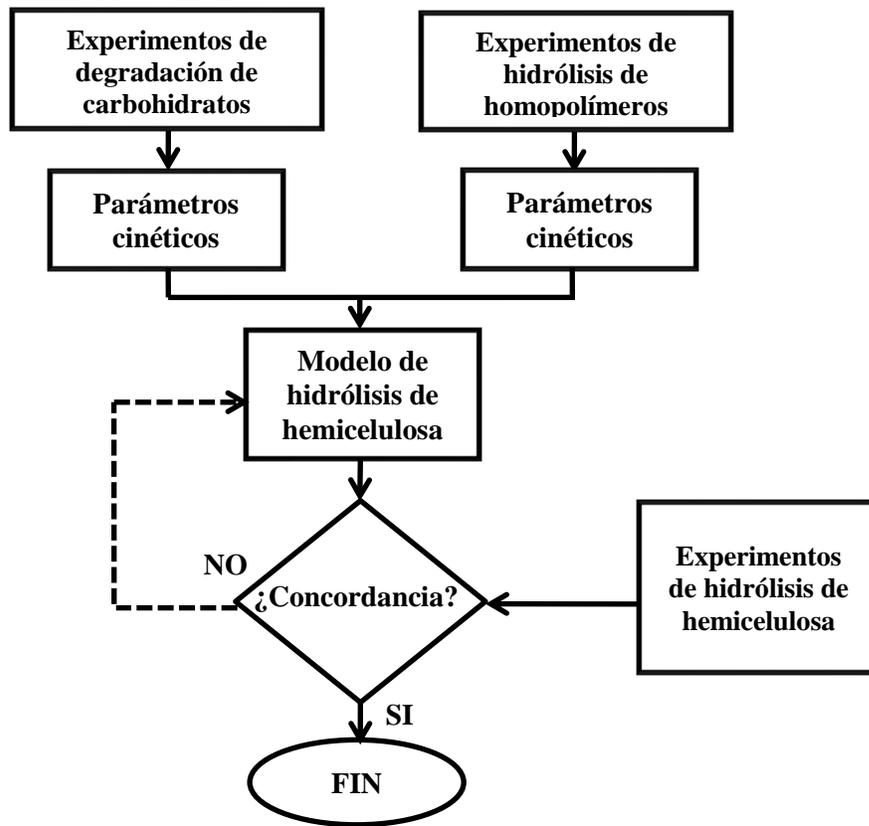


Figura 11. Estrategia general del presente trabajo.

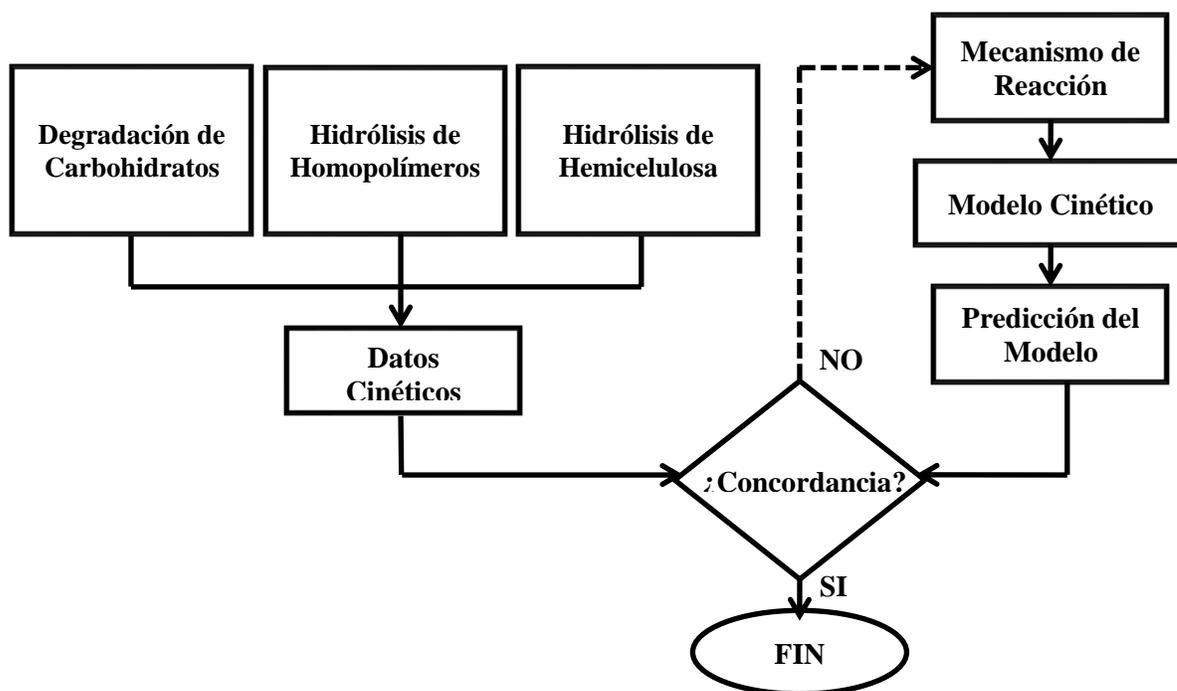


Figura 12. Esquema de la metodología teórico-experimental.

La metodología experimental comprendió el estudio de la degradación ácida de carbohidratos, hidrólisis ácida de homopolímeros e hidrólisis ácida de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*. El diseño experimental de dichas etapas se presenta a continuación:

### 3.1 Diseño Experimental

El diseño de experimentos para esta investigación se realizó una vez establecidas las condiciones de concentración de ácido sulfúrico y temperatura. La temperatura de estudio en todos los experimentos fue de 120 °C, debido a que en esta temperatura se disminuye la formación de productos de degradación (Encinas Soto, 2010). Las concentraciones de ácido se establecieron a partir de estudios donde se observaron

formación y mínima degradación de carbohidratos (Encinas Soto, 2010). La agitación que se mantuvo en los experimentos fue de 450 rpm.

En las Tablas 4 y 5 se muestran las condiciones experimentales para la degradación de los carbohidratos, y de hidrólisis de homopolímeros y hemicelulosa extraída de *Cenchrus ciliaris*, respectivamente.

**Tabla 4.** Diseño Experimental para la Degradación de Carbohidratos en Solución a 120 °C.

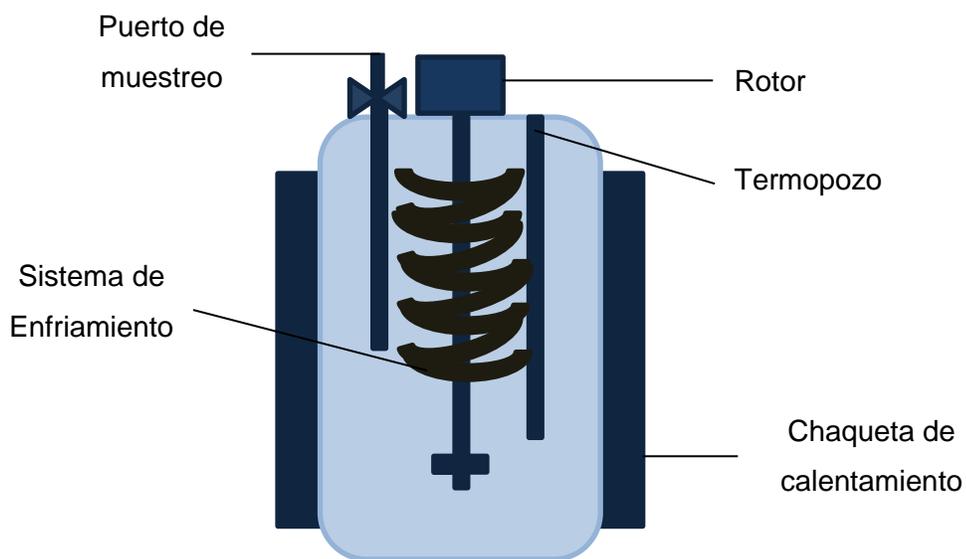
Carbohidrato	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ], [M]
	0
Xilosa	0.05
	0.15
	0
Glucosa	0.05
	0.15
	0
Arabinosa	0.05
	0.15

**Tabla 5.** Diseño Experimental para Hidrólisis de Homopolímeros y Hemicelulosa a 120 ° C.

<b>Material</b>	<b>[H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] [M]</b>
	0
Xilán	0.05
	0.15
	0
Glucán	0.05
	0.15
	0
Arabinán	0.05
	0.15
	0
Hemicelulosa	0.05
	0.15

Todos los experimentos fueron realizados en el reactor tipo autoclave Engineers modelo P-419 cuyo diagrama esquemático se muestra en la Figura 13. Dada la capacidad del reactor, en todos los experimentos se utilizó 0.5 L de solución ácida. El calentamiento fue realizado por medio de una chaqueta eléctrica que cubre la parte exterior del recipiente del reactor. El enfriamiento es por medio de un flujo continuo de agua a través de un serpentín de acero inoxidable ubicado en el interior del reactor. La Figura 14 muestra la rampa de calentamiento del reactor durante los experimentos, la cual indica que la temperatura de operación típicamente se alcanzó en 20 min posteriores a la

aplicación de energía a la chaqueta de calentamiento. La agitación (450 rpm) se llevó a cabo mediante un sistema de dos propelas tipo Rushton de 6 paletas planas. El objetivo de la agitación fue mantener condiciones uniformes en el interior del reactor, disminuir los efectos de transferencia de masa en la fase líquida y facilitar el contacto de las partículas con la solución ácida.



**Figura 13.** Diagrama esquemático del reactor utilizado en los experimentos de degradación e hidrólisis.

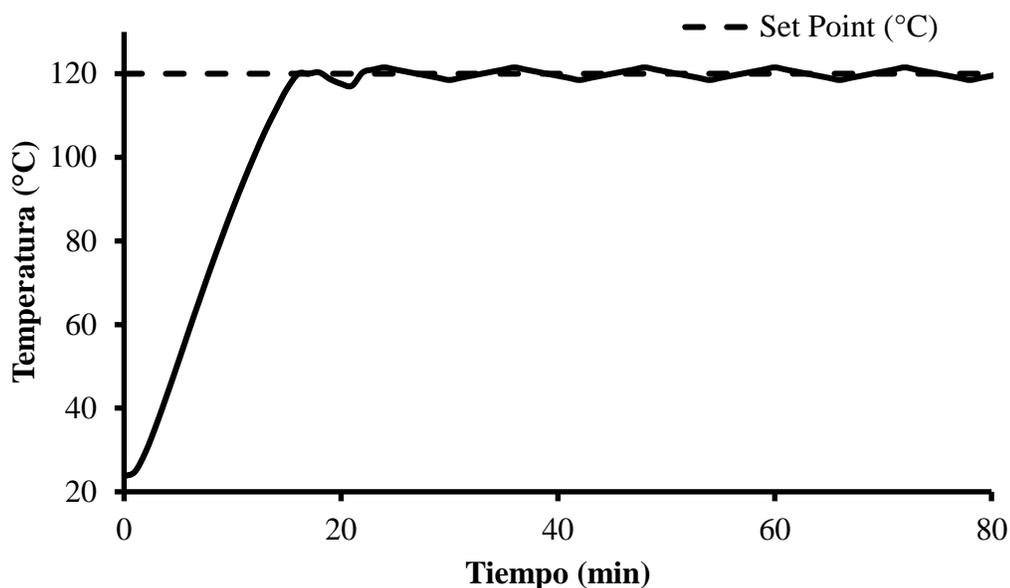


Figura 14. Rampa de calentamiento típica del reactor durante la experimentación.

### 3.2 Degradación de Carbohidratos

El objetivo de esta etapa experimental fue estudiar la cinética de degradación de los carbohidratos puros a las condiciones de la Tabla 4. En un experimento típico, primeramente se preparó la solución según las condiciones de concentración pre establecidas para el experimento. Posteriormente se pesaron los carbohidratos en una balanza granataria Marca Chyo Modelo JK-180, peso en seco del material de estudio en cada caso según las condiciones correspondientes al diseño de experimentos de acuerdo al número de hidrólisis por realizar. La relación sólido líquido fue de 1 g/L de solución ácida. Primeramente, se adiciono la solución acida al reactor. A continuación, se agregó el sólido. Posteriormente, se aseguró la cremallera del reactor y se colocó la chaqueta de calentamiento. Una vez montado el reactor en la chaqueta de

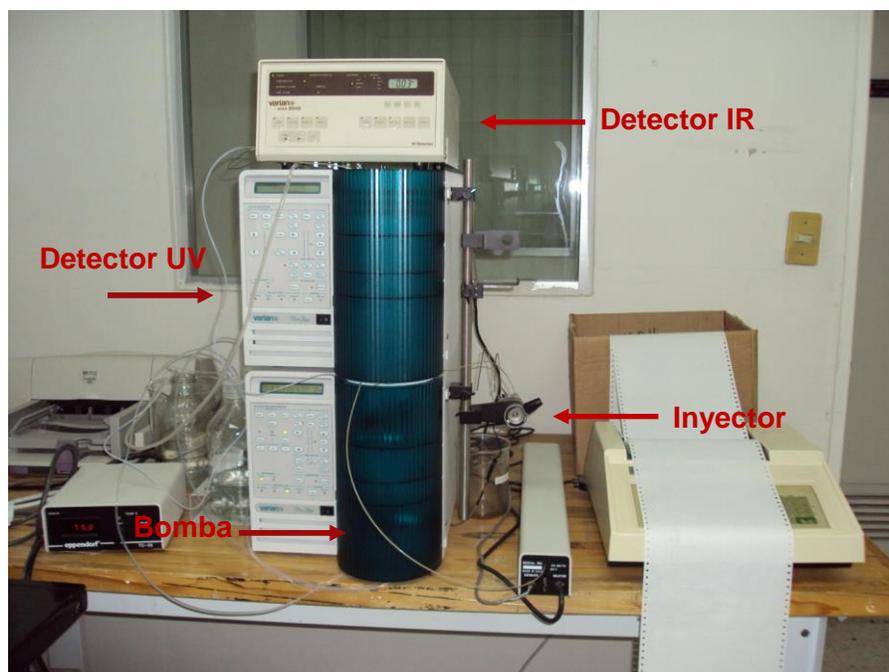
calentamiento, se procedió a conectar las líneas del sistema de enfriamiento, se conectó el motor de agitación a la guía del reactor y se introdujo el termopar en el termopozo.

Las condiciones de operación del reactor fueron introducidas en los controladores de temperatura y agitación. A partir de este momento se iniciaron la agitación y el calentamiento correspondiente. El reactor comenzó a incrementar la temperatura hasta llegar a las condiciones de temperatura deseada, para mantener esta temperatura constante durante toda la reacción. La temperatura dentro del reactor fue monitoreada visualmente a través de un indicador digital conectado a un termopar durante todo el proceso.

Una vez que se alcanzó la temperatura de operación, se recolectó la primera muestra de 10 mL de solución acuosa. Posteriormente se recolectaron a intervalos de 10 min. Al concluir el experimento, el reactor fue enfriado y limpiado. Las muestras obtenidas se dejaron enfriar a temperatura ambiente por convección natural en el aire del laboratorio y prepararon para el análisis mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de acuerdo al procedimiento descrito a continuación.

Posteriormente a su enfriamiento, 0.2 mL del sobrenadante de las muestras se vertieron en un vial Eppendorff® de 1 mL y se mezclaron con 0.8 mL de agua para HPLC, marca Fermont H5052 utilizando una micropipeta marca ACURA modelo 821. De esta manera se logró un dilución de las muestras en un factor 1:5. La mezcla se centrifugó en un equipo Beckman® modelo Microfuge ETM durante 20 minutos y enseguida se filtraron mediante un filtro Millipore® de 0.22  $\mu\text{m}$ . La muestra resultante se procedió a analizar mediante la técnica de HPLC de acuerdo al procedimiento descrito a continuación.

La Figura 15 muestra el sistema de HPLC Marca Varian ProStar utilizado para los análisis de las muestras. El sistema cuenta con un sistema de bombeo, detectores infrarrojo (IR) y ultravioleta (UV) visible, inyector y horno calentador Marca Eppendorf® Modelo CH-30. Para el presente estudio se utilizó una columna Hi-Plex H Marca Varian a 65 °C, que contiene una resina de intercambio catiónico que consiste de estireno sulfonado entrecruzado con copolímero de divinilbenceno. El diámetro de partícula del material de la columna es de 7-11  $\mu\text{m}$ . La fase móvil fue agua para HPLC marca Fermont H5052 suministrada a un flujo de 0.6 mL/min. Los detectores de índice de refracción Varian® modelo Star 9020 y de UV- Visible Varian® ProStar envían la señal eléctrica al integrador Shimadzu modelo Chromatopac C-R3A el cual registra en forma gráfica las especies químicas detectadas por el instrumento, generando un reporte del área bajo la curva obtenida. El detector de índice de refracción fue operado a 35 ° C y a  $2.56 \times 10^{-6}$  RIU/F.S y el detector UV-visible trabajó a una longitud de onda de 254 nm, para todas las muestras analizadas.



**Figura 15.** Sistema HPLC Varian ProStar para la identificación de especies en solución.

### 3.3 Hidrólisis de Homopolímeros y Hemicelulosa

Los experimentos de hidrólisis de los homopolímeros y la hemicelulosa de la Tabla 5 se llevaron a cabo en el sistema mostrado en la Figura 13 y se siguió un procedimiento similar al descrito en la sección anterior. En estos casos, la relación sólido-líquido utilizada fue de 100 mg/L de solución ácida.

### 3.4 Aislamiento de Hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*

Para el presente estudio se seleccionó como materia prima el arbusto *Cenchrus ciliaris*, la cual es una especie robusta, nativa de ambientes áridos tropicales y subtropicales (Sharif-Zadeh & Murdoch, 2001). La especie tiene variadas características morfológicas y fisiológicas. Se le ha dado el nombre común de “zacate *buffel*”, el cual ha sido ampliamente aceptado y generalmente se refiere a *Cenchrus ciliaris* o *Pennisetum ciliare*. La clasificación de la especie se muestra en la Tabla 6. Las diferencias morfológicas y fisiológicas entre las variedades de pasto “*buffel*” se han estudiado en varias ocasiones (Gutierrez-Ozuna et al., 2009; Jacobs et al., 2004; Jorge et al., 2008; Mnif et al., 2005; Morales-Romero & Molina-Freaner, 2008). Estos estudios describen el rango de las dimensiones en las que el pasto crece, las cuales se muestran en la Tabla 7.

En la Tabla 8 se observa la composición química del *Cenchrus ciliaris*, el cual está integrado por un 35.3% en materia seca de celulosa, un 31.8% en materia seca de hemicelulosa y un 8% en materia seca de lignina.

**Tabla 6.** Clasificación científica de *Cenchrus ciliaris*.

<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>Orden</b>	<i>Poales</i>
<b>Familia</b>	<i>Poaceae</i>
<b>Subfamilia</b>	<i>Panicoideae</i>
<b>Genero</b>	<i>Cenchrus</i>
<b>Especie</b>	<i>C. ciliaris</i>
<b>Nombre binomial</b>	<i>Cenchrus ciliaris</i> L.

**Tabla 7.** Características de *Cenchrus ciliaris* (Marshall et al., 2012).

<b>Característica</b>	<b>Dimensiones</b>
Altura	20-150 cm
Grosor del tallo	1-3 mm
Hoja	1.5-30 mm de largo 3-8 mm de ancho
Lígulas	0.5-2 mm
Inflorescencias	Amarillo - Purpura -Verde
Tiempo de Floración	Aproximadamente 3 meses a partir de la germinación
Raíces	Hasta 2.4 m de profundidad

**Tabla 8.** Composición química de *Cenchrus ciliaris* (Lozano et al., 2001).

Componente	(% peso de materia seca)
Proteína cruda	10
Cenizas insolubles en ácido	2
Materia orgánica:	88
- Celulosa	35.3
- Hemicelulosa	31.8
- Otros materiales	15.6

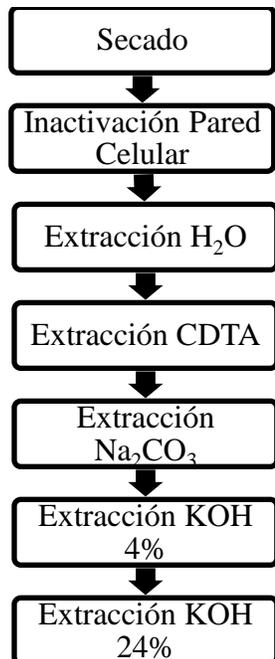
El zacate *buffel* fue recolectado en el ejido La Mora, Banamichi, Sonora. La recolección fue realizada con machete. La recolección fue de 1 kg de zacate. En la Figura 16 se muestra el zacate *buffel* recién cortado del pastizal y durante las etapas de reducción de tamaño para su utilización en este trabajo.

**Figura 16.** Etapas de reducción de tamaño de *Cenchrus Ciliaris*.

La preparación de la materia prima consistió primeramente de un secado a una temperatura de 80°C durante un tiempo de 24 horas en una mufla VWR Scientific modelo 1350 F. Dado que el zacate *buffel* puede llegar a medir hasta 150 cm de largo, fue

necesario reducir su tamaño, lo cual se llevó a cabo en dos etapas (Figura 16). La primera etapa fue llevada a cabo en una desintegradora de granos y forrajes, cortando la planta en trozos de 5-7 cm de largo. La segunda etapa fue realizada en un molino Pulvex 200 en el cual se redujo el zacate *buffel* hasta obtener polvos finos como se muestra en la Figura 16.

El aislamiento de hemicelulosa se realizó utilizando la fracción de tamaño de partículas menores a 0.246 mm. Las partículas de zacate *buffel* fueron sometidas a extracción química, filtración, congelación y liofilización. Las etapas del proceso de extracción química para la preparación y aislamiento de la hemicelulosa se muestran en la Figura 17 (Rose et al., 1998). El aislamiento de las fracciones de la pared vegetal está basado en la composición y la degradación de los polímeros de hemicelulosa y pectinas de la pared celular.



**Figura 17.** Secuencia de pasos de la Extracción Química de Hemicelulosa (Luke, 2010).

El proceso de extracción química inició con el secado del zacate *buffel* y la inactivación de la pared vegetal. Posteriormente, se realizaron extracciones con agua (H<sub>2</sub>O), 1-2 diaminociclohexano ácido tetra acético (CDTA), carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), hidróxido de potasio (KOH) al 4% y al 24%. A continuación se describen cada una de las etapas para llevar a cabo este aislamiento.

El contenido de humedad de material lignocelulósico debe mantenerse lo más bajo posible. Por lo que se utilizó el método conocido como método de probeta. Para este proceso, se midió con precisión el peso inicial de 5 gramos de la muestra de zacate *buffel* en una balanza Marca Chyo Modelo JK-180. Posteriormente, las muestras fueron colocadas en una malla para asegurar un secado uniforme del material. Se realizó un secado convencional a la temperatura de 85 °C. El peso de la muestra fue monitoreado cada tres horas, hasta obtener un peso constante después de 48 horas de secado. El secado fue realizado en un horno de convección ubicado en el Laboratorio de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Sonora.

Una vez realizada la etapa de secado, las partículas de zacate *buffel* fueron suspendidas en 250 mL de una solución al 95 % en peso de etanol para llevarse a ebullición (80 °C). La solución fue calentada antes de añadir el zacate *buffel*. La cantidad de zacate *buffel* agregada fue de 3 gramos. Se mantuvo una agitación por 30 a 40 min. Posteriormente la suspensión se filtró con papel Whatman No. 3 y se recolectó el material insoluble. Se realizaron varios lavados al material insoluble. El primer lavado fue con 500 mL de una solución de etanol hirviendo. El siguiente lavado se realizó con una solución de 500 mL de una mezcla de cloroformo-metanol. El último lavado que se realizó al material insoluble fue con 500 mL de acetona. Posteriormente, la fracción insoluble fue separada por filtración y secada en un horno a 30°C por 48 horas y se guardó en un desecador por 48 horas.

### **Extracción con Agua**

La fracción insoluble fue agregada a una solución de 200 mL de H<sub>2</sub>O con 0.02% de Thimerosal. La suspensión fue sometida a agitación constante durante 18 horas. Esta suspensión fue centrifugada a 14000 rpm durante 30 minutos y el sobrenadante (fracción No. 1) fue recolectado. La fracción insoluble (FI) se filtró y se lavó con acetona. Posteriormente, el almidón de la fracción insoluble se eliminó colocando la fracción insoluble en una solución de dimetilsulfoxido DMSO-H<sub>2</sub>O en relación 1:9 durante 4 horas. Después, se realizó el filtrado de la suspensión. La muestra obtenida fue secada con acetona para proceder con el siguiente paso en la extracción con CDTA.

### **Extracción con CDTA**

La fracción insoluble fue agregada a 200 mL de una solución 50 mM (17.315g/L) de CDTA. La suspensión se mantuvo en agitación constante por 24 horas al cabo de la cual fue centrifugada, recolectando el sobrenadante. La fracción insoluble fue filtrada y la muestra obtenida fue secada con acetona para proceder al siguiente paso en la extracción con carbonato de sodio.

### **Extracción con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>**

La fracción insoluble fue agregada a 200 mL de solución de 50mM (1.06 g/L) de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. La suspensión se mantuvo en agitación constante por 24 horas y posteriormente fue centrifugada, recolectando el sobrenadante. Éste fue introducido para su purificación en un equipo de ultrafiltración marca AMICON 8400 de 350 mL con las membranas de celulosa de 10,000 kD, como se muestra en la Figura 3.7. La purificación se realizó con 30 mL de sobrenadante en 10 volúmenes de H<sub>2</sub>O. Típicamente se utilizaron tres recambios de agua durante la purificación. La fracción ultrafiltrada se congeló y se procedió a liofilizarla. Posteriormente, se realizó un filtrado a la fracción insoluble y la

muestra obtenida fue secada con acetona para proceder con el siguiente paso en la extracción química con hidróxido de potasio al 4%.

#### **Extracción con KOH 4%**

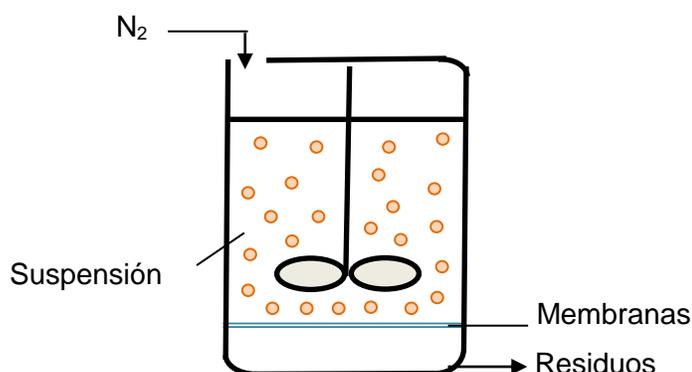
La fracción insoluble fue agregada a una solución acuosa de KOH al 4%. La suspensión se mantuvo en agitación constante durante 24 horas. Esta suspensión fue centrifugada y el sobrenadante fue recolectado. El sobrenadante fue purificado con las membranas de celulosa antes mencionadas, para posteriormente ser congelado y liofilizado. La fracción insoluble fue filtrada y la muestra obtenida fue secada con acetona para proceder con el siguiente paso en la extracción química con hidróxido de potasio al 24%.

#### **Extracción con KOH 24%**

La última extracción a la fracción insoluble se realizó con una solución acuosa de KOH al 24%. La suspensión se mantuvo en agitación constante por 24 horas. Esta suspensión fue centrifugada y se recaudó el sobrenadante.

La suspensión fue purificada en un ultrafiltrador mediante membranas de celulosa. El sistema de ultrafiltración por membranas se basó en la presión hidrostática ejercida sobre la suspensión contra la membrana semipermeable. La hemicelulosa, heteropolímero de alto peso molecular, fue retenida por la membrana. Los residuos obtenidos fueron agua y los solutos de bajo peso molecular que atravesaron la membrana de celulosa. En la Figura 18 se muestra el sistema experimental utilizado para realizar el proceso de aislamiento de hemicelulosa de la pared vegetal del zacate *buffel*.

La purificación de hemicelulosa se realizó en un equipo de Ultrafiltración marca AMICON 8400 de 400 mL utilizando membranas de celulosa Millipore de 10,000 kD. Las condiciones de temperatura y la presión del gas  $N_2$  fueron de 7 °C y 137.9 kPa, respectivamente. El purificado fue congelado y liofilizado.



**Figura 18.** Sistema experimental para la ultrafiltración de Hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*.

### 3.5 Caracterización de Partículas

Dentro de esta investigación se estudiaron diferentes tipos de partículas. Las partículas provenientes de los homopolímeros de los carbohidratos que conforman la hemicelulosa, y las partículas obtenidas de la hemicelulosa aislada del zacate *buffel*. La caracterización de las partículas incluyó su morfología, área superficial y tamaño de partícula.

La morfología se determinó mediante microscopía electrónica de barrido en un equipo JEOL 5410LV. Previamente a su observación, las muestras fueron bañadas en oro para

obtener una mejor resolución de las imágenes. La observación de las partículas se realizó antes y después del tratamiento ácido.

El área superficial de las partículas representa la magnitud de la superficie disponible para el contacto sólido-fluido por unidad de masa de sólido. En virtud de la anterior definición, cuando las partículas son no porosas y de composición uniforme, el área superficial aumenta al disminuir el tamaño de partícula. Consecuentemente, para una reacción heterogénea sólido-fluido las partículas pequeñas son más reactivas que las partículas grandes.

La mayoría de las partículas de zacate *buffel* del tamaño utilizado, presentaron superficies irregulares. Consecuentemente, su área superficial es mayor que la de un cubo o esfera regular de dimensiones lineales comparables.

La determinación experimental del área superficial se realizó de acuerdo al método de Brunauer–Emmett–Teller (BET) en un equipo Gemini VII de Micrometrics. El flujo de operación del equipo fue de 1000 mmHg/min.

El análisis del tamaño de partícula se realizó a los homopolímeros por triplicado en vía húmeda. Los homopolímeros previamente fueron sometidos a sonicación. Se utilizó un analizador de distribución de tamaño de partícula Coulter modelo LS-100Q. Este es un analizador que utiliza la técnica de dispersión de luz láser.

El análisis termogravimétrico fue realizado en un equipo SDT 2960 Simultaneous DSC-TGA marca TA Instruments. Los materiales estudiados fueron xilán, glucán, arabinán,

zacate *buffel* y hemicelulosa. Se utilizó una atmósfera de gas nitrógeno con un flujo 100 mL/min. La rampa de temperatura fue de 20 °C/min. La cantidad de muestra para el análisis fue de 5 a 15 mg.

### 3.6 Formulación de los Modelos Cinéticos

De acuerdo a la metodología planteada en el capítulo anterior, se desarrollaron los modelos cinéticos para los experimentos de: (1) degradación de los carbohidratos en solución, (2) hidrólisis ácida de los homopolímeros, y (3) hidrólisis de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*. Los desarrollos de cada etapa se describen a continuación.

La Figura 13 muestra el sistema experimental para el cual se desarrollaron los modelos del presente trabajo. En todos los casos se hicieron las siguientes suposiciones: (a) régimen no estacionario, (b) mezclado perfecto en el volumen del reactor y (c) el volumen de reacción y la temperatura son constantes.

La suposición de régimen no estacionario se basa en que el reactor se operó por lotes; la suposición de mezclado perfecto se basa en un estudio previo realizado en este laboratorio (Encinas-Soto et al., 2015) en el cual se encontró que con una agitación de 450 rpm, los efectos de transferencia de masa en la fase líquida son despreciables en el reactor de la Figura 13. Finalmente, el volumen total de muestra recolectado fue de 50 mL, lo que se considera despreciable con respecto al volumen inicial de la solución (0.5 L).

Durante el desarrollo de los modelos descritos a continuación, se requiere conocer la concentración del ion hidronio,  $C_{H_3O^+}$  a 120 °C. Esta cantidad se determinó a partir de las constantes de disociación del ácido sulfúrico (Marshall & Jones, 1966) como función de su concentración. Los resultados de dichos cálculos se muestran en la Tabla 9.

Para trabajos futuros se recomienda desarrollar un modelo que considere el cambio de temperatura con el tiempo. Asimismo, se sugiere utilizar la técnica de HPLC acoplada a masas para la cuantificación de la concentración de los oligosacáridos en la solución.

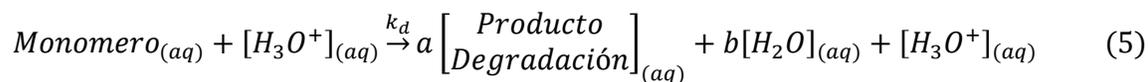
**Tabla 9.** Valores de concentración de  $H_3O^+$  a 120 °C como función de la concentración de ácido sulfúrico.

<b>[H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] (M)</b>	<b>[H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>] (M)</b>
0	1.21 x 10 <sup>-6</sup>
0.05	0.0506
0.15	0.151

### 3.6.1 Degradación de Carbohidratos en Solución

El objetivo de esta sección fue obtener la cinética de la degradación en solución ácida de los carbohidratos mostrados en la Tabla 4 a partir de las sustancias puras.

En este trabajo, la degradación de los monómeros de carbohidratos en fase acuosa se propone que se lleva a cabo de acuerdo a la siguiente reacción:



La reacción propuesta es elemental y de primer orden con respecto a la concentración del monómero. El balance de masa para los carbohidratos se muestra a continuación:

$$\frac{dC_m}{dt} = - k_{dm} C_m C_{H_3O^+} \quad (6)$$

Donde  $C_m$  es la concentración del monómero,  $t$  es el tiempo de reacción,  $k_{dm}$  es la constante de degradación para la formación del monómero en estado puro, y  $C_{H_3O^+}$  es la concentración del ion hidronio. La concentración del ion hidronio se obtuvo a partir de la Tabla 9.

Al integrar la Ec. (6) obtiene:

$$\ln \frac{C_m}{C_{m0}} = - k_{dm} C_{H_3O^+} t \quad (7)$$

donde  $C_{m0}$  es la concentración a  $t=0$  del monómero a 120 °C. La constante de degradación  $k_{dm}$ , se obtuvo de graficar el lado izquierdo de la Ec. (7) versus  $t$ . Las gráficas obtenidas para todos los monómeros mostraron un comportamiento lineal. Por lo tanto, la pendiente  $m$  de dichas gráficas corresponde al producto:  $k_{dm} C_{H_3O^+}$ . La constante cinética de degradación  $k_{dm}$  se obtuvo entonces de la relación:

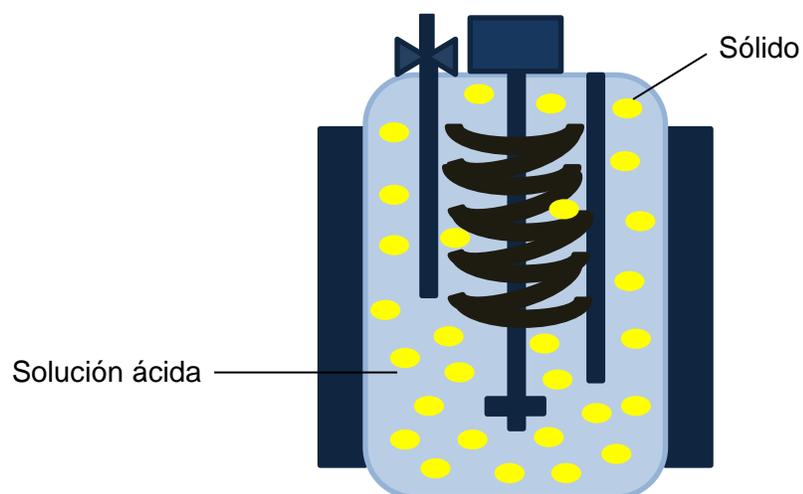
$$k_{dm} = \frac{m}{C_{H_3O^+}} \quad (8)$$

donde la concentración del ion hidronio  $C_{H_3O^+}$  se obtuvo de la Tabla 9.

### 3.6.2 Hidrólisis ácida de Homopolímeros

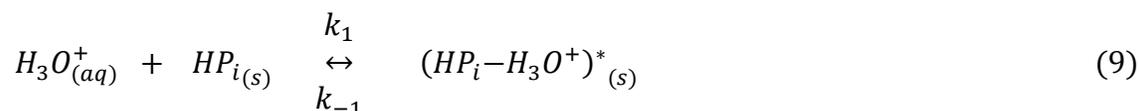
El sistema físico de los experimentos de hidrólisis ácida de los homopolímeros: xilán, glucán y arabinán se muestra en la Figura 19. Las suposiciones para representar el comportamiento de este sistema fueron, además de las planteadas en la sección 3.6, las siguientes: (d) partículas no porosas de geometría uniforme, y (e) el ataque del ácido es la etapa controlante de formación del carbohidrato.

La suposición (d) está basada en estudios de microscopía, los cuales mostraron partículas no porosas de geometría uniforme. Finalmente, la suposición (e) se adoptó en base a su concordancia con los datos experimentales, como se describe a continuación.

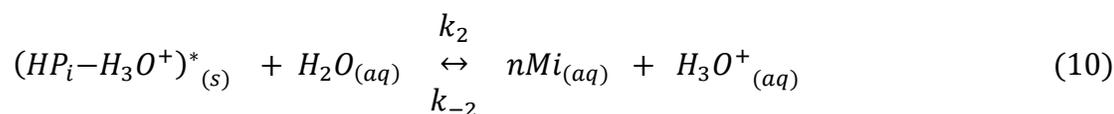


**Figura 19.** Sistema experimental para la hidrólisis de homopolímeros.

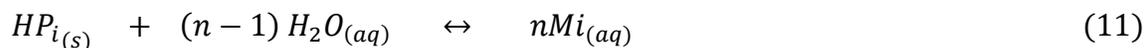
En el presente trabajo, el mecanismo de hidrólisis de los homopolímeros en estado puro se propone que ocurre en dos etapas elementales. En la primera etapa, el ion  $H_3O^+$  ataca a la cadena del homopolímero sólido formando un complejo activado sobre su superficie de acuerdo a la siguiente reacción:



donde  $HP_i$  representa una molécula del homopolímero sólido y  $(HP_i-H_3O^+)$  es el complejo activado sobre la superficie del sólido. Posteriormente, el complejo interacciona con el agua, liberando  $n$  moléculas del monómero al seno del fluido  $M_i$  y regenerando el ion  $H_3O^+$ :



La reacción global de hidrólisis es la suma de las reacciones (9) y (10):



A partir del mecanismo de reacción propuesto, es posible obtener una expresión para la rapidez de consumo del homopolímero  $HP_i$ , si se supone un paso controlante. Para este caso se consideraron dos opciones: (a) el ataque del ion hidronio al homopolímero (reacción 9), y (b) la formación del monómero a partir del complejo en la superficie (reacción 10). Los detalles del desarrollo para ambos casos se muestran en el Anexo B.

Para el caso de control por el ataque del ion hidronio al homopolímero, la rapidez de consumo de éste está dada por:

$$r = k_1 C_{H_3O^+} \quad (12)$$

donde  $k_1$  es la constante cinética de la reacción directa en (9), y  $C_{H_3O^+}$  es la concentración molar del ion hidronio.

Para el caso de control por la formación del monómero en la superficie, la rapidez de consumo del homopolímero es:

$$r = (k_2 K_1 C_{H_2O}) C_{H_3O^+} \quad (13)$$

donde  $k_2$  es la constantes cinética intrínseca en (10) respectivamente,  $K_1 = k_1/k_{-1}$  es la constante de equilibrio de la reacción (9) y  $C_{H_2O}$  es la concentración molar de agua. Para las expresiones (12) y (13), la concentración del ion hidronio  $C_{H_3O^+}$  se obtuvo de la Tabla 9.

En este trabajo, la Ec. (12) reprodujo aceptablemente el comportamiento de los datos experimentales, los cuales se discuten en el siguiente capítulo. Consecuentemente, se estableció que la rapidez de consumo del homopolímero se encuentra controlada por el ataque del ion hidronio a su cadena.

Con las consideraciones anteriores, el balance de masa para el monómero en el reactor intermitente durante la hidrólisis de un homopolímero se representa de la siguiente manera:

$$V \frac{dC_M}{dt} = k_1' C_{H_3O^+} A_p - V k_d' C_{H_3O^+} C_M \quad (14)$$

En esta expresión,  $V$  es el volumen de la solución,  $C_M$  es la concentración del monómero en solución y  $A_p$  es el área efectiva de la partícula del homopolímero sólido sobre la cual se lleva a cabo la reacción. Ésta última está dada por:

$$A_p = aw \quad (15)$$

donde  $a$  es el área superficial de contacto sólido-líquido en las partículas por unidad de masa de homopolímero ( $m^2/g$ ) y  $w$  es la masa de las partículas de homopolímero en el reactor. El parámetro  $k_d'$  en la Ec. (14) representa la constante cinética de degradación del monómero producido a partir de la hidrólisis ácida del homopolímero. En principio, el valor de  $k_d'$  se espera que sea igual al valor de  $k_{dm}$  en la Ec. (6) si las condiciones en la fase acuosa en los experimentos de degradación de los compuestos puros y de hidrólisis de los homopolímeros son idénticas. Como se verá posteriormente en el siguiente capítulo, esta hipótesis no fue verificada por los datos experimentales, por lo que los valores de  $k_d$  y  $k_d'$  fueron diferentes.

La solución de la Ec. (14) es:

$$C_m = \frac{K_I}{k_d'} + \left[ C_{m0} - \frac{K_I}{k_d'} \right] e^{-k_d' C_{H_3O^+} t} \quad (16)$$

donde:

$$K_I = \frac{k_1' A_p}{V} \quad (17)$$

Los valores de las constantes  $k_1'$  y  $k_d'$  de la Ec. (16) se obtuvieron mediante la herramienta Matlab® versión 8, en el cual la función objetivo FO se definió como:

$$FO = \sum_{k=1}^M \sum_{j=1}^N \{ |X_{kj}^e - X_{kj}^c| + |G_{kj}^e - G_{kj}^c| + |A_{kj}^e - A_{kj}^c| \} \quad (18)$$

donde  $M$  es el número total de experimentos realizados,  $N$  es el número total de muestras de cada experimento, los superíndices  $e$  y  $c$  se refieren a los valores experimentales y calculados, respectivamente.

La Ec. (18) representa la sumatoria de los errores absolutos en el cálculo de la concentración de los carbohidratos en todas las condiciones experimentales. El objetivo del algoritmo numérico fue reducir el valor de  $FO$  para que los valores calculados en el lado derecho de la Ec. (18) se acercaran a los valores experimentales.

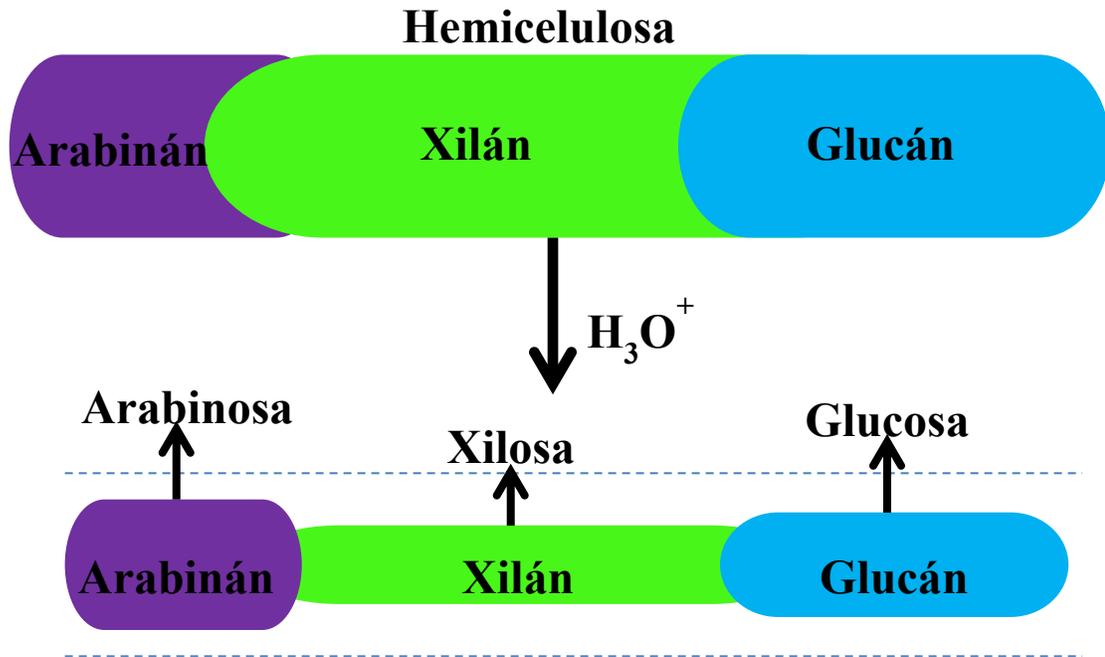
Para la optimización se utilizó el método de regresión no lineal y mínimos cuadrados programado en Matlab® versión 8.

### 3.6.3 Hidrólisis ácida de Hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*

El objetivo final de la formulación matemática de este trabajo consistió en describir la formación y degradación de los carbohidratos durante los experimentos de hidrólisis ácida de la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*. El sistema físico de los experimentos se mostró en la Figura 19.

En base a la naturaleza aleatoria del orden de los carbohidratos en la matriz de hemicelulosa, la hipótesis principal de este trabajo consistió en suponer que la hemicelulosa está compuesta por bloques de los homopolímeros: arabinán, xilán y glucán, los cuales se hidrolizan simultáneamente a diferente rapidez. La Figura 20 muestra el diagrama esquemático en que se basa el presente modelo. Al someter la hemicelulosa al pretratamiento ácido, los homopolímeros se hidrolizan de manera independiente para liberar los carbohidratos correspondientes al seno del fluido. Los carbohidratos en solución producidos durante la hidrólisis: arabinosa, xilosa y glucosa, posteriormente se degradan para producir furfural, 5-hidroximetil furfural y ácido acético, respectivamente.

Para el desarrollo del presente modelo, se propuso el mecanismo de reacción mostrado en la Figura 21, en donde el rectángulo de la parte izquierda representa un bloque del homopolímero,  $HP_i$ , formando parte de la cadena sólida de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*. De acuerdo a este mecanismo, la superficie del homopolímero se pone en contacto con la solución acuosa en presencia de los iones hidronio. La primera etapa corresponde a la parte heterogénea de formación del carbohidrato durante la hidrólisis, y la segunda etapa a la parte homogénea de degradación del carbohidrato.



**Figura 20.** Representación esquemática del modelo cinético de la hidrólisis ácida de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*.

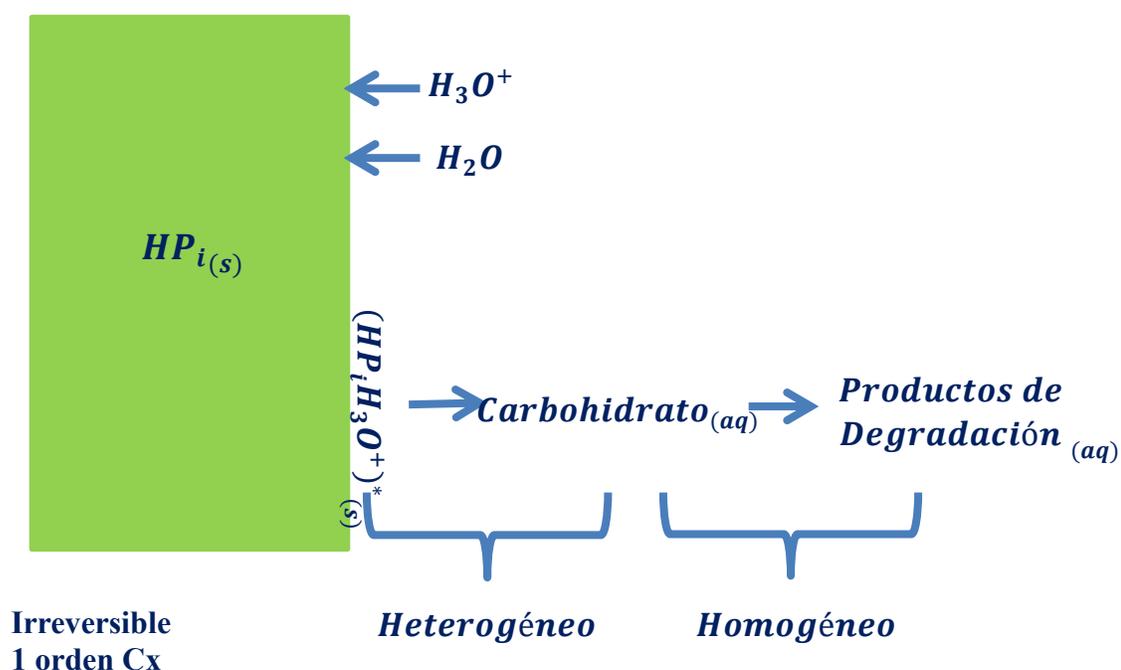


Figura 21. Mecanismo propuesto de hidrólisis de hemicelulosa.

Bajo las consideraciones anteriores, el balance de masa para la hidrólisis de hemicelulosa y los homopolímeros que la componen se muestra a continuación:

$$V \frac{dC_M}{dt} = k_1'' C_{H_3O^+} A_p - k_d'' C_{H_3O^+} V C_M \quad (19)$$

La Ec. (19) expresa que la acumulación instantánea de masa del carbohidrato en la solución contenida en el reactor es el resultado de dos procesos: la formación debido a la reacción heterogénea del homopolímero y su degradación homogénea para producir el correspondiente producto. La rapidez de formación de cada carbohidrato a cualquier tiempo se encuentra en función de  $k_1''$ ,  $k_d''$  y  $t$ .

Los valores de las constantes  $k_1''$  y  $k_d''$  fueron calculados conforme al procedimiento descrito anteriormente en la sección 3.6.2.

## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección se presentan los resultados experimentales obtenidos de caracterización de partículas, degradación de carbohidratos, hidrólisis de homopolímeros e hidrólisis de hemicelulosa. De la misma manera, se muestran los resultados de la aplicación del modelo cinético desarrollado.

#### 4.1 Composición Química de la Hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*

La estimación de la composición química de la hemicelulosa obtenida se basó en los resultados de los experimentos de hidrólisis realizados a 120 °C, utilizando concentraciones de ácido sulfúrico de 0.05 y 0.15 M, y partículas con un tamaño promedio de 0.16 mm y menores de 0.053 mm. La descripción de los experimentos de hidrólisis se detalla en la sección 3.1.

Dado que a 120 °C no se observó degradación significativa de los monómeros producidos por la hidrólisis, se supuso que las concentraciones a las cuales se encuentran presentes en solución a un tiempo dado son proporcionales a sus composiciones en la hemicelulosa. De esta manera los experimentos realizados a la temperatura de estudio permitieron identificar la presencia de glucosa, xilosa y arabinosa. La Tabla 22 del Anexo A muestra las concentraciones de los carbohidratos mencionadas a diferentes tiempos a ambas concentraciones de ácido y ambos tamaños de partícula.

A partir de dichos valores, se estimó el porcentaje molar de cada carbohidrato sumando los moles de cada especie para posteriormente dividir los moles de cada especie de carbohidrato entre los moles totales de carbohidrato, multiplicándose por cien para cada experimento. Dado que el volumen de las hidrólisis fue de un litro y las concentraciones son molares, se calculó el número total de moles de carbohidratos presentes en solución dividiendo la concentración en gramos por litro de cada carbohidrato entre su peso molecular respectivo; y con esto la fracción molar relativa de cada carbohidrato, y finalmente se obtuvo la fracción molar de cada carbohidrato representativa del experimento. La composición promedio de la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* obtenida mediante el procedimiento anterior se muestra en la Tabla 10. El medio está compuesto solamente por agua con una determinada concentración de ácido sulfúrico al que se le agrega una cantidad de sólido es asumido que los carbohidratos presentes después de un cierto tiempo de hidrólisis provienen única y exclusivamente del sólido.

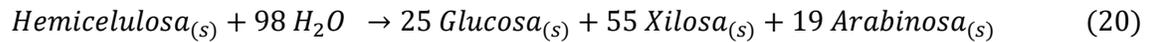
**Tabla 10.** Composición estimada de la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* a partir de los experimentos de hidrólisis a 120 °C.

Carbohidratos	Composición, % mol	Desviación Estándar
Glucán	25	3.9
Xilán	55	4.3
Arabinán	19	4.2

La Tabla 10 muestra que el mayor componente de la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* es la xilosa seguida por arabinosa y finalmente glucosa.

La fórmula empírica para hemicelulosa indica que se encuentra compuesta por 25 unidades de glucosa, 55 unidades de xilosa y 19 unidades de arabinosa [113].

Al reaccionar un mol de hemicelulosa se consumen 98 moléculas de agua de acuerdo a la reacción global:



Por lo tanto el peso molecular estimado de la unidad repetitiva de hemicelulosa es calculado de la siguiente manera:

$$PM_{\text{Hemicelulosa}} = \sum_{i=1}^n z_i PM_i - \left( \sum_{i=1}^n z_i - 1 \right) PM_{\text{H}_2\text{O}} \quad (21)$$

Donde  $z_i$  es la abundancia de cada carbohidrato en la hemicelulosa,  $PM_i$  es el peso molecular de cada carbohidrato y  $PM_{\text{H}_2\text{O}}$  el peso molecular del agua. Aplicando la ecuación (6) se obtuvo un valor de  $PM_{\text{Hemicelulosa}} = 11194 \text{ g/mol}$ .

La estimación del número de moles de la unidad repetitiva de hemicelulosa presentes en 100 miligramos de *Cenchrus ciliaris*, los cuales fueron la masa inicial de *buffel* en cada hidrólisis, se estimó de acuerdo a la siguiente fórmula:

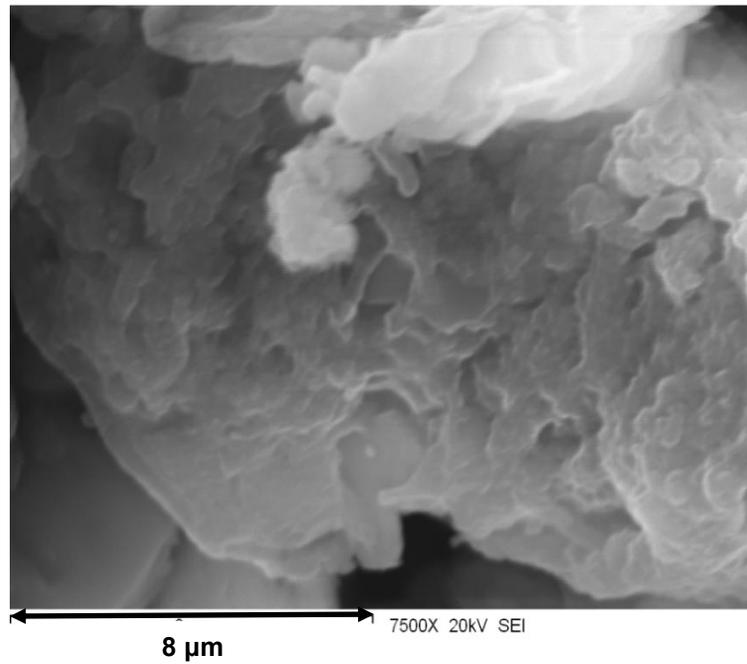
$$\text{Estimación del num. de moles} = \frac{\text{Hemicelulosa en cada hidrólisis}}{PM_{\text{Hemicelulosa}}} \quad (22)$$

La estimación del número de moles de la hemicelulosa fue de  $8.93 \times 10^{-6}$ . Para nuestro caso, el número de unidades de xilosa en la hemicelulosa fue de 42, aproximada por el análisis de las hidrólisis y el empleo de fórmulas empíricas.

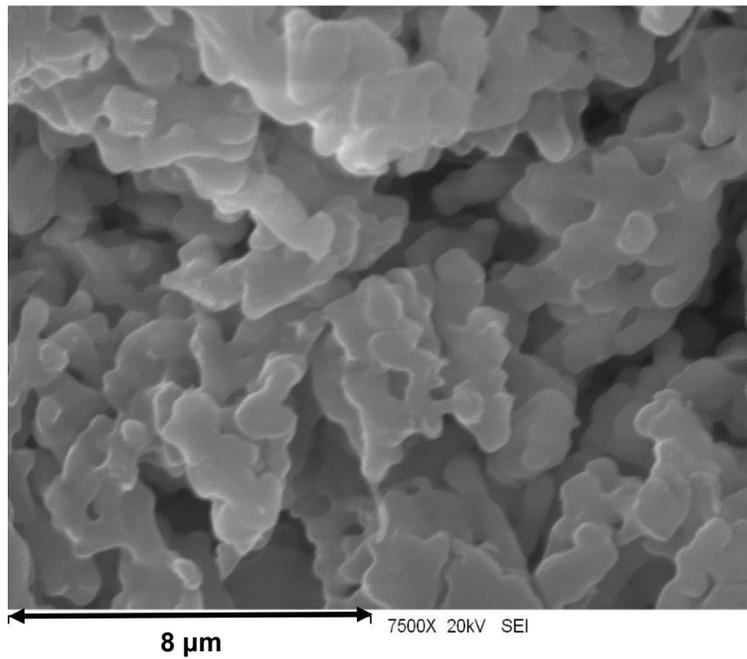
## 4.2 Caracterización de Partículas

### Microscopia

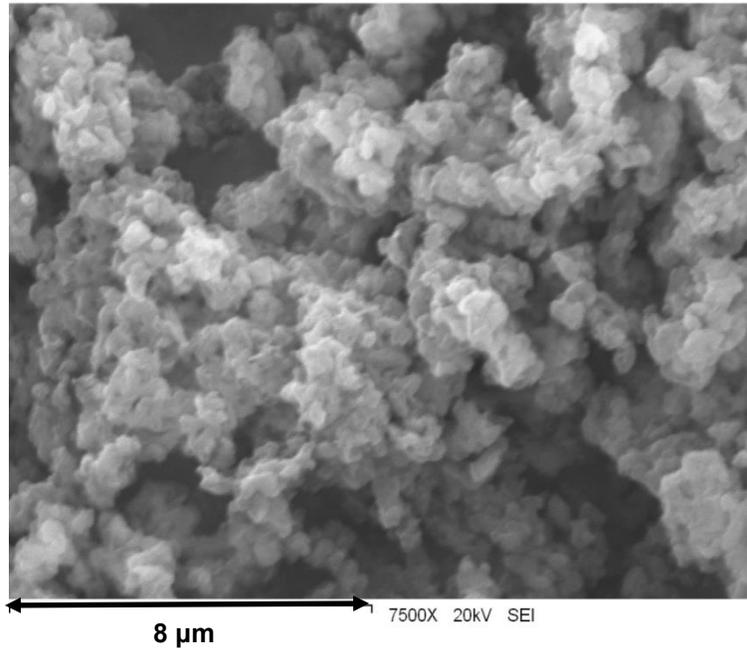
Las imágenes de microscopía de las partículas de xilán, glucán y arabinán se muestran en la Figuras 22, 23 y 24, respectivamente. La Figura 22 muestra una partícula de xilán formada por placas. En la Figura 23 se observa una colección de partículas aglomeradas de glucán de geometría variable (cilindros, esferas, y partículas con geometrías irregulares). Las partículas de arabinán mostradas en la Figura 24 muestran también aglomerados de partículas esféricas. En general, los homopolímeros presentan superficies no porosas en sus partículas. Se compararon las barras de mediciones de  $8 \mu\text{m}$  mostradas en cada una de las microscopias. Basado en lo anterior, el homopolímero de xilán presentó un mayor tamaño de partícula en comparación con glucán y arabinán.



**Figura 22.** Microscopia de homopolímero xilán.



**Figura 23.** Microscopia de homopolímero glucán.



**Figura 24.** Microscopia de homopolímero arabinán.

### Área Superficial

En la Tabla 11 se muestran los resultados de los estudios de área superficial realizados a los homopolímeros.

**Tabla 11.** Área Superficial de Homopolímeros.

Homopolímero	$a$ (m <sup>2</sup> /g)
Xilán	0.14
Glucán	0.15
Arabinán	13.40

Los homopolímeros xilán y glucán presentaron valores de área superficial similares. Arabinán presenta un área superficial mayor debido a que posee un menor tamaño de

partícula. Los catalizadores más comunes tienen un área superficial total entre 1 y 1000 m<sup>2</sup>/g, y su superficie externa está en el rango de 0.01-10 m<sup>2</sup>/g [115]. En contraste, los valores de la Tabla 11 son comparativamente pequeños. Esto apoya la hipótesis de que las partículas de los homopolímeros analizados son no porosas.

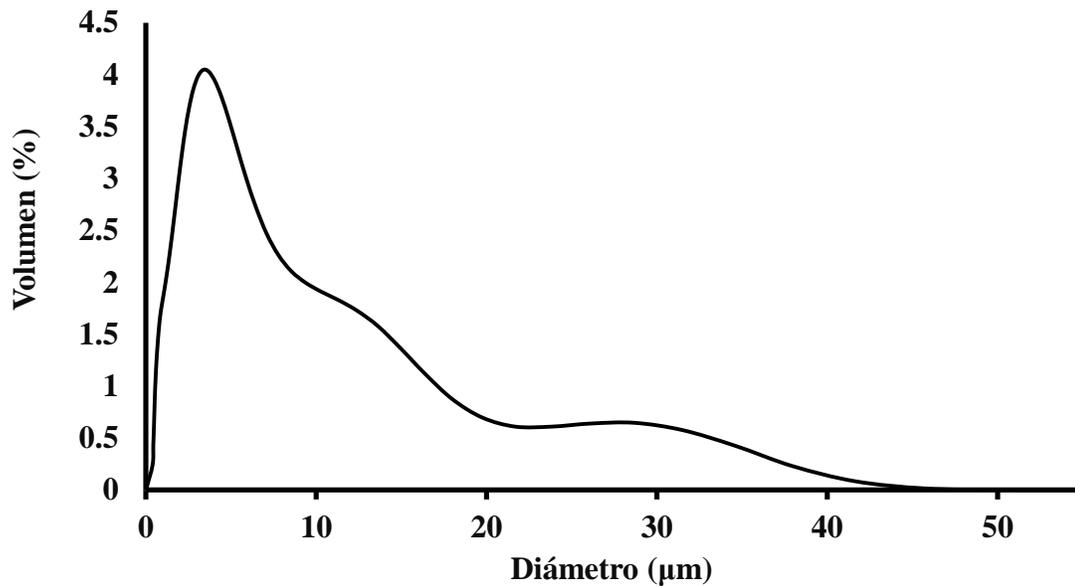
### Distribución de Tamaño de Partícula

En la Figura 25 se muestra la distribución de tamaño de partícula de xilán determinada por la técnica de difracción de luz láser. El tamaño promedio de partículas de xilán es de 5.4 μm. En la Tabla 12 se presenta la variación del porcentaje promedio de la población de partículas.

**Tabla 12.** Porcentaje promedio de partículas.

% <	Size (μm)
10	0.91
25	1.74
50	3.37
75	6.49
90	12.64

A pesar de que los homopolímeros fueron sometidos a sonicación previamente a su análisis por difracción de luz láser, para glucán y arabinán no fue posible separar las partículas y consecuentemente no se obtuvieron las distribuciones de tamaño. Es posible que en estos casos las fuerzas electrostáticas entre las partículas fueron significativas, lo que impidió su separación.



**Figura 25.** Distribución de tamaño de las partículas de xilán comercial determinada mediante la técnica de difracción de luz láser.

Para estudios posteriores se recomienda utilizar un agente dispersante que logre romper los aglomerados de estas partículas. Un factor adicional es el intervalo de detección del instrumento (0.4 a 1000  $\mu\text{m}$ ). Las Figuras 5-2 y 5-3 muestran que un número indefinido de partículas de glucán y arabinán son de tamaños inferiores a 0.4  $\mu\text{m}$ .

El esclarecimiento de estos puntos requiere de estudios posteriores de caracterización.

### Análisis Termogravimétrico

Los resultados de análisis térmico de las partículas de los homopolímeros y la hemicelulosa extraída de *Cenchrus ciliaris* se presentan en la Figura 26 en términos de la derivada del peso contra temperatura. Se observa que el xilán y arabinán presentan

dos picos que se traslapan alrededor de la temperatura de 300 °C, lo cual puede atribuirse a que la descomposición de estos homopolímeros ocurre en dos etapas a lo largo de su cadena. La descomposición del glucán no presenta traslape en los picos, lo que sugiere que su descomposición ocurre en una sola etapa. En el caso del zacate *buffel* se observa el traslape de dos picos a la temperatura de 350 °C. Lo anterior, posiblemente se debe a la presencia de lignina contenida en el zacate.

La hemicelulosa presenta una señal continua. No se observa el traslape de picos como en el caso del zacate *buffel*, debido a que la celulosa y lignina fueron eliminadas por completo del material lignocelulósico. En la investigación se propone que la hemicelulosa está formada por homopolímeros. Sin embargo, en estas condiciones de análisis no es posible identificar la descomposición de ellos en este material. Por lo que, se recomienda utilizar la técnica con una menor rampa de calentamiento. Adicionalmente, se sugiere realizar el análisis a una mezcla de homopolímeros para observar posibles interacciones entre ellos. Por último, se recomienda realizar los estudios con cantidades proporcionales a su abundancia en la materia prima de estudio.

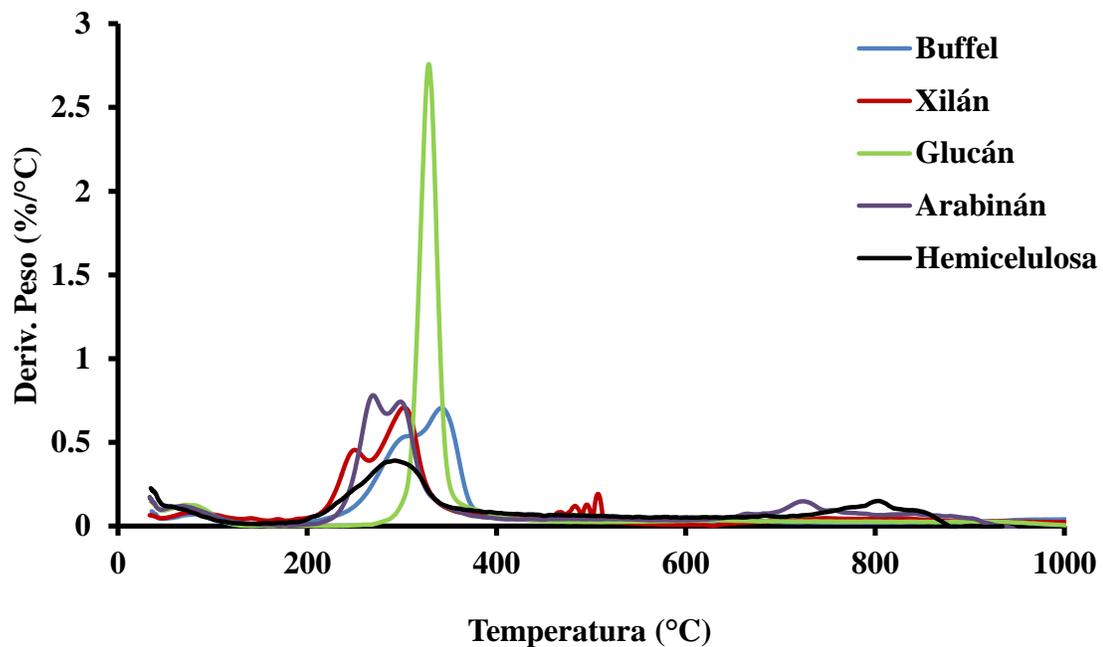


Figura 26. Análisis termogravimétrico de partículas.

### 4.3 Degradación de Carbohidratos

Los resultados experimentales de la degradación de los carbohidratos se ilustran a continuación.

#### Xilosa

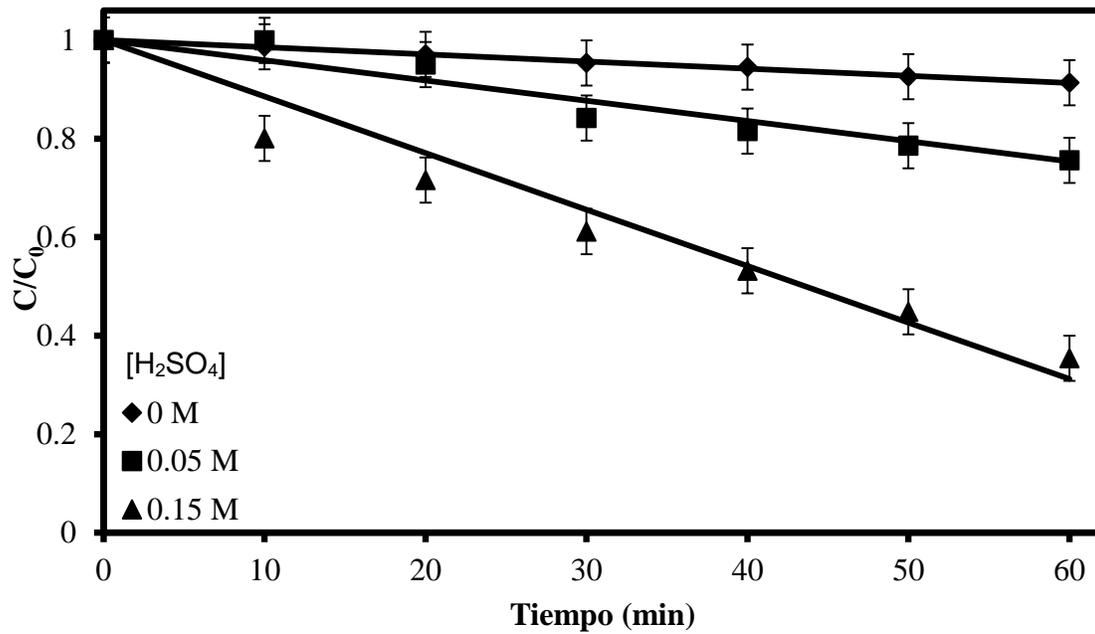
Los resultados experimentales de las degradaciones de xilosa utilizando diferentes concentraciones de ácido se muestran en la Figura 27. Cada una de las gráficas mostró un comportamiento lineal. La inclinación de las gráficas corresponde al producto

$k_{dm}C_{H_3O^+}$ . Las líneas continuas representan la predicción del modelo de degradación del carbohidrato.

Las muestras fueron analizadas por duplicado. Para cuantificar la incertidumbre de los datos experimentales se realizó el cálculo de las barras de error. Las barras de error fueron determinadas aplicando un cálculo de desviación estándar a los datos experimentales obtenidos.

Se observó una mayor degradación del carbohidrato al aumentar la concentración de ácido de la solución. El ácido actuó como catalizador incrementando la rapidez de reacción en cada uno de los experimentos.

En la Tabla 13 se muestran las constantes cinéticas de degradación de xilosa. Las constantes experimentales y calculadas presentan una variación entre sí. Las pendientes de la gráfica de las degradaciones de xilosa aumentaron al incrementar la concentración de ácido en la solución. Para el caso de las degradaciones con agua se observó una degradación mínima. Para las concentraciones de ácido de 0.05 y 0.15 M, el valor de las constantes cinéticas de degradación se encuentran en el mismo orden de magnitud.



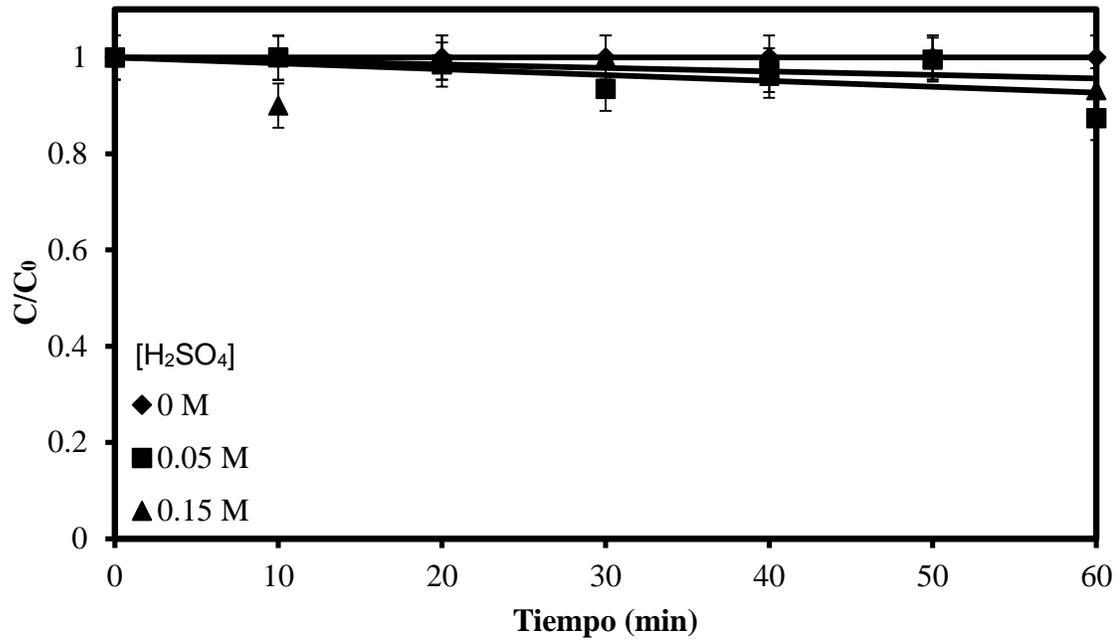
**Figura 27.** Degradación de xilosa a 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (6).

**Tabla 13.** Constante cinética de degradación de xilosa.

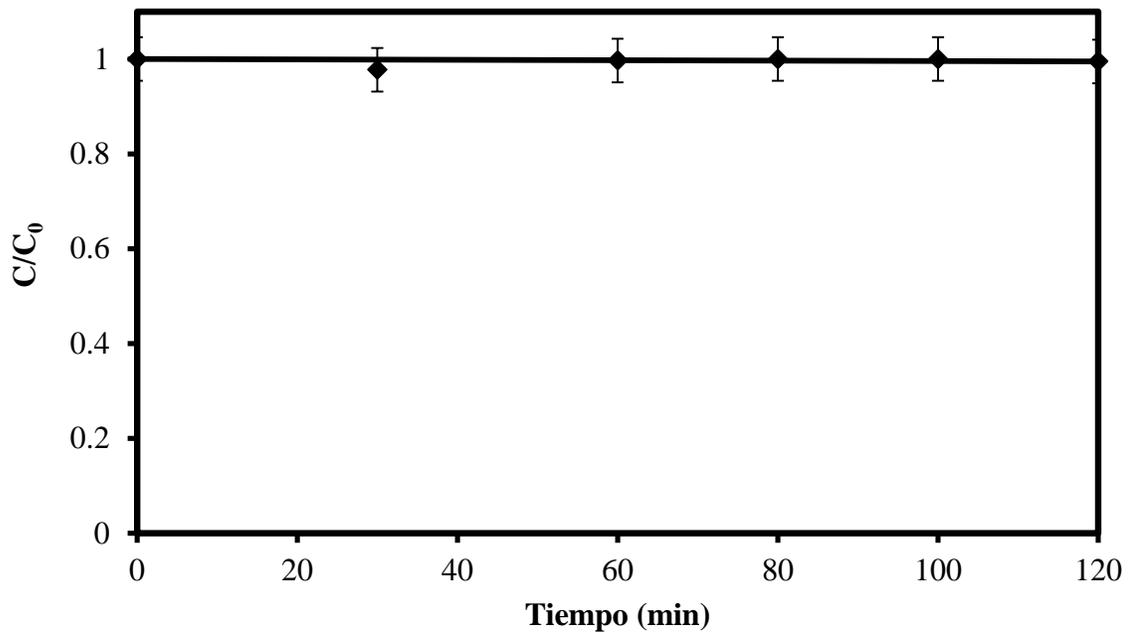
[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ] (M)	<i>m</i> (1/min)	<i>k<sub>dX</sub></i> (L/(mol*min))	<i>R</i> <sup>2</sup>
0	1.44 x 10 <sup>-3</sup>	1.20 x 10 <sup>-3</sup>	0.99
0.05	4.3 x 10 <sup>-3</sup>	8.12 x 10 <sup>-2</sup>	0.92
0.15	1.10 x 10 <sup>-2</sup>	7.60 x 10 <sup>-2</sup>	0.95

## Glucosa

Las degradaciones de glucosa presentaron los resultados mostrados en la Figura 28. Cada una de las gráficas mostró un comportamiento lineal. Las barras de error mostradas en las gráficas fueron determinadas aplicando un cálculo de desviación estándar a los datos experimentales obtenidos. La glucosa no mostró una degradación significativa bajo estas condiciones de ácido y temperatura. Para probar esta hipótesis, se realizó un experimento adicional con una concentración de ácido sulfúrico de 0.15M durante dos horas que se presenta en la Figura 29. Los resultados mostrados en las Figuras 28 y 29 verificaron la validez de la hipótesis. Consecuentemente, bajo las condiciones del presente estudio la glucosa no experimenta degradación sustancial, por lo que su constante de degradación  $k_{dm}$  es, para propósitos prácticos, igual a cero. Esto representa una ventaja en la siguiente etapa del proceso global de la producción de etanol.



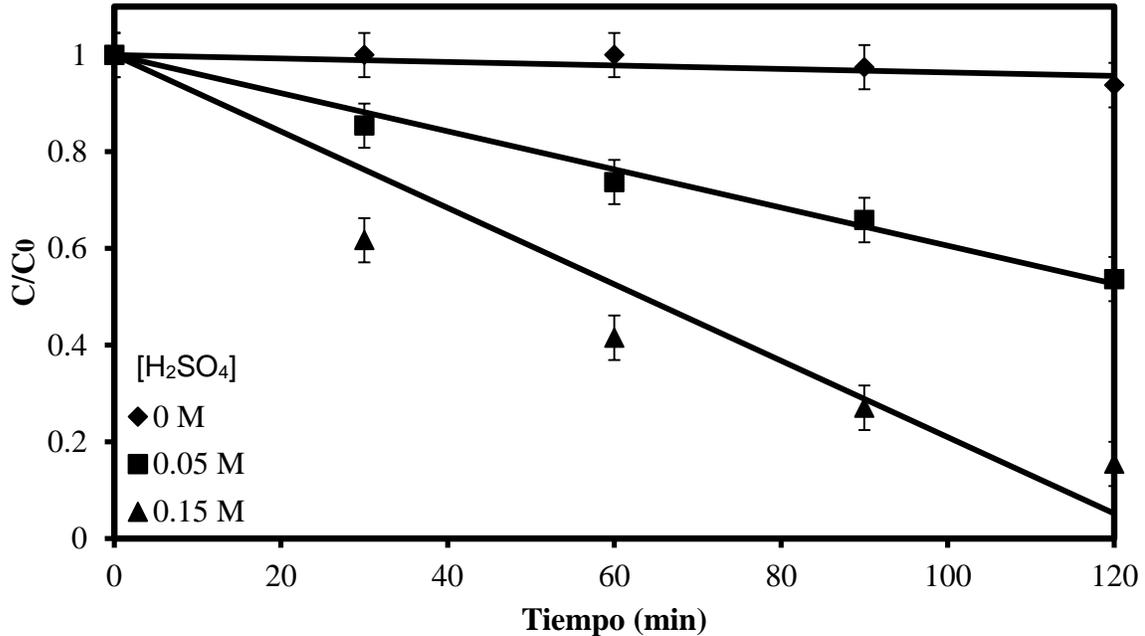
**Figura 28.** Degradación de glucosa a 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (6).



**Figura 29.** Degradación de glucosa a  $[\text{H}_2\text{SO}_4]= 0.15 \text{ M}$  y  $120 \text{ }^\circ\text{C}$ . Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (6).

### Arabinosa

En función de los resultados obtenidos con glucosa, para los experimentos con arabinosa se decidió extender el tiempo de reacción a 2 horas. Los resultados se muestran en la Figura 30. La predicción del modelo de degradación del carbohidrato se muestra en las líneas continuas de la figura. Las barras de error mostradas en las gráficas fueron determinadas aplicando un cálculo de desviación estándar a los datos experimentales obtenidos. Los resultados de degradación de arabinosa mostraron que ocurre una mayor degradación del carbohidrato al aumentar la concentración de ácido.



**Figura 30.** Degradación de arabinosa durante 2 horas a 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (6).

En la Tabla 14 se muestran las constantes cinéticas de degradación de arabinosa. Las constantes calculadas presentan una variación entre sí. Las pendientes de la gráfica de las degradaciones de arabinosa aumentaron al incrementar la concentración de ácido en la solución. Para el caso de las degradaciones con agua no se observó una degradación significativa. Al igual que la xilosa, el valor de las constantes cinéticas de degradación se encuentra en el mismo orden de magnitud para las concentraciones de ácido de 0.05 y 0.15 M.

Los resultados de las constantes de degradación para xilosa y arabinosa presentan el mismo orden de magnitud cuando se utilizaron concentraciones de ácido de 0.05 y 0.15 M. La arabinosa se degrada más rápidamente que la xilosa.

**Tabla 14.** Constante cinética de degradación de arabinosa.

<b>[H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] (M)</b>	<b><i>m</i> (1/min)</b>	<b><i>k<sub>dA</sub></i> (L/(mol*min))</b>	<b><i>R</i><sup>2</sup></b>
0	3.61 x 10 <sup>-4</sup>	2.98 x 10 <sup>2</sup>	0.67
0.05	3.94 x 10 <sup>-3</sup>	7.79 x 10 <sup>-2</sup>	0.99
0.15	7.90 x 10 <sup>-3</sup>	5.23 x 10 <sup>-2</sup>	0.90

Las constantes de degradación de xilosa encontradas en la literatura se presentan en min<sup>-1</sup>, ya que la mayoría de los investigadores analizan sus datos utilizando el modelo pseudohomogéneo. Por lo tanto, los valores obtenidos de las pendientes de las gráficas *m* se compararán con los de la literatura.

Un grupo de investigadores [116] ha calculado la constante de degradación de xilosa a partir del bagazo de caña de azúcar. El valor de la constante cinética es de 2.1x10<sup>-3</sup> min<sup>-1</sup> utilizando 2% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 122 °C. Las condiciones anteriores se encuentran cercanas al presente estudio. En otros trabajos [113], se presentan las constantes de degradación de xilosa de 2.96 y 4.67 min<sup>-1</sup> utilizando 0.05 y 0.15 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, respectivamente. Las constantes cinéticas de xilosa obtenidas en este estudio fueron 4.3x10<sup>-3</sup> y 1.1x10<sup>-2</sup> min<sup>-1</sup> cuando la concentración de ácido fue de 0.05 y 0.15 M, respectivamente. Al comparar los resultados anteriores con respecto a las investigaciones observa que las constantes de degradación de xilosa presentan una variación entre sí. Lo anterior puede atribuirse a la diferencia en la composición del material y a la producción de furfural debido a la diferencia de las concentraciones de ácido utilizadas en ambos estudios.

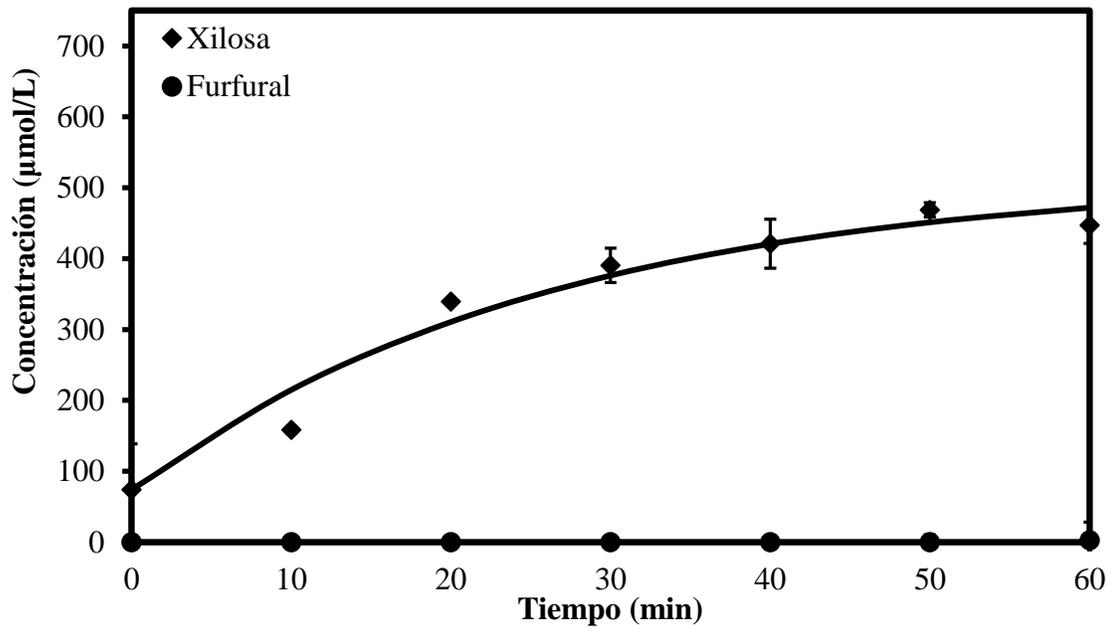
## 4.4 Hidrólisis de Homopolímeros

Los resultados de las hidrólisis se presentan a continuación.

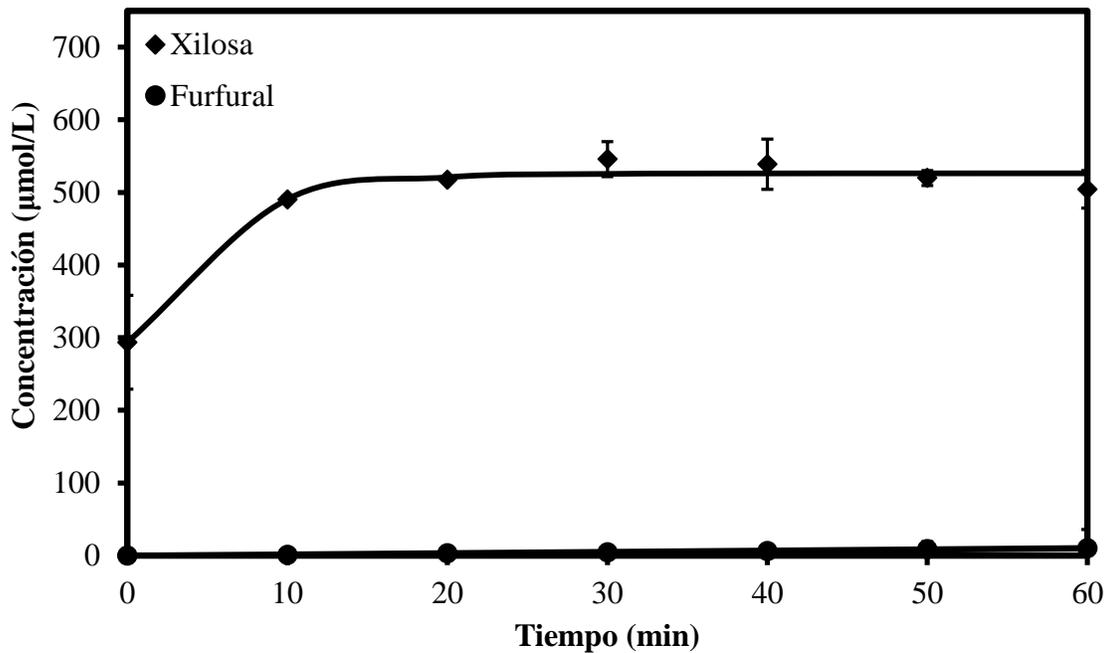
### Xilán

El xilán fue hidrolizado para monitorear la formación de xilosa y furfural, las cuales se muestran en las Figuras 31 y 32. Las líneas continuas representan el valor calculado utilizando el modelo que incluye la parte heterogénea de la formación del carbohidrato. Las barras de error mostradas en las gráficas fueron determinadas aplicando un cálculo de desviación estándar a los datos experimentales obtenidos. Se observó un incremento en la concentración del carbohidrato al aumentar la concentración de ácido de la solución. En el caso de la hidrólisis con agua pura no se observó formación de xilosa. Lo anterior verifica que se necesita el ataque del ácido para la formación de los carbohidratos. Asimismo, no se detectaron cantidades significativas de furfural.

En presencia de ácido (Figuras 31 y 32) la producción de xilosa inició durante la etapa de calentamiento del reactor, es decir antes de alcanzar la temperatura objetivo en ambos casos. La concentración de xilosa a  $t=0$  fue mayor al aumentar la concentración de ácido. Cuando la concentración de ácido fue de 0.05 M, se observó un aumento en la concentración de xilosa conforme transcurrió el tiempo de reacción. Para el caso de la concentración de ácido sulfúrico de 0.15 M, la concentración de xilosa alcanzó un máximo a los 30 minutos de reacción.



**Figura 31.** Hidrólisis de xilán  $[\text{H}_2\text{SO}_4]= 0.05 \text{ M}$  a  $120 \text{ }^\circ\text{C}$ . Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (16).



**Figura 32.** Hidrólisis de xilán  $[H_2SO_4]= 0.15\text{ M}$  a  $120\text{ }^\circ\text{C}$ . Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (16).

En la Tabla 15 se muestran las constantes de formación de xilosa calculadas de acuerdo al procedimiento descrito en la sección 3.6.2. Los valores de las constantes intrínsecas de formación de xilosa fueron similares y se encontraron en el mismo orden de magnitud para concentraciones de ácido sulfúrico de 0.05 y 0.15 M.

**Tabla 15.** Constante cinética de formación de xilosa a partir de la hidrólisis de xilán.

$[H_2SO_4]$ (M)	$k_{ax}'$ (L/(mol*min))	$k_{1x}'$ (m/s)	$R^2$
0.05	$7.56 \times 10^{-1}$	$2.48 \times 10^{-5}$	0.96
0.15	1.24	$4.14 \times 10^{-5}$	0.98

## Glucán

El glucán fue hidrolizado para producción de glucosa, la cual se muestra en la Figura 33. No se observó formación de glucosa para el caso de agua pura. Para el caso de concentración de ácido sulfúrico de 0.05 M, se observa la formación de glucosa a partir de los 40 min. Por lo que, el tiempo inducción de la formación de glucosa fue de 40 min. A partir de este tiempo, la concentración de glucosa aumentó a mayor tiempo de hidrólisis.

En el caso de concentración de ácido sulfúrico de 0.15 M, se formó glucosa a los 10 minutos de la hidrólisis. El tiempo inducción de la formación de glucosa a estas condiciones fue menor que en el caso de concentración de ácido sulfúrico de 0.05 M. La formación de glucosa inició a fue de 10 min. Posteriormente, la concentración de glucosa incrementó con el paso del tiempo.

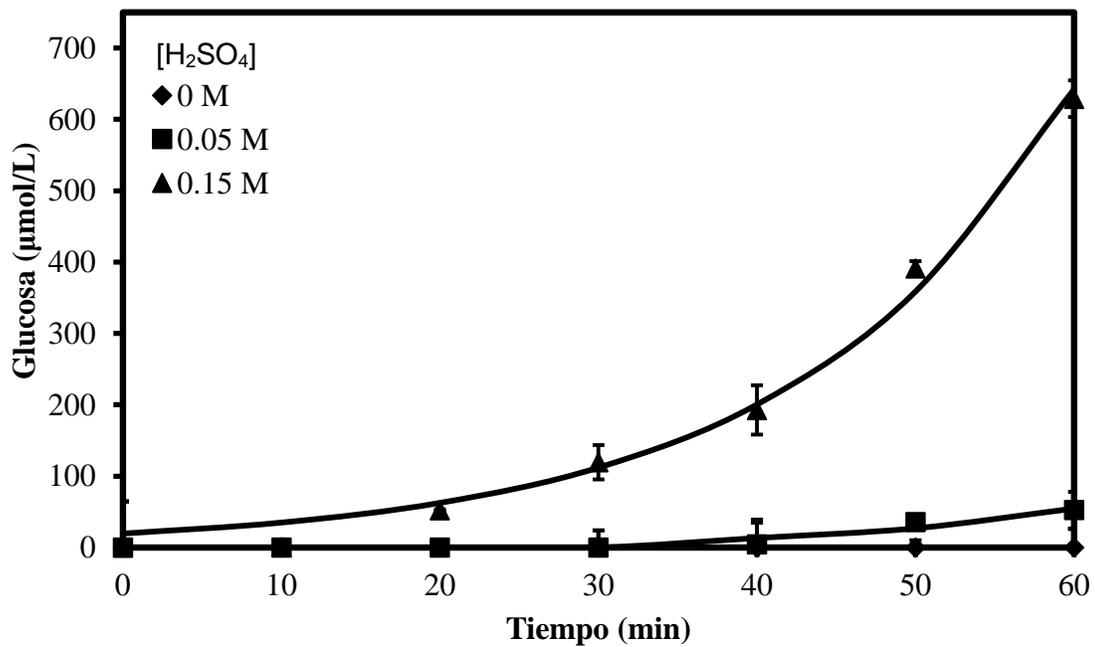
En general, el comportamiento de la glucosa mostró un incremento en la concentración del carbohidrato al aumentar la concentración de ácido de la solución.

En la Figura 33 se presenta la predicción del modelo de formación de glucosa a partir del homopolímeros glucán. Las barras de error mostradas en las gráficas fueron determinadas aplicando un cálculo de desviación estándar a los datos experimentales obtenidos.

Durante los experimentos de hidrólisis con los homopolímeros glucán y arabinán no se observó mostraron degradación a estas condiciones experimentales. Consecuentemente, el valor de la constante de degradación  $k_d' = 0$ . Por lo tanto, en estos casos la Ec. (14) se reduce a:

$$V \frac{dC_m}{dt} = k_1' C_{H_3O^+} A_p \quad (23)$$

Las líneas continuas en la Figura 33 representan el valor calculado utilizando el modelo que incluye la parte heterogénea de la formación del carbohidrato. Lo anterior verifica que se necesitan concentraciones de ácido y temperaturas mayores para la degradación de este carbohidrato.



**Figura 33.** Hidrólisis de glucán a 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (16).

En la Tabla 16 se muestran las constantes intrínsecas de formación de glucosa calculadas. Los valores de las constantes intrínsecas de formación de glucosa fueron

parecidas. Sin embargo, presentaron una diferencia de un orden de magnitud para concentraciones de ácido sulfúrico de 0.05 y 0.15 M.

**Tabla 16.** Constante cinética de formación de glucosa a partir de la hidrólisis de glucán.

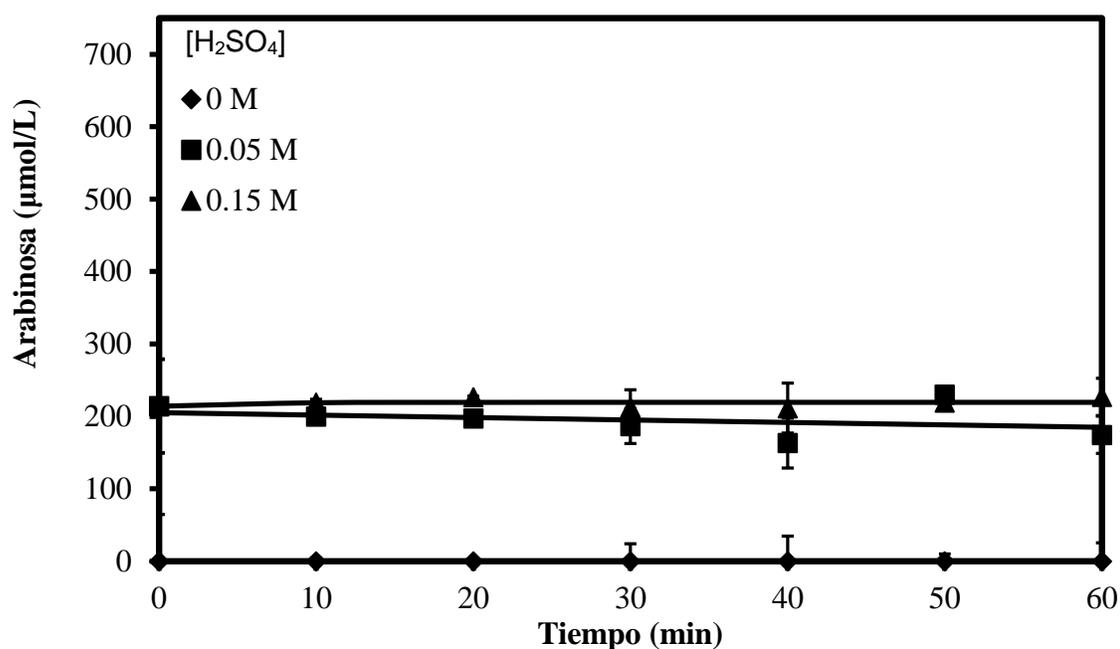
<b>[H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] (M)</b>	<b><i>k<sub>dG</sub>'</i> (L/(mol*min))</b>	<b><i>k<sub>1G</sub>'</i> (m/s)</b>	<b><i>R</i><sup>2</sup></b>
0.05	0	1.78 x 10 <sup>-7</sup>	0.87
0.15	0	4.90 x 10 <sup>-8</sup>	0.99

### Arabinán

El arabinán se hidrolizó para formación de arabinosa. Las hidrólisis del homopolímero se realizaron utilizando diferentes concentraciones de ácido, las cuales se muestran en la Figura 34.

En el caso de la hidrólisis con agua pura, es decir sin la presencia de ácido, no se observó formación de arabinosa como se muestra en la Figura 34. La producción de arabinosa inició durante el calentamiento, es decir antes de alcanzar la temperatura inicial, para los casos de concentraciones de ácido de 0.05 y 0.15 M. La concentración de arabinosa se mantuvo parcialmente constante durante las hidrólisis con concentraciones de ácido de 0.05 y 0.15 M. Lo anterior, se atribuye a que la formación de arabinosa se inició en la etapa de calentamiento del reactor. No se muestra un efecto del ácido sulfúrico en la formación de arabinosa para estas condiciones de temperatura.

La predicción del modelo de formación de arabinosa a partir del homopolímeros arabinán se presenta en la Figura 34. Las líneas continuas representan el valor calculado utilizando el modelo que incluye la parte heterogénea de la formación del carbohidrato. Las barras de error mostradas en las gráficas fueron determinadas aplicando un cálculo de desviación estándar a los datos experimentales obtenidos.



**Figura 34.** Hidrólisis de arabinán a 120 °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (16).

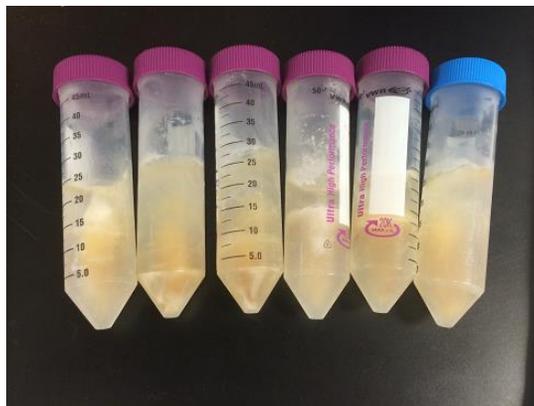
En el caso de agua pura, no se observó formación de arabinosa. En la formación de arabinosa no se muestra un efecto del ácido sulfúrico, manteniéndose la concentración de arabinosa constante durante la hidrólisis a estas condiciones de temperatura. En la Tabla 17 se muestran las constantes intrínsecas de formación de arabinosa calculadas. Los valores de las constantes intrínsecas de formación de arabinosa fueron parecidas. Sin embargo, presentaron una diferencia de un orden de magnitud para concentraciones de ácido sulfúrico de 0.05 y 0.15 M.

**Tabla 17.** Constante cinética de formación de arabinosa a partir de la hidrólisis de arabinán.

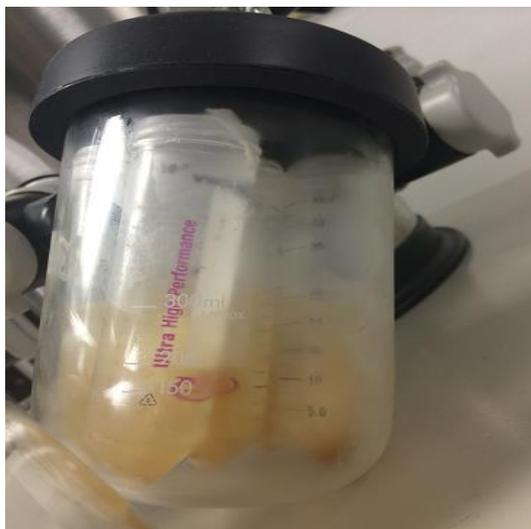
$[\text{H}_2\text{SO}_4]$ (M)	$k_{dA}'$ (L/(mol*min))	$k_{1A}'$ (m/s)	$R^2$
0.05	$4.04 \times 10^{-1}$	$8.44 \times 10^{-6}$	0.12
0.15	1.44	$3.67 \times 10^{-5}$	0.99

#### 4.5 Hidrólisis de Hemicelulosa

La Figura 35 muestra las fibras congeladas de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* obtenidas mediante el procedimiento descrito anteriormente. Una vez que el producto está congelado, debe ser sublimado a una temperatura baja a presión reducida. Debido a que la liofilización es un proceso de deshidratación que permite que el agua congelada en el material sea sublimada. El cambio de volumen de las muestras liofilizadas se muestra en las Figuras 36 y 37, en las cuales se observa el proceso de liofilización. La cantidad total de hemicelulosa obtenida a partir de la planta de *Cenchrus ciliaris* fue de 150 mg, y se muestra en la Figura 38.



**Figura 35.** Muestras congeladas de Hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*.



**Figura 36.** Muestras al inicio (imagen superior) y final (imagen inferior) del proceso de liofilización de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*.



**Figura 37.** Muestra Liofilizada de Hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*.



**Figura 38.** Hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*.

## 4.6 Aplicación del Modelo

El modelo heterogéneo propuesto en la Ec. (19) describe la formación y degradación de carbohidratos provenientes de la hidrólisis con ácido sulfúrico diluido.

La hidrólisis de la hemicelulosa produce la formación de los carbohidratos xilosa, arabinosa y glucosa. Los resultados de hidrólisis de hemicelulosa con concentraciones de ácido de 0.05 M y 0.15 M se muestran en las Figuras 39 y 40, respectivamente.

Al tiempo inicial de reacción se cuantificó una cantidad inicial de los carbohidratos de arabinosa y xilosa. Lo anterior, se le atribuye a la etapa de calentamiento. En este periodo, una cierta cantidad de hemicelulosa es degradada por efecto de la temperatura y la concentración de ácido presente en el experimento. La xilosa aumentó con el tiempo de reacción. La concentración de arabinosa se mantuvo aproximadamente constante a estas condiciones de temperatura y concentraciones de ácido. No se presentó una formación de glucosa significativa en los experimentos realizados, debido a que la glucosa requiere temperaturas mayores a 220 °C para alcanzar su rendimiento máximo [117].

El efecto de la concentración de ácido en la cinética de reacción se puede observar al comparar las Figuras 39 y 40. El comportamiento de los carbohidratos mostró un aumento en la concentración inicial de los carbohidratos al incrementar la concentración de ácido. Cuando se utilizó una solución de ácido 0.05 M, las reacciones fueron lentas y las concentraciones de los monómeros menores que cuando se utilizó una concentración de ácido de 0.15 M. Por lo que, cuando la concentración de ácido se aumentó a 0.15 M, la rapidez de reacción aumentó significativamente.

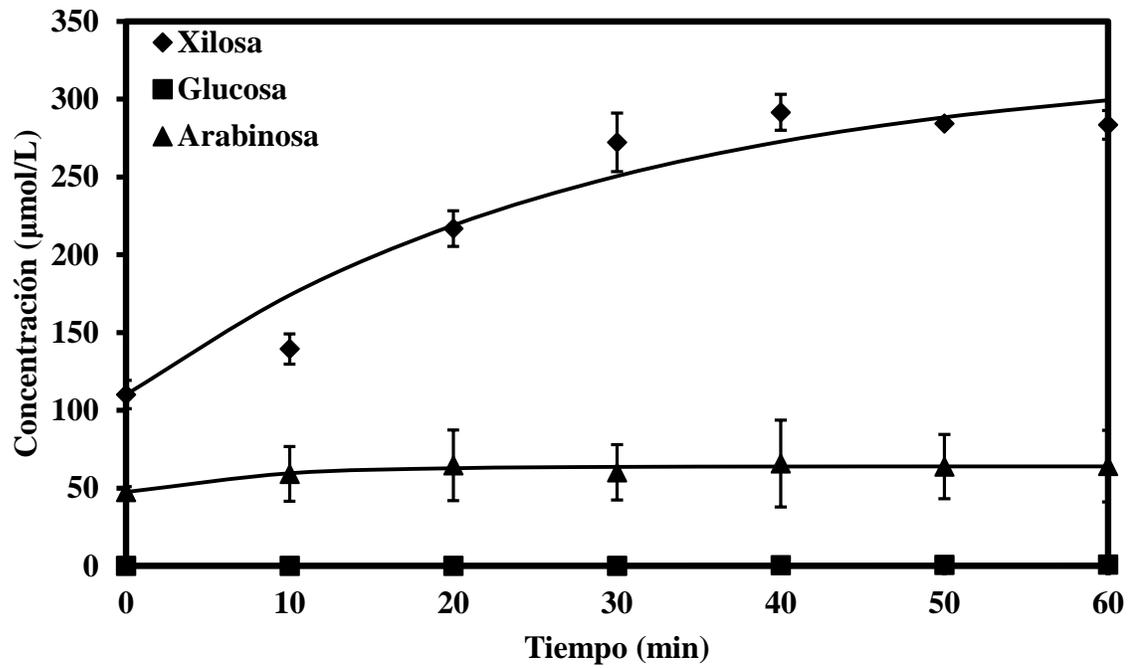
Un análisis general de los datos experimentales mostraron que la concentración máxima de xilosa medida en los experimentos fue de 309  $\mu\text{mol/L}$  y se obtuvo en  $t=30$  min del experimento con una concentración de 0.15 de ácido y la temperatura de 120  $^{\circ}\text{C}$ . En lo que se refiere a la maximización de la concentración de xilosa, tales condiciones representan los valores óptimos.

Se presenta una hidrólisis mayor de hemicelulosa al aumentar la concentración de ácido, lo cual se observó claramente en el aumento en la concentración de los carbohidratos al aumentar la concentración de ácido.

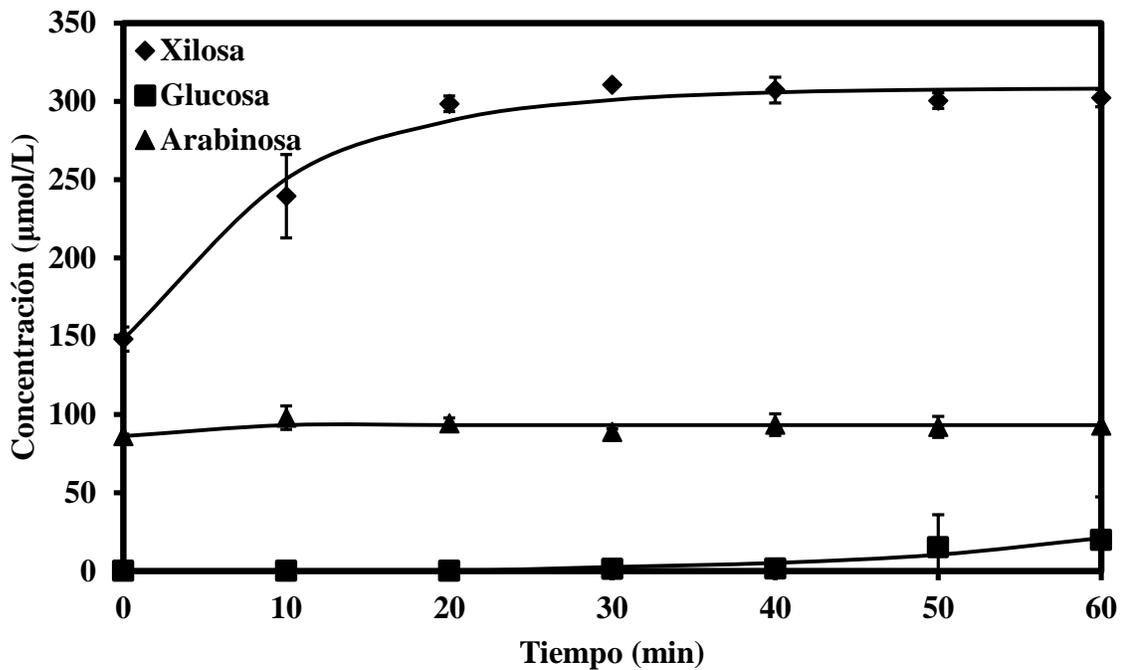
En las Figuras 39 y 40 se muestran las predicciones del modelo desarrollado como líneas continuas en la hidrólisis de hemicelulosa. La predicción del modelo está calculada utilizando la solución de la Ec. (14):

$$C_m = \frac{K_I}{k_d''} + \left[ C_{m0} - \frac{K_I}{k_d''} \right] e^{-k_d'' C_{H_3O^+} t} \quad (24)$$

Las muestras fueron analizadas por duplicado. Para cuantificar la incertidumbre de los datos experimentales se realizó el cálculo de las barras de error. Las barras de error fueron determinadas aplicando un cálculo de desviación estándar a los datos experimentales obtenidos.



**Figura 39.** Aplicación del modelo a  $[H_2SO_4]=0.05$  M y  $120$  °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (24).



**Figura 40.** Aplicación del modelo a  $[H_2SO_4]=0.15$  M y  $120$  °C. Las líneas continuas representan la predicción del modelo de la Ec. (24).

Las constantes involucradas en el mecanismo de hidrólisis de hemicelulosa se muestran en las Tablas 18 y 19. La constante de degradación para cada carbohidrato a concentraciones de ácido sulfúrico de 0.05 y 0.15 M se muestran en la Tabla 18. Las constantes obtenidas en la etapa de degradación de carbohidratos puros presentan una variación entre las constantes obtenidas al aplicar el modelo. La diferencia en las constantes de degradación de los carbohidratos se le atribuye a que posiblemente los carbohidratos adquiridos de manera comercial posean diferentes propiedades que los carbohidratos producidos en el reactor a partir de la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*.

Las constantes intrínsecas de carbohidratos calculadas se muestran en la Tabla 19. Los valores de las constantes intrínsecas predichas en el modelo para cada carbohidrato fueron similares y se encontraron en el mismo orden de magnitud para concentraciones de ácido sulfúrico de 0.05 y 0.15 M. Se compararon las constantes intrínsecas obtenidas en la hidrólisis de homopolímeros con las constantes intrínsecas predichas por el modelo. Para xilosa, ambas constantes son similares y se encuentran en el mismo orden de magnitud. Para glucosa, las constantes intrínsecas fueron similares. Sin embargo, presentaron una diferencia de un orden de magnitud para concentraciones de ácido sulfúrico de 0.05 y 0.15 M. Para arabinosa, la formación del carbohidrato se inició en la etapa de calentamiento. Posteriormente, la arabinosa mostró un comportamiento aproximadamente constante en la concentración de arabinosa durante la hidrólisis de hemicelulosa. Por lo que, la obtención de las constantes de formación de arabinosa no fueron representativas. Lo anterior se le atribuye a que la formación de este carbohidrato ocurrió en la etapa de calentamiento del reactor.

La variación de los resultados entre las constantes cinéticas se le atribuye a que posiblemente los homopolímeros adquiridos de manera comercial posean diferentes propiedades que los homopolímeros en la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*. La verificación de esa hipótesis requiere de estudios posteriores. Adicionalmente, la variación pudiera atribuirse a la diferencia entre la estructura de las fibras de la planta y los homopolímeros adquiridos, los cuales se encuentran aglomerados como se mostró en las microscopías de las Figuras 22, 23 y 24. Por lo anterior, las constantes intrínsecas de la etapa de hidrólisis de homopolímeros y de hidrólisis de hemicelulosa resultaron diferentes.

**Tabla 18.** Constantes cinéticas de degradación de carbohidratos a partir de la hidrólisis de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*.

Carbohidrato	$k_d''$ (L/(mol*min))	
	0.05 (M)	0.15 (M)
Xilosa	$6.95 \times 10^{-1}$	$6.74 \times 10^{-1}$
Glucosa	0	0
Arabinosa	2.60	1.12

**Tabla 19.** Constantes cinéticas de formación de carbohidratos a partir de la hidrólisis de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris*.

Carbohidrato	$k_f''$ (m/s)	
	0.05 (M)	0.15 (M)
Xilosa	$1.43 \times 10^{-5}$	$1.32 \times 10^{-5}$
Glucosa	$2.95 \times 10^{-8}$	$5.95 \times 10^{-8}$
Arabinosa	$1.93 \times 10^{-5}$	$1.20 \times 10^{-5}$

La correlación entre los datos experimentales y la predicción del modelo correspondiente mostrados en las Figuras 39 y 40 fueron los siguientes:

**Tabla 20.** Coeficiente de correlación entre datos experimentales y predicción del modelo.

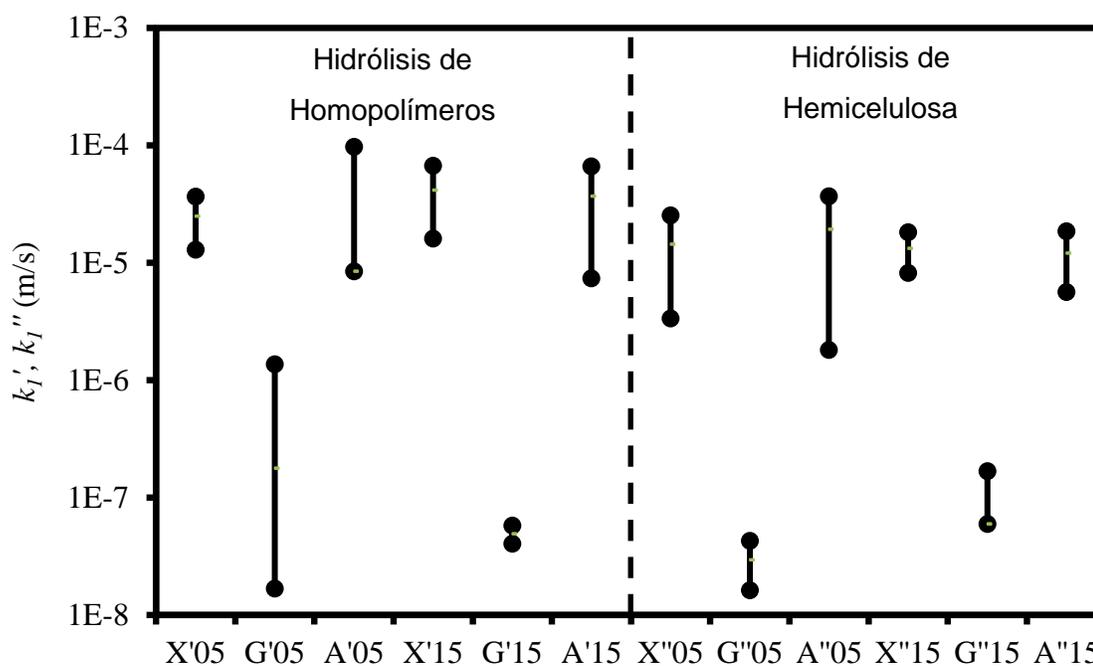
Carbohidrato	R <sup>2</sup>	
	0.05 (M)	0.15 (M)
Xilosa	0.93	0.98
Glucosa	0.72	0.86
Arabinosa	0.92	0.99

Para el caso de glucosa, el coeficiente de correlación entre los datos experimentales y modelo calculado presentó valores no representativos. La variación de estos valores se le atribuye a que el valor absoluto de los datos experimentales y la predicción del modelo, y la concentración obtenida experimentalmente se encuentra en el mismo orden de magnitud.

### Comparación de Intervalos de Confianza

Se realizó un análisis estadístico a los parámetros obtenidos en cada etapa de la investigación. Los resultados de las constantes obtenidas en las degradaciones de carbohidratos, hidrólisis de homopolímeros y hemicelulosa fueron comparados. En la Figura 41 se muestra la comparación de los intervalos de confianza de las constantes de formación de carbohidratos. Todos los intervalos presentaron un nivel de confianza del 95%. Los intervalos de confianza de las constantes de formación de xilosa a ambas concentraciones de ácido se traslapan, lo cual indica estadísticamente que estos parámetros no son significativamente diferentes. Por lo que, se apoya la hipótesis que las constantes de formación obtenidas son las constantes intrínsecas de la reacción. Glucosa y arabinosa mostraron el mismo comportamiento. Se realizó la comparación de

los intervalos de confianza de las constantes de formación de xilosa, glucosa y arabinosa entre sí. Los resultados de las constantes de formación son significativamente diferentes, especialmente al compararlos con glucosa. Los resultados sugieren que cada uno de los carbohidratos se forma a una rapidez de reacción independiente. Al comparar los intervalos de confianza de las constantes de formación de cada carbohidrato en la hidrólisis de homopolímeros ( $k_I'$ ) con la hidrólisis de hemicelulosa ( $k_I''$ ) se observó que las constantes de formación no son significativamente diferentes estadísticamente. Lo anterior, apoya la hipótesis principal de la investigación. Las constantes de formación de los carbohidratos obtenidas en la hidrólisis de homopolímeros son las constantes de formación del mecanismo de hidrólisis de hemicelulosa.



**Figura 41.** Comparación de intervalos de confianza de constantes de formación. La letra indica el carbohidrato. Los números representan: [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>]= 0.05 y 0.15 M, respectivamente.

En la Figura 42 se muestra la comparación de los intervalos de confianza de las constantes de degradación. Siguiendo el procedimiento de análisis para las constantes de formación, se obtuvieron los siguientes resultados para las constantes de degradación:

En la etapa de degradación de carbohidratos se obtienen intervalos significativamente estadísticamente, lo cual sugiere que los carbohidratos puros adquiridos comercialmente poseen propiedades diferentes que los carbohidratos producidos en la hidrólisis.

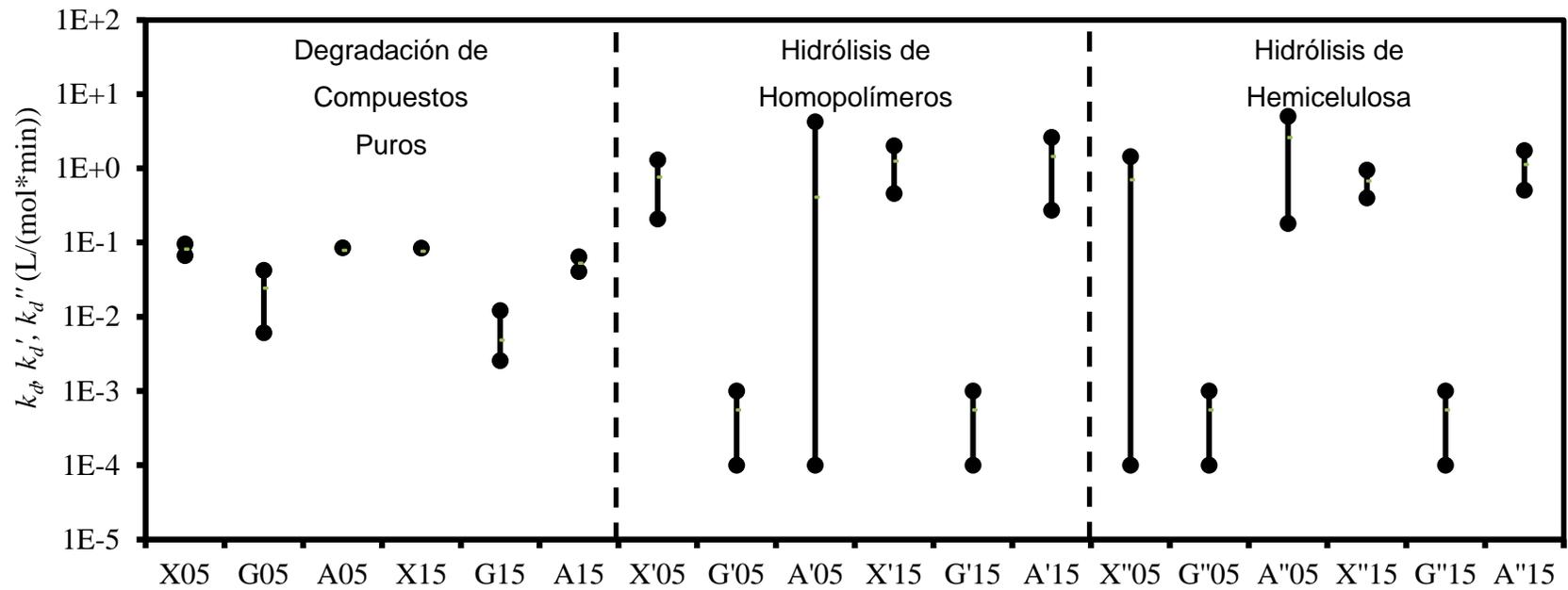
En las etapas de hidrólisis de homopolímeros y hemicelulosa, las constantes de degradación presentaron comportamientos similares que las constantes de formación. Se observó un traslape en los intervalos de confianza de las constantes de degradación de carbohidratos a ambas concentraciones de ácido. Lo cual indica que las constantes de degradación no son significativamente diferentes estadísticamente. El ion hidronio no afecta la constante de degradación del carbohidrato. Glucosa y arabinosa mostraron el mismo comportamiento.

Al comparar los intervalos de confianza de las constantes de degradación de los carbohidratos entre sí, se concluyó que cada uno de los carbohidratos se degrada de manera independiente.

Se realizó la comparación de los intervalos de confianza de las constantes de degradación de cada carbohidrato en la hidrólisis de homopolímeros ( $k_d$ ) con la hidrólisis de hemicelulosa ( $k_d'$ ). Los resultados obtenidos mostraron que las constantes de degradación no son significativamente diferentes estadísticamente. Lo anterior, apoya la hipótesis principal de la investigación. Las constantes de degradación de los

carbohidratos en la hidrólisis de homopolímeros son las constantes de degradación del mecanismo de hidrólisis de hemicelulosa.

Los resultados de la parte teórica indican que la cinética de formación y degradación de los carbohidratos en la hidrólisis de los homopolímeros, es la obtenida en hidrólisis de la hemicelulosa. Lo que sugiere que los mecanismos de reacción de la hidrólisis de hemicelulosa pueden ser estudiados a partir de las hidrolisis de los homopolímeros que conformen el material lignocelulósico.



**Figura 42.** Comparación de intervalos de confianza de constantes de degradación. La letra indica el carbohidrato. Los números representan:  $[H_2SO_4] = 0.05$  y  $0.15$  M, respectivamente.

## Pruebas de hipótesis

En esta sección se muestran pruebas estadísticas realizadas a las constantes de formación y degradación de carbohidratos. La técnica fue utilizada para determinar con base en datos experimentales cuáles conjeturas son estadísticamente verdaderas. En la Tabla 21 se muestra un resumen de los resultados de las pruebas de hipótesis. El nivel de confianza de las pruebas de hipótesis fue del 95 %. Se utilizó el mismo criterio para todas las pruebas de hipótesis. El desarrollo detallado de las pruebas de hipótesis realizadas se presenta en el Apéndice E.

**Tabla 21.** Resultados de pruebas de hipótesis.

Pruebas	Hipótesis	Resultado
Efecto del ion hidronio	$k'_1 _{0.05 M} = k'_1 _{0.15 M}$	Cumple
	$k''_1 _{0.05 M} = k''_1 _{0.15 M}$	Cumple
	$k_a _{0 M} = k_a _{0.05 M} = k_a _{0.15 M}$	No cumple
	$k'_d _{0.05 M} = k'_d _{0.15 M}$	Cumple
	$k''_d _{0.05 M} = k''_d _{0.15 M}$	Cumple
Rapidez de formación y degradación	$k'_1 _X = k'_1 _G = k'_1 _A$	No cumple
	$k'_d _X = k'_d _G = k'_d _A$	No cumple
	$k''_1 _X = k''_1 _G = k''_1 _A$	No cumple
	$k''_d _X = k''_d _G = k''_d _A$	No cumple
Constantes intrínsecas	$k'_{1X} = k''_{1X}$	Cumple
	$k'_{1G} = k''_{1G}$	Cumple
	$k'_{1A} = k''_{1A}$	Cumple

### 1. Efecto del ion hidronio

Las constantes de formación de carbohidratos para las etapas de hidrólisis de homopolímeros y de hemicelulosa no fueron diferentes significativamente al incrementar la concentración de ácido. Lo anterior, apoya la hipótesis planteada en el mecanismo desarrollado donde la constante de formación de carbohidratos es la constante intrínseca de reacción. La constante intrínseca no se ve afectada por la concentración del ion hidronio.

En las etapas de hidrólisis de homopolímeros y de hemicelulosa, las constantes de degradación de carbohidratos no fueron diferentes significativamente al incrementar la concentración de ácido. En la etapa de degradaciones de carbohidratos, las constantes obtenidas no fueron diferentes significativamente a concentraciones de 0.05 y 0.15 M. Sin embargo, las constantes de degradaciones con agua pura mostraron una diferencia significativa comparada con las constantes en las que se utilizó ácido.

### 2. Rapidez de formación y degradación

Las constantes de formación de cada carbohidrato fueron significativamente diferentes en las hidrólisis de homopolímeros y hemicelulosa. Lo anterior, apoya la suposición de la hipótesis de la investigación de que cada carbohidrato reacciona a diferente rapidez de reacción. Por lo tanto, se concluye que la rapidez de formación de xilosa, glucosa y arabinosa fue diferente. La formación de cada carbohidrato fue independiente.

Los resultados de las constantes de degradación de cada carbohidrato fueron significativamente diferentes. Cada carbohidrato se degrada a una rapidez de reacción

diferente. Los resultados obtenidos eran de esperarse debido a que cada uno de los carbohidratos presenta diferentes productos de degradación.

### 3. Constantes intrínsecas

Las constantes de formación de carbohidratos en las hidrólisis de homopolímeros y hemicelulosa no fueron significativamente diferentes. Por lo tanto, las constantes de formación son las constantes intrínsecas del mecanismo de hidrólisis de hemicelulosa.

La motivación de este trabajo es que el mecanismo de hidrólisis ácida de hemicelulosa es desconocido a la fecha según el conocimiento de la autora. Por lo que, fue desarrollada una metodología novedosa para el esclarecimiento del mecanismo de reacción. Asimismo, se estudió la constante intrínseca de las reacciones que representan los fenómenos observados durante la hidrólisis de hemicelulosa. Las conclusiones de la investigación realizada se presentan a continuación.

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

1. Se desarrolló una metodología teórica-experimental para la determinación del mecanismo de reacción de la hidrólisis ácida de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* a partir de los mecanismos de reacción de los homopolímeros que la componen. El modelo cinético incluye una primera etapa heterogénea de hidrólisis seguida por la degradación homogénea del carbohidrato formado.
2. El mecanismo propuesto para la hidrólisis consta de dos etapas. En la primera etapa interviene el ataque del ion hidronio a los homopolímeros. La segunda etapa fue la liberación de carbohidratos al seno del fluido. La etapa controlante de la hidrólisis de hemicelulosa es el ataque del ion hidronio.
3. Se determinó que la fórmula empírica de hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* consiste de 25 unidades de glucosa, 55 de xilosa y 19 unidades de arabinosa.
4. En base a la composición y degradación de los polímeros de hemicelulosa y pectinas de la pared celular de *Cenchrus ciliaris*, se logró el aislamiento de hemicelulosa para los estudios de hidrólisis ácida. La hemicelulosa obtenida está formada en su mayoría por azúcares de cinco carbonos.

5. Los datos experimentales de hidrólisis de los homopolímeros y hemicelulosa mostraron que la rapidez de formación de los carbohidratos es proporcional a la concentración de ácido en la solución acuosa.
6. En todos los casos estudiados, la degradación de los carbohidratos en presencia de agua pura no fue significativa. Lo anterior, indica que se requiere de los iones hidronio para promover la degradación de los carbohidratos.
7. Las constantes obtenidas para arabinosa no fueron representativas del proceso de hidrólisis. Lo anterior, es debido a que el muestreo ocurrió cuando la concentración de arabinosa en la solución era constante. La formación de arabinosa ocurrió en la etapa de calentamiento.
8. En presencia de ácido, las constantes de degradación de xilosa y arabinosa presentaron el mismo orden de magnitud. En contraste, la glucosa no mostró degradación significativa.
9. Las constantes intrínsecas de formación de los carbohidratos son significativamente diferentes entre sí; por lo tanto, se considera que se cumple una de las hipótesis de este trabajo que consiste en que cada carbohidrato reacciona de manera independiente.
10. Las constantes de formación de los carbohidratos a diferentes concentraciones de ácido se obtuvo que las constantes de formación de los carbohidratos no

dependen de la concentración del ion hidronio. Por lo tanto, se considera que dichas constantes son las intrínsecas de cada reacción.

11. Las constantes de formación de los carbohidratos obtenidas en las etapas de hidrólisis de homopolímeros y hemicelulosa no son significativamente diferentes. Por lo tanto, la cinética de la hidrólisis de la hemicelulosa de *Cenchrus ciliaris* puede representarse a partir de la cinética de los homopolímeros que la componen.
12. El modelo de hidrólisis desarrollado presenta una concordancia razonable con los datos experimentales con un coeficiente de correlación de 0.90.

## 5.2 Recomendaciones

Se recomiendan el uso de técnicas analíticas que permitan la identificación y cuantificación de las especies en tiempo real. La técnica de HPLC acoplado a masas ayudaría a cuantificar la concentración de los oligomeros en la solución.

Con el fin de dilucidar los cambios químicos que ocurren a tiempos cortos de reacción, se recomienda extender el estudio a la etapa no isotérmica de los experimentos.

Para estudios posteriores es recomendable el uso de técnicas sofisticadas de análisis, tales como cromatografía iónica, para identificar las especies que se forman durante los experimentos de hidrólisis de la hemicelulosa.

---

## CAPÍTULO 6

### BIBLIOGRAFÍA

- Agbor, V.B., Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A., Levin, D.B. 2011. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances*, **29**(6), 675-685.
- Aguilar, R., Ramirez, J.A., Garrote, G., Vazquez, M. 2002. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. *Journal of Food Engineering*, **55**(4), 309-318.
- Alvira, P., Tomas-Pejo, E., Ballesteros, M., Negro, M.J. 2010. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, **101**(13), 4851-4861.
- Araque, E., Parra, C., Freer, J., Contreras, D., Rodriguez, J., Mendonca, R., Baeza, J. 2008. Evaluation of organosolv pretreatment for the conversion of *Pinus radiata* D. Don to ethanol. *Enzyme and Microbial Technology*, **43**(2), 214-219.
- Bak, J.S., Kim, M.D., Choi, I.G., Kim, K.H. 2010. Biological pretreatment of rice straw by fermenting with *Dichomitus squalens*. *New Biotechnology*, **27**(4), 424-434.
- Balat, M. 2009. Bioethanol as a Vehicular Fuel: A Critical Review. *Energy Sources Part a-Recovery Utilization and Environmental Effects*, **31**(14), 1242-1255.
- Balat, M., Balat, H. 2009. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. *Applied Energy*, **86**(11), 2273-2282.
- Bustos, G., Ramirez, J.A., Garrote, G., Vazquez, M. 2003. Modeling of the hydrolysis of sugar cane bagasse with hydrochloric acid. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **104**(1), 51-68.
- Canettieri, E.V., Rocha, G.J.D.M., de Carvalho, J.A., Silva, J.B.D.A.E. 2007. Optimization of acid hydrolysis from the hemicellulosic fraction of *Eucalyptus grandis* residue using response surface methodology. *Bioresource Technology*, **98**(2), 422-428.
- Cardoso, S.L., da Silva, M.G., Lima, J.A.P., Sthel, M.S., Marin, E., Vargas, H. 2001. Application of the thermal wave resonator cavity sensor to the characterization of automotive fuels: motor octane number (MON). *Analytical Sciences*, **17**, S479-S481.
- Carvalho, F., Duarte, L.C., Girio, F.M. 2008. Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments. *Journal of Scientific & Industrial Research*, **67**(11), 849-864.
- Chandra, R.P., Bura, R., Mabee, W.E., Berlin, A., Pan, X., Saddler, J.N. 2007. Substrate pretreatment: The key to effective enzymatic hydrolysis of lignocellulosics? *Biofuels*, **108**, 67-93.
- CHEN, L., GONG, C. 1985. FERMENTATION OF SUGARCANE BAGASSE HEMICELLULOSE HYDROLYSATE TO XYLITOL BY A HYDROLYSATE-ACCLIMATIZED YEAST. *Journal of Food Science*, **50**(1), 226-228.
- Chiaramonti, D., Prussi, M., Ferrero, S., Oriani, L., Ottonello, P., Torre, P., Cherchi, F. 2012. Review of pretreatment processes for lignocellulosic ethanol production, and development of an innovative method. *Biomass & Bioenergy*, **46**, 25-35.

- Deguchi, S., Mukai, S., Tsudome, M., Horikoshi, K. 2006. Facile generation of fullerene nanoparticles by hand-grinding. *Advanced Materials*, **18**(6), 729-+.
- Demirbas, A. 2005. Bioethanol from cellulosic materials: A renewable motor fuel from biomass. *Energy Sources*, **27**(4), 327-337.
- Demirbas, A. 2007. Producing and using bioethanol as an automotive fuel. *Energy Sources Part B-Economics Planning and Policy*, **2**(4), 391-401.
- Demirbas, A., Karslioglu, S. 2007. Biodiesel production facilities from vegetable oils and animal fats. *Energy Sources Part a-Recovery Utilization and Environmental Effects*, **29**(2), 133-141.
- Demirbas, M., Balat, M., Balat, H. 2009. Potential contribution of biomass to the sustainable energy development. *Energy Conversion and Management*, **50**(7), 1746-1760.
- Dias, A.A., Freitas, G.S., Marques, G.S.M., Sampaio, A., Fraga, I.S., Rodrigues, M.A.M., Evtuguin, D.V., Bezerra, R.M.F. 2010. Enzymatic saccharification of biologically pre-treated wheat straw with white-rot fungi. *Bioresource Technology*, **101**(15), 6045-6050.
- Duarte, L.C., Silva-Fernandes, T., Carvalheiro, F., Girio, F.M. 2009. Dilute Acid Hydrolysis of Wheat Straw Oligosaccharides. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **153**(1-2), 116-126.
- Ebringerova, A., Heinze, T. 2000. Xylan and xylan derivatives - biopolymers with valuable properties, 1 - Naturally occurring xyans structures, procedures and properties. *Macromolecular Rapid Communications*, **21**(9), 542-556.
- Ebringerova, A., Hromadkova, Z., Heinze, T. 2005. Hemicellulose. *Polysaccharides 1: Structure, Characterization and Use*, **186**, 1-67.
- Encinas-Soto, K.K., Martín-García, A.R., Perez-Tello, M. 2015. Kinetic Study on the Acid Hydrolysis of *Cenchrus ciliaris* Particles for the Production of Xylose and Other Monosaccharides. *Industrial & Engineering Chemistry Research*.
- Encinas Soto, K.K. 2010. Estudio cinético de la formación de xilosa por hidrólisis con ácido sulfúrico diluido de *Cenchrus ciliaris*. in: *Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia*, Vol. Maestría, Universidad de Sonora.
- Esteghlalian, A., Hashimoto, A., Fenske, J., Penner, M. 1997. Modeling and optimization of the dilute-sulfuric-acid pretreatment of corn stover, poplar and switchgrass. *Bioresource Technology*, **59**(2-3), 129-136.
- Fanta, G.F., Abbott, T.P., Herman, A.I., Burr, R.C., Doane, W.M. 1984. Hydrolysis of Wheat Straw Hemicellulose with Trifluoroacetic-Acid - Fermentation of Xylose with *Pachysolen-Tannophilus*. *Biotechnology and Bioengineering*, **26**(9), 1122-1125.
- Fissore, A., Carrasco, L., Reyes, P., Rodriguez, J., Freer, J., Mendonca, R.T. 2010. Evaluation of a combined brown rot decay-chemical delignification process as a pretreatment for bioethanol production from *Pinus radiata* wood chips. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, **37**(9), 893-900.
- Franklin, K., Lyons, K., Nagler, P., Lampkin, D., Glenn, E., Molina-Freaner, F., Markow, T., Huete, A. 2006. Buffelgrass (*Pennisetum ciliare*) land conversion and productivity in the plains of Sonora, Mexico. *Biological Conservation*, **127**(1), 62-71.
- Galbe, M., Zacchi, G. 2007. Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production. *Biofuels*, **108**, 41-65.

- Garcia-Dominguez, M., Garcia-Dominguez, J., Feria, M., Gomez-Lozano, D., Lopez, F., Diaz, M. 2013. Furfural production from Eucalyptus globulus: Optimizing by using neural fuzzy models. *Chemical Engineering Journal*, **221**, 185-192.
- Grant, G., Han, Y., Anderson, A., Frey, K. 1977. Kinetics of straw hydrolysis. *Developments in industrial microbiology*.
- Gutierrez-Ozuna, R., Eguiarte, L., Molina-Freaner, F. 2009. Genotypic diversity among pasture and roadside populations of the invasive buffelgrass (*Pennisetum ciliare* L. Link) in north-western Mexico. *Journal of Arid Environments*, **73**(1), 26-32.
- Hendriks, A.T.W.M., Zeeman, G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, **100**(1), 10-18.
- Hinman, N., Schell, D., Riley, J., Bergeron, P., Walter, P. 1992. Preliminary estimate of the cost of ethanol production for SSF technology. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **34**(1), 639-649.
- Ingle, T.R., Kulkarni, V.R., Vaidya, S.H., Pai, M.U. 1976. Preparation of D-Galactose from Cashew Nut Shells. *Research and Industry*, **21**(4), 243-246.
- Jacobs, S., van Niekerk, W., Coertze, R. 2004. Qualitative evaluation of *Cenchrus ciliaris* ev. Molopo and Gayndah as foggage. *South African Journal of Animal Science*, **34**, 65-67.
- Jacobsen, S.E., Wyman, C.E. 2000. Cellulose and hemicellulose hydrolysis models for application to current and novel pretreatment processes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **84-6**, 81-96.
- Jacobsen, S.E., Wyman, C.E. 2002. Xylose monomer and oligomer yields for uncatalyzed hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose at varying solids concentration. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **41**(6), 1454-1461.
- Jorge, M., Van De Wouw, M., Hanson, J., Mohammed, J. 2008. Characterisation of a collection of buffel grass (*Cenchrus ciliaris*). *Tropical Grasslands*, **42**(1), 27-39.
- Karunanithy, C., Muthukumarappan, K. 2010. Influence of Extruder Temperature and Screw Speed on Pretreatment of Corn Stover while Varying Enzymes and Their Ratios. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **162**(1), 264-279.
- Kaur, D., Guerin, M.E., Skovierova, H., Brennan, P.J., Jackson, M. 2009. Biogenesis of the cell wall and other glycoconjugates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Adv. Appl. Microbiol.*, **69**, 23-78.
- Kim, K.H., Tucker, M.P., Nguyen, Q.A. 2002. Effects of operating parameters on countercurrent extraction of hemicellulosic sugars from pretreated softwood. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **98**, 147-159.
- Kim, S., Dale, B. 2004. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. *Biomass & Bioenergy*, **26**(4), 361-375.
- Klinke, H.B., Ahring, B.K., Schmidt, A.S., Thomsen, A.B. 2002. Characterization of degradation products from alkaline wet oxidation of wheat straw. *Bioresource Technology*, **82**(1), 15-26.
- Knauf, M., Moniruzzaman, M. 2004. Lignocellulosic biomass processing: A perspective. *International Sugar Journal*, **106**(1263), 147-150.
- Kobayashi, T., Sakai, Y. 1956. Hydrolysis rate of pentosan of hardwood in dilute sulfuric acid. *Agric. Chem. Soc.*, **20**, 1-7.
- Kuhar, S., Nair, L.M., Kuhad, R.C. 2008. Pretreatment of lignocellulosic material with fungi capable of higher lignin degradation and lower carbohydrate degradation

- improves substrate acid hydrolysis and the eventual conversion to ethanol. *Canadian Journal of Microbiology*, **54**(4), 305-313.
- Kumar, P., Barrett, D.M., Delwiche, M.J., Stroeve, P. 2009. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **48**(8), 3713-3729.
- Lang, X., MacDonald, D., Hill, G. 2001. Recycle bioreactor for bioethanol production from wheat starch II. Fermentation and economics. *Energy Sources*, **23**(5), 427-436.
- Lange, J., van der Heide, E., van Buijtenen, J., Price, R. 2012. FurfuraluA Promising Platform for Lignocellulosic Biofuels. *Chemsuschem*, **5**(1), 150-166.
- Lee, Y., Iyer, P., Torget, R.W. 1999. Dilute-acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. in: *Recent progress in bioconversion of lignocellulosics*, Springer, pp. 93-115.
- Liu, Z., Fei, B. 2013. Characteristics of Moso Bamboo with Chemical Pretreatment. *Sustainable Degradation of Lignocellulosic Biomass-Techniques, Applications and Commercialization. China*.
- Lozano, R.G.R., Martell, A.E., González, F.L. 2001. Valor nutricional y degradabilidad ruminal del zacate buffel y nueve zacates nativos del NE de México, Vol. IV, CIENCIA UANL.
- Lu, Y.L., Mosier, N.S. 2008. Kinetic Modeling Analysis of Maleic Acid-Catalyzed Hemicellulose Hydrolysis in Corn Stover. *Biotechnology and Bioengineering*, **101**(6), 1170-1181.
- Luke, A.E.M. 2010. Determinación de los Parámetros Cinéticos del Pretratamiento por Hidrolisis Acida de "Ipomoea arborescens" (Palo Blanco).
- Ma, F.Y., Yang, N., Xu, C.Y., Yu, H.B., Wu, J.G., Zhang, X.Y. 2010. Combination of biological pretreatment with mild acid pretreatment for enzymatic hydrolysis and ethanol production from water hyacinth. *Bioresource Technology*, **101**(24), 9600-9604.
- Maki-Arvela, P., Salmi, T., Holmbom, B., Willfor, S., Murzin, D.Y. 2011. Synthesis of Sugars by Hydrolysis of Hemicelluloses-A Review. *Chemical Reviews*, **111**(9), 5638-5666.
- Malaluan, R.M. 1995. A Study of Cellulose Decomposition in Subcritical and Supercritical Water, Vol. Ph.D. Dissertation, Tohoku University. Sendai.
- MALESTER, I., GREEN, M., SHELEF, G. 1992. KINETICS OF DILUTE ACID-HYDROLYSIS OF CELLULOSE ORIGINATING FROM MUNICIPAL SOLID-WASTES. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **31**(8), 1998-2003.
- Marshall, V., Lewis, M., Ostendorf, B. 2012. Buffel grass (*Cenchrus ciliaris*) as an invader and threat to biodiversity in arid environments: A review. *Journal of Arid Environments*, **78**, 1-12.
- Marshall, W.L., Jones, E.V. 1966. Second Dissociation Constant of Sulfuric Acid from 25 to 350° Evaluated from Solubilities of Calcium Sulfate in Sulfuric Acid Solutions1, 2. *The Journal of Physical Chemistry*, **70**(12), 4028-4040.
- Marton, G. 1987. Furfurolygártó reaktorok optimális kinetikai tervezése (Optimal kinetic design of furfural reactors), D. Sc. Thesis, University of Veszprém, Veszprém.
- Marton, G., Dencs, J., Szokonya, L. 1989. Principles of biomass refining. *Handbook of heat and mass transfer. Houston: Gulf Publishing*, 609-52.
- MCMILLAN, J., Himmel, M., Baker, J., Overend, R. 1994. PRETREATMENT OF LIGNOCELLULOSIC BIOMASS. *Enzymatic Conversion of Biomass For Fuels Production*, **566**, 292-324.

- Mehlberg, R.L., Tsao, G.T. 1979. Low Moisture Hydrolysis of Corn Cob Hemicellulose by Hydrochloric-Acid. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*(Sep), 36-36.
- Mielenz, J. 2001. Ethanol production from biomass: technology and commercialization status. *Current Opinion in Microbiology*, **4**(3), 324-329.
- Mnif, L., Belgacem, A., Cortina, J., Chaieb, M. 2005. A comparative analysis of establishment of *Cenchrus ciliaris* provenances in arid zone of Tunisia. *Arid Land Research and Management*, **19**(4), 341-351.
- Mojovic, L., Pejin, D., Grujic, O., Markov, S., Pejin, J., Rakin, M., Vukasinovic, M., Nikolic, S., Savic, D. 2009. PROGRESS IN THE PRODUCTION OF BIOETHANOL ON STARCH-BASED FEEDSTOCKS. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, **15**(4), 211-226.
- MOK, W., ANTAL, M., VARHEGYI, G. 1992. PRODUCTIVE AND PARASITIC PATHWAYS IN DILUTE ACID-CATALYZED HYDROLYSIS OF CELLULOSE. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **31**(1), 94-100.
- Morales-Romero, D., Molina-Freaner, F. 2008. Influence of buffelgrass pasture conversion on the regeneration and reproduction of the columnar cactus, *Pachycereus pecten-aboriginum*, in northwestern Mexico. *Journal of Arid Environments*, **72**(3), 228-237.
- Morinelly, J.E., Jensen, J.R., Browne, M., Co, T.B., Shonnard, D.R. 2009. Kinetic Characterization of Xylose Monomer and Oligomer Concentrations during Dilute Acid Pretreatment of Lignocellulosic Biomass from Forests and Switchgrass. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **48**(22), 9877-9884.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M., Ladisch, M. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, **96**(6), 673-686.
- Mtui, G.Y.S. 2009. Recent advances in pretreatment of lignocellulosic wastes and production of value added products. *African Journal of Biotechnology*, **8**(8), 1398-1415.
- Oliva, J.M., Saez, F., Ballesteros, I., Gonzalez, A., Negro, M.J., Manzanares, P., Ballesteros, M. 2003. Effect of lignocellulosic degradation compounds from steam explosion pretreatment on ethanol fermentation by thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **105**, 141-153.
- Ooi, V.E.C., Liu, F. 2000. Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide-protein complexes. *Current Medicinal Chemistry*, **7**(7), 715-729.
- Palmqvist, E., Hahn-Hagerdal, B. 2000. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*, **74**(1), 25-33.
- PETTERSEN, R. 1984. THE CHEMICAL-COMPOSITION OF WOOD. *Advances in Chemistry Series*(207), 57-126.
- Pingali, S.V., Urban, V.S., Heller, W.T., McGaughey, J., O'Neill, H., Foston, M., Myles, D.A., Ragauskas, A., Evans, B.R. 2010. Breakdown of Cell Wall Nanostructure in Dilute Acid Pretreated Biomass. *Biomacromolecules*, **11**(9), 2329-2335.
- Prasad, S., Singh, A., Joshi, H.C. 2007. Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. *Resources Conservation and Recycling*, **50**(1), 1-39.

- Ray, M.J., Leak, D.J., Spanu, P.D., Murphy, R.J. 2010. Brown rot fungal early stage decay mechanism as a biological pretreatment for softwood biomass in biofuel production. *Biomass & Bioenergy*, **34**(8), 1257-1262.
- Reis, R. 1998. The end of cheap oil. *Scientific American*, **279**(1), 10-10.
- Relvas, F.M., Morais, A.R., Bogel-Lukasik, R. 2015. Kinetic modeling of hemicellulose-derived biomass hydrolysis under high pressure CO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O mixture technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, **99**, 95-102.
- Rose, J., Hadfield, K., Labavitch, J., Bennett, A. 1998. Temporal sequence of cell wall disassembly in rapidly ripening melon fruit. *Plant Physiology*, **117**(2), 345-361.
- Saeman, J.F. 1945. Kinetics of Wood Saccharification: Hydrolysis of Cellulose and Decomposition of Sugars in Dilute Acid at High Temperature. *Ind. Eng. Chem.*, **37**, 43.
- Saha, B. 2003. Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, **30**(5), 279-291.
- Sanchez, C. 2009. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances*, **27**(2), 185-194.
- Saritha, M., Arora, A., Lata. 2012. Biological Pretreatment of Lignocellulosic Substrates for Enhanced Delignification and Enzymatic Digestibility. *Indian Journal of Microbiology*, **52**(2), 122-130.
- Sarkar, N., Ghosh, S.K., Bannerjee, S., Aikat, K. 2012. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy*, **37**(1), 19-27.
- Sathitsuksanoh, N., Zhu, Z.G., Zhang, Y.H.P. 2012. Cellulose solvent- and organic solvent-based lignocellulose fractionation enabled efficient sugar release from a variety of lignocellulosic feedstocks. *Bioresource Technology*, **117**, 228-233.
- Schadel, C., Bochl, A., Richter, A., Hoch, G. 2010. Quantification and monosaccharide composition of hemicelluloses from different plant functional types. *Plant Physiology and Biochemistry*, **48**(1), 1-8.
- Schell, D.J., Farmer, J., Newman, M., McMillan, J.D. 2003. Dilute-sulfuric acid pretreatment of corn stover in pilot-scale reactor - Investigation of yields, kinetics, and enzymatic digestibilities of solids. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **105**, 69-85.
- Seaman, J.F. Kinetics of wood saccharification: hydrolysis of cellulose and decomposition of sugars in dilute acid at high temperature. *Ind. Eng. Chem.*, **37**, 43-52.
- Sharif-Zadeh, F., Murdoch, A. 2001. The effects of temperature and, moisture on after-ripening of *Cenchrus ciliaris* seeds. *Journal of Arid Environments*, **49**(4), 823-831.
- Shen, J.C., Wyman, C.E. 2011. A novel mechanism and kinetic model to explain enhanced xylose yields from dilute sulfuric acid compared to hydrothermal pretreatment of corn stover. *Bioresource Technology*, **102**(19), 9111-9120.
- Shi, J., Sharma-Shivappa, R.R., Chinn, M., Howell, N. 2009. Effect of microbial pretreatment on enzymatic hydrolysis and fermentation of cotton stalks for ethanol production. *Biomass & Bioenergy*, **33**(1), 88-96.
- Singh, P., Suman, A., Tiwari, P., Arya, N., Gaur, A., Shrivastava, A.K. 2008. Biological pretreatment of sugarcane trash for its conversion to fermentable sugars. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, **24**(5), 667-673.

- Sun, R.C., Tomkinson, J. 2002. Characterization of hemicelluloses obtained by classical and ultrasonically assisted extractions from wheat straw. *Carbohydrate Polymers*, **50**(3), 263-271.
- Sun, Y., Cheng, J.Y. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, **83**(1), 1-11.
- Taherzadeh, M., Karimi, K. 2007. ACID-BASED HYDROLYSIS PROCESSES FOR ETHANOL FROM LIGNOCELLULOSIC MATERIALS: A REVIEW. *Bioresources*, **2**(3), 472-499.
- Taherzadeh, M.J., Eklund, R., Gustafsson, L., Niklasson, C., Liden, G. 1997. Characterization and fermentation of dilute-acid hydrolyzates from wood. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **36**(11), 4659-4665.
- Taherzadeh, M.J., Karimi, K. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, **9**(9), 1621-1651.
- Um, B., van Walsum, G. 2009. Acid Hydrolysis of Hemicellulose in Green Liquor Pre-Pulping Extract of Mixed Northern Hardwoods. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **153**(1-2), 127-138.
- Vallejos, M.E., Felissia, F.E., Kruyeniski, J., Area, M.C. 2015. Kinetic study of the extraction of hemicellulosic carbohydrates from sugarcane bagasse by hot water treatment. *Industrial Crops and Products*, **67**, 1-6.
- Wang, B., Ezeji, T., Shi, Z., Feng, H., Blaschek, H. 2009. PRETREATMENT AND CONVERSION OF DISTILLER'S DRIED GRAINS WITH SOLUBLES FOR ACETONE-BUTANOL-ETHANOL (ABE) PRODUCTION. *Transactions of the Asabe*, **52**(3), 885-892.
- Wyman, C., Brennan, M., Converse, A., Gray, M., Jacobsen, S., Li, X., Liu, C., Lloyd, T., Stuhler, S., Yang, B. 2003. Hemicellulose hydrolysis: Deviations from customary first-order kinetic models and subsequent cellulose digestion relationships. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, **225**, U269-U269.
- Wyman, C.E., Dale, B.E., Elander, R.T., Holtzapple, M., Ladisch, M.R., Lee, Y.Y. 2005. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. *Bioresource Technology*, **96**(18), 1959-1966.
- Yang, B., Wyman, C.E. 2008. Pretreatment: the key to unlocking low-cost cellulosic ethanol. *Biofuels Bioproducts & Biorefining-Biofpr*, **2**(1), 26-40.
- Yat, S., Berger, A., Shonnard, D. 2008. Kinetic characterization for dilute sulfuric acid hydrolysis of timber varieties and switchgrass. *Bioresource Technology*, **99**(9), 3855-3863.
- Zhao, X.B., Wang, L., Liu, D.H. 2008. Peracetic acid pretreatment of sugarcane bagasse for enzymatic hydrolysis: a continued work. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **83**(6), 950-956.
- Zhu, J.Y., Wang, G.S., Pan, X.J., Gleisner, R. 2009a. Specific surface to evaluate the efficiencies of milling and pretreatment of wood for enzymatic saccharification. *Chemical Engineering Science*, **64**(3), 474-485.
- Zhu, W., Zhu, J.Y., Gleisner, R., Pan, X.J. 2010. On energy consumption for size-reduction and yields from subsequent enzymatic saccharification of pretreated lodgepole pine. *Bioresource Technology*, **101**(8), 2782-2792.
- Zhu, Z.G., Sathitsuksanoh, N., Vinzant, T., Schell, D.J., McMillan, J.D., Zhang, Y.H.P. 2009b. Comparative Study of Corn Stover Pretreated by Dilute Acid and Cellulose

Solvent-Based Lignocellulose Fractionation: Enzymatic Hydrolysis, Supramolecular Structure, and Substrate Accessibility. *Biotechnology and Bioengineering*, **103**(4), 715-724.

Zhu, Z.G., Sathitsuksanoh, N., Zhang, Y.H.P. 2009c. Direct quantitative determination of adsorbed cellulase on lignocellulosic biomass with its application to study cellulase desorption for potential recycling. *Analyst*, **134**(11), 2267-2272.

## ANEXOS

## Datos Cinéticos de la Degradación de Carbohidratos Puros

Tabla 22. Concentraciones molares de carbohidratos en las hidrólisis a 120° C.

Experimento	Carbohidratos (mol/L)	Tiempo de Hidrólisis (min)						
		0	10	20	30	40	50	60
<b>Hidrólisis 1</b>	Glucosa	0.0009	0.0005	0.0006	0.0009	0.0009	0.0010	0.0012
	Xilosa	0.0000	0.0006	0.0018	0.0034	0.0047	0.0057	0.0056
	Arabinosa	0.0000	0.0011	0.0015	0.0018	0.0020	0.0022	0.0012
<b>Hidrólisis 2</b>	Glucosa	0.0006	0.0008	0.0011	0.0012	0.0015	0.0018	0.0021
	Xilosa	0.0004	0.0010	0.0023	0.0040	0.0055	0.0064	0.0072
	Arabinosa	0.0008	0.0015	0.0021	0.0023	0.0025	0.0027	0.0027
<b>Hidrólisis 3</b>	Glucosa	0.0010	0.0015	0.0047	0.0043	0.0042	0.0103	0.0049
	Xilosa	0.0024	0.0044	0.0095	0.0087	0.0080	0.0143	0.0077
	Arabinosa	0.0013	0.0015	0.0068	0.0043	0.0019	0.0128	0.0019
<b>Hidrólisis 4</b>	Glucosa	0.0012	0.0011	0.0018	0.0023	0.0029	0.0040	0.0011
	Xilosa	0.0025	0.0048	0.0075	0.0081	0.0090	0.0088	0.0082
	Arabinosa	0.0027	0.0014	0.0016	0.0015	0.0017	0.0029	0.0060
<b>Repetición de Hidrólisis 1</b>	Glucosa	0.0004	0.0007	0.0011	0.0013	0.0011	0.0015	—
	Xilosa	0.0003	0.0014	0.0037	0.0048	0.0034	0.0057	—
	Arabinosa	0.0005	0.0013	0.0022	0.0023	0.0014	0.0021	—

## Desarrollo de Ecuaciones del Modelo Heterogéneo

Para reacciones elementales:

$$r_1 = k_1' C_{H^+} - k_{-1}' C_{(XilosaH^+)^*} \quad (25)$$

$$r_1 = k_1' \left[ C_{H^+} - \frac{C_{(XilosaH^+)^*}}{K_1} \right] \quad (26)$$

$$r_2 = k_2' C_{(XilosaH^+)^*} C_{H_2O} - k_{-2}' C_{Xilosa} C_{H^+} \quad (27)$$

$$r_2 = k_2' \left[ C_{(XilosaH^+)^*} C_{H_2O} - \frac{C_{Xilosa} C_{H^+}}{K_2} \right] \quad (28)$$

En régimen estacionario, tenemos:  $r_1 = r_2 = r$  (29)

Por esta razón, las ecuaciones 26 y 28 se igualan, obteniendo:

$$r = k_1' \left[ C_{H^+} - \frac{C_{(XilosaH^+)^*}}{K_1} \right] = k_2' \left[ C_{(XilosaH^+)^*} C_{H_2O} - \frac{C_{Xilosa} C_{H^+}}{K_2} \right] \quad (30)$$

I. Caso I. El ataque ácido controla.

$$k_1' \ll k_2'$$

$$C_{(XilosaH^+)^*}C_{H_2O} - \frac{C_{Xilosa}C_{H^+}}{K_2} \approx 0 \quad (31)$$

$$C_{(XilosaH^+)^*} = \frac{C_{Xilosa}C_{H^+}}{K_2C_{H_2O}} \quad (32)$$

Como sabemos,

$$r = k_1' \left[ C_{H^+} - \frac{C_{(XilosaH^+)^*}}{K_1} \right] \quad (33)$$

Por lo tanto, sustituyendo la Ec. (32) en la ecuación anterior, tenemos:

$$r = k_1' \left[ C_{H^+} - \frac{C_{Xilosa}C_{H^+}}{K_1K_2C_{H_2O}} \right] \quad (34)$$

Reagrupando términos,

$$r = k_1' C_{H^+} \left[ 1 - \frac{C_{Xilosa}}{K_1K_2C_{H_2O}} \right] \quad (35)$$

Considerando, la hidrólisis irreversible:

$$K_2 \rightarrow \infty$$

Entonces, en el caso en el que el ataque del ácido controla, dentro de un régimen estacionario y presentando una hidrólisis irreversible, tenemos:

$$r = k_1' C_{H^+} \quad (36)$$

II. Caso II. Liberación de azúcares controla.

$$k_1' \gg k_2'$$

$$C_{H^+} - \frac{C_{(XilosaH^+)^*}}{K_1} \approx 0 \quad (37)$$

$$C_{(XilosaH^+)^*} = K_1 C_{H^+} \quad (38)$$

Recordando,

$$r = k_2' \left[ C_{(XilosaH^+)^*} C_{H_2O} - \frac{C_{Xilosa} C_{H^+}}{K_2} \right] \quad (39)$$

Sustituyendo la Ec. (38) en la ecuación anterior, tenemos:

$$r = k_2' \left[ K_1 C_{H^+} C_{H_2O} - \frac{C_{Xilosa} C_{H^+}}{K_2} \right] \quad (40)$$

Reagrupando,

$$r = k_2' C_{H^+} \left[ K_1 C_{H_2O} - \frac{C_{Xilosa}}{K_2} \right] \quad (41)$$

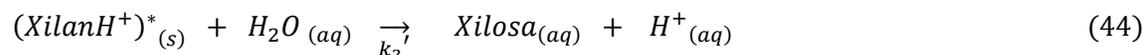
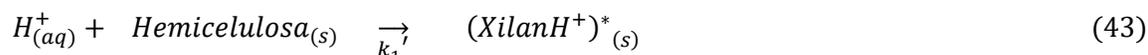
Considerando, la hidrólisis irreversible:

$$K_2 \rightarrow \infty$$

Entonces, en el caso en el que la liberación de azúcares controla, dentro de un régimen estacionario y presentando una hidrólisis irreversible, tenemos:

$$r = (k_2' K_1 C_{H_2O}) C_{H^+} \quad (42)$$

En la investigación realizada, el modelo supone que la hidrólisis de xilosa modelada en dos etapas se encuentra controlada por el ataque del ácido a la hemicelulosa, es decir la etapa que controlante es la mostrada en la Ec. (42).



El balance de masa para  $Xilosa_{(aq)}$  despreciando descomposición homogénea, siguiendo un modelo de núcleo decreciente, el cual es controlado por la reacción química, se muestra a continuación en la Ec. (45):

$$V \frac{dC_{xilosa}}{dt} = k_1' C_{H^+} A_p \quad (45)$$

Donde  $\frac{dC_{xilosa}}{dt}$  es el cambio en la concentración de xilosa con respecto al tiempo  $t$ ,  $V$  es el volumen en L,  $k_1'$  es la constante intrínseca de la reacción en m/min,  $C_{H^+}$  es la concentración del ion  $H^+$  y  $A_p$  es el área de reacción en  $m^2$  que se encuentra dada por la Ec. (46):

$$A_p = \alpha aw \quad (46)$$

Donde  $\alpha$  es la fracción volumen de la xilosa,  $a$  es el área superficial de las partículas obtenida del estudio BET en  $m^2/g$  y  $w$  es la masa del sólido en gramos. Al sustituir la Ecuación 46 en la Ecuación 45 tenemos la Ec. (47):

$$V \frac{dC_{xilosa}}{dt} = k_1' C_{H^+} \alpha aw \quad (47)$$

Integrando la Ec. (47) obtenemos el cambio de la concentración de xilosa a distintos tiempos de reacción  $t$ :

$$C_{xilosa} = C_{xilosa0} + \frac{k_1' C_{H^+} \alpha aw}{V} t \quad (48)$$

Donde  $m$  es la pendiente de la recta de los datos experimentales de la concentración de xilosa en (Mol/L) contra tiempo (min).

$$m = \frac{k_1' C_{H^+} \alpha a w}{V} \quad (49)$$

Una vez, obteniendo  $m$  fue posible calcular las constantes intrínsecas de la formación de xilosa en m/min, mediante la siguiente ecuación:

$$k_1' = \frac{mV}{C_{H^+} \alpha a w} \quad (50)$$

## Curvas de Calibración de Carbohidratos

Las muestras colectadas en las hidrólisis contenían a los carbohidratos xilosa, glucosa y arabinosa. Se realizaron curvas de calibración para cada uno de los productos de la hidrólisis para cuantificar los carbohidratos presentes en la fracción líquida durante el pretratamiento de hidrólisis ácida obtenida a diferentes tiempos de reacción.

Las curvas de calibración se realizaron con estándares de glucosa, xilosa y arabinosa. En un matraz volumétrico de 250 mL se prepararon las soluciones de 1 g/L. Se pesaron 0.25 gramos de estándar reactivo y se aforó a 250 mL. Después se procedió a diluir las soluciones madre para obtener soluciones desde 0.01 hasta 0.7 gramos por litro. Después se procedió a introducir las en el HPLC para ser analizadas y obtener el área de pico para construir una curva de calibración para cada estándar de glucosa, xilosa y arabinosa.

Las condiciones de operación del análisis en HPLC fueron las siguientes:

- Columna: Varian Hi-Plex H

Flujo: 0.6 mL/min

Temperatura de la Columna: 65 °C

- Detector IR

Temperatura de Detector: 35 °C

Rango:  $256 \times 10^{-6}$  RIU/F.S

- Detector UV-Visible

$\lambda = 254$  nm

Tiempo de Análisis de cada muestra: 45 minutos

Los resultados de los análisis de los estándares de calibración para glucosa, xilosa y arabinosa se presentan en las siguientes gráficas.

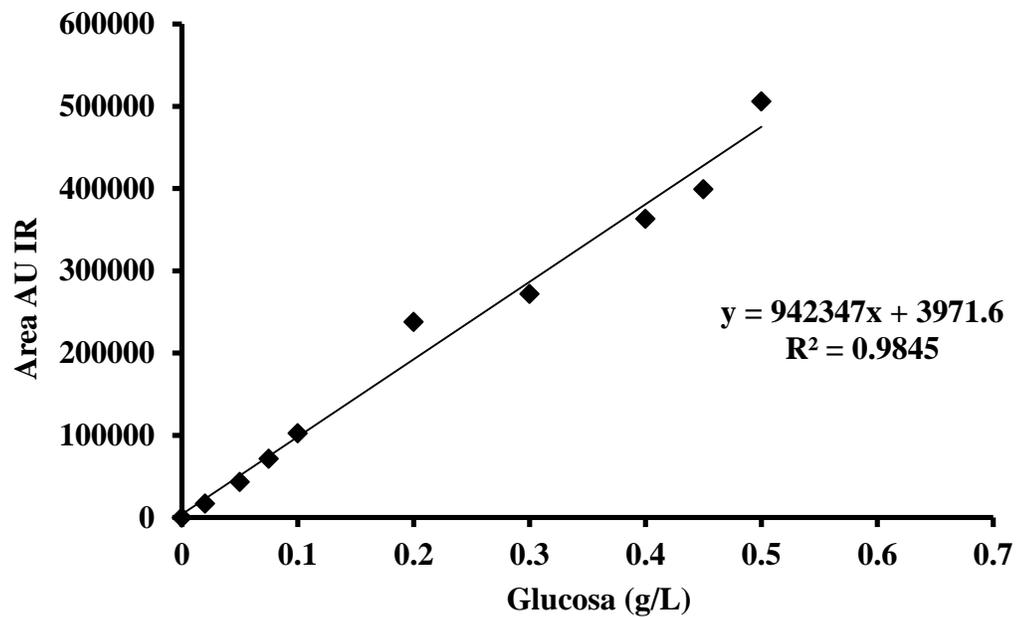


Figura 43. Grafica de la Curva de calibración de Glucosa.

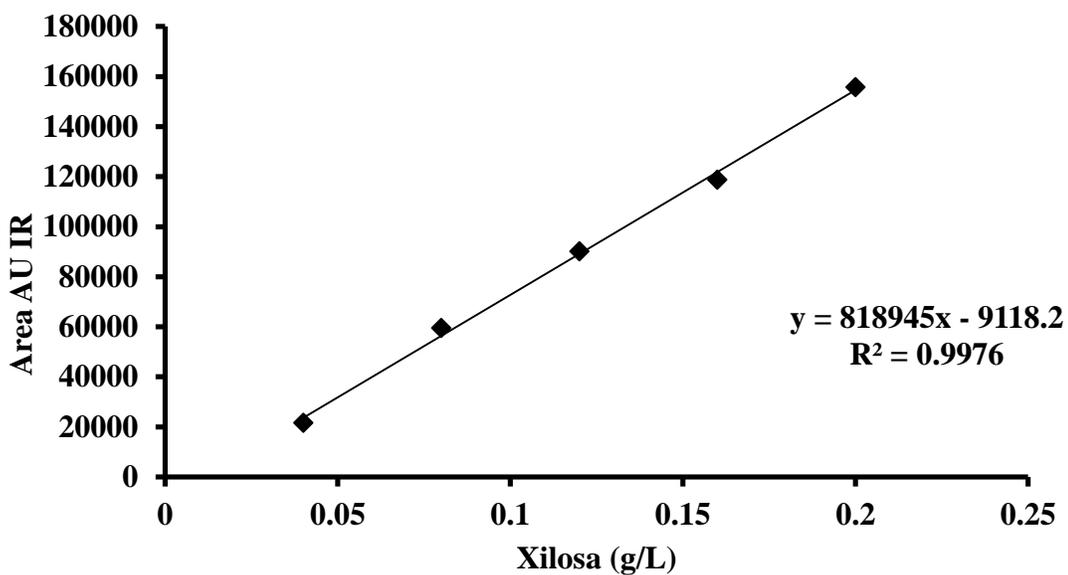


Figura 44. Grafica de la Curva de calibración de Xilosa.

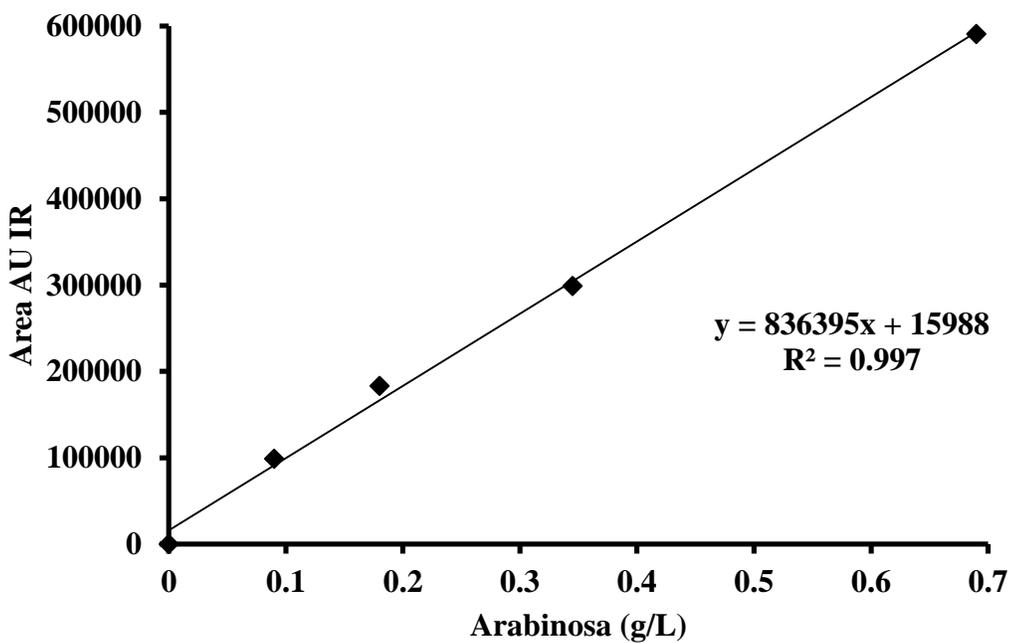


Figura 45. Grafica de la Curva de calibración de Arabinosa.

Los tiempos de retención para glucosa, xilosa y arabinosa fueron 9.7, 10.5 y 11.3 min, respectivamente.

De la misma manera, se procedió a realizar la curva de calibración para nuestro producto de descomposición llamado furfural, esto se logró siguiendo la metodología mencionada anteriormente con las mismas condiciones de análisis en HPLC para las curvas de calibración de carbohidratos. Las curvas de calibración se presentan en el Anexo C. Para fines de ampliar nuestro rango de estudio del furfural se procedió a diluir la solución madre para obtener soluciones desde 0.02 hasta 0.3 gramos por litro.

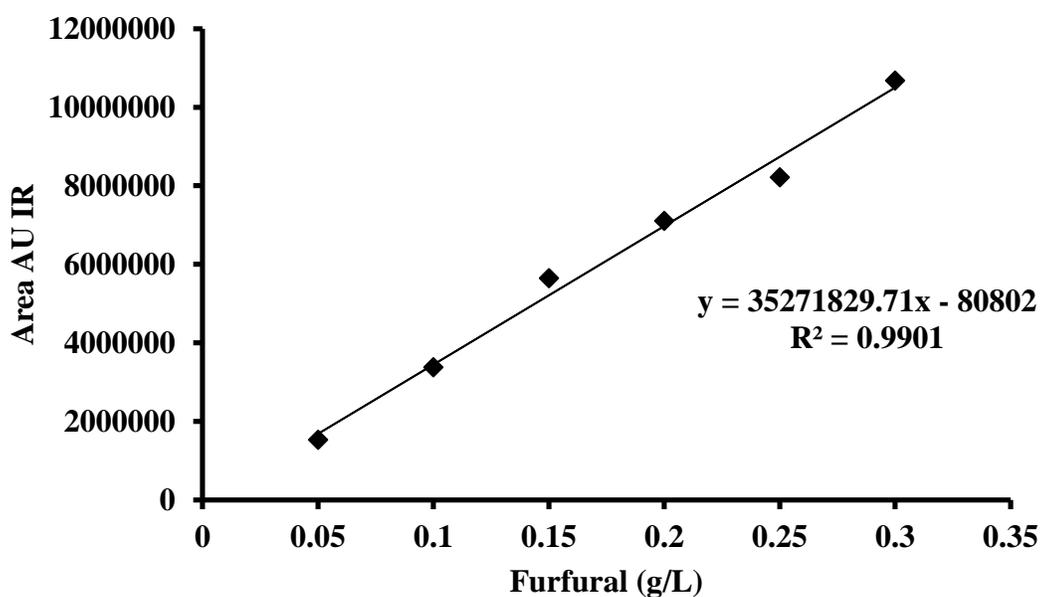


Figura 46. Grafica de la Curva de calibración de Furfural.

El tiempo de retención para el producto de descomposición furfural fue de 42 min.

Una vez obtenidas las curvas de calibración para glucosa, xilosa, arabinosa y furfural, se procedió a realizar los cálculos correspondientes para convertir la concentración de g/L a una concentración de mol/L, esto se realizó dividiendo entre el peso molecular de glucosa, xilosa y arabinosa, respectivamente. Esta conversión de concentración fue realizada para facilitar futuros cálculos.

## Datos Experimentales de Concentraciones de Carbohidratos

Siguiendo el diseño de experimentos se muestran los resultados experimentales en este Anexo de las Tablas 23-31. Se reportan la cuantificación de la degradación de los carbohidratos de xilosa, glucosa, arabinosa. Así mismo se muestran los valores de concentraciones de xilosa, glucosa y arabinosa en la hidrólisis de homopolímeros. Finalmente, se presentan las concentraciones de los carbohidratos xilosa, glucosa y arabinosa en la hidrólisis de hemicelulosa.

### Degradaciones de carbohidratos

Los datos experimentales de las degradaciones de carbohidratos se muestran a continuación:

**Tabla 23.** Degradaciones de xilosa a 120° C.

Tiempo (min)	Xilosa (g/L)		
	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]= 0 M	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]= 0.05 M	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]= 0.15 M
0	0.767	0.711	0.708
10	0.756	0.710	0.566
20	0.744	0.676	0.506
30	0.731	0.599	0.433
40	0.725	0.580	0.376
50	0.710	0.558	0.317
60	0.700	0.537	0.250

**Tabla 24.** Degradaciones de glucosa a 120° C.

Tiempo (min)	Glucosa (g/L)	
	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]= 0 M	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]= 0.05 M
0	1.046	1.144
10	1.045	1.148
20	1.068	1.129
30	1.078	1.080
40	1.068	1.118
50	1.109	1.139
60	1.103	1.021

**Tabla 25.** Degradación de glucosa durante 2 horas a 120° C.

Tiempo (min)	Glucosa (g/L)
	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]= 0.15 M
0	1.071
30	1.046
60	1.067
80	1.072
100	1.085
120	1.065

**Tabla 26.** Degradación de arabinosa durante 2 horas a 120° C.

Tiempo (min)	Arabinosa (g/L)		
	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]= 0 M	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]= 0.05 M	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]= 0.15 M
0	0.548	0.821	0.861
30	0.568	0.689	0.494
60	0.565	0.580	0.301
90	0.532	0.507	0.163
120	0.509	0.395	0.052

## Hidrólisis de homopolímeros

Los datos experimentales de las hidrólisis de los homopolímeros se muestran a continuación:

**Tabla 27.** Hidrólisis de xilán a 120° C.

Tiempo (min)	Xilosa ( $\mu\text{mol/L}$ )		
	$[\text{H}_2\text{SO}_4]= 0 \text{ M}$	$[\text{H}_2\text{SO}_4]= 0.05 \text{ M}$	$[\text{H}_2\text{SO}_4]= 0.15 \text{ M}$
0	0	74.163	293.581
10	0	158.239	490.216
20	0	339.397	517.585
30	0	390.581	545.882
40	0	421.155	539.025
50	0	468.825	519.822
60	0	447.035	504.279

**Tabla 28.** Hidrólisis de glucán a 120° C.

Tiempo (min)	Glucosa ( $\mu\text{mol/L}$ )		
	$[\text{H}_2\text{SO}_4]= 0 \text{ M}$	$[\text{H}_2\text{SO}_4]= 0.05 \text{ M}$	$[\text{H}_2\text{SO}_4]= 0.15 \text{ M}$
0	0	0	0
10	0	0	0.552
20	0	0	52.160
30	0	0	119.363
40	0	4.499	192.690
50	0	35.552	391.047
60	0	52.413	628.931

**Tabla 29.** Hidrólisis de arabinán a 120° C.

Tiempo (min)	Arabinosa ( $\mu\text{mol/L}$ )		
	$[\text{H}_2\text{SO}_4]= 0 \text{ M}$	$[\text{H}_2\text{SO}_4]= 0.05 \text{ M}$	$[\text{H}_2\text{SO}_4]= 0.15 \text{ M}$
0	0	214.580	213.845
10	0	199.992	219.070
20	0	197.195	226.491
30	0	186.709	212.705
40	0	163.256	211.424
50	0	230.047	219.373
60	0	174.567	227.037

### Hidrólisis de hemicelulosa

Los datos experimentales de las hidrólisis de hemicelulosa se muestran a continuación:

**Tabla 30.** Hidrólisis de hemicelulosa:  $[H_2SO_4]= 0.05\text{ M}$ ,  $120^\circ\text{ C}$ .

Tiempo (min)	Carbohidratos ( $\mu\text{mol/L}$ )		
	Xilosa	Glucosa	Arabinosa
0	110.14	0	47.51
10	139.44	0	59.21
20	216.91	0	64.64
30	272.30	$1.39 \times 10^{-3}$	60.17
40	291.58	0.4559	65.88
50	284.35	0.6319	63.79
60	283.58	0.9466	64.23

**Tabla 31.** Hidrólisis de hemicelulosa:  $[H_2SO_4]= 0.15\text{ M}$ ,  $120^\circ\text{ C}$ .

Tiempo (min)	Carbohidratos ( $\mu\text{mol/L}$ )		
	Xilosa	Glucosa	Arabinosa
0	148.03	0	86.09
10	239.41	0	97.92
20	298.41	0	94.20
30	310.55	1.21	88.79
40	307.20	1.40	93.38
50	300.48	14.97	91.99
60	302.12	19.77	92.74

## Pruebas de Hipótesis

En esta sección se muestran las pruebas estadísticas realizadas a las constantes de formación y degradación de carbohidratos. La técnica fue utilizada para determinar con base en datos experimentales cuáles conjeturas son estadísticamente verdaderas.

La prueba de hipótesis consiste en decidir cuál de dos posibles conjeturas sobre la población es verdadera, basándose en la información proporcionada para una muestra aleatoria. Una de las conjeturas se supone verdadera ya sea porque la historia o la experiencia así lo ha establecido o porque así lo indica el modelo que genera los datos. La otra conjetura es la que los datos parecen respaldar. La primera conjetura se denota como hipótesis nula ( $H_0$ ) y la segunda se denota como hipótesis alternativa ( $H_1$ ).

### 1. Efecto del ion hidronio

Se realizaron pruebas de hipótesis sobre las constantes de formación y degradación de carbohidratos con la finalidad de evaluar el efecto de la concentración del ion hidronio en las etapas de degradaciones de carbohidratos, hidrólisis de homopolímeros y hemicelulosa.

Para realizar las pruebas de hipótesis fue realizada una comparación de medias utilizando la distribución t de student en Originlab, Versión 8.0. El nivel de confianza de las pruebas de hipótesis fue del 95 %. Se utilizó el mismo criterio para todas las pruebas de hipótesis.

Hipótesis estadísticas:

$$H_0: k'_1|_{0.05 M} = k'_1|_{0.15 M}$$

$$H_1: k'_1|_{0.05 M} \neq k'_1|_{0.15 M}$$

Carbohidrato	$k_1'$ (m/s)		Resultado de la prueba
	0.05 M	0.15 M	
Xilosa	$2.48 \times 10^{-5}$	$4.14 \times 10^{-5}$	Aceptación de $H_0$
Glucosa	$1.78 \times 10^{-7}$	$4.90 \times 10^{-8}$	Aceptación de $H_0$
Arabinosa	$8.44 \times 10^{-6}$	$3.67 \times 10^{-5}$	Aceptación de $H_0$

Hipótesis estadísticas:

$$H_0: k_1''|_{0.05 M} = k_1''|_{0.15 M}$$

$$H_1: k_1''|_{0.05 M} \neq k_1''|_{0.15 M}$$

Carbohidrato	$k_1''$ (m/s)		Resultado de la prueba
	0.05 M	0.15 M	
Xilosa	$1.43 \times 10^{-5}$	$1.32 \times 10^{-5}$	Aceptación de $H_0$
Glucosa	$2.95 \times 10^{-8}$	$5.95 \times 10^{-8}$	Aceptación de $H_0$
Arabinosa	$1.93 \times 10^{-5}$	$1.20 \times 10^{-5}$	Aceptación de $H_0$

Las constantes de formación de carbohidratos ( $k_1'$  y  $k_1''$ ) para las etapas de hidrólisis de homopolímeros y de hemicelulosa no fueron diferentes significativamente al incrementar

la concentración de ácido. Lo anterior, apoya la hipótesis planteada en el mecanismo desarrollado donde la constante de formación de carbohidratos es la constante intrínseca de reacción. La constante intrínseca no se ve afectada por la concentración del ion hidronio.

Hipótesis estadísticas:

$$H_0: k_d|_{0\text{ M}} = k_d|_{0.05\text{ M}} = k_d|_{0.15\text{ M}}$$

$$H_1: k_d|_{0\text{ M}} \neq k_d|_{0.05\text{ M}} \neq k_d|_{0.15\text{ M}}$$

Carbohidrato	$k_d$ (L/(mol*min))			Resultado de la prueba
	0 M	0.05 M	0.15 M	
Xilosa	$1.20 \times 10^3$	$8.12 \times 10^{-2}$	$7.60 \times 10^{-2}$	Aceptación de $H_1$
Glucosa	0	$2.41 \times 10^{-2}$	$4.82 \times 10^{-3}$	Aceptación de $H_0$
Arabinosa	$2.98 \times 10^2$	$7.79 \times 10^{-2}$	$5.23 \times 10^{-2}$	Aceptación de $H_0$

Hipótesis estadísticas:

$$H_0: k'_d|_{0.05\text{ M}} = k'_d|_{0.15\text{ M}}$$

$$H_1: k'_d|_{0.05\text{ M}} \neq k'_d|_{0.15\text{ M}}$$

Carbohidrato	$k_d'$ (L/(mol*min))		Resultado de la prueba
	0.05 M	0.15 M	
Xilosa	$7.56 \times 10^{-1}$	1.24	Aceptación de $H_0$
Glucosa	0	0	Aceptación de $H_0$
Arabinosa	$4.04 \times 10^{-1}$	1.44	Aceptación de $H_0$

Hipótesis estadísticas:

$$H_0: k_d''|_{0.05 M} = k_d''|_{0.15 M}$$

$$H_1: k_d''|_{0.05 M} \neq k_d''|_{0.15 M}$$

Carbohidrato	$k_d''$ (L/(mol*min))		Resultado de la prueba
	0.05 M	0.15 M	
Xilosa	$6.95 \times 10^{-1}$	$6.74 \times 10^{-1}$	Aceptación de $H_0$
Glucosa	0	0	Aceptación de $H_0$
Arabinosa	2.60	1.12	Aceptación de $H_0$

En las etapas de hidrólisis de homopolímeros y de hemicelulosa, las constantes de degradación de carbohidratos no fueron diferentes significativamente al incrementar la concentración de ácido. En la etapa de degradaciones de carbohidratos, las constantes obtenidas no fueron diferentes significativamente a concentraciones de 0.05 y 0.15 M.

Sin embargo, las constantes de degradaciones con agua pura mostraron una diferencia significativa comparada con las constantes en las que se utilizó ácido.

## 2. Rapidez de formación y degradación

Las pruebas de hipótesis sobre los tres tipos de carbohidratos monitoreados en la experimentación tuvieron la finalidad de evaluar la rapidez de formación y degradación en las etapas de degradaciones de carbohidratos, hidrólisis de homopolímeros y hemicelulosa.

Las pruebas de hipótesis fueron realizadas mediante un análisis de varianza utilizando la distribución F de Snedecor en Originlab, Versión 8.0.

Hipótesis estadísticas:

$$H_0: k'_1|_X = k'_1|_G = k'_1|_A$$

$$H_1: k'_1|_X \neq k'_1|_G \neq k'_1|_A$$

Carbohidrato	$k'_1$ (m/s)		Resultado de la prueba
	0.05 M	0.15 M	
Xilosa	$2.48 \times 10^{-5}$	$4.14 \times 10^{-5}$	
Glucosa	$1.78 \times 10^{-7}$	$4.90 \times 10^{-8}$	Aceptación de $H_1$
Arabinosa	$8.44 \times 10^{-6}$	$3.67 \times 10^{-5}$	

Hipótesis estadísticas:

$$H_0: k'_d|_X = k'_d|_G = k'_d|_A$$

$$H_1: k'_d|_X \neq k'_d|_G \neq k'_d|_A$$

Carbohidrato	$k'_d$ (L/(mol*min))		Resultado de la prueba
	0.05 M	0.15 M	
Xilosa	$7.56 \times 10^{-1}$	1.24	
Glucosa	0	0	Aceptación de $H_1$
Arabinosa	$4.04 \times 10^{-1}$	1.44	

Hipótesis estadísticas:

$$H_0: k''_1|_X = k''_1|_G = k''_1|_A$$

$$H_1: k''_1|_X \neq k''_1|_G \neq k''_1|_A$$

Carbohidrato	$k''_1$ (m/s)		Resultado de la prueba
	0.05 M	0.15 M	
Xilosa	$1.43 \times 10^{-5}$	$1.32 \times 10^{-5}$	
Glucosa	$2.95 \times 10^{-8}$	$5.95 \times 10^{-8}$	Aceptación de $H_1$
Arabinosa	$1.93 \times 10^{-5}$	$1.20 \times 10^{-5}$	

Hipótesis estadísticas:

$$H_0: k_d''|_X = k_d''|_G = k_d''|_A$$

$$H_1: k_d''|_X \neq k_d''|_G \neq k_d''|_A$$

Carbohidrato	$k_d''$ (L/(mol*min))		Resultado de la prueba
	0.05 M	0.15 M	
Xilosa	$6.95 \times 10^{-1}$	$6.74 \times 10^{-1}$	
Glucosa	0	0	Aceptación de $H_1$
Arabinosa	2.60	1.12	

Las constantes de formación de cada carbohidrato fueron significativamente diferentes en las hidrólisis de homopolímeros y hemicelulosa. Lo anterior, apoya la suposición de la hipótesis de la investigación de que cada carbohidrato reacciona a diferente rapidez de reacción. Por lo tanto, se concluye que la rapidez de formación de xilosa, glucosa y arabinosa fue diferente. La formación de cada carbohidrato fue independiente.

Los resultados de las constantes de degradación de cada carbohidrato fueron significativamente diferentes. Cada carbohidrato se degrada a una rapidez de reacción diferente. Los resultados obtenidos eran de esperarse debido a que cada uno de los carbohidratos presenta diferentes productos de degradación.

### 3. Constantes intrínsecas

Por último, fueron realizadas pruebas de hipótesis sobre las constantes de formación y degradación con la finalidad de evaluar si las constantes obtenidas eran las constantes intrínsecas. Las pruebas de hipótesis se realizaron en las 3 etapas de la investigación cuando se utilizó una concentración de ácido de 0.05 y 0.15 M.

Las pruebas de hipótesis fueron realizadas mediante una comparación de medias utilizando la distribución t de student en Originlab, Versión 8.0.

Hipótesis estadísticas:

$$H_0: k'_{1X} = k''_{1X}$$

$$H_1: k'_{1X} \neq k''_{1X}$$

<b>[H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] (M)</b>	<b><i>k</i>'<sub>1X</sub> (m/s)</b>	<b><i>k</i>''<sub>1X</sub> (m/s)</b>	<b>Resultado de la prueba</b>
0.05	2.48 x 10 <sup>-5</sup>	1.43 x 10 <sup>-5</sup>	Aceptación de H <sub>0</sub>
0.15	4.41 x 10 <sup>-5</sup>	1.32 x 10 <sup>-5</sup>	

Hipótesis estadísticas:

$$H_0: k'_{1G} = k''_{1G}$$

$$H_1: k'_{1G} \neq k''_{1G}$$

<b>[H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] (M)</b>	<b><i>k</i><sub>1G'</sub> (m/s)</b>	<b><i>k</i><sub>1G''</sub> (m/s)</b>	<b>Resultado de la prueba</b>
0.05	1.78 x 10 <sup>-7</sup>	2.95 x 10 <sup>-8</sup>	Aceptación de H <sub>0</sub>
0.15	4.90 x 10 <sup>-8</sup>	5.95 x 10 <sup>-8</sup>	

Hipótesis estadísticas:

$$H_0: k'_{1A} = k''_{1A}$$

$$H_1: k'_{1A} \neq k''_{1A}$$

<b>[H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] (M)</b>	<b><i>k</i><sub>1A'</sub> (m/s)</b>	<b><i>k</i><sub>1A''</sub> (m/s)</b>	<b>Resultado de la prueba</b>
0.05	8.44 x 10 <sup>-4</sup>	1.93 x 10 <sup>-5</sup>	Aceptación de H <sub>0</sub>
0.15	3.67 x 10 <sup>-5</sup>	1.20 x 10 <sup>-5</sup>	

Las constantes de formación de carbohidratos en las hidrólisis de homopolímeros y hemicelulosa no fueron significativamente diferentes. Por lo tanto, las constantes de formación son las constantes intrínsecas del mecanismo de hidrólisis de hemicelulosa.

## Artículo Publicado