



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



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

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL PRODUCTIVO DEL AGAVE
TEQUILANA COMO MATERIA PRIMA EN LA PRODUCCIÓN
DE ETANOL COMBUSTIBLE.**

**TESIS presentada por:
I.Q. TANIA MÉNDEZ ROMERO**

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

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN
INGENIERÍA QUÍMICA**

**Asesor: DOCTOR EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA.
AGUSTÍN JAIME CASTRO MONTOYA**

**Coasesor: DOCTOR EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA.
JAIME SAUCEDO LUNA**

Morelia, Michoacán Febrero del 2015

ÍNDICE

Contenido

Índice de figuras.....	i
Índice de tablas.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Generalidades.....	1
1.1.1. Biocombustible.....	2
1.1.2. Bioetanol.....	2
1.2. Planteamiento del problema.....	3
1.3. Justificación de la investigación.....	3
1.4. Hipótesis.....	4
1.5. Objetivos.....	4
1.5.1. Objetivo General.....	4
1.5.2. Objetivos particulares.....	4
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1. Introducción.....	5
2.2. Disponibilidad de biomasa en el mundo.....	5
2.3. Disponibilidad de biomasa en México.....	6
2.4. Esquema general de la producción de etanol.....	7
2.5. Etanol combustible a partir de la caña de azúcar.....	8
2.6. Etanol combustible a partir del maíz.....	9
2.7. Etanol combustible a partir de materiales lignocelulósicos.....	11
2.7.1. Pretratamientos.....	12
2.7.1.1. Pretratamiento físico.....	13
2.7.1.2. Pirólisis.....	13
2.7.1.3. Explosión con vapor.....	13
2.7.1.4. Ozonólisis.....	13
2.7.1.5. Proceso organosolv.....	13
2.7.1.6. Hidrólisis con ácida.....	14
2.7.1.7. Pretratamiento biológico.....	14

2.8.	Hidrólisis	14
2.8.1.	Hidrólisis acida.....	14
2.8.2.	Hidrólisis enzimática.....	15
2.9.	Fermentación.....	15
2.10.	Recuperación y deshidratación de etanol	15
2.11.	Estructura del complejo lignocelulósico	16
2.11.1.	Celulosa, hemicelulosa y lignina.....	16
2.12.	Clasificación de los materiales lignocelulósicos	18
2.13.	Agave	20
2.13.1.	Generalidades del agave	20
2.13.2.	Descripción botánica	21
2.14.	Agave tequilana Weber variedad azul.....	21
2.14.1.	Descripción.....	21
2.14.2.	Análisis estadístico de la producción de agave tequilana a nivel nacional	23
2.14.3.	Potencial del agave tequilana como materia prima para la producción de etanol combustible	27
2.14.4.	Territorio disponible para el cultivo de agave.....	29
2.14.5.	Aprovechamiento de los residuos de la industria tequilera para su uso como bioenergéticos	29
3.	METODOLOGÍA	30
3.1	Caracterización física y química del agave tequilana.....	30
3.1.1.	Determinación del porcentaje de humedad en piñas y hojas del agave tequilana.....	30
3.1.2.	Cuantificación de azúcares reductores	30
3.1.2.1.	Método DNS para cuantificación de azúcares reductores	30
3.1.3.	Determinación individual de azúcares	31
3.1.4.	Composición química de la fibra: Hidrólisis ácida cuantitativa.....	31
3.1.4.1.	Determinación de la lignina	32
3.1.4.2.	Determinación de celulosa y hemicelulosa	32
3.2.	Hidrólisis de la fibra lignocelulósica de agave tequilana hacia azúcares fermentables	33
3.2.1.	Pretratamiento con ácido nítrico de la fibra de agave tequilana.....	33
3.3.	Hidrólisis ácida.....	33
3.4.	Corrida experimental de comprobación en planta piloto	34
3.5.	Efecto de cocción de piñas y hojas en la concentración de azúcares en jugos.....	34
4.	RESULTADOS	35

4.1.	Caracterización física y química del agave tequilana.....	35
4.2.	Balance de materia del proceso.....	35
4.2.1.	Molienda.....	35
4.2.2.	Prensado.....	36
4.3.	Determinación del porcentaje de humedad de las muestras.....	38
4.4.	Determinación de azúcares reductores.....	38
4.5.	Efecto de la cocción.....	38
4.6.	Determinación de azúcares individuales por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).....	40
4.7.	Pretratamiento de la fibra de agave tequilana.....	44
4.7.1.	Azúcares reductores presentes en la fibra de piña de agave tequilana.....	44
4.7.2.	Azúcares reductores presentes en la fibra de hojas de agave tequilana.....	46
4.8.	Hidrólisis ácida cuantitativa.....	46
4.9.	Hidrólisis ácida.....	47
4.9.1.	Hidrólisis ácida de la fibra de piña de agave tequilana a nivel laboratorio.....	47
4.9.2.	Hidrólisis ácida de la fibra de hojas de agave tequilana a nivel laboratorio.....	48
4.10.	Hidrólisis ácida de la fibra de agave tequilana en planta piloto.....	49
4.11.	Discusión de resultados.....	51
4.11.1.	Influencia de la temperatura en la liberación de azúcares reductores.....	51
4.11.2.	Determinación de azúcares individuales mediante HPLC.....	52
4.11.3.	Hidrólisis ácida de la fibra de piña de agave tequilana.....	53
4.11.4.	Hidrólisis ácida de la fibra de hoja de agave tequilana.....	55
4.11.5.	Azúcares fermentables totales presentes en el agave tequilana.....	56
4.11.6.	Rendimiento teórico de producción de etanol a partir de azúcares fermentables provenientes de la planta de agave tequilana.....	57
4.11.7.	Análisis de una muestra de fibra de agave procedente del proceso de elaboración de tequila.....	58
4.11.8.	Aspectos ambientales en la producción de etanol combustible.....	58
5.	CONCLUSIÓN GENERAL.....	59
6.	REFERENCIAS.....	61

Índice de figuras

No.	Título	Página
Figura 1	Distribución del consumo mundial de energía.	1
Figura 2	Reacción de hidratación de etileno	7
Figura 3	Diagrama de bloques de la producción de bioetanol a partir de diferentes materias primas	7
Figura 4	Diagrama general de producción de etanol a partir de maíz	10
Figura 5	Diagrama de bloques del proceso general de la producción de bioetanol 2G	11
Figura 6	Celulosa	16
Figura 7	Ejemplo de un pentosano: Xilana	17
Figura 8	Diagrama de rutas para la obtención de biocombustibles	20
Figura 9	Agave tequilana Weber variedad azul	21
Figura 10	Comparación de superficie sembrada contra superficie cosechada de agave tequilana	23
Figura 11	Volumen de producción de agave tequilana a nivel nacional	24
Figura 12	Datos estadísticos de la producción de agave tequilana en el Estado de Jalisco	24
Figura 13	Datos estadísticos de la producción de agave tequilana en el Estado de Michoacán	25
Figura 14	Datos estadísticos de la producción de agave tequilana en el Estado de Guanajuato	25
Figura 15	Datos estadísticos de la producción de agave tequilana en el Estado de Nayarit	26
Figura 16	Datos estadísticos de la producción de agave tequilana en el Estado de Tamaulipas	26
Figura 17	Volumen de producción total de agave tequilana en la DOT y fuera de la DOT	27
Figura 18	Diagrama de bloques del proceso obtención de jugo y fibra de agave tequilana	35
Figura 19	Molino de 4 aspas utilizado para la molienda de piñas y hojas de agave tequilana	36
Figura 20	Prensa tornillo utilizada para la extracción del jugo de piña y hoja de agave tequilana	37
Figura 21	Porcentaje de fibra y jugo presentes en la piña y hoja de agave tequilana	37
Figura 22	Cromatógrafo de líquidos de alta eficacia (HPLC) empleado para analizar las distintas muestras de agave tequilana.	40
Figura 23	Cromatograma del jugo de piña de agave tequilana	41
Figura 24	Cromatograma de jugo proveniente de la piña cocida de agave tequilana	42
Figura 25	Cromatograma de jugo de hojas de agave tequilana	43
Figura 26	Cromatograma del pretratamiento con HNO ₃ aplicado a la fibra de agave tequilana	45
Figura 27	Distribución de la matriz lignocelulósica de la fibra de piña y hoja de agave tequilana	46
Figura 28	Planta piloto adquirida mediante el convenio SAGARPA-CONACYT para la producción de etanol combustible a partir de agave tequilana	49
Figura 29	Azúcares liberados en la hidrólisis ácida de la fibra de piña a nivel piloto	50
Figura 30	Productos obtenidos después de la hidrólisis ácida a nivel piloto de la fibra de agave tequilana	50
Figura 31	Cantidad de azúcares reductores presentes en los jugos de piña y hoja de agave tequilana	51
Figura 32	Comparación de los cromatogramas de la piña de agave tequilana sin tratamiento (parte superior) y con tratamiento térmico (parte inferior)	52
Figura 33	Comparación de los cromatogramas de la hoja de agave tequilana sin tratamiento (parte superior) y con tratamiento térmico (parte inferior)	53
Figura 34	Diagrama de bloques de la distribución de azúcares fermentables en cada una de las partes del agave tequilana	56

Índice de tablas

No.	Título	Página
Tabla 1	Clasificación de los monosacáridos basado en el número de carbonos	17
Tabla 2	Composición (base seca) de algunos materiales lignocelulósicos	19
Tabla 3	Composición del agave tequilana en por ciento peso	27
Tabla 4	Comparación de la composición de diferentes tipos de biomasa	28
Tabla 5	Factores y niveles	34
Tabla 6	Matriz de experimentación	34
Tabla 7	Balance de materia del proceso de molienda de agave tequilana	35
Tabla 8	Balance de materia del proceso de prensado de agave tequilana	36
Tabla 9	Porcentaje de humedad en la fibra de agave tequilana	38
Tabla 10	Concentración de azúcares reductores en el jugo de hoja y piña de agave tequilana	38
Tabla 11	Concentración de azúcares reductores en la piña de agave tequilana cocida	39
Tabla 12	Concentración de azúcares reductores en el jugo de piña de agave tequilana a diferentes temperaturas	39
Tabla 13	Concentración de azúcares reductores en el sobrenadante del pretratamiento con HNO ₃	44
Tabla 14	Concentración de azúcares reductores en el sobrenadante del pretratamiento con HNO ₃	46
Tabla 15	Resultados de la hidrólisis ácida de la fibra de piña de agave tequilana	47
Tabla 16	Resultados de la hidrólisis ácida de la fibra de hoja de agave tequilana	48
Tabla 17	Obtención de glucosa (g/L) en la hidrólisis de la fibra de piña de agave tequilana	53
Tabla 18	Obtención de xilosa (g/L) en la hidrólisis de la fibra de piña de agave tequilana	54
Tabla 19	Obtención de arabinosa (g/L) en la hidrólisis de la fibra de piña de agave tequilana	54
Tabla 20	Obtención de glucosa (g/L) en la hidrólisis de la fibra de hoja de agave tequilana	55
Tabla 21	Obtención de xilosa (g/L) en la hidrólisis de la fibra de hoja de agave tequilana	55
Tabla 22	Obtención de arabinosa (g/L) en la hidrólisis de la fibra de hoja de agave tequilana	56

RESUMEN

En la actualidad existen diversas formas de obtener combustibles a partir de materias primas no relacionadas a los combustibles fósiles a los que se conoce como biocombustibles, siendo el etanol el de mayor uso ya sea como aditivo de las gasolinas o incluso como combustible puro. Se han utilizado una gran variedad de materias primas para su producción, sobresaliendo la caña de azúcar y el maíz, pero sin duda hay otras que pueden tener un potencial tan alto como éstas entre las que se puede mencionar al agave tequilana Weber variedad azul.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el agave tequilana es una fuente de azúcares fermentables, donde los jugos provenientes de las piñas y hojas cuentan con mayor concentraciones de 292.29 g/L y 77.53 g/L respectivamente. Por otro lado, después de aplicar la hidrólisis ácida en planta piloto a las fibras de piña y hoja se obtuvieron los siguientes resultados: 50.52 g/L de azúcares reductores para la fibra de piña y 10.66 g/L para la fibra de hoja. Las condiciones óptimas de operación para ambas corridas experimentales fueron: 1h, 120 °C y 2% de H₂SO₄ en un reactor de pretratamiento de capacidad de 50 L.

Por lo tanto, una planta de agave tequilana completa tiene un potencial de producir mediante pretratamientos químicos una cantidad total de 431.61 g/L de azúcares fermentables.

Palabras clave: Bioetanol, Agave Tequilana, Hidrólisis Ácida

ABSTRACT

Nowadays there are several ways to obtain fuels from raw materials unrelated to fossil fuels that is known as biofuels, ethanol is the most used biofuel either as gasoline additive or even as pure fuel. There have been used a diversity raw materials for its production , standing out sugarcane and corn, but there are certainly others that may have a potential as high as them among which we can mention the agave tequilana Weber variety ‘azul’.

According to the experimental results, the agave tequilana is a source of fermentable sugars, where the juices from pineapples and leaves have higher concentrations of 292.29 g/L and 77.53 g/L respectively. Furthermore, after applying the pilot scale acid hydrolysis to the pineapple and leaf fibers the following results were obtained: 50.52 g/L of reducing sugars from the pineapple fibers and 10.66 g/L for the leaf fibers. The optimum operating conditions for both experimental runs were: 1h , 120 ° C and 2 % H₂SO₄ in a pretreatment reactor of 50 L of capacity.

Therefore, the whole plant of agave tequilana has the potential to produce, by chemical pretreatments, a total amount of 431.61 g/L fermentable sugars.

Keywords : bioethanol, Agave Tequilana , Acid Hydrolysis.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades

La mayor parte de la energía mundial se genera a partir de fuentes no renovables, según estudios realizados por Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), especialmente petróleo, carbón y gas. Tan sólo el 16.7 % de la energía mundial proviene de fuentes renovables. El resto de las energías renovables son la hídrica, geotérmica, solar, eólica, biomasa y mareomotriz, tal como se muestra en la Figura 1 [1].

Las constantes alzas al precio del petróleo, la dependencia de los países a los combustibles fósiles, las problemáticas sociales que se enfrentan, así como políticas, economías emergentes y la crisis ambiental derivadas de esta situación, han propiciado la búsqueda de nuevas alternativas para satisfacer la demanda de energía.

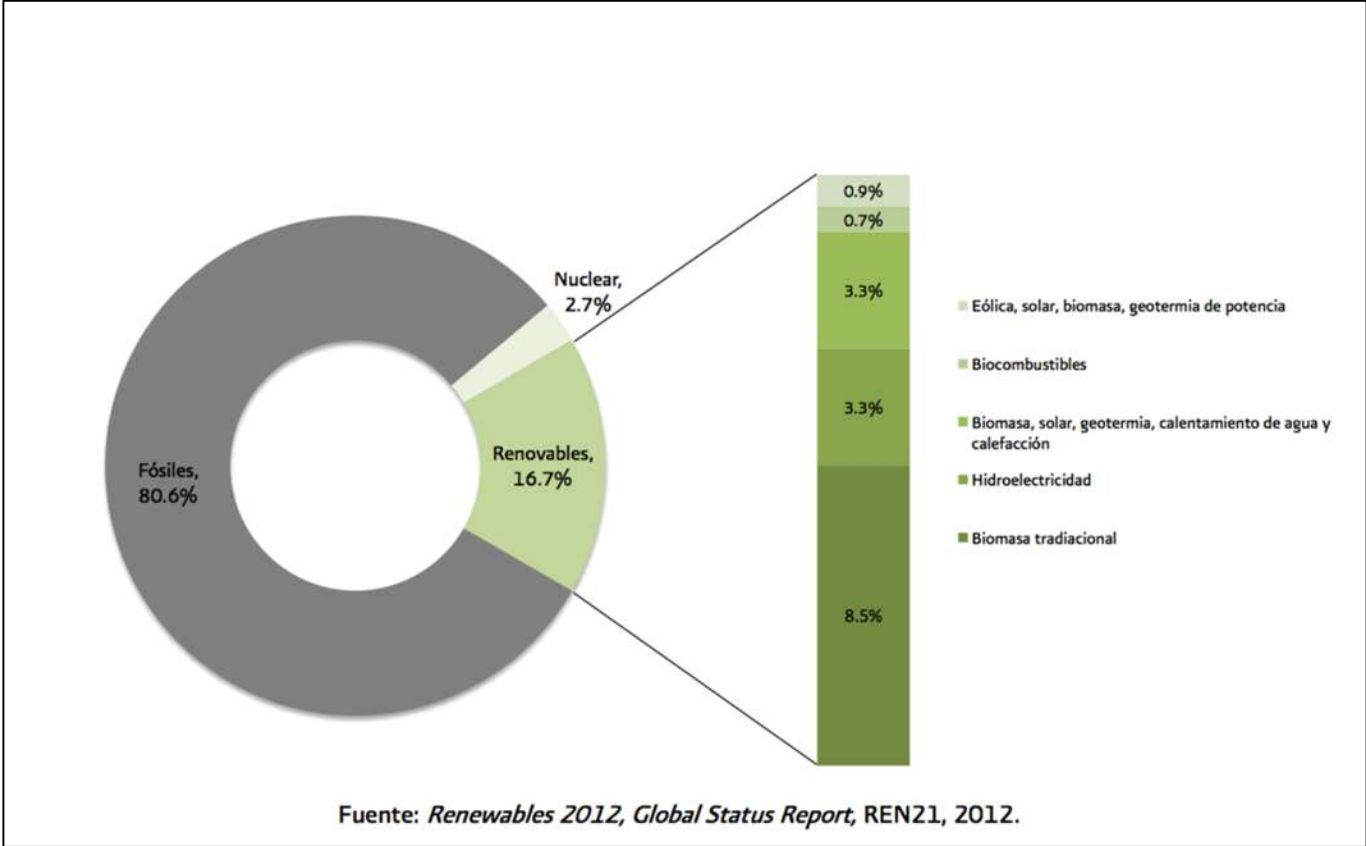


Figura 1. Distribución del consumo mundial de energía.

1.1.1. Biocombustible

Un *biocombustible* es aquel combustible de origen biológico obtenido de manera renovable a partir de restos orgánicos y se clasifican de la siguiente manera:

- *Biocombustibles de primera generación*: Son aquellos combustibles que se obtienen a partir de materias primas de fuentes alimenticias, algunas de estas como maíz, caña de azúcar, soya. Su característica principal es la abundancia de hidratos de carbono en su estructura molecular; la base para la fermentación y posterior obtención de biocombustible.
- *Biocombustibles de segunda generación*: Esta generación de combustibles se basa en materias primas que no son provenientes de cultivos comestibles, en su mayoría son residuos de cultivos, como tallos, cáscaras, hojas, bagazo o pulpa.
- *Biocombustibles de tercera generación*: Son aquellos combustibles provenientes de organismos acuáticos como las microalgas y lirios acuáticos. El cultivo de estos es complicado y caro, así como su recolección, lo cual ha impedido el desarrollo pleno en las investigaciones para producir biocombustible a un nivel industrial.

1.1.2. Bioetanol

El *etanol o bioetanol* es el combustible líquido que se obtiene a partir de biomasa; cultivos comestibles, plantas, residuos lignocelulósicos. La obtención del bioetanol depende de la materia prima que se utilice, lo cual implica tecnologías que pueden ir desde la simple fermentación de los azúcares hasta un proceso multi-etapas para la conversión de material lignocelulósico en etanol [2].

Actualmente, varios países han implementado programas para la producción de etanol combustible o la adición de etanol a la gasolina. De acuerdo a la Asociación de Combustibles Renovables (RFA), la sustitución de la gasolina por bioetanol ayuda a reducir entre un 30 a 50 % las emisiones de dióxido de carbono (CO₂).

La producción de etanol combustible a nivel mundial alcanzó los 51, 000 millones de litros, donde Estados Unidos, Brasil y China son los principales productores. En promedio, 73 % del etanol producido mundialmente corresponde a etanol combustible o bioetanol, 17 % a las bebidas alcohólicas y el 10 % restante al etanol industrial [3].

El etanol combustible puede ser obtenido a partir de *cultivos energéticos* y de biomasa lignocelulósica. La complejidad del proceso de producción depende de la naturaleza de la materia prima a emplear.

1.2. Planteamiento del problema

En la actualidad, la problemática del cambio climático en México y en el mundo ha surgido consigo la necesidad de buscar fuentes de energía ‘limpia’ o renovable. Principalmente, reducir las emisiones de gases de efecto invernadero provenientes de los combustibles fósiles y sus principales afectaciones que esto trae a la vida en el planeta.

La búsqueda de nuevas alternativas para aportar al consumo energético mundial ha derivado en el desarrollo de distintas fuentes de energía que provengan de recursos renovables y así reducir la dependencia con los combustibles fósiles o hidrocarburos.

Si bien es cierto que se han realizado esfuerzos para combatir este problema mediante políticas ambientales, sociales y económicas, es evidente que ha sido insuficiente su contribución. Es por ello que esta investigación pretende dar una solución a nivel piloto a este problema de demanda energética a través del uso de la biomasa y su posterior transformación a biocombustible.

Los biocombustibles y particularmente el bioetanol representan una vía de solución a las necesidades de obtener energía a partir de un recurso renovable, como es el caso del agave tequilana Weber variedad azul, que por sus bondades como cultivo es una opción real para ser utilizado como materia prima en la producción de etanol combustible.

1.3. Justificación de la investigación

México ha presentado iniciativas para introducir el etanol combustible como aditivo de las gasolinas; sin embargo, no se han podido implementar ya que no hay autosuficiencia en la producción de este combustible, por lo que a través de diferentes secretarías de Estado (SENER y SAGARPA) se han definido temas estratégicos transversales convocados públicamente para la presentación de propuestas de desarrollo científico-tecnológico que puedan satisfacer esta demanda. Uno de estos temas transversales son los bioenergéticos dentro del cual se encuadra esta propuesta, ya que se pretende desarrollar tecnología para la producción de bioetanol a partir del aprovechamiento integral del agave tequilana Weber variedad azul.

El estudio y el análisis del agave tequilana Weber variedad azul conllevará a la exploración de una nueva alternativa para la obtención de etanol combustible a partir de una materia prima diferente a las empleadas comúnmente y de dónde se propone dar respuesta a varias interrogantes con respecto a la factibilidad de emplear el agave tequilana, como son:

- Potencial con el que cuenta México para utilizar el agave tequilana como materia prima para la producción de etanol.

- La búsqueda de nuevas alternativas en combustibles que sean rentables y su efecto en el ambiente sea mínimo.
- Impulsar y reactivar la actividad agrícola en el país.
- Obtención de etanol combustible a partir del agave tequilana que resulta una materia prima rica en azúcares fermentables y que puede alcanzar un rendimiento alto en la producción de este combustible a nivel industrial.
- El aprovechamiento de residuos agrícolas provenientes de la industria tequilera como el caso de las hojas o pencas y del bagazo de agave tequilana.

1.4. Hipótesis

Mediante el aprovechamiento integral del agave tequilana weber, jugo y biomasa sólida tanto de piñas como de hojas, se puede desarrollar un proceso técnicamente factible para la producción de bioetanol carburante a nivel planta piloto.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Evaluar el potencial productivo del agave tequilana para su uso integral como materia prima en la producción de etanol combustible a nivel piloto.

1.5.2. Objetivos particulares

- Caracterización física y química del agave tequilana.
- Estudiar la hidrólisis a nivel piloto de la fibra de agave tequilana.
- Calcular el rendimiento teórico de producción de etanol combustible a partir de toda la planta de agave tequilana.

2. ANTECEDENTES

2.1. Introducción

Debido a la demanda creciente de energéticos y a su fuente de abastecimiento, el mundo actualmente se enfrenta a dos problemas muy significativos: el agotamiento de los combustibles fósiles y el impacto ambiental que de su uso se deriva, ya que actualmente, el 88% de la energía global usada proviene de tres combustibles fósiles: petróleo, carbón, y gas natural. Entre ellos el petróleo es el recurso más consumido mundialmente, con alrededor de 4.8 barriles/año/persona, esto a pesar su desigual distribución; en Medio Oriente se encuentra el 63% de las reservas globales, lo que corresponde a solo un 2% de la población mundial, por lo tanto esto coloca a Medio Oriente como el principal proveedor de petróleo. Otro conflicto bastante importante que involucra a los combustibles fósiles son las emisiones de gases de efecto invernadero, con un estimado de que alrededor del 98% de emisiones de carbono resultan de la combustión de combustibles fósiles.

A pesar de los problemas que ha generado el uso de combustibles fósiles, reemplazarlos no es tarea fácil, ya que el modo de vida actual está íntimamente ligado al uso de estos recursos. Por ejemplo, la mayoría de los productos que se utilizan en la actualidad son elaborados a partir del petróleo crudo o del gas natural. Y, además, la gran demanda de energía actual solo puede ser satisfecha a partir de los combustibles fósiles. Debido a esto, la energía renovable ha recibido una atención creciente en los últimos años y se espera que su uso cada día en mayor proporción redundara en beneficios ambientales, sociales y económicos [4].

2.2. Disponibilidad de biomasa en el mundo

Las fuentes de biomasa son muy variadas y abundantes en el mundo, ya que este término normalmente se refiere a la madera, pastos, cultivos, bagazo, residuos de la madera, aserrín, residuos agrícolas, residuos industriales, papel de desecho, residuos municipales sólidos, plantas acuáticas, algas, desechos de animales, y materiales similares con valor energético. Se estima una producción anual de 220 billones de toneladas secas o su equivalente de 4500 EJ (EJ = 10^{18} J), el cual representa alrededor de 8 veces el consumo energético mundial. En general las fuentes de biomasa se pueden clasificar en 2 categorías principales: cultivos agrícolas y desechos. Estas categorías principales a su vez pueden ser subdivididas en: cultivos agrícolas, residuos agrícolas, residuos de la industria del azúcar (bagazo), cultivos forestales, residuos forestales, cultivos energéticos, licor negro, desechos animales, aguas residuales, desechos industriales, residuos sólidos municipales y por supuesto los residuos de la industria del procesamiento de los diferentes agaves para la producción de tequila, mezcal, pulque, etc.

La biomasa como fuente de energía aporta el 14% de la energía mundial. El uso de biomasa es más elevado en África, Asia y Latinoamérica. En las zonas rurales y de bajas condiciones económicas, en donde la biomasa es por lo regular el único recurso disponible y accesible para su empleo en actividades básicas como la cocina y el calentamiento de los hogares, entre otras.

2.3. Disponibilidad de biomasa en México.

La biomasa disponible en México va desde cultivos alimenticios como la caña de azúcar a residuos de las industrias agrícolas, así como otro tipo de cultivos de bajo impacto socioeconómico.

De acuerdo con datos del INER (Inventario Nacional de Energías Renovables), dentro de los cuales se encuentra el *Atlas mexicano de recursos de biomasa para la generación de energía*, en México se encuentran disponibles distintos tipos de biomasa para generar energía: agrícola y forestal, pecuaria, urbana e industrial.

Dentro de estas clasificaciones destacan por su capacidad de generar energía la caña de azúcar (bioetanol), la palma de aceite (biodiesel) y los bosques sustentables.

La energía que se podría producir es cuantificada como energía térmica primaria sin contar las pérdidas en los equipos, entre otros factores que puedan influir en la eficiencia de generación de energía.

De acuerdo a estos datos, hay 278 millones de toneladas de residuos sólidos con un potencial energético de 2980 PJ. El 58% de estos residuos provienen de bosques, un 27% de residuos agrícolas forestales, mientras que el porcentaje restante proviene de otras fuentes no especificadas.

Cada año se generan 52,000 toneladas de cultivos agrícolas, 2379 toneladas de bagazo proveniente de la industria tequilera, 17689 toneladas de residuos de los ingenios azucareros. Todos estos residuos son fuente importante de materia prima para la producción de bioenergéticos.

Los trabajos de investigación previos al uso del agave tequilana como materia prima en la obtención de biocombustibles, señalan la utilización de las hojas como fibras para la fabricación de papel y del bagazo proveniente de la piña como combustible sólido o para el forraje y alimentación de ganado.

2.4. Esquema general de la producción de etanol

Básicamente existen dos rutas para producir etanol: sintética y biológica, aunque en la actualidad la mayor parte de la producción de etanol (93%) es producido por la ruta biológica. Los mayores productores de etanol sintético son empresas multinacionales tales como *Sasol* en Europa y Sudáfrica, *Equistar* en los Estados Unidos de Norteamérica y *SADAF* en Arabia Saudita (4a). En Medio Oriente, dónde se tiene baja producción de materias primas renovables, pero a la vez los mayores gasoductos del mundo y bajos costos de producción de etileno, se vuelve la región más adecuada para la producción de etanol por vía sintética. La producción sintética es llevada a cabo a través de una reacción catalítica de hidratación de etileno en fase vapor tal como se reporta en la ecuación química mostrada en la Figura 2; el etanol producto de este proceso es generalmente usado como solvente y como reactivo químico.

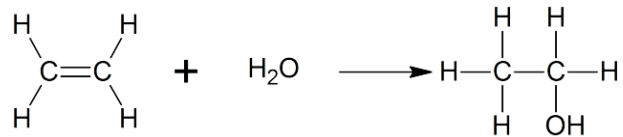


Figura 2. Reacción de hidratación de etileno

Por otro lado, el proceso de producción de etanol a través de la fermentación, comúnmente llamado bioetanol, y que corresponde al 93% de etanol producido en el mundo [5] depende de la materia a usar según se aprecia en la Figura 3.

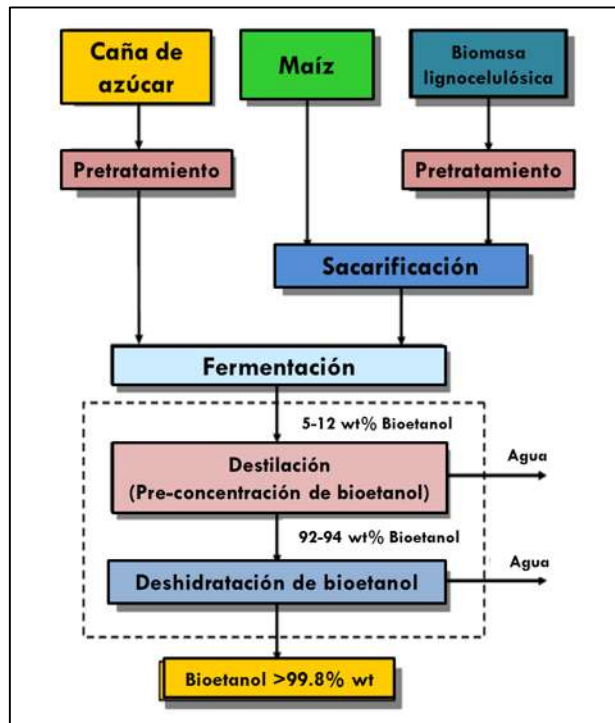


Figura 3. Diagrama de bloques de la producción de bioetanol a partir de diferentes materias primas.

El etanol combustible representa una opción interesante entre la amplia de gama de los biocombustibles que existen actualmente debido a lo siguiente:

- Es una fuente ‘limpia’ de combustible; al ser mezclado con gasolina aumenta el octanaje promoviendo así, una mejor combustión y se reduce la necesidad de incorporar aditivos [6].
- Reduce las emisiones de CO₂ al quemarse con la gasolina [7,8].
- Podría ser utilizable en muchos vehículos [9].
- Es una fuente renovable de energía [10,7].

Las desventajas que posee como combustible son:

- El costo de producción es muy caro, lo cual lo hace poco competitivo comparado con la producción de gasolina [11].
- Para poder utilizar bioetanol como combustible puro se necesita llevar a cabo varias modificaciones dentro del motor [12].

La producción de bioetanol depende del tipo de materia prima:

- Biomasa de primera generación: Cultivos comestibles con altos contenidos de azúcares y ricos en almidón.
- Biomasa de segunda generación: Residuos agrícolas y forestales, cultivos no comestibles.

2.5. Etanol combustible a partir de la caña de azúcar

En Latinoamérica, la caña de azúcar se produce a gran escala y provee la principal materia prima de carbohidratos fermentables para la producción de alcohol. Entre los años 1997 y 1998 Brasil produjo más de 15 millones de m³ de etanol a partir de la caña de azúcar [17]. El cultivo de la caña de azúcar está muy difundido en el continente americano debido a las condiciones climáticas que propician su producción.

En 1975, el gobierno brasileño inició el programa *ProAlcool* a raíz de la crisis del petróleo de la década de 1970, tenía el objetivo de reducir la dependencia del país respecto a los combustibles fósiles. Entre los años de 1973 y 1990 este programa se basó en cuatro conceptos:

- Volumen de compras garantizadas de etanol por parte de Petrobras, la empresa nacional del petróleo.
- Un precio garantizado para el etanol combustible.
- Establecimiento de incentivos a la inversión en nuevos centros de producción.
- Una subvención a la compra de vehículos impulsados por etanol puro.

Las principales modificaciones introducidas en el programa *ProAlcool* a partir de 1999 fueron;

- Sistema de mezcla; adquisición de vehículos impulsados por etanol puro.
- La obligación de añadir a la gasolina una proporción mínima de etanol.
- Un mecanismo de apoyo al almacenamiento del alcohol en fábrica con el fin de estabilizar los precios.

Aproximadamente, hoy en día Brasil cuenta con casi tres millones de vehículos que funcionan exclusivamente con etanol y cerca de 16 millones de vehículos que consumen una mezcla de etanol y gasolina [18].

El 79 % del etanol producido en Brasil se extrae de la caña de azúcar fresca y el porcentaje restante viene de la miel de caña [19].

2.6. Etanol combustible a partir del maíz

En los Estados Unidos, el etanol combustible se produce casi exclusivamente a partir del maíz. El maíz es molido para extraer el almidón, el cual es tratado enzimáticamente para obtener el *jarabe de glucosa*. Posteriormente, este jarabe es fermentado en etanol. En la Figura 4 se muestra un diagrama del proceso general para producir etanol a partir de maíz.

La producción actual de etanol es a partir del almidón del grano. Por cada tonelada de maíz son producidos 372 litros de etanol; es decir, se requieren 2,688 kg de maíz para producir mil litros de bioetanol [20]. La producción mundial de maíz se calcula en 700 millones de toneladas anuales.

El proceso para extraer etanol se puede realizar de dos maneras: a través de la molienda seca o húmeda. La utilización de uno u otro sistema de producción implica la obtención de co-productos [6]. De la molienda seca, se obtienen los granos destilados secos que son un alimento de alta calidad para el ganado. En la molienda húmeda, además del etanol se obtiene: aceite de maíz, harina de gluten que también son utilizados en la alimentación animal.

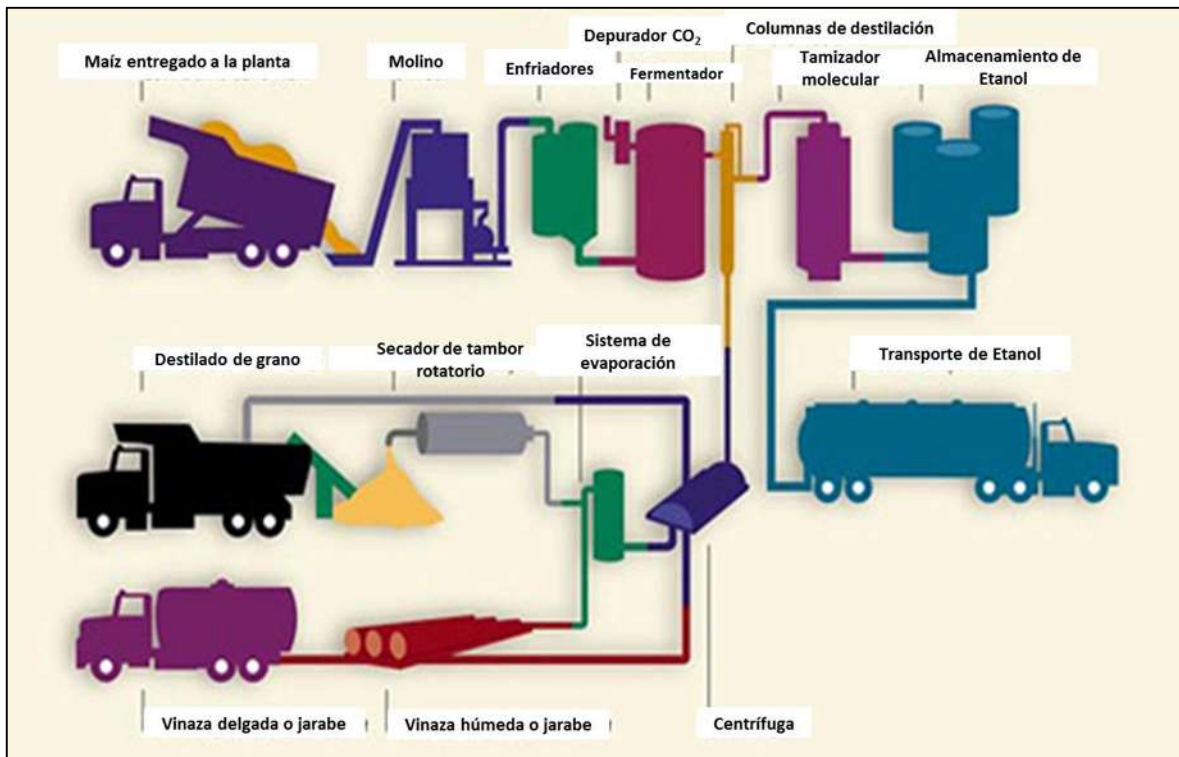


Figura 4. Diagrama general de producción de etanol a partir de maíz.

Molienda seca: La producción de etanol bajo el esquema de molienda seca debe cumplir los siguientes pasos.

- Molienda.
- Licuefacción.
- Sacarificación.
- Fermentación.
- Destilación.
- Deshidratación.
- Co-productos.

Molienda húmeda:

- Almacenamiento y limpieza.
- Maceración del grano de maíz.
- Molienda gruesa u obtención del germen.
- Molienda fina u obtención de fracción fibrosa.
- Separación de gluten y almidón.
- Hidrólisis del almidón.

2.7. Etanol combustible a partir de materiales lignocelulósicos

Los materiales lignocelulósicos son todos aquellos residuos de cultivos como las maderas, cultivos agrícolas, desechos orgánicos, pastos, tallos, hierbas y raíces. Están compuestos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina. La conversión de biomasa lignocelulósica en bioetanol requiere las siguientes etapas:

- Obtención del material lignocelulósico.
- Pretratamiento para separar la hemicelulosa, celulosa y lignina.
- Hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa para la producción de azúcares.
- Fermentación de los azúcares.
- Separación del etanol.

El uso de biomasa lignocelulósica permitirá la producción de biocombustibles, así como la explotación económica de un amplio rango de materias primas que resultan de actividades domésticas, agrícolas e industriales [21].

Para el caso particular de etanol celulósico (2G), el proceso general de producción se presenta en la Figura 5 [13], dónde se observa que antes de la fermentación es necesaria realizar una etapa de pretratamiento para que la hidrólisis enzimática se lleve a cabo de una mejor manera. Para el pretratamiento existen varias alternativas reportadas que se describen a continuación.

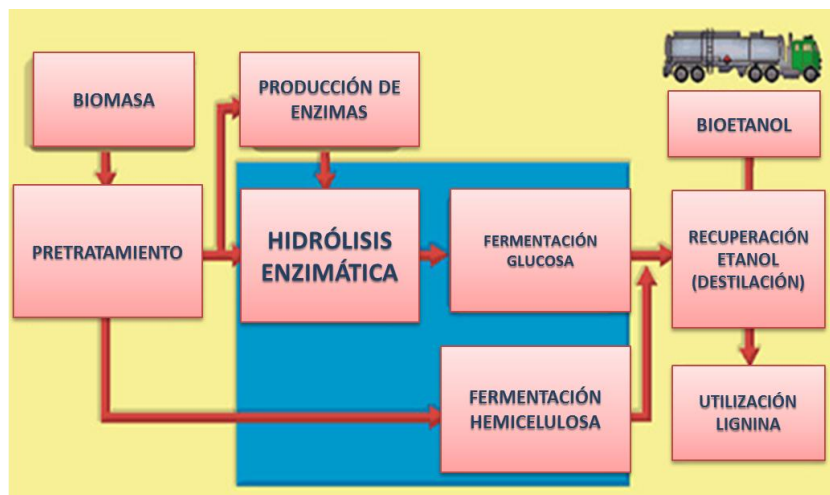


Figura 5. Diagrama de bloques del proceso general de la producción de bioetanol 2G.

2.7.1. Pretratamientos

El principal objetivo de los pretratamientos es romper la matriz lignocelulósica y reducir la proporción de celulosa cristalina de tal manera que las enzimas que hidrolizan la celulosa puedan tener mayor acceso a los polisacáridos y convertirlos en azúcares fermentables [11,14].

Los materiales lignocelulósicos representan la fuente más abundante de azúcares fermentables disponibles en la naturaleza. Sin embargo, para la utilización de estos recursos renovables la materia lignocelulósica debe ser pretratada; es decir, la matriz lignocelulósica debe ser tratada de tal manera que sus azúcares y polisacáridos constituyentes sean susceptibles a la acción de enzimas hidrolíticas y de microorganismos fermentadores.

La complejidad de la estructura lignocelulósica reconoce que la lignina y hemicelulosa forman un sello que cubre al polisacárido con mayor potencial de liberar glucosa, la celulosa. Además, la mayoría de la celulosa presente en la biomasa tiene una estructura cristalina derivada de la alineación longitudinal de sus cadenas lineales. En la celulosa cristalina, las interacciones polisacárido-polisacárido son favorecidas y las interacciones polisacárido-agua son reducidas, de ahí que este biopolímero sea insoluble en agua. Solo una fracción menor de celulosa tiene una estructura amorfa.

Las cadenas de hemicelulosa establecen enlaces de hidrógeno con las microfibras de la celulosa formando una matriz reforzada por la lignina. La presencia de la lignina causa que el complejo lignocelulósico no pueda ser directamente hidrolizado con enzimas.

Debido a lo anterior, factores tales como el grado de cristalinidad de la celulosa, el área superficial disponible (porosidad del material), la protección de la celulosa por la lignina, y el carácter heterogéneo de las partículas de biomasa contribuyen a la renuencia del material lignocelulósico a la hidrólisis.

Por lo tanto, un pretratamiento debe tener los siguientes objetivos:

- Rompimiento de la matriz celulosa-hemicelulosa.
- Reducción del grado de cristalinidad de la celulosa e incrementar la fracción de celulosa amorfa.
- Hidrólisis de la hemicelulosa.
- Liberación y degradación parcial de la lignina.
- Incremento de la porosidad de la biomasa.

Además, el pretratamiento debe contribuir a la formación de azúcares (hexosas y pentosas) a través de la hidrólisis de la hemicelulosa o de la habilidad de formación de glucosa

durante la subsecuente hidrólisis enzimática de la celulosa. El pretratamiento debe evitar la formación de subproductos inhibidores de los bioprocesos consecutivos.

Se han desarrollado diversos métodos de pretratamiento de biomasa lignocelulósica, los cuales pueden ser físicos, químicos, físico-químicos o biológicos.

2.7.1.1. Pretratamiento físico

Los materiales lignocelulósicos pueden ser reducidos por medio de métodos de corte y molienda para reducir la cristalinidad de la celulosa. Esta reducción permite a las celulasas acceder a la superficie del material para incrementar la conversión de celulosa en glucosa. Sin embargo, la energía requerida para estos procesos mecánicos depende del tamaño de partícula deseado y de las características de la biomasa.

2.7.1.2. Pirólisis

Este método utiliza altas temperaturas (mayores a 300°C), cuyo fin es descomponer la celulosa. Los residuos de la pirolisis pueden someterse a hidrólisis suave para producir valores mayores de recuperación de glucosa.

2.7.1.3. Explosión con vapor

Es el método más utilizado en el pretratamiento de material lignocelulósico. La biomasa se trata a altas presiones de vapor saturado y posteriormente la presión es reducida súbitamente lo que somete al material a una descomposición explosiva. El proceso causa la degradación de la hemicelulosa y lignina, y aumenta el potencial de hidrolizar la celulosa.

2.7.1.4. Ozonólisis

El ozono se utiliza para la degradación de la hemicelulosa y lignina. Las condiciones de uso son ozono, temperatura y presión ambientales. Remueve efectivamente la lignina pero requiere una gran cantidad de ozono lo cual aumenta los costos del proceso.

2.7.1.5. Proceso organosolv

Un solvente orgánico es mezclado con ácidos inorgánicos (HCl y H₂SO₄) y se usa para romper la pared de lignina y los enlaces de hemicelulosa. Generalmente, se obtienen altos rendimientos de producción de xilosa. Algunos de los solventes empleados son: metanol, acetona, etilenglicol.

2.7.1.6. Hidrólisis con ácida

La hidrólisis con ácido, diluido o concentrado, usa HCl o H₂SO₄ a diferentes concentraciones y temperaturas. Si es con ácido concentrado el proceso resulta tóxico, corrosivo y peligroso por lo que es necesario reactores que sean resistentes a la corrosión.

2.7.1.7. Pretratamiento biológico

En este tipo de pretratamientos generalmente se emplean microorganismos como hongos de pudrición y enzimas degradadoras de lignina. Son procesos caros y con tiempos de residencia muy largos. Sin embargo, tienen bajos requerimientos de energía y condiciones no tan agresivas como otros métodos.

Los pretratamientos se usarán acorde al tipo de materia prima que se vaya a emplear y la estrategia debe basarse en el costo-efectividad para la producción de etanol combustible.

2.8. Hidrólisis

Después de un pretratamiento adecuado a la biomasa que será utilizada para la producción de bioetanol, será necesaria una etapa de hidrólisis. El objetivo principal de la hidrólisis es 'liberar' los monosacáridos de la parte lignocelulósica (polisacáridos) y degradarlos a azúcares que puedan ser fermentables (pentosas y hexosas) [16].

Existen dos tipos principales de hidrólisis: la hidrólisis ácida y la hidrólisis enzimática.

2.8.1. Hidrólisis ácida

La mayoría de las tecnologías de hidrólisis ácida diluida emplean un pretratamiento bajo condiciones moderadas de temperatura (90 °C-160 °C) para liberar las pentosas. En la segunda etapa, las temperaturas son elevadas a 200-240°C para facilitar la hidrólisis de la celulosa y recuperar los azúcares de seis carbonos.

En la hidrólisis ácida concentrada involucra un pretratamiento con ácido (diluido o concentrado) para liberar los azúcares de la hemicelulosa, posteriormente se seca la biomasa y se agrega ácido sulfúrico concentrado (70-90%). El ácido concentrado degrada a la celulosa rápidamente hacia glucosa. Este procedimiento toma aproximadamente de 10-12 horas de duración. El mayor problema de este tipo de proceso es el costo de recuperación del ácido concentrado.

Los dos procesos involucran distintas variables como son la concentración de ácido, la relación sólido/líquido, temperatura y tiempo de la reacción, entre otros. La elección de uno

u otro dependerá tanto del tipo de materia prima a procesar, así como las tecnologías disponibles para este tipo de procesos.

2.8.2. Hidrólisis enzimática

Antes de realizar la hidrólisis enzimática primero se emplea un pretratamiento para hidrolizar la hemicelulosa y hacer más digestible la celulosa. Posteriormente, se usan enzimas celulasa para hidrolizar selectivamente la celulosa a glucosa lo cual ocurre a temperaturas que van desde los 30 °C hasta los 70 °C. Las *celulasas* pueden ser obtenidas de una gran variedad de microorganismos.

La *celulasa* es una mezcla de diferentes enzimas, cada una de ellas con rol distinto en la hidrólisis de la celulosa.

En algunos procesos de obtención de biocombustibles, se lleva a cabo una etapa de hidrólisis ácida diluida y después el hidrolizado se prepara para la etapa de hidrólisis enzimática. Lo anterior se efectúa con la intención de garantizar la máxima disponibilidad de azúcares fermentables en la siguiente etapa.

2.9. Fermentación

La etapa de fermentación es aquella que transforma las materias primas pretratadas en alcohol etílico a través de bioagentes tales como levaduras o algunos otros microorganismos productores de etanol. A pesar de que la fermentación alcohólica es uno de los procesos biológicos más estudiados, la necesidad de incrementar la eficiencia de producción de etanol ha llevado al desarrollo de nuevos métodos de fermentación.

El microorganismo más usado en la fermentación alcohólica es la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, pero no tiene la capacidad de fermentar las pentosas [2].

2.10. Recuperación y deshidratación de etanol

El etanol contenido en el fermentado puede separarse por distintos métodos de destilación; sin embargo, es necesario alcanzar un porcentaje de pureza del 99% para que éste sea empleado como combustible. La presencia de agua en el etanol combustible puede conllevar a fallas en el motor durante la combustión, de ahí la importancia de obtener etanol anhidro.

La primera etapa de la recuperación de etanol es la concentración del alcohol contenido en los fermentados. Este proceso puede llevarse a cabo en columnas de destilación convencionales, donde se puede llegar a una concentración del 50% de etanol. El siguiente paso es llevar esta corriente concentrada a una composición cerca del punto azeotrópico del etanol y agua.

Generalmente, se requieren dos columnas de destilación para alcanzar hasta un 90% o 92% de concentración de etanol. Las concentraciones mayores al 95.6% necesitan de tecnologías de destilación no convencionales que sean capaces de romper el azeótropo formado por el agua y el etanol [2].

2.11. Estructura del complejo lignocelulósico

Los principales compuestos de que conforman al complejo lignocelulósico, celulosa, hemicelulosa y lignina, deben ser sometidos a complejos pretratamientos y a hidrólisis para transformar los polímeros de carbohidratos en azúcares fermentables.

2.11.1. Celulosa, hemicelulosa y lignina

La celulosa forma parte de la pared celular y consiste en una unión de β -glucosa mediante enlaces β -1,4-O-glucosídicos. Puede ser considerado que la celulosa es un polímero lineal compuesto de monómeros de celobiosa. Debido a su estructura lineal y a las interacciones entre los enlaces de hidrógeno y los grupos OH de una misma cadena o de diferentes cadenas, las moléculas de celulosa están orientadas de manera que forman estructuras cristalinas [11].

Estas estructuras cristalinas permiten que las cadenas de celulosa formen microfibras rígidas y difíciles de romper. Por lo general, la celulosa representa de un 40% a un 60% de materia seca en la biomasa lignocelulósica [14]. Al aplicar hidrólisis, la celulosa se puede descomponer en glucosa.

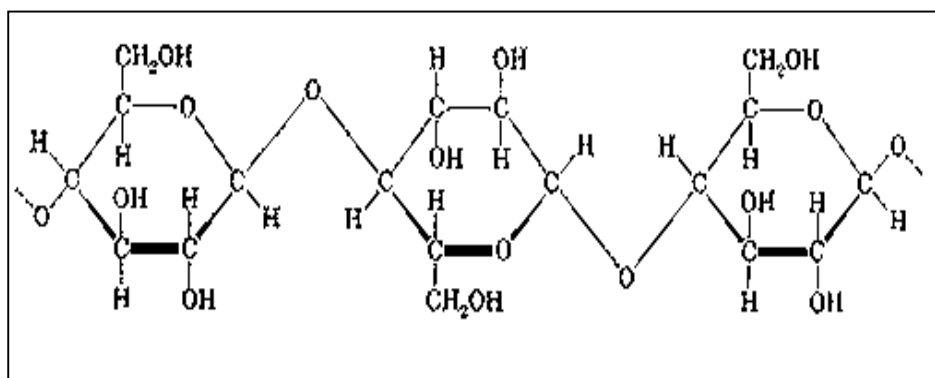


Figura 6. Celulosa

Su fórmula empírica es $(C_6H_{10}O_5)_n$ y con un valor de $n=200$.

Por otra parte, las *hemicelulosas* son heteropolisacáridos; es decir, polisacáridos compuestos por más de un tipo de azúcar, fundamentalmente xilosa, arabinosa, galactosa, manosa, fructosa y glucosa. La hemicelulosa puede ser clasificada en pentosanos y

hexosanos. Los pentosanos están constituidos por aldopentosas (monosacáridos de 5 átomos de carbono) y los hexosanos están formados por aldohexosas (monosacáridos de 6 átomos de carbono) [11].

Las hemicelulosas conforman de un 20% a un 40% del material lignocelulósico. Considerando su estructura ramificada, la hemicelulosa no forma estructuras cristalinas, en cambio forma estructuras amorfas. Debido a esto, este polímero tiene mayor solubilidad en agua y tiene una susceptibilidad muy alta a ser hidrolizado [14].

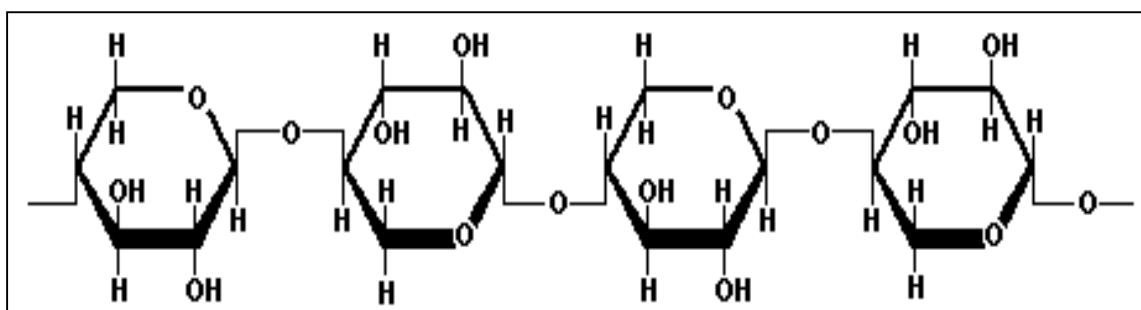


Figura 7. Ejemplo de un pentosano: Xilana

Tabla 1. Clasificación de los monosacáridos basado en el número de carbonos.

Fuente: [15]

No. de carbonos	Categoría	Ejemplos
4	Tetrosa	Eritrosa, Treosa
5	Pentosa	Arabinosa, Ribosa, Ribulosa, Xilosa, Xilulosa, Lixosa
6	Hexosa	Alosa, Altrosa, Fructosa, Galactosa, Glucosa, Gulosa, Idosa, Manosa, Sorbosa, Talosa, Tagatosa
7	Heptosa	Seudoheptulosa, Manoheptulosa

La lignina comprende desde un 10% hasta un 25% de la biomasa lignocelulósica. Este componente es un polímero fenólico muy complejo compuesto de unidades de fenilpropano unidos por enlaces C-C y C-O-C que forman una estructura amorfa tridimensional. Las unidades estructurales de la lignina son las cinamil alcohol, las cuales son diferenciadas por las varias sustituciones del anillo aromático. Así, las unidades de p-hidroxifenil son derivadas del alcohol p-cumarílico, las unidades de guayacilo son derivadas del alcohol coniferílico, y las unidades de siringilo son derivadas del alcohol sinapílico. La lignina tiene un carácter hidrofóbico y su principal función es actuar como cementante en la pared celular del material [14].

2.12. Clasificación de los materiales lignocelulósicos

Dependiendo de su origen, los materiales lignocelulósicos pueden ser clasificados en siete grandes grupos:

1. Residuos agrícolas.
2. Residuos agro-industriales.
3. Maderas duras.
4. Maderas suaves.
5. Biomasa herbácea.
6. Desperdicios celulósicos.
7. Desperdicios sólidos municipales.

Los residuos agrícolas comprenden materiales lignocelulósicos derivados del cultivo y la cosecha de especies de plantas con importancia económica.

Los residuos agro-industriales se refieren a subproductos y desperdicios generados durante la transformación comercial de cultivos agrícolas.

Los materiales que tienen origen en la madera dura no solo es en si la madera, sino también sus derivados como el aserrín, virutas, y la biomasa recolectada que resulta de las actividades forestales, como ramas, tallos y piezas de tronco.

Por otro lado, las maderas suaves comprenden maderas provenientes de coníferas; tales como, pino, abeto, cedro, entre otros.

La biomasa herbácea se refiere a los materiales provenientes de plantas, es decir, aquellas plantas que no generan madera. Los pastos son plantas y quizás el más empleado como materia prima es el denominado *switchgrass* que crece en Norte América.

Entre los desperdicios lignocelulósicos se tienen los residuos provenientes de la industria papelera, los cuales tienen un elevado contenido de celulosa comparados a otros tipos de biomasa lignocelulósica.

La composición de la biomasa lignocelulósica depende de su origen, sin embargo, se pueden observar algunas similitudes independientemente del grupo al que pertenezcan los materiales.

Tabla 2. Composición (base seca) de algunos materiales lignocelulósicos

Materiales	% Celulosa	% Hemicelulosas	% Lignina
Bagazo de caña de azúcar	50	25	25
Maderas duras	40-55	24-40	18-25
Maderas suaves	45-50	25-35	25-35
Cáscaras	25-30	25-30	30-40
Mazorcas de maíz	45	35	15
Pastos	25-40	35-50	10-30
Papel	85-99	0	0-15
Paja de trigo	30	50	15
Basura seleccionada	60	20	20
Hojas	15-20	80-85	0
Fibras de semillas de algodón	80-95	5-20	0
Papel periódico	40-55	25-40	18-30
Residuos de papel (pulpas químicas)	60-70	10-20	5-10
Sólidos de aguas residuales primarias	8-15	-	24-29
Pasto de Bermuda	25	35.7	6.4
<i>Switchgrass</i>	45	31.4	12
Racimos de fruta vacíos de la palma de aceite	15.47	11.73	7.14
Fibra de palma	24	14.40	12.60

Existen diversas tecnologías disponibles para la obtención de biocombustibles a partir de materiales lignocelulósicos, tal y como se muestran en la Figura 8.

La ruta tecnológica a seleccionar dependerá de diversos factores entre los que destaca el tipo de materia prima a procesar y su composición como material lignocelulósico; así como también de factores económicos, sociales y ambientales a considerar para que el proceso sea sustentable.

En el caso de los materiales lignocelulósicos los pretratamientos más utilizados en la industria de los biocombustibles son los químicos, seguidos por una hidrólisis ácida para después fermentar los hidrolizados y finalmente obtener el etanol carburante.

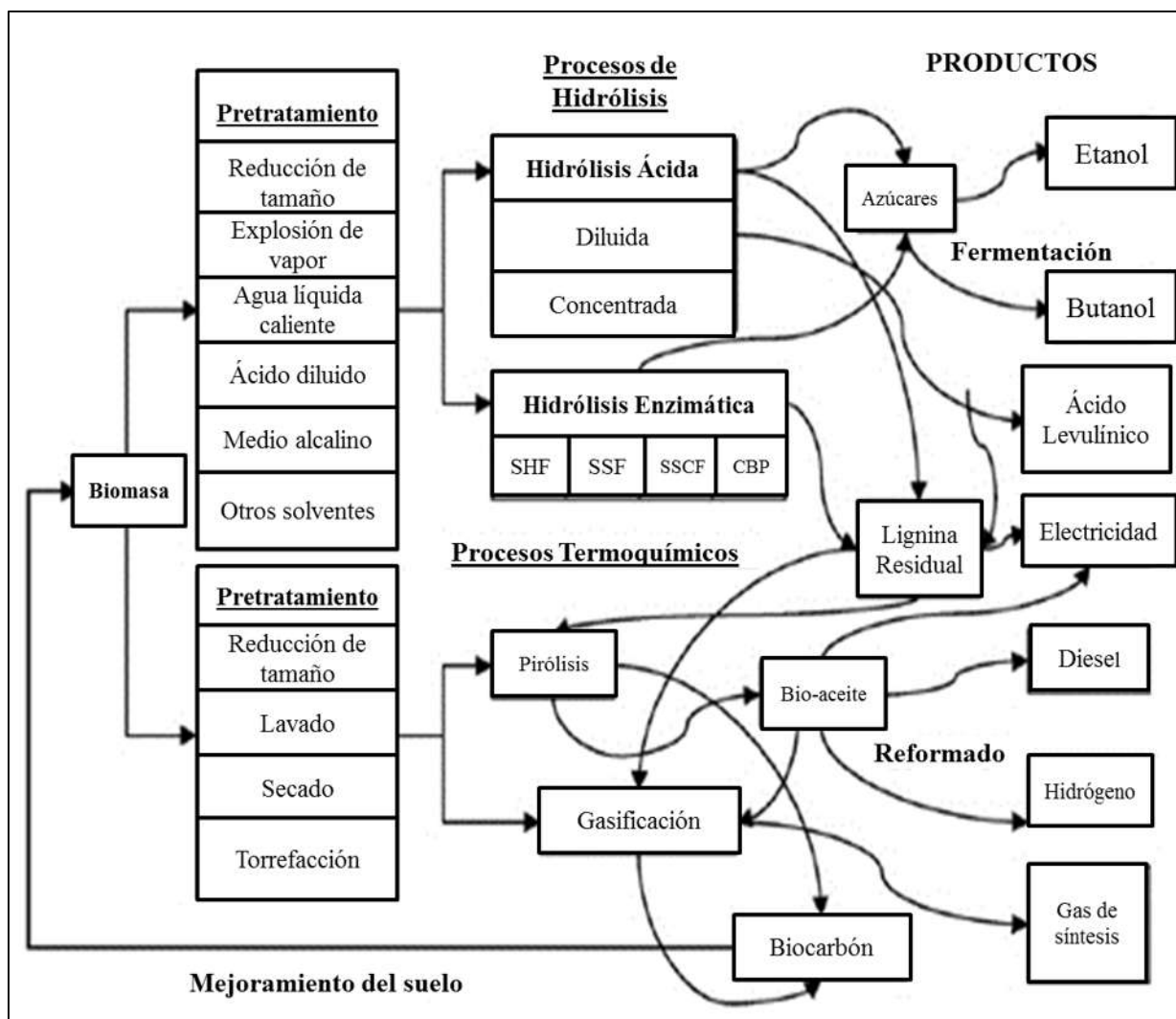


Figura 8. Diagrama de rutas para la obtención de biocombustibles.
Fuente: Tomado de [17].

2.13. Agave

2.13.1. Generalidades del agave

En la época prehispánica el agave era considerada una planta sagrada. En algunos códices prehispánicos como el Tonalmatl Náhuatl hacen referencia al agave como “tira de peregrinación Azteca”. Otros códices como el Nutall, Laud, Florentino y Mendocino relatan cómo los grupos indígenas hallaron diferentes usos para el agave: alimento, hilos, agujas para coser, calzado, techos para casas, clavos, armas de guerra, papel. Mientras que los mexicas aprendieron a cocer las piñas del agave. En la época de la conquista, algunos

grupos indígenas elaboraron aguardiente a partir de la planta de agave, mismo que bebían en ceremonias religiosas y fiestas.

2.13.2. Descripción botánica

El agave pertenece a la familia botánica denominada *Agavaceae*. Es una planta suculenta, de hojas gruesas y carnosas que forman una roseta, dichas hojas terminan en una afilada punta en el ápice. El género agave tiene una gran variedad de aplicaciones, desde propósitos alimenticios hasta medicinales, usos religiosos, textiles, construcción e incluso usos ornamentales, aunque principalmente se ha usado para la producción de bebidas alcohólicas, siendo el tequila y el mezcal las bebidas más importantes a nivel nacional e incluso internacional.

2.14. Agave tequilana Weber variedad azul

2.14.1. Descripción

El *agave tequilana* pertenece al grupo de las agaváceas, es una planta suculenta monocárpica que florece una sola vez en su vida y después muere. La planta produce un tallo floral de unos metros de altura, con numerosas *umbelas* de flores verdosas y tubulares verticales. En 1902, Weber describió el *agave tequilana* el cual se extiende en México y Centroamérica.



Figura 9. Agave tequilana Weber variedad azul.

Descripción: Su tallo es grueso, corto de 30 a 50 centímetros de altura al madurar. Se extiende radialmente de 1.2 a 1.8 metros de longitud. Las hojas de 90 a 120 cm lanceoladas, acuminadas de fibras firmes, casi rígidamente estiradas, cóncavas de ascendentes a horizontales; lo más ancho se encuentra hacia el centro de la hoja, angosta y gruesa hacia la base, de color azulado a verde grisáceo tal como se muestra en la Figura 9.

Tipo de suelo: Arcilloso, permeable y abundante. Abundancia en hierro y preferentemente un suelo volcánico. La planta debe de estar completamente expuesta al sol y es afectada por los días nublados, por lo que no debe de haber más de 100 días nublados al año y lo ideal es que sean solo 65 días.

Requerimientos de agua: El *agave tequilana* no requiere grandes cantidades de agua debido a su proceso de fotosíntesis CAM (Crassulacean Acid Metabolism), el cual es una adaptación de la planta que le permite fijar el carbono en condiciones áridas. Las *estomas* de la planta se mantienen cerradas durante el día lo cual reduce la *evapotranspiración* y se abren durante la noche para recolectar el CO₂, el cual se almacena y se usa durante el día [22].

En la fotosíntesis tipo CAM, las células verdes asimilan el CO₂ durante la noche usando la enzima *PEPcase*. Se forma un compuesto de cuatro carbonos, *malato*, el cual se almacena en vacuolas como ácido málico. Durante el día, las estomas se cierran y el ácido se descarboxila para producir CO₂ y un subproducto de 3 carbonos. El CO₂ es reasimilado usando el 1,5-ribulosabifosfato y es convertido en azúcares de 3 carbonos que, con el subproducto de 3 carbonos (consecuencia de la descarboxilación) son convertidos en carbohidratos solubles o insolubles [24].

Clima: El *agave tequilana* se cultiva en climas semisecos. Generalmente, requieren una temperatura aproximada de 22 °C y se cultivan a una altitud de 1500 y 2000 msnm.

Siembra y cosecha: Por hectárea se cultivan aproximadamente entre 6200 y 7400 plantas de agave tequilana y en algunos casos debido al espacio que ocupa la planta solo se tienen 1852 plantas por ha. Las 'piñas' del agave tequilana son cosechadas después de 5 a 7 años de maduración. Las hojas son generalmente abandonadas en el campo para aportar nutrientes a la tierra o también pueden ser utilizadas como fibra para elaborar papel, geotextiles, artesanías, entre otros.

2.14.2. Análisis estadístico de la producción de agave tequilana a nivel nacional

De acuerdo con el Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON) [24] se analizan los siguientes datos estadísticos de la producción de agave tequilana en el país, principalmente en la zona de denominación de origen de tequila (DOT), así como también se presentan gráficas sobre la cosecha de agave en cada uno de los estados que comprende la DOT a partir del año 2004 al 2011.

La denominación de origen tequila (DOT) comprende 5 estados de la República Mexicana: en el Estado de Jalisco; en el Estado de Guanajuato, los municipios de Abasolo, Ciudad Manuel Doblado, Cuerámara, Huanímara, Pénjamo, Purísima del Rincón y Romita; en el Estado de Michoacán, los municipios de Briseñas de Matamoros, Chavinda, Chilchota, Churintzio, Cotija, Ecuandureo, Jacona, Jiquilpan, Maravatío, Nuevo Parangaricutiro, Numarán, Pajacuarán, Peribán, La Piedad, Régules, Los Reyes, Sahuayo, Tancítaro, Tangamandapio, Tangancícuaro, Tanhuato, Tingüindín, Tocumbo, Venustiano Carranza, Villamar, Vistahermosa, Yurécuaro, Zamora y Zináparo; en el Estado de Nayarit, los municipios de Ahuacatlán, Amatlán de Cañas, Ixtlán, Jala, Xalisco, San Pedro de Lagunillas, Santa María del Oro y Tepic; en el Estado de Tamaulipas, los municipios de Aldama, Altamira, Antiguo de Morelos, Gómez Farías, González, Llera, Mante, Nuevo Morelos, Ocampo, Tula y Xicoténcatl.

Del año 2001 al año 2011 se obtuvo una producción anual promedio de 875,936 toneladas de agave tequilero a nivel nacional. La Figura 10 proporciona información acerca de la superficie sembrada y de la superficie cosechada. En la Figura 11 se reporta la producción anual.

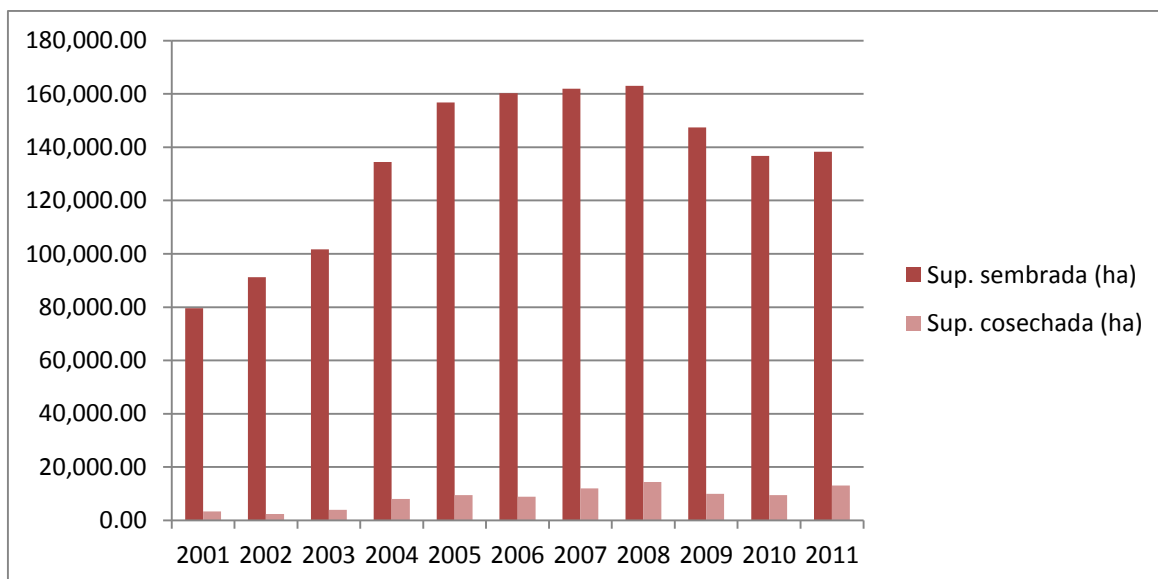


Figura 10. Comparación de superficie sembrada contra superficie cosechada de agave tequilana.

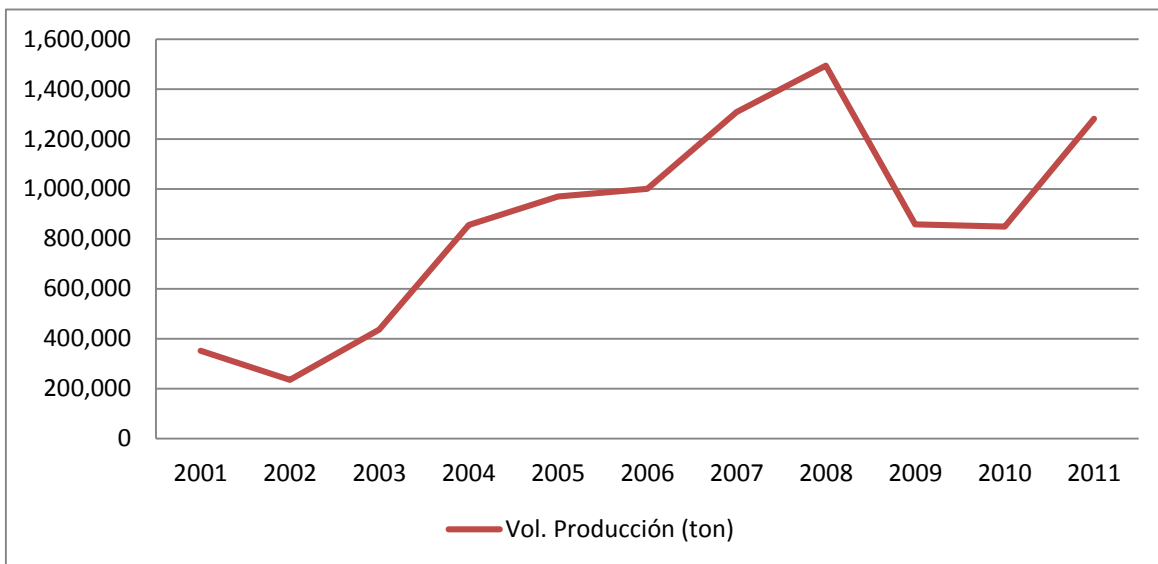


Figura 11. Volumen de producción de agave tequilana a nivel nacional. Fuente: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).

Para el Estado de Jalisco la Figura 12 muestra el volumen de producción (ton.) desde el año 2004 al año 2011.

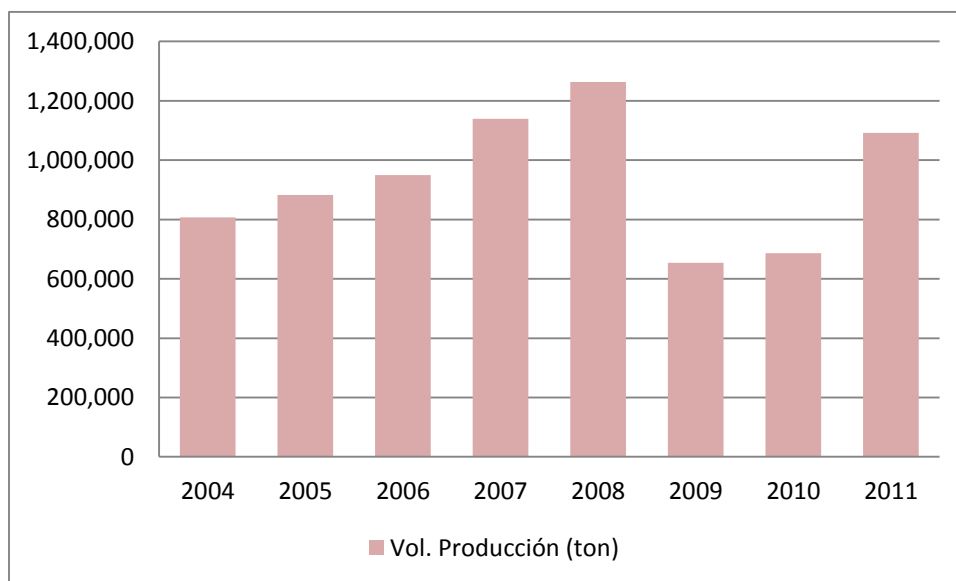


Figura 12. Datos estadísticos de la producción de agave tequilana en el Estado de Jalisco.

De manera similar para los Estados de Michoacán, Guanajuato, Nayarit y Tamaulipas.

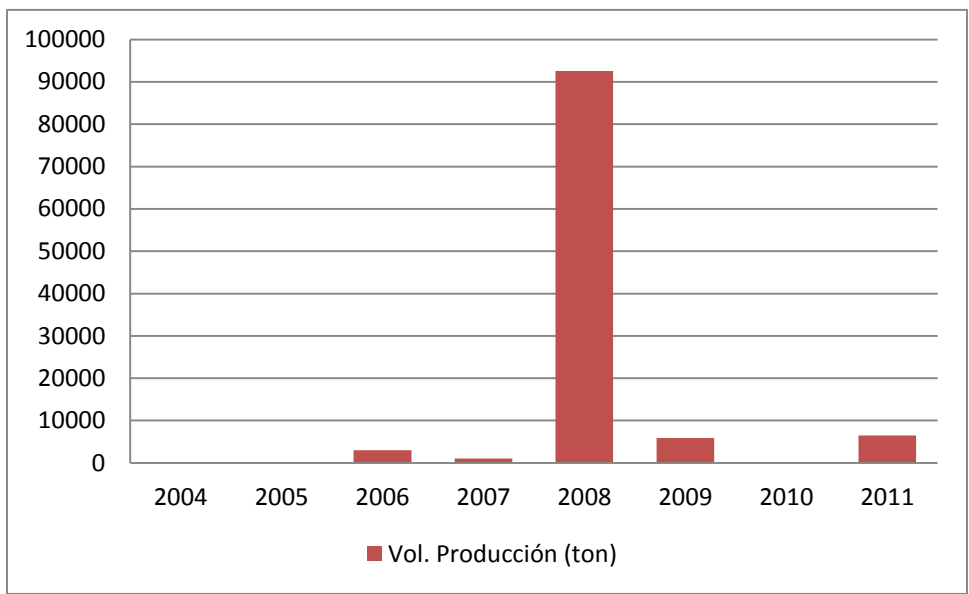


Figura 13. Datos estadísticos de la producción de agave tequilana en el Estado de Michoacán.

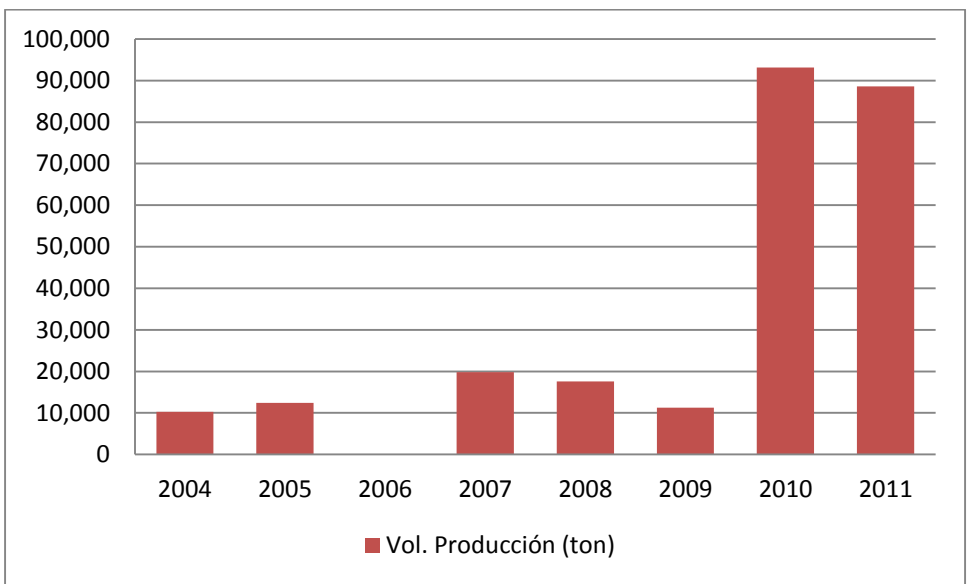


Figura 14. Datos estadísticos de la producción de agave tequilana en el Estado de Guanajuato.

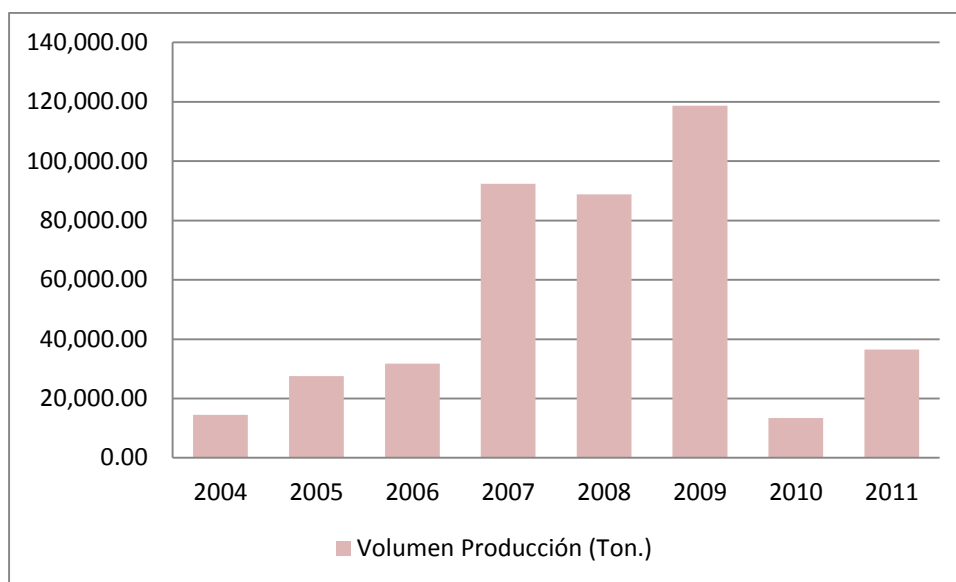


Figura 15. Datos estadísticos de la producción de agave tequilana en el Estado de Nayarit.

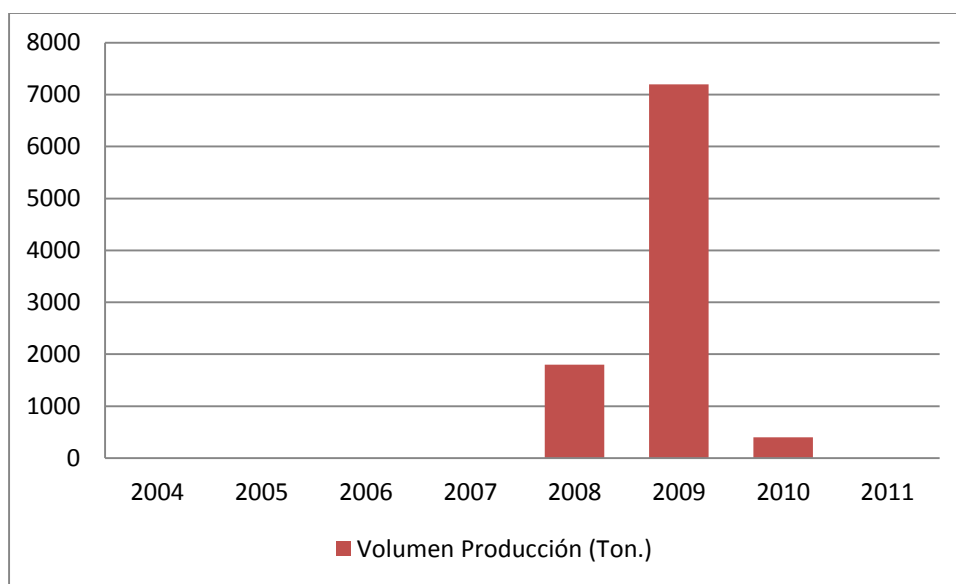


Figura 16. Datos estadísticos de la producción de agave tequilana en el Estado de Tamaulipas.

Dentro de la zona de denominación de origen comprendida por los estados anteriormente mencionados (DOT) se produce el 96% de todas las plantas de agave tequilana que satisfacen las demandas de la industria del tequila. Solo el 4% de las plantas de agave tequilana son cosechadas fuera de la DOT, tal como se muestra en la Figura 17.

A pesar de que la producción fuera de la DOT es muy baja en comparación de la producción dentro de la DOT, el 4% corresponde a 399785.2 toneladas, las cuales a su vez generan una cantidad de residuos que pueden ser aprovechados como material lignocelulósico para la producción de biocombustibles.

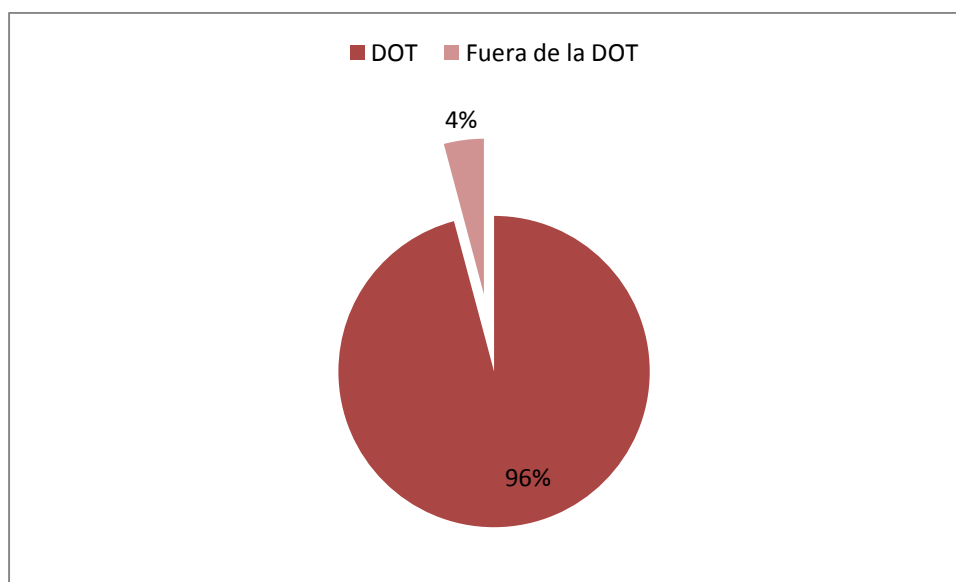


Figura 17. Volumen de producción total de agave tequilana en la DOT y fuera de la DOT.

2.14.3. Potencial del agave tequilana como materia prima para la producción de etanol combustible

El agave tequilana tiene un potencial de ser desarrollado como materia prima para la producción de etanol combustible debido a su composición rica en azúcares, las cuales se encuentran en mayor proporción en las piñas o cabezas. La industria del tequila provee un modelo para la producción de biocombustible debido a que las plantaciones y la fermentación inicial en una destilería serían similares a lo que sería necesario en una planta de producción de etanol combustible. En la tabla 3 se muestra la composición hemicelulosa, celulosa y lignina de una planta de agave tequilana.

Tabla 3. Composición del agave tequilana en por ciento peso.

	Agave tequilana
Hojas	
• Celulosa	65
• Hemicelulosa	5
• Lignina	16
Piña	
• Glucosa	1-3
• Sacarosa	4-6
• Fructosa	7-10
• Fructanos	43-73
Total de carbohidratos solubles	55-90
Bagazo	
• Celulosa	43
• Hemicelulosa	19
• Lignina	15

Total de carbohidratos solubles	5
--	---

La piña del agave tequilana puede llegar a tener una concentración mayor de carbohidratos solubles que los granos de maíz. Una de las compañías más grandes de tequila en México (Tequila Sauza) procesa aproximadamente 400 toneladas de piñas por día en alcohol en una sola destilería, si lo anterior se compara con la eficiencia de conversión del maíz se puede asumir entonces, que una planta que procesa 400 toneladas por día teóricamente podría producir 61 millones de litros por año de etanol combustible [25].

Tabla 4. Comparación de la composición de diferentes tipos de biomasa.

Fuente de biomasa	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina	Solubles
Agaves				
A. Tequilana	65	5.3	16	12.5
A. Fourcroydes	77.6	5-7	13.1	3.6
A. Lechuguilla	79.8	3-6	15.3	2-4
A. Sisalana	77.3-84.4	6.9-10.3	7.4-11.4	No determinado
Maíz				
Estudio 1	44	30	26	No determinado
Estudio 2	39.4	33.1	14.9	8.9
Switchgrass				
Estudio 1	44.9	31.4	12	No determinado
Estudio 2	41	No determinado	30	No determinado
Estudio 3	No determinado	No determinado	20-25	No determinado
Miscanthus				
Estudio 1	41	No determinado	27	No determinado
Estudio 2	41.9	26.6	13.3	15
Otros cultivos				
Eucalipto	49.4	21.2	18.2	No determinado
Álamo	48.2	30.7	17.7	No determinado
Trigo	34.9	22.5	21.3	11.9
Caña de azúcar	48.6	31.1	19.1	No determinado

Aparte de las piñas del agave, las hojas del agave representan una oportunidad de materia prima para igualmente producir etanol combustible. Las hojas de agave tequilana que no son usadas en el proceso de la producción de tequila y equivalen a un 38 % del total de la planta [26, 27] y pueden servir como material celulósico para producir otros 28 millones de litros de etanol por año.

En total, de las piñas y hojas, la capacidad de producción de la planta de etanol teóricamente podría producir 89 millones de litros por año, lo que equivale a 6,083 hectáreas cosechadas anualmente para soportar este volumen de producción.

Otros co-productos de la conversión del agave en tequila pueden ser utilizados para diversos planes: el metano producido tiene potencial para ser usado como energía; el bagazo sólido puede ser usado para producir calor y energía o como material celulósico adicional para el combustible líquido.

En el caso de que el bagazo, el cual usualmente corresponde al 40 % del peso de la piña, sea también convertido en etanol, se podrían producir unos 22 millones de litros por año.

2.14.4. Territorio disponible para el cultivo de agave

Según la FAO (2010), existe una oportunidad de cultivar agave en 1.87×10^5 ha en México, 3.43×10^5 ha en África, y 0.67×10^5 ha en otras partes del mundo. De inicio parece ser una superficie muy alta para México, pero solamente representa el 0.095 % del territorio nacional. Aun cuando mucho de esta tierra se considera como marginal, está abandonada o tiene baja productividad y representan una oportunidad para la implementación de cultivos energéticos, su disposición dependerá de las políticas locales, económicas y climáticas.

2.14.5. Aprovechamiento de los residuos de la industria tequilera para su uso como bioenergéticos

Las miles de toneladas que se procesan diariamente para la obtención de esta bebida alcohólica, generan a su vez una gran cantidad de residuos lignocelulósicos que actualmente no tienen un uso relevante en ninguna actividad económica.

De 1 millón de piñas que se procesan en una destilería se generan aproximadamente 443 800 toneladas de hojas que se dejan en el campo. El aprovechamiento de este recurso sería vital para poder implementar una industria de bioenergéticos en México. Por otro lado, el bagazo generado del cocimiento y molienda de las cabezas del agave genera otro residuo en gran cantidad. En algunas destilerías este bagazo es un problema, ya que no existe una ruta de aprovechamiento clara.

Las hojas y bagazo de agave tequilana representan una fuente de material lignocelulósico muy interesante. Sin embargo, es necesario encontrar las tecnologías, procesos y tratamientos (químicos, físicos, biológicos) que potencialicen a estas materias primas para obtener etanol combustible de calidad.

3. METODOLOGÍA

3.1 Caracterización física y química del agave tequilana

3.1.1. Determinación del porcentaje de humedad en piñas y hojas del agave tequilana

Se colocaron en crisoles de peso conocido muestras de fibra de pencas y de piña de agave tequilana. Se introducen los crisoles en una estufa a 60°C hasta alcanzar un peso constante. Se determina el peso final de las muestras y el porcentaje de humedad se determina como sigue:

$$H = \frac{W_H - W_S}{W_H}$$

Donde:

W_H es el peso de la muestra húmeda.

W_S es el peso de la muestra seca.

3.1.2. Cuantificación de azúcares reductores

Los azúcares reductores pueden reducir al ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) bajo ciertas condiciones. El DNS es reducido en presencia de calor, por los azúcares reductores que entran en contacto con él y se desarrolla un cambio de coloración (variaciones de amarillo hasta marrón). El cambio de coloración puede determinarse por lecturas de densidad óptica.

La concentración de los azúcares reductores totales liberados en la muestra se determina haciendo una interpolación en la curva patrón del azúcar utilizado, graficando la absorbancia en función de la concentración [29].

3.1.2.1. Método DNS para cuantificación de azúcares reductores

- Mezclar 0.3 ml de la muestra (jugo de agave y jugo de las hojas) con 3 ml del reactivo DNS.
- Colocar en ebullición por 10 min en baño maría y detener inmediatamente la reacción con baño de agua fría.
- Agregar 5 ml de agua destilada, agitar y dejar reposar por 15 min.
- Determinar la absorbancia a 570 nm en un
- Realizar el tratamiento anterior para el blanco con agua destilada.

3.1.3. Determinación individual de azúcares

Por medio de cromatografía de líquidos alta resolución (HPLC) se identifican los azúcares presentes en las muestras. Se usó un cromatógrafo de líquidos de alta resolución con marca VARIAN Star 800 modelo 410 acondicionado con un horno de precalentamiento de la muestra, una columna cromatográfica tipo MetaCarb 87C empacada, un detector de índice de refracción y como fase móvil agua grado HPLC, bajo el siguiente procedimiento:

- Preparar soluciones patrones individuales de los azúcares: xilosa, arabinosa, fructosa, glucosa, manosa, sacarosa y maltosa.
- Determinar el tiempo de retención de cada azúcar.
- Pesar 5g de cada una de las muestras y diluir con agua destilada a un volumen de 50 ml.
- Tomar 2 ml de las muestras diluidas y filtrar para eliminar las partículas sólidas.
- Inyectar en el cromatógrafo y leer los tiempos de retención de las muestras.
- Calcular la concentración de los azúcares a cuantificar.

3.1.4. Composición química de la fibra: Hidrólisis ácida cuantitativa

La hidrólisis ácida cuantitativa es una técnica para la determinación del porcentaje de hemicelulosa, celulosas y lignina presentes en un material lignocelulósico. Se emplea H_2SO_4 al 72% para hidrolizar los polisacáridos presentes en la muestra.

Se toman 0.5 g de muestra de fibra seca (piña y penca de agave tequilana), se deposita cada una de las muestras en tubos y se ponen a baño de agua a 30 °C. Posteriormente se añaden 5 ml de H_2SO_4 al 72%. Se mantienen las muestras en agitación durante una hora para asegurar un buen mezclado del material lignocelulósico.

Cuando termina el tiempo de mezclado, se vierte el contenido de cada tubo en frascos de 250 ml y con agua destilada se arrastran los residuos sólidos hasta alcanzar un peso constante de 148.67 g (H_2SO_4 al 4%). Los recipientes tapados se introducen en una autoclave durante 1 h y a 1 atm de presión. Después de esta etapa de hidrólisis, se retiran de la autoclave los recipientes, se enfrían con agua fría y se reponen las posibles pérdidas.

El hidrolizado consiste en una parte sólida, conocida como la lignina de Klason, mientras que la parte acuosa consiste en los productos de degradación de los polisacáridos. Esta última parte es analizada mediante cromatografía de líquidos (HPLC).

3.1.4.1. Determinación de la lignina

La determinación de la lignina se efectúa filtrando el residuo sólido por medio de crisoles de placa filtrante con tamaño de poro n° 3. El residuo sólido se lava con agua y se mantiene en la estufa a 105 °C durante 24 h.

Posteriormente, se ponen los residuos sólidos en un desecador con gel de sílice y se determina su peso.

El porcentaje de lignina en base seca de calcula empleando la siguiente ecuación:

$$LK = \frac{W_r}{W_h(1 - H)} \cdot 100$$

Donde:

W_r es el peso en g del residuo seco.

W_h es el peso inicial de la muestra antes de la HAC.

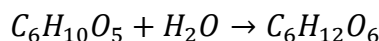
H es la humedad de la muestra.

3.1.4.2. Determinación de celulosa y hemicelulosa

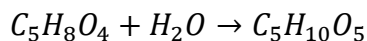
La parte líquida obtenida de la hidrólisis, se analiza por medio de cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC). Se considera que los azúcares de seis carbonos provienen de la celulosa y a través de la cinética de la reacción y la estequiometría se deduce la cantidad de celulosa en la muestra. La cuantificación de hemicelulosas se realiza considerando que el 80% de ésta es xilosa.

Reacciones en la hidrólisis ácida cuantitativa:

Celulosa:



Hemicelulosa:



3.2. Hidrólisis de la fibra lignocelulósica de agave tequilana hacia azúcares fermentables

La hidrólisis ácida es una técnica de pretratamiento para liberar los azúcares presentes en las cadenas poliméricas formadas por la hemicelulosa y celulosa. El objetivo principal de esta técnica es encontrar las condiciones de operación óptimas a laboratorio que permitan la mayor liberación de azúcares fermentables. La hidrólisis se realizó en 2 etapas sucesivas: pretratamiento con ácido nítrico e hidrólisis con ácido sulfúrico.

3.2.1. Pretratamiento con ácido nítrico de la fibra de agave tequilana

Se toma una muestra de 20 g de fibra de piña de agave tequilana (previamente seca y molida) para ser pretratada con HNO_3 al 6%. En un matraz bola de 500 ml se coloca la fibra y 120 ml de HNO_3 , después se sumerge el matraz en un baño de aceite para mantenerlo a una temperatura constante de 100 °C. Se deja reaccionar durante 30 minutos.

Después de que se haya llevado a cabo la reacción, el residuo de fibra se lava con agua destilada, se filtra y se seca a 60°C durante 24 horas para su posterior análisis. Al residuo líquido obtenido de la reacción de la fibra con el ácido (sobrenadante) se le aplica el método del DNS para la determinación de azúcares liberados en la fibra por la acción del HNO_3 .

3.3. Hidrólisis ácida

De trabajos anteriores en el grupo de investigación, se ha demostrado que las variables que tienen impacto en la transformación de las cadenas poliméricas (celulosa y hemicelulosa) en azúcares fermentables son: Concentración de ácido sulfúrico, temperatura, tiempo de reacción, relación sólido/líquido y agitación. La variable de respuesta es la concentración de los azúcares reductores producidos (xilosa, glucosa y arabinosa)

En este trabajo se mantuvieron constantes la relación de sólido/líquido a un valor de 1:10 y la velocidad de agitación en rpm, analizando el efecto de las otras variables (concentración de ácido sulfúrico, temperatura y tiempo de reacción), sobre la variable de respuesta. La experimentación se realizó con un arreglo ortogonal de 3 factores a 2 niveles, tal como se reporta en la Tabla 5 y con la matriz de experimentación de la Tabla 6 donde las columnas representan cada uno de los factores que se desea estudiar. Los renglones representan una condición experimental o prueba que se tiene que realizar.

Tabla 5. Factores y niveles

Factor	Letra asignada	Nivel 1	Nivel 2
Concentración H ₂ SO ₄	A	2%	4%
Temperatura	B	90 °C	120 °C
Tiempo de reacción	C	30 min	60 min

Tabla 6. Matriz de experimentación

	A	B	C
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	2	1
4	1	2	2
5	2	1	1
6	2	1	2
7	2	2	1
8	2	2	2

El efecto de cada una de las variables y las condiciones óptimas de operación se determinaron con el software StatGraphics.

3.4. Corrida experimental de comprobación en planta piloto

De acuerdo al diseño experimental propuesto, la condición óptima de operación de la hidrólisis ácida se replica en un reactor de pretratamiento de capacidad de 50 L. Tomando en cuenta que las variables bloqueadas son la agitación y la relación sólido líquido que es 1:10.

El hidrolizado se filtra y se analiza por medio de cromatografía de alta eficacia (HPLC) para determinar la concentración de los azúcares liberados durante la reacción, así como también identificar los azúcares individuales que se encuentran en el hidrolizado.

3.5. Efecto de cocción de piñas y hojas en la concentración de azúcares en jugos

En la industria del tequila y del mezcal es una práctica común la cocción de las piñas para lograr romper las cadenas poliméricas de carbohidratos, en este caso inulina, hacia los azúcares monoméricos como la fructuosa y la glucosa, por lo que se le aplicó un tratamiento térmico a muestras de piña y hojas de agave tequilana para observar el efecto de éste en la concentración de azúcares reductores en los jugos. Se realizaron pruebas a 90 °C, 100 °C y 110 °C y durante 1 h, 2 h y 3 h. Estas pruebas se realizaron en una autoclave, donde se colocaron las muestras de piña y hojas (por separado), se fijaron los niveles de temperatura antes mencionados y se dejó el tiempo de cocimiento estipulado. Después de esto se extraen los jugos y se procede a la cuantificación de azúcares reductores por DNS y azúcares de manera individual por cromatografía de líquidos.

4. RESULTADOS

4.1. Caracterización física y química del agave tequilana

Las plantas de agave tequilana se pueden dividir en dos partes principales: las pencas u hojas y la cabeza o piña. Cada una de estas partes se procesó por separado para la obtención de jugo y fibra, siguiendo el diagrama de proceso mostrado en la Figura 18. En las Figuras 19 y 20 se muestran los equipos de molienda y de separación sólido-líquido usados, que son parte de la Planta Piloto de producción de bioetanol.

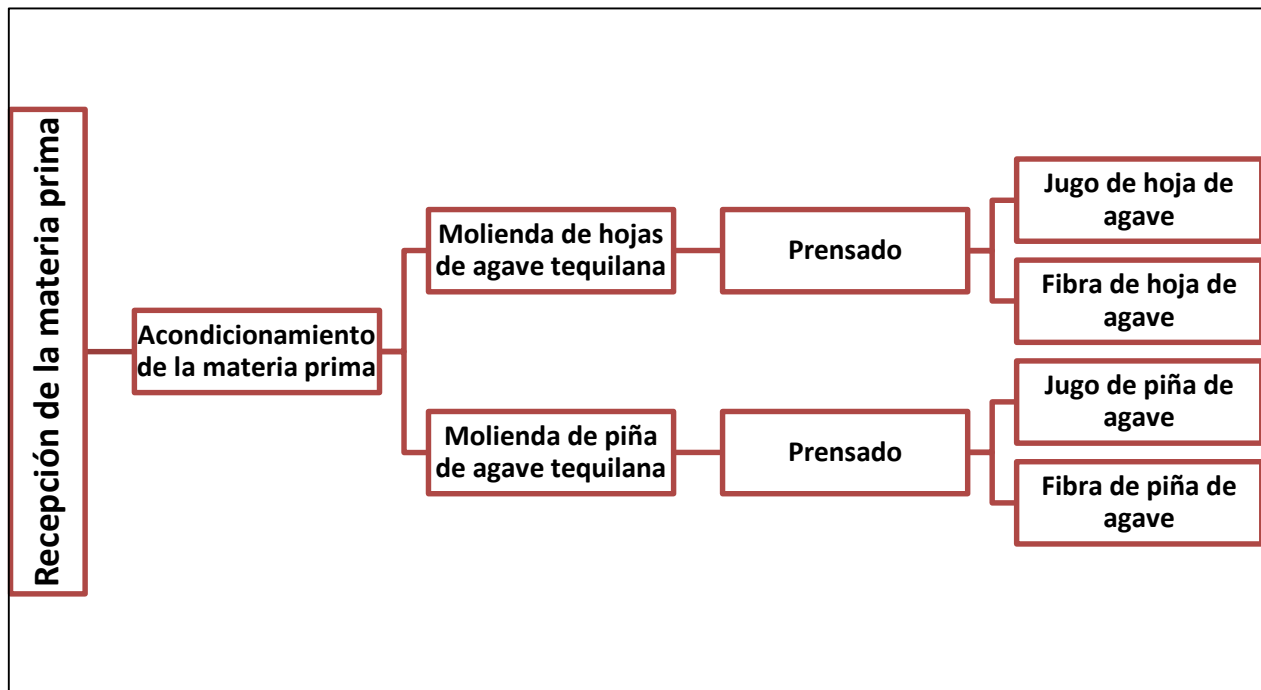


Figura 18. Diagrama de bloques del proceso obtención de jugo y fibra de agave tequilana.

4.2. Balance de materia del proceso

4.2.1. Molienda

Tabla 7. Balance de materia del proceso de molienda de agave tequilana.

Materia Prima	Entrada	Salida	Acumulación
Piña de agave tequilana	47.62 kg	45.18 kg	2.44 kg
Pencas de agave tequilana	7.27 kg	7.25 kg	0.02 kg

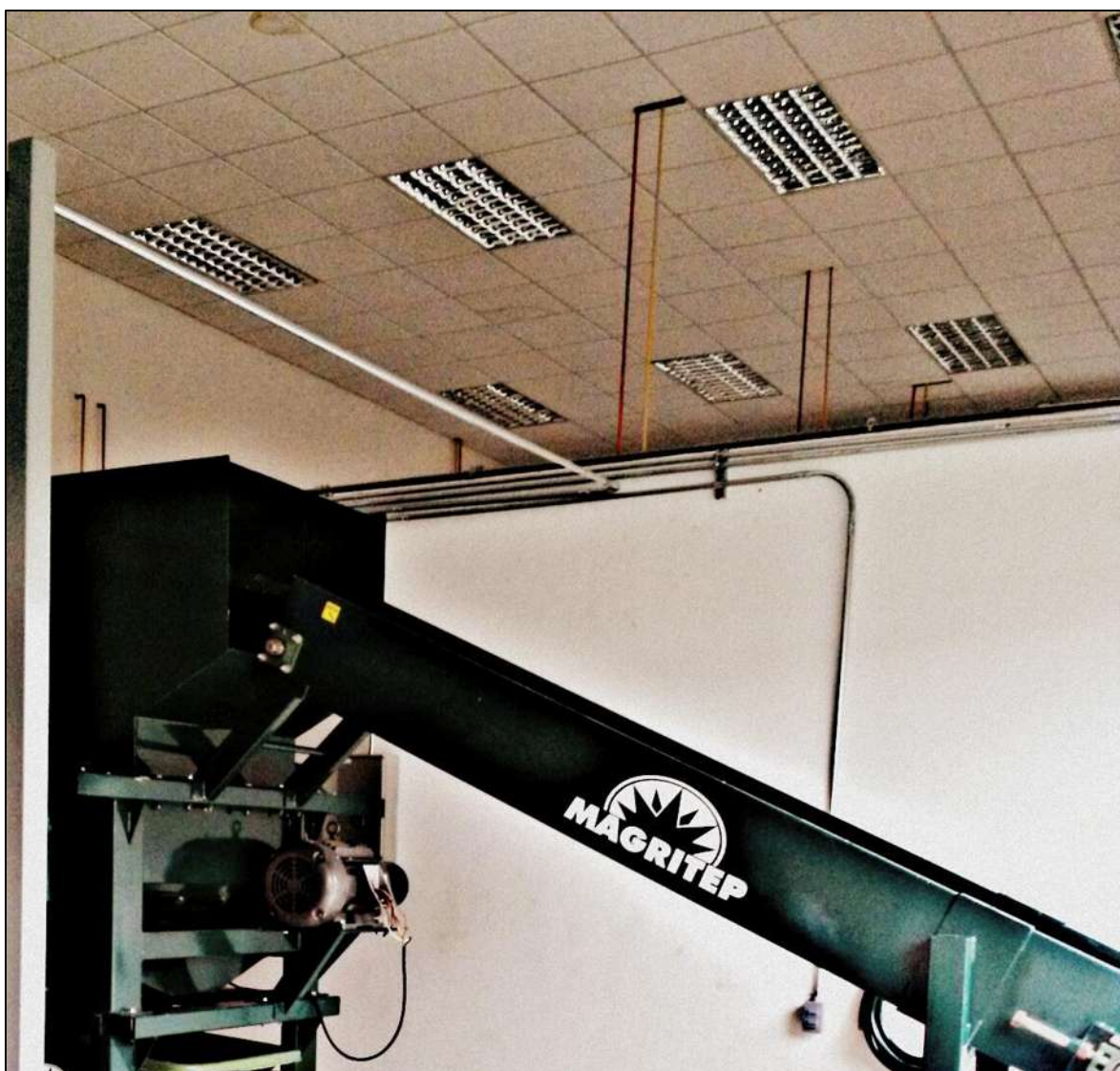


Figura 19. Molino de 4 aspas utilizado para la molienda de piñas y hojas de agave tequilana.

4.2.2. Prensado

Tabla 8. Balance de materia del proceso de prensado de agave tequilana.

Materia Prima	Entrada	Salida	Acumulación
Piña de agave tequilana	46.24 kg	27.42 kg	0.36 kg
Pencas de agave tequilana	7.25 kg	4.14 kg	-
Jugo de piña de agave tequilana	-	18.46 kg (16.33 L)	-
Jugo de pencas de agave tequilana	-	2.36 kg (2.32 L)	0.75 kg



Figura 20. Prensa tornillo utilizada para la extracción del jugo de piña y hoja de agave tequilana.

En la Figura 21 se muestra el porcentaje de fibra húmeda y jugo procedentes de cada una de las partes del agave tequilana después de la etapa de prensado. Puede apreciarse fracciones similares, aunque esto es función de variables climáticas del periodo de cultivo y cosecha.

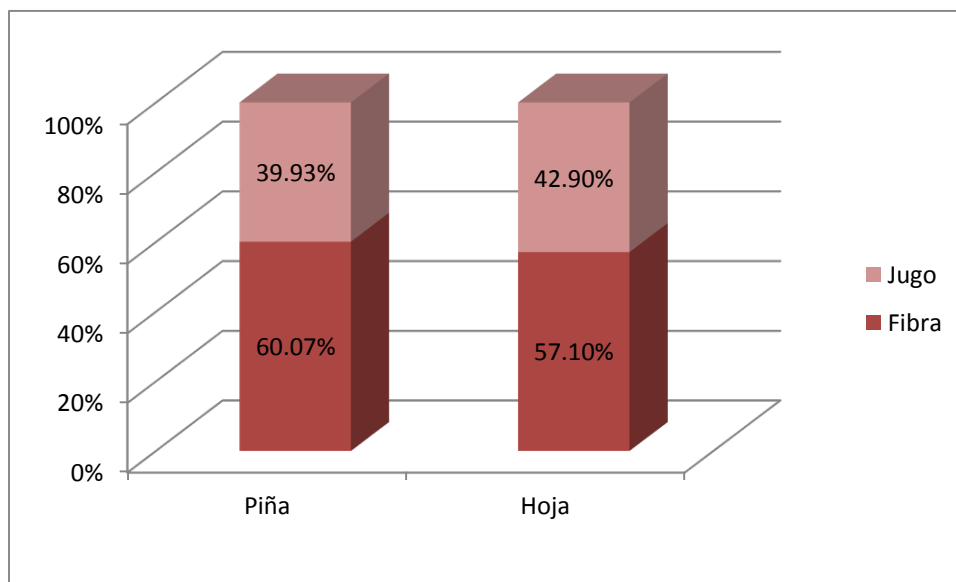


Figura 21. Porcentaje de fibra y jugo presentes en la piña y hoja de agave tequilana.

4.3. Determinación del porcentaje de humedad de las muestras

Después de la etapa de prensado, los dos residuos principales obtenidos son la fibra de pencas y la fibra de agave (bagazo). Se tomaron muestras de fibras, se pesaron y se secaron durante 24 h en una estufa a 60 °C. Después de la etapa de secado, se pesaron de nuevo las muestras y se calculó el porcentaje de humedad presente en las fibras. Se encuentra que el bagazo (fibra) de las pencas tiene una mayor humedad que el de las piñas. Como es una separación mecánica, se espera que estos valores puedan tener variantes según la operación de la prensa. La tabla 9 muestra el porcentaje de humedad en la fibra de agave tequilana.

Tabla 9. Porcentaje de humedad en la fibra de agave tequilana.

Materia Prima	Humedad (%)
Fibra de piña de agave tequilana	63.78
Fibra de penca de agave tequilana	71.75

4.4. Determinación de azúcares reductores

De acuerdo a la técnica anteriormente descrita, se determinaron las concentraciones de azúcares reductores en cada uno de los jugos de los 2 componentes del agave sin cocimiento. En la Tabla 10 se reportan los resultados obtenidos, encontrándose que hay aproximadamente el doble de azúcares reductores en los jugos de las piñas con respecto a los jugos de las pencas. Esta debe de ser, entre otras, la causa principal del porque únicamente se usan las piñas en la producción de tequila y mezcal.

Tabla 10. Concentración de azúcares reductores en el jugo de hoja y piña de agave tequilana.

Materia Prima	Concentración de azúcares reductores (g/L)	°Brix
Jugo de piña de agave tequilana	86.38	8.638
Jugo de hojas de agave tequilana	39.90	3.990

4.5. Efecto de la cocción

Con el objetivo de liberar la mayor cantidad de azúcares reductores presentes en el jugo de las piñas de agave, se efectuaron dos corridas experimentales: la primera consiste en cocer una muestra de piña en un autoclave durante distintos periodos de tiempo y a diferentes temperaturas; la segunda corrida experimental consiste en calentar el jugo de piña a distintas temperaturas y durante distintos periodos de tiempo. Los resultados se muestran en la tabla 11 y 12. Puede apreciarse que la concentración de azúcares reductores es una función de la temperatura y del tiempo de cocción, lográndose casi 300 g/l para temperaturas de 110 °C y 3 horas de cocción. Esto es importante ya que en la industria del

tequila y del mezcal usan tiempos muchos más largos que no son necesarios, pero si les impactan en los requerimientos energéticos. Por otro lado, el orden las operaciones tienen un efecto significativo en la concentración de azúcares, concluyéndose que es mejor primero moler y después separar las fracciones sólidas y líquidas.

Tabla 11. Concentración de azúcares reductores en la piña de agave tequilana cocida.

Materia Prima	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Concentración de azúcares reductores (g/L)	°Brix
Piña de agave tequilana	90	1	18.93	1.893
		2	56.18	5.618
		3	114.89	11.489
	100	1	38.51	3.851
		2	89.01	8.901
		3	278.40	27.840
	110	1	69.44	6.944
		2	240.53	24.053
		3	292.29	29.229

Tabla 12. Concentración de azúcares reductores en el jugo de piña de agave tequilana a diferentes temperaturas.

Materia Prima	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Concentración de azúcares reductores (g/L)	°Brix
Jugo de piña de agave tequilana	90	1	24.93	2.493
		2	135.10	13.510
	100	1	103.53	10.353
		2	128.15	12.815

En el caso de las hojas de agave tequilana, una muestra fue sometida a una etapa de cocimiento para determinar la acción de la temperatura en la liberación de azúcares reductores. Se aplicó la técnica del DNS y mediante espectrofotometría se determinó que la concentración de azúcares reductores es de 77.53 g/L, la cual es también mucho mayor que la obtenida sin cocimiento.

4.6. Determinación de azúcares individuales por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)

Se analizaron por cromatografía de líquidos de alta resolución distintas muestras para la identificación de azúcares individuales.

En primera instancia, se determinaron los distintos tiempos de retención de las muestras patrón de glucosa, manosa, arabinosa, sacarosa, fructosa y xilosa. Posteriormente, se prepararon muestras diluyendo 0.5 ml (previamente filtrada y libre de sólidos suspendidos) con 4.5 ml de agua destilada, las muestras líquidas fueron filtradas una segunda vez y depositadas en un vial.

Se analizaron muestras de jugo de hoja de agave tequilana, jugo de piña de agave tequilana y muestras del jugo obtenido después del cocimiento de la piña y hoja durante 3 horas y a una temperatura de 110 °C. Los cromatogramas se muestran en las figuras 23, 24 y 25.



Figura 22. Cromatógrafo de líquidos de alta eficacia (HPLC) empleado para analizar las distintas muestras de agave tequilana.

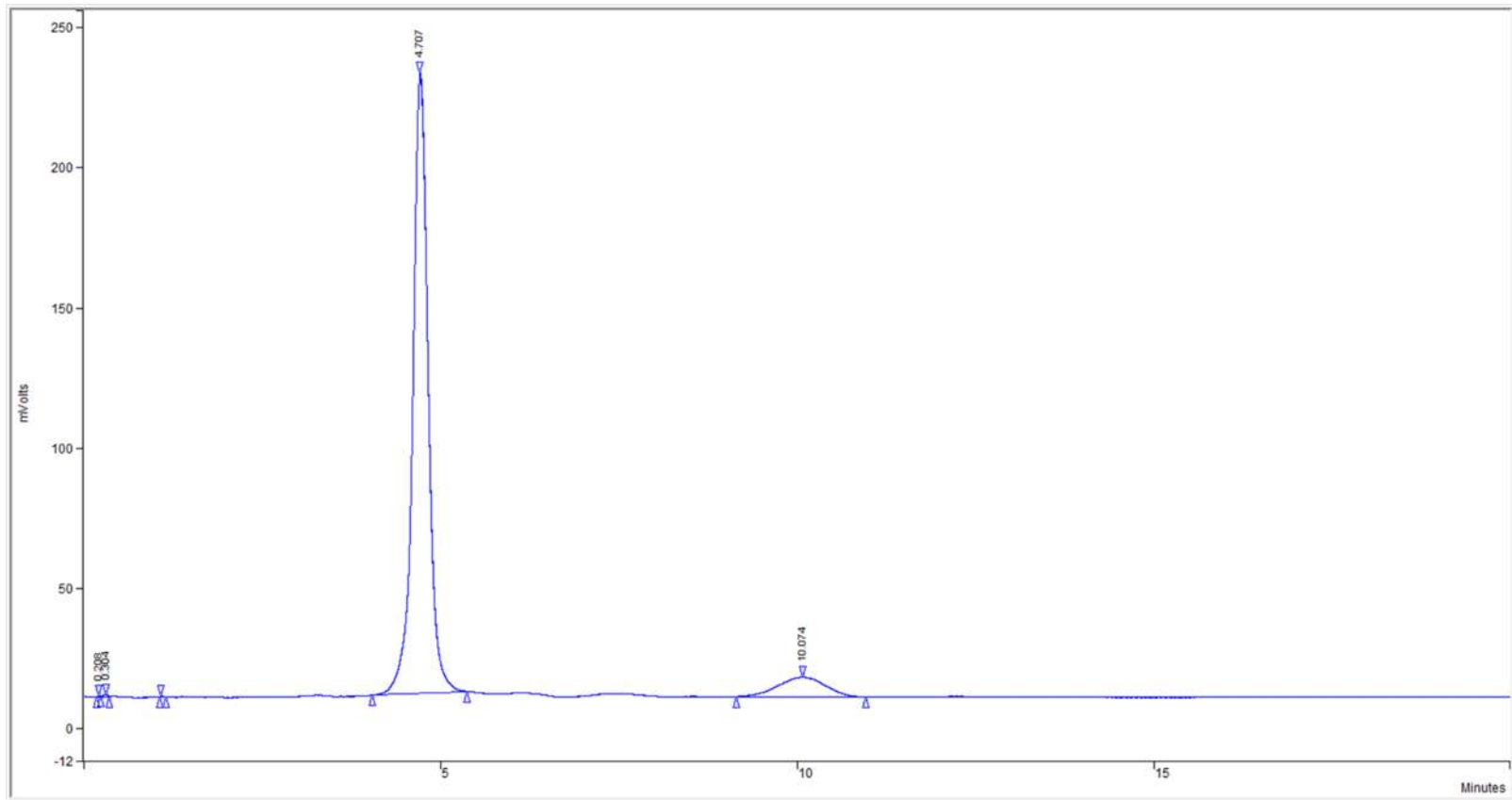


Figura 23. Cromatograma del jugo de piña de agave tequilana.

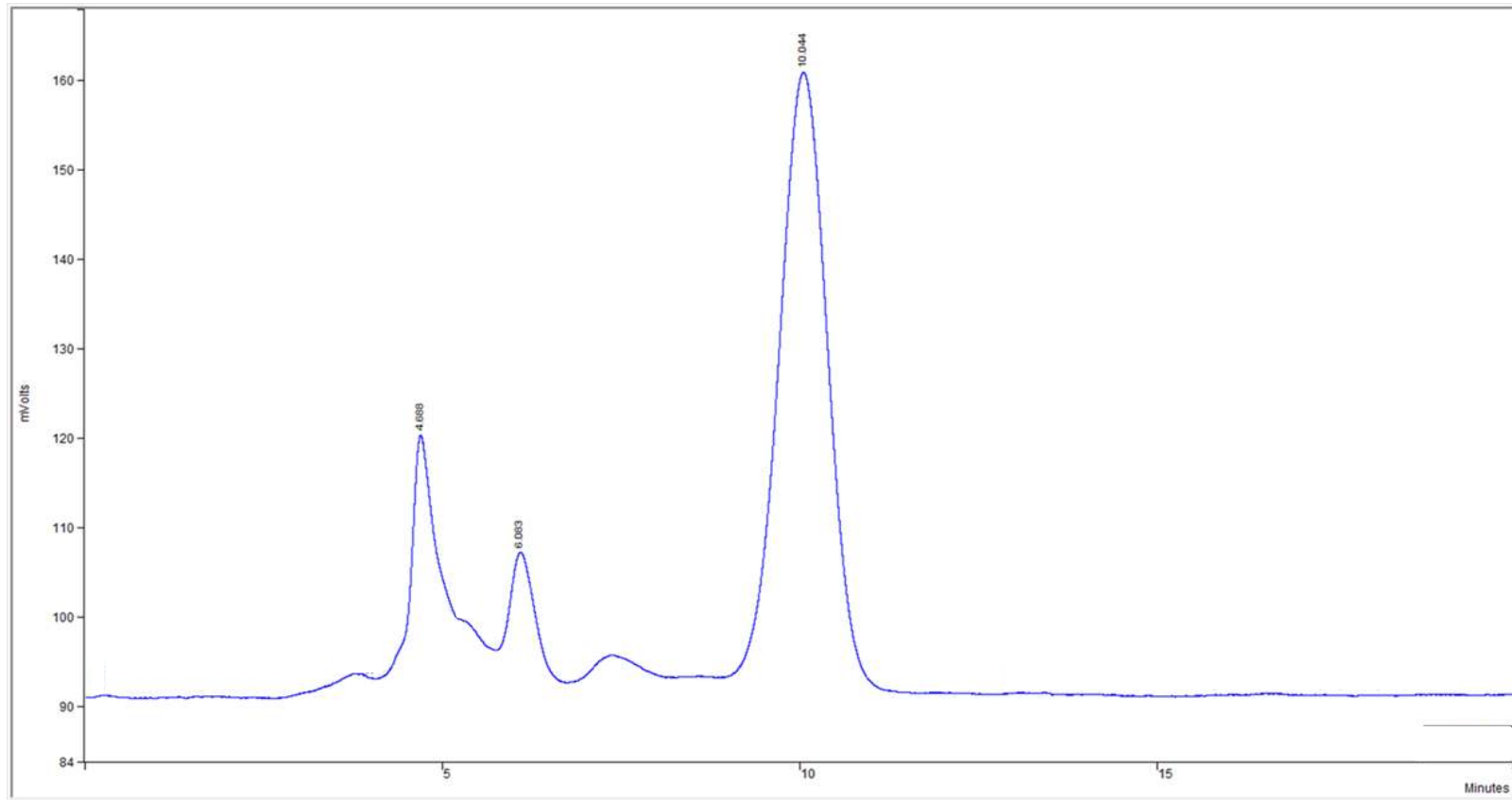


Figura 24. Cromatograma de jugo proveniente de la piña cocida de agave tequilana.

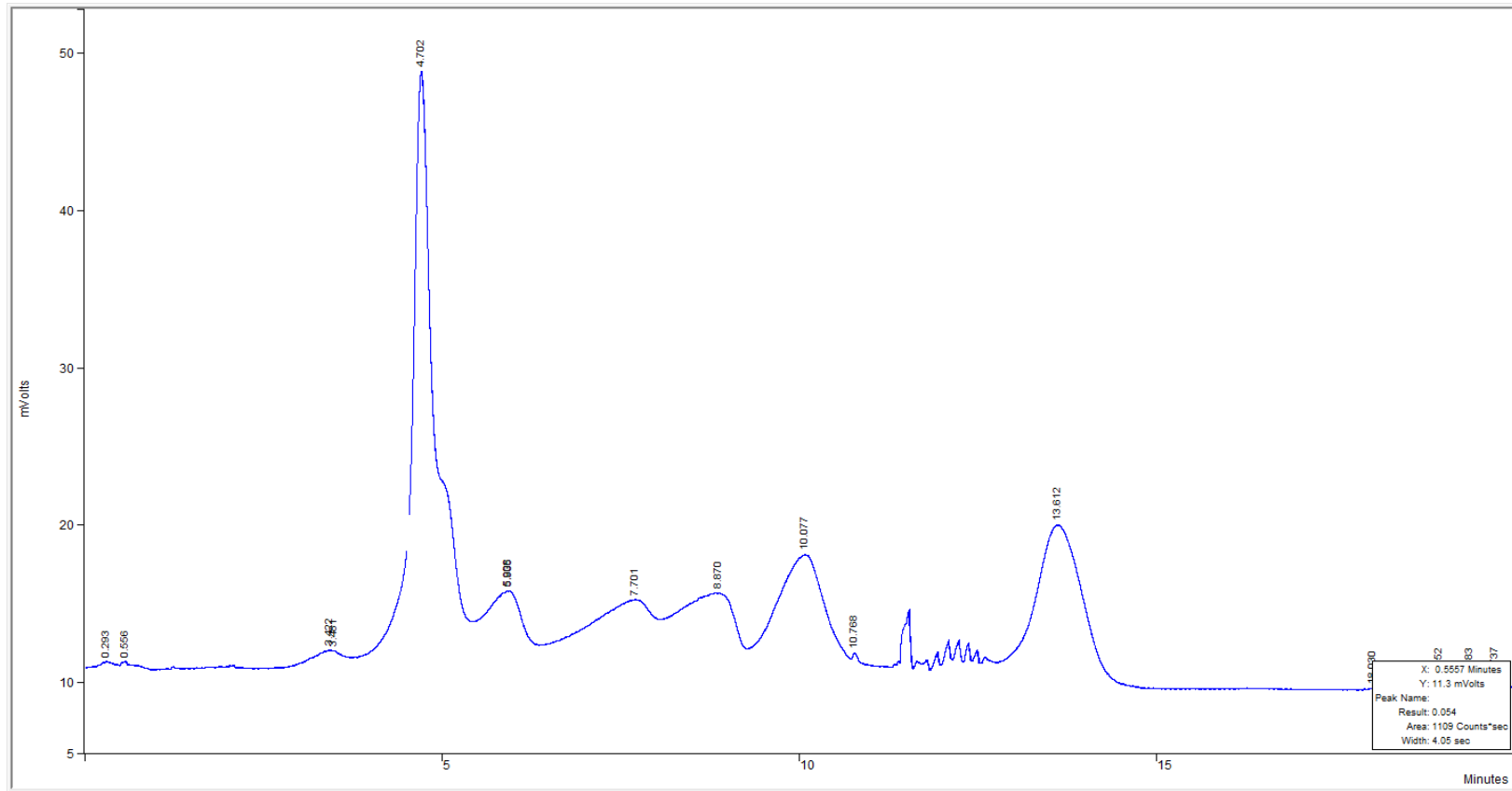


Figura 25. Cromatograma de jugo de hojas de agave tequilana.

4.7. Pretratamiento de la fibra de agave tequilana

Un pretratamiento con HNO_3 al 6% se le aplicó a una muestra seca de fibra de piña de agave tequilana. Se colocaron 4 g de fibra de piña de agave seca y molida en un matraz bola, el matraz se introdujo en un baño de aceite para mantener la temperatura de la reacción en 100 °C. Se dejó reaccionar durante 30 minutos y finalmente se lavó el residuo sólido con agua destilada y la parte acuosa se recibió en un frasco con rosca.

Se aplicó el método del DNS al sobrenadante (parte acuosa) para constatar la presencia de azúcares reductores en la fibra y se introdujo otra parte de la muestra para ser analizada con cromatografía de líquidos.

4.7.1. Azúcares reductores presentes en la fibra de piña de agave tequilana

Una muestra líquida de sobrenadante de 0.3 ml y 3 ml de reactivo DNS se sumergieron en un baño de agua durante 10 min, después de ese tiempo se detuvo la reacción en un baño de agua fría y se analizó la muestra en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 570 nm. La tabla 13 muestra la concentración de azúcares reductores.

Tabla 13. Concentración de azúcares reductores en el sobrenadante del pretratamiento con HNO_3 .

Materia Prima	Concentración de azúcares reductores (g/L)	°Brix
Fibra de piña de agave tequilana pretratada con HNO_3	107.63	10.763

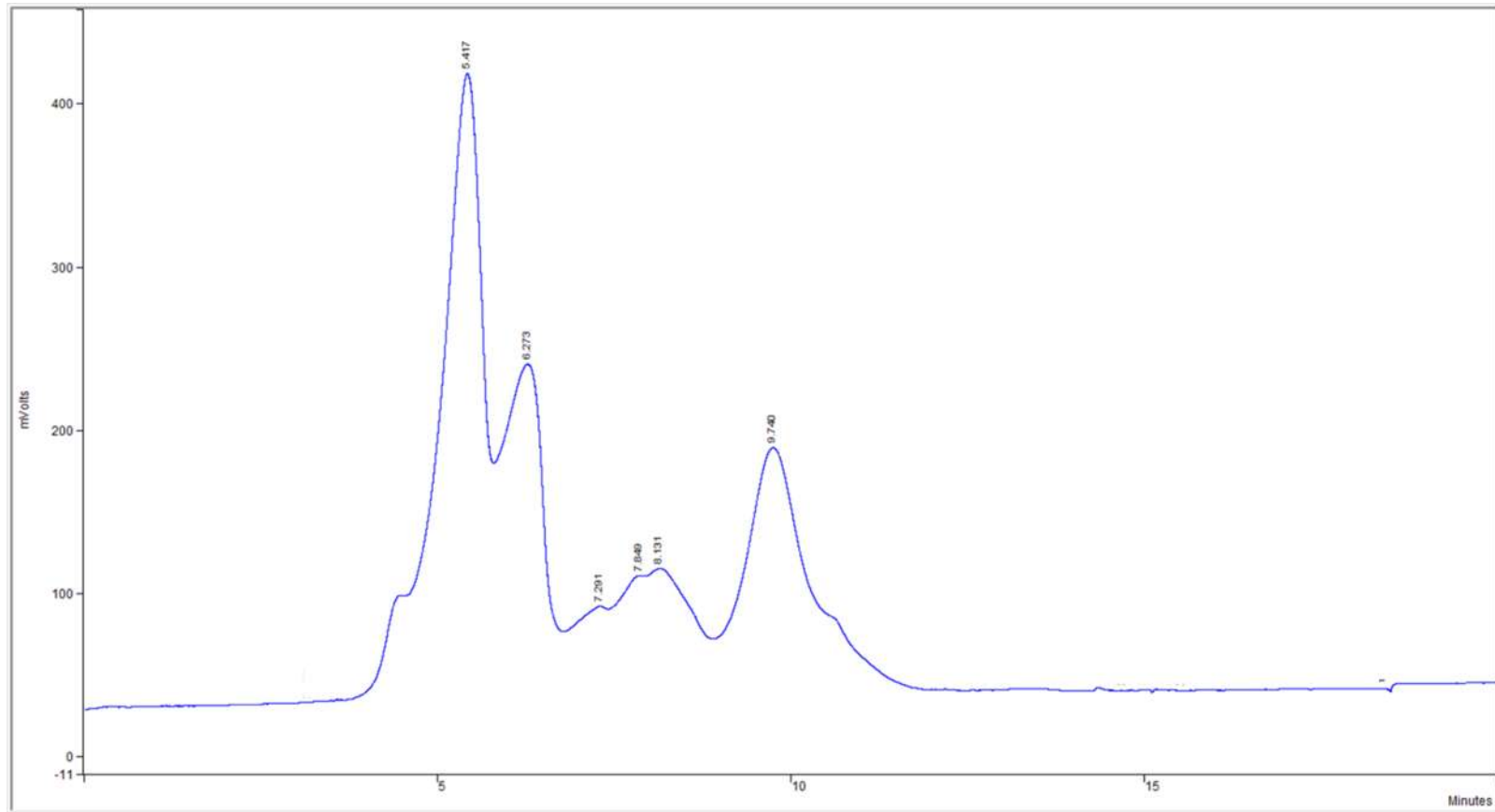


Figura 26. Cromatograma del pretratamiento con HNO_3 aplicado a la fibra de agave tequilana.

4.7.2. Azúcares reductores presentes en la fibra de hojas de agave tequilana

Tabla 14. Concentración de azúcares reductores en el sobrenadante del pretratamiento con HNO₃.

Materia Prima	Concentración de azúcares reductores (g/L)	°Brix
Fibra de hojas de agave tequilana pretratada con HNO ₃	43.77	4.377

4.8. Hidrólisis ácida cuantitativa

A muestras de fibra seca de fibra de piña y hoja de agave tequilana se les aplicó la técnica de la hidrólisis ácida cuantitativa (HAC) para determinar el porcentaje de celulosa, hemicelulosa y lignina presentes en la matriz lignocelulósica. Los resultados se muestran en la figura 27.

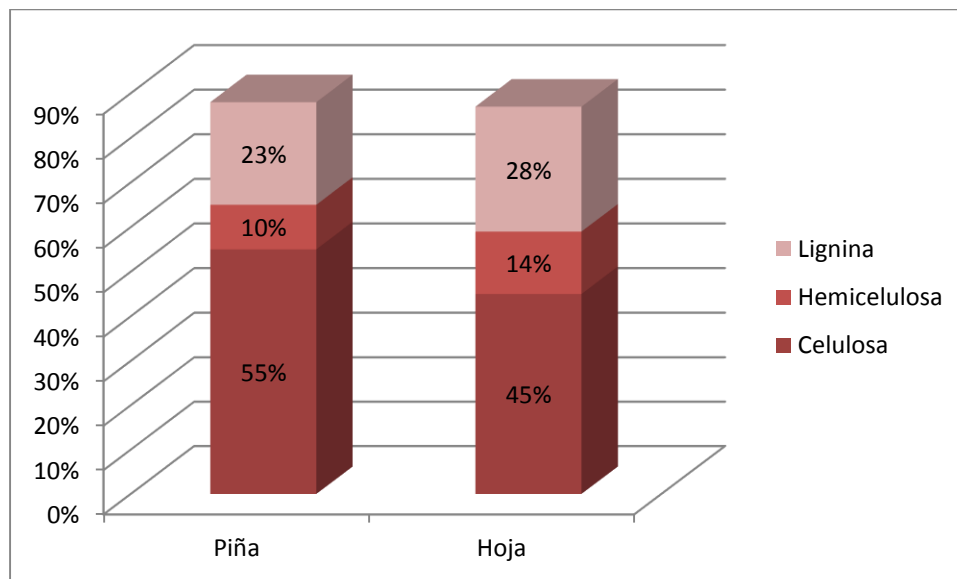


Figura 27. Distribución de la matriz lignocelulósica de la fibra de piña y hoja de agave tequilana.

4.9. Hidrólisis ácida

4.9.1. Hidrólisis ácida de la fibra de piña de agave tequilana a nivel laboratorio

Muestras de 5g de fibra seca de piña de agave tequilana se hacen reaccionar con 50 ml de H₂SO₄ al 2% y 4%. De acuerdo al diseño experimental planteado con anterioridad, se realizaron 8 corridas a temperaturas de 90°C y 120 °C; sin embargo, para complementar el experimento se efectuaron 4 corridas más a una temperatura de 110°C.

Después las muestras se filtraron y se analizaron mediante HPLC para la determinación de los azúcares fermentables presentes en los hidrolizados.

Tabla 15. Resultados de la hidrólisis ácida de la fibra de piña de agave tequilana.

Corrida	Concentración de glucosa (g/L)	Concentración de xilosa (g/L)	Concentración de arabinosa (g/L)
1	0.14	0.55	25.50
2	0.06	9.44	0.53
3	0.17	1.35	27.93
4	5.34	13.81	14.46
5	0.46	1.19	32.33
6	0.23	3.38	17.05
7	1.35	4.59	10.91
8	1.01	15.02	15.16
9	1.78	6.56	27.41
10	1.39	7.38	16.91
11	1.31	8.75	15.35
12	0	10.55	5.8

Mediante el diseño experimental se encontró que las condiciones óptimas de operación son: *Concentración de ácido, 2%; tiempo de reacción, 1 h; temperatura; 120 °C.*

4.9.2. Hidrólisis ácida de la fibra de hojas de agave tequilana a nivel laboratorio

Muestras de 5g de fibra de hojas de agave tequilana se hacen reaccionar con 50 ml de H₂SO₄ al 2% y 4%. De acuerdo al diseño experimental planteado con anterioridad, se realizaron 12 corridas a temperaturas de 90°C y 120°; sin embargo para complementar el experimento se realizaron 4 corridas adicionales y se elige la condición óptima de operación que maximice la concentración de azúcares liberados.

Tabla 16. Resultados de la hidrólisis ácida de la fibra de hoja de agave tequilana.

Corrida	Concentración de glucosa (g/L)	Concentración de xilosa (g/L)	Concentración de arabinosa (g/L)
1	1.84	0.56	4.38
2	1.7	0.78	0
3	2.6	0.98	7.11
4	2.21	3.47	4.98
5	1.29	2.33	0
6	0.09	11.87	0
7	0.07	0	0
8	1.25	2.89	0
9	0	9.16	0
10	0	9.02	0
11	0	10.27	0
12	0	12.77	0

Mediante el diseño experimental se encontró que las condiciones óptimas de operación son: *Concentración de ácido, 2%; tiempo de reacción, 1 h; temperatura; 120 °C.*

4.10. Hidrólisis ácida de la fibra de agave tequilana en planta piloto

En un reactor de pretratamiento con capacidad de 50 L como el que se muestra en la Figura 28 se replicó la mejor condición de operación encontrada con el diseño experimental de la hidrólisis ácida. Se procesaron 2.74 kg de fibra de piña de agave tequilana seca con aproximadamente 25 L de una solución de H_2SO_4 al 2%. Las condiciones de operación fueron $110^{\circ}C$ (debido a las condiciones del equipo) y 60 min.



Figura 28. Planta piloto adquirida mediante el convenio SAGARPA-CONACYT para la producción de etanol combustible a partir de agave tequilana.

Posteriormente, se analizó el hidrolizado mediante HPLC, los resultados se muestran en la figura 29.

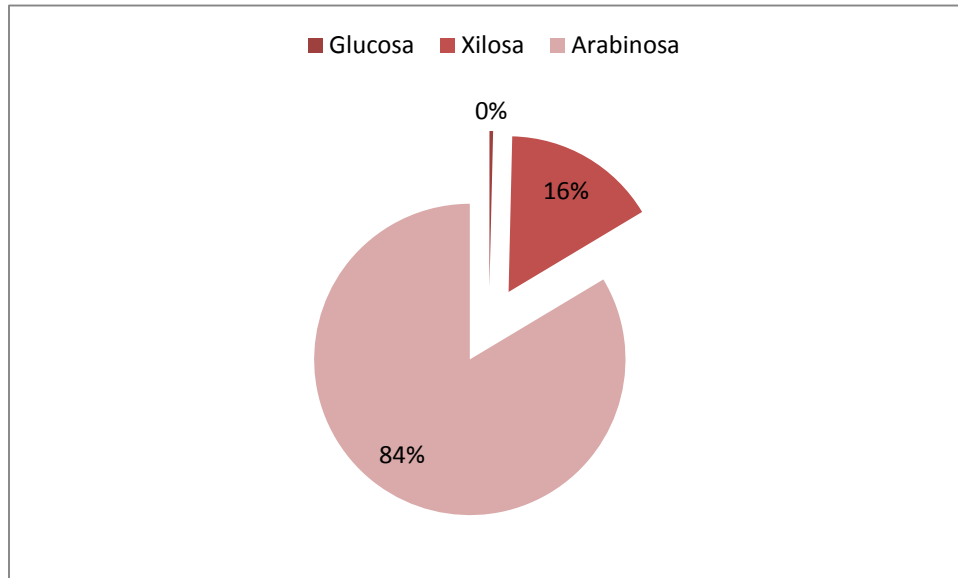


Figura 29. Azúcares liberados en la hidrólisis ácida de la fibra de piña a nivel piloto.

En estas condiciones de operación se obtuvieron 0.19 g/L de glucosa, 8.1 g/L de xilosa, 42.23 g/L de arabinosa.



Figura 30. Productos obtenidos después de la hidrólisis ácida a nivel piloto de la fibra de agave tequilana.

4.11. Discusión de resultados

La planta de agave tequilana posee una gran cantidad de azúcares reductores en cada una de sus partes principales, destaca la presencia de estos monosacáridos en los jugos provenientes tanto de la piña como de la hoja o penca del agave.

De toda la planta de agave tequilana procesada, incluyendo hojas y piña, se obtuvo un total de 18.65 L de jugo rico en azúcares reductores. En la figura 31 se muestra la proporción de azúcares totales en el jugo de piña y en el jugo de hoja.

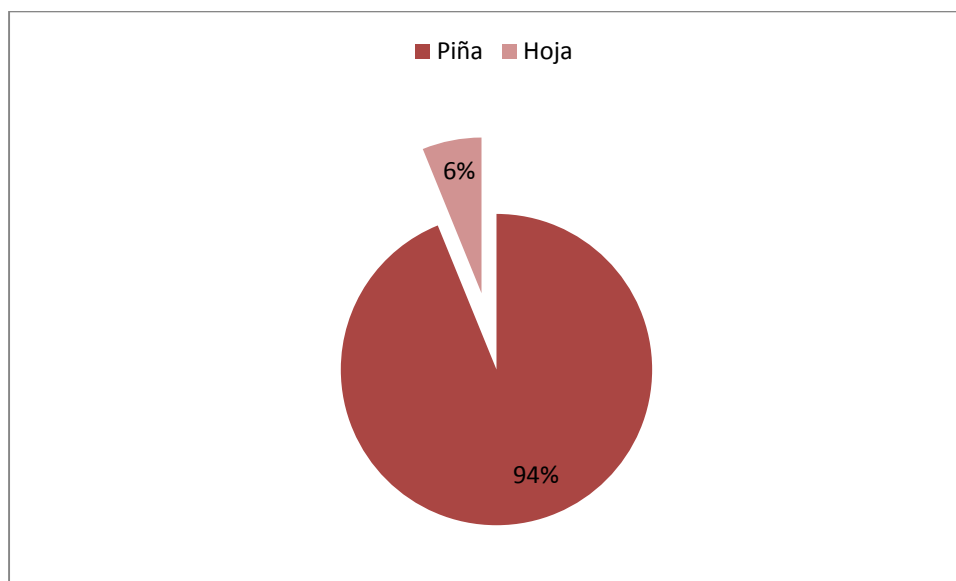


Figura 31. Cantidad de azúcares reductores presentes en los jugos de piña y hoja de agave tequilana

Los jugos de la piña de agave tequilana son los más ricos en azúcares fermentables, de ahí su importancia en la industria del tequila. Por otro lado, en las hojas de agave tequilana también se encuentra la presencia de estos azúcares aunque en menor proporción que en el jugo de la piña.

4.11.1. Influencia de la temperatura en la liberación de azúcares reductores

De acuerdo a los experimentos efectuados, al aplicarse un tratamiento térmico a la piña y a las hojas de agave tequilana se presenta un incremento de la concentración de los azúcares reductores. En la tabla 16, se observa que la concentración de azúcares casi se triplica en comparación de la concentración de azúcares que proviene de la piña 'cruda'. Mientras que en el caso de las hojas, la concentración aumenta en casi un 50%.

4.11.2. Determinación de azúcares individuales mediante HPLC

En la figura 32 se realiza una comparación del efecto de la temperatura en la matriz lignocelulósica del agave tequilana. En el cromatograma de la parte superior se observa la presencia de un polisacárido conocido como inulina y una pequeña fracción de fructosa se observa a la derecha de éste. En la parte inferior de la figura, resalta la presencia de un pico que indica un aumento de la concentración de fructosa debido al desdoblamiento de la inulina por acción de la temperatura.

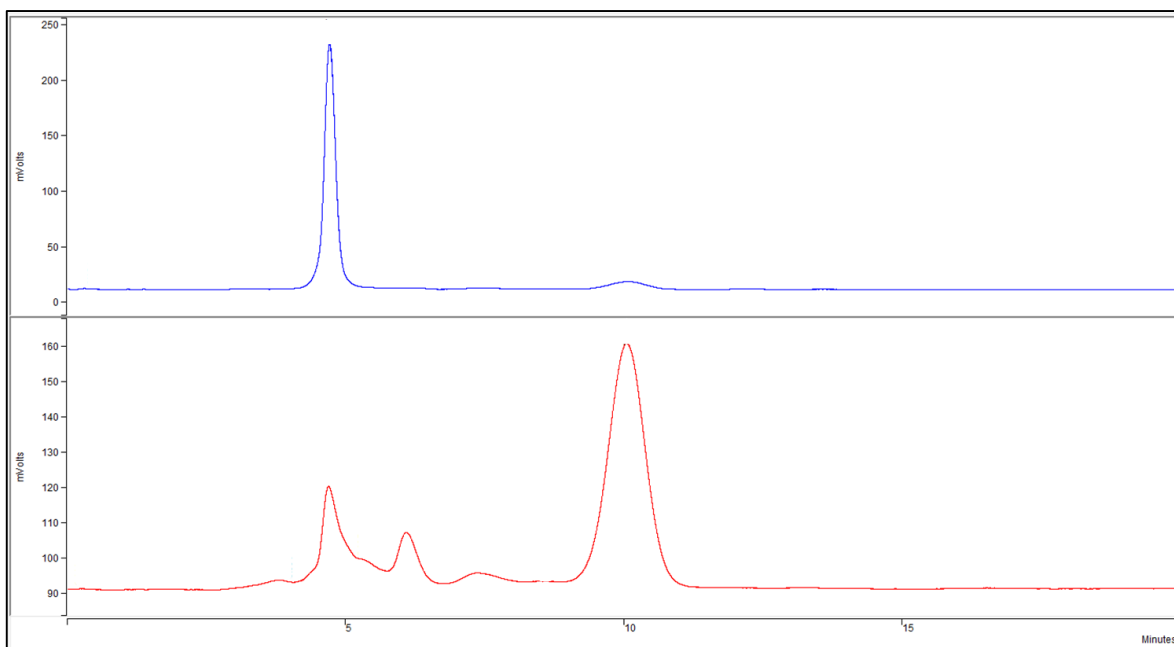


Figura 32. Comparación de los cromatogramas de la piña de agave tequilana sin tratamiento (parte superior) y con tratamiento térmico (parte inferior).

Lo anterior puede ser atribuido a la hidrólisis que se lleva a cabo en las cadenas poliméricas formadas por la hemicelulosa y la celulosa; es decir, el aumento de temperatura tiene una incidencia directa en la liberación de azúcares reductores.

Por otro lado, en el pretratamiento con HNO_3 al 6% se observa una concentración importante de azúcares reductores presentes en la fibra de la piña de agave, lo cual indica que la fibra puede ser empleada de igual manera como material lignocelulósico en la producción de etanol combustible.

En la figura 26 se observa la acción de la temperatura en la matriz lignocelulósica que compone a las hojas de agave tequilana. De manera similar a la piña de agave tequilana, la temperatura tiene un rol importante en el desdoblamiento de la cadena polimérica hacia monosacáridos o moléculas más sencillas. Sin embargo, en el cromatograma destaca la

presencia de una serie de picos los cuales no fueron identificados debido a que no coinciden con ninguna muestra patrón.

En el cromatograma de la figura 33 destaca la presencia de fructosa, así como una fracción de glucosa y arabinosa.

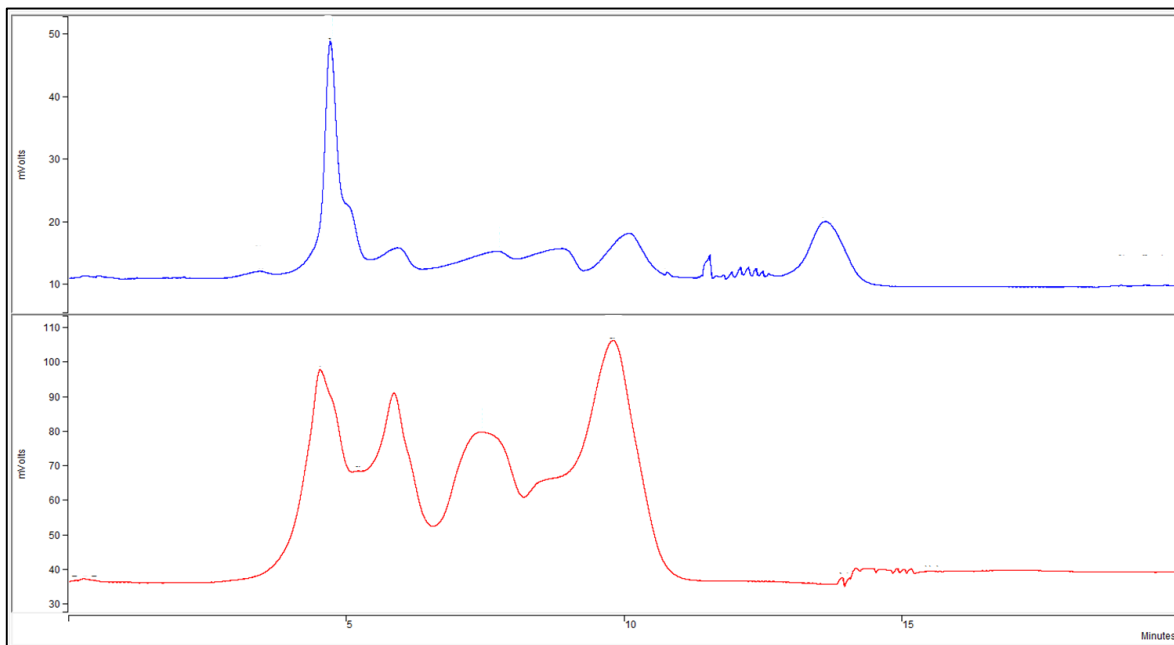


Figura 33. Comparación de los cromatogramas de la hoja de agave tequilana sin tratamiento (parte superior) y con tratamiento térmico (parte inferior).

Los carbohidratos principales que componen a toda la planta de agave tequilana son la inulina (polisacárido), fructosa, glucosa, xilosa y arabinosa.

4.11.3. Hidrólisis ácida de la fibra de piña de agave tequilana

Tabla 17. Obtención de glucosa (g/L) en la hidrólisis de la fibra de piña de agave tequilana.

Tiempo (min)	90 °C		110 °C		120 °C	
	2%	4%	2%	4%	2%	4%
30	0.14	0.46	1.78	1.31	0.17	1.35
60	0.06	0.23	1.39	0	5.34	1.01

En la tabla 17 se muestran las concentraciones de glucosa en la hidrólisis ácida de la piña de agave tequilana donde se observa principalmente rendimientos muy bajos de la hidrólisis. Lo anterior se debe a que la celulosa tiene una estructura cristalina la cual la protege de agentes químicos como el caso del ácido sulfúrico. Si se deseará hidrolizar en

mayor proporción la celulosa, las concentraciones de ácido a emplear tendrían que ser más severas; sin embargo, el desplazamiento de la reacción hacia productos de descomposición como el hidroximetilfurfural (HMF) es muy probable entre mayor sea la concentración de ácido.

Por otro lado, en las tablas 18 y 19 se tienen las concentraciones de xilosa y arabinosa respectivamente. En comparación con las concentraciones de glucosa, las concentraciones de estos azúcares son bastante altas, lo cual puede ser un indicativo que las concentraciones elegidas y las temperaturas de operación son óptimas para la obtención de altas concentraciones de monosacáridos de 5 carbonos.

Se observa que cuando la temperatura aumenta en el caso de la xilosa la concentración también aumenta; sin embargo, la concentración de ácido es directamente proporcional a la concentración de azúcares hidrolizados, por lo tanto existe una relación directa de temperatura/ácido en la hidrólisis ácida de la fibra.

La obtención de arabinosa es un indicativo de que la fracción hemicelulósica es más sencilla de hidrolizar, debido a su estructura amorfa, el ácido sulfúrico rompe con mayor facilidad los enlaces entre monosacáridos.

No obstante, en la tabla 19 se observa que a medida que el tiempo de reacción incrementa la concentración de arabinosa decrece ya que ésta puede estar pasando de arabinosa a otros productos de degradación como es el caso del furfural.

Tabla 18. Obtención de xilosa (g/L) en la hidrólisis de la fibra de piña de agave tequilana.

Tiempo (min)	90 °C		110 °C		120 °C	
	2%	4%	2%	4%	2%	4%
30	0.55	1.19	6.56	8.75	1.35	4.59
60	9.44	3.38	7.38	10.55	13.81	15.02

Tabla 19. Obtención de arabinosa (g/L) en la hidrólisis de la fibra de piña de agave tequilana.

Tiempo (min)	90 °C		110 °C		120 °C	
	2%	4%	2%	4%	2%	4%
30	25.50	32.33	27.41	15.35	27.93	10.91
60	0.53	17.05	16.91	5.8	14.46	15.16

El diseño experimental propuesto indica que la agitación y el tamaño de partícula (variables bloqueadas) no tienen una incidencia directa en los resultados de la hidrólisis ácida. Las variables importantes a controlar en este proceso son la temperatura, concentración de ácido y el tiempo de reacción.

4.11.4. Hidrólisis ácida de la fibra de hoja de agave tequilana

Las concentraciones obtenidas en la hidrólisis ácida de la hoja de agave tequilana son bajas en comparación de las concentraciones de los hidrolizados de la fibra de piña.

En el caso de la glucosa, se tiene el mismo fenómeno que en el caso de la hidrólisis anterior; la celulosa es la parte de la matriz lignocelulósica que resulta más difícil de atacar mediante procedimientos químicos debido a su estructura lineal, en la que se establecen múltiples puentes de grupos hidroxilo de distintas cadenas de glucosa. Esta es la explicación por la cual se obtienen bajas concentraciones de glucosa o de azúcares de 6 carbonos cuando se aplica una hidrólisis ácida diluida.

En la tabla 20 se muestran las concentraciones de glucosa obtenidas a diferentes tiempos de reacción.

Tabla 20. Obtención de glucosa (g/L) en la hidrólisis de la fibra de hoja de agave tequilana.

Tiempo (min)	90 °C		110 °C		120 °C	
	2%	4%	2%	4%	2%	4%
30	1.84	1.29	0	0	2.6	0.07
60	1.7	0.09	0	0	2.21	1.25

Las concentraciones más altas son para el caso de la xilosa, mientras que para el caso de la arabinosa se obtienen resultados muy pobres y contrarios a los esperados. Incluso se le puede atribuir a que existe una descomposición de los azúcares a condiciones moderadas de la hidrólisis.

En las tablas 21 y 22 se tienen las concentraciones obtenidas de xilosa y arabinosa expresadas en g/L.

Tabla 21. Obtención de xilosa (g/L) en la hidrólisis de la fibra de hoja de agave tequilana.

Tiempo (min)	90 °C		110 °C		120 °C	
	2%	4%	2%	4%	2%	4%
30	0.56	2.33	9.16	10.27	0.98	0
60	0.78	11.87	9.02	12.77	3.47	2.89

En el caso específico de la arabinosa, destaca el hecho de que a una concentración de ácido sulfúrico del 4% no se obtiene ninguna concentración importante, esto puede ser atribuido a que existe una degradación de los azúcares directamente a los productos de descomposición principales ya mencionados.

La existencia de estos productos de descomposición son inhibidores para la siguiente etapa de interés en el proceso de obtención de etanol; la fermentación.

Tabla 22. Obtención de arabinosa (g/L) en la hidrólisis de la fibra de hoja de agave tequilana.

Tiempo (min)	90 °C		110 °C		120 °C	
	2%	4%	2%	4%	2%	4%
30	4.38	0	0	0	7.11	0
60	0	0	0	0	4.98	0

4.11.5. Azúcares fermentables totales presentes en el agave tequilana

De acuerdo a los resultados de los experimentos realizados, en cada una de las partes de la planta de agave tequilana existen concentraciones importantes de azúcares susceptibles a ser fermentados. En la figura 34 se muestran los mejores resultados obtenidos en las concentraciones de azúcares, después de los diferentes tratamientos efectuados a la piña y hojas de agave tequilana.

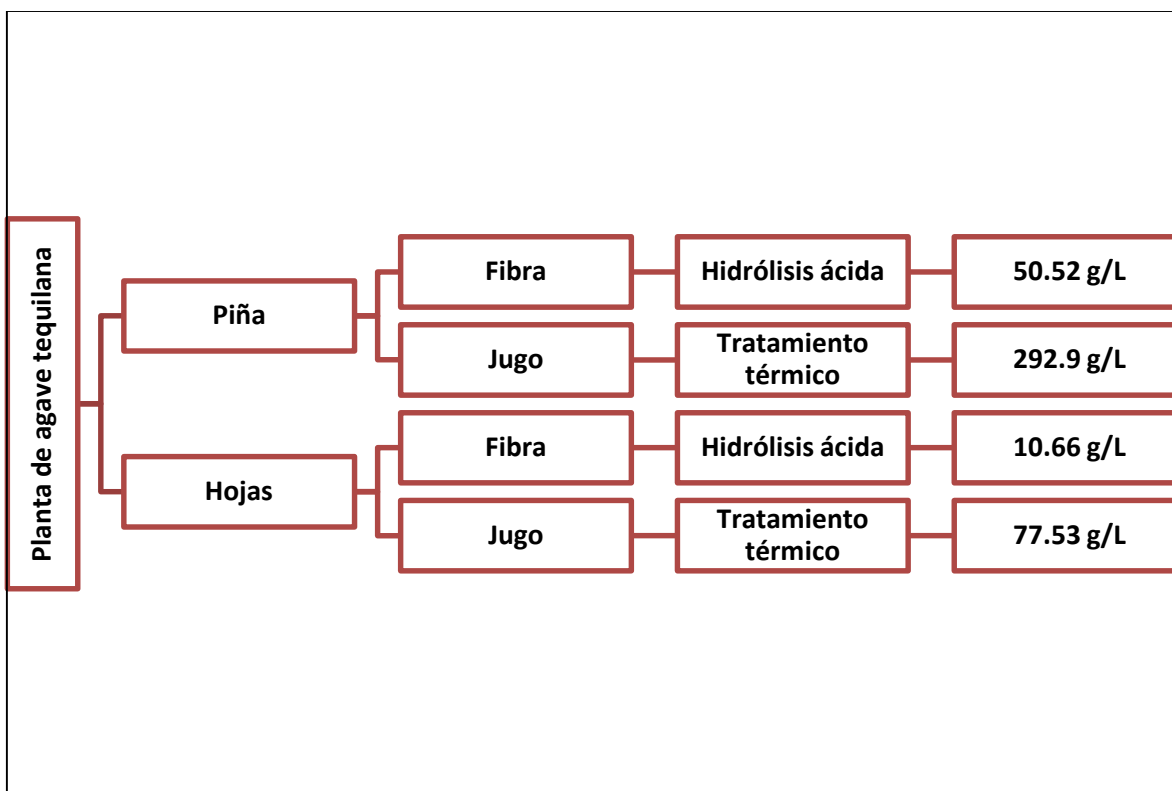


Figura 34. Diagrama de bloques de la distribución de azúcares fermentables en cada una de las partes del agave tequilana.

4.11.6. Rendimiento teórico de producción de etanol a partir de azúcares fermentables provenientes de la planta de agave tequilana

En el caso de la producción de etanol a partir de material lignocelulósico, el principal obstáculo a superar es el hecho de que los microorganismos no son capaces de asimilar todos los azúcares liberados durante los pretratamientos e hidrólisis de la biomasa. Debido a esto es necesario emplear tecnologías de fermentación que permitan asimilar o procesar la mayor cantidad posible de azúcares fermentables.

Se han desarrollado ecuaciones (Stuart R. Paul, El-Halwagi Mahmoud M., 2012) que permiten efectuar el cálculo de la producción de etanol combustible a partir de los resultados ya obtenidos con anterioridad.

$$\frac{L \text{ de etOH}}{\text{ton de materia prima}} = 7.2715 (\% \text{Peso de celulosa})$$

$$\frac{L \text{ de etOH}}{\text{ton de materia prima}} = 7.4367 (\% \text{Peso de hemicelulosa})$$

$$\frac{L \text{ de etOH}}{\text{ton de materia prima}} = 6.5443 (\% \text{Peso de ART})$$

Por lo tanto, a partir de los datos obtenidos de la concentración de azúcares de la planta de agave tequilana se calcula que la producción de etanol combustible posibles se distribuye de la siguiente manera: 375.62 L etOH/tonelada de piña, 308.97L etOH/tonelada de hojas, 345.67 L etOH/tonelada de planta de agave completa.

De acuerdo a los datos estadísticos presentados, dentro de la zona de denominación de origen de tequila sería posible utilizar las hojas y bagazo del agave para producir una cantidad de 2, 057,794 L de etanol combustible. Mientras que fuera de la DOT, en el territorio disponible para el cultivo de agave tequilana que presenta las mejores condiciones para su desarrollo (88,666,241 ha) sería posible producir 1.74 billones de L de etanol debido a que en este caso la planta se utilizaría de manera integral [30].

En otro escenario de producción, a partir solamente de los jugos provenientes de la planta se obtendrían 2.206×10^{11} L de etanol combustible. Mientras que las fibras de la planta podrían ser integradas al proceso de cogeneración de energía, empleándolas como combustible sólido.

Si la demanda de gasolina en México es de 191, 105, 980 L/día con la utilización de agave tequilana como materia prima en la producción de etanol combustible se satisfaría tal demanda durante casi **3 años**, empleando solamente los jugos extraídos del agave tequilana.

4.11.7. Análisis de una muestra de fibra de agave procedente del proceso de elaboración de tequila

A una muestra de fibra de piña de agave se le aplicó una hidrólisis ácida a condiciones moderadas de temperatura y concentración de ácido sulfúrico. A diferencia de la fibra que se analizó en un principio, la concentración de xilosa es un poco mayor que la concentración encontrada en la fibra procedente de un agave que no se sometió a ningún tipo de tratamiento térmico.

La concentración de xilosa en el hidrolizado de la fibra es de 13.48 g/L.

4.11.8. Aspectos ambientales en la producción de etanol combustible

La producción de etanol combustible genera residuos sólidos, emisiones atmosféricas y efluentes líquidas. Las emisiones atmosféricas corresponden principalmente al gas de la corriente de salida que proviene de los fermentadores. Los gases que salen contienen en su mayoría dióxido de carbono que es liberado hacia la atmósfera o en algunas ocasiones éste es usado para la producción de hielo seco y bebidas.

El etanol combustible presenta emisiones netas de CO₂ cercanas a cero debido a que la biomasa utilizada para su producción ya ha fijado el CO₂ durante su crecimiento y solo este dióxido de carbono es liberado durante la combustión del etanol. En contraste, la combustión de los combustibles fósiles liberan a la atmósfera cantidades adicionales de dióxido de carbono, mismo que se fijó hace millones de años por las plantas.

Los residuos sólidos de la producción de etanol pueden ser utilizados como combustible sólido debido a su alto contenido energético.

En el caso de la producción de etanol combustible a partir de materiales lignocelulósicos, la lignina es uno de los residuos generados con mayor valor energético, por lo tanto, es usado como combustible sólido para generar vapor que se alimenta a las unidades de co-generación de energía.

5. CONCLUSIÓN GENERAL

La planta de agave tequilana tiene potencial de ser utilizada de manera integral para la producción de etanol combustible a nivel piloto, debido a sus características como cultivo, su disponibilidad como materia prima y su contenido rico en azúcares fermentables en cada una de sus partes.

A diferencia de otras materias primas, el agave tequilana es un cultivo que ofrece características distintas y más atractivas: el poco uso de agua durante su crecimiento, la asimilación de CO₂, el casi nulo empleo de fertilizantes y pesticidas, la capacidad de desarrollo en climas extremos y en tierras marginales.

La disponibilidad de los residuos de la industria tequilera abren las posibilidades de utilizar este material lignocelulósico como fuente de azúcares para su posterior transformación en etanol.

Después de efectuar la caracterización de la planta de agave tequilana se resaltan los siguientes puntos:

- La mayor concentración de azúcares reductores se encuentra presente en los jugos provenientes de la piña y de la hoja, aunque en menor proporción en las hojas.
- El efecto de la temperatura sobre los polisacáridos que conforman los jugos del agave tequilana, genera una autohidrólisis que rompe los enlaces del polisacárido y lo descompone en monosacárido.
- A partir del análisis de cromatografía de líquidos los resultados indican la presencia de estos monosacáridos principales: fructosa, xilosa, arabinosa y glucosa.

La hidrólisis ácida a nivel piloto es un pretratamiento necesario para poder acceder a dichos monosacáridos y que posteriormente puedan ser fermentados por los microorganismos correspondientes. Cabe resaltar, que las condiciones óptimas de operación propuestas son aquellas en donde se alcanza la máxima concentración de azúcares disponibles para la fermentación.

Las condiciones óptimas de operación para ambas corridas experimentales, utilizando como materia prima fibra de hojas y de piña, de hidrólisis ácida son: **1h, 120 °C y 2% de H₂SO₄**.

De acuerdo a los resultados de la hidrólisis ácida, la hemicelulosa es la principal parte hidrolizada, ya que se obtienen principalmente fracciones de xilosa en mayor proporción.

La hidrólisis ácida a nivel piloto de la fibra de la piña arroja mejores resultados que la hidrólisis ácida de la fibra de las hojas.

Por lo tanto, la cantidad total de azúcares fermentables presentes en los jugos, de piña y hojas, es de: **370.43 g/L**. Mientras que, la cantidad total de azúcares fermentables presentes en la fibra, de piña y hojas, después de la hidrólisis ácida a nivel piloto es de: **61.18 g/L**.

Tan solo a partir de los jugos disponibles de toda la planta de agave se puede producir una cantidad importante de etanol, tomando en cuenta que en algunos procesos se puede utilizar las fibras restantes como combustible sólido y así integrarlo al sistema de cogeneración de energía del proceso.

De la zona de DOT existe la posibilidad de utilizar una gran cantidad de residuos de la industria tequilera que tienen potencial de ser procesados hacia biocombustibles una vez que reciban el pretratamiento adecuado. Mientras que fuera de la DOT, se encuentra disponible más del 50% del territorio nacional para el cultivo de agave tequilana para su uso integral como materia prima.

Por otra parte, las fibras de agave tequilana tienen el potencial de ser utilizadas como materia prima para la producción de etanol; sin embargo, es necesario efectuar un pretratamiento químico que incremente la cantidad de azúcares. La recomendación es utilizar una hidrólisis a condiciones moderadas, como las ya expuestas anteriormente. No obstante también cabe la posibilidad de utilizar dichas fibras como combustible sólido y satisfacer la demanda de etanol con la parte líquida de la planta.

6. REFERENCIAS

- [1] <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/i0139s/i0139s03.pdf> (Consulta 2012)
- [2] Sánchez – Cardona “*Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks*”; Bioresource Technology 99 (2008).
- [3] “*Industry statistics*”; Renewable Fuels Association (2007); <http://www.ethanolrfa.org> (Consulta 2012).
- [4] Ram B. Gupta, Ayhan Demibras; “*Gasoline, Diesel and Ethanol Biofuels from Grasses and Plants*”; First edition; Cambridge University Press.
- [4a] “*Ethanol Industry News: Daily Breaking News on World Sugar and Ethanol Market Industry*”; <http://www.sugarind.com/2011/08/world-top-20-ethanol-producing>; (Consulta 2012).
- [5] “*World ethanol production and trade to 2000 and beyond*”; Berg C. (1999); <http://www.distill.com/berg>; (Consulta 2012).
- [6] Sánchez O., Cardona C; “*Producción biotecnológica de alcohol carburante I: obtención a partir de diferentes materias primas.*”;(2005).
- [7] “*Ficha técnica: Vehículos con etanol*”; <http://www.conae.gob.mx/work/sites/CONAE/resources>; (Consulta 2012).
- [8] “*Mas energía, mas producción*”; BiodiSol (2009) <http://www.biodisol.com/biocombustibles/sekab-presenta-el-primer-etanol-sostenible-verificado-del-mundo-que-reduce-las-emisiones-en-un-85-biocombustibles-bioetanol-medio-ambiente>; (Consulta 2012).
- [9] Laser M., Schulman D., Allen SG., Lichwa J.; “*A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol*”; (2002); Bioresource Technology. 81 (1): 33-44.
- [10] “*Energías renovables*”; MILIARIUM, INGENIERIA CIVIL Y MEDIO AMBIENTE (2009);http://www.miliarium.com/Monografias/Energia/E_Renovables/Biomasa/Biomasa.asp; (Consulta 2012).

- [11] Cortínez Villalobos VA.; “*Comparación de pretratamientos en residuos forestales para la producción de bioetanol de segunda generación: hidrólisis ácida y líquidos iónicos*”. (2010).
- [12] García M.; http://micromiaturabajofinal.blogspot.com/2008/10/ventajas-y-desventajas-del-bioetanol_03.html; (Consulta 2012).
- [13] <http://www.ethanolrfa.org>; (Consulta 2012).
- [14] C.A. Cardona, Ó. J. Sánchez, L. F. Gutiérrez; “*Process synthesis for fuel ethanol production*”; CRC Press.
- [15] <http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohidratos2.htm>; (Consulta 2012).
- [16] <http://www.ecured.cu/index.php/Lignina>; (Consulta 2012).
- [17] <http://www.carbolea.ul.ie/area.php?=biorefining>; (Consulta 2012).
- [18] J.M. Hernández-Salas et al; 2009
- [19] http://www.europarl.europa.eu/meetdocs/2004_2009/documents/nt/692/692070/692070es.pdf; (Consulta 2013).
- [20] Wilkie, A.C., Riedesel, K.J., Owens, J.M.; “*Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks*”; (2000); Biomass and Bioenergy 19, 63–102.
- [21] Alessandro, 2007
- [22] http://www.energiaycambioclimatico.com/export/sites/foro/resources/pdf/programa_investigacion/investigacion/110111_SET_TE_01_Biocombustibles.pdf; (Consulta 2013).
- [23] S. C. Davis et al; 2011
- [24] Programa informático que permite explorar con facilidad una base de datos con información agrícola, pecuaria y pesquera. SAGARPA; <http://www.siap.gob.mx/> (Consulta 2012).

[25] Don Chambers, Joseph A. M. Holtum; “*Feasibility of Agave as a Feedstock for Biofuel Production in Australia*”; November 2010; Rural Industries Research and Development Corporation.

[26] Davis S., Dohleman F., Long S., (2011). Energy Biosciences Institute, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL, USA.

[27] Cedeño MC.; “Tequila production”; (1995); *Critical Reviews in Biotechnology*, 15, 1–11.

[28] Iñiguez-Covarrubias G, Lange SE, Rowell; “*Utilization of byproducts from the tequila industry: part 1: agave bagasse as a raw material for animal feeding and fiberboard production.*”; *RM* (2001); *Bioresource Technology*, 77, 25–32.

[29] Ávila Núñez, Rivas Pérez, Hernández Motzezak y Chirinos; “*Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en Agave cocui Trelease*”; Centro de Investigaciones en Ciencias Básicas, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda.

[30] García-García BA; “ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE AGAVE TEQUILERO”; Facultad de Ingeniería Química; Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2014.