

Informe final publicable de proyecto

Biorrefinerías a partir de residuos de Eucalipto: Producción de Bioetanol y Bioproductos

Código de proyecto ANII: FSE_1_2018_1_152998

16/06/2022

CLAVIJO PEÑA, Leonardo (Responsable Técnico - Científico)

MOURE, Santiago (Investigador)

D'ANDRADA PÉREZ, Constanza Eugenia (Investigador)

BONFIGLIO, Fernando (Investigador)

BÖTHIG GARGIULO, Silvia (Investigador)

CABRERA KOLESNICK, María Noel (Investigador)

CASSELLA ECHEZARRETA, Norberto (Investigador)

CONIGLIO MOSKOVICS, Rodrigo (Investigador)

FERRARI VIDAL, Mario Daniel (Investigador)

GARCÍA LLOBODANIN, Laura Andrea (Investigador)

GUIGOU BERRETTA, Mairan Denise (Investigador)

LAREO VARELA, Claudia (Investigador)

LARNAUDIE PLACHOT, Valeria Inés (Investigador)

XAVIER SAAVEDRA, Ana Lucía (Investigador)

BARIANI BREMERMAN, Melissa (Investigador)

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE INGENIERÍA (Institución Proponente) \\

FACULTAD DE INGENIERÍA. FUNDACIÓN JULIO RICALDONI (Institución Proponente) \\

LABORATORIO TECNOLÓGICO DEL URUGUAY. FUNDACIÓN LATITUD

Resumen del proyecto

El presente proyecto busca lograr el aprovechamiento integral del residuo forestal en un proceso de producción de un biocombustible (bio-etanol), mediante la producción de múltiples productos, de forma de beneficiarse de los distintos componentes de la materia prima y maximizar su valor.

Residuos forestales industriales fueron pretratados con solventes para separar los extractivos y compuestos fenólicos presentes en la madera. Luego se realizó un tratamiento alcalino para extraer hemicelulosas y lignina. Sobre la fracción sólida se realizó un proceso de hidrólisis enzimática y luego se fermentó para obtener bioetanol.

Se determinaron la combinación de solventes y la carga de éstos que maximiza la extracción de compuestos fenólicos. La corriente líquida obtenida de la extracción con solventes se caracterizó y se utilizó en la formulación de adhesivos. La lignina obtenida de la precipitación del extracto de la extracción alcalina, activada y sin activar, también se utiliza en la formulación de adhesivos, con una sustitución máxima del 30% de la resina PF en ambos casos. El adhesivo no pierde capacidad de adhesión ni se requieren mayores tiempos de prensado. Los resultados muestran que podrían utilizarse porcentajes de sustitución aún mayores.

Del extracto obtenido en la hidrólisis alcalina fue posible separar las hemicelulosas, mediante precipitación con etanol, con un rendimiento de 28.3 g/L. Los precipitados obtenidos serán utilizados para la producción de biofilms utilizando quitosano como copolimero y glicerol como plastificante.

Se realizaron ensayos de hidrólisis enzimática a la fracción celulósica utilizando una carga de sólidos del 16% y una dosis enzimática de 15 FPU/gSS. Se observó que un aumento de la temperatura, del tiempo de reacción y de la concentración de soda mejoró significativamente la eficiencia de hidrólisis enzimática. El sólido en la mejor condición seleccionada de pretratamiento se fermentó en la modalidad PSSF con diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. El final de la fermentación con algunas cepas se alcanza a las 24 hs, y en otros casos a las 36 hs. Las fermentaciones bajo la modalidad PSSF con distintas cargas de sólidos y dosificación de enzima de 25 FPU/glucano muestran que un aumento en la carga de sólidos de 13 a 16 y 19% redujo la eficiencia de etanol y no aumentó significativamente el etanol producido. Para una carga de sólidos del 16%, la configuración SHF presentó la mayor concentración de etanol, eficiencia y rendimiento de etanol, sin embargo, la productividad es menor ya que se tiene en cuenta las 72 h de hidrólisis enzimática previa; sin embargo, el tiempo de fermentación fue relativamente bajo.

Trabajando en un reactor de laboratorio de 5 L diseñado para procesar altas cargas de sólidos, utilizando la modalidad de hidrólisis enzimática del material pretratado durante 72 h con una carga de sólidos de 16%, seguida de la fermentación se logró una concentración final de etanol de 54 g/L, con una productividad de 0.65 g/Lh y una eficiencia de fermentación del 74%, alcanzando un rendimiento de etanol por tonelada de aserrín de 229 L/t.

Del análisis tecnoeconómico se concluye que el precio de venta mínimo del etanol es de 2.05 USD/L, lo que evidencia la necesidad de mejorar el proceso para bajar los costos. La mayor contribución al costo variable son la materia prima, la soda y las enzimas.

En lo que respecta al uso de energía fósil no renovable, se utilizan 2.31 MJ por cada MJ de etanol. Esto equivale a un EROI (energy return on investment) de 0.43 MJetanol/MJfósil. El mayor impacto es generado por la fabricación de enzimas (55%), seguido por la soda (21%) y el transporte de insumos y productos (18%).

El potencial de calentamiento global asociado a la producción y distribución del etanol combustible es de 46.8 ± 3 gCO₂eq/MJetanol. A este valor se le puede sumar unos 70 gCO₂eq/MJetanol asociados a la combustión del etanol, lo que da un valor de 116.8 gCO₂eq/MJetanol.

Ingeniería y Tecnología / Ingeniería Química / Ingeniería de Procesos Químicos / Ingeniería de Procesos Forestales

Palabras clave: Biorrefinerías / Residuo / Eucalipto /

Introducción

La producción de múltiples productos bajo el concepto de biorrefinerías forestales, a partir del fraccionamiento de la biomasa, es la manera de maximizar el valor de ésta como materia prima. Particularmente este proyecto propuso lograr un aprovechamiento integral de los residuos forestales industriales (aquellos producidos en aserraderos y plantas de celulosa) mediante la producción de bioetanol como producto principal en volumen y el aprovechamiento de los derivados de lignina, extractivos y hemicelulosas como base para compuestos de mayor valor agregado.

Se utilizaron residuos forestales industriales que fueron pretratados con agentes extractores (agua o disoluciones alcalinas de hidróxido sódico, sulfito de sodio, mezclas de ambos o mezclas de sulfito sódico y urea) para separar los extractivos y compuestos fenólicos presentes en la madera. Luego se realizó una hidrólisis básica con NaOH para extraer las hemicelulosas y parte de la lignina. Sobre la fracción sólida rica en celulosa, se realizaron procesos de hidrólisis enzimática y fermentación para obtener bioetanol.

La corriente líquida obtenida en la pre-extracción con solventes se concentró a vacío y se aislaron polifenoles, que fueron caracterizados químicamente y en términos de su tamaño molecular, para ser luego utilizados como materia prima para la elaboración de adhesivos fenólicos para madera. Sobre la corriente líquida proveniente de la hidrólisis alcalina, se separaron las hemicelulosas y la lignina. Tanto las hemicelulosas como la lignina fueron caracterizadas químicamente y en términos de su tamaño molecular.

La lignina fue evaluada para ser utilizada en la fabricación de adhesivos junto con los polifenoles y se obtuvieron hemicelulosas de alto peso molecular para utilizarlas en la producción de biofilms.

1. EXTRACCIÓN CON SOLVENTES

En esta etapa se propone la extracción de compuestos fenólicos. En particular se quiere evaluar las propiedades de los extractos obtenidos para el empleo como adhesivos y/o antioxidantes naturales.

El proceso que se propone para la extracción de compuestos fenólicos es por métodos convencionales, evaluando diferentes condiciones de extracción, analizando el tipo de agente de extracción (agua o disoluciones alcalinas de hidróxido sódico, sulfito sódico, mezclas de ambos o mezclas de sulfito sódico y urea) y las condiciones de operación (concentración de agente extractor y temperatura) sobre el rendimiento de extracción y las propiedades de los extractos en cuanto al número de Stiasny, contenido total de fenoles, distribución de peso molecular y capacidad antioxidante. El extracto líquido obtenido se utilizará para el estudio de la formulación de adhesivos. En caso de ser necesario se lo concentrará en estufa de vacío.

2. EXTRACCIÓN DE HEMICELULOSAS Y LIGNINA

Los pretratamientos alcalinos pueden separar la lignina y hemicelulosas de la celulosa y aumentar la eficiencia de hidrólisis enzimática de la celulosa [1] [2]. Utilizan condiciones más suaves que los métodos ácidos e hidrotérmico, lo que elimina la necesidad de materiales costosos y diseños especiales para enfrentar la corrosión. Particularmente se encuentran antecedentes trabajando entre temperatura ambiente y 160°C, tiempo entre 15 minutos y 12 horas y cargas de álcali de 0-15% [3] [4] [5] [6]. La fuente alcalina más comúnmente usada es el hidróxido de sodio (NaOH), en cuyo caso es posible recuperar y reutilizarlo. [1] [6]. En este proyecto, se seleccionó como método de fraccionamiento de la matriz lignocelulósica el de hidrólisis alcalina con NaOH. Se establecieron las mejores condiciones de extracción tomando en cuenta los rendimientos y calidad del extracto en términos del contenido de hemicelulosas y lignina, así como en la cantidad de celulosa obtenida en la fracción sólida resultante. El sólido luego de este proceso se utilizó para la producción de bioetanol. Sobre el extracto líquido se precipitó la lignina acidificando el medio hasta pH 7 (condiciones en las que no se degradan las hemicelulosas). Sobre el líquido obtenido se separaron las hemicelulosas mediante la utilización de solventes y se caracterizaron los productos obtenidos. La precipitación de las fracciones de polisacáridos mediante la adición fraccionada de solventes orgánicos miscibles en soluciones acuosas es uno de los métodos más utilizados de recuperación y purificación de hemicelulosas. El etanol es el solvente más utilizado, pero también se han reportado trabajos con metanol, acetona, y otros solventes orgánicos. [7]

3. PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

Una vez que se consigue separar la celulosa de las hemicelulosas y de la lignina, es necesario liberar la glucosa de dicha macromolécula. La hidrólisis de la celulosa es preferible realizarla en forma enzimática con celulasas, para minimizar

inhibiciones posteriores causadas por los co-productos de una hidrólisis química por ejemplo. La dosis de enzima necesaria para alcanzar un porcentaje de glucosa y rendimientos de etanol aceptable depende mucho de la materia prima y el método de pretratamiento utilizado [3] Los efectos cinéticos en la sacarificación enzimática de los LCM están relacionados en gran parte por la presencia de polímeros y tensoactivos no iónicos asociada parcialmente a la eliminación de la inhibición de la lignina y la estabilidad y activación de celulosa. [9] El microorganismo comúnmente utilizado en la fermentación a escala industrial es la levadura *Saccharomyces cerevisiae* ya que es un microorganismo robusto con gran tolerancia a altas concentraciones de etanol, a la presencia de inhibidores, y tiene altos rendimientos de producción. [4]. La hidrólisis de la celulosa previa a la fermentación (SHF) con *S. cerevisiae* es la metodología más antigua utilizada. Para aumentar el rendimiento en la obtención de etanol es común utilizar procesos integrados. La hidrólisis y fermentación simultáneas (SSF), consiste en la consolidación de la hidrólisis enzimática de la celulosa y la fermentación en un solo paso. Este método ha resultado ser uno de los más eficientes en la obtención de etanol ya que reduce la inhibición por producto de las enzimas, y el número de reactores utilizados. Sin embargo, la hidrólisis enzimática se realiza a una temperatura menor a la óptima para las enzimas (~50°C). Generalmente se elige una temperatura intermedia, que sea tolerable para el microorganismo y que las enzimas puedan tener un buen desempeño. [5] [4].

4. VALORIZACIÓN DE HEMICELULOSAS

A partir de las alternativas de extracción más prometedoras se estudió la purificación de las hemicelulosas de interés por filtración con membranas, precipitación con solventes y resinas de intercambio y adsorción. Particularmente se trabajó en mayor profundidad en la precipitación con solventes, ya que de la experiencia obtenida con las metodologías mencionadas en el marco del trabajo de tesis de doctorado de Cabrera, se concluyó que era la tecnología más aplicable para este tipo de muestras. El tratamiento previo para remover extractivos y compuestos fenólicos, se pretende que disminuya los problemas contaminación de los precipitados obtenidos. Se investigó la precipitación con etanol en diferentes condiciones a fin de establecer las mejores condiciones de precipitación. La novedad de este trabajo radicó en el estudio de la purificación de hemicelulosas obtenidas a partir de aserrín de eucalipto, de los cuales hay pocos reportes. La precipitación con solventes utiliza equipamiento económico disponible comercialmente (frente a otras tecnologías), lo que lo hace fácilmente escalable y por ello es un método con un muy buen potencial para el fraccionamiento de polisacáridos. [6].

Normalmente, los polisacáridos se encuentran disueltos en soluciones acuosas, donde las moléculas de polisacárido están unidas con moléculas de agua por enlaces de hidrógeno, que permiten mantenerlos en solución. Al agregar agentes deshidratantes como el etanol o isopropanol, se rompen estos enlaces, ocurriendo la precipitación de los polisacáridos. La constante dieléctrica de un solvente está estrechamente relacionada con su capacidad para aumentar las fuerzas de atracción entre moléculas de soluto, por lo que al agregar un solvente con una constante dieléctrica menor se pueden producir cambios conformacionales en el polímero, aumentar su agregado y precipitarlo. [11] [12]

5. VALORIZACIÓN DE POLIFENOLES Y DE LIGNINA

Si bien existen varias posibilidades para la valorización de los polifenoles y la lignina obtenida en el proceso de fraccionamiento, en este proyecto se plantea la evaluación de su desempeño en la formulación de adhesivos para madera, particularmente los adhesivos basados en resinas fenol-formaldehído.

Los adhesivos se formulan conteniendo la resina fenol-formaldehído, junto con otros sólidos que actúan como extenders o como cargas, soda (para controlar el pH) y agua. A partir de resina fenol-formaldehído industrial se formuló un adhesivo que actuará como blanco. Luego se fabricaron distintas formulaciones a partir de resinas fenol-formaldehído, pero incluyendo lignina y polifenoles que actuarán como extenders. A su vez, se utilizó la lignina tal como se obtuvo al ser precipitada del licor del tratamiento alcalino, como lignina que fue activada químicamente por distintos métodos. En base a trabajos previos, se utilizaron cuatro porcentajes de sustitución de resina PF (0, 10, 20 y 30%). Se determinó la temperatura de curado del adhesivo utilizando un calorímetro diferencial de barrido. Se encolaron probetas de madera de pino, utilizando una prensa caliente a una temperatura superior a la temperatura de curado. A las probetas acondicionadas por 15 días en cámara a temperatura y humedad controlada, se les determina su módulo de ruptura en una máquina universal. En todos los casos se obtuvieron resultados comparables al adhesivo sin lignina, por lo que se concluye que la sustitución en hasta un 30% de resina PF por lignina no perjudica la calidad del encolado

6. ANÁLISIS TECNO-ECONÓMICO Y AMBIENTAL

Se evaluó del uso de la energía y de la materia prima usando un software específico para el modelado y simulación (Aspen Plus). Para ello se identificaron los principales procesos, equipos principales, diferentes configuraciones de flujos y de equipos auxiliares, mediante un proceso iterativo de optimización. Se utilizó como base el modelo desarrollado por el

National Renewable Energy Laboratory para la producción de bioetanol a partir de rastrojo de maíz [54], y el conocimiento generado por este equipo de investigación al realizar modelos previos para la producción de bioetanol a partir de boniato y sorgo dulce [11] [12] y producción de diésel renovable a partir de materiales lignocelulósicos. El modelo se ajustó a las condiciones de producción nacional, así como a datos experimentales y utilizará los datos bibliográficos pertinentes. Se utilizó como insumo principal los datos obtenidos en la tesis de doctorado de Larnaudie.

Los resultados obtenidos de la simulación sobre el uso de materia y energía fueron utilizados para determinar el precio mínimo de venta del etanol mediante un análisis de flujo de caja descontado, para evaluar la energía fósil consumida y las emisiones de gases de efecto invernadero mediante análisis de ciclo de vida, realizado en el software Sima Pro.

Metodología/diseño del estudio

La estrategia de investigación ha sido la producción de bioetanol a partir de madera de eucalipto a partir del fraccionamiento de la biomasa. Conceptualmente, fraccionar una materia prima en vez de pretratarla, implica la producción paralela de múltiples productos, como ser combustibles de bajo valor y en alta cantidad, y de productos químicos de mayor valor en menor cantidad, como actualmente se hace en la industria petroquímica. Al desarrollar procesos de fraccionamiento análogos para la biomasa, al proporcionar flujos de proceso separados de celulosa, hemicelulosa, lignina y extractivos, la industria de la biorrefinización podrá reconocer las ventajas sinérgicas de producir energía y beneficios.

Los residuos industriales de Eucalipto fueron provistos por la planta local de pulpa de celulosa UPM, Fray Bentos. El uso de la madera de Eucalipto para producir pulpa de celulosa está aumentando rápidamente, especialmente en América del Sur. En particular, Uruguay produjo casi tres millones de toneladas de pulpa de eucalipto en 2020 y se espera producir más de 5 millones de toneladas cuando esté operando a pleno la planta de UPM-Paso de los Toros, que está en fase final de construcción en este momento. En las plantas de celulosa, se forman pequeños trozos de madera (pinchips y finos) durante el astillado, que representan el 1-2% de la madera descortezada. No califican para ser procesados por pulpa debido a su pequeño tamaño. La valorización de los residuos de madera de estas industrias para la producción de bioetanol y otros productos de valor agregado se ha considerado una estrategia interesante para mejorar los ingresos. Además, permite aprovechar las instalaciones y servicios industriales y la logística de recolección y transporte de la madera ya disponible para mejorar el desempeño financiero.

Se realizó la caracterización fisicoquímica de los residuos de acuerdo a los protocolos establecidos por el laboratorio NREL. Se realizó un acopio de alrededor de 50 Kg al comienzo del proyecto, conservándose en condiciones que permitieron su uso a lo largo del tiempo.

1. EXTRACCIÓN CON SOLVENTES

1.1 Ensayos preliminares

Se realizaron ensayos preliminares para seleccionar las variables e intervalos de operación para el diseño experimental. En particular se analizó el efecto del solvente de extracción y la temperatura sobre el rendimiento y diferentes propiedades de los extractos (contenido fenólico, número de Stiasny), con el objetivo de evaluar las propiedades de los extractos obtenidos para el empleo como adhesivos y/o antioxidantes naturales. Las extracciones se llevaron a cabo con agua o disoluciones alcalinas de hidróxido sódico, sulfito sódico, mezclas de ambos, mezclas de sulfito sódico y urea a 80 y 100 °C. Estos solventes fueron seleccionados porque muchos de ellos son los que normalmente son utilizados para la extracción de compuestos fenólicos a partir de matrices vegetales para el uso en adhesivos de madera [15] [16] Las extracciones se realizaron en un baño termostatzado con polietilenglicol, con 8 recipientes cilíndricos con eje giratorio de 300 mL de acero inoxidable 316 (Fibretec Inc., India) por una hora, con una relación sólido/líquido de 1/7 (g/mL).

1.2 Diseño experimental

A partir de los ensayos preliminares, se realizó un diseño de experimentos factorial incompleto 2^3 y se aplicó la metodología de superficies de respuestas para determinar las mejores condiciones de la extracción del aserrín de eucalipto.

Se analizó la influencia de la temperatura y concentración de NaOH y Na₂SO₃ sobre diversas variables dependientes: el contenido total de fenoles, el rendimiento de extracción y el número de Stiasny. En base a los modelos resultantes para cada variable dependiente analizada se construyeron las superficies de respuesta. A partir de las mismas se seleccionó la mejor condición evaluando las propiedades de los extractos obtenidos para el empleo como adhesivos. En la condición seleccionada se le determinó actividad antioxidante FRAP Y DPPH.

2. HIDRÓLISIS ALCALINA

Luego de la extracción de polifenoles, el sólido fue sometido a una etapa de hidrólisis alcalina con NaOH. Se realizó un diseño factorial 3^2 , tomando como parámetros, tiempo, temperatura y carga de álcali. Previamente al proyecto se tenía información acerca de las mejores condiciones para realizar el tratamiento, cuando la madera no es pretratada. El diseño desarrollado permitió estudiar el efecto de realizar el pretratamiento de extracción con solventes en la posterior hidrólisis alcalina. Se ensayaron 3 temperaturas entre 105 y 155°C, dos cargas de NaOH de 17 y 23% y 3 tiempos de reacción a temperatura máxima: 45 a 135 minutos, para una relación licor: madera fija de 5.

En las fracciones líquidas se analizó: pH, sólidos disueltos, carbohidratos y productos de degradación (furfural, hidroximetilfurfural, etc.), ácidos orgánicos y lignina disuelta con los procedimientos de NREL y la técnica de Folin para esta última. Se determinó el rendimiento del proceso mediante la diferencia de masa en la fracción sólida y el álcali residual en la fracción líquida. Las fracciones sólidas se caracterizaron en términos de su composición en carbohidratos, lignina, ácidos orgánicos y cenizas de acuerdo con los protocolos establecidos por el laboratorio NREL.

Se evaluó el proceso de hidrólisis enzimática (sacarificación) de la fracción sólida celulósica obtenidas de los distintos pretratamientos a escala de matraces agitados. Para ello se utilizó el complejo enzimático CelliCTec 2 de Novozyme (dosis enzimática 15 FPU/g sólido) y se trabajó a 50°C, 150 rpm, haciendo seguimiento hasta las 96 h.

La mejor condición de extracción determinada en función de los resultados obtenidos para la producción de lignina, bioetanol y xilanos, se repitió a mayor escala de forma de obtener licor suficiente para continuar con los ensayos de producción de adhesivos a partir de lignina y de biofilms a partir de xilanos presentes, ambos obtenidos en el licor obtenido, así como los ensayos de fermentación para la producción de bioetanol a partir del sólido.

3. PRECIPITACIÓN DE LIGNINA

En la fracción líquida de la hidrólisis básica, se precipitó la lignina mediante la acidificación de esta corriente. Este procedimiento es conocido por el grupo proponente [17] [18] [19] La acidificación se realizará hasta pH 7 a 80°C, condiciones que, de acuerdo a experiencia previa, no precipitan las hemicelulosas. Se utilizaron dos ácidos minerales distintos: sulfúrico y clorhídrico.

El residuo obtenido se lavó dos veces con agua acidulada a pH 2. Se determinó el rendimiento de la extracción y las características fisicoquímicas de la lignina obtenida en términos de contenido de grupos carbonilo y grupos OH fenólicos, espectroscopía ATR-FTIR, análisis de la relación siringilo/guaiacilo y determinación de la distribución de pesos moleculares mediante GPC.

4. SEPARACIÓN DE HEMICELULOSAS

El licor original y sobre el líquido obtenido luego de precipitar la lignina se utilizó para la recuperación de hemicelulosas. Se realizó el procedimiento que se indica a continuación sobre todas los licores obtenidos en el diseño experimental realizado en el ítem 2. Se utilizó la estrategia de precipitación con etanol. En el caso de los ensayos sobre licor original, el etanol se agregó directamente sobre el mismo, mientras que en los casos de ajuste de pH se utilizó el licor sobrenadante, luego de la precipitación de lignina a pH 7 o se ensayó un ajuste de pH con ácido clorhídrico. Se compararon ambas estrategias. Se utilizaron condiciones de precipitación establecidas en el Doctorado de Cabrera para esta materia prima. Estas fueron, agregado de 1 Volumen de Etanol, agitación magnética a temperatura ambiente por 30 minutos, decantación del precipitado por 48 horas a 4°C y separación por centrifugación a 3000 g durante 20 minutos. El precipitado resultante se separó del sobrenadante y se enjuagó con etanol, para luego secarlo en estufa a 37°C. Sobre el precipitado obtenido se determinó el rendimiento de precipitación, se analizó por espectroscopía FTIR-ATR y se redisolvió en NaOH 0.1 M para su posterior análisis físico químico. Los precipitados disueltos se analizaron en términos de sólidos disueltos, carbohidratos y ácidos presentes, lignina y polifenoles Alen y Hartus y distribución de peso molecular por HPLC-SEC. Sobre algunas muestras se determinó el contenido de cenizas. El precipitado obtenido a partir de la mejor condición extracción se utilizará para la producción de biofilms utilizando quitosano de alto peso molecular como co-polímero y glicerol como plastificante.

5. FORMULACIÓN DE ADHESIVOS

Se formuló un adhesivo que actuará como blanco, en base a resina fenol-formaldehído industrial, provista por una empresa de plaza, con harina de trigo y harina de nuez como fillers, soda y agua. Este adhesivo actuará como blanco. Se determinó su viscosidad y la temperatura de curado mediante un calorímetro de barrido diferencial.

Se realizó un diseño experimental para la formulación de adhesivos con diferentes porcentajes de sustitución de resina fenol-formaldehído por lignina y por polifenoles. En el caso de la lignina, se agregó lignina tal cual fue obtenida del proceso

de precipitación, así como lignina activada mediante distintas técnicas (por un lado metilación y por otro fenólisis) Se determinó en todos los casos la viscosidad del adhesivo resultante y su temperatura de curado. Con ellos se fabricaron probetas de madera de pino, las cuales fueron prensadas en caliente. Se utilizó el mismo tiempo y temperatura de prensado en todos los casos. Se determinó la resistencia mecánica de las probetas, luego de ser acondicionadas por 15 días en un ambiente de temperatura y humedad controlada.

6. OBTENCIÓN DE BIOETANOL

Los ensayos de hidrólisis y fermentación se hicieron a escala de laboratorio usando matraces agitados de 250 mL, conteniendo 100 mL de medio. Se evaluó la fermentabilidad del hidrolizado celulósico utilizando tres cepas industriales de *Saccharomyces cerevisiae* (Pe-2, CAT y Thermosacc), utilizando las modalidades prehidrólisis e hidrólisis y fermentación simultánea (PSSF). Se estudiaron otras dos estrategias del proceso de hidrólisis y fermentación: sacarificación y fermentación simultáneas (SSF) y prehidrólisis y fermentación separadas (SHF). El seguimiento de la fermentación se realizó mediante medida de azúcares, etanol, glicerol, y recuento celular. Se evaluó el rendimiento de etanol, concentración final de etanol, eficiencia global y velocidad del proceso. Se usó metodología de balance de materiales y de cinética para el cálculo de tales parámetros. La mejor condición se validó en el reactor de laboratorio Labfors-5 BioETOH Infors HT de 5L.

7. ANÁLISIS TECNO-ECONÓMICO Y AMBIENTAL

En función de los datos experimentales obtenidos se decidió evaluar el uso de la energía y de la materia prima del proceso industrial de producción de etanol a partir de la fracción celulósica, destinando las otras fracciones (hemicelulosa, lignina) a la generación de energía por quema en caldera. Se usó un software específico para el modelado y simulación (Aspen Plus).

Se identificaron los principales procesos, equipos principales, diferentes configuraciones de flujos y de equipos auxiliares, mediante un proceso iterativo de mejora. Se utilizó como base el modelo desarrollado por el National Renewable Energy Laboratory para la producción de bioetanol a partir de rastrojo de maíz [54]. El modelo se ajustó a las condiciones de producción nacional, así como a datos experimentales y bibliográficos pertinentes.

La capacidad base de la planta se considera en 70000 ton/año. Considerando que la planta trabaja 350 días al año las 24 horas (8500 horas), la planta debe procesar 8.2 ton/h (base seca)(196.8 ton/día). Los rendimientos del pretratamiento, hidrólisis y fermentación fueron tomados de las mejores condiciones obtenidas en el laboratorio en este proyecto. Como metodología para el análisis económico se realizó un análisis de flujo de caja descontado, estimando el precio de venta mínimo de etanol, con los datos obtenidos del proceso de simulación y las mejores cotizaciones disponibles.

Para realizar el análisis ambiental se realizó el análisis de ciclo de vida del proceso (ACV), centrado en analizar las emisiones de gases de efecto invernadero y el consumo de energía fósil no renovable del proceso (análisis "mid point"). Se utilizó la metodología aplicada por este grupo en la tesis de doctorado de Valeria Larnaudie "Sustainable production of fuel bioetanol from switchgrass in Uruguay". Los datos de primer plano (información directa del proceso) fueron obtenidos de la simulación (fase industrial) y de comunicaciones personales con el Ingeniero agrónomo Santiago Ferrando (fase agrícola). Los datos de fondo se obtendrán de bases de datos del software SimaPro. El objetivo de este estudio fue evaluar qué fase (agrícola o industrial) o qué etapa del proceso es crítica del punto de vista de las emisiones de efecto invernadero y del consumo de energía, como insumo para la mejora.

Resultados, análisis y discusión

1. CARACTERIZACIÓN DEL ASERRÍN

Se trabajó con dos lotes de aserrín durante el proyecto, que fueron secados hasta una humedad inferior al 10% para su almacenamiento. La composición promedio del mismo fue la siguiente: glucanos: 44.8 %, xilanos: 13.8%, arabinanos: < 0.3%, lignina insoluble en ácidos: 25.3%, lignina soluble en ácidos: 2.8%, grupos acetilos: 4.5%, cenizas 0.16%, extractivos en agua-etanol: 4.8%.

2. EXTRACCIÓN CON SOLVENTES

2.1 Estudio Preliminar

Los resultados del estudio preliminar permitieron seleccionar los agentes extractores y las variables e intervalos de operación para el diseño experimental. Los mejores resultados de rendimiento y contenido fenólico se obtuvieron en las extracciones con mezclas de NaOH y Na₂SO₃ al 5%, seguida por las extracciones con mezclas de NaOH y Na₂SO₃ al 1.5%. Si bien los mayores números de Stiasny se obtuvieron con 1.5% de urea, con este agente extractor se obtuvieron

rendimientos y contenido fenólico muy bajos. Por lo tanto, se propone para el diseño experimental usar como agente extractor a mezclas de Na₂SO₃ y NaOH a diferentes concentraciones. Además trabajos previos han estudiado el uso de mezclas de Na₂SO₃ y NaOH para extraer compuestos fenólicos a partir de materiales similares con buenos. [15] [16]

2.2 Análisis de la influencia de las condiciones de extracción mediante un diseño de experimentos

Se analizó la influencia de las condiciones de extracción del aserrín del *Eucalyptus grandis* con el objetivo de obtener valores altos del número de Stiasny, junto con altos valores de rendimiento de extracción y contenido fenólico. Las variables independientes que se estudiaron fueron la concentración de NaOH, la concentración de Na₂SO₃ y temperatura. Se observó que los rendimientos obtenidos en las distintas condiciones variaron entre 7.61 y 22.17%, el número de Stiasny entre 7.13 y 42.22 y el contenido fenólico entre 15.01 y 38.66 mg ácido gálico equivalente (GAE)/ g aserrín b.s..

Se observó que el rendimiento de extracción y el contenido de fenoles aumenta al aumentar las concentraciones de sulfito sodio e hidróxido de sodio y también al aumentar la temperatura. Por otro lado, el número de Stiasny de los extractos decrece al aumentar las concentraciones de sulfito de sodio e hidróxido de sodio. Sin embargo, al variar la temperatura el número de Stiasny presenta un máximo de 100 °C. En resumen, la extracción a 100 °C. con la concentración más baja de Na₂SO₃ y NaOH (1%) conduce a los mayores valores del número de Stiasny, pero a un menor contenido en fenoles totales y rendimiento de extracción. Por lo tanto, se elige una solución que utilice una temperatura intermedia (100 °C) y una baja concentración de NaOH (1%) con el objetivo de tener valores altos de Stiasny y una concentración de Na₂SO₃ intermedia (3.6%) que permita aumentar el rendimiento a valores aceptables (>10%) sin reducir demasiado el contenido de fenoles de los extractos

En las condiciones seleccionadas además se les determinó la capacidad antioxidante de los extractos, determinada mediante el método FRAP y la capacidad de atrapamiento del radical DPPH, resultando una actividad antioxidante FRAP de 0.58±0.02 mmol de ácido ascórbico equivalente / g de aserrín b.s. y una capacidad de inhibición del radical DPPH de 0.15±0.01 mmol de trolox/ g aserrín b.s., valores comparables con la bibliografía para materiales similares. [15]

3. HIDRÓLISIS ALCALINA

Luego del primer tratamiento alcalino con soda y bisulfito en las condiciones óptimas seleccionadas, se obtuvo un rendimiento de recuperación de sólidos mayor al 90%, logrando separar principalmente los extractivos del aserrín. La composición del sólido resultante fue de 14.9 ± 1.5% xilano, 49.8 ± 0.2% glucano, 4.1 ± 0.3% grupos acetilos y 28.1 ± 0.2% de lignina total.

Dado que ya se tenía información previa obtenida en proyectos anteriores se realizó un diseño experimental ajustado a un rango específico de condiciones para el segundo tratamiento alcalino con soda. Los rendimientos obtenidos se encontraron entre 62 y 85 %. El contenido de xilanos varió entre 1.8 y 3.4 %, lo que corresponden a 13.0 a 24.4 % del contenido de xilanos en la madera original. El pH de las soluciones resultantes fue siempre mayor a 12 lo que indica un remanente de álcali en la solución. En cuanto a los sólidos obtenidos luego del segundo tratamiento alcalino los valores de xilano estuvieron entre 12 y 13%, el glucano estuvo entre 59 y 77%, los grupos acetilos entre 1 y 3% y el contenido de lignina fue del 15 al 29%

4. HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA Y OBTENCIÓN DE ETANOL

Se realizaron ensayos de hidrólisis enzimática a la fracción celulósica resultante del tratamiento alcalino a modo de comparar los diferentes tratamientos realizados, utilizando una carga de sólidos del 16% y una dosis enzimática de 15 FPU/gSS. Se obtuvieron eficiencias de hidrólisis enzimática respecto al material pretratado entre 5 y 71%, resultando la condición más efectiva para hidrolizar celulosa: 155°C, 45 min, 0,23 g_NaOH/g_aserrín. Un aumento de la temperatura, del tiempo de reacción y de la concentración de soda, mejoró significativamente la eficiencia de hidrólisis enzimática de la fracción sólida pretratada. Se observa una notoria mejoría tanto en la concentración de glucosa final, la eficiencia de hidrólisis y el rendimiento de producción de glucosa respecto al aserrín por encima de los 155°C. La temperatura es la variable que más afecta estos parámetros en el rango de variables estudiado.

El sólido con la condición seleccionada de pretratamiento se fermentó en la modalidad PSSF (24 h de prehidrólisis, 16% de sólidos y 25 FPU/glucano), con diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* industriales (Pe-2, Thermosacc, CAT) y CAT 3.2 (cepa modificada genéticamente). Las cepas Pe-2 y CAT tuvieron una mayor productividad ya que alcanzaron el final de fermentación a tan solo 24 h, frente a las 36 h de Thermosacc y CAT 3.2. La cepa CAT 3.2 modificada mejoró la eficiencia de etanol y la eficiencia global respecto a la CAT salvaje. La levadura Thermosacc mostró una producción de etanol ligeramente mayor a las otras cepas. Se decidió seguir trabajando con la cepa Thermosacc para evaluar diferentes cargas de sólidos y modalidades de hidrólisis y fermentación, ya que además la temperatura de fermentación de trabajo de esta cepa es más alta y se consideró beneficiosa para las configuraciones simultáneas.

Las fermentaciones bajo la modalidad PSSF con distintas cargas de sólidos, dosificación de enzima de 25 FPU/glucano y

utilizando la levadura industrial Thermosacc, muestran que un aumento en la carga de sólidos de 13 a 16 y 19% redujo la eficiencia de etanol y no aumentó significativamente el etanol producido (37, 41 y 40 g/L respectivamente). Estos resultados muestran el impacto de los problemas de difusión y transferencia de masa en la hidrólisis enzimática, y la importancia de una buena agitación

Para una carga de sólidos del 16%, la configuración SHF presentó la mayor concentración de etanol (49 g/L), eficiencia de etanol (67%) y rendimiento de etanol (193 L/t). Su productividad es menor ya que se tiene en cuenta las 72 h de hidrólisis enzimática previa; sin embargo, el tiempo de fermentación fue relativamente rápido (12 h).

Luego se procedió a trabajar en el reactor de laboratorio de 5 L diseñado para procesar altas cargas de sólidos, utilizando la modalidad de hidrólisis enzimática del material pretratado durante 72 h con una carga de sólidos de 16%, seguida de la fermentación con Thermosacc. Tanto las 72 h de hidrólisis enzimática previas, como la producción de etanol se vieron mejoradas al trabajar con el reactor. Se logró una concentración final de 54 g/L, con una productividad de 0.65 g/Lh y una eficiencia de fermentación del 74%, alcanzando un rendimiento de etanol por tonelada de aserrín de 229 L/t.

5. LIGNINA

Para las ligninas precipitadas se determinó su concentración de grupos fenólicos, resultando en valores entre 0.6 y 3.6 mmol/g dependiendo de la condición de extracción. Se determinó la relación S/G (siringilo/guayacilo) resultando entre 2.2 y 2.9. Los espectros FTIR de las ligninas precipitadas son similares, no evidenciándose diferencias en su composición con las condiciones del pretratamiento. Se midió la temperatura de transición vítrea obteniéndose valores entre 120 y 160°C y la distribución de pesos moleculares por GPC, obteniéndose valores entre 1100 y 3500 Da.

La lignina de la mejor condición del proceso de hidrólisis alcalina fue activada mediante una técnica de metilación con formol y mediante fenólisis. Para la formulación de adhesivos se utilizaron tanto la lignina precipitada, como las ligninas posteriormente activadas.

6. ADHESIVOS

Se preparó un adhesivo utilizado como blanco conteniendo resina PF provista por la empresa Hexion y agregando como fillers harina de trigo y de nuez, soda y agua. Luego se preparan formulaciones sustituyendo un 10, 20 y 30% la resina PF por la lignina precipitada en la mejor condición del tratamiento alcalino y la misma lignina activada por metilación y por fenólisis. También se fabricaron adhesivos sustituyendo el 10, 20 y 30% con el extracto obtenido en el primer pretratamiento.

Se fabricaron probetas de madera de pino de acuerdo al estándar EN205:2016, utilizando una prensa caliente con cada uno de los adhesivos formulados. Se determinó la resistencia a la tracción mediante una máquina universal.

Los resultados obtenidos muestran que tanto la sustitución de resina PF por lignina, activada o no como por polifenoles, no deteriora la calidad del encolado, y en algunas condiciones se mejora la performance del adhesivo. Estos resultados indican que incluso sería posible aumentar el porcentaje de sustitución utilizado en el proyecto.

7. OBTENCIÓN DE XILANOS

Se precipitaron con etanol (1V) en las condiciones indicadas previamente las soluciones de licor al pH que resultó luego de la extracción con álcali (denominadas pH original) y luego de ajustar el pH con ác. sulfúrico y ác. clorhídrico. Considerando los licores alcalinos obtenidos en las diferentes condiciones aplicadas, se obtuvo un rendimiento entre 12.4 y 46.8 g de precipitado por litro de licor. Estos precipitados están compuestos entre un 19.2 y 30.0 % de xilosacáridos.

En el caso de los precipitados obtenidos con etanol, previo ajuste del pH con ácido sulfúrico se constata un aumento en la cantidad de material precipitado, siendo este entre 62.2 y 82.9 g/L licor. Sin embargo, al realizar el análisis FTIR de estos, se observa que tienen un contenido importante de cenizas inorgánicas, asignables a sulfato de sodio, el cual tiene una baja solubilidad en etanol. Los precipitados obtenidos al agregar etanol al licor a pH 7, ajustado con ácido clorhídrico presentaron un rendimiento entre 15.5 y 34,5 g precipitado/L licor. Al analizar la composición de estos precipitados, se encontró un contenido de xilosacáridos entre 16.0 y 40.8 %.

En la condición seleccionada como óptima el rendimiento obtenido es de 28.3 ± 4.6 g/L. El precipitado contiene 40.8 ± 2.1 % de xilosacáridos, 10.7 ± 0.6 % de glucosacáridos, 17 ± 1.2 % de lignina (soluble e insoluble en ácido) y menos de 3% de grupos acetilo. El contenido de grupos acetilos y fórmicos es menor a 4%. El precipitado obtenido presentó un contenido de cenizas de 29.5 ± 2.5 %. Este contenido de cenizas podría ser disminuido lavando el precipitado con agua caliente y etanol, sin embargo, de trabajos previos se ha visto que más de un lavado conduce a una pérdida de xilosacáridos de entre 20 y 25 %. El peso molecular promedio ponderado (Mw) fue de 26.300 ± 700 Da. Los análisis de FTIR-ATR confirman la composición de los precipitados.

8. ANÁLISIS TECNO-ECONÓMICO Y AMBIENTAL

El precio mínimo de venta del etanol fue de 2.05 \$/L. Este valor excede el rango esperado para alcoholes combustibles de avanzada (0.7-1.1 \$ en 2015, 0.6-0.9 \$ del 2030 en adelante) (IRENA, 2016). Esto evidencia la necesidad de mejorar el proceso para lograr valores competitivos. Las mayores contribuciones al costo variable fueron: materia prima (0.12 \$/L), la soda (0.13 \$/L) y las enzimas (0.37 \$/L). El mayor costo es el asociado a las enzimas y es en esta etapa donde se debe poner el foco para que el proceso sea económicamente viable. La cantidad de enzima utilizada es muy alta, y además la concentración de azúcares obtenida (como resultado de la eficiencia de hidrólisis lograda y el contenido de sólidos seleccionado) permiten obtener una concentración de etanol menor a la deseada, generando mayores gastos energéticos en la etapa de destilación, asociado a esto, la energía requerida por el proceso es mayor y no puede ser satisfecha con la quema de la lignina, que en otros sistemas no sólo es suficiente sino que genera un exceso de electricidad que debe ser vendido como co-producto.

En lo que respecta al uso de energía fósil no renovable, el valor es de 2.31 MJ de energía fósil no renovable por cada MJ de etanol. Esto equivale a un EROI (energy return on investment) de 0.43 MJetanol/MJfossil, mucho menor al valor de 3 MJetanol/MJfossil calculado para combustibles fósiles en el punto de uso (Hall, Dale, & Pimentel, 2011). El mayor impacto es generado por la fabricación de enzimas (55%), seguido por la soda (21%) y el transporte de insumos y productos (18%).

El potencial de calentamiento global asociado a la producción y distribución del etanol combustible es de 46.8 ± 3 gCO₂eq/MJetanol. La incertidumbre fue calculada con el método de Monte Carlo, tomando en cuenta la incertidumbre asociada a los datos usados para el cálculo. A este valor de 46.8 gCO₂eq/MJetanol se le puede sumar unos 70 gCO₂eq/MJetanol asociados a la combustión del etanol, lo que nos daría un valor de 116.8 gCO₂eq/MJetanol, mayor que las emisiones de referencia para combustible fósil de 93.3 gCO₂eq/MJetanol (Environmental Protection Agency, 2010).

La fase de producción de eucalipto tiene un valor negativo de potencial de calentamiento global asociado al carbono biogénico fijado durante su crecimiento. Al tratarse de un residuo existen distintas posibilidades sobre cómo considerar su producción: asociando los impactos a este proceso o al proceso primario del cuál es residuo. De no considerar el impacto del residuo el potencial de calentamiento global sería aún mayor, alejando aún más al proceso de su sustentabilidad ambiental. Las actividades asociadas a la fase industrial con mayor impacto son: El dióxido de carbono generado en la etapa industrial (48%), el uso de enzimas (27%), la soda (13%) y el transporte (7%). Mirando el alto impacto de las enzimas se observa que las mismas acciones necesarias para reducir el precio mínimo de venta servirían para reducir el impacto ambiental.

Conclusiones y recomendaciones

La combinación de los dos pretratamientos alcalinos fue parcialmente efectiva para el fraccionamiento de los componentes del aserrín. Por un lado, se logró separar los extractivos con el primer tratamiento con soda y bisulfito, pero no se alcanzó separar totalmente la lignina y el xilano de la celulosa durante el segundo tratamiento alcalino con soda. Se alcanzaron valores de recuperación de lignina y xilano respecto a la composición del aserrín original del 65 y 24%, respectivamente, preservando entre 84 y 100% de glucano original para la hidrólisis enzimática. Ambos pretratamientos combinados mejoraron la digestibilidad enzimática del eucalipto. La separación parcial de la hemicelulosa y la lignina del sólido permitió incrementar las eficiencias de hidrólisis de los sólidos pretratados, y en consecuencia aumentar la conversión de glucano. El sólido resultante pudo ser fácilmente fermentado por las levaduras comerciales (CAT, Thermo y Pe-2). La modalidad de hidrólisis enzimática separada de la fermentación fue la mejor estrategia de las estudiadas para la producción de etanol. Se alcanzó un rendimiento de etanol respecto a tonelada de aserrín alto (229 L/t) utilizando esta modalidad, con una carga de sólido de 16%, y la cepa Thermosacc. La utilización de lignina en la fabricación de adhesivos mostró resultados favorables, por tanto la venta de lignina para este fin mejoraría la economía global del proceso, lo que no fue considerado en el análisis tecno-económico. Sería posible utilizar mayores porcentajes de sustitución de lignina que los ensayados. La activación de la lignina, en el rango de porcentajes de sustitución ensayados, no muestra ventajas frente al uso de la lignina tal cual se obtiene luego de su precipitación. Este hecho puede variar, si se emplean porcentajes de sustitución mayores. El rendimiento logrado en la recuperación de xilanos fue bajo para considerarse económicamente redituable, sin embargo se encuentra en el orden de los reportado en la bibliografía internacional.

Para que el pretratamiento con soda pueda aplicarse a una biorrefinería productora de etanol de forma económica y ambientalmente sustentable, es necesario mejorar la etapa de hidrólisis de forma de obtener mayores eficiencias, con menores dosis de enzima y trabajando con un mayor contenido de sólidos.

Referencias bibliográficas

- [1] J. Kim, Y. Lee and T. Kim, "A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass," *Bioresources Technology*, vol. 199, pp. 42-48, 2016.
- [2] S. Sun, X. Cao, S. Sun, F. Xu, X. Song, S. R. y G. Jones, «Improving the enzymatic hydrolysis of thermo-mechanical fiber from *Eucalyptus urophylla* by a combination of hydrothermal pretreatment and alkali fractionation.,» *Biotechnology for biofuels*, vol. 7, pp. 1-12, 2014.
- [3] J. Helmerius, U. von Walter, K. Rova, A. Berglund y D. Hodge, «Impact of hemicellulose pre-extraction for bioconversion on birch Kraft pulp properties,» *Bioresources Technology*, vol. 101, n° 15, p. 5996–6005, 2010.
- [4] W. Al-Dajani y U. Tschirner, «Alkaline extraction of hemicelluloses from aspen chips and its impact on subsequent kraft pulping.,» de *Engineering, Pulping and Environmental Conference. TAPPI.*, Portland, 2007.
- [5] L. (. Testova, «Isolation of birch xylan as a part of pulping-based biorefinery.,» *Aalto University*, Espoo, 2014.
- [6] D. de Carvalho, J. de Queiroz y J. Colodette, «Assessment of alkaline pretreatment for the production of bioethanol from eucalyptus, sugarcane bagasse and sugarcane straw.,» *Industrial crops and products*, vol. 94, pp. 932-941, 2016.
- [7] F. Peng, J. X. F. Ren, J. Bian, P. Peng y R. Sun, «Comparative study of hemicelluloses obtained by graded ethanol precipitation from sugarcane bagasse,» *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 57, n° 14, pp. 6305-6317, 2009.
- [8] N. Bauer y W. Gibbons, «Saccharification versus simultaneous saccharification and fermentation of kraft pulp.,» *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, vol. 5, n° 1, pp. 48-55, 2012.
- [9] M. Yao, Z. Wang, Z. Wu y H. Qi, «Evaluating kinetics of enzymatic saccharification of lignocellulose by fractal kinetic analysis.,» *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, vol. 16, p. 1240–1247, 2011.
- [10] K. Olofsson, M. Bertilsson y G. Lidén, «A short review on SSF - an interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks.,» *Biotechnology for biofuels*, vol. 1, n° 7, pp. 1-14, 2008.
- [11] C. Hamelinck, G. Van Hooijdonk y A. Faaij, «Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term.,» *Biomass and bioenergy*, vol. 28, n° 4, pp. 384-410, 2005.
- [12] R. Gonzales, M. Johns, P. Greenfield y G. Pace, «Phase equilibria for xanthan gum in ethanol-water solutions.,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 13, p. 317–333, 1990.
- [13] J. H.L., L. X.J. y Z. W.A., «Characterization of fractional precipitation behavior of galactomannan gums with ethanol and isopropanol.,» *Food Hydrocoll*, vol. 40, p. 115–121, 2014.
- [14] M. Ferrari, M. Guigou y C. Lareo, «Energy consumption evaluation of fuel bioethanol production from sweet potato.,» *Bioresource technology*, vol. 136, pp. 377-384, 2013.
- [15] V. Larnaudie, E. Rochón, M. Ferrari y C. Lareo, «Energy evaluation of fuel bioethanol production from sweet sorghum using very high gravity (VHG) conditions.,» *Renewable Energy*, vol. 88, p. 280–287, 2016.
- [16] J. Vázquez, J. González-Alvarez, M. Santos, G. Freire y G. Antorrena, «Evaluation of potential applications for chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts.,» *Industrial Crops and Products*, vol. 29, n° 2-3, pp. 364-370, 2009.
- [17] J. Santos, G. Antorrena, M. Freire, P. A. y J. González-Álvarez, «Environmentally friendly wood adhesives based on chestnut (*Castanea sativa*) shell tannins.,» *European Journal of Wood and Wood Products*, vol. 75, n° 1, pp. 89-100, 2017.
- [18] A. Dieste, L. Clavijo, A. Torres, S. Barbe, I. Oyarbide, L. Bruno y N. Cassella, «Lignin from eucalyptus kraft black liquor as biofuel,» *Energy and Fuels*, vol. 30, n° 12, pp. 10494-10498, 2016.
- [19] F. Rotondo, R. Coniglio, L. Cantera, I. Di Pascua, L. Clavijo y A. Dieste, «Lignin-based coatings for controlled P-release fertilizer consisting of granulated simple superphosphate,» *Holzforschung*, vol. 72, n° 8, pp. 637-643, 2018.
- [20] F. Dotta, I. Oyarbide, C. N. R. Baltasar, L. Clavijo y A. Dieste, «Bond quality of plywood glued with PF resin substituted with different levels of lignin,» de *Workshop on Insight and Strategies towards a bio-based economy*, Montevideo., 2016.

Licenciamiento

Reconocimiento-NoComercial-SinObrasDerivadas 4.0 Internacional. (CC BY-NC-ND)