

Deslignificación del bagazo de agave mediante procesos de ozonización

Pérez Bravo Gerardo, Ramírez Cortina Clementina Rita*

Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, Departamento de Energía, Av. San Pablo No. 180, Col. Reynosa Tamaulipas, Del. Azcapotzalco, 02200, Ciudad de México, México.

*Autor para correspondencia: crrc@correo.azc.uam.mx

Recibido:

25/junio/2016

Aceptado:

21/agosto/2016

Palabras clave

Ozono, bagazo de agave, lignina

Keywords

Ozone, agave bagasse, lignin

RESUMEN

Se investigó la deslignificación del bagazo de agave mediante un tratamiento con ozono. Se llevaron a cabo pruebas preliminares para evaluar la remoción de lignina. Se determinó el pH al cual se obtiene la máxima reducción de lignina, efectuando ozonizaciones a diferentes valores de pH (2.5 a 12), manteniendo constante las demás variables. Se analizó el contenido de celulosa y hemicelulosa en cada experimento. Con el pH ya definido se efectuó una ozonización incrementando el tiempo de reacción. La máxima reducción de lignina que se logró con el ozono fue del 38.67%, en una de las pruebas preliminares. El proceso de ozonización permite disminuir el contenido de lignina en el bagazo de agave, para una posible aplicación posterior, ya sea en la obtención de pulpa para papel, blanqueo de pulpa o producción de bioetanol.

ABSTRACT

Agave bagasse deslignification through a treatment with ozone was investigated. Preliminary tests were conducted to evaluate lignin removal. It was determined the pH which gives the maximum lignin reduction, making ozonizations at different pH values (2.5 to 12), keeping the rest variables constant. It was analysed each experiment cellulose and hemicellulose content. With the defined pH was made an ozonization by increasing reaction time. The maximum lignin reduction which was achieved with ozone was 38.67%, in one of the preliminary tests. Ozonization process allows to reduce lignin content of agave bagasse, for a possible further application, whether in obtaining pulp for paper, pulp bleaching or bioethanol production.

Introducción

En el proceso de fabricación del tequila se obtiene un residuo proveniente del proceso de cocimiento y molienda de las cabezas de *Agave tequilana* Weber variedad azul. Este residuo, conocido como bagazo de agave, es producido a razón de entre 55 y 60 kilogramos por litro de tequila elaborado (Valenzuela, 2003) y su disposición final se realiza en tiraderos. En el año 2015 la producción de tequila 100% de agave fue de 118.9 millones de litros y 129.4 millones de litros de tequila con un mínimo de 51% de azúcares de agave, haciendo un total de 248.3 millones de litros (Consejo Regulador del Tequila, 2016), por lo tanto, se estima que en el 2015 se generaron entre 10.17 y 11.09 millones de toneladas de bagazo.

Debido a las grandes cantidades de bagazo de agave que se producen y a su alto contenido de humedad (80%), se ha dificultado su transporte, aprovechamiento, confinamiento y tratamiento. Lo cual ha provocado tiraderos clandestinos o incorporaciones inadecuadas a campos agrícolas, con los consiguientes riesgos de favorecer problemas fitosanitarios, promover alteraciones negativas a la fertilidad de los suelos y ocasionar contaminación ambiental por lixiviados. Adicionalmente, el contenido de azúcares remanentes es suficiente para la infestación por hongos y levaduras fermentadores, lo que genera malos olores y productos indeseables, siendo también un excelente hospedero para plagas (insectos y roedores) y enfermedades de plantas (Rodríguez et al., 2010).

El bagazo está compuesto de material fibroso de color café amarillento y actualmente su disposición final se hace en confinamientos alejados de las plantas de tequila, donde se seca al sol y se apila en pacas. Este residuo agroindustrial puede tardar años en reintegrarse al medio ambiente. La composición química del bagazo de agave es alta en celulosa y relativamente baja en lignina, por ejemplo, Sanjuán Dueñas y Grellmann (1987) manifestaron que la composición química que obtuvieron de las fibras desmeduladas de la piña del agave fue de 64.96% de celulosa, 16.85% de lignina y 5.54% de hemicelulosa.

Por otra parte, en un proceso de *ozonización* hay que considerar dos posibles vías de acción oxidante: la directa, debida a la reacción entre el ozono y los compuestos disueltos, y la indirecta, derivada de las reacciones entre los radicales hidroxilo (OH^\bullet), generados en la descomposición del ozono y los propios compuestos disueltos (Ortiz, 2002). Debido a que el ion OH^- actúa como iniciador de la cadena de reacciones que

genera el radical hidroxilo (OH^\bullet), bajo condiciones alcalinas ($\text{pH} > 10$) la reacción indirecta es la dominante y abajo de un $\text{pH} = 4$ cambia a la reacción directa. En aguas superficiales y subterráneas ($\text{pH} = 7$) ambas reacciones, directa e indirecta, pueden ser de importancia (Gottschalk et al., 2000).

Una de las posibles aplicaciones de la deslignificación del bagazo de agave es la obtención de pulpa para papel. Todos los procesos utilizados para la obtención de pulpa tienen la misma meta, liberar a la celulosa de la lignina que la rodea manteniendo intactas las hemicelulosas y celulosas y de esta manera, aumentar el rendimiento de fibras utilizables (Austin, 1989). En general se obtiene el mejor balance de las propiedades adecuadas para hacer papel cuando se ha eliminado la mayor parte de la lignina de las fibras.

Otra de las posibles aplicaciones de la deslignificación del bagazo de agave es la producción de bioetanol. Haq et al. (2016) efectuaron una revisión de la literatura referida al proceso con ozono usado como oxidante para descomponer la lignina y la hemicelulosa e incrementar la biodigestibilidad de la celulosa para la producción de bioetanol a partir de materias primas lignocelulósicas. Las principales ventajas del gas ozono son su poder oxidante y su disponibilidad. Además, este pretratamiento se realiza a temperatura normal y presión atmosférica y puede remover eficientemente la lignina sin la formación de subproductos tóxicos. La ozonización se ha aplicado a diversos desechos agrícolas y forestales, la ozonización ha probado ser altamente efectiva en la deslignificación de la paja de trigo, aserrín de álamo, paja de centeno y de herbáceas energéticas; también ha mejorado el rendimiento de los azúcares después de la hidrólisis. En la literatura se menciona que se obtiene una deslignificación muy alta con ozono, que varía desde un 13.26% hasta un 87%, según el sustrato (Tudare et al., 2013; Mbachu, 1979).

Los distintos estudios realizados sobre el número de monómeros que configuran la molécula de lignina, Figura 1, han arrojado datos muy dispares. Se ha cifrado entre 800 y 4,500, lo cual significa que existen ligninas con distintos grados de polimerización (García Esteban et al., 2003).

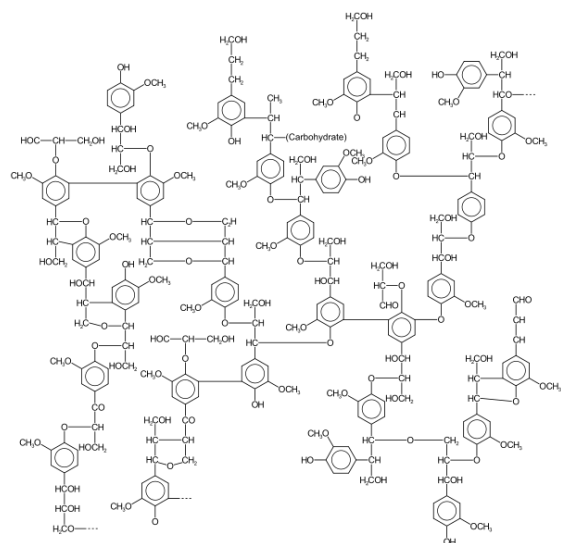


Figura 1. Estructura de la lignina.

Metodología

Métodos de análisis

En la presente investigación se utilizaron dos tipos de bagazo de agave: el bagazo de agave original tal y como se desecha directamente de las fábricas de tequila o “completo” y el bagazo de agave “desmedulado”, que se obtiene después de eliminar la parte no fibrosa llamada “médula”.

Para la caracterización del bagazo de agave se aplicaron las siguientes determinaciones:

- Humedad. Se aplicó el método TAPPI T 550 om-08
- Cenizas. Se aplicó el método TAPPI T 211 om-93
- Lignina. Se aplicó el método TAPPI T 222 om-02
- Fibra Neutro Detergente. Se aplicó el procedimiento propuesto por Van Soest (1963, 1964); Van Soest y Wine (1967) y Van Es y Van der Meer (1980).
- Fibra Ácido Detergente. Se aplicó el procedimiento propuesto por (Van Soest, 1963; Van Soest y Wine, 1967; Van Es y Van der Meer, 1980).

Tratamiento del bagazo de agave con ozono

Pruebas preliminares. Se llevaron a cabo 10 pruebas preliminares con ozono en un reactor de 500 mL, con bagazo de agave sin desmedular (1 a 3 g), pH de 7 y 11, con 300 mL de agua desionizada, el flujo ozono fue de 0.54 a 0.96 L/min y diversos tiempos de reacción. Se aplicaron diversas dosis de ozono, de 3.1, 18 y 8.7 mg

O₃/min, respectivamente, la primera dosis se generó con aire y las otras dos con oxígeno. A la muestra de bagazo de agave se le determinó el contenido de lignina antes y después del tratamiento con ozono. Estos ensayos preliminares se efectuaron por triplicado a temperatura ambiente y a presión atmosférica.

Pruebas a escala de laboratorio. Estas pruebas se efectuaron con una mayor cantidad de muestra y se analizaron además de la lignina, el contenido de celulosa y hemicelulosa. Estos experimentos se realizaron con 15 g de bagazo de agave desmedulado en un reactor de 500 mL y se hizo reaccionar con ozono. Las pruebas se hicieron a 3 valores diferentes de pH ácido (2.57, 3.79 y 5.7), y a 3 valores diferentes de pH alcalino (9.36, 10.95 y 12.14), con 300 mL de agua desionizada, el flujo de aire fue de 947 mL/min y un tiempo de reacción de 3 horas, en cada prueba. En esta etapa de la experimentación se utilizó una dosis de ozono de 1.5 mg O₃/min. El reactor se operó a temperatura ambiente y a presión atmosférica. Para ajustar el pH ácido se utilizó ácido acético y para el alcalino hidróxido de sodio. Se utilizó ácido acético para ajustar el pH ácido debido a que, de acuerdo con Zambrano et al. (2003), el empleo del ozono en medio acético presenta una alta selectividad y eficiencia en la deslignificación. Los gases a la salida del reactor se hicieron burbujear en 200 mL de una solución de yoduro de potasio al 2%, en un matraz Kytasato, para atrapar el ozono que no reaccionó y, de esta manera, evitar que escape a la atmósfera. Por seguridad, los gases a la salida del reactor se hicieron burbujear en un segundo matraz Kytasato, conteniendo 200 mL de una solución de yoduro de potasio al 2%, conectado en serie con el primer matraz. A fin de determinar la cantidad de ozono que no reaccionó, después de cada experimento de ozonización, se aplicó el método iodométrico (Greenberg et al., 1981).

Al terminar el tiempo establecido de reacción, se efectuó la filtración del producto obtenido en cada prueba. El filtrado se lavó con agua desionizada y se secó al aire por 3 días. En cada prueba se tomaron muestras con la técnica del cuarteo para analizar el contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina, antes y después de la ozonización.

Se efectuó una prueba de ozonización variando el tiempo de reacción a 4 horas, con el pH al cual se obtuvo la máxima remoción de lignina y las mismas condiciones, es decir, 15 g de la muestra de bagazo de agave, generación de ozono de 1.5 mg/min, 300 mL de agua desionizada y un flujo de aire de 947 mL/min. Y se determinó el contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina, antes y después de la ozonización.

Resultados y discusión

Análisis del bagazo de agave desmedulado y sin tratamiento

En la Tabla 1 se muestran los resultados promedio de 13 análisis químicos del bagazo de agave desmedulado y sin tratamiento de ozonización.

Tabla 1. Composición química del bagazo de agave desmedulado.

Componente	Contenido (%)	Desviación estándar
Celulosa	44.8	3.21
Lignina	17.7	2.32
Hemicelulosa	18.2	2.95
Cenizas	3.4	0.107
Humedad	6	0.086

Tratamiento del bagazo de agave con ozono

Resultados de las pruebas preliminares

En las pruebas preliminares con ozono se trabajó con una muestra de bagazo de agave sin desmedular, el resultado del contenido de lignina promedio de los 3 análisis practicados (16.1, 16.327 y 17.5) a esta muestra de bagazo antes de realizar estas pruebas preliminares, fue de $16.6 \pm 0.75\%$.

Al inicio las pruebas preliminares se llevaron a cabo con un generador de ozono de poca capacidad, alimentado con una bomba de aire, con una generación de 3.1 mg O₃ por minuto. Se realizaron pruebas a pH de 7 y 11 variando el tiempo de ozonización desde 1 hora hasta 10 horas. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

En estos resultados se observa que al aumentar el tiempo de reacción se logra un mayor porcentaje de reducción de lignina; también se realizó una prueba a pH 11 con un porcentaje similar al de pH 7 y 6 horas de reacción (26.47 y 25.38%). En la segunda prueba, al igual que en el resto de las pruebas, las fibras del bagazo se movían y se agitaban por la acción del flujo de gas, en la primera prueba las fibras no alcanzaban a moverse con el flujo, debido al mayor peso del bagazo. Probablemente, gracias a una mejor transferencia de masa del ozono hacia la lignina es que se obtuvo una mayor reducción de lignina en la segunda prueba que en la primera.

Tabla 2. Resultados de las pruebas preliminares del bagazo sin desmedular con 3.1 mg O₃/min.

Tiempo de reacción	1 hora	1 hora	6 horas	10 horas	6 horas
pH	7	7	7	7	11
Dosis de ozono (mg)	186	186	1,116	1,860	1,116
Bagazo inicial (g)	2.9996	1.0029	1.0326	1.0281	1.0332
Lignina inicial (g)	0.4979	0.1665	0.1714	0.1706	0.1715
Bagazo final (g)	2.8662	0.9671	0.8418	0.9149	0.8881
Lignina final (g)	0.4700	0.1499	0.1279	0.1399	0.1261
% pérdida de peso	4.44	3.57	18.47	11.01	14.04
% reducción lignina	5.59	9.97	25.38	17.99	26.47

Con el fin de aumentar la dosis de ozono aplicada se operó un generador alimentado con oxígeno, el cual proporcionó una dosis de 18 mg de ozono por minuto, los resultados se pormenorizan en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados de las pruebas preliminares de bagazo sin desmedular con 18 mg O₃/min.

Tiempo de reacción	20 min	60 min	90 min
pH	7	7	7
Dosis de ozono (mg)	360	1,080	1,620
Bagazo inicial (g)	2.1944	1.0105	1.1096
Lignina inicial (g)	0.3642	0.1677	0.1842
Bagazo final (g)	2.0592	0.9322	1.0318
Lignina final (g)	0.3072	0.1407	0.1496
% pérdida de peso	6.16	7.75	7.01
% reducción lignina	15.65	16.1	18.78

En estos resultados se advierte que al triplicar y cuadruplicar la dosis de ozono no se obtiene una reducción de la lignina en la misma proporción sino solamente una pequeña diferencia de 0.5 y 3 puntos porcentuales.

Se realizaron dos ensayos preliminares con una tercera dosis de ozono de 8.7 mg de ozono/min, las pruebas se

efectuaron a pH alcalino, los resultados se presentan en la Tabla 4. Se observó la mejor reducción de lignina en estas pruebas preliminares.

Tabla 4. Resultados de las pruebas preliminares de bagazo sin desmedular con 8.7 mg O₃/min.

Tiempo de reacción	3 horas	1.5 horas
pH	11	13.92
Dosis de ozono (mg)	1,566	783
Bagazo inicial (g)	1.0954	1.0323
Lignina inicial (g)	0.1818	0.1713
Bagazo final (g)	0.9049	0.7822
Lignina final (g)	0.1115	0.1477
% pérdida de peso	17.39	24.22
% reducción lignina	38.67	13.77

Como conclusión de las pruebas preliminares se encontró que al aumentar la dosis de ozono y el tiempo de reacción no se tiene un aumento proporcional en la reducción de la lignina, posiblemente debido a que la cinética de la reacción entre el ozono y la lignina es muy lenta. Las pruebas preliminares sugieren que puede ocuparse un generador de baja capacidad y alimentado con aire, para hacer el proceso más viable a gran escala.

Resultados de las pruebas a escala de laboratorio

En esta etapa de la experimentación cada prueba se realizó con 15 g de muestra de bagazo de agave desmedulado, 300 mL de agua destilada, utilizando una dosis de ozono de 1.5 mg O₃/min, 3 horas de tiempo de reacción (270 mg de ozono por prueba) y un flujo de aire de 947 mL/min, variando únicamente el pH inicial. Los resultados de estos experimentos se muestran en la Tabla 5. Con estos resultados se construyó la Tabla 6, reducción de peso (%) contra el pH inicial.

Tabla 5. Resultados del bagazo desmedulado a diferente pH inicial y 1.5 mg O₃/min.

pH inicial	12.14	10.95	9.36	5.7	3.79	2.57
Lignina inicial (g)	2.955	1.977	2.785	2.343	3.026	2.613
Lignina final (g)	2.646	1.873	2.422	1.705	2.569	2.534
Celulosa inicial (g)	6.420	7.338	6.457	6.935	6.553	6.618
Celulosa final (g)	6.042	6.822	5.962	6.891	6.064	5.995
Hemicelulosa inicial (g)	2.464	2.289	2.408	2.498	2.633	2.601
Hemicelulosa final (g)	2.450	2.233	2.332	2.214	2.359	2.559
pH final	7.13	4.14	4.25	4.18	4.25	2.81
O ₃ que reaccionó (mg)	188.64	145.9	247.4	144.4	177.1	173.2

Tabla 6. Reducción de peso del bagazo desmedulado en pruebas a diferente pH inicial con 1.5 mg O₃/min.

pH inicial	Reducción de peso (%)		
	lignina	celulosa	hemicelulosa
12.14	10.46	5.89	0.57
10.95	5.26	7.03	2.45
9.36	13.03	7.67	3.16
5.7	27.23	0.63	11.37
3.79	15.10	7.46	10.41
2.57	3.02	9.41	1.61

Estos últimos datos se graficaron para mostrar en la Figura 2 el efecto del pH inicial en la variación de la composición del bagazo desmedulado en las pruebas de ozonización.

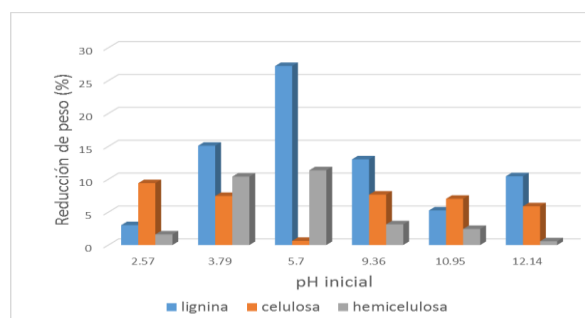


Figura 2. Gráfica del efecto del pH inicial en la ozonización del bagazo desmedulado.

Como se puede observar en la Figura 2 las mejores reducciones de lignina se pueden lograr en un intervalo de pH de 4.5 a 7.5, aproximadamente, con una mínima degradación de celulosa.

Prueba de ozonización con pH 7.5.

En virtud de que se determinó visualmente que en el intervalo entre 4.5 y 7.5 se obtienen las mejores remociones de lignina, se efectuó una prueba con un pH inicial de 7.5, aumentando el tiempo de reacción a 4 horas, con una dosis de ozono aplicada de 360 mg. Las demás condiciones se mantuvieron constantes, esto es, 15 g de muestra de bagazo de agave, 300 mL de agua desionizada, aplicando una dosis de ozono de 1.5 mg O₃/min y un flujo de aire de 947 mL/min.

Los resultados se muestran en la Tabla 7. El pH al final de la ozonización fue de 4.36 y la cantidad de ozono que reaccionó fue de 252.72 mg. Se advierte una mayor reducción de hemicelulosa que de lignina, aunque muy leve. No se obtuvieron los resultados esperados de una mayor reducción de lignina con respecto a los experimentos anteriores con una dosis de ozono de 270 mg.

**Tabla 7.** Resultados del bagazo desmedulado a pH 7.5 inicial y 360 mg O₃ (4 h)

Componente	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Reducción %
Lignina	2.774	2.4245	12.6
Celulosa	6.8899	6.2646	9.07
Hemicelulosa	2.8041	2.3779	15.2

Discusión de resultados

En medio ácido ocurre la reacción de fragmentación de la lignina, mediante la ruptura del enlace β -aril éter con ozono molecular, no obstante, debido a la gran reactividad del ozono con los anillos aromáticos, la reacción de fragmentación de la lignina se lleva a cabo en mucho menor proporción que la reacción del ozono molecular con los anillos aromáticos presentes en la lignina, como lo proponen Bertaud et al. (2001) al obtener solamente trazas de vainillina, que es un subproducto de la reacción de fragmentación de la lignina. Los subproductos en esta reacción directa son, principalmente, ácidos carboxílicos como el ácido acético, ácido oxálico y el ácido fórmico, es por esto que al final de la ozonización en la mayoría de los experimentos bajó el pH.

De acuerdo con Shrinath (1997), la apertura y destrucción de los anillos aromáticos de la lignina por parte del ozono es la reacción que origina el blanqueo, siendo el pH óptimo de 1 a 3. Por otra parte, Roncero et al. (2003) obtuvieron el mejor resultado para el blanqueo con ozono a un pH de 2.5, de una pulpa de *Eucalyptus* obtenida de un proceso Kraft. Por lo antes expuesto y por el hecho de que en los experimentos realizados en la presente investigación se obtuvo el color más claro del bagazo ozonado al pH de 2.57 y de que en la mayoría de los experimentos se obtuvo un pH más bajo al final de la ozonización, debido a que se generaron principalmente ácidos carboxílicos, son indicios de que la mayor parte del ozono reaccionó con los anillos aromáticos de la lignina y en mucho menor proporción con los enlaces β -aril éter.

Conclusiones

La máxima remoción de lignina del bagazo de agave que se logró con el ozono fue del 38.67%, en una de las pruebas preliminares, con un pH de 11 y una dosis de ozono de 1.43 gramos de O₃ por gramo de bagazo.

Los resultados de este estudio mostraron que el ozono es muy eficiente para el blanqueo del bagazo de agave en medio acuoso. Se observó el mejor blanqueo del bagazo ozonado al pH inicial de 2.57.

Como conclusión general de esta investigación, el proceso de ozonización permite disminuir el contenido de lignina en el bagazo de agave, lo cual podría tener una posible aplicación posterior, ya sea en la obtención de pulpa para papel, blanqueo de la pulpa o producción de bioetanol y, de esta manera, darle un mejor destino y aprovechamiento a este desecho de la industria del tequila.

Agradecimientos

A la Química Carmen Olmedo Badía, experta en producción de papel del Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada (CICATA) del Instituto Politécnico Nacional, por su invaluable aportación y asesoría en el desarrollo y conclusión del proyecto de investigación. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por las becas otorgadas.

Referencias

- Austin G. T. (1989). Manual de Procesos Químicos en la Industria. Mc Graw Hill, México, p. 719-740.
- Bertaud F., Croué J. P., Legube B. (2001). Ozonation of a β -O-4 Dimer Lignin Model: By-Product Identification and Reaction Pathways. *Ozone Science & Engineering*, 23:2 139-148.
- Consejo Regulador del Tequila. (2016). Recuperado el 13 de febrero de 2016, de <http://www.crt.org.mx/EstadisticasCRTweb/>.
- García Esteban L., Guindeo Casasús A., Peraza Oramas C., de Palacios de Palacios P. (2003). La madera y su anatomía. Fundación Conde del Valle de Salazar, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España, p. 309-318.
- Gottschalk C., Libra J. A., Saupe A. (2000). Ozonation of Water and Waste Water, A Practical Guide to Understanding Ozone and its Application. WILEY-VCH, Weinheim, Alemania, p. 14-15.
- Greenberg A. E., Connors J. J., Jenkins D. (1981). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA-AWWA-WPCF, Washington D. C., EUA, p. 399-402.
- Haq F., Ali H., Shuaib M., Badshah M., Hassan S. W., Hussain Munis M. F., Chaudhary H. J. (2016). Recent Progresses in Bioethanol Production from Lignocellulosic Materials: A Review. *International*



Journal of Green Energy, DOI:
10.1080/15435075.2015.1088855

Mbachu R. A. D. (1979). Degradation of Lignin by Ozone. Tesis de Doctorado, Universidad McGill, Departamento de Química, Montreal, Canadá.

Ortiz Lozoya C. E. (2002). Eliminación de Fenol Mediante Procesos de Oxidación Avanzada. Tesis de Maestría, UAM-Azcapotzalco, México D. F.

Rodríguez Macías R., Alcantar González E. G., Iñiguez Covarrubias G., Zamora Natera F., García López P. M., Ruiz López M. A., Salcedo Pérez E. (2010). Caracterización física y química de sustratos agrícolas a partir de bagazo de agave tequilero. *Interciencia*, 35:7.

Roncero M. B., Queral M. A., Colom J. F., Vidal T. (2003). Why Acid pH Increases the Selectivity of the Ozone Bleaching Processes. *Ozone: Science and Engineering*, 25:6 523-534.

Sanjuán Dueñas R., Grellmann K. A. (1987). El Maguey Como Fuente de Materias Primas para la Obtención de Pulpas. *Amatl: Boletín Informativo del Instituto de Madera, Celulosa y Papel*, Universidad de Guadalajara, abril-junio 1987, número 1, p. 1-9.

Shrinath A. S. (1997). Reaction and Mass Transfer Model for Ozone Bleaching of High Consistency Soda (AQ)-Oxygen Eucalyptus Pulps. Tesis de Doctorado, Universidad Estatal de Nueva York, Colegio de Ciencia Ambiental y Forestal, EUA.

Tudare J., Faneite A., Ferrer A., Chacón D., Ríos J., Ledesma A. (2013). Pretratamiento de la Cascarilla de Arroz, con Ozono, para Producción de Bioetanol. Universidad del Zulia, Venezuela, *Conference Paper*, DOI: 10.13140/2.1.1852.7040.

Valenzuela Zapata A. G. (2003). El Agave Tequilero Cultivo e Industria de México. Ediciones Mundi-Prensa, México, p. 15, 27-35, 154-157.

Zambrano Becker D. A., Pereira Soto M.A., Berg Gebert A. K. (2003). Oxidación Selectiva de Lignina con Ozono en Medio Acético. Universidad de Concepción.