



Artículo / Article

Composición lignocelulósica de *Pinus ayacahuite* Ehrenb. ex Schltl., *P. leiophylla* Schlecht. & Cham. y *P. herrerae* Martínez

Lignocellulosic composition of *Pinus ayacahuite* Ehrenb. ex Schltl., *P. leiophylla* Schlecht. & Cham. and *P. herrerae* Martínez

José Amador Honorato Salazar¹, Flora Apolinar Hidalgo¹ y Gertrudis Colotl Hernández¹

Resumen

En el municipio Pueblo Nuevo, Durango se produce la cuarta parte de la producción maderable estatal y 89 % se basa en 12 especies de *Pinus*; sin embargo, no existen estudios sobre la composición química de la madera de los pinos que se aprovechan. El objetivo de este trabajo fue determinar la composición lignocelulósica y los contenidos de cenizas, extractos en etanol-benceno y en etanol de la madera de *Pinus ayacahuite*, *P. leiophylla* y *P. herrerae*, de acuerdo con los procedimientos de las normas TAPPI y ASTM. Se tomaron muestras al azar de cinco a seis árboles por especie, con cinco repeticiones por árbol para cada prueba. Se efectuaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas de los datos obtenidos y una comparación múltiple de medias (Bonferroni, $\alpha = 0.05$) con el programa SAS. Con excepción del contenido de cenizas, los resultados mostraron que existen diferencias significativas entre especies ($p < 0.05$), para los valores promedio de los contenidos determinados. La madera de *Pinus ayacahuite* tiene altos contenidos de extractos en etanol-benceno y de lignina. La de *P. herrerae* presenta valores menores, pero los de holocelulosa y celulosa son superiores. La madera de *P. leiophylla* tiene contenidos de holocelulosa, celulosa, hemicelulosas y cenizas más bajos. La lignina, hemicelulosas y celulosa de la madera de los taxones estudiados apoya su uso como fuente de materia prima para la obtención de pulpa para papel y biocombustibles líquidos.

Palabras clave: Cenizas, celulosa, composición química, extractos, lignina, pinos.

Abstract

The municipality of Pueblo Nuevo, Durango, produces one fourth of the timber in the state, and 89 % of it is obtained from 12 pine species. However, there are no studies on the wood chemical composition of exploited pine trees. The aim of this study was to determine the lignocellulosic composition and the ash content, as well as the contents of extracts in ethanol-benzene and in ethanol, of *Pinus ayacahuite*, *P. leiophylla* and *P. herrerae* wood, according to the procedures of the TAPPI and ASTM standards. Random samples were taken from 5 to 6 trees per species, with 5 repetitions per tree per test. The collected data were subjected to normality and variance homogeneity tests and to a multiple comparison of means (Bonferroni, $\alpha = 0.05$) using the SAS software. The results showed significant differences between species ($p < 0.05$) for the average values of the determined contents, with the exception of ash. *Pinus ayacahuite* wood has high contents of extracts in ethanol-benzene and lignin. *P. herrerae* wood has lower contents of extracts in ethanol-benzene and lignin, but higher contents of holocellulose and cellulose. *P. leiophylla* wood has lower holocellulose, cellulose, hemiceluloses and ash. The contents of lignin, hemiceluloses and cellulose of the wood of these species support its use as a source of raw materials for obtaining pulp for paper and liquid biofuels.

Key words: Ashes, cellulose, chemical composition, extracts, lignin, pine trees.

Fecha de recepción/Received date: 14 de octubre de 2015; Fecha de aceptación/Accepted date: 12 de enero de 2016.

¹ Campo Experimental San Martinito Centro de Investigación Regional Golfo Centro. INIFAP. México. Correo-e: honorato.amador@inifap.gob.mx

Introducción

La pared celular vegetal está compuesta, principalmente, por celulosa (35-50 %), hemicelulosas (10-35 %) y lignina (15-40 %), por lo que estos compuestos se les conoce en su conjunto como materiales lignocelulósicos (Chen, 2014). Debido al origen biológico de las plantas y a su composición química, se consideran como una fuente potencial para la obtención de energías limpias y diferentes productos químicos. En la madera, la composición lignocelulósica corresponde de 90 a 99 % de su peso seco (Fengel y Wegener, 2003), que varía dentro y entre especies, así como entre individuos que dependen, a su vez, de las combinaciones genéticas, de la edad y de las condiciones de crecimiento de cada taxón (Kilpeläinen et al., 2003; Yang et al., 2012).

Además de los principales componentes de la madera, existe un pequeño porcentaje de extractivos (4-12 %) que están conformados por grasas, ceras, fenoles, terpenos, ácidos resinosos y gomas, entre otros (Rowell et al., 2005), así como de cenizas, de 0.08 a 2 %. Los extractivos afectan las propiedades de la madera como la durabilidad natural, la densidad básica, el color y la hidroscopicidad. También influyen en algunos procesos como el pulpeo y la fabricación de papel, el secado y la adhesión (Umezawa, 2001).

La celulosa es uno de los biopolímeros más abundantes de la naturaleza, del cual se pueden obtener productos textiles, alimenticios o farmacéuticos, pulpa y papel, así como bioetanol; de las hemicelulosas: xilitol, ácido ferúlico y láctico (Saha, 2003); mientras que de la lignina: lignosulfonatos, resinas poliméricas y aditivos para adhesivos, compuestos aromáticos como la vainillina que se utiliza en productos farmacéuticos, de limpieza, perfumes, helado y chocolate (MacKay et al., 2009). Los productos derivados de la madera dependen de sus componentes químicos y del conocimiento que se tenga de ellos; por lo tanto, es importante investigar su composición básica para saber las cantidades de los compuestos químicos principales, para evaluar la factibilidad técnica y económica de la obtención de productos (Sadhukhan et al., 2014).

En México existen 46 especies, tres subespecies y 22 variedades de pinos (Sánchez, 2008), que representan 42 % de las especies del mundo. En el estado de Durango se han identificado 20 especies (García y González, 1998), de las cuales 18 se localizan en la región de Pueblo Nuevo (Gutiérrez et al., 2008). Por el volumen disponible, las que más se aprovechan en esa región son *Pinus cooperi* C. E. Blanco, *P. durangensis* Martínez, *P. teocote* Schiede ex Schltdl. & Cham., *P. leiophylla* Schlecht. ex Cham., *P. ayacahuite* Ehrenb. ex Schltdl., *P. engelmannii* Carr., *P. herrerae* Martínez, *P. pseudostrobus* Lindley, *P. douglasiana* Martínez, *P. michoacana* Martínez, *P. oocarpa* Schiede y *P. maximinoi* H. E. Moore (Meraz, 2001).

Introduction

The plant cell wall is made up mainly of cellulose (35-50 %), hemicelluloses (10-35 %) and lignin (15-40 %); these compounds are therefore known as lignocellulosic materials (Chen, 2014). Due to the biological origin of the plants and to their chemical composition, they are considered as a potential source for obtaining clean energies and various chemical products. The lignocellulosic composition of wood is about 90 to 99 % of dry weight (Fengel and Wegener, 2003); which it varies among species, as well as among individuals, depending on the genetic combinations, age, and growth conditions of each species (Kilpeläinen et al., 2003; Yang et al., 2012).

Besides the main components of wood, there is a small percentage of extractives (4-12 %) made of fats, waxes, phenols, terpenes, resin acids and gums, among others (Rowell et al., 2005), as well as ashes, varying between 0.08 and 2 %. Extractives affect the properties of wood, such as natural durability, basic density, color and hygroscopicity, and also, certain processes like pulping and paper manufacture, drying and adhesion (Umezawa, 2001).

Cellulose is one of the most abundant biopolymers in nature; from which textiles, food or pharmaceutical products, pulp and paper, and bioethanol can be obtained. Xylitol, ferulic and lactic acids can be obtained from hemicelluloses (Saha, 2003), while lignosulfonates, polymeric resins and additives for adhesives, aromatic compounds like vanillin—which is used in pharmaceutical and cleaning products, perfumes, ice cream and chocolate—can be obtained from lignin (MacKay et al., 2009). The products that can be derived from wood depend on its inherent chemical composition and on the knowledge of it; therefore, it is important to research its basic composition in order to know the amounts of the main chemical compounds that allow the assessment of the technical and economic feasibility to obtain products (Sadhukhan et al., 2014).

There are in Mexico 46 species, 3 subspecies and 22 varieties of pine trees (Sánchez, 2008), which represent 42 % of the pine species in the world. Twenty of them have been recorded in the state of Durango (García and González, 1998), of which 18 are located in the Pueblo Nuevo region (Gutiérrez et al., 2008). Because of the available volume, the most exploited species in this region are *Pinus cooperi* C. E. Blanco, *P. durangensis* Martínez, *P. teocote* Schiede ex Schltdl. & Cham., *P. leiophylla* Schlecht. ex Cham., *P. ayacahuite* Ehrenb. ex Schltdl., *P. engelmannii* Carr., *P. herrerae* Martínez, *P. pseudostrobus* Lindley, *P. douglasiana* Martínez, *P. michoacana* Martínez, *P. oocarpa* Schiede and *P. maximinoi* H. E. Moore (Meraz, 2001).

Despite the economic importance of pine wood in the state of Durango, there are no studies on the wood chemical composition of any local species, and in general, the studies of

A pesar de la importancia económica que tiene la madera de los pinos en Durango, no se ha estudiado su composición química y en general, ese tipo de investigaciones en el país están limitados a pocas especies como *Pinus ayacahuite*, *P. cembroides* Zucc., *P. johannis* M.-F. Robert, *P. leiophylla*, *P. maximartinezii* Rzedowski, *P. michoacana* var. *cornuta* Martínez, *P. montezumae* Lamb., *P. oocarpa*, *P. patula* Schltdl. et Cham, *P. pinceana* Gordon, *P. pringlei* Shaw, *P. pseudostrobus*, *P. rufida* Endl., *P. strobus* L. and *P. teocote* (Islas, 1992; Ávila, 2011; Bernabé et al., 2013; Lima, 2013). Sus resultados indican que la madera de tales taxa contiene celulosa ($45.84 \pm 12.26\%$), hemicelulosas ($24.5 \pm 8.5\%$) y lignina insoluble ($27.9 \pm 2.3\%$); así como extractos, que pueden variar en función del tipo de solvente utilizado, que alcanzan valores de $6.9 \pm 6.6\%$ en agua caliente, de $8.7 \pm 6.4\%$ en etanol-tolueno y de $20.2 \pm 6.3\%$ en hidróxido de sodio (NaOH) al 1 %.

Así, el objetivo de este trabajo fue determinar la composición lignocelulósica, el contenido de extractos en etanol-benceno y etanol, además de la cantidad de cenizas de la madera de tres de las especies de pino más aprovechadas en Pueblo Nuevo, Durango (*Pinus ayacahuite*, *P. leiophylla* y *P. herrerae*) como una aportación al conocimiento técnico que las describe.

Materiales y Métodos

Se eligieron y derribaron seis árboles de *Pinus ayacahuite* en la comunidad denominada "Peña" ($23^{\circ}34'38.24''$ N, $105^{\circ}22'22.44''$ O), seis de *P. leiophylla* en la de "Mesa del Venado" ($23^{\circ}26'45''$ N, $105^{\circ}21'56''$ O) y cinco de *P. herrerae* en la "Colorada" ($23^{\circ}24'35''$ N, $105^{\circ}23'4''$ O) del ejido Pueblo Nuevo, Durango. Se tomaron muestras de hojas y conos de cada árbol derribado para realizar la identificación taxonómica, la cual estuvo bajo la responsabilidad de la curadora del Herbario Nacional Forestal "Luciano Vela Gálvez" (INIF) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Los individuos seleccionados estaban sanos, con fuste recto y libres de daños externos visibles. Las dimensiones fueron de 32.5 a 42.5 cm de diámetro normal (DN) y de 17 a 23.5 m de altura para *Pinus ayacahuite*, de 32 a 39 cm de DN y de 15 a 22 m de altura para *P. leiophylla* y de 32 a 40 cm de DN y de 17 a 25 m de altura para *P. herrerae*.

De cada árbol se tomaron dos trozas de 3 m en la parte baja, que fueron aserradas para producir una sección de 7 cm de ancho de la parte central de cada una y después piezas de 5 cm x 5 cm x 3 m; se hizo una elección aleatoria de dos piezas por troza y una porción de 20 cm de largo de cada una (Figura 1), libre de defectos como nudos o porciones de resina. Por la forma de seleccionar las muestras no fue posible separar la madera de albura y de duramen.

wood chemistry in Mexico are limited to a few species such as *Pinus ayacahuite*, *P. cembroides* Zucc., *P. johannis* M.-F. Robert, *P. leiophylla*, *P. maximartinezii* Rzedowski, *P. michoacana* var. *cornuta* Martínez, *P. montezumae* Lamb., *P. oocarpa*, *P. patula* Schltdl. et Cham, *P. pinceana* Gordon, *P. pringlei* Shaw, *P. pseudostrobus*, *P. rufida* Endl., *P. strobus* L. and *P. teocote* (Islas, 1992; Ávila, 2011; Bernabé et al., 2013; Lima, 2013). Their results show that the wood of these species is made up of cellulose ($45.84 \pm 12.26\%$), hemicelluloses ($24.5 \pm 8.5\%$) and insoluble lignin ($27.9 \pm 2.3\%$), as well as extracts, which may vary according to the type of the solvent used, reaching values of $6.9 \pm 6.6\%$ for hot water, of $8.7 \pm 6.4\%$ for ethanol-toluene and of $20.2 \pm 6.3\%$ for sodium hydroxide (NaOH) at 1 %.

Thus, the objective of this study was to determine the lignocellulosic composition, the content of extracts in ethanol-benzene and ethanol, as well as the amount of ashes in wood from three of the most exploited pine species in Pueblo Nuevo, Durango (*Pinus ayacahuite*, *P. leiophylla* and *P. herrerae*) as a contribution to the technical knowledge that describe them.

Materials and Methods

Six *Pinus ayacahuite* trees were selected and felled in the community known as "Peña" ($23^{\circ}34'38.24''$ N, $105^{\circ}22'22.44''$ W), six *P. leiophylla* trees in the community "Mesa del Venado" ($23^{\circ}26'45''$ N, $105^{\circ}21'56''$ W) and 5 *P. herrerae* trees in "Colorada" ($23^{\circ}24'35''$ N, $105^{\circ}23'4''$ W), in the Pueblo Nuevo ejido, Durango. Samples of leaves and cones were taken from each felled tree in order to identify the species. The botanical samples were identified by the curator of the "Luciano Vela Gálvez" National Forest Herbarium(INIF) of the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. The selected trees were healthy, with a straight stem, and free of external visible damage. The dimensions were: 32.5 to 42.5 cm for the normal diameter (ND) and 17 to 23.5 m for the height of *Pinus ayacahuite*, 32 to 39 cm for ND and 15 to 22 m for the height of *P. leiophylla* and 32 to 40 cm for the ND and 17 to 25 m for the height of *P. herrerae*.

Two 3 m long logs were taken from the lower part of each tree and sawn to produce a 7 cm wide section of the central part of each log and, subsequently, 5 cm x 5 cm x 3 m pieces. Two pieces and a 20 cm long portion—free of defects such as knots or resin pockets—were then selected at random from each log (Figure 1). Because of the manner in which the samples were selected, it was not possible to separate the sapwood from the heartwood.



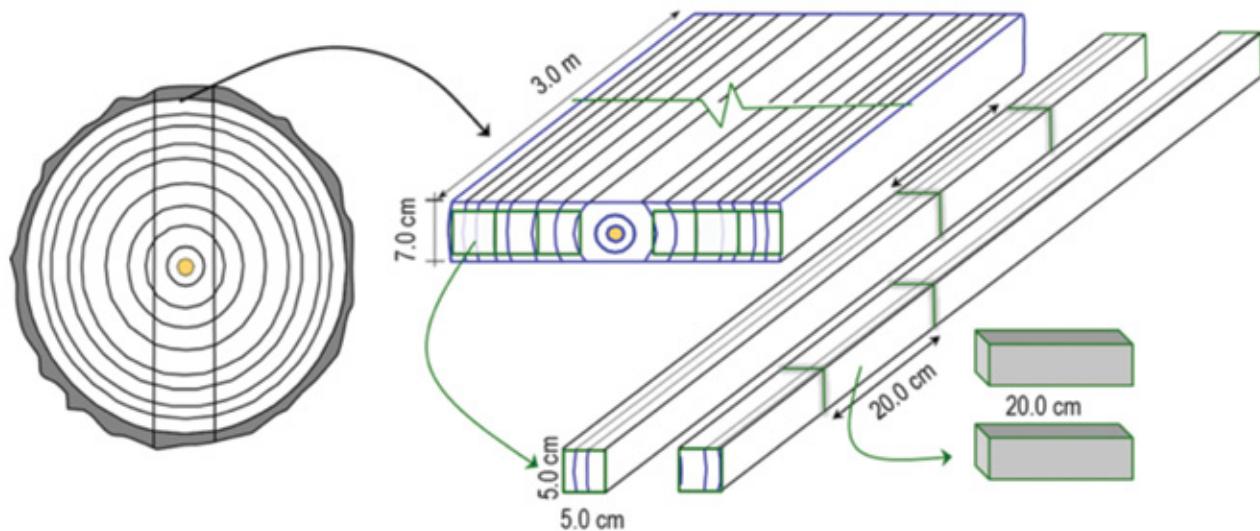


Figura 1. Ilustración de la obtención de muestras.

Figure 1. Illustration of the sample collection.

Las piezas de 5 cm x 5 cm x 20 cm fueron cepilladas en un canteador eléctrico Mizutti de dos cuchillas para obtener la viruta, la cual se secó a temperatura ambiente (20 °C); la correspondiente a cada pieza se mezcló, se molvió en un molino tipo Thomas Wiley y se tamizó en mallas de los números 40 (0.425 mm) y 60 (0.250 mm). Para las diferentes determinaciones se utilizó el material molido que fue retenido en la malla 60; se hicieron cinco repeticiones por determinación por individuo, lo que dio un total de 25 a 30 mediciones por especie.

Para el análisis químico, las muestras se prepararon de acuerdo con la norma TAPPI T264 cm-97 (TAPPI, 2007c) y la cuantificación de extractos en etanol-benceno y en etanol se efectuó con base en los procedimientos de la norma TAPPI T 204 cm-97 (TAPPI, 2007a); la cuantificación de lignina se llevó a cabo con la técnica de la norma TAPPI T 222 om-02 (TAPPI, 2007b). El procedimiento descrito por Rowell *et al.* (2005) se usó para determinar la holocelulosa y la norma ASTM D1103-77 (ASTM, 1977) para la de celulosa, mientras que las hemicelulosas se calcularon por diferencia de peso.

A los datos obtenidos en cada una de las determinaciones se les aplicó las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk (Razali y Wah, 2011) y de Bartlett para homogeneidad de varianzas (Milliken y Johnson, 2009). Las diferencias entre especies se calcularon mediante una comparación múltiple de medias por el método de Bonferroni (Milliken y Johnson, 2009). En estos análisis se usó un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$, así como los procedimientos UNIVARIATE, GLM y MIXED, respectivamente, del programa SAS (SAS, 2000). El procedimiento GLM también se empleó para la variación dentro de cada especie e interespecífica.

The 5 cm x 5 cm x 20 cm pieces were planed with a Mizutti® double-blade edge power planer in order to obtain the shavings, which were dried at room temperature (20 °C). The shavings of each piece were mixed, ground in a Thomas Wiley mill and sieved through No. 40 (0.425 mm) and No. 60 (0.250 mm) meshes. The ground material retained on the No. 60 mesh was used for various assessments; five repetitions were carried out per assessment per tree, adding up to a total of 25 to 30 measurements per species.

The samples were prepared for chemical analysis according to TAPPI T264 cm-97 standard (TAPPI, 2007c); the extracts in ethanol-benzene and in ethanol were quantified according to the procedures of the TAPPI T 204 cm-97 standard (TAPPI, 2007a), and the lignin, using the technique of TAPPI T 222 om-02 (TAPPI, 2007b). The procedure described by Rowell *et al.* (2005) was utilized to determine the quantity of holocellulose, and ASTM D1103-77 (ASTM, 1977) was used for cellulose, while hemicelluloses were estimated based on weight differences.

The data obtained from each assessment were subjected to Shapiro-Wilk test for normality (Razali and Wah, 2011) and to Bartlett's test for homogeneity of variances (Milliken and Johnson, 2009). In order to determine the differences among species, a multiple comparison of means was carried out with Bonferroni's method (Milliken and Johnson, 2009). These analyses used a significance level of $\alpha = 0.05$, and the UNIVARIATE, GLM and MIXED procedures, respectively, of the SAS software (SAS, 2000). The GLM procedure was also used to determine the variation among species and within each species.

Resultados y Discusión

Los resultados de las pruebas de normalidad de las observaciones y de homogeneidad de varianzas para cada una de las determinaciones se muestran en el Cuadro 1, en el cual se advierte que los datos siguen una tendencia normal; sin embargo, las varianzas de los contenidos de lignina, holocelulosa, celulosa y cenizas no son homogéneas, por ello, la comparación de medias se realizó con el modelo lineal mixto, que, a diferencia del modelo lineal general que utiliza el ajuste de mínimos cuadrados ordinarios, maximiza la verosimilitud restringida de los datos por medio del ajuste de mínimos cuadrados generalizados (SAS, 2010). Con excepción del contenido de cenizas, se obtuvieron diferencias significativas entre especies ($p < 0.05$), para los valores promedio.

Results and Discussion

Table 1 shows the results for the normality tests of the observations and the homogeneity of variances for each of the assessments that were carried out, in which the data follow a normal tendency. However, the variances of lignin, holocellulose, cellulose and ash contents are not homogeneous; therefore, the mean comparison was carried out with the mixed linear model, which maximizes the restricted likelihood of the data by the generalized least squares fitting, unlike the general linear model, which uses the ordinary least square fitting (SAS, 2010). With the exception of the ash contents, the results showed significant differences between species ($p < 0.05$) for the average values.



Cuadro 1. Resumen de las pruebas de normalidad de datos y homogeneidad de varianzas.

Variable	Prueba de Shapiro-Wilk		Prueba de Bartlett	
	(n=85)		χ^2	Pr > χ^2
	Estadístico W	Valor de P (Pr < W)		
Cenizas	0.952	0.307	28.12	<0.001
Extractos en etanol-benceno	0.949	0.349	1.75	0.4169
Extractos en etanol	0.953	0.315	5.40	0.0672
Lignina	0.951	0.307	36.63	<0.001
Holocelulosa	0.980	0.904	15.32	0.0005
Celulosa	0.957	0.391	13.19	0.0014
Hemicelulosas	0.968	0.624	0.69	0.7055

Table 1. Summary of the data normality and homogeneity of variances tests.

Variable	Shapiro-Wilk Test		Bartlett's test	
	(n=85)		(2 degrees of freedom)	
	Statistic W	P value (Pr < W)	χ^2	Pr > χ^2
Ashes	0.952	0.307	28.12	<0.001
Extracts in ethanol-benzene	0.949	0.349	1.75	0.4169
Extracts in ethanol	0.953	0.315	5.40	0.0672
Lignin	0.951	0.307	36.63	<0.001
Holocellulose	0.980	0.904	15.32	0.0005
Cellulose	0.957	0.391	13.19	0.0014
Hemicelluloses	0.968	0.624	0.69	0.7055



El contenido de cenizas es una medida aproximada de las sales minerales y otro material inorgánico de la madera (Rowell *et al.*, 2005). En este estudio, el contenido de cenizas no presentó diferencias significativas entre la madera de las tres especies (Cuadro 2). Los valores para la madera de *P. ayacahuite* son mayores a los citados (0.15 %) por Islas (1992); en *P. leiophylla*, son menores a los señalados por Bernabé *et al.* (2013) y Lima (2013), con 0.30 y 0.31 %, respectivamente. Para *P. herrerae* no existen valores de cenizas. En general, este contenido está dentro de los valores de 0.26 a 0.30 % registrados para, *P. michoacana*, *P. montezumae*, *P. oocarpa*, *P. patula*, *P. strobus* y *P. teocote* (Islas, 1992; Bernabé *et al.*, 2013; Lima, 2013), pero es inferior respecto al de 0.34 a 0.52 % correspondiente a *P. caribea*, *P. cembroides*, *P. johannis*, *P. maximartinezii*, *P. pinceana*, *P. pringlei*, *P. pseudostrobus* y *Pinus rufida*.

The ash content is an approximate measure of the mineral salts and other inorganic materials in the wood (Rowell *et al.*, 2005). In this study, the ash content showed no significant differences between the wood of the three species (Table 2). The obtained values for *P. ayacahuite* wood are higher than those reported (0.15 %) by Islas (1992). In *P. leiophylla* wood, the values are lower than those obtained by Bernabé *et al.* (2013) and Lima (2013) with 0.30 and 0.31 %, respectively. There are no values for ash in *P. herrerae*. In general, this content is within the values of 0.26 to 0.30 % recorded for *P. michoacana*, *P. montezumae*, *P. oocarpa*, *P. patula*, *P. strobus* and *P. teocote* (Islas, 1992; Bernabé *et al.*, 2013; Lima, 2013), but is lower than the 0.34 to 0.52 % for *P. caribea*, *P. cembroides*, *P. johannis*, *P. maximartinezii*, *P. pinceana*, *P. pringlei*, *P. pseudostrobus* and *Pinus rufida*.

Cuadro 2. Composición lignocelulósica, extractos y cenizas de la madera de tres especies de *Pinus*.

Especie	Cenizas (%)	Extractos (%)		Lignina (%)*	Holocelulosa (%)*	Celulosa (%)*	Hemicelulosas (%)*
		Etanol-benceno	Etileno				
<i>Pinus ayacahuite</i> Ehrenb. ex Schltl	0.27 ± 0.12 A [†]	12.0 ± 1.40 A	1.02 ± 0.38 B	28.6 ± 0.32 A	68.3 ± 1.02 B	43.9 ± 0.91 B	24.4 ± 0.81 A
<i>Pinus herrerae</i> Martínez	0.30 ± 0.13 A	3.5 ± 1.39 C	1.28 ± 0.22 A	26.3 ± 0.80 C	70.0 ± 2.50 A	45.6 ± 2.07 A	24.4 ± 0.80 A
<i>Pinus leiophylla</i> Schl. & Cham	0.25 ± 0.03 A	4.6 ± 1.77 B	1.06 ± 0.32 B	27.5 ± 1.34 B	66.7 ± 1.81 C	43.3 ± 1.42 B	23.4 ± 0.94 B

[†] = Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes ($p < 0.05$); * = Valores con base en el peso anhídrico de las muestras libres de extractos.

Table 2. Lignocellulosic composition, extracts and ashes of the wood of three pine species.

Species	Ashes (%)	Extracts (%)		Lignin (%)*	Holocellulose (%)*	Cellulose (%)*	Hemicelluloses (%)*
		Ethanol-benzene	Ethanol				
<i>Pinus ayacahuite</i> Ehrenb. ex Schltl	0.27 ± 0.12 A [†]	12.0 ± 1.40 A	1.02 ± 0.38 B	28.6 ± 0.32 A	68.3 ± 1.02 B	43.9 ± 0.91 B	24.4 ± 0.81 A
<i>Pinus herrerae</i> Martínez	0.30 ± 0.13 A	3.5 ± 1.39 C	1.28 ± 0.22 A	26.3 ± 0.80 C	70.0 ± 2.50 A	45.6 ± 2.07 A	24.4 ± 0.80 A
<i>Pinus leiophylla</i> Schl. & Cham	0.25 ± 0.03 A	4.6 ± 1.77 B	1.06 ± 0.32 B	27.5 ± 1.34 B	66.7 ± 1.81 C	43.3 ± 1.42 B	23.4 ± 0.94 B

[†] = Values with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$); * = Values based on oven-dry weight of extract-free samples.

En la extracción de la madera con etanol-benceno se eliminan ceras, grasas, resinas, fotoesteroles, hidrocarburos no volátiles, carbohidratos de bajo peso molecular, sales y otras sustancias solubles en agua (TAPPI, 2007a). El contenido de extractos de la madera en etanol-benceno fue significativamente ($p < 0.05$) mayor en *P. ayacahuite* que en *P. leiophylla* y *P. herrerae* (Cuadro 2). Los valores obtenidos están dentro del intervalo de extractos en etanol-benceno (0.5 - 12 %) documentados para diferentes especies de pinos en otros países (Shimizu, 1991; Shupe *et al.*, 1997; Fengel y Wegener, 2003; Hafızoglu y Usta, 2005; Rowell *et al.*, 2005). En México, no existen registros para este tipo de extractos. El alto contenido de extractos en la madera de *P. ayacahuite* podría causar problemas en los procesos de pulpeo, pegado y acabado (Umezawa, 2001).

In the extraction of wood with ethanol-benzene, waxes, fats, resins, photosterols, non-volatile hydrocarbons, low molecular weight carbohydrates, salts and other water-soluble substances are eliminated (TAPPI, 2007a). The content of extracts of the wood in ethanol-benzene was significantly higher ($p < 0.05$) in *P. ayacahuite* than in *P. leiophylla* and *P. herrerae* (Table 2). The obtained values are within the range of extracts in ethanol-benzene (0.5 - 12 %) reported for different pine species in other countries (Shimizu, 1991; Shupe *et al.*, 1997; Fengel and Wegener, 2003; Hafızoglu and Usta, 2005; Rowell *et al.*, 2005). There are no records for this type of extracts in Mexico. The high content of extracts in the wood may cause problems for the pulping, gluing and finishing processes (Umezawa, 2001).

Durante la extracción de la madera con etanol se remueven compuestos que incluyen: ceras, grasas, resinas, taninos, gomas, azúcares, almidones y pigmentos (ASTM, 2012). Los extractos en etanol mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la madera de *P. herrerae* (1.28 %), la de *P. ayacahuite* (1.02 %) y *P. leiophylla* (1.06 %) (Cuadro 2). Los valores están por abajo de los determinados por Lemos et al. (2005) para la madera de *Pinus oocarpa* (3.01 %).

El contenido de lignina fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en la madera de *P. ayacahuite*, con 28.6 %, seguido de *P. leiophylla* (27.50 %) y *P. herrerae* (26.3 %) (Cuadro 2). La cantidad de lignina en *P. ayacahuite* es menor a 29.9 %, de acuerdo a lo indicado por Islas (1992); mientras que para *P. leiophylla* el valor es inferior a 28.5 % y 29.4 % según Bernabé et al. (2013) y Lima (2013), respectivamente, aunque estos autores aplicaron una técnica de cuantificación de lignina diferente a la utilizada en el presente estudio. En comparación con otras especies de pinos, la cantidad de lignina es más alta a lo consignado (24-25.3 %) para *Pinus michoacana*, *P. montezumae*, *P. oocarpa*, *P. pringlei* y *P. teocote* (Ávila, 2011; Bernabé et al. 2013); es similar a los valores de 26.1 a 28.5 % determinados para *Pinus caribea*, *P. montezumae*, *P. patula*, *P. pseudostrabus*, *P. rufida* y *P. strobus* (Isla, 1992; Lima, 2013) y menor a los calculados (28.9-30.4 %) para *P. cembroides*, *P. johannis*, *P. maximartinezii* y *P. pinceana*. Los contenidos de lignina que se documentan también están dentro del intervalo de 20.2 a 30.3 %, citado en la literatura para la madera de pinos (Shimizu, 1991; Shupe et al., 1997; Fengel y Wegener, 2003; Hafizoğlu y Usta, 2005; Rowell et al., 2005).

Se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido de holocelulosa de la madera de las tres especies de pinos, la mayor correspondió a *P. herrerae*, con 70.0 % y la más baja a *P. leiophylla*, con 66.7 % (Cuadro 2). El valor de holocelulosa para *P. ayacahuite* fue menor (69.1 %) al determinado por Islas (1992); mientras que para *P. leiophylla* el valor fue inferior a 60.7 %, estimado por Lima (2013) y a 69.2 %, registrado por Bernabé et al. (2013). La cantidad de holocelulosa de las tres especies es mayor a lo que se consigna (63.6-65.9 %) para la madera de *Pinus cembroides*, *P. montezumae*, *P. pringlei* y *P. pseudostrabus* (Ávila, 2011; Lima, 2013), pero es menor a lo señalado (71.5-74.7 %) para la madera de *P. caribea*, *P. michoacana*, *P. oocarpa*, *P. patula*, *P. rufida*, *P. strobus* y *P. teocote* (Isla, 1992; Bernabé et al., 2013). La cantidad de holocelulosa de la madera en los pinos estudiados coincide con el intervalo de 62.9 a 79.8 % indicado para pinos de otros países (Shimizu, 1991; Shupe et al., 1997; Fengel y Wegener, 2003; Hafizoğlu y Usta, 2005; Rowell et al., 2005).

La madera de *Pinus herrerae* presentó el contenido más alto de celulosa (45.6 %), con respecto a la de *P. ayacahuite* (43.9 %) y de *P. leiophylla* (43.3 %) (Cuadro 2). Islas (1992) calculó un contenido de celulosa en *P. ayacahuite* de 58 %, mientras

During the extraction of wood with ethanol, certain compounds including waxes, fats, resins, tannins, gums, sugars, starches and pigments are removed (ASTM, 2012). Ethanol extracts showed significant differences ($p < 0.05$) between *P. herrerae* wood (1.28 %) and *P. ayacahuite* (1.02 %) and *P. leiophylla* wood (1.06 %) (Table 2). The values obtained are lower than those determined (3.01 %) by Lemos et al. (2005) for *Pinus oocarpa* wood.

The lignin content was significantly higher ($p < 0.05$) in *P. ayacahuite*, with 28.6 %, followed by *P. leiophylla* (27.50 %) and *P. herrerae* (26.3 %) (Table 2). The amount of lignin obtained in *P. ayacahuite* is less than 29.9 %, according to the findings of Islas (1992), while for *P. leiophylla* the value is below 28.5 % according to Bernabé et al. (2013) and below 29.4 % according Lima (2013), respectively, although these authors applied a quantification technique for lignin which differs from the one used in this study. Compared to other pine species, the amount of lignin is greater than the values of 24-25.3 % recorded for *Pinus michoacana*, *P. montezumae*, *P. oocarpa*, *P. pringlei* and *P. teocote* (Ávila, 2011; Bernabé et al. 2013), similar to the values of 26.1 to 28.5 % estimated for *Pinus caribea*, *P. montezumae*, *P. patula*, *P. pseudostrabus*, *P. rufida* and *P. strobus* (Isla, 1992; Lima, 2013), and lower than the values estimated (28.9-30.4 %) for *P. cembroides*, *P. johannis*, *P. maximartinezii* and *P. pinceana*. The obtained values are within the range of extracts in ethanol-benzene (20.2 - 30.3 %) reported for different pine species in other countries (Shimizu, 1991; Shupe et al., 1997; Fengel and Wegener, 2003; Hafizoğlu and Usta, 2005; Rowell et al., 2005).

Significant differences ($p < 0.05$) were found in the holocellulose contents of the wood of three species, which are higher in *P. herrerae* (70.0 %) and lower in *P. leiophylla* (66.7 %) (Table 2). The obtained value of holocellulose for *P. ayacahuite* is lower (69.1 %) than the value determined by Islas (1992), while for *P. leiophylla* the value is lower than 60.7 %, found by Lima (2013), and 69.2 %, reported by Bernabé et al. (2013). The amount of holocellulose of the three species is higher than that reported (63.6-65.9 %) for *Pinus cembroides*, *P. montezumae*, *P. pringlei* and *P. pseudostrabus* (Ávila, 2011; Lima, 2013), but below that (71.5-74.7 %) found for *P. caribea*, *P. michoacana*, *P. oocarpa*, *P. patula*, *P. rufida*, *P. strobus* and *P. teocote* (Isla, 1992; Bernabé et al., 2013). The amount of holocellulose of the wood of the studied pine trees is within the range of 62.9 to 79.8 % reported for pines in other countries (Shimizu, 1991; Shupe et al., 1997; Fengel and Wegener, 2003; Hafizoğlu and Usta, 2005; Rowell et al., 2005).

The wood of *Pinus herrerae* showed the highest content of cellulose (45.6 %), with respect to the wood of *P. ayacahuite* (43.9 %) and *P. leiophylla* (43.3 %) (Table 2). Islas (1992) estimated the content of cellulose of *P. ayacahuite* in 58 %, while Lima (2013) estimated a value of 60.7 % for *P. leiophylla*. These values are above those determined in this study for the same species. The above mentioned authors estimated cellulose values

que Lima (2013) de 60.7 % para *P. leiophylla*. Estos valores son superiores a los alcanzados en la presente investigación para las mismas especies. Los autores arriba citados estimaron valores mayores de celulosa de 56.7 a 64.8 % para la madera de *P. caribea*, *P. montezumae*, *P. patula*, *P. pseudostrobus*, *P. rufida* y *P. strobus*. Sin embargo, contenidos menores de celulosa fueron identificados en *Pinus cembroides* (36 %), *P. johannis* (35.5 %), *P. maximartinezii* (37.6 %) y *P. pinceana* (35.6 %) (Revilla, 2011, citado por Bernabé et al., 2013). La cantidad de celulosa en los pinos de estudio queda comprendida dentro del intervalo de 30 a 61.6 % registrado para especies de pinos (Shimizu, 1991; Shupe et al., 1997; Fengel y Wegener, 2003; Hafizoğlu y Usta, 2005; Rowell et al., 2005).

Las mayores concentraciones de hemicelulosas se obtuvieron en la madera de *Pinus ayacahuite* y *P. herrerae* en comparación con la de *P. leiophylla* (Cuadro 2), pero son inferiores a las de *Pinus cembroides* (29.9 %), *P. johannis* (30.9 %), *P. maximartinezii* (30.6 %) y *P. pinceana* (31.1 %). La cantidad en la madera en pinos extranjeros varía de 18 a 41.2 % (Shimizu, 1991; Shupe et al., 1997; Fengel y Wegener, 2003; Hafizoğlu y Usta, 2005; Rowell et al., 2005), por lo que el contenido de estos compuestos (23.4-24.4 %) está en el intervalo de pinos extranjeros.

Los resultados del procedimiento GLM de SAS indican que la variación en la composición química intraespecífica fue menor a la observada entre especies (Cuadro 3). La más alta ocurrió en *Pinus ayacahuite* y en *P. leiophylla* para el contenido de extractos en etanol, mientras que en *P. herrerae* fue en el contenido de extractos en etanol-benceno (Cuadro 3). La variación interespecífica más pronunciada se verificó en los contenidos de cenizas y extractos, tanto en etanol-benceno como en etanol. Dentro de las especies es importante para el mejoramiento genético, mientras que entre especies es fundamental para el pulpeo en la producción de papel y para la conversión química en productos químicos derivados de la madera (Yang et al., 2012).

Cuadro 3. Variación de la composición química (%) dentro y entre las especies de pinos estudiadas.

Dentro de especies	Cenizas	Extractos		Lignina	Holocelulosa	Celulosa	Hemicelulosas
		Etileno-benceno	Etileno				
<i>Pinus ayacahuite</i> Ehrenb. ex Schltl	6.39	2.22	14.07	0.35	0.78	0.64	1.36
<i>Pinus herrerae</i> Martínez	12.25	13.47	9.58	0.92	1.38	1.72	1.45
<i>Pinus leiophylla</i> Schl. & Cham	12.99	4.67	13.47	0.40	0.67	0.67	0.75
Entre especies	38.38	22.71	28.69	3.47	2.68	3.40	3.57

Table 3. Variation of the chemical composition (%) within and among the studied pine species.

Within species	Ashes	Extracts		Lignin	Holocellulose	Cellulose	Hemicelluloses
		Ethanol-benzene	Ethanol				
<i>Pinus ayacahuite</i> Ehrenb. ex Schltl	6.39	2.22	14.07	0.35	0.78	0.64	1.36
<i>Pinus herrerae</i> Martínez	12.25	13.47	9.58	0.92	1.38	1.72	1.45
<i>Pinus leiophylla</i> Schl. & Cham	12.99	4.67	13.47	0.40	0.67	0.67	0.75
Among species	38.38	22.71	28.69	3.47	2.68	3.40	3.57

of 56.7 to 64.8 % for *P. caribea*, *P. montezumae*, *P. patula*, *P. pseudostrobus*, *P. rufida* and *P. strobus* wood. However, lower cellulose contents were identified in *Pinus cembroides* (36 %), *P. johannis* (35.5 %), *P. maximartinezii* (37.6 %) and *P. pinceana* (35.6 %) (Revilla, 2011, cited by Bernabé et al., 2013). The cellulose contents in the studied species also ranges between 30 and 61.6 % for the wood of pine species of other countries (Shimizu, 1991; Shupe et al., 1997; Fengel and Wegener, 2003; Hafizoğlu and Usta, 2005; Rowell et al., 2005).

The highest concentrations of hemicelluloses were obtained in *Pinus ayacahuite* and *P. herrerae* wood, compared to *P. leiophylla* wood (Table 2), but are lower than those obtained for *Pinus cembroides* (29.9 %), *P. johannis* (30.9 %), *P. maximartinezii* (30.6 %) and *P. pinceana* (31.1 %). The values for the wood of foreign pines range between 18 and 41.2 % (Shimizu, 1991; Shupe et al., 1997; Fengel and Wegener, 2003; Hafizoğlu and Usta, 2005; Rowell et al., 2005); therefore, the contents of these compounds (23.4-24.4 %) are within the range for foreign pine species.

The results of the SAS GLM procedure show that the variation in the chemical composition within each of the species was lower than that observed among species (Table 3). The highest occurred in *Pinus ayacahuite* and in *P. leiophylla* for the content of extracts in ethanol, while *P. herrerae* had the lowest variation in the content of ethanol-benzene extracts (Table 3). Among species, the highest variation was found in the content of ashes and extracts, both in ethanol-benzene and in ethanol. Variation within the species is important for genetic improvement, while variation among species is essential for pulping to paper making and for chemical conversion in chemical products derived from wood (Yang et al., 2012).

In general, wood with low contents of lignin and extracts can be easier to delignifying, which favors the pulping process

En general, la madera con bajos contenidos de lignina y extractos puede ser más fácil de deslignificar y favorecer el proceso de pulpeo, así como la bioconversión para la producción de biocombustibles líquidos (Sable et al., 2012; Zeng et al., 2014). La madera de *P. herrerae* presentó contenidos de lignina y extractos totales más bajos que los de las otras especies, por lo cual sería más conveniente para producir pulpa para papel y en la bioconversión por su alto contenido de celulosa.

La diferencia y la variación de la composición química de la madera de los taxa estudiados pueden deberse a las características genéticas de cada taxón, a la edad y las condiciones de crecimiento (Campbell et al., 1990; Berrocal et al., 2004; Yang et al., 2012); sin embargo, es necesario realizar trabajos más específicos que consideren estas variables.

Conclusiones

La madera de *Pinus ayacahuite*, *P. herrerae* y *P. leiophylla* presentan diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) en sus componentes lignocelulósicos y sus contenidos de extractos, con una variación mayor entre especies que dentro de especies. La primera reúne un alto contenido de extractos totales (13 %) y contenido de lignina superior. En contraste, la de *P. herrerae* registra menores contenidos de extractos totales (56 %) y de lignina, así como mayores contenidos de holocelulosa y celulosa. La madera de *P. leiophylla* tiene menores contenidos de holocelulosa, celulosa, hemicelulosas y cenizas, respecto a las otras dos.

En general, los valores la composición química y extractivos permite considerar la madera de las especies estudiadas como materia prima para la obtención de pulpa para papel y para biocombustibles líquidos, aunque *P. ayacahuite* podría dificultar estos procesos por su alto contenido de extractos. 

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a los pobladores del ejido Pueblo Nuevo por la donación de los árboles; al Fondo Sectorial Conafor-Conacyt por el financiamiento otorgado para la recolecta y procesamiento de muestras a través del proyecto No. 6069, y al Fondo Sectorial Conacyt-Sener-Sustentabilidad Energética por el apoyo financiero para las determinaciones químicas mediante el proyecto No. 151370.

Conflictivo de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribución por autor

José Amador Honorato Salazar: recolecta, muestreo, procesamiento de muestras, análisis estadístico, redacción y corrección del manuscrito; Flora Apolinar Hidalgo: preparación de muestras para el análisis químico, determinación de extractos, lignina, holocelulosa, celulosa y hemicelulosas y redacción del manuscrito; Gertrudis Colotl Hernández: preparación de muestras para análisis químico, determinación de cenizas.

and bioconversion for the production of liquid biofuels (Sable et al., 2012; Zeng et al., 2014). *P. herrerae* wood showed lower contents of lignin and extracts than other species, and therefore, it could be more suitable for producing pulp for paper and for bioconversion, due to its high content of cellulose.

The differences and variations in the wood chemical composition of the studied species may be due to the genetic traits of each species, to the age of the trees and to the growth conditions (Campbell et al., 1990; Berrocal et al., 2004; Yang et al., 2012). However, more specific studies addressing these variables are needed.

Conclusions

Wood of *Pinus ayacahuite*, *P. herrerae* and *P. leiophylla* shows statistically significant differences ($p < 0.05$) in their lignocellulosic components and their contents of extracts, with a larger variation among species than within species. The first has a high content of total extracts (13 %) and a higher content of lignin. In contrast, *P. herrerae* wood has lower contents of total extracts (56 %) and of lignin, as well as higher contents of holocellulose and cellulose. *P. leiophylla* wood contains less holocellulose, cellulose, hemicelluloses and ashes than the other studied species.

In general, the wood chemical composition and extract contents of the studied species may be considered as a feedstock for obtaining pulp for paper and liquid biofuels; however, these processes may be more difficult for *P. ayacahuite* wood due to its high extracts content. 

Acknowledgments

The authors wish to express their gratitude to the inhabitants of the Pueblo Nuevo ejido for the donation of trees; to the Conafor-Conacyt Sectoral Fund for the given grant to collect and process samples under project No. 6069, and to the Conacyt-Sener -Energy Sustainability Sectoral Fund for the given financial support for the chemical analysis under project No. 151370.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Contributions by author

José Amador Honorato Salazar: collection, sampling, sample processing, statistical analysis, drafting and editing of the manuscript; Flora Apolinar Hidalgo: preparation of samples for the chemical analysis, determination of extracts, lignin, holocellulose, cellulose and hemicelluloses and drafting of the manuscript; Gertrudis Colotl Hernández: preparation of samples for chemical analysis, determination of ash contents.

End of the English version

Referencias

- American Society for Testing and Materials (ASTM). 1977. Method of test for alpha-cellulose in wood, ASTM D1103 - 60. Annual book of ASTM standards. Part 22: wood; adhesives. West Conshohocken, PA, USA. pp. 343-345.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2012. Standard Test Method for Determination of Ethanol Extractives in Biomass, ASTM E1690 - 08. Annual book of ASTM standards. Volume 11.06. Biological Effects and Environmental Fate; Biotechnology. ASTM International. West Conshohocken, PA, USA. pp. 825-827.
- Ávila C, L. E. 2011. Evaluación de los componentes químicos básicos de la madera de *P. pringlei* infectada por el muérdago *Psittacanthus macrantherus*. Ciencia Nicolaita 54: 7-16.
- Berrocal, A., J. Baeza, J. Rodríguez, M. Espinosa and J. Freer. 2004. Effect of tree age on variation of *Pinus radiata* D. Don chemical composition. Journal of the Chilean Chemical Society 49(3): 251-256.
- Bernabé S., R. L. E. Ávila C. y J. G. Ruttiaga Q. 2013. Componentes químicos de la madera de cinco especies de pino del municipio de Morelia, Michoacán. Madera y Bosques 19(2):21-35.
- Campbell, A. G., W. J. Kim and P. Koch. 1990. Chemical variation in lodgepole pine with sapwood/heartwood, stem height, and variety. Wood and Fiber Science 22(1): 22-30.
- Chen, H. 2014. Chemical composition and structure of natural lignocellulose. In: Chen, H. (comp.). Biotechnology of lignocellulose: theory and practice. Springer Science+Business Media B. V. Dordrecht, The Netherlands. pp. 25-71.
- Fengel, D. and G. Wegener. 2003. Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Verlag Kessel, Remagen, Germany. 613 p.
- García A, A. y S. González E. 2003. Pináceas de Durango. 2^a edición. Instituto de Ecología-Conafor. Durango, Dgo., México. 187 p.
- Gutiérrez G., M. V., H. M. Rodríguez C. y J. A. Honorato S. 2008. Estudio florístico de los bosques de la Región de El Salto, Pueblo Nuevo, Durango. Proyecto Conafor-2002-C01-6069. Informe Técnico. INIFAP, Campo Experimental San Martinito, Tlahuapan, Pue., México. 72 p.
- Hafizoğlu, H. and M. Usta. 2005. Chemical composition of coniferous wood species occurring in Turkey. Holz als Roh- und Werkstoff 63: 83-85.
- Islas O., E. 1992. Evaluación de cinco especies de pino para la producción de pulpas termomecánicas blanqueadas. Tesis de Maestría. Departamento de Madera, Celulosa y Papel. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jal., México. 147 p.
- Kilpeläinen, A., H. Peltola, A. Ryypöö, K. Sauvala, K. Laitinen and S. Kellomäki. 2003. Wood properties of Scots pines (*Pinus sylvestris*) grown at elevated temperature and carbon dioxide concentration. Tree Physiology 23: 889-897.
- Lemos de M., S. A., E. A. do Nascimento y D. Carrijo de M. 2005. Análise da madeira de *Pinus oocarpa* Parte I - estudo dos constituintes macromoleculares e extractivos volátéis. Revista Árvore 29(3): 461-470.
- Lima R., L. 2013. Evaluación de la composición química y propiedades físicas de madera y corteza de cuatro coníferas para la producción de bioenergía. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León, Linares, NL, México. 55 p.
- MacKay, D. G., B. J. W. Cole, R. C. Fort and A. Mares. 2009. Potential markets for chemicals and pharmaceuticals from woody biomass in Maine. Forest Research LLC. Orono, ME, USA. 26 p.
- Meraz A., R. 2001. Programa de Manejo Forestal 1997-2007 del Ejido de Pueblo Nuevo. Memoria General. El Salto, Dgo., México. 207 p.
- Milliken, G. A. and D. E. Johnson. 2009. Analysis of messy data. Designed experiments. Vol. 1 2nd Ed. Taylor & Francis Group, LLC. Boca Raton, FL, USA. 674 p.
- Razali, N. M. and Y. B. Wah. 2011. Power comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling tests. Journal of Statistical Modeling and Analytics 2(1):21-33.
- Rowell, R. M., R. Pettersen, J. S. Han, J. S. Rowell and M. A. Tshabalala. 2005. Cell wall chemistry. In: Rowell, R. M. (ed.) Handbook of wood chemistry and wood composites. CRC Press. Boca Raton, FL, USA. pp. 35-74.
- Sable, I., U. Grinfelds, A. Jansons, L. Vikele, I. Irbe, A. Verovkins and A. Treimanis. 2012. Properties of wood and pulp fibers from lodgepole pine (*Pinus contorta*) as compared to scots pine (*Pinus sylvestris*). BioResources 7(2): 1771-1783.
- Sadhukhan, J., K. S. Ng and E. Martínez H. 2014. Biorefineries and chemical processes: design, integration and sustainability analysis. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex, UK. 625 p.
- Saha, B. C. 2003. Hemicellulose bioconversion. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 30: 279-291.
- Sánchez G., A. 2008. Una visión actual de la diversidad y distribución de los pinos en México. Madera y Bosques 14 (1): 107-12.
- Statistical Analysis System (SAS). 2000. The SAS system for windows (Version 8.0 for Windows). SAS Institute Inc. Cary, NC, USA. n/p.
- Statistical Analysis System (SAS). 2010. SAS/STAT® 9.22 User's guide. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA. pp: 125-237.
- Shimizu, K. 1991. Chemistry of hemicelluloses. In: Hon, D. N. S. and N. Shiraishi (eds.). Wood and cellulosic chemistry. Marcel Dekker, Inc. New York, NY, USA. pp: 177-214.
- Shupe, T. F., C. Y- Hse, E. T. Choong and L. H. Groom. 1997. Differences in some chemical properties of innerwood and outerwood from five silviculturally different loblolly pine stands. Wood Fiber Science 29(1):91-97.
- Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI). 2007a. Solvent extractives of wood and pulp. T 204 cm-97. TAPPI Test methods. Fibrous materials and pulp testing. CD Version. Atlanta, GA, USA. 4 p.
- Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI). 2007b. Acid insoluble lignin in wood and pulp. T 222 om-02. TAPPI Test methods. Fibrous materials and pulp testing. CD Version. Atlanta, GA, USA. 5 p.
- Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI). 2007c. Preparation of wood for chemical analysis. T 264 cm-97. TAPPI Test methods. Fibrous materials and pulp testing. CD Version. Atlanta, GA, USA. 3 p.
- Umezawa, T. 2001. Chemistry of extractives. In: Hon, D. N. S. and N. Shiraishi (eds.). Wood and cellulosic chemistry. 2nd Edition. Marcel Dekker, Inc. New York, NY, USA. pp: 213-241.
- Yang, Z., L. Yu-pu and W. Qiong. 2012. Patterns of variation in chemical compositions of wood from natural populations of *P. manssoniana* Lamb. in Guizhou Province, China. Forest Studies of China 14(2): 112-117.
- Zeng, Y., S. Zhao, S. Yang and S. Y. Ding. 2014. Lignin plays a negative role in the biochemical process for producing lignocellulosic biofuels. Current Opinion in Biotechnology 27: 38-45.