



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO MEXICANO PARA LA PRODUCCIÓN MÁS LIMPIA

Caracterización y procesamiento de biomasa
lignocelulósica proveniente del olote de maíz
para la obtención de bioenergéticos y
productos de valor agregado

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO
DE:
DOCTOR EN ENERGÍA

P R E S E N T A :
M. en C. ALEJANDRO RAMÍREZ
ESTRADA

Directores:
Dr. RAÚL HERNÁNDEZ ALTAMIRANO
Dra. VIOLETA YASMÍN MENA CERVANTES



Cd. de México, Julio del 2021



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

S/P-14
REP 2017

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México siendo las 15:00 horas del día 30 del mes de junio
del 2021 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de
Profesores de Posgrado de: Centro Mexicano para la Producción más Limpia para examinar la tesis titulada:

"Caracterización y procesamiento de biomasa lignocelulósica proveniente del dote de maíz
para la obtención de bioenergéticos y productos de valor agregado" del (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	Ramirez	Apellido Materno:	Estrada	Nombre (s):	Alejandro
----------------------	---------	----------------------	---------	-------------	-----------

Número de registro: B 1 6 1 3 6 1

Aspirante del Programa Académico de Posgrado: Doctorado en Energía

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el
trabajo de tesis tiene 4% de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los
textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente
trabajo SI ☐ NO ☒ **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN:

El porcentaje de similitud corresponde a fragmentos de los antecedentes debidamente citados en el documento.

Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del %
de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.

Finalmente, y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los
miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR** ☒ **SUSPENDER** ☐ **NO APROBAR** ☐ la tesis por
UNANIMIDAD ☒ o **MAYORÍA** ☐ en virtud de los motivos siguientes:

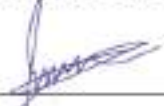
El documento de tesis cumple con los requisitos de originalidad y estructura establecidos en los artículos 33 y 34
del Reglamento de Estudios de Posgrado del Instituto; aportando elementos de valor a la caracterización de
biomasa lignocelulósica y al desarrollo de biocombustibles.

COMISIÓN REVISORA DE TESIS


Dr. Raúl Hernández Altamirano
Director de Tesis


Dr. Gabriel Pineda Flores


Dr. Ignacio Elizalde Martínez


Dra. Violeta Yasmin Mena
Cervantes
2º Director de Tesis


Dr. Fabián Salvador Mederos Nieto


Dr. Abelardo Trineo Flores Vela
PRESIDENTE DEL COLEGIO
DE PROFESORES



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México, siendo el día 28 del mes de **Junio** del año 2021, el que suscribe Alejandro Ramírez Estrada alumno del Programa de Doctorado en Energía, con número de registro B161361, adscrito al Centro Mexicano para la producción más Limpia, manifiesta que es el autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Raúl Hernández Altamirano y la Dra. Violeta Yasmín Mena Cervantes y cede los derechos del trabajo titulado Caracterización y procesamiento de biomasa lignocelulósica proveniente del olote de maíz para la obtención de bioenergéticos y productos de valor agregado, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones alexram0021@gmail.com, rhaltamirano@gmail.com, o bien, nymena@gmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Nombre y firma del alumno(a)

Agradecimientos

Este trabajo de tesis fue realizado en el Instituto Politécnico Nacional (IPN) en las instalaciones Centro Mexicano para la Producción más Limpia (CMP+L) y el Laboratorio Nacional de Desarrollo y Aseguramiento de la Calidad en Biocombustibles (LaNDACBio), además, con apoyo de la beca SENER-CONACYT.

Agradecido estoy con la institución y con los profesores del Doctorado en Energía por permitirme realizar mis estudios y las facilidades para realizar mi trabajo de investigación. También, agradezco a CONACYT por otorgarme la beca para la manutención de mis estudios de posgrado.

Los experimentos realizados en el trabajo de tesis fueron financiados mediante el proyecto CONACYT-315787. Así como también, con recursos de la Secretaria de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional (SIP-IPN); proyectos de investigación SIP-20210056 y SIP-20210058. También, con recursos provenientes del Centro de Innovación en Insumos para Bioenergéticos y Co-productos (CIBIOC) y de los proyectos SECTEI-243-2020 y SECITI-044-2018.

Por último, quiero agradecer de manera muy especial al Dr. Raúl Hernández Altamirano y la Dra. Violeta Yasmín Mena Cervantes por su asesoría. Gracias por apoyarme en mi carrera profesional y sobre todo por su confianza.

Dedicatoria

Esta tesis se la dedico a mis padres el Sr. Perfecto Ramírez Almeraya y la Sra. Ma. Nieves Estela Estrada Buendía. Ustedes han creído en mí desde el principio y siempre han sido mi inspiración para seguir adelante. También, dedico mi trabajo a mi hermana Gabriela Ramírez Estrada por su apoyo incondicional y su confianza. Espero que esta Tesis sea un reflejo de mi dedicación y el deseo por conseguir lo que me propongo. Quiero que sepan que siempre pienso en ustedes y que son parte esencial de mi vida.

Contenido

Lista de figuras.....	7
Lista de tablas	9
Resumen.....	10
Abstract.....	12
Introducción.....	14
Planteamiento del problema	16
Hipótesis	17
Objetivos	18
Capítulo 1. Marco teórico	19
1.1. Conversión de la biomasa en energía.....	19
1.2. Composición de la biomasa lignocelulosa.	20
1.3. Caracterización de la biomasa lignocelulósica.....	21
1.4. Caracterización de los monosacáridos.	25
1.5. Conversión bioquímica de los azúcares a etanol.....	29
Capítulo 2. Materiales y métodos.....	32
2.1. Plan de trabajo.	32
2.2. Analizar la composición del olote	33
2.3. Comparar el desempeño termogravimétrico del olote	34
2.4. Tratamientos químicos.....	35
2.4.1. Tratamiento Ácido.....	36
2.4.2. Caracterización de las fracciones liquidas y solidas del tratamiento ácido.	36
2.4.3. Tratamiento Alcalino	37
2.4.4. Caracterización de las fracciones liquidas y solidas del tratamiento alcalino.	38
2.5. Análisis de las propiedades y funcionalidad de los derivados obtenidos.	38
Capítulo 3. Análisis y discusión de resultados.....	42
3.1. Principales componentes del olote	42
3.2. Análisis de la recalcitrancia del olote	44
3.3. Tratamientos químicos.....	56
3.4. Desarrollo de biocombustibles y/o productos de valor agregado	66
Conclusiones	78
Referencias	79

Lista de figuras

Figura 1. Rutas para la conversión de la biomasa vegetal en energética	20
Figura 2. Oxidación de monosacáridos	25
Figura 3. Representación de la reacción de Dubois	26
Figura 4. Representación de la reacción de Miller	26
Figura 5. Formación de etanol a partir de la descarboxilación de piruvato	31
Figura 6. Esquema de trabajo.	32
Figura 7. Secuencia del tratamiento químico.	35
Figura 8. Material utilizado en el pretratamiento ácido y alcalino: a) sistema de reacción y b) sistema de filtración.	36
Figura 9. Apariencia de las soluciones de Fehling	37
Figura 10. Apariencia de los tubos de ensaye después del proceso de calentamiento.	39
Figura 11. Datos de absorbancia graficados	40
Figura 12. Material utilizado para monitorear el crecimiento de la levadura <i>saccharomyces cerevisiae</i>	41
Figura 13. Estructura del olote de maíz	42
Figura 14. Espectro de infrarrojo del olote de maíz.....	43
Figura 15. Desempeño termogravimétrico del algodón	45
Figura 16. Espectro de infrarrojo de la fibra de algodón y de los remanentes solidos generados durante el proceso de calentamiento.	46
Figura 17. Desempeño termogravimétrico del algodón y el almidón; (a) curvas termogravimétricas y (b) derivada de las curvas termogravimétricas.....	47
Figura 18. Espectro de infrarrojo de las muestras de algodón (espectro rojo), almidón (espectro rosa) y pectina cítrica (espectro naranja).	48
Figura 19. Desempeño termogravimétrico del algodón, almidón y pectina cítrica; (a) curvas termogravimétricas y (b) derivada de las curvas termogravimétricas.....	49
Figura 20. Desempeño termogravimétrico de la lignina; (a) curva termogravimétrica y (b) derivada de la curva termogravimétrica.....	51
Figura 21. Espectro de infrarrojo de la lignina y de los remanentes solidos generados durante el proceso de calentamiento.....	51
Figura 22. Desempeño termogravimétrico de los materiales de referencia; (a) curva termogravimétrica y (b) derivada de la curva termogravimétrica.	52
Figura 23. Desempeño termogravimétrico del olote de maíz; (a) curva termogravimétrica y (b) derivada de la curva termogravimétrica.	54
Figura 24. Diagrama de componentes principales	54
Figura 25. Espectro de infrarrojo del olote de maíz y de los remanentes sólidos generados durante el proceso de calentamiento.....	55
Figura 26. Apariencia de la mezcla de reacción: a) inicio y b) final	56
Figura 27. Espectro de infrarrojo de la dextrosa y los compuestos solubles generados durante el tratamiento ácido.....	57

Figura 28. Espectro de resonancia magnética nuclear de protón de los compuestos solubles generados durante el tratamiento ácido.	58
Figura 29. Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono de los compuestos solubles generados durante el tratamiento ácido.	58
Figura 30. Resultados de la prueba de Fehling; (a) referencia, (b) Dextrosa y (c) SOL-AC. .	59
Figura 31. Espectro de infrarrojo del olote y de los compuestos insolubles generados durante el tratamiento ácido.....	59
Figura 32. Desempeño termogravimétrico del olote y los compuestos insolubles generados durante el tratamiento ácido (NOSOL-AC); (a) curvas termogravimétricas y (b) derivada de la curva termogravimétrica.....	60
Figura 33. Apariencia de la mezcla de reacción: a) inicio y b) final	61
Figura 34. Espectro de infrarrojo de la lignina y los compuestos solubles generados durante el tratamiento alcalino.	62
Figura 35. Resultados de la prueba de Fehling; (a) referencia, (b) Dextrosa, (c) SOL-AC y (d) SOL-ALC.....	62
Figura 36. Espectro de infrarrojo del olote, los compuestos insolubles generados durante el tratamiento alcalino (SOL-ALC) y la fibra de algodón.....	63
Figura 37. Desempeño termogravimétrico del olote y los compuestos insolubles generados durante el tratamiento ácido (NOSOL-AC) y alcalino (NOSOL-ALC); (a) curvas termogravimétricas y (b) derivada de la curva termogravimétrica.	64
Figura 38. Representación esquemática del tratamiento químico y la cantidad de material recuperado en cada una de las etapas.....	65
Figura 39. Biorreactores inoculados con levadura (<i>saccharomyces cerevisiae</i>); bioreactor de referencia y bioreactores (1-3) preparados con SOL-AC.....	67
Figura 40. Variación de la absorbancia de los biorreactores preparados con SOL-AC e inoculados con levadura (<i>saccharomyces cerevisiae</i>).....	68
Figura 41. Biorreactores inoculados con levadura (<i>saccharomyces cerevisiae</i>); bioreactor de referencia y bioreactores (1-3) preparados con SOL-ALC.	72
Figura 42. Variación de la absorbancia de los biorreactores preparados con SOL-ALC e inoculados con levadura (<i>saccharomyces cerevisiae</i>).....	73
Figura 43. Espectro de infrarrojo de los compuestos solubles generados durante el tratamiento ácido.....	74
Figura 44. Espectro de infrarrojo de los compuestos solubles (SOL-ALC) e insolubles (NOSOL-ALC) generados durante el tratamiento alcalino.	75
Figura 45. Desempeño termogravimétrico del olote y los compuestos insolubles generados durante el tratamiento ácido (NOSOL-AC) y alcalino (NOSOL-ALC); (a) curvas termogravimétricas y (b) derivada de la curva termogravimétrica.	76

Lista de tablas

Tabla 1. Composición de algunos materiales lignocelulósicos	21
Tabla 2. Análisis proximal de algunos materiales lignocelulósicos	22
Tabla 3. Análisis elemental de algunos materiales lignocelulósicos	22
Tabla 4. Análisis composicional de algunos materiales lignocelulósicos, utilizando la técnica de hidrolisis con H ₂ SO ₄	23
Tabla 5. Bandas FTIR de adsorción de los componentes de la biomasa lignocelulósica.....	24
Tabla 6. Intervalos de adsorción de infrarrojo medio de algunas biomoléculas	27
Tabla 7. Desplazamientos químicos (δ) de RMN-H ¹ de los principales grupos funcionales ..	28
Tabla 8. Desplazamientos químicos (δ) de RMN-C ¹³ de los principales grupos funcionales ..	28
Tabla 9. Reacciones de la glicólisis o vía Embden-Meyerhof-Parnas.....	29
Tabla 10. Reacciones de la vía Entner-Doudoroff.....	30
Tabla 11. Metodologías utilizadas en el análisis composicional del olote	33
Tabla 12. Datos de absorbancia del método DNS	40
Tabla 13 Análisis nutrimental del olote.....	42
Tabla 14. Resultados del análisis proximal	43
Tabla 15. Parámetros termogravimétricos correspondientes las curvas termogravimétricas de los materiales de referencia.....	53
Tabla 16. Parámetros termogravimétricos correspondientes las curvas termogravimétricas del olote y sus derivados solidos del olote generados durante el tratamiento químico.....	64
Tabla 17. Parámetros relacionados con el crecimiento de la <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y la concentración de sustrato.....	69
Tabla 18. Aspectos relacionados con la fermentación de azúcares provenientes del rastrojo de maíz o del olote.	70
Tabla 19. Poder calorífico superior del olote y sus derivados	73

Resumen

Se llevó a cabo la caracterización del olote de maíz como biomasa lignocelulósica y se analizaron los factores que más influyen en la recalcitrancia aplicando métodos termogravimétricos y de espectroscopia de infrarrojo. En este contexto, se analizó la composición del olote para identificar los principales componentes del olote y se encontró que la mayor parte del olote está compuesto de polisacáridos (alrededor del 48%). Además, en la estructura del olote resaltan los grupos funcionales de los polisacáridos; los espectros de infrarrojo muestran bandas de absorción en 3284cm^{-1} , $1372\text{-}1248\text{cm}^{-1}$, 1032cm^{-1} , 928cm^{-1} , las cuales, corresponden a las vibraciones de los enlaces que conforman a los polisacáridos. Por otra parte, se analizó el desempeño termogravimétrico del olote y se encontró que la degradación del olote comienza a partir de los $\sim 166^\circ\text{C}$, además, la mayor parte del olote ($\sim 57\%$) se degrada en el intervalo $180\text{-}340^\circ\text{C}$.

La cristalinidad de la celulosa, el grado de polimerización de las moléculas, la presencia de lignina, así como también, los enlaces entre los polisacáridos y la lignina son algunos factores que inhiben la degradación biológica de la biomasa, también, son un obstáculo para la producción de biocombustibles o productos de valor agregado. Además, estos factores también influyen en la degradación térmica de los materiales lignocelulósicos. Por ejemplo, la celulosa se degrada a mayor temperatura debido a la cristalinidad de las fibras y los enlaces entre los polisacáridos y la lignina producen especies de alto peso molecular (especies poliaromáticas) que son difíciles de degradar, además, la presencia de lignina dificulta la devolatilización de la celulosa. Cada uno de los factores antes mencionados fueron caracterizados mediante técnicas termogravimétricas utilizando materiales de referencia (fibra de algodón, almidón, pectina cítrica y lignina).

El comportamiento termogravimétrico del olote fue comparado con el de materiales de referencia (fibra de algodón, almidón, pectina cítrica y lignina) mediante la técnica de análisis de componentes principales (ACP). Los resultados indican que el desempeño termogravimétrico del olote es similar al del almidón y significa que los polisacáridos del olote son semicristalinos o cristalinos de bajo peso molecular. Por otra parte, se analizó la funcionalidad de los residuos (biochar) mediante espectroscopia de infrarrojo y se encontró que durante el calentamiento los polisacáridos entrecruzados y la lignina del olote experimentan, a bajas temperaturas, reacciones de deshidratación y conforme incrementa la temperatura se forman estructuras poliaromáticas, las cuales impiden la devolatilización de la celulosa. Finalmente, los resultados obtenidos indican que la recalcitrancia del olote se debe a la presencia de lignina y la semicristalinidad de los polisacáridos.

Se aplicaron tratamientos químicos ácido y alcalino, para obtener derivados del olote. En el tratamiento ácido se disolvieron, principalmente, los polisacáridos entrecruzados del olote y, como resultado, se monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos. Los productos del tratamiento ácido fueron caracterizados por espectroscopia de infrarrojo (IR) y resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN) y carbono (^{13}C -RMN); los espectros de IR muestran bandas de absorción en los intervalos $3700\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ y $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$, las cuales, corroboran

la formación de oligosacáridos, así mismo, los espectros de RMN muestran señales de protones y carbonos ligados a anillos de piranosa y/o furanosa confirmando la formación de monosacáridos y disacáridos. Además, se realizaron pruebas colorimétricas (reacción de Fehling) para confirmar la formación de azúcares reductores; la prueba fue positiva y corrobora los resultados de los análisis de IR y RMN. Por otra parte, en el tratamiento alcalino se disuelve la lignina y como resultado se obtuvieron derivados de fenilpropanol. Los productos del tratamiento alcalino fueron caracterizados por espectroscopia de infrarrojo (IR); los espectros de IR muestran bandas de absorción en 1579, 1497, 1357 y 1239 cm^{-1} , las cuales, corresponden a las vibraciones de grupos funcionales que conforman a los derivados de fenilpropanol.

Se analizó el crecimiento de levadura *saccharomyces cerevisiae* utilizando los productos del tratamiento ácido y alcalino. Se encontró que los productos del tratamiento ácido promueven el crecimiento de la levadura y, por lo tanto, pueden ser utilizados como sustrato en los procesos de fermentación para producir etanol; los productos del tratamiento alcalino también promueven el crecimiento de la levadura pero es muy bajo si se compara con el desempeño de los productos del tratamiento ácido. Por otra parte, se determinó el poder calorífico del olote y sus derivados mediante calorimetría y se determinó que el poder calorífico de los compuestos generados durante el tratamiento alcalino (21.68 MJ.Kg^{-1}) es superior al del olote (16.47 MJ.Kg^{-1}), de modo que, pueden ser utilizados en la elaboración de biocombustibles sólidos. Por otra parte, la celulosa es el componente más recalcitrante del olote; la celulosa no se disolvió con la solución ácida ni tampoco con la solución alcalina. Además, la celulosa del olote se degrada a partir de 219°C, de modo que, puede ser utilizada en la elaboración de materiales refractarios, o bien, se puede utilizar en la elaboración de papel, fibras textiles, materiales explosivos, recubrimientos y/o resinas.

Abstract

The characterization of the corn cob as lignocellulosic biomass was carried out and the factors that most influence recalcitrance were analyzed using thermogravimetric and infrared spectroscopy methods. In this context, the composition of the cob was analyzed to identify the main components of the cob and it was found that most of the cob is composed of polysaccharides (around 48%). In addition, in the structure of the cob, the functional groups of the polysaccharides stand out; infrared spectra show absorption bands at 3284cm^{-1} , 1372cm^{-1} , 1248cm^{-1} , 1032cm^{-1} , 928cm^{-1} , which correspond to the vibrations of the bonds that make up the polysaccharides. On the other hand, the thermogravimetric performance of the cob was analyzed and it was found that the degradation of the cob begins from $\sim 166\text{ }^{\circ}\text{C}$, in addition, most of the cob ($\sim 57\%$) degrades in the range $180\text{--}340\text{ }^{\circ}\text{C}$.

The crystallinity of cellulose, the degree of polymerization of the molecules, the presence of lignin, as well as the links between polysaccharides and lignin are some factors that inhibit the biological degradation of biomass, they are also an obstacle to the production of biofuels or value-added products. Furthermore, these factors also influence the thermal degradation of lignocellulosic materials. For example, cellulose degrades at higher temperatures due to the crystallinity of the fibers and the bonds between polysaccharides and lignin produce high molecular weight species (polyaromatic species) that are difficult to degrade, in addition, the presence of lignin makes it difficult to devolatilization of cellulose. Each of the aforementioned factors were characterized by thermogravimetric techniques using reference materials (cotton fiber, starch, citric pectin and lignin).

The thermogravimetric behavior of cob was compared with that of reference materials (cotton fiber, starch, citric pectin and lignin) using the principal component analysis technique (PCA). The results indicate that the thermogravimetric performance of cob is similar to that of starch and means that cob polysaccharides are semi-crystalline or crystalline of low molecular weight. On the other hand, the functionality of the residues (biochar) was analyzed by infrared spectroscopy and it was found that during heating the cross-linked polysaccharides and the lignin of the cob undergo, at low temperatures, dehydration reactions and as the temperature increases, structures are formed. polyaromatic, which prevent the devolatilization of cellulose. Finally, the results obtained indicate that the recalcitrance of the cob is due to the presence of lignin and the semi-crystallinity of the polysaccharides.

Acid and alkaline chemical treatments were applied to obtain cob derivatives. In the acid treatment, mainly the cross-linked polysaccharides of the cob were dissolved and, as a result, were monosaccharides, disaccharides and oligosaccharides. The products of the acid treatment were characterized by infrared (IR) spectroscopy and proton (^1H -NMR) and carbon (^{13}C -NMR) nuclear magnetic resonance; IR spectra show absorption bands in the intervals $3700\text{--}3000\text{cm}^{-1}$ and $1200\text{--}900\text{cm}^{-1}$, which corroborate the formation of oligosaccharides, likewise, NMR spectra show signals of protons and carbons linked to rings pyranose and / or furanose confirming the formation of monosaccharides and disaccharides. In addition, colorimetric tests (Fehling reaction) were carried out to confirm the formation of reducing sugars; the test was positive and corroborates the results of the IR and NMR analyzes. On

the other hand, in the alkaline treatment the lignin dissolves and as a result phenylpropanol derivatives were obtained. The alkaline treatment products were characterized by infrared (IR) spectroscopy; IR spectra show absorption bands at 1579, 1497, 1357 and 1239 cm^{-1} , which correspond to the vibrations of functional groups that make up phenylpropanol derivatives.

The growth of *saccharomyces cerevisiae* yeast was analyzed using the acid and alkaline treatment products. It was found that the products of the acid treatment promote the growth of yeast and, therefore, can be used as a substrate in the fermentation processes to produce ethanol; Alkaline treatment products also promote yeast growth but this is very low compared to the performance of acid treatment products. On the other hand, the calorific power of the cob and its derivatives was determined by calorimetry and it was determined that the calorific power of the compounds generated during the alkaline treatment (21.68 MJ.Kg^{-1}) is higher than that of the cob (16.47 MJ.Kg^{-1}), so that they can be used in the production of solid biofuels. On the other hand, cellulose is the most recalcitrant component of cob; the cellulose did not dissolve with the acidic solution nor with the alkaline solution. In addition, cob cellulose degrades from 219°C, so that it can be used in the manufacture of refractory materials, or it can be used in the manufacture of paper, textile fibers, explosive materials, coatings and/or resins.

Introducción

La bioenergía es un tipo de energía renovable que proviene de la combustión directa o indirecta de los componentes que conforman a la materia vegetal o los restos orgánicos. Algunos reportes [1–6] indican que la bioenergía representa el 8-12.4% (46-60 EJ) de la matriz energética mundial; en México representa el 5.75%¹ (363.97 PJ) del total de energía primaria [7]. Aproximadamente, el 71% (42 EJ) de la bioenergía proviene de la combustión directa, mientras que, el 29% (17.2 EJ) proviene de los biocombustibles [3]. La energía que proviene de la combustión directa se utiliza principalmente en la cocción de alimentos o la calefacción de hogares [8], sin embargo, esta manera de extraer energía es de las más primitivas e ineficientes, además, puede generar serios problemas en la salud y el medio ambiente [9]. Un reporte de la Asociación Mundial de Bioenergía (WBA, por sus siglas en inglés) [4] menciona que el 85.7% de la bioenergía proviene de los biocombustibles sólidos, mientras que, 7.2% proviene de los biocombustibles líquidos, 2.6% de desechos municipales, 2.5% del biogás y 2% de los desechos industriales.

Los biocombustibles que provienen de los cultivos alimenticios se les denominan biocombustibles de primera generación (BC1G) [10]. Los cereales², las semillas oleaginosas³ y la caña de azúcar son los principales sustratos para la elaboración de BC1G [11]; en 2018, se consumieron alrededor de 175 MMton de cereales⁴, 29 MMton de semillas oleaginosas⁵ y 25.3 MMton de caña de azúcar⁶ para producir BC1G [12,13]. Sin embargo, se ha generado controversia al utilizar cultivos alimenticios para producir biocombustibles [11], no obstante, esta situación ha impulsado el desarrollo de biocombustibles alternativos mediante el uso de fuentes no convencionales. Los biocombustibles de segunda generación (BC2G) provienen de los agro-energéticos⁷, los residuos agrícolas, los restos vegetales de la industria alimenticia o la materia orgánica de los residuos municipales⁸ [10,14]. Así mismo, la importancia de producir BC2G radica en el aprovechamiento de cualquier recurso vegetal, evitar y/o disminuir el uso de cultivos alimenticios y, al mismo tiempo, mitigar el impacto ambiental derivado del cultivo y la cosecha.

El sector agrícola genera enormes cantidades de residuos; un estudio realizado por la Agencia Internacional de Energía (IEA) indica que el sector agrícola genera alrededor de 5.1 Billones de ton. de residuos, de las cuales, solo el 25% puede ser utilizada en la producción de biocombustibles [15]. En México, la mayoría de los residuos agrícolas proviene de la cosecha de la caña de azúcar, maíz, sorgo, trigo, cebada, arroz, frijol, algodón, café y agave [16]. Sin embargo, no existen datos precisos de la cantidad de residuos producidos, únicamente se pueden hacer una estimación a partir de la producción agrícola [16,17]; se estima que en el

¹ Este porcentaje es la suma de 3.91% leña, 1.79% bagazo de caña y 0.04% biogás.

² Grano de maíz, cebada, trigo y arroz.

³ Semilla de soya, canola, girasol y colza.

⁴ Este valor representa el 8.64% de la producción mundial de cereales, +0.84% con respecto al año anterior.

⁵ Este valor representa el 5.1% de la producción mundial de especies oleaginosas, +0.01% con respecto al año anterior.

⁶ Este valor representa el 1.4% de la producción mundial de caña de azúcar, +0.01% con respecto al año anterior.

⁷ Por ejemplo: semilla de jatrofa e higuera, remolacha, yuca.

⁸ Por ejemplo: aceite comestible residual, restos de fruta y verduras, cascaras de fruta, papel, césped, etc.

2016 se produjeron alrededor de 5 244 MMton de residuos agrícolas (RA), de las cuales, la mayoría provienen del maíz (aproximadamente 1 702 MMton). Aunque los residuos de la cosecha de maíz son abundantes se utilizan muy poco en la producción de biocombustibles. Por ejemplo, EUA es el principal productor de etanol⁹[3] y en 2020 produjeron alrededor de 52,238 MML, de los cuales, únicamente el 4.1% (566 MML) proviene de los residuos del maíz [18].

El rastrojo, las socas, las hojas de la mazorca y el olote son los principales residuos de la cosecha del maíz y, generalmente, se utilizan como alimento para ganado[19,20]. Sin embargo, el contenido nutricional de los residuos del maíz es muy bajo, razón por la cual, solo se utiliza como alimento durante las temporadas de estiaje o sequía. El olote es el remanente de la mazorca de maíz y sus características son las siguientes [21]:

- Baja digestibilidad
- Alto grado de lignificación
- Bajo contenido energético y nutricional
- Bajo contenido de proteína cruda

En las comunidades rurales incineran al olote para cocinar alimentos o para la calefacción de hogares, no obstante, esta práctica puede ocasionar problemas a la salud o el medio ambiente debido al CO₂ y las dioxinas que se liberan durante la incineración [22]. Por otra parte, la biodegradación del olote es muy lenta debido a su alto grado de lignificación, a su vez, la acumulación de este material contribuye a la proliferación de roedores y otras plagas, por lo tanto, los productores de maíz prefieren incinerar al olote en vez de almacenarlo.

Al considerar la abundancia del olote, se ha planteado la necesidad de valorizarlo o transformarlo en productos de valor agregado. Por ejemplo algunos productores de ganado trituran al olote y lo mezclan con las excretas de aves de corral (gallinaza o pollinaza) para producir un alimento de alto contenido proteico [23,24]. Sin embargo, en algunos países el uso de gallinaza en la alimentación del ganado es restringido o prohibido debido a que en su composición se ha detectado la presencia de micotoxinas o agentes patógenos [25]. También, se han realizado estudios en los que utilizan al olote en la elaboración de composta. Sin embargo, el mercado para la comercialización de la composta es muy pequeño y en ocasiones los costos de producción son mayores a las ganancias. Otros estudios han evaluado la eficacia del olote en la adsorción de metales pesados para el tratamiento de aguas residuales [26,27]. No obstante, en los procesos de adsorción el contaminante es transferido al adsorbente y difícilmente puede ser regenerado, a su vez, esto implica implementar planes de gestión de residuos para disponer de los restos de olote contaminado. En otros casos se han reportado el uso del olote como sustrato para la elaboración de biocombustibles (bioetanol o biogas), sin embargo la transformación del olote en biocombustible es muy complicada debido a las características recalcitrantes de su estructura.

⁹ El 56% de la producción mundial de etanol proviene de EUA.

Planteamiento del problema

El olote es un material lignocelulósico y sus componentes pueden ser transformados en biocombustibles o productos químicos, sin embargo, su transformación es complicada debido a las características recalcitrantes de su estructura y la distribución heterogénea de sus componentes. Por ejemplo, para obtener etanol a partir de los polisacáridos es necesario aplicar tratamientos (físicos, químicos, fisicoquímicos o biológicos-enzimáticos) para disminuir la cristalinidad de los polisacáridos y/o remover la lignina. Además, los polisacáridos del olote son insolubles y no pueden ser utilizados directamente en la fermentación; los microorganismos encargados de la fermentación prefieren metabolizar monosacáridos u oligosacáridos, razón por la cual, los polisacáridos deben de ser hidrolizados para disminuir su peso molecular y favorecer su solubilidad.

Los factores que más influyen en la recalcitrancia de los materiales lignocelulósicos son: (i) la cristalinidad de la celulosa, (ii) la presencia y cantidad de lignina y (iii) los enlaces entre la lignina y los polisacáridos [28–32]. La cristalinidad de la celulosa se debe a la influencia de los puentes de hidrogeno; la celulosa es un polisacárido compuesto de miles de unidades de D-glucosa unidas por enlaces β -1,4 glucosídicos, al mismo tiempo, los grupos hidroxilo (–OH) de cada una de las unidades interactúan con otras moléculas de celulosa formando una red de puentes de puentes de hidrogeno. La lignina es una capa que envuelve a los materiales lignocelulósicos, está compuesta de unidades de fenilpropanol y su función es evitar la degradación de la estructura. Se ha demostrado que los grupos fenólicos que componen a la lignina son muy estables en condiciones ácidas y alcalinas, además, pueden ser tóxicos para los microorganismos que intentan degradar a la estructura lignocelulósica. La hemicelulosa es otro componente estructural de la biomasa lignocelulósica; es un polisacárido ramificado compuesto de unidades de hexosa (glucosa, manosa o galactosa), pentosa (xilosas o arabiosa) y ácidos urónicos (ácido glucurónico, ácido galacturónico o ácido metilgalacturónico). Generalmente, la hemicelulosa se encuentra unida a la lignina mediante enlaces covalentes del tipo carbon-carbon (C–C), éster y/o éter, a su vez, la variedad de enlaces y entrecruzamientos obliga a los microorganismos segregar enzimas específicas para cada tipo de enlace, de modo que, los microorganismos prefieren utilizar sustratos más simples (p. ej., monosacáridos, disacáridos, aminoácidos, aceites, ácidos grasos, triglicéridos, etc.) en lugar de disgregar a los componentes de la biomasa lignocelulósica. Algunos reportes [33,34] mencionan que los derivados del furano (generados durante la hidrólisis de la hemicelulosa), los ácidos alifáticos (subproductos de la degradación de los furanos) y los fenoles (compuestos derivados de la degradación de la lignina) pueden actuar como inhibidores de la actividad enzimática en los procesos de bioconversión.

Hipótesis

Para separar los componentes del olote es importante entender cuál es el factor que más influye en la recalcitrancia. Los materiales celulósicos (p. ej., la fibra de algodón y el lino) se caracterizan por presentar alta resistencia térmica, generalmente se degradan a partir de los $\sim 250^{\circ}\text{C}$, este efecto es atribuido a la cristalinidad de las fibras de celulosa. El almidón es un polisacárido ramificado y su composición es similar al de la celulosa, además, se degrada a partir de $\sim 250^{\circ}\text{C}$. La pirolisis del almidón produce menor cantidad de volátiles, si se compara con la pirolisis de la celulosa, debido a que las moléculas forman entrecruzamientos y compuestos poliaromáticos de alto peso molecular durante el proceso de calentamiento. La hemicelulosa es un polisacárido heterogéneo y ramificado compuesto por unidades de hexosas y pentosas, la pirolisis de la hemicelulosa comienza a los $\sim 200^{\circ}\text{C}$ y la mayoría de sus productos son volátiles, sin embargo, la devolatilización de la hemicelulosa se vuelve lenta a partir de los $\sim 250^{\circ}\text{C}$. Por otra parte, la lignina es un compuesto polifenólico compuesto de derivados de fenilpropanol, los cuales están unidos mediante enlaces del tipo alquil-aril-éter o carbono-carbono (C-C) [35]. La pirolisis de la lignina comienza a los 190°C , por encima de ésta temperatura se generan volátiles de bajo peso molecular (p. ej. CO , CO_2 , CH_3 y H_2O), no obstante, los compuestos poliaromáticos de alto peso molecular son el principal producto de la pirolisis, los cuales, presentan baja volatilidad en condiciones de temperaturas altas ($T > 400^{\circ}\text{C}$).

Tomando en cuenta que los principales componentes del olote son la hemicelulosa, celulosa y lignina, y que a su vez, estos componentes por separado presentan diferente perfil termogravimétrico derivado de los grupos funcionales que los conforman y la estructura de cada macromolécula. Entonces, es posible determinar cuál de estos componentes influye en el desempeño termogravimétrico del olote si se compara el perfil termogravimétrico del olote con el de sus principales componentes. Además, se puede analizar el desempeño termogravimétrico del olote para determinar el factor que más influye en la recalcitrancia. Por ejemplo, si el perfil termogravimétrico (PTG) del olote es similar al de un material celulósico, entonces, la recalcitrancia del olote se puede atribuir a la cristalinidad de los polisacáridos. Así mismo, si el PTG del olote es similar al del almidón significa que los polisacáridos del olote son de bajo peso molecular o semicristalinos (es decir, más amorfos que la celulosa). Por otra parte, si el perfil PTG del olote es similar a la lignina, entonces, la recalcitrancia se puede atribuir al exceso de lignina en la estructura del olote. Así mismo, si el PTG es similar a la lignina y la hemicelulosa, entonces, la recalcitrancia se puede atribuir a los enlaces entre la lignina y los polisacáridos.

Objetivos

Objetivo general

Caracterizar al olote de maíz y analizar los factores que más influyen en la recalcitrancia aplicando métodos termogravimétricos y de espectroscopia de infrarrojo (IR), para desarrollar métodos de extracción o separación de sus componentes, con la finalidad de transformar sus derivados en biocombustibles o productos de valor agregado.

Objetivos particulares

- Analizar la composición del olote, utilizando métodos analíticos, termogravimétricos y espectroscopia de infrarrojo, para identificar los principales componentes del olote.
- Comparar el desempeño termogravimétrico del olote con el de otros materiales, utilizando métodos termogravimétricos, espectroscopia de infrarrojo y análisis de componentes principales (ACP), para determinar el factor que más influye en la recalcitrancia.
- Aplicar tratamientos químicos, utilizando sustancias acidas y alcalinas, para obtener derivados del olote.
- Analizar las propiedades y la funcionalidad de los derivados del olote, utilizando métodos analíticos, para desarrollar biocombustibles o productos de valor agregado.

Capítulo 1. Marco teórico

1.1. Conversión de la biomasa en energía

La biomasa vegetal (BV) es la materia orgánica generada por los organismos vegetales, se produce a partir de la fotosíntesis, y además, es un recurso abundante y renovable. También, es una de las principales fuentes de carbono y oxígeno, y es vital para el sustento de la vida en el planeta. El carbono está distribuido en cada uno de los componentes de la materia vegetal y, por lo regular, se encuentra en forma de clorofila, polisacáridos (celulosa, hemicelulosa, almidón, pectina), lignina, aminoácidos (ácido aspártico, alanina, arginina, cistina, glicina), aceites (triglicéridos y ácidos grasos), gomas (caucho) y resinas (ámbar).

Por otra parte, existe el interés de utilizar a la BV como energético y, al mismo tiempo, disminuir el consumo de los energéticos fósiles. La combustión es la manera más común y primitiva de extraer energía de la BV; en la combustión del carbono vegetal se produce calor, el cual, puede ser aprovechado en la cocción de alimentos, la calefacción de hogares y/o la producción vapor. No obstante, la combustión produce gran cantidad de cenizas y, por lo regular, se desperdicia gran parte del potencial energético. Actualmente, existen métodos para transformar el carbono vegetal en biocombustibles, los cuales, pueden ser agrupados en procesos termoquímicos, físico-químicos o bioquímicos [36]. Los procesos termoquímicos utilizan energía térmica para inducir cambios químicos en la BV y, de este modo, producir combustibles sólidos, líquidos o gaseosos. En los procesos fisicoquímicos se aplican tratamientos y se adicionan sustancias químicas para transformar al carbono de la BV en biocombustibles líquidos. En los procesos bioquímicos, la BV sirve como sustrato y es transformada en biocombustibles líquido o gaseoso a través de procesos microbiológicos-enzimáticos. La forma de transformar la BV en energía depende, fundamentalmente, del tipo de biomasa y del uso de la energía.

El sector bioenergético está dividido en tres maneras de aprovechamiento energético: para uso térmico, producción de carburantes y la generación de electricidad. En el esquema de la Figura 1 se indican las rutas de conversión y aprovechamiento energético basadas en el origen y composición de la biomasa. En cada una de las rutas de conversión está implícita la química de los componentes que constituyen a la biomasa. Por ejemplo, los triglicéridos presentes en los aceites vegetales son susceptibles a las reacciones de transesterificación y mediante un proceso fisicoquímico pueden ser transformados en esteres metílicos para producir biodiesel, los carbohidratos contenidos en la BV pueden ser utilizados como sustratos en los procesos bioquímicos para producir bioetanol mediante una fermentación alcohólica o producir biogás mediante una digestión anaerobia, o bien, el carbono de la BV puede ser procesado térmicamente para producir gas de síntesis mediante un proceso de gasificación catalítica y producir biocarburantes (bioturbosina, gasolina verde o bioetanol).

Las ventajas de la bioenergía están relacionadas con la captación del CO₂, la diversificación energética y la reactivación del sector agrícola. Sin embargo, aún falta profundizar en los aspectos relacionados con la producción y consumo sustentable de bioenergéticos. Además, la BV posee baja densidad energética y, por lo tanto, se necesitarían enormes cantidades de

materia vegetal para abastecer la demanda de combustibles, a su vez, esto representa una desventaja frente al rendimiento energético del petróleo y el carbón mineral. No obstante, la tecnología aplicada a la bioenergía está continuamente desarrollándose y se concentra en incrementar el rendimiento energético de la BV y la productividad de los biocombustibles.

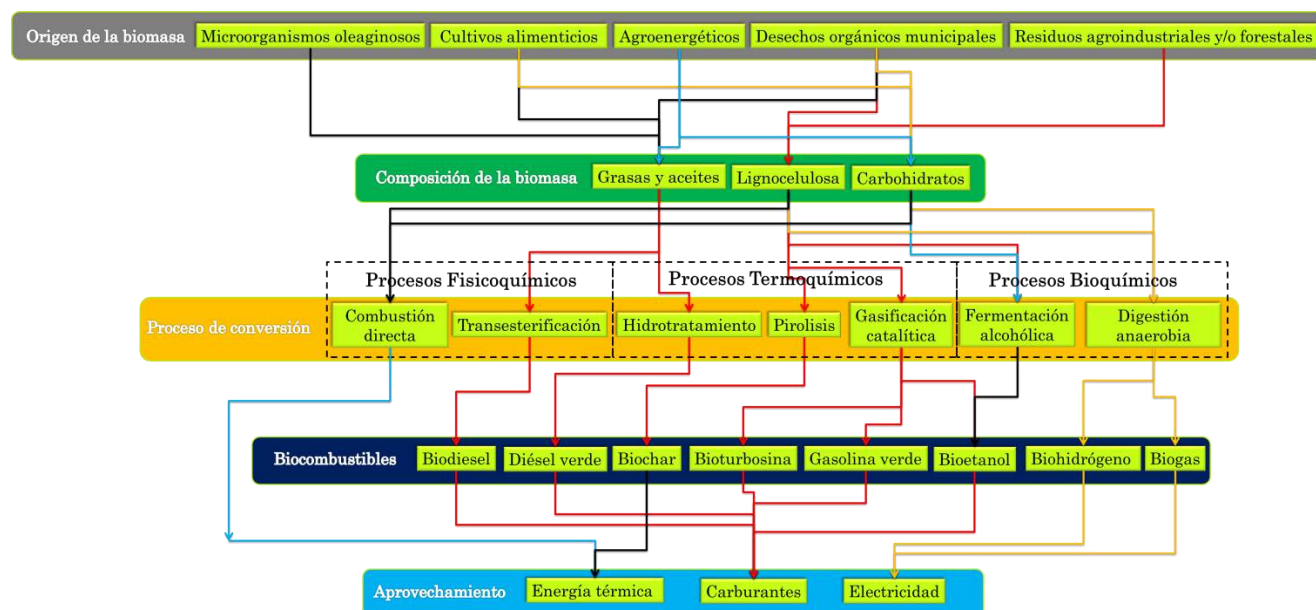


Figura 1. Rutas para la conversión de la biomasa vegetal en energética

1.2. Composición de la biomasa lignocelulosa.

Se le llama biomasa lignocelulósica a la materia vegetal que posee características recalcitrantes. Su composición es muy compleja, por lo regular, está constituida de polisacáridos (celulosa, hemicelulosa, pectina o almidones), polifenoles (lignina), pigmentos y algunos lípidos, aminoácidos y minerales. La celulosa es un polisacárido constituido de unidades de D-glucosa, las cuales, se encuentran unidas mediante enlaces del tipo β -1,4 glucosídicos. Además, la celulosa se encuentra en forma de microfibras empacadas y constituye la mayor parte de la materia lignocelulósica. La hemicelulosa es un polisacárido heterogéneo y ramificado compuesto de hexosas (glucosa, manosa o galactosa), pentosas (xilosas o arabiosa) y ácidos urónicos (ácido glucurónico, ácido galacturónico o ácido metilgalacturónico), y que además, forma entrecruzamientos alrededor de las microfibras de celulosa para dar soporte y rigidez a la materia lignocelulósica. Es muy común que la hemicelulosa contenga unidades de xilosa y glucosa unidas a través de un enlace β -1,4-glucosídico y, que además, las unidades de xilosa tengan uniones α -1,3-manosa, β -1,2-galactosa, β -1,4-manosa y α -1,2-glucosa. La lignina es un heteropolímero amorfo y ramificado, que consta de unidades derivadas del fenilpropanoide (alcohol coumaril, alcohol coniferil o alcohol sinapil). Se encuentra en la parte exterior y forma una capa que evita el contacto directo con el agua y, a la vez, es una barrera contra la degradación. La proporción de los componentes que conforman a la lignocelulosa varía según el tipo de especie, sección vegetal (hojas, tallo, raíz, etc.) y demás aspectos involucrados en el desarrollo vegetal (clima, nutrientes, agua, etc.). En la Tabla 1 se indica la proporción de los principales componentes

de la materia lignocelulósica. Además, se dice que la celulosa y la hemicelulosa están unidas por interacciones muy débiles del tipo Van der Waals, mientras que la hemicelulosa y lignina se mantienen unidas por enlaces químicos.

Tabla 1. Composición de algunos materiales lignocelulósicos

Material lignocelulósico	% Celulosa	% Hemicelulosa	% Lignina	%Cenizas
Algodón	80-95	5-20	-	-
Bagazo de caña de azúcar	32-48	19-24	23-32	1.5-5
Cascara de nuez	25-30	25-30	30-40	-
Césped	25-40	35-40	18-30	-
Madera dura	43-47	28-32	16-24	0.4-0.8
Madera suave	40-44	25-29	25-31	0.4-0.6
Olote de maíz	38-40	28	7-21	3.6-7.0
Paja de arroz	28-36	23-28	12-14	14-20
Paja de cebada	31-45	27-38	14-19	2-7
Paja de trigo	33-38	26-32	17-19	6-8
Papel	85-99	0	0-15	-
Rastrojo de maíz	39-47	26-31	3-5	12-16
Rastrojo de sorgo	27	25	11	-
Residuos de coco	36-43	0.15-0.25	41-45	2.7-10.2
Residuos de la pulpa de papel	60-80	10-20	2-10	-

Referencias: Saini *et. al.* [37], Zabed *et. al.*[38]

1.3. Caracterización de la biomasa lignocelulósica

En el análisis proximal se determina la humedad y la cantidad de componentes volátiles, carbón fijo y cenizas [39] (ver Tabla 2). La humedad indica la cantidad de agua adsorbida por la biomasa. Los componentes volátiles son aquellos compuestos gaseosos que son generados durante el calentamiento de la biomasa, estos pueden ser condensables (NH_4 , alcoholes, ácidos, fenoles) o no-condensables (CO , CO_2 , CH_4). El carbón fijo es la materia orgánica no-volátil y las cenizas son los compuestos inorgánicos (óxidos de hierro, aluminio silicatos, carbonatos, etc.) derivados de la calcinación. Por lo regular, los parámetros del análisis proximal son determinados con base en metodologías bien establecidas. Por ejemplo, el método ASTM E-871 es utilizado para determinar el contenido de humedad, los métodos ASTM D-1102 y ASTM E-872 sirven para determinar el contenido de cenizas, mientras que, el método ASTM E-1755 es para determinar los compuestos volátiles. La cantidad de carbón residual se determina por diferencia; al peso inicial de la muestra se le resta el contenido de humedad, compuestos volátiles y cenizas. Los métodos termogravimétricos (TGA, por sus siglas en inglés) son otra opción para determinar los parámetros del análisis proximal. En los TGA se analiza la variación del peso de una muestra conforme ésta es calentada paulatinamente y, al mismo tiempo, se identifica la temperatura en la que se consume la mayor cantidad de muestra. Además, se puede realizar una correlación empírica entre la estabilidad térmica y la variación del peso para determinar la composición de la biomasa. Para realizar el análisis proximal por TGA es necesario programar un experimento, el cual, consiste de un barrido de temperaturas (desde la temperatura ambiente hasta los 800°C a

una velocidad de 5, 10 o 20°C•min⁻¹) bajo condiciones de atmosfera controlada (primero con atmosfera inerte y después con atmosfera oxidante).

Tabla 2. Análisis proximal de algunos materiales lignocelulósicos

Biomasa lignocelulósica	% Humedad	% Volátiles	% Carbón fijo	% Cenizas
Bagazo de caña de azúcar	6.8	76.9	10.8	5.3
Bambú	13	71	15.2	0.8
Cascara de avellana	7.2	71.5	19.9	1.4
Cascara de cacahuete	7.9	68.1	20.9	3.1
Césped	11.9	70.8	12.8	4.5
Olote de maíz	4.6	79.9	13.7	1.6
Paja de trigo	10.1	67.2	16.3	6.4
Rastrojo de maíz	8.5	76.7	8.2	6.1
Rastrojo de sorgo dulce	7	71.8	16.8	4.4
Residuos de coco	4.4	70.5	22	3.1
Restos de la planta de algodón	6.9	73	16.9	3.2
Restos de semilla de girasol	9.1	69.1	19	2.8
Restos de semilla de soya	6.3	69.6	19	5.1
Restos de Té	7.26	70.3	18.57	3.88
Restos del grano de arroz	10.6	56.1	17.2	16.1
Restos de semilla de olivo	6.8	73.7	17.4	2.1

Referencias: Saini *et. al.* [37], Zabed *et. al.*[38]

El análisis elemental tiene como objetivo determinar la cantidad de carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O), nitrógeno (N) y azufre (S) presente en la biomasa lignocelulósica (ver).El análisis se realiza a partir de los productos derivados de la calcinación. Como fundamento, el método considera que en la calcinación de una muestra se consume toda la materia orgánica y que los productos de la calcinación siempre son CO₂, H₂O, NO_x y SO_x, de modo que, a partir de la relación estequiométrica se puede determinar la cantidad de cada elemento.

Tabla 3. Análisis elemental de algunos materiales lignocelulósicos

Material	C	H	O	N	S	Cenizas
Restos de caña de azúcar	46.95	6.1	42.65	0.3	0.1	3.9
Cascarilla de arroz	38.30	4.36	35.45	0.83	0.06	21.00
Restos de árbol de olivo	45.90	5.25	43.40	0.70	—	4.75
Restos de remolacha azucarera	44.50	5.93	42.80	1.84	0.13	4.80
Olote de maíz	46.30	5.60	42.19	0.57	—	5.34
Arroz (paja y cascarilla)	41.90	4.72	36.70	0.70	0.08	15.90
Avena (paja)	45.00	5.86	43.50	1.13	0.01	4.50
Cebada (paja)	47.53	6.30	41.70	0.60	0.07	3.80
Trigo (paja y cascarilla)	47.20	6.20	42.00	0.77	0.13	3.70
Maíz (rastrojo)	47.69	5.74	39.87	0.81	0.12	5.77
Girasol (tallos de la planta)	52.90	6.58	35.90	1.38	0.14	3.10
Algodón (tallos de la planta)	45.53	6.15	41.11	0.78	0.13	6.30

El análisis composicional proporciona información relacionada con la funcionalidad y las características químicas de los componentes de la biomasa lignocelulósica [39]. Los análisis

de este tipo pueden ser divididos en dos categorías: i) hidrolisis con H_2SO_4 y ii) espectroscópicos.

Tabla 4. Análisis composicional de algunos materiales lignocelulósicos, utilizando la técnica de hidrolisis con H_2SO_4

Biomasa lignocelulósica	Celulosa	Hemicelulosa					Lignina
	Glucosa	Xilosa	Arabiosa	Galactosa	Manosa	Ácido urónico	Grupo acetilo
Paja de cebada	33.8	15-21.9	4	-	-	13.8	-
Olote de maíz	33.7	28-35.3	-	1-1.2	-	3-6	1.9-3.8
Rastro de maíz	38.3	21.6	11.4	2.1-4.4	-	17.4	-
Tallos de algodón	14.4	-	14.4	-	-	21.5	-
Trigo (paja y cascarilla)	30.2	18.7-21	2.4-3.8	1.7-2.4	0-0.8	17	-
Arroz (paja y cascarilla)	31.1	14.8-23	2.7-4.5	0.4-0.8	1.8	13.3	-
Centeno (paja)	30.9	21.5	-	-	-	22.1	3.2
Avena (paja)	39.4	27.1	-	-	-	17.5	-
Tallos de soya	34.5	24.8	-	-	-	9.8	-
Tallos de girasol	42.1	29.7	-	-	-	13.4	-
Césped	39.5	20.3	2.1	2.6	-	17.8	-
Caña de azúcar (bagazo)	43.1	20.5-31.1	2.3-6.3	1.6	0.5-0.6	11.4	-
Rastrojo de sorgo	27.3	13.1	1.4	-	-	14.3	-

Referencias: Gírio *et al.* [40], Haghighi *et al.* [34]

En la literatura existen metodologías relacionadas con la hidrólisis con H_2SO_4 [41], siendo las metodologías ASTM E1758-01 [42] y NREL/TP-510-42618 [43] las versiones más conocidas. Los análisis con H_2SO_4 se fundamentan en la hidrolisis de los polisacáridos que constituyen a la biomasa lignocelulósica; las condiciones ácidas favorecen la disolución de los polisacáridos, y a la vez, permiten removerlos de la biomasa lignocelulósica para poder cuantificarlos. Los monosacáridos generados durante la hidrólisis son cuantificados por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). Las fracciones de lignina solubilizadas por el ácido son cuantificadas por espectroscopia de ultravioleta-visible (UV-vis), mientras que, la fracción residual (la que no fue solubilizada por el ácido) es cuantificada por métodos gravimétricos.

En cuanto a los métodos espectroscópicos, la espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) proporciona información relacionada con la funcionalidad química de los componentes de la materia lignocelulósica (ver Tabla 5). El fundamento del método se basa en las vibraciones moleculares fundamentales de la materia en el momento que ésta adsorbe las vibraciones armónicas generadas en la región de infrarrojo. Una molécula puede adsorber energía si la frecuencia de radiación está en resonancia con las vibraciones moleculares específicas, dando lugar a un cambio en la energía

vibratoria de un enlace específico y el cambio posterior del momento dipolar. En las moléculas poliatómicas, los modos normales de vibración (a menudo llamados vibraciones fundamentales) implican estiramiento y flexión. La cantidad de formas en que una molécula puede estirarse o doblarse depende del número y la configuración de los átomos en la molécula.

Tabla 5. Bandas FTIR de adsorción de los componentes de la biomasa lignocelulósica

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Biopolímero
3421	Estiramiento del enlace O–H	Celulosa y hemicelulosa
2840,2937	Estiramiento del enlace C–H	Celulosa, hemicelulosa y lignocelulosa
1750	Estiramiento de los enlaces C=O de esteres y aldehídos	Hemicelulosa
1682	Estiramiento de los enlaces C=O de ácidos cetonas.	Lignina
1595	Vibración de los enlaces C=C vinílicos o grupos aromáticos	Lignina
1500	Vibración del enlace Ar–H de los grupos aromáticos	Lignina
1465	Deformación del enlace C–H	Lignina
1440	Torsión del enlace O–H	Celulosa, hemicelulosa y lignina
1425	Deformación del enlace C–H	Lignina
1380	Torsión del enlace C–H	Celulosa, hemicelulosa y lignina
1335	Vibración del enlace C–H y torsión del enlace O–H	Celulosa, hemicelulosa y lignina
1310	Vibración de los grupos –CH ₂	Celulosa y hemicelulosa
1280	Torsión de los enlaces C–H	Celulosa cristalina
1270	Vibración de los grupos aromáticos	Lignina
1215	Estiramiento de los enlaces C–C y C–O	Lignina
1200	Torsión del enlace O–H	Celulosa y hemicelulosa
1160	Tensión asimétrica del enlace C–O–C	Celulosa y hemicelulosa
1035	Tensión de los enlaces C–O, C=C y C–C–O	Celulosa, hemicelulosa y lignina
930	R–O–R, enlace glucosídico	Celulosa y hemicelulosa
875	R–O–R, enlace glucosídico	Hemicelulosa

Referencia: Xu *et al.* [44]

1.4. Caracterización de los monosacáridos.

Los monosacáridos o carbohidratos son moléculas hidrosolubles, no son volátiles, no son cromóforos y se degradan fácilmente con el incremento en la temperatura [45] y, debido a sus propiedades, se utilizan métodos de derivación química para favorecer sus características ópticas y cromatográficas.

La reacción de Fehling y Benedit es una prueba colorimétrica para identificar monosacáridos reductores y se basa en el carácter reductor de los monosacáridos [46]. La prueba consiste en la reducción del ion cúprico (Cu^{+2}) a ion cuproso (Cu^{+}) para formar un precipitado de color rojo (ver Figura 2). Solamente los monosacáridos con carbonos anoméricos dan positivo en la prueba, de modo que, son clasificados como carbohidratos reductores.

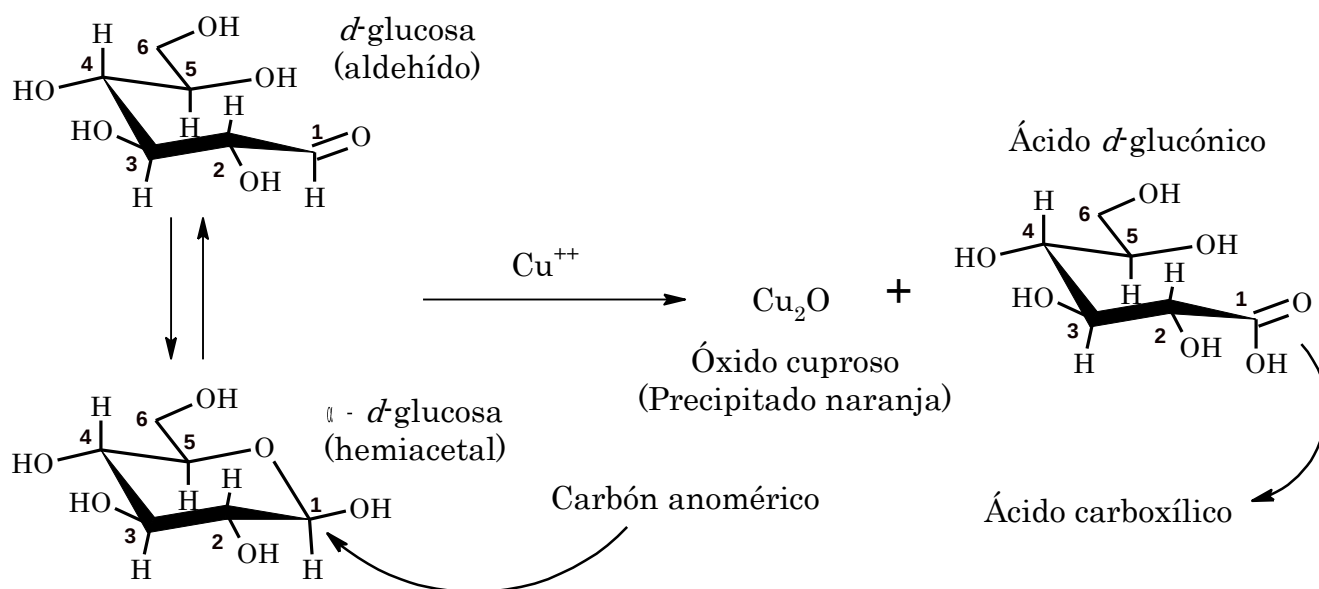


Figura 2. Oxidación de monosacáridos

La espectrofotometría de luz ultravioleta-visible (UV-vis) también se puede aplicar en el análisis cuantitativo de monosacáridos. Estos análisis se fundamentan en la ley de Lambert-Beer, la cual, establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración de los compuestos presentes en la solución. Por otra parte, en los métodos de UV-vis, es muy común utilizar técnicas de derivación química para formar cromóforos, y así, mejorar la sensibilidad y la selectividad del método. Por ejemplo, en la prueba de Dubois se determina la concentración de monosacáridos totales a partir de la absorbancia de los derivados de fenol furfural a 490 nm. La deshidratación de hexosas, con H_2SO_4 , produce 5-hidroximetil-furfuraldehído (en el caso de las pentosas produce furfural), el cual, reaccionan con el fenol (ver Figura 3) y genera un compuesto de color naranja, de modo que, la intensidad del color naranja es proporcional a la cantidad de monosacáridos presentes. Existen algunas variantes de la reacción Dubois en las que sustituyen al fenol por otro compuesto aromático. En la reacción de Molish, los derivados de furfural reaccionan con naftol, utilizando HCl en la deshidratación, y producen productos de color púrpura. La reacción de Bial utiliza orcinol

y producen productos de color azul, mientras que, la reacción de Seliwanoff utiliza resorcinol generando productos de color rojo o rosa.

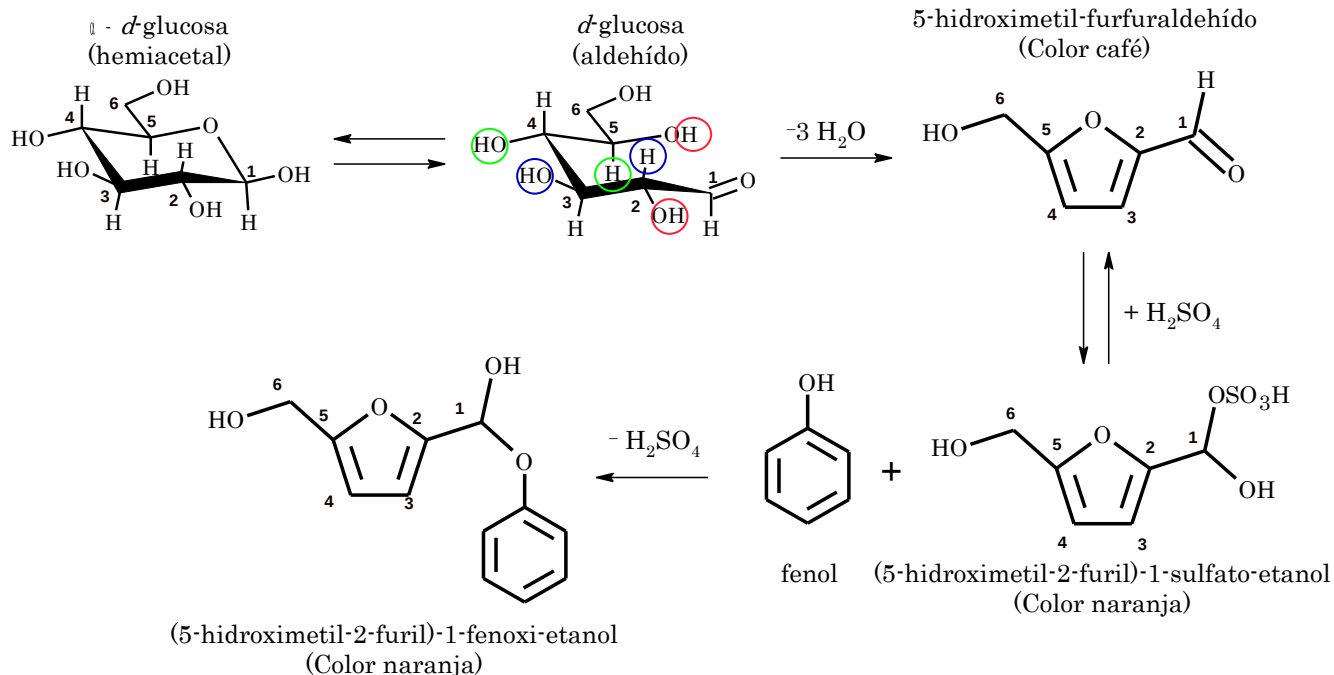


Figura 3. Representación de la reacción de Dubois

La prueba de Miller es otro método derivativo de espectrofotometría de UV-vis, sirve para determinar la concentración de carbohidratos reductores, y se basa en la reducción del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). En medio alcalino, el DNS reacciona con el grupo reductor de los monosacáridos para formar el ácido 3-amino-5-nitrosalicílico (ver Figura 4). La intensidad del color marrón se analiza con un espectrofotómetro de UV-vis y aplicando una longitud de onda de 540 nm.

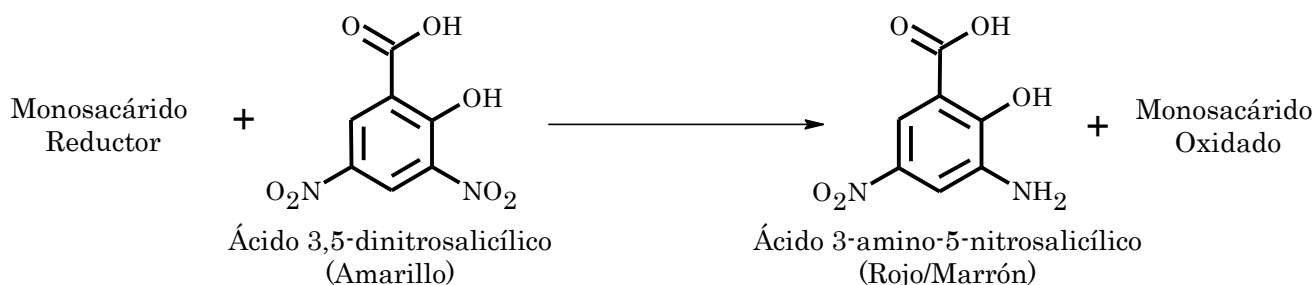


Figura 4. Representación de la reacción de Miller

La cromatografía líquida de ultra alta resolución es una técnica analítica destructiva que permite la separación de especies de acuerdo a su polaridad. Durante la separación, los componentes de una muestra viajan en una fase móvil y son retenidos momentáneamente en la fase estacionaria. En la separación intervienen factores como la polaridad, la afinidad y el volumen de las moléculas, de modo que, las moléculas atraviesan la fase estacionaria a diferentes velocidades facilitando la separación. Los métodos de HPLC son adecuados para

el análisis de moléculas no volátiles y térmicamente estables, así como también, compuestos solubles de alto peso molecular. La combinación del HPLC con métodos espectroscópicos (UV-vis o MS) resulta ser muy eficaz en la identificación y cuantificación de muestras multicomponente (extractos de plantas, productos de fermentación, fluidos biológicos, alimentos, fármacos, etc.).

Los análisis de FTIR proporcionan información relacionada con la funcionalidad de las biomoléculas (ver Tabla 6). A partir de la intensidad de las bandas de adsorción y la región donde éstas aparecen se puede determinar la funcionalidad de los componentes que constituyen a una mezcla de carbohidratos. Los espectros de FTIR de los carbohidratos presentan una serie de bandas de adsorción relacionadas con los enlaces –OH, C–O–C, C–O, –CH y –CH₂. En cuanto a los intervalos de adsorción; el estiramiento del enlace –OH aparece en 3500-3000 cm⁻¹, el estiramiento del enlace –CH aparece en 3000-2800 cm⁻¹, la torsión del enlace –OH aparece en 1477-1420 cm⁻¹, el estiramiento de los enlaces C–C y C–O aparecen en 1470-1420 cm⁻¹, la tensión de los enlaces –OH aparece en 1477-1420 cm⁻¹, el estiramiento de los enlaces C–C y C–O aparece en 1420-1350 cm⁻¹, la torsión del enlace C–H aparece en 1360-1320 cm⁻¹ y la tensión de los enlaces C–O y C–C–O aparece en 1100-1030 cm⁻¹ y el estiramiento del enlace –CH aparece en 100- 900 cm⁻¹.

Tabla 6. Intervalos de adsorción de infrarrojo medio de algunas biomoléculas

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Biomolécula
3639-3029	Estiramiento del enlace O–H	Carbohidrato
	Estiramiento del enlace N–H	Aminoácido
3012-2809	Estiramiento del enlace C–H	Carbohidrato o Lípido
1763-1712	Tensión de los grupos C=O	Ácidos graso
1709-1583	Tensión de los grupos C=O	Aminoácido
1477-1425	Deformación del enlace C–H	Aminoácido o Lípido
1423-1357	Torsión del enlace O–H	Carbohidrato
	Estiramiento de los enlaces C–C y C–O	Ácido graso
1174-1134	Tensión asimétrica del enlace C–O–C	Carbohidrato
1099-1034	Tensión de los enlaces C–O y C–C–O	Carbohidrato
1072-980	R–O–R, enlace glucosídico	Carbohidrato

Referencia: Xu *et al.* [44]

La espectrometría por resonancia magnética nuclear (RMN) es una opción más para la determinación de la funcionalidad y las características químicas de los monosacáridos. La RMN se basa en la medición de las vibraciones de los núcleos atómicos de las moléculas, las cuales, son resultado de la adsorción de frecuencias electromagnéticas. Los análisis de RMN se realizan mediante experimentos de protón (RMN-¹H) y carbono (RMN-¹³C), en cada experimento se produce un espectro que proporciona información relacionada con el ambiente químico que rodea a los átomos de hidrógeno y carbón respectivamente. En el análisis de los espectros de RMN-¹H se consideran aspectos relacionados con el número de señales, la multiplicidad y los desplazamientos químicos, mientras que, en el análisis de los espectros de RMN-¹³C se considera únicamente el número de señales y los desplazamientos químicos. Los

desplazamientos químicos son muy útiles para determinar la funcionalidad y sirven como auxiliar en la determinación estructural de las moléculas (ver Tabla 7-Tabla 8).

Tabla 7. Desplazamientos químicos (δ) de RMN- ^1H de los principales grupos funcionales

Tipo de protón	Estructura	δ (ppm)	Tipo de protón	Estructura	δ (ppm)
Alquilo (primario)	$\text{R}-\text{CH}_3$	0.7-1.3	Alcohol	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{OH}$	2.5-5.0
Alquilo (secundario)	$\text{R}-\text{CH}_2$	1.2-1.6	Aminas aromáticas	$\text{Ar}-\text{NH}_2$	3.0-5.0
Alquilo (terciario)	$\text{R}-\text{CH}$	1.4-1.8	Éster	$\text{R}-\text{COO}-\text{CH}_2-\text{R}'$	3.3-4.5
Alílico	$\text{R}-\text{C}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{R}'$	1.6-2.2	Fenólicos	$\text{Ar}-\text{OH}$	4.0-12.0
Aminas alifáticas	$\text{R}-\text{NH}_2$	1.0-3.0	Vinílico	$\text{R}-\text{CH}_2=\text{CH}_2-\text{R}'$	4.5-6.5
Hidroxílicos	$\text{R}-\text{OH}$	1.0-5.0	Amidas	$\text{R}-\text{CO}-\text{NH}-\text{R}'$	5.5-8.5
Cetona	$\text{R}-\text{CO}-\text{CH}_3$	2.0-2.7	Aromático	$\text{Ar}-\text{H}$	6.0-8.5
Haluro de alquilo	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{X}$ ($\text{X}=\text{Cl}, \text{Br}, \text{F}, \text{I}$)	2.5-4.0	Aldehído	$\text{R}-\text{COH}$	9.7-10.0
Benzílico	$\text{Ar}-\text{CH}$	2.4-2.7	Carboxílico	$\text{R}-\text{CO}-\text{OH}$	11.0-12.0
Alquinilo	$\text{R}-\text{C}\equiv\text{CH}$	2.5-3.0	Enólico	$\text{R}-\text{C}=\text{C}(\text{OH})-\text{R}'$	15.0-17.0

Referencia: Morrison & Boyd [47], McMurry [48]

Tabla 8. Desplazamientos químicos (δ) de RMN- ^{13}C de los principales grupos funcionales

Tipo de carbón	Estructura	δ (ppm)	Tipo de carbón	Estructura	δ (ppm)
Alcano (primario)	$\text{R}-\text{CH}_3$	8-35	Vinílico	$\text{R}-\text{CH}_2=\text{CH}_2-\text{R}'$	100-150
Alcano (secundario)	$\text{R}-\text{CH}_2$	15-50	Aromático	$-\text{CH}_2=\text{CH}_2-$	100-175
Alcano (terciario)	$\text{R}-\text{CH}$	20-60	Nitrilos	$\text{R}-\text{C}\equiv\text{N}$	115-130
Alcano (cuaternario)	$\text{R}-\text{C}-\text{R}'$	30-40	Haluros de acilo	$\text{R}-\text{CO}-\text{X}$ ($\text{X}=\text{Cl}, \text{Br}, \text{F}, \text{I}$)	160-180
Haluro de alquilo	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{X}$ ($\text{X}=\text{Cl}, \text{Br}, \text{F}, \text{I}$)	10-65	Éter	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{R}'$	165-175
Sulfoxido	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{SO}-\text{CH}_2-\text{R}'$	30-70	Éster	$\text{R}-\text{COO}-\text{R}'$	165-175
Aminas alifáticas	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	40-60	Carboxílico	$\text{R}-\text{CO}-\text{OH}$	175-185
Alcohol	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{OH}$	50-85	Aldehído	$\text{R}-\text{COH}$	185-200
Alquino	$\text{R}-\text{C}\equiv\text{CH}$	65-85	Cetona	$\text{R}-\text{CO}-\text{R}'$	200-220

Referencia: Morrison & Boyd [47], McMurry [48]

1.5. Conversión bioquímica de los azúcares a etanol.

La fermentación alcohólica es un proceso biológico anaerobio en el que ciertos microorganismos (levaduras, hongos y bacterias) metabolizan los carbohidratos para obtener energía y reproducirse [48–51], siendo el etanol y el CO_2 los principales productos. En la fermentación, los hidratos de carbono siguen una serie de rutas catabólicas para transformarse primero en piruvato y, posteriormente, en etanol y dióxido de carbono (CO_2). Las principales rutas catabólicas son la glucólisis, la Entner-Doudoroff y vía pentosa-fosfato.

Tabla 9. Reacciones de la glicólisis o vía Embden-Meyerhof-Parnas

Reacción enzimática	Tipo de enzima
1) Glucosa + ATP $\rightarrow$ Glucosa 6-fosfato + ADP + H^+	Hexocinasa
2) Glucosa 6-fosfato $\leftrightarrow$ Fructuosa 6-fosfato	Glucosa 6 fosfato isomerasa
3) Fructuosa 6-fosfato + ATP $\rightarrow$ Fructuosa 1,6-bifosfato + ADP + H^+	Fosfofructocinasa-1
4) Fructuosa 1,6-bifosfato $\leftrightarrow$ Dihidroxiacetona fosfato + Gliceraldehído 3-fosfato	Aldolasa
5) Dihidroxiacetona fosfato $\leftrightarrow$ Gliceraldehído 3-fosfato	Triosa fosfato Isomerasa
6) Gliceraldehído 3-fosfato + NAD^+ + Pi $\leftrightarrow$ 1,3-bifosfoglicerato + NADH + H^+	Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa
7) 1,3-bifosfoglicerato + ADP $\leftrightarrow$ 3-fosfoglicerato + ATP	Fosfoglicerato quinasa
8) 3-fosfoglicerato $\leftrightarrow$ 2-fosfoglicerato	Fosfoglicerato mutasa
9) 2-fosfoglicerato $\leftrightarrow$ Fosfoenolpiruvato + H_2O	Enolasa
10) Fosfoenolpiruvato + ADP + H^+ $\leftrightarrow$ Piruvato + ATP	Piruvato quinasa

Referencia: McMurry *et al.* [48], Horton *et al.* [49]

La glicólisis, también llamada ruta Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) en honor a sus descubridores, es un conjunto de diez reacciones consecutivas catalizadas por enzimas, las cuales, describen la transformación de la glucosa en piruvato (ver Tabla 9). En la primer reacción, la glucosa se fosforila mediante la reacción del hidroxilo del Carbono-6 (carbono secundario de la molécula de glucosa) con el adenosín trifosfato (ATP), este proceso es catalizado por la enzima hexocinasa y requiere de iones de magnesio (Mg^{+2}) para acomplejar los oxígenos del fosfato cargado negativamente. En la segunda reacción, la aldosa glucosa-6-fosfato, producida en la primera reacción, se transforma en cetosa fructuosa-6-fosfato mediante la intervención de la isomerasa de 6-fosfato. Posteriormente (tercer reacción), la fructuosa-6-fosfato se convierte a fructuosa-1,6-difosfato debido a la acción catalítica de la fosfofructocinasa y la reacción con el ATP. En la cuarta reacción, la fructuosa-1,6-difosfato se fragmenta debido a la acción de enzimas aldosas, generando el gliceraldehído-3-fosfato y el fosfato de dihidroxiacetona; ésta reacción es una escisión aldólica que promueve la formación de un aldehído y una cetona. En la quinta reacción ocurre la isomerización del fosfato de dihidroxiacetona debido a la acción de la fosfato triosa isomerasa, formando un segundo equivalente de gliceraldehído-3-fosfato.

En la sexta reacción, el gliceraldehído-3-fosfato se oxida y fosforila para formar al 1,3-bifosfoglicerato debido a la acción catalítica de la deshidrogenasa gliceraldehído-3-fosfato; en ésta etapa se acopla la oxidación del gliceraldehído-3-fosfato con la reacción de óxido-reducción del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+/NADH). Posteriormente (séptima reacción), ocurre la formación del 3-fosfoglicerato mediante la trasferencia de un grupo fosfato del 1,3-bifosfoglicerato al ADP, formado así una molécula de ATP; ésta reacción es promovida por la encima fosfoglicerato cinasa y los iones Mg^{+2} . En la octava reacción ocurre la isomerización del 3-fosfoglicerato produciendo una molécula de 2-fosfoglicerato; ésta reacción es promovida por la enzima fosfoglicerato mutasa. Después (novena reacción), el 2-fosfoglicerato experimenta en una deshidratación para formar fosfoenolpiruvato (PEP); el proceso es catalizado por una enolasa y requiere dos Mg^{+2} para estabilizar las cargas negativas del 2-fosfoglicerato. En la décima reacción, la trasferencia del grupo fosforilo al ADP para producir ATP, además, el enolpiruvato se transforma en piruvato.

Tabla 10. Reacciones de la vía Entner-Doudoroff

Reacción enzimática	Tipo de Enzima
1) Glucosa + ATP $\rightarrow$ Glucosa 6-fosfato + ADP + H^+	Glucocinasa
2) Glucosa 6-fosfato + $\text{NAD}^+ \leftrightarrow$ 6-fosfogluconolactona + NADH + H^+	Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa
3) 6-fosfogluconolactona + $\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow$ 6-fosfogluconato + H^+	Gluconolactonasa
4) 6-fosfogluconato $\leftrightarrow$ 2-ceto-3-desoxi-6-fosfogluconato + H_2O	6-fosfogluconato deshidralasa
5) 2-ceto-3-desoxi-6-fosfogluconato $\leftrightarrow$ Piruvato + Gliceraldehído 3-fosfato	2-ceto-3-desoxi-6-fosfogluconato aldolasa
6) Gliceraldehído 3-fosfato + NAD^+ + Pi $\leftrightarrow$ 1,3-bisfosfoglicerato + NADH + H^+	Gliceraldehído fosfato dehidrogenasa
7) 1,3-bisfosfoglicerato + ADP $\leftrightarrow$ 3-fosfoglicerato + ATP	Fosfoglicerato quinasa
8) 3-fosfoglicerato $\leftrightarrow$ 2-fosfoglicerato	Fosfogliceromutasa
9) 2-fosfoglicerato $\leftrightarrow$ Fosfoenolpiduvato + H_2O	Enolasa
10) Fosfoenolpiruvato + ADP + $\text{H}^+ \leftrightarrow$ Piruvato + ATP	Pituvato quinasa

Referencia: McMurry *et al.* [48], Horton *et al.* [49]

La ruta de Entner-Doudoroff (ED) es una vía metabólica alterna a la ruta de glucolisis, pues algunas bacterias no pueden convertir la glucosa 6-fosfato a fructuosa 1,6-bifosfato; la Tabla 10 indican las reacciones involucradas en la vía ED. El proceso comienza (reacción 1) con la sustitución grupo $-\text{OH}$ ubicado en el carbomo-6 (carbono secundario de la molécula de glucosa) produciendo una molécula de glucosa 6-fosfato; ésta reacción es catalizada por la enzima glucocinasa. Enseguida, las enzimas glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y la gluconolactonasa actúan sobre la glucosa 6-fosfato (reacciones 2 y3) y la transforman en 6-fosfatogluconato. Además, en éste paso ocurre el acoplamiento de la oxidación de la glucosa 6-fosfato y la reducción NAD^+/NADH . Posteriormente, (reacción cuatro) la 6-fosfogluconato deshidratasa convierte a la 6-fosfogluconato en 2-ceto-3-desoxi-6-fosfogluconato (KDPG). Entonces, (reacción cinco) la 2-ceto-3-desoxi-6-fosfogluconato aldolasa actúa sobre la KDPG

formado una molécula de piruvato y otra de gliceraldehído 3-fosfato. Una vez formado el gliceraldehído 3-fosfato la reacción sigue la secuencia de la ruta EMP.

Una vez obtenido el piruvato, éste pierde el grupo carboxilato ($-\text{COO}^-$) debido a la acción catalítica de la enzima piruvato descarboxilasa, produciendo una molécula de CO_2 y de acetaldehído. Finalmente, el acetaldehído es reducido por la enzima alcohol deshidrogenasa para formar etanol (ver Figura 5).

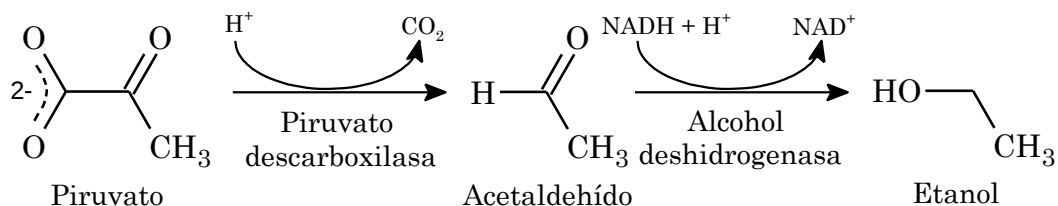


Figura 5. Formación de etanol a partir de la descarboxilación de piruvato

Capítulo 2. Materiales y métodos.

2.1. Plan de trabajo.

Para alcanzar el objetivo general, el trabajo de tesis fue dividido en cuatro etapas u objetivos particulares. La Figura 6 muestra, en forma de esquema, la secuencia y relación de cada uno de los objetivos particulares.

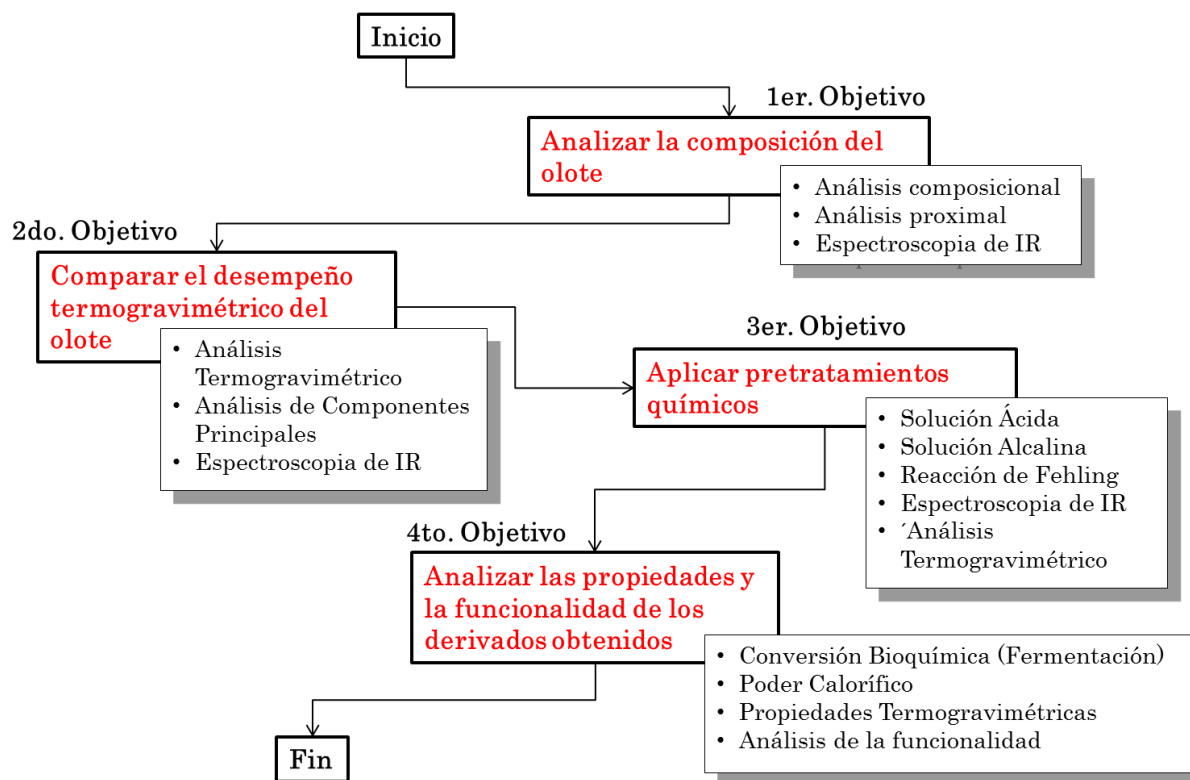


Figura 6. Esquema de trabajo.

2.2. Analizar la composición del olote

El análisis composicional del olote fue determinado mediante metodologías analíticas. En la Tabla 11 se indica los parámetro determinado y la metodología utilizada.

Tabla 11. Metodologías utilizadas en el análisis composicional del olote

Parámetro	Método	Descripción
Humedad	NOM-116-SSA1-1994	Esta Norma Oficial Mexicana establece el procedimiento para determinar la humedad por tratamiento térmico con el método por arena o gasa y es aplicable a alimentos en general, con excepción de aquellos en los que se requiera una metodología específica.
Lípidos	MNX-F-615-NORMEX-2018	Esta Norma Mexicana establece el procedimiento para la determinación de ácidos grasos (extracto etéreo) por el método de Soxhlet en todos los alimentos sólidos, excepto los productos lácteos.
Fibra cruda	NMX-F-613-NORMEX-2017	Esta Norma Oficial Mexicana establece el procedimiento para la determinación fibra cruda y es aplicable para alimentos y bebidas no alcohólicas que se producen y comercializan en los Estados Unidos Mexicanos.
Proteína	NMX-F-608-NORMEX-2011	En este método se establece el procedimiento para la determinación de proteínas, en materias primas, alimentos procesados y no procesados que se comercialicen y distribuyan en territorio nacional.
Cenizas	NMX-F-607-NORMEX-2013	En este método se indica la manera de determinar la cantidad de cenizas en alimentos y bebidas no alcohólicas
Carbohidratos totales	NOM-086-SSA1-1994 Apéndice Normativo C	Esta Norma Oficial Mexicana tiene por objeto establecer la información comercial y sanitaria que debe contener el etiquetado de los alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados de fabricación nacional o extranjera, así como determinar las características de dicha información. Determinación de azúcares: La muestra se hace reaccionar con acetato de zinc y ferrocianuro de potasio para precipitar las proteínas. Posteriormente, a los restos de biomasa se le agrega ácido clorhídrico para hidrolizar los polisacáridos, después, se realiza una valoración volumétrica al hidrolizado (según el método de Lane y Eynon) para determinar la cantidad de azúcares reductores totales.

El análisis proximal se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Cai. J. *et al.* [39] utilizando un STA 6000 Perkin Elmer Instrument. Inicialmente, la muestra de olote (alrededor de 100 mg) fue colocada en un crisol de alúmina y calentada desde la temperatura ambiente ($\sim 29^{\circ}\text{C}$) hasta 105°C ; el calentamiento se realizó a una velocidad de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ en condiciones no-oxidantes (suministrando N_2 gaseoso dentro de la cámara de calentamiento una velocidad

de 20 ml•min⁻¹) para determinar la cantidad de humedad, después de 3 min, la muestra fue calentada desde 105°C hasta 950°C a una velocidad de 50°C•min⁻¹ en condiciones no-oxidantes (suministrando N₂ gaseoso dentro de la cámara de calentamiento una velocidad de 20 ml•min⁻¹). Posteriormente, se suspendió el calentamiento cuando se alcanzaron los 950°C y se reanuda el calentamiento cuando la muestra se encontraba a 450°C. Finalmente, la muestra fue calentada hasta los 800°C a una velocidad de 20°C•min⁻¹ en condiciones oxidantes (suministrando aire seco dentro de la cámara de calentamiento una velocidad de 50 ml•min⁻¹) para calcinar la materia orgánica y determinar la cantidad de cenizas.

El análisis de espectroscopia de infrarrojo (IR) se realizó en un espectrómetro FT-IR PerkinElmer Frontier. El espectrómetro está equipado con dispositivo ATR con cristal de seleniuro de zinc (ZnSe), además, este accesorio dispone de una prensa para ejercer presión sobre las muestras. Los espectros fueron obtenidos en condiciones de temperatura ambiente (~29°C) aplicando 32 barridos en un intervalo de 4000-600 cm⁻¹. Antes de realizar el análisis, una pieza de olote fue triturada y secada a 80°C por 4 hrs para retirar el exceso de humedad. Posteriormente, una muestra de olote triturado (~100 mg) fue colocada sobre el detector del equipo para obtener el espectro.

2.3. Comparar el desempeño termogravimétrico del olote

Los análisis termogravimétricos del olote y los materiales de referencia se realizaron en un PerkinElmer STA 6000. Inicialmente, la muestra de biomasa (alrededor de 100 mg) fue colocada en un crisol de alúmina y calentada hasta 105°C por 5 min para retirar el exceso de humedad. Posteriormente, se suspendió el calentamiento y se registró el peso de la muestra cuanto la temperatura dejó de disminuir. Enseguida, se incrementó la temperatura desde la temperatura ambiente (~29°C) hasta 600°C a una velocidad de 10°C•min⁻¹ en condiciones de atmosfera inerte (suministrando N₂ a una velocidad de 20 ml•min⁻¹). Una vez obtenidas las curvas termogravimétricas del olote y los materiales de referencia se analizó la similitud de las curvas utilizando la técnica de análisis de componentes principales (ACP).

El ACP es una técnica de análisis multivariable que transforma un conjunto de datos de interés en un conjunto de variables no-correlacionadas llamadas “componentes principales”. La técnica del ACP es muy útil cuando resulta difícil encontrar una relación entre los datos obtenidos debido a que se manipula un extenso número de variables. Entonces, al reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos, se interpreta un pequeño número de componentes principales en lugar de un extenso número de variables. El ACP se realizó con el software OriginPro 2019 utilizando como datos de entrada la temperatura y el %peso de las curvas termogravimétricas. La matriz con los datos de entrada contiene a las temperaturas en las columnas (en este caso 7000 datos de temperatura) y el %peso de la muestra en las filas.

Se realizaron experimentos de calentamiento y análisis de IR para analizar los cambios en la funcionalidad de las muestras durante el proceso de calentamiento. El calentamiento de las muestras se realizó en un PerkinElmer STA 6000. Inicialmente, la muestra de biomasa (alrededor de 200 mg) fue colocada en un crisol de alúmina y calentada hasta una temperatura los 600°C a una velocidad de 10°C•min⁻¹ en condiciones no-oxidantes (suministrando N₂

gaseoso dentro de la cámara de calentamiento a una velocidad de $20 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$). El calentamiento fue suspendido cuando se alcanzó la temperatura programada, posteriormente, se retiró el crisol del equipo para extraer la muestra y analizar su funcionalidad mediante espectroscopia de infrarrojo. Los espectros de IR se obtuvieron con un espectrómetro FT-IR PerkinElmer Frontier en condiciones de temperatura ambiente ($\sim 29^\circ\text{C}$) aplicando 32 barridos en un intervalo de $4000\text{-}600 \text{ cm}^{-1}$.

2.4. Tratamientos químicos

El olote fue triturado hasta obtener partículas menores a $4000\mu\text{m}$ de diámetro. Los fragmentos de olote fueron colocados en un soxhlet para ser enjuagados; se utilizó agua desionizada y el tiempo de lavado fue de 6 hrs. Posteriormente, los restos de olote fueron sometidos a un proceso de secado a una temperatura de 85°C durante 8 hrs. Los tratamientos químicos se realizaron con soluciones ácidas y alcalinas de acuerdo al esquema de la Figura 7.

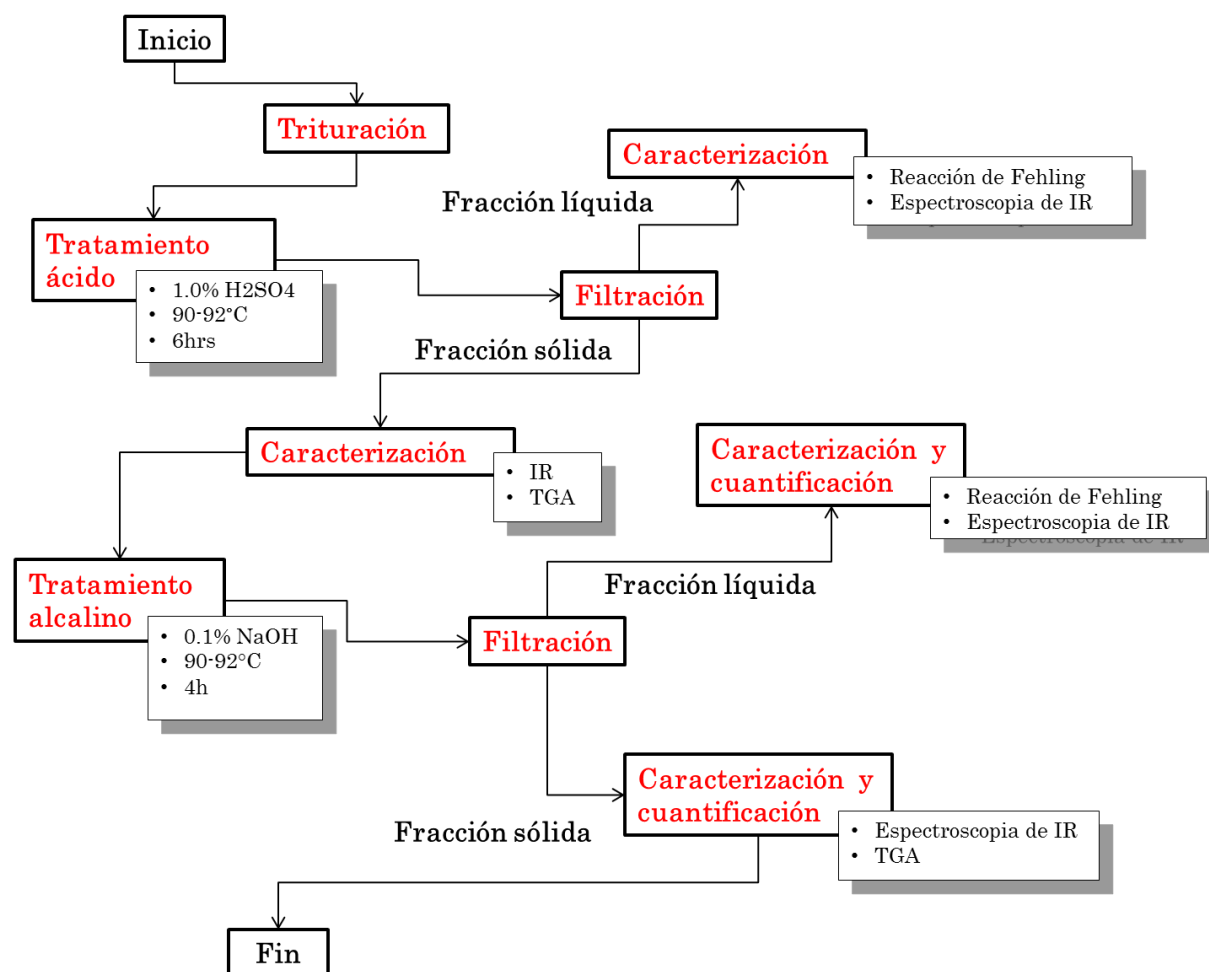


Figura 7. Secuencia del tratamiento químico.

2.4.1. Tratamiento Ácido

El tratamiento ácido se realizó en un sistema similar al de la Figura 8a. En el matraz se colocaron alrededor de 10 g de olote triturado y se le agregaron 100 ml de una solución al 1.0% de H_2SO_4 . El tiempo de la reacción fue de 6 horas a temperatura de reflujo ($\sim 92^\circ\text{C}$). Una vez terminada la reacción, el contenido del matraz fue filtrado en un sistema similar al de la Figura 8b.



Figura 8. Material utilizado en el pretratamiento ácido y alcalino: a) sistema de reacción y b) sistema de filtración.

Para caracterizar cada una de las fracciones recuperadas fue necesario aplicar procesos de acondicionamiento. A la fracción líquida se le agregó óxido de calcio dihidratado ($\text{CaO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$), hasta obtener un pH neutro ($\text{pH}=6.5-7$), posteriormente, la mezcla fue nuevamente filtrada para separar los precipitados. En cuanto a la fracción insoluble, los sólidos fueron colocados en un Soxhlet para ser enjuagados; se utilizó agua des-ionizada y el tiempo de lavado fue de 6 hrs. Posteriormente, los sólidos fueron sometidos a un proceso de secado a una temperatura de 85°C durante 8 hrs.

2.4.2. Caracterización de las fracciones líquidas y sólidas del tratamiento ácido.

La fracción líquida recuperada fue caracterizada mediante espectroscopia de Infrarrojo (IR) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN), así como también, métodos colorimétricos (Reacción de Fehling). Los análisis de IR se realizaron con un espectrómetro FT-IR PerkinElmer Frontier en condiciones de temperatura ambiente ($\sim 29^\circ\text{C}$) aplicando 32 barridos en un intervalo de $4000-600\text{ cm}^{-1}$. Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN) y carbono (^{13}C -RMN) fueron obtenidos en un equipo VARIANT MERCURY (500 MHz), utilizando tetrametilsilano (TMS) como señal de referencia interna estándar, después de disolver las muestras en agua deuterada. Para la reacción de Fehling se prepararon dos soluciones (ver Figura 9), posteriormente, en un tubo de ensaye y mezclaron 1 ml de analito y 1 ml de solución A y B, después, la mezcla (reactivos y el analito) fue calentada hasta los 80°C (mediante un baño de calentamiento) por 5 min.



Figura 9. Apariencia de las soluciones de Fehling

La fracción insoluble recuperada fue caracterizada mediante espectroscopia de IR y métodos termogravimétricos. Los análisis de IR se realizaron con un espectrómetro FT-IR PerkinElmer Frontier en condiciones de temperatura ambiente ($\sim 29^{\circ}\text{C}$) aplicando 32 barridos en un intervalo de $4000\text{--}600\text{ cm}^{-1}$. El análisis termogravimétrico se realizó en un equipo PerkinElmer STA 6000. Inicialmente, una muestra de biomasa (alrededor de 100 mg) fue colocada en un crisol de alúmina y calentada hasta 105°C por 5 min para retirar el exceso de humedad. Posteriormente, se suspendió el calentamiento y se registró el peso de la muestra cuanto la temperatura dejó de disminuir. Posteriormente, se incrementó la temperatura del crisol desde la temperatura ambiente ($\sim 29^{\circ}\text{C}$) hasta 600°C , incrementando la temperatura a una velocidad de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ en condiciones de atmosfera no-oxidante (suministrando N_2 gaseoso dentro de la cámara de calentamiento a una velocidad de $20\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$).

2.4.3. Tratamiento Alcalino

El tratamiento alcalino se realizó en un sistema similar al de la Figura 8a. En el matraz se colocaron los sólidos orgánicos provenientes del tratamiento ácido, además, se le agregaron 100 ml de una solución al 0.1 M de NaOH. El tiempo de la reacción fue de 2 horas a temperatura de reflujo ($\sim 92^{\circ}\text{C}$). Una vez terminada la reacción, el contenido del matraz fue filtrado en un sistema similar al de la Figura 8b.

Para caracterizar cada una de las fracciones recuperadas fue necesario aplicar procesos de acondicionamiento. A la fracción líquida se le agregó una solución de 0.1% de HCl hasta obtener un pH neutro ($\text{pH}=6.5\text{--}7$). En cuanto a la fracción insoluble, los sólidos fueron colocados en un soxhlet para ser enjuagados; se utilizó agua des-ionizada y el tiempo de lavado fue de 6 hrs. Posteriormente, los sólidos fueron sometidos a un proceso de secado a una temperatura de 85°C durante 8 hrs.

2.4.4. Caracterización de las fracciones líquidas y sólidas del tratamiento alcalino.

La fracción líquida recuperada fue caracterizada mediante espectroscopia de IR y métodos colorimétricos (Reacción de Fehling). Los análisis de IR se realizaron con un espectrómetro FT-IR PerkinElmer Frontier en condiciones de temperatura ambiente ($\sim 29^{\circ}\text{C}$) aplicando 32 barridos en un intervalo de $4000\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ a una resolución de 4 cm^{-1} . Para la reacción de Fehling se prepararon dos soluciones (ver Figura 9), posteriormente, en un tubo de ensaye y mezclaron 1 ml de analito y 1 ml de solución A y B, después, la mezcla (reactivos y el analito) fue calentada hasta los 80°C (mediante un baño de calentamiento) por 5 min.

La fracción insoluble recuperada fue caracterizada mediante espectroscopia de IR y métodos termogravimétricos. Los análisis de IR se realizaron con un espectrómetro FT-IR PerkinElmer Frontier en condiciones de temperatura ambiente ($\sim 29^{\circ}\text{C}$) aplicando 32 barridos en un intervalo de $4000\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ a una resolución de 4 cm^{-1} . Los análisis termogravimétricos realizaron en un PerkinElmer STA 6000. Inicialmente, una muestra de biomasa (alrededor de 100 mg) fue colocada en un crisol de alúmina y calentada hasta 105°C por 5 min para retirar el exceso de humedad. Posteriormente, se suspendió el calentamiento y se registró el peso de la muestra cuanto la temperatura dejó de disminuir. Posteriormente, se incrementó la temperatura del crisol desde la temperatura ambiente ($\sim 29^{\circ}\text{C}$) hasta 600°C a una velocidad de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ en condiciones de atmosfera inerte (suministrando N_2 a una velocidad de $20\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$).

2.5. Análisis de las propiedades y funcionalidad de los derivados obtenidos.

La fracción líquida del tratamiento ácido fue colocada en un bioreactor de vidrio similar al de la Figura 12. También, se agregaron al reactor minerales y levadura *saccharomyces cerevisiae*. Posteriormente, el bioreactor fue colocado en una estufa para mantener la temperatura del sistema a 30°C . Constantemente se monitoreo la temperatura del bioreactor y se tomaron muestras para medir la turbidez de la solución. En un bioreactor (bioreactor referencia) se colocó únicamente minerales y levadura para corroborar el efecto del sustrato; si la levadura se reproduce mejor en un medio que no contiene fuente carbono significa que el sustrato inhibe el desarrollo de la levadura, o bien, los minerales son más efectivos en el crecimiento de la levadura. La absorbancia de la solución se midió a temperatura ambiente ($\sim 29^{\circ}\text{C}$) con un fotospectrómetro de UV-vis modelo Hach aplicando una longitud de onda de 650 nm. En cada medición se extrajeron al alrededor de 3 ml de solución y se colocaron en una celda de cuarzo, posteriormente, la celda fue colocada dentro del fotospectrómetro de UV-vis para medir la absorbancia.

En otro experimento se colocaron los compuestos solubles generados durante el tratamiento ácido, agar (DIFCO™), glucosa y levadura *saccharomyces cerevisiae* dentro de un biorreactor (similar al de la Figura 12). Posteriormente, el biorreactor fue colocado en una estufa para mantener su temperatura a $\sim 35^{\circ}\text{C}$. Adicionalmente, se tomaron algunas muestras de la solución a diferentes tiempos para medir la absorbancia de la solución y determinar la cantidad de azúcares disueltos. La absorbancia del fermento se midió a temperatura

ambiente ($\sim 29^{\circ}\text{C}$) con un fotospectrómetro de UV-vis modelo Hach aplicando una longitud de onda de 600 nm. En cada medición se extrajeron al alrededor de 3 ml de solución y se colocaron en una celda de cuarzo, posteriormente, la celda fue colocada dentro del fotospectrómetro de UV-vis para medir la absorbancia. Por otra parte, se aplicó la prueba de Miller para determinar la cantidad de azúcares disueltos; la prueba de Miller es un método derivativo de espectrofotometría de UV-vis, sirve para determinar la concentración de carbohidratos reductores, y se basa en la reducción del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS).

El DNS no reacciona directamente con los azúcares reductores, previamente se tiene que disolver en una solución alcalina. Para preparar el reactivo DNS se disolvieron 1.6 gr de NaOH en 40 ml en agua desionizada, posteriormente, la solución fue calentada hasta los 60°C y se le agregó 30 gr de Tartrato de sodio y potasio pentahidratado ($\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). En otro recipiente, se colocó 1.0 gr. de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), posteriormente, se le agregó agua desionizada, en seguida, se incrementó la temperatura del recipiente hasta los 60°C y, también, se agitó vigorosamente la solución hasta que se disolvió el DNS. Finalmente, las soluciones de $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y DNS fueron colocadas en un matraz aforado de 100 ml, además, el matraz fue cubierto con papel aluminio para evitar la exposición a la luz.

Para la cuantificación de los azúcares reductores se elaboró una curva de calibración con glucosa y reactivo DNS. Inicialmente, se prepararon 10 ml de soluciones de glucosa a diferentes concentraciones (50 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm, 1200 ppm, 1600 ppm y 2000 ppm). Posteriormente, en tubos de ensaye se colocaron 0.5 ml de solución de glucosa, 0.5 ml de reactivo DNS y 20 ml de agua desionizada, enseguida, se agitó el contenido del tubo hasta obtener una mezcla homogénea. Finalmente, se colocaron los tubos de ensaye un recipiente con agua caliente (a 90°C) por 5 min.



Figura 10. Apariencia de los tubos de ensaye después del proceso de calentamiento.

La Figura 10 se muestra la apariencia de los tubos de ensaye después del proceso de calentamiento; se puede observar que la intensidad del color cambia con el incremento en la concentración de glucosa. Después del calentamiento se midió la absorbancia de las soluciones para elaborar la curva de calibración; la absorbancia de las soluciones se midió a temperatura ambiente ($\sim 29^{\circ}\text{C}$) con un fotospectrómetro de UV-vis modelo Hach a una longitud de onda de 540 nm.

Tabla 12. Datos de absorbancia del método DNS

Concentración (mM • L ⁻¹)	Absorbancia @ 540 nm
0.28	0.053
1.11	0.138
2.22	0.230
4.44	0.419
6.67	0.624
8.89	0.841
11.11	1.015

La Tabla 12 contiene los valores de absorbancia de cada una de las soluciones de glucosa. Los datos de esta tabla fueron graficados (ver Figura 11) para obtener la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación. Para determinar el contenido de azúcares reductores, previamente, se colocaron dentro de un tubo de ensaye 0.5 ml de la muestra, 0.5 ml de reactivo DNS y 20 ml de agua desionizada, enseguida, se agitó el contenido del tubo hasta obtener una mezcla homogénea. Finalmente, se colocaron los tubos de ensaye un recipiente con agua caliente (a 90°C) por 5 min. Después del calentamiento se midió la absorbancia de las soluciones; la absorbancia se midió a temperatura ambiente (~29°C) con un fotospectrómetro de UV-vis modelo Hach a una longitud de onda de 540 nm. El contenido de azúcares reductores en las muestras se determina por interpolación utilizando la ecuación de la recta y el valor de la absorbancia.

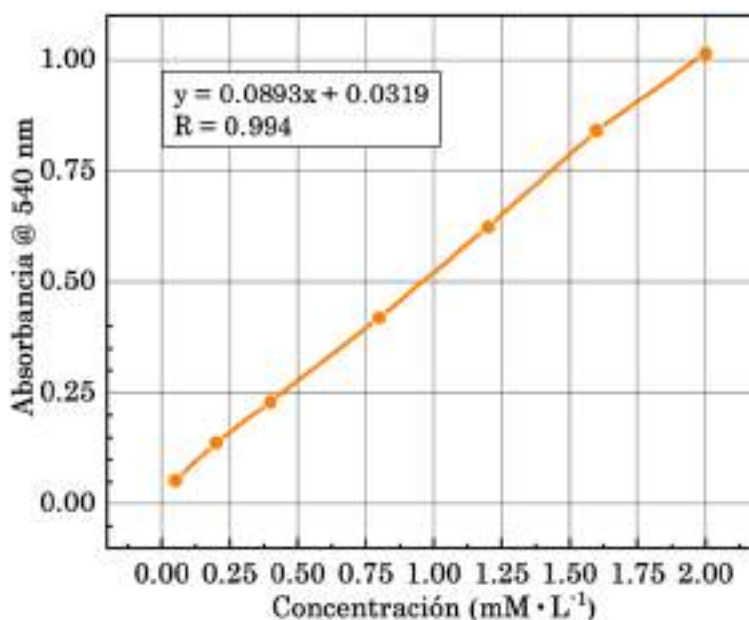


Figura 11. Datos de absorbancia graficados

El poder calorífico superior (PCS) del olote y sus derivados se determinó con un Calorímetro adiabático Parr 6200. Las mediciones se realizaron a ~30°C y en condiciones de saturación de oxígeno. Inicialmente, se pesó alrededor de 1 gr de muestra seca y se colocó en un crisol metálico. Posteriormente, el crisol metálico fue fijado al cabezal de la celda de combustión,

también, se le colocó un hilo de algodón en el alambre de platino del cabezal para facilitar la ignición de la muestra. Una vez preparado el cabezal se prosiguió a sellar la celda de combustión y saturar el interior con oxígeno (suministrando gas O_2 puro hasta obtener una presión 30 atm dentro de la celda) para comenzar la medición.



Figura 12. Material utilizado para monitorear el crecimiento de la levadura *saccharomyces cerevisiae*

Capítulo 3. Análisis y discusión de resultados

3.1. Principales componentes del olote

El olote es la parte central de la mazorca y sobre la superficie de su estructura se desarrollan los granos de maíz. Además, se considera como un residuo debido a sus características recalcitrantes y su bajo aporte nutricional [19]. Estructuralmente el olote está dividido en tres secciones (ver Figura 13); la medula es la parte interna del olote, su color es blanco y está conformado de fibras de celulosa, a través de la medula fluyen los nutrientes y el agua para el desarrollo de los granos de maíz; el anillo de madera es la capa que envuelve a la medula, es la sección más dura y su función es dar soporte y rigidez a la estructura; la corteza es la parte exterior del olote y su función es proteger a la estructura contra la degradación ambiental o biológica.



Figura 13. Estructura del olote de maíz

Los resultados del análisis composicional (ver Tabla 13) indican los polisacáridos son el principal componente del olote (constituyen el ~49% de la materia orgánica), mientras que los demás componentes del olote se encuentran en la fibra cruda. Además, el contenido de proteína es muy bajo, de modo que, no se puede considerar un alimento nutritivo para el ganado [19].

Tabla 13 Análisis nutrimental del olote

Parámetro	Cantidad por cada 100 g de olote
Humedad	3.98 g
Lípidos	0.88 g
Fibra cruda	40.20 g
Proteína	3.45 g
Cenizas	2.80 g
Carbohidratos totales (polisacáridos)	48.69 g

La Tabla 14 contiene los resultados del análisis proximal. Los resultados indican que el olote contiene 8.63% peso de humedad, 88.51% peso de materia orgánica y 2.86% peso de cenizas.

Además, tomando en cuenta los resultados del análisis en base seca, el 62.85% de la materia orgánica es volátil, mientras que, el 35% es materia orgánica no-volátil.

Tabla 14. Resultados del análisis proximal

Parámetro	%Peso	Parámetro	%Peso
Base Húmeda		Base Seca	
Humedad	8.63	Volátiles	62.85
Materia orgánica	88.51	No Volátiles	35
Cenizas	2.86	Cenizas	2.15

La Figura 14 muestra el espectro de infrarrojo del olote (OLT-IR). En el espectro OLT-IR se observan bandas de absorción en los intervalos $3300\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O–H), $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace C–H de metilos y metilenos), así como también, una banda en 1732 cm^{-1} (estiramiento del enlace C=O de aldehídos o éster), 1635 cm^{-1} (vibración del enlace N–H de amidas, también, estiramiento del enlace C=O de ácidos o cetonas), 1583 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=C de alquenos o grupos aromáticos), múltiples bandas en el intervalo $1500\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces Ar–H, C–H, C–C y C–OH), una banda intensa en 1032 cm^{-1} (vibración de los enlaces C–O–C de polisacáridos), también, pequeñas bandas en 928 cm^{-1} (deformación de anillo de pirano) y 877 cm^{-1} (dobles fuera del plano del enlace Ar–H de grupos aromáticos).

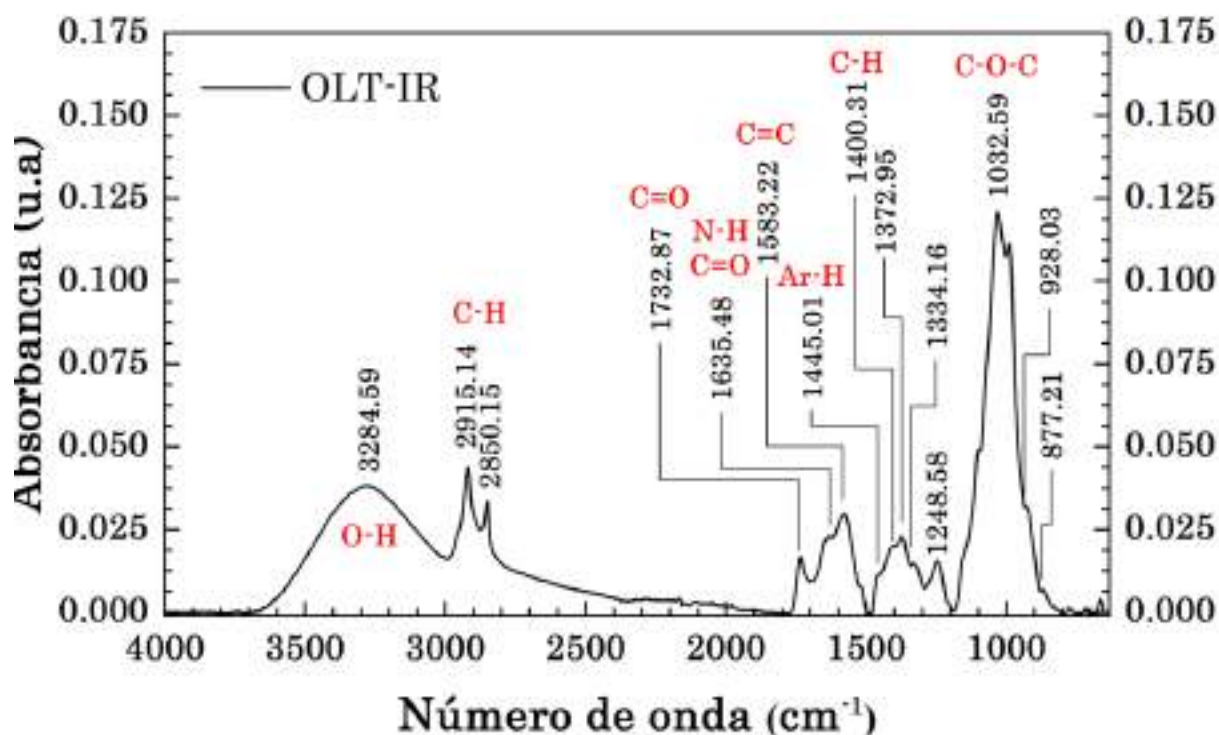


Figura 14. Espectro de infrarrojo del olote de maíz

Entonces, si ~49% de la materia orgánica que conforma al olote se encuentra en forma de polisacárido, es muy probable que las bandas de absorción en 3284 cm^{-1} , $1372\text{--}1248\text{ cm}^{-1}$, 1032 cm^{-1} , 928 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de los enlaces que conforman a los polisacáridos (hemicelulosa y/o celulosa). Además, en el espectro muestra una banda en 1732 cm^{-1} que puede ser atribuida a la vibración de los enlaces C=O que conforman a las unidades de ácido

galacturónico de la hemicelulosa. Por otra parte, existen estudios [52,53] en los que relacionan a las bandas de absorción de 1635 cm^{-1} , 1583 cm^{-1} , 877 cm^{-1} con los grupos funcionales que conforman a la lignina.

3.2. Análisis de la recalcitrancia del olote

La biomasa lignocelulósica está compuesta de polisacáridos (p. ej. hemicelulosa, pectina, almidón o celulosa), polifenoles (lignina), pigmentos, lípidos, aminoácidos y minerales. Además, sus componentes interactúan entre si formando una estructura compleja que, a su vez, es muy resistente a la degradación biológica. La cristalinidad de la celulosa, el grado de polimerización de las moléculas, la presencia de lignina, así como también, los enlaces entre los polisacáridos y la lignina son algunos factores que inhiben la degradación biológica de la biomasa, también, son un obstáculo para la producción de biocombustibles.

La cristalinidad de la celulosa se debe a los puentes de hidrogeno y el empaquetamiento de las moléculas; la celulosa es un polisacárido constituido de unidades de D-glucosa, las cuales, se encuentran unidas mediante enlaces del tipo β -1,4 glucosídicos, al mismo tiempo, los grupos hidroxilo ($-\text{OH}$) de cada una de las unidades interactúan con otras moléculas de celulosa formando una red de puentes de hidrogeno, además, la orientación de los enlaces β -(1-4) glucosídico permiten el empaquetamiento de las moléculas hasta que la microestructura adquiere la forma de fibra. Por otra parte, las moléculas que tienden a formar puentes de hidrogeno presentan altos puntos de fusión [54]; los puentes de hidrogeno favorecen la cohesión entre moléculas y, al mismo tiempo, dificultan la separación durante los procesos de calentamiento. Existen reportes en los que analizan el efecto de la cristalinidad en la descomposición térmica de la celulosa; Kim *et al.* [55] analizó la cristalinidad de tres especies compuestas de celulosa (*Halocynthia*, algodón y celulosa comercial) y encontró que las muestras con mayor grado de cristalinidad se degradan a mayor temperatura. Abidi *et al.* [56] analizó los termogravimétricamente las fibras de algodón y encontró que las fibras se degradan a partir de los 250°C , también, encontró la cristalinidad de la celulosa incrementa la resistencia térmica de las fibras de algodón. Cabrales *et al.* [57] analizó la madurez de la celulosa en las fibras de algodón y encontró que el algodón se degrada a mayor temperatura conforme incrementa la cristalinidad de la celulosa.

La Figura 15 muestra la curva termogravimétrica del algodón (ALG-TG) y su correspondiente derivada (ALG-DTG). La curva ALG-TG muestra un decremento en la cantidad de muestra a partir de $\sim 215^{\circ}\text{C}$, y aunque sigue disminuyendo con el incremento de la temperatura, la mayor parte se consume en el intervalo $250\text{--}380^{\circ}\text{C}$. La curva ALG-DTG muestra un pico agudo centrado en $\sim 362^{\circ}\text{C}$, algunos reportes [58–60] sugieren que éste pico corresponde a la degradación de las fibras de celulosa y la formación de compuestos volátiles (p. ej., CO , CO_2 y H_2O). Cabrales *et al.* [57] y Brillard *et al.* [61] encontraron que la degradación del algodón comienza a temperaturas altas ($T > 250^{\circ}\text{C}$) y en un estrecho rango de temperatura ($315\text{--}400^{\circ}\text{C}$), también, encontraron que durante la degradación se produce una gran cantidad de compuestos volátiles (p. ej., CO , CO_2 y H_2O) y poca cantidad de compuestos no-volátiles ($>10\%$ peso).

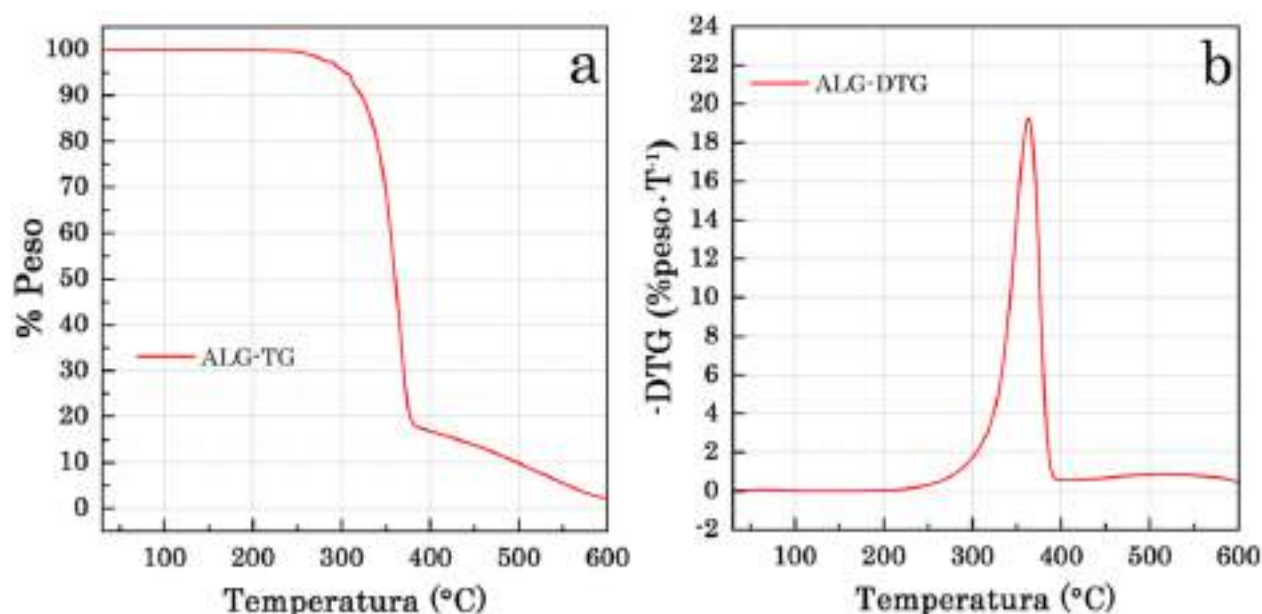


Figura 15. Desempeño termogravimétrico del algodón

La Figura 16 muestra los espectros de infrarrojo de la muestra de algodón (ALG-IR) y los compuestos no-volátiles generados durante el calentamiento. El espectro ALG-IR muestra bandas de adsorción en los intervalos $3600\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O–H), $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace C–H de metilos y metilenos), también, en 1630 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=O y N–H) [62], múltiples bandas de absorción entre $1500\text{--}1190\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C–H, C–C y C–OH), bandas de absorción intensas en el intervalo $1200\text{--}950\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C–OH y C–O de los anillos de piranosa, así como también, vibración del enlace C–O–C que corresponde al enlace glucosídico) y una banda en 898 cm^{-1} (vibración no simétrica y fuera del plano de los enlaces C–H de los anillos de piranosa).

Durante la pirolisis de la fibra de algodón ocurren reacciones de deshidratación, despolimerización, apertura de anillos, decarboxilación y carbonización [60,63]. Algunos reportes [60,63,64] mencionan que la pirolisis del algodón comienza con la deshidratación de la celulosa y la subsecuente formación de anhidrocelulosa, levoglucosa, furfural, lactonas y cetonas cíclicas [64]. Los espectros IR-ALG-300°C y IR-ALG-350°C muestran bandas de absorción en los intervalos $3600\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O–H), $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace C–H de metilos y metilenos), una banda en 1707 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=O de aldehídos o ácidos) y 1582 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=C de alquenos o grupos aromáticos), múltiples bandas en el intervalos $1500\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C–H, C–C y C–O), bandas de absorción intensas en el intervalo $1190\text{--}840\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C–OH, C–O y C–O–C) y una banda en 875 cm^{-1} (vibración no simétrica y fuera del plano de los enlaces C–H de los anillos de piranosa).

Los espectros ALG-IR-300°C y ALG-IR-350°C son similares al espectro ALG-IR. Sin embargo, en los espectros ALG-IR-300°C y ALG-IR-350°C es ligeramente menor la intensidad en el intervalo $3600\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O–H); el incremento en la temperatura promueve la deshidratación de las moléculas de celulosa eliminando los grupos –OH de las

unidades repetitivas y, a su vez, disminuye la intensidad en la región 3600-3000 cm^{-1} (estiramiento del enlace O-H). Por otra parte, la temperatura promueve el entrecruzamiento de los componentes minoritarios de las fibras de algodón, así como también, la formación de derivados de furfural, lactonas y cetonas cíclicas [64]; en los espectros ALG-IR-300°C y ALG-IR-350°C se observan bandas de absorción en 1707 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=O de ácidos) y 1582 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=C de alquenos o grupos aromáticos) que pueden estar relacionadas con la formación de moléculas de furfural y/o lactonas. Existen reportes en los que analizan, mediante FTIR, los cambios en la funcionalidad de los productos sólidos (biochar) generados en la pirólisis de la celulosa. Por ejemplo, Xin *et al.* [60] encontró que la intensidad en la región 3800-2700 cm^{-1} decrece a gradualmente con el incremento de la temperatura y aumenta la intensidad en la región 1800-1500 cm^{-1} a partir de 330°C. Zhang *et al.* [64] encontró que las bandas de la región 3700-2750 cm^{-1} decrecen con el incremento de la temperatura y, a su vez, es más intensa la absorción en la región 1700-1600 cm^{-1} .

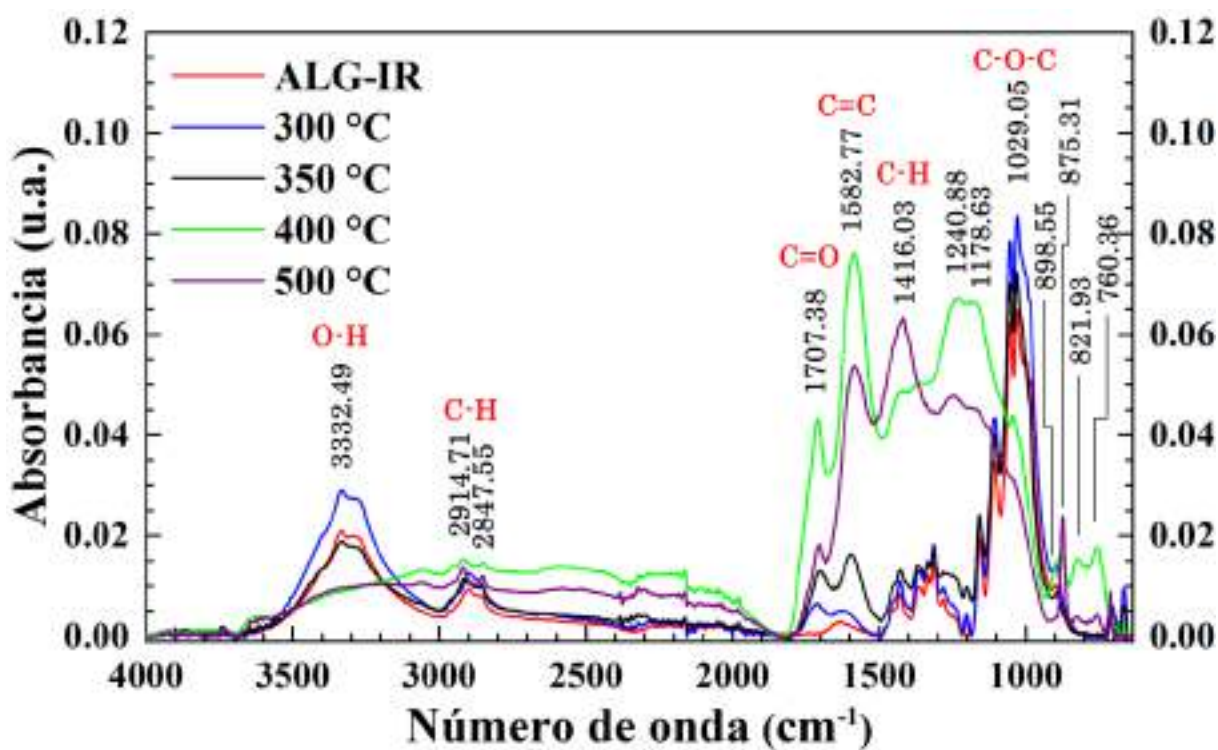


Figura 16. Espectro de infrarrojo de la fibra de algodón y de los remanentes sólidos generados durante el proceso de calentamiento.

Los espectros ALG-IR-400°C y ALG-IR-500°C muestran bandas de adsorción en 1707 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=O de aldehídos o ácidos) y 1582 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=C de alquenos o grupos aromáticos), 1416 cm^{-1} (dobles de los enlaces C-H de etilenos o aromáticos), 1240-1178 cm^{-1} (estiramiento simétrico y asimétrico de los enlaces C-C, C-O y C-H), 821 cm^{-1} (deformación del anillo aromático) y 760 cm^{-1} (dobles fuera del plano del enlace C-H), además, los espectros muestran un borde en el intervalo 3700-1800 cm^{-1} , el cual indica la formación de estructuras poliaromáticas. La muestra de algodón se consume lentamente a partir de los ~380°C debido al agotamiento de la anhidrocelulosa y la formación de estructuras poliaromáticas; en los espectros ALG-IR-400°C y ALG-IR-500°C muestran un

borde en el intervalo $3700\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$, así como también, dos bandas en 1707 cm^{-1} (vibración de los enlaces $\text{C}=\text{O}$ de aldehídos o ácidos) y 1582 cm^{-1} (vibración de los enlaces $\text{C}=\text{C}$ de alquenos o grupos aromáticos), las cuales, pueden estar relacionadas con la formación de cetonas policíclicas.

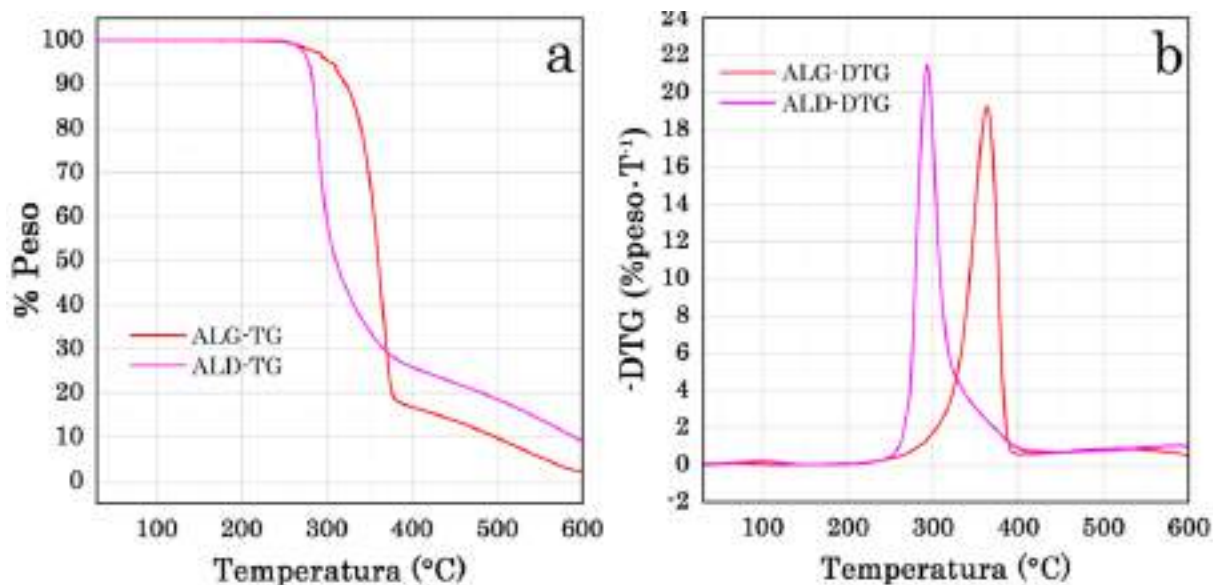


Figura 17. Desempeño termogravimétrico del algodón y el almidón; (a) curvas termogravimétricas y (b) derivada de las curvas termogravimétricas.

La Figura 17 muestra las curvas termogravimétricas del algodón (ALG-TG), almidón (ALD-TG) con sus correspondientes derivadas (ALG-DTG y ALD-DTG). La curva ALD-TG indica que la degradación del almidón comienza a $\sim 214^{\circ}\text{C}$, también, se observa que en el intervalo $250\text{-}350^{\circ}\text{C}$ se consume la mayor parte de la muestra (alrededor del 70%). La curva ALD-DTG muestra un pico a $\sim 293^{\circ}\text{C}$, así como también, una pendiente del lado derecho. Algunos investigadores han estudiado la degradación del almidón utilizando métodos termogravimétricos; Rudnik *et al.* [65] analizó la degradación de diferentes almidones y encontró que la principal degradación ocurre por debajo de los 350°C ; Liu *et al.* [66] encontró que la estabilidad térmica del almidón del maíz decrece con el incremento de la cantidad de amilosa; Lemos *et al.* [67] reportó que el pico DTG corresponde a la degradación de la amilosa, mientras que la pendiente corresponde a la degradación de la amilopectina.

Las curvas ALG-DTG y ALD-DTG muestran un solo pico, sin embargo, el pico de la curva ALD-DTG aparece a mayor temperatura (entre $325\text{-}400^{\circ}\text{C}$); los desplazamientos hacia temperaturas altas denotan mayor resistencia a la degradación. El incremento en la temperatura de degradación puede ser atribuido a los puentes de hidrógeno, así como también, a factores relacionados con la estructura y funcionalidad de las moléculas. Los polisacáridos del algodón y el almidón están compuestos principalmente de unidades de glucosa y en su estructura hay abundancia de grupos hidroxilo ($-\text{OH}$), los cuales forman una red de puentes de hidrogeno que favorece la cohesión de las moléculas y, al mismo tiempo, dificulta la degradación durante el proceso de calentamiento. No obstante, los polisacáridos del algodón son lineales (las unidades poliméricas se encuentran unidas mediante enlaces del tipo $\beta\text{-(1-4)}$ glucosídico) y tienden a empalmarse unos con otros hasta formar una fibra,

mientras que, los polisacáridos del almidón son ramificados (las unidades poliméricas se encuentran unidas mediante enlaces del tipo α -(1-4) glucosídico y enlaces α -(1-6) glucosídico) y tienden a formar estructuras amorfas o gránulos. La atracción de los grupos $-OH$ en la estructura del algodón es mayor debido al empaquetamiento de las moléculas y, por ésta razón, los puentes de hidrogeno son más estables provocando que la muestra de algodón se degrade a mayor temperatura. Entonces, se puede utilizar el perfil termogravimétrico del algodón y el almidón como referencias para evaluar el grado de cristalinidad de una muestra compuesta de polisacáridos; en el caso donde los polisacáridos de una muestra sean cristalinos su perfil termogravimétrico será parecido al del algodón y, además, se producirán derivados de anhidrocelulosa durante el proceso de calentamiento.

Los entrecruzamientos de los polisacáridos y la lignina son otro factor que inhibe la degradación biológica de los materiales lignocelulósicos; los microorganismos no pueden utilizar a los polisacáridos entrecruzados como sustrato debido a la variedad de enlaces y la complejidad de la estructura. La hemicelulosa es un polisacárido heterogéneo compuesto de unidades de glucosa, galactosa, xilosa, arabinosa, manosa y ácidos urónicos, a su vez, las unidades poliméricas forman entrecruzamientos con la lignina mediante enlaces del tipo éter, éster, carbono-carbono, acetil o fenilo y, como resultado, se tiene una estructura compleja y recalcitrante [68].

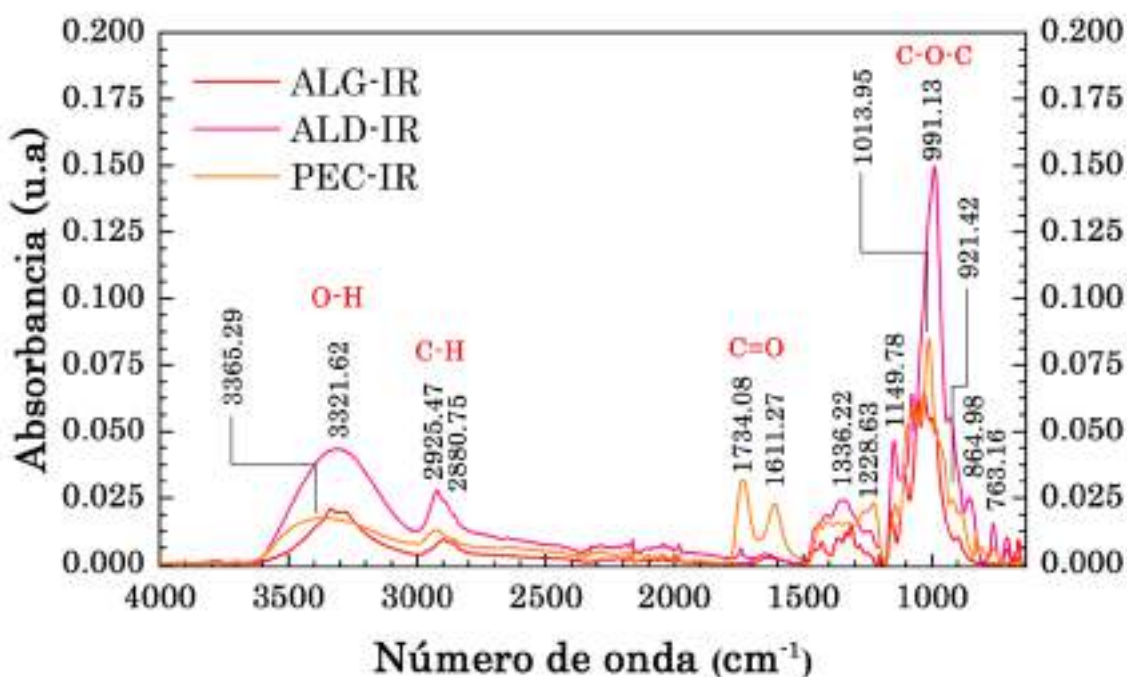


Figura 18. Espectro de infrarrojo de las muestras de algodón (espectro rojo), almidón (espectro rosa) y pectina cítrica (espectro naranja).

La pectina es un polisacárido entrecruzado y su estructura es similar a la hemicelulosa, además es uno de los principales componentes de las cascarras de frutas. La Figura 18 muestra los espectros de infrarrojo del algodón (ALG-IR), almidón (ALD-IR) y pectina cítrica (PEC-IR); el espectro PEC-IR muestra bandas de absorción en los intervalos $3600-3000\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace $O-H$), $3000-2800\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace $C-H$ de metilos y

metilenos), también, en 1734 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=O de aldehído o ésteres), 1611 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=O de ácido o cetonas), múltiples bandas de absorción entre $1500\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C-H, C-C y C-O), bandas de absorción intensas en el intervalo $1200\text{-}950\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C-OH y C-O de los anillos de piranosa, así como también, vibración del enlace C-O-C que corresponde al enlace glucosídico), una banda en 921 cm^{-1} (vibración no simétrica y fuera del plano de los enlaces C-H de los anillos de piranosa) y una banda en 763 cm^{-1} (balanceo fuera del plano de los enlaces C-O-H de ácidos carboxílicos). Las tres muestras (algodón, almidón y pectina) son polisacáridos y sus espectros muestran ciertas coincidencias; en los espectros se observan bandas en los intervalos de $3600\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ y $1200\text{-}800\text{ cm}^{-1}$, las cuales corresponden a la vibraciones de los grupos hidroxilo (-OH) y glucosídico (C-O-C) respectivamente y, además, éstas bandas son características de los polisacáridos. No obstante, en el espectro PEC-IR muestra bandas de absorción en 1734 y 1611 cm^{-1} , las cuales corresponden a las vibraciones de los grupos C=O de las unidades de ácido galacturónico que conforman a la pectina.

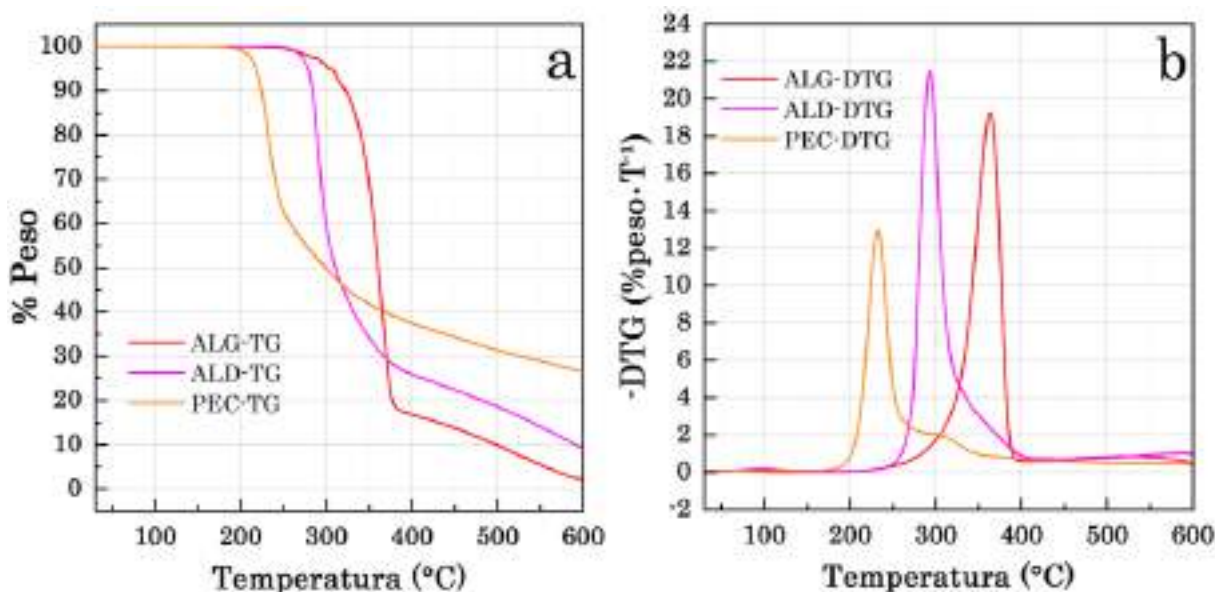


Figura 19. Desempeño termogravimétrico del algodón, almidón y pectina cítrica: (a) curvas termogravimétricas y (b) derivada de las curvas termogravimétricas.

La Figura 19 muestra las curvas termogravimétricas del algodón (ALG-TG), almidón (ALD-TG) y pectina cítrica (PEC-TG) con sus correspondientes derivadas (ALG-DTG, ALD-DTG y PEC-DTG). La curva PEC-TG muestra un decremento en la cantidad de pectina cítrica a partir de los $\sim 187^{\circ}\text{C}$, además, en el intervalo $190\text{-}350^{\circ}\text{C}$ se consume la mayor parte de la muestra (alrededor del 55%) y al final del proceso solo queda el $\sim 26\%$ de la cantidad inicial. La curva PEC-DTG indica que la degradación de la pectina es más intensa en el intervalo $190\text{-}260^{\circ}\text{C}$, también, la curva muestra un pequeño cambio de pendiente en el intervalo $260\text{-}350^{\circ}\text{C}$. Fisher *et al.* [69] reportaron que la pectina comienza a degradarse rápidamente a partir de los 200°C . Einhorn-Stoll *et al.* [70] encontraron que la degradación de la pectina es más intensa en el intervalo $210\text{-}270^{\circ}\text{C}$. Aburto *et al.* [71] analizaron la pirolisis de pectina y encontraron que el proceso de degradación involucra un conjunto de reacciones consecutivas; (i) depolimerización (a partir de 200°C), (ii) degradación de las unidades repetitivas (entre

250-580°C), (iii) directa gasificación de los compuestos orgánicos de alto peso molecular ($T \geq 600^\circ\text{C}$).

Al comparar las curvas termogravimétricas de las tres muestras, se puede observar que la cantidad de pectina disminuye a partir de los $\sim 190^\circ\text{C}$, mientras que la cantidad de almidón y algodón disminuye a mayor temperatura (alrededor de los 250°C). La pectina se degrada a menor temperatura debido a que la atracción de los grupos $-\text{OH}$ es menor y los puentes de hidrógeno se disocian con mayor facilidad; las cadenas poliméricas de la pectina no están empaquetadas (como los polisacáridos del algodón) y, además, están entrelazadas mediante enlaces del tipo éster que dificultan la interacción de los grupos $-\text{OH}$. Einhorn-Stoll *et al.* [72] analizaron el efecto de los grupos funcionales en la degradación de la pectina y encontraron que las pectinas se degradan a mayor temperatura conforme disminuye la cantidad de entrecruzamientos y/o disminuye la cantidad de ácido galacturónico.

Considerando que la pectina es un componente de la biomasa lignocelulósica y que su composición y propiedades termogravimétricas son diferentes al almidón y el algodón, se puede utilizar como referencia al perfil termogravimétrico de los polisacáridos (pectina, almidón y celulosa) para saber si los polisacáridos de una muestra son cristalinos o entrecruzados. Además, se puede inferir la influencia de los entrecruzamientos o la cristalinidad de los polisacáridos en la estructura de los materiales lignocelulósicos si se analiza las zonas de calentamiento y la cantidad de material consumido; si la mayor parte de la muestra se consume en el intervalo $200\text{-}300^\circ\text{C}$ y la cantidad de carbón fijo es $>20\%$ se puede decir que la estructura de la muestra lignocelulósica está conformada por polisacáridos entrecruzados (hemicelulosas o pectinas), mientras que, si la mayor parte de muestra se consume en el intervalo $300\text{-}400^\circ\text{C}$ y la cantidad de carbón fijo es $<20\%$ se puede decir que la estructura de la muestra lignocelulósica está conformada por polisacáridos cristalinos (celulosa).

La lignina es una capa delgada que envuelve a la estructura lignocelulósica, además, es otro factor que inhibe la degradación biológica de los materiales lignocelulósicos; la lignina es un biopolímero compuesto de miles de unidades aromáticas similares al alcohol p-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico, a su vez, actúa como un fungicida natural y evita la degradación de los polisacáridos. Por otra parte, la estructura de la lignina es muy resistente al ataque químico: los enlaces tipo éter, carbono-carbono y éster no son susceptibles a las reacciones de hidrólisis, además, la dislocación de los electrones π en los anillos aromáticos confieren gran estabilidad química a las unidades de fenilpropanol.

La Figura 20 muestra la curva termogravimétrica de la lignina (LIG-TG) y su correspondiente derivada (LIG-DTG). La curva LIG-TG indica que la lignina comienza a degradarse a partir de los $\sim 158^\circ\text{C}$, además, la cantidad de muestra disminuye paulatinamente y al final del proceso de calentamiento solo queda el $\sim 41\%$ de la cantidad inicial. Por otra parte, la curva LIG-DTG indica que la degradación de la lignina es más intensa en el intervalo $150\text{-}450^\circ\text{C}$.

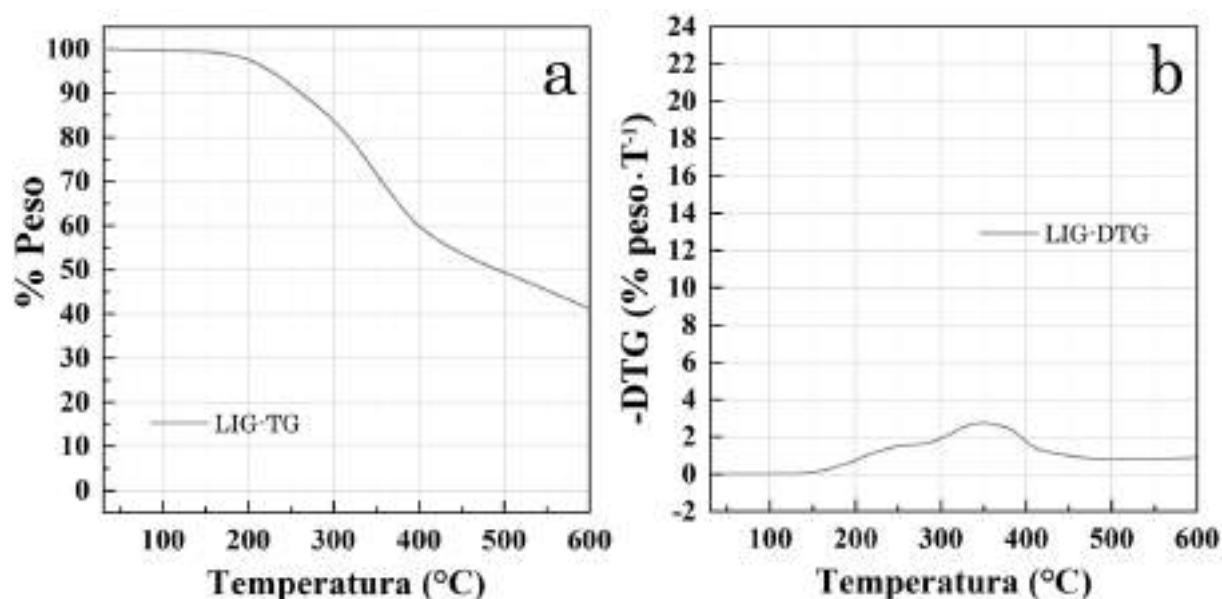


Figura 20. Desempeño termogravimétrico de la lignina: (a) curva termogravimétrica y (b) derivada de la curva termogravimétrica.

La Figura 21 muestra el espectro de infrarrojo de la lignina (LIG-IR) y los compuestos no volátiles generados durante el proceso de calentamiento.

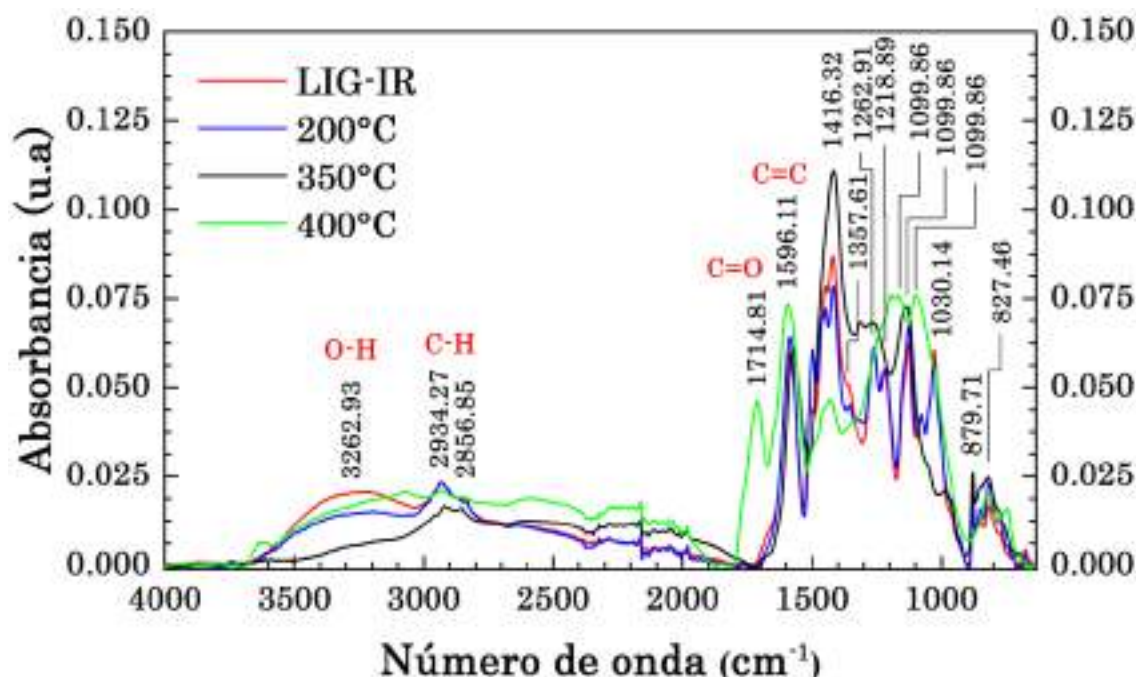


Figura 21. Espectro de infrarrojo de la lignina y de los remanentes solidos generados durante el proceso de calentamiento.

El espectro LIG-IR muestra una banda de adsorción ancha en los intervalos 3600-3000 cm⁻¹ (estiramiento del enlace O-H), 3000-2750 cm⁻¹ (estiramiento del enlace C-H de metilos y metilenos), así como también, una banda en 1596 cm⁻¹ (vibración de los enlaces C=C de alqueno o anillo aromático), 1416 cm⁻¹ (dobles del enlace C-H de etilenos o aromáticos, o bien, dobles del enlace Ar-OH de fenoles), 1357 y 1262 cm⁻¹ (estiramiento simétrico y asimétrico

de grupos aromáticos), múltiples bandas en el intervalo $1250\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C–OH, C–O y C–O–C), 879 cm^{-1} (dobles fuera del plano del enlace Ar–H de grupos aromáticos) y 827 cm^{-1} (balanceo fuera del plano de los enlaces C–H).

Los espectros LIG-IR y LIG-IR- 200°C son similares, únicamente, decrece ligeramente la intensidad en el intervalo $3670\text{--}3010\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O–H); este efecto puede ser atribuido a la remoción de algunas moléculas de agua. En el espectro LIG-IR- 350°C disminuye, aún más, la intensidad de las bandas en el intervalo $3600\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ indicando que el incremento de la temperatura promueve reacciones de deshidratación; en los procesos de deshidratación química se promueve la formación de moléculas de agua a partir de la eliminación de los grupos –OH. Además, en el mismo espectro, se puede observar incremento de la intensidad en 1416 cm^{-1} (dobles del enlace C–H de etilenos o aromáticos, o bien, dobles del enlace Ar–OH de fenoles). A 400°C se ha consumido $\sim 40\%$ de la muestra de lignina, además, comienza a disminuir la intensidad de la devolatilización conforme incrementa la temperatura. El espectro LIG-IR- 400°C se puede observar un ensanchamiento en la región $3700\text{--}1900\text{ cm}^{-1}$, además, aparece una banda de absorción en 1714 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=O de aldehídos o éteres), disminuye la intensidad en 1416 cm^{-1} (dobles del enlace C–H de etilenos o aromáticos, o bien, dobles del enlace Ar–OH de fenoles). En este contexto, el ensanchamiento en la región $3700\text{--}1900\text{ cm}^{-1}$ y las banda de 1596 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=C de alqueno o anillo aromático) denota la formación de estructuras poliaromáticas, mientras que, las bandas de 1714 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=O de aldehídos o éteres) y 1596 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=C de alqueno o anillo aromático) denotan la formación de cetonas policíclicas.

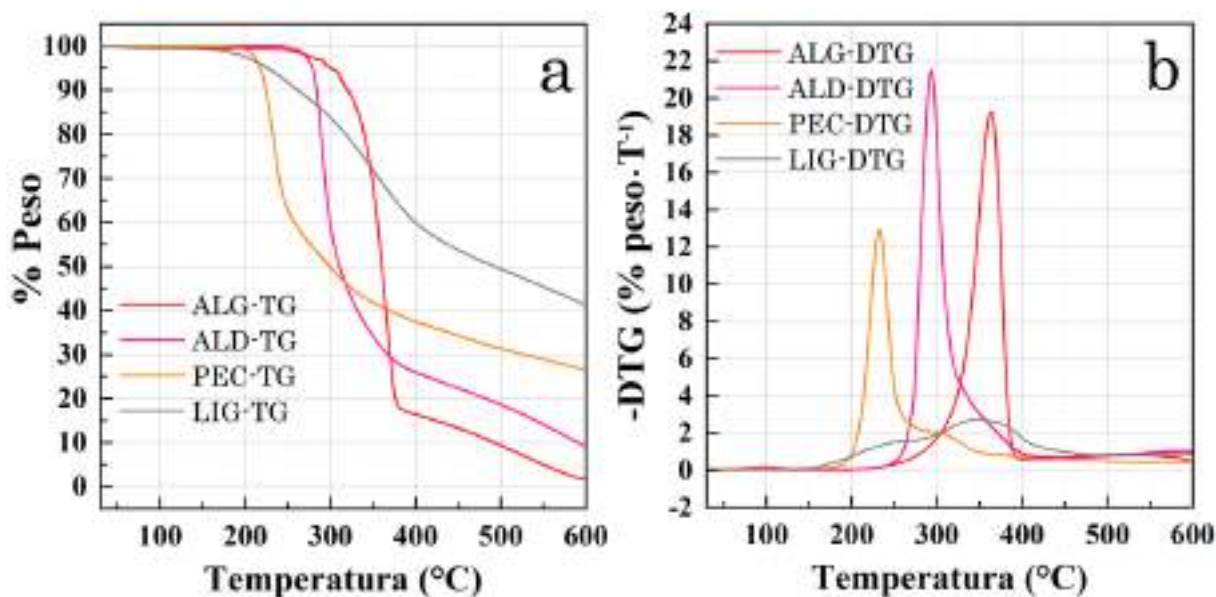


Figura 22. Desempeño termogravimétrico de los materiales de referencia; (a) curva termogravimétrica y (b) derivada de la curva termogravimétrica.

La Figura 22 muestra la curvas termogravimétricas de los polisacáridos (pectina, almidón y algodón) y la lignina, con sus correspondientes derivadas. Así mismo, la Tabla 15 contiene algunos parámetros relacionados con el desempeño termogravimétrico de cada una de las muestras. En cuanto al perfil termogravimétrico de los polisacáridos (pectina, almidón y algodón) destacan las siguientes características:

- Se degradan a una cierta temperatura.
- La mayor parte de la muestra se consume en un estrecho intervalo de temperatura.
- Los compuestos volátiles son el principal producto de la degradación.
- Los polisacáridos cristalinos se degradan a mayor temperatura y producen poca cantidad de residuos (biochar).
- Los polisacáridos ramificados se degradan a menor temperatura y producen más residuos (biochar) si se comparan con los polisacáridos cristalinos.

En cuanto al perfil termogravimétrico de la lignina destacan las siguientes características:

- Se degrada paulatinamente a medida que incrementa la temperatura.
- La mayor parte de la muestra se consume en un amplio intervalo de temperatura.
- Los compuestos no-volátiles son el principal producto de la degradación
- La degradación de la lignina produce compuestos poliaromáticos.

Considerando que en la estructura lignocelulósica los polisacáridos están recubiertos de lignina. Es posible que el desempeño termogravimétrico de los materiales lignocelulósicos con alto grado de lignina sea parecido al de la lignina y, además, la cantidad de carbón fijo sea mayor a la cantidad de compuestos volátiles. También, es posible que durante el proceso de calentamiento se produzcan compuestos poliaromáticos.

Tabla 15. Parámetros termogravimétricos correspondientes las curvas termogravimétricas de los materiales de referencia.

Muestra	Inicio	Pico (1)		Pico (2)		%peso _{600°C}
	T ₀ (°C)	T ₁ (°C)	%peso ₁	T ₂ (°C)	%peso ₂	
ALG	215.75	362.48	45.76			1.94
ALM	214.83	293.16	69.19			9.48
PEC	187.47	232.28	78.16	306.4	48.29	26.03
LIG	158.66	252.03	90.02	352.15	71.12	41.21
T ₀ : Temperatura inicial de descomposición, T _n : temperatura de descomposición en el pico <i>i</i> (<i>i</i> =1,2,3,...), %peso _n : porciento peso en el pico <i>i</i> (<i>i</i> =1,2,3,...), %peso _{600°C} : porciento peso a los 600°C						

La Figura 23 muestra la curva termogravimétrica del olote y su correspondiente derivada. La curva TG-OLT indica que la mayor parte de la muestra (~57%) se degrada en el intervalo 180-340°C y al final del proceso solo queda el ~28% de la cantidad inicial. En la curva DTG-OLT se aprecian al menos dos picos superpuestos en el intervalo 220-340°C. Algunos reportes [58,59] mencionan que los dos picos representan la degradación de la hemicelulosa y la celulosa.

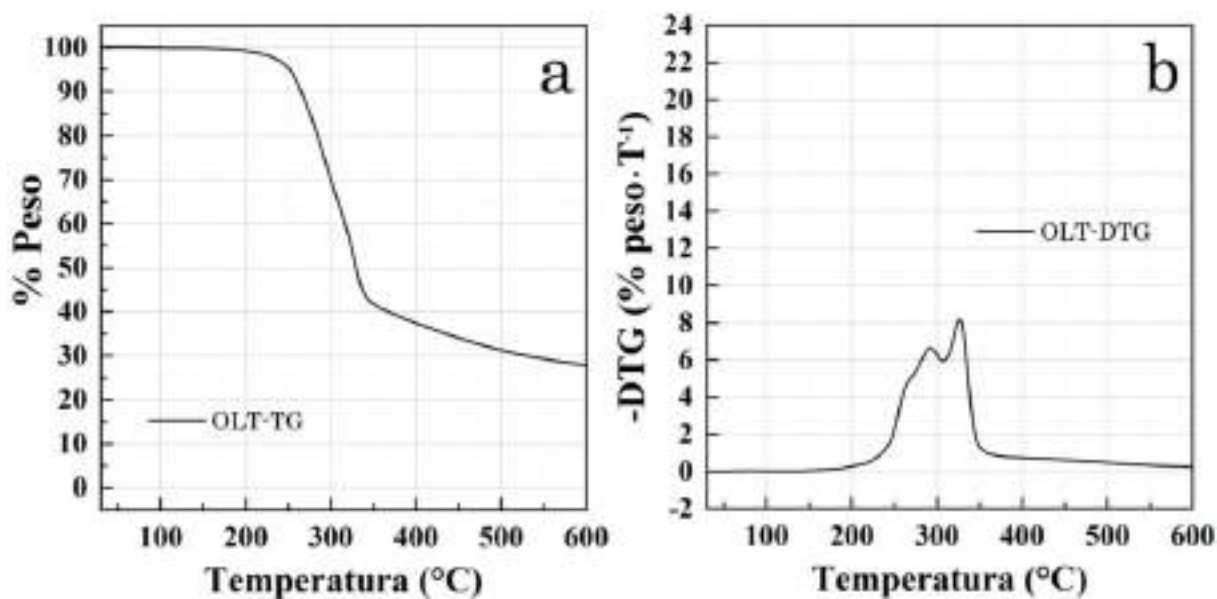


Figura 23. Desempeño termogravimétrico del olote de maíz; (a) curva termogravimétrica y (b) derivada de la curva termogravimétrica.

La Figura 24 muestra el diagrama de componentes principales; los tres componentes (PC1 52.8%, PC2 37.9% y PC3 8.7%) representan el 99.4% de la variación de los datos.

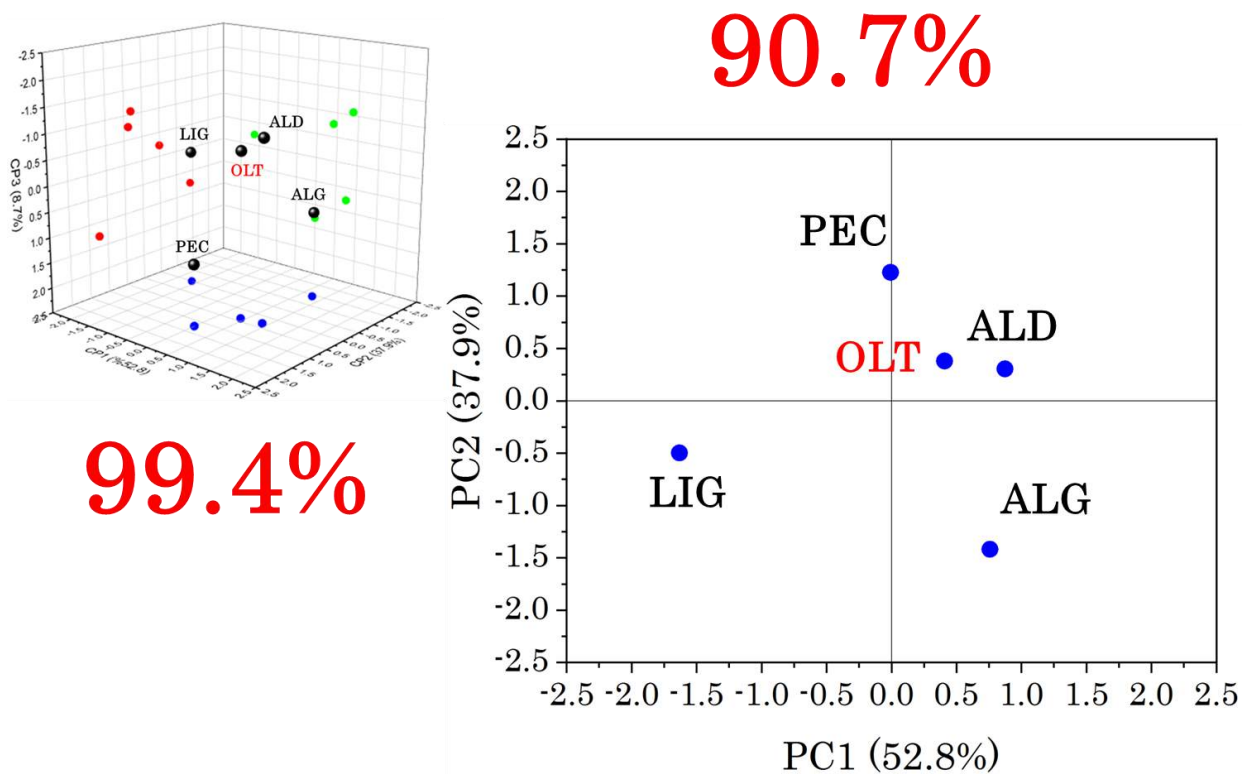


Figura 24. Diagrama de componentes principales

Los puntos en el espacio representan a las curvas termogravimétricas de las muestras analizadas, así mismo, la similitud de las curvas está relacionada con la dispersión de los puntos; si dos o más puntos están cercanos significa que las curvas de esas muestras son similares. Los resultados del análisis de componentes principales (ACP) indican que la curva termogravimétrica del olote es similar a la del almidón, a su vez, esto significa que la recalcitrancia del olote es influenciada por los polisacáridos, también, indica que los polisacáridos del olote son semicristalinos o cristalinos de bajo peso molecular.

La Figura 25 muestra el espectro de infrarrojo del olote (OLT-IR) y los compuestos no volátiles generados durante el proceso de calentamiento. En el espectro OLT-IR se observan bandas de absorción en 3284 cm^{-1} (estiramiento del enlace O-H), $2915\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace C-H de metilos y metilenos), 1732 cm^{-1} (estiramiento del enlace C=O de aldehídos o éster), 1635 cm^{-1} (vibración del enlace N-H de amidas, también, estiramiento del enlace C=O de ácidos o cetonas), 1583 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=C de alquenos o grupos aromáticos), múltiples bandas en el intervalo $1500\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces Ar-H, C-H, C-C y C-OH), una banda intensa en 1032 cm^{-1} (vibración de los enlaces C-O-C de polisacáridos), también, pequeñas bandas en 928 cm^{-1} (deformación de anillo de pirano) y 877 cm^{-1} (dobles fuera del plano del enlace Ar-H de grupos aromáticos).

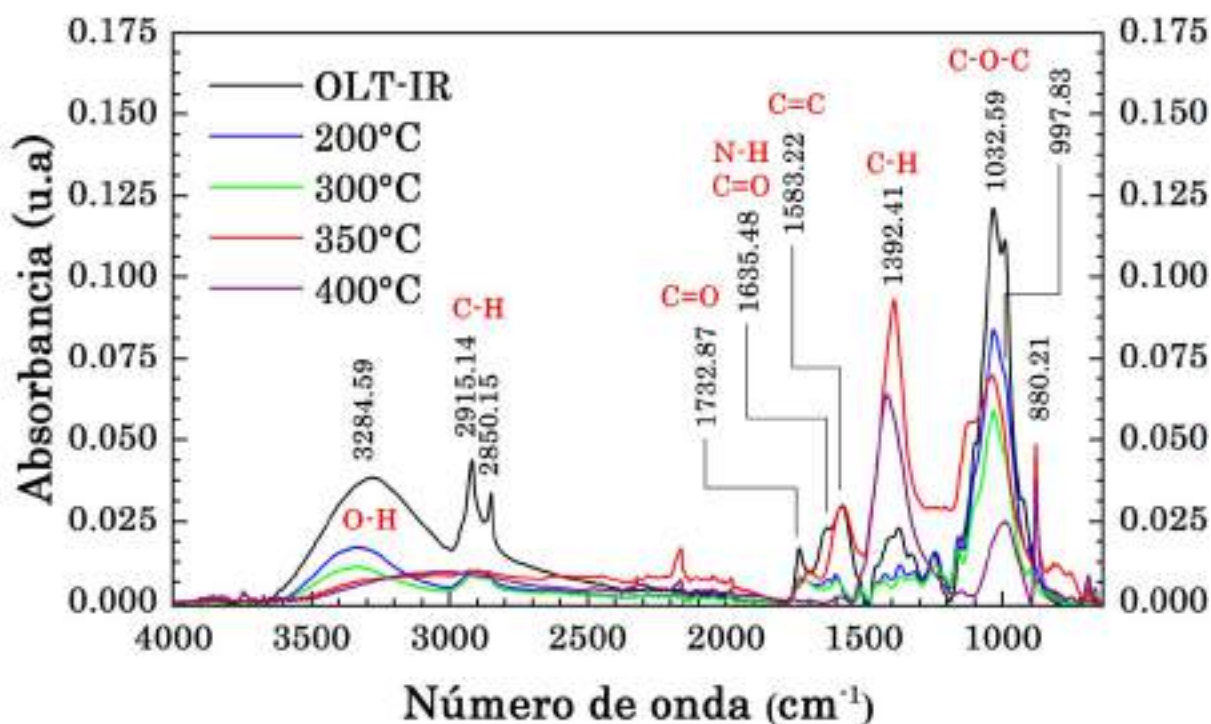


Figura 25. Espectro de infrarrojo del olote de maíz y de los remanentes sólidos generados durante el proceso de calentamiento.

Los espectros OLT-350°C y OLT-400°C los espectros muestran un ensanchamiento en la región $3500\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$, también, sobresalen las bandas de 1583 cm^{-1} (vibración del enlace C=C de alquenos o grupos aromáticos), 1392 cm^{-1} (dobles del enlace C-H de etilenos o aromáticos), 1030 cm^{-1} (estiramiento del enlace C-OH de alcoholes o estiramiento del enlace C-O-C de éter), 880 cm^{-1} (dobles del enlace C-H de grupos aromáticos). El ensanchamiento en la región

3500-1800 cm^{-1} y la banda de 1583 cm^{-1} (vibración del enlace C=C de alquenos o grupos aromáticos) denotan la formación de estructuras poliaromáticas. Por otra parte, En la curva OLT-TG (ver Figura 23) se observa un cambio de pendiente a partir de los 345°C, el cual, denota menor intensidad en los procesos de degradación, a su vez, indica que los compuestos poliaromáticos son más difícil de degradar. Este efecto puede ser atribuido a la presencia de lignina y la cristalinidad de los polisacáridos.

3.3. Tratamientos químicos

La primera etapa del tratamiento químico consiste en colocar al olote en una solución ácida (1.0% H_2SO_4). La Figura 26 muestra la apariencia de la mezcla de reacción al principio y al final del tratamiento ácido. Al principio (ver Figura 26a), la solución tiene una apariencia turbia de color blanco y los fragmentos del olote permanecen en la superficie de la solución. Al final de la reacción, la solución adquiere un color marrón y los compuestos insolubles permanecen en el fondo del matraz.

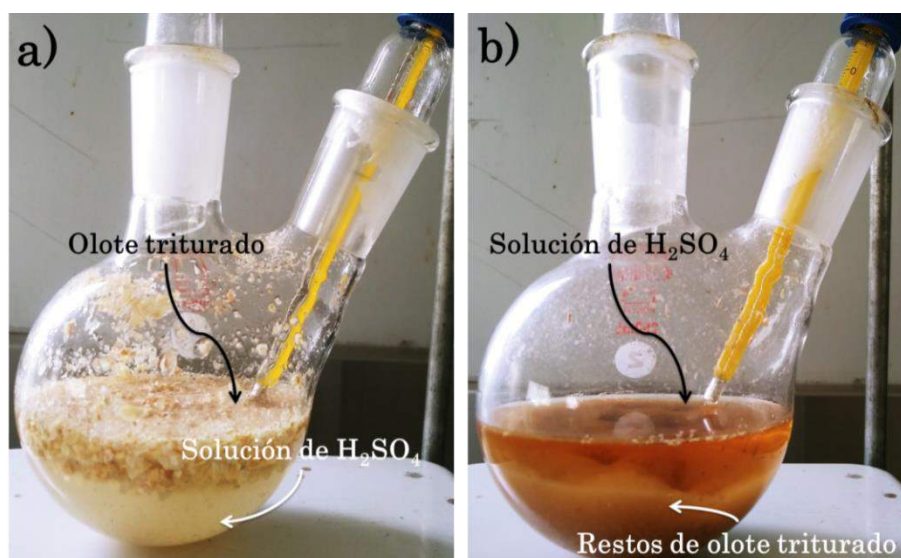


Figura 26. Apariencia de la mezcla de reacción: a) inicio y b) final

La Figura 27 muestra el espectro de IR de la dextrosa y los compuestos solubles generados durante el tratamiento ácido (SOL-AC). El espectro SOL-AC-IR muestra bandas de absorción en los intervalos 3700-3000 cm^{-1} (estiramiento del enlace O-H), 3000-2800 cm^{-1} (estiramiento del enlace C-H de metilos y metilenos), también, una banda en 1721 cm^{-1} (estiramiento del enlace C=O de aldehídos o ésteres) y 1640 cm^{-1} (estiramiento del enlace C=O de ácidos o cetonas), múltiples bandas de absorción entre 1500-1190 cm^{-1} (vibración de los enlaces C-H, C-C y C-O), bandas de absorción intensas en el intervalo 1200-900 cm^{-1} (vibración de los enlaces C-OH y C-O-C), además, una banda en 897 cm^{-1} (vibración no simétrica y fuera del plano de los enlaces C-H de los anillos de piranosa) y 763 cm^{-1} (balanceo fuera del plano de los enlaces O-H).

Es muy probable que los SOL-AC sean derivados de polisacáridos; las condiciones acidas hidrolizan a los polisacáridos y producen monosacáridos, disacáridos u oligosacáridos, así

como también, algunos derivados de hidroximetilfurfural (HMF). Se puede comprar el espectro de IR de los SOL-AC y la dextrosa para identificar a los monosacáridos; si la similitud de ambos espectros es considerable significa que los SOL-AC están compuestos de monosacáridos. Los espectros muestran coincidencias en los intervalos $3700\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O-H) y $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C-OH y C-O-C). Sin embargo, el espectro SOL-AC-IR muestra bandas de absorción en 1721 cm^{-1} (estiramiento del enlace C=O de aldehídos o ésteres) y 1640 cm^{-1} (estiramiento del enlace C=O de ácidos o cetonas), las cuales pueden ser atribuídas a la formación de algún derivado de ácido galacturónico o HMF.

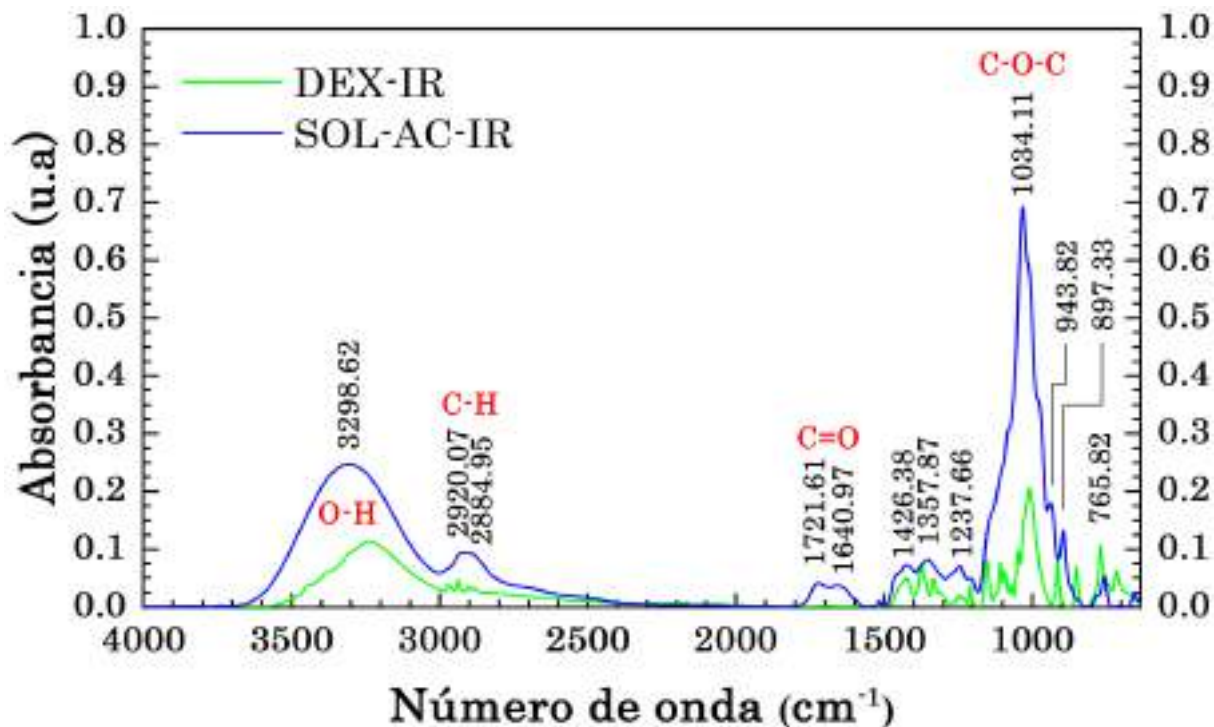


Figura 27. Espectro de infrarrojo de la dextrosa y los compuestos solubles generados durante el tratamiento ácido.

La Figura 28 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de protón de los compuestos solubles generados durante el tratamiento ácido ($\text{H}^1\text{-RMN-SOL-AC}$). El espectro muestra señales de protones ligados a carbonos secundarios (f, g, i, j, m, n, t, u) y terciarios (a, b, c, d, e, h, k, l, o, p, q, r, s), también, muestra protones adyacentes a enlaces glucosídicos (n, o), protones ligados a alcoholes primarios (f, g, i, j, m, n, t, u), además, muestra protones ligados a anillos de piranosa (a, b, c, d, e, o, p, q, r, s) y furanosa (h, i, j, k, l). Por otra parte, la Figura 28 muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono de los compuestos solubles generados durante el tratamiento ácido ($\text{C}^{13}\text{-RMN-SOL-AC}$). El espectro muestra señales de carbonos secundarios (f, h, l, r), terciarios (a, b, c, d, e, g, i, j, m, n, o, p, q) y cuaternarios (k), también, muestra carbonos de enlaces glucosídicos (k, m), carbonos de alcoholes primarios (f, h, l, r) y secundarios (a, b, c, d, i, j, n, o, p), además, muestra carbonos ligados a anillos de piranosa (a, b, c, d, e, m, n, o, p, q) y furanosa (g, h, i, j, k).

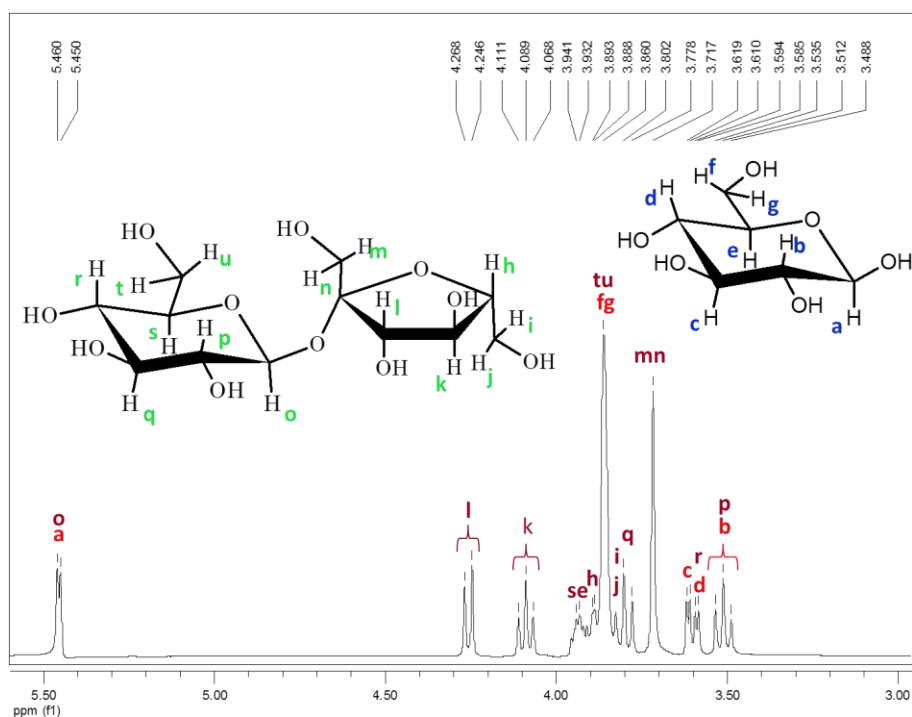


Figura 28. Espectro de resonancia magnética nuclear de protón de los compuestos solubles generados durante el tratamiento ácido.

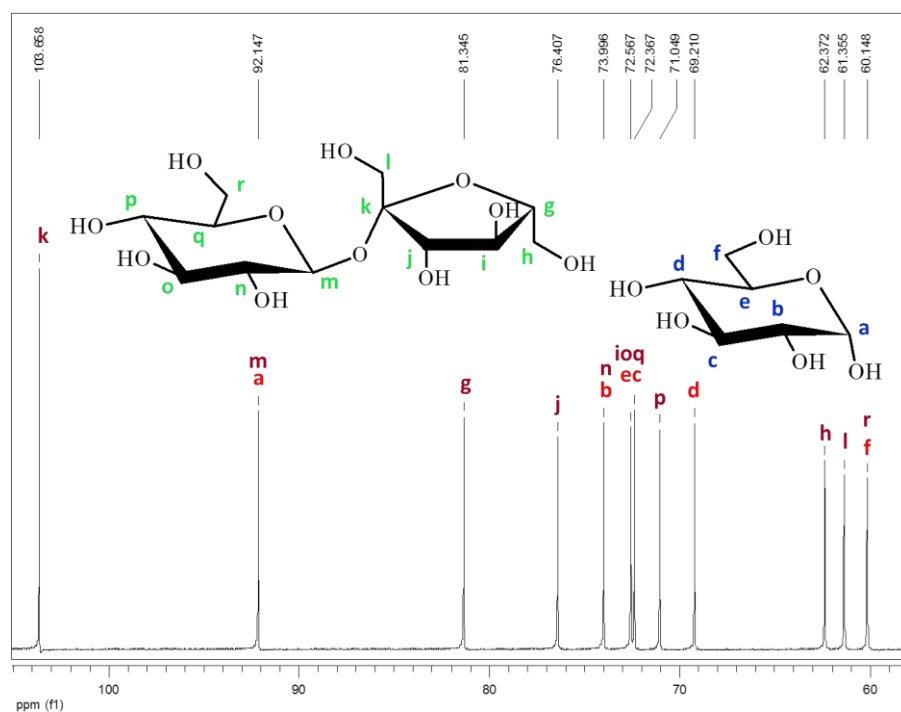


Figura 29. Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono de los compuestos solubles generados durante el tratamiento ácido.

Los resultados del análisis de RMN confirman la formación de derivados de hexosa y pentosa, así como también, la formación de oligosacáridos durante el tratamiento ácido, de modo que son consistentes con los resultados del análisis de IR; en los espectros de RMN indican la presencia de estructuras conformadas de anillos de piranosa y furanosa.

La prueba de Fehling es una prueba colorimétrica que sirve para identificar la presencia de azúcares reductores y es positiva si se la solución adquiere un color naranja. En la Figura 30 muestra el resultado de la prueba de Fehling aplicada la dextrosa y los SOL-AC. Se puede apreciar que la solución de los tubos preparados con las muestras (dextrosa y SOL-AC) se vuelven de color naranja y, por lo tanto, es muy probable que los SOL-AC sean una mezcla de monosacáridos u oligosacáridos.

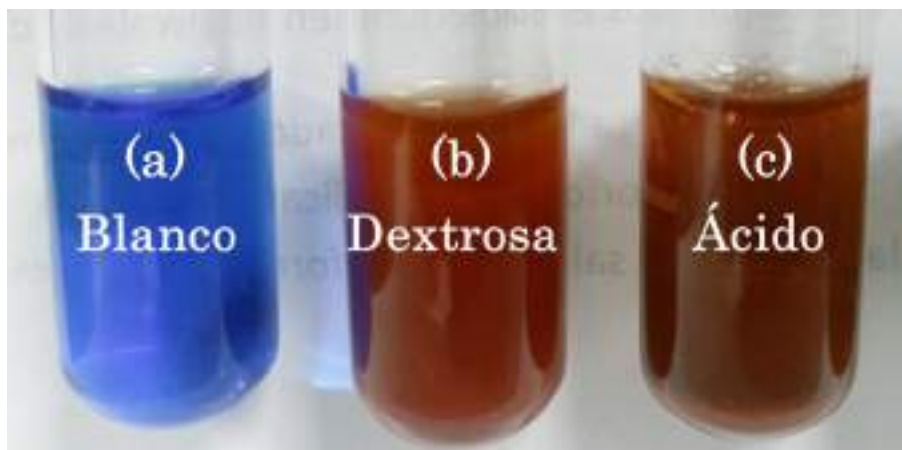


Figura 30. Resultados de la prueba de Fehling; (a) referencia, (b) Dextrosa y (c) SOL-AC.

La Figura 31 muestra el espectro de IR del olote (OLT-IR) y los compuestos insolubles generados durante el tratamiento ácido (NOSOL-AC-IR).

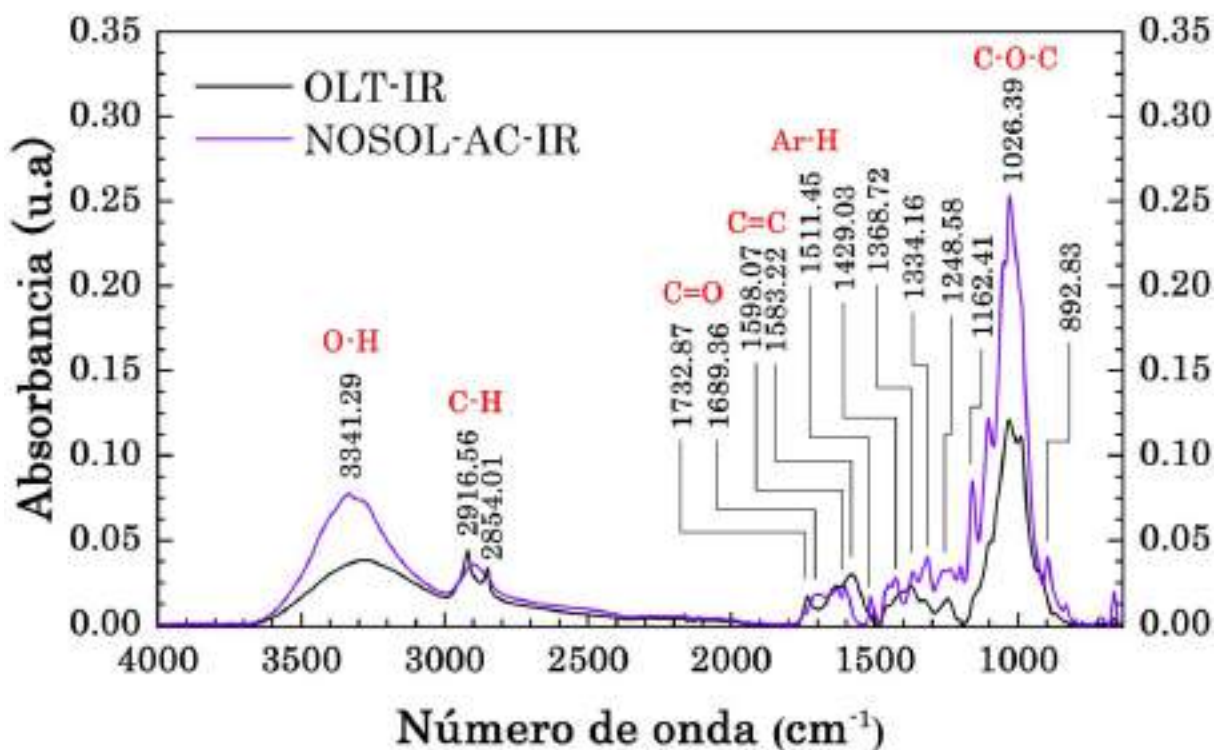


Figura 31. Espectro de infrarrojo del olote y de los compuestos insolubles generados durante el tratamiento ácido.

En el espectro NOSOL-OLT-IR se observan bandas de absorción en los intervalos 3600-3000 cm^{-1} (estiramiento del enlace O-H), 3000-2800 cm^{-1} (estiramiento del enlace C-H de metilos y metilenos), así como también, una banda en 1689 cm^{-1} (estiramiento del enlace C=O de aldehídos o éster), 1598 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=C de alquenos o grupos aromáticos), 1511 cm^{-1} (estiramiento simétrico de los enlaces Ar-H de grupos aromáticos), múltiples bandas en el intervalo 1500-1200 cm^{-1} (vibración de los enlaces, C-H, C-C y C-OH), una banda intensa en 1026 cm^{-1} (vibración de los enlaces C-O-C de polisacáridos), también, pequeñas bandas en 892 cm^{-1} (dobles fuera del plano del enlace Ar-H de grupos aromáticos) y 831 cm^{-1} (balanceo fuera del plano de los enlaces C-O-H de ácidos carboxílicos). Al comparar los espectros NOSOL-AC-IR y OLT-IR se puede observar que las diferencias son mínimas, aunque, es mayor la absorbancia en el espectro NOSOL-AC-IR. Los resultados indican que la solución ácida disuelve algunos componentes del olote (principalmente a los polisacáridos entrecruzados) pero no modifica la funcionalidad de los demás componentes del olote.

La Figura 32 muestra las curvas termogravimétricas del olote y los NOSOL-AC con sus correspondientes derivadas.

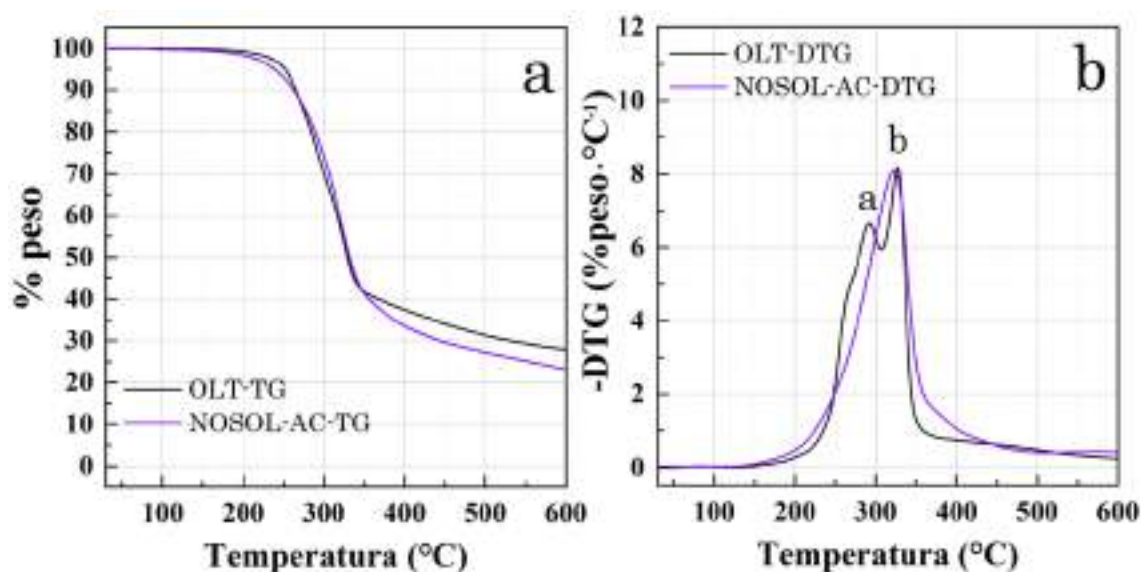


Figura 32. Desempeño termogravimétrico del olote y los compuestos insolubles generados durante el tratamiento ácido (NOSOL-AC); (a) curvas termogravimétricas y (b) derivada de la curva termogravimétrica.

La curva NOSOL-AC-TG indica que la mayor parte de la muestra se consume en el intervalo 200-400°C y al final del proceso solo se consume el ~76% de la cantidad inicial. El desempeño termogravimétrico de los NOSOL-AC y la muestra de olote es similar, sin embargo, la muestra NOSOL-AC se degrada a menor temperatura (~183°C) y, además, produce menor cantidad de residuos (biochar). Por otra parte, la curva NOSOL-AC-DTG muestra un solo pico en ~321°C. Al comparar las curvas OLT-DTG y NOSOL-AC-DTG se aprecia una diferencia en el intervalo 250-310°C; en la curva NOSOL-AC-DTG no existe el pico “a” de la curva OLT-DTG. Además, el valor máximo de la curva NOSOL-AC-DTG coincide con el pico “b” de la curva OLT-DTG. Durante el tratamiento ácido se disolvieron, los polisacáridos entrecruzados del olote y, como resultado, los NOSOL-AC se degradan a menor temperatura

(~183°C) y en la curva NOSOL-AC-DTG aparece solamente un pico, esto significa que el pico “a” de la curva OLT-DTG representa a los polisacáridos entrecruzados del olote.

En la segunda etapa del tratamiento químico se colocaron los NOSOL-AC en una solución alcalina (0.1% NaOH). La Figura 33 muestra la apariencia de la mezcla de reacción al inicio y al final de la reacción. Al principio (ver Figura 33a), la solución tiene una apariencia oscura. Al final (ver Figura 33b), la solución sigue de color oscuro pero en la parte superior del matraz se acumulan pequeñas partículas de color blanco.

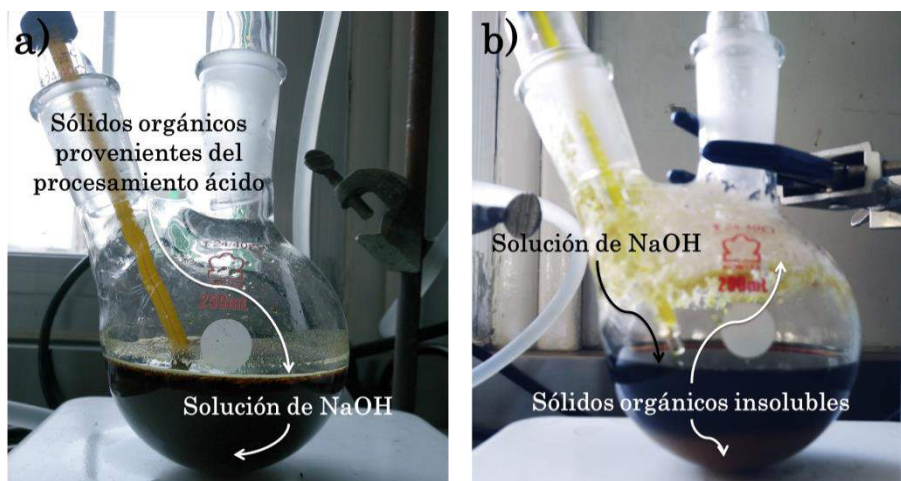


Figura 33. Apariencia de la mezcla de reacción: a) inicio y b) final

La Figura 34 muestra el espectro de IR de la lignina (LIG-IR) y los compuestos solubles generados durante el tratamiento alcalino (SOL-ALC). El espectro SOL-ALC-IR muestra una banda de adsorción ancha en los intervalos $3600-3000\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O-H), así como también, dos bandas de absorción en el intervalo $3000-2800\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace C-H de metilos y metilenos), también, una banda en 1579 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=C de alqueno o anillo aromático), 1497 cm^{-1} (dobles del enlace C-H de etilenos o aromáticos, o bien, dobles del enlace Ar-OH de fenoles), 1357 y 1239 cm^{-1} (estiramiento simétrico y asimétrico del enlace Ar-H grupos aromáticos), múltiples bandas en el intervalo $1250-900\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C-OH, C-O y C-O-C) y una banda en 828 cm^{-1} (balanceo fuera del plano de los enlaces C-H). La lignina es un biopolímero compuesto de miles de unidades aromáticas similares al alcohol p-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico, además, es muy soluble en soluciones alcalinas; los grupos fenólicos interactúan con los cationes favoreciendo la disolución de la lignina en solventes polares. El espectro SOL-ALC-IR y LIG-IR son similares y, además, ambas muestras se disuelven en soluciones alcalinas. Entonces, es posible que los SOL-ALC sean derivados de la lignina contenida en el olote.

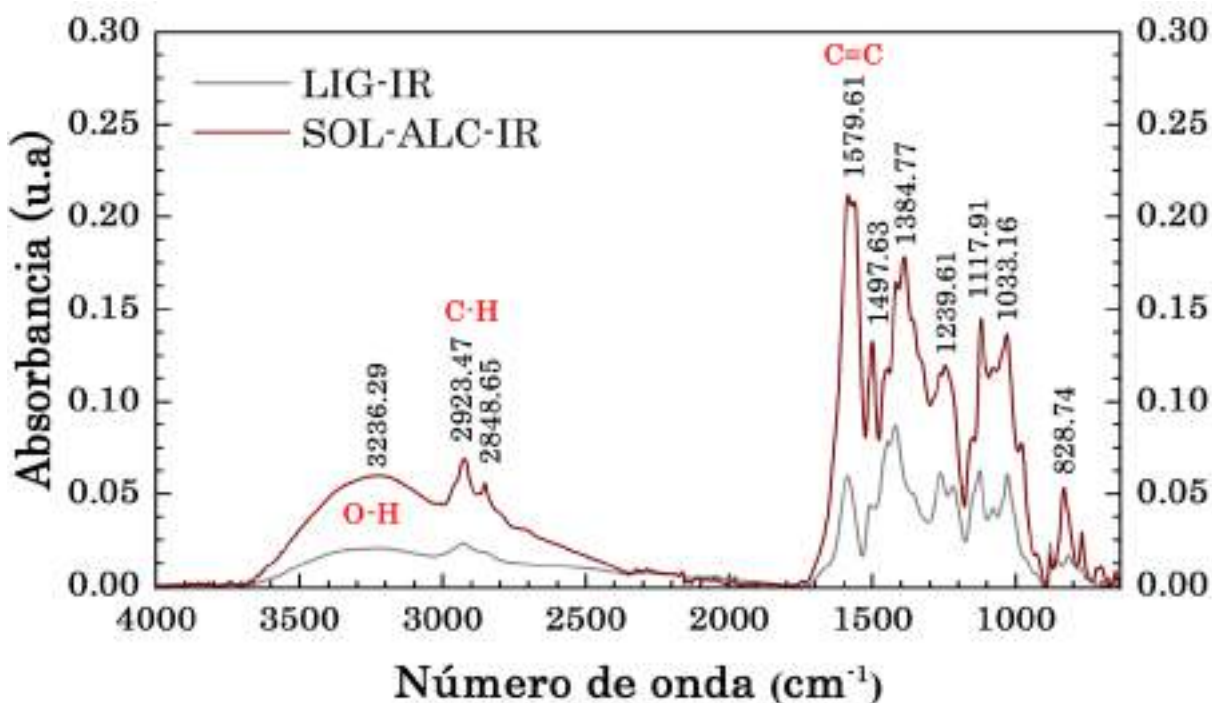


Figura 34. Espectro de infrarrojo de la lignina y los compuestos solubles generados durante el tratamiento alcalino.

Se realizó la prueba de Fehling a los SOL-ALC para comprobar la presencia de azúcares reductores. En la Figura 35 muestra el resultado de la prueba de Fehling aplicada la dextrosa, los SOL-AC y los SOL-ALC. Se puede observar que el tubo preparado con los NOSOL-ALC adquiere una tonalidad verde, por lo tanto, el resultado de la prueba fue negativa y significa que en los SOL-ALC no hay presencia de azúcares reductores; la prueba solo es positiva si la solución adquiere un color naranja.

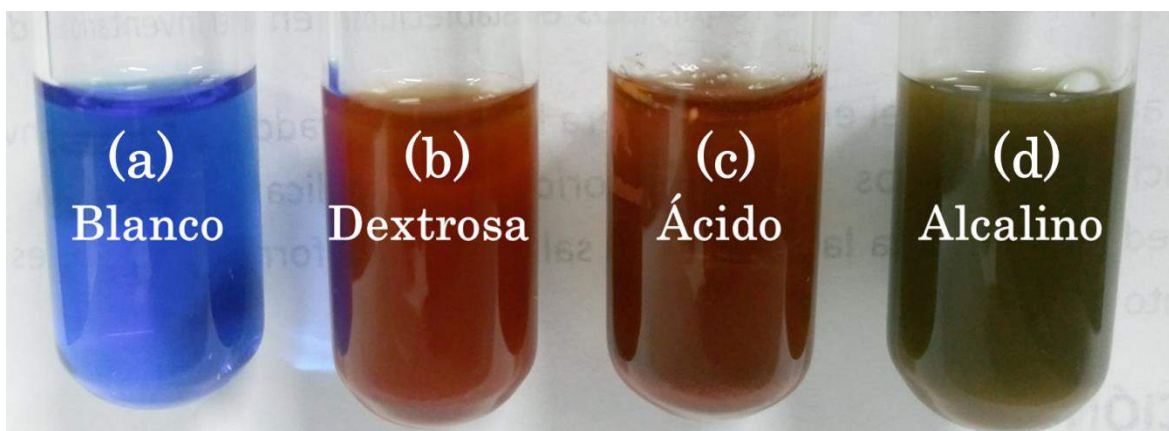


Figura 35. Resultados de la prueba de Fehling; (a) referencia, (b) Dextrosa, (c) SOL-AC y (d) SOL-ALC

La Figura 36 muestra el espectro del olote (OLT-IR) y los compuestos insolubles generados durante el tratamiento alcalino (NOSOL-ALC), así como también, el espectro de la fibra de algodón (ALG-IR). El espectro NOSOL-ALC-IR muestra bandas de adsorción en los intervalos $3600-3000\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O-H), $3000-2800\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace C-H de metilos y metilenos), también, múltiples bandas de absorción entre $1500-1190\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C-H, C-C y C-OH), bandas de absorción intensas en el intervalo $1200-950\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C-OH, C-O y C-O-C) y una banda en 893 cm^{-1} (vibración no simétrica y fuera del plano de los enlaces C-H).

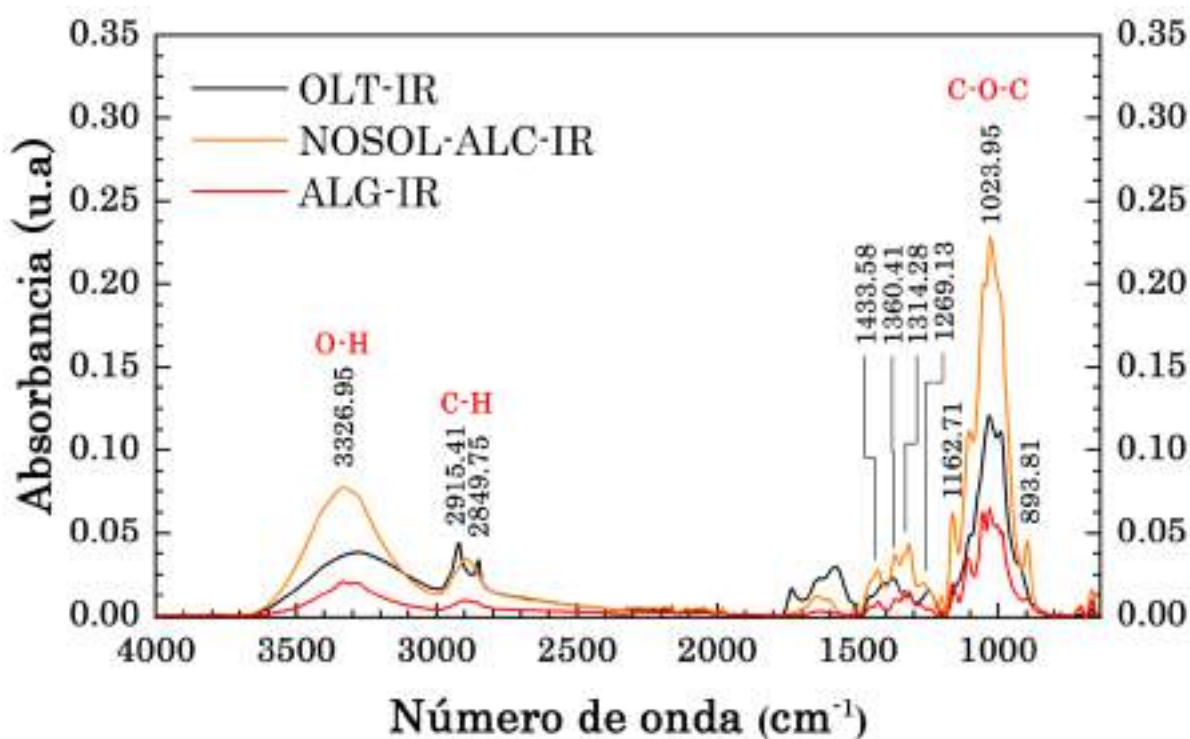


Figura 36. Espectro de infrarrojo del olote, los compuestos insolubles generados durante el tratamiento alcalino (NOSOL-ALC) y la fibra de algodón.

Durante el tratamiento ácido se disolvieron los polisacáridos entrecruzados del olote y en los remanentes sólidos (NOSOL-AC) quedaron los restos de lignina y celulosa. Posteriormente, los NOSOL-AC fueron sometidos a un tratamiento alcalino y, como resultado, se disolvió la lignina del olote. Al comparar los espectros NOSOL-AC-IR y NOSOL-ALC-IR se puede observar que el espectro NOSOL-ALC-IR desaparecieron algunas bandas de la región $1800-1500\text{ cm}^{-1}$; en el espectro NOSOL-ALC-IR no aparecen las bandas de 1583 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=C de alquenos o grupos aromáticos) que corresponden a la vibración de los grupos aromáticos de la lignina. Entonces, las bandas de absorción del espectro NOSOL-ALC-IR corresponden a las vibraciones de los grupos funcionales que conforman a la celulosa del olote.

La Figura 37 muestra las curvas termogravimétricas de la muestra de olote, NOSOL-AC y NOSOL-ALC con sus correspondientes derivadas. Así mismo, la Tabla 16 contiene algunos parámetros relacionados con el desempeño termogravimétrico de cada una de las muestras.

Tabla 16. Parámetros termogravimétricos correspondientes las curvas termogravimétricas del olote y sus derivados solidos del olote generados durante el tratamiento químico.

Muestra	Inicio	Pico (1)		Pico (2)		%peso _{600°C}
	T ₀ (°C)	T ₁ (°C)	%peso ₁	T ₂ (°C)	%peso ₂	
OLT	166.86	291.28	73.47	326.31	52.82	28.08
NOSOL-AC	183.91	321.15	57.19			23.12
NOSOL-ALC	219.79	355.21	57.61			14.03

T₀: Temperatura inicial de descomposición, T_n: temperatura de descomposición en el pico *i* (*i*=1,2,3,...), %peso_n: porciento peso en el pico *i* (*i*=1,2,3,...), %peso_{600°C}: porciento peso a los 600°C

La curva NOSOL-ALC-TG indica que la mayor parte de la muestra se consume en el intervalo 215-380°C y al final del proceso solo se consume el ~86% de la cantidad inicial. Por otra parte, la curva NOSOL-ALC-DTG muestra un solo pico en ~355°C.

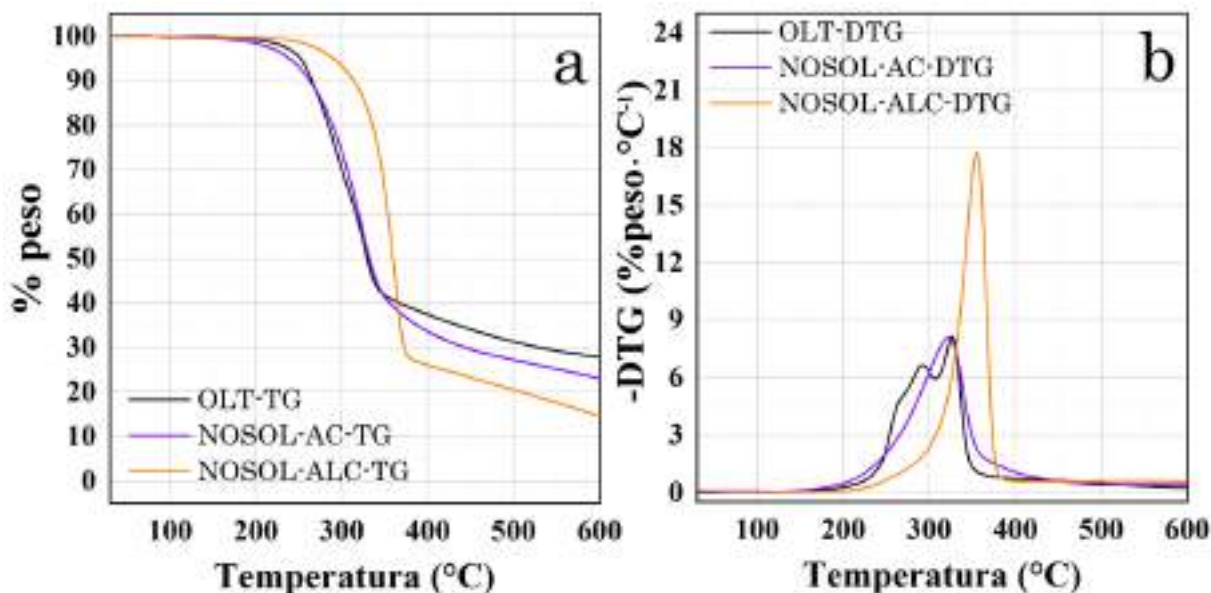


Figura 37. Desempeño termogravimétrico del olote y los compuestos insolubles generados durante el tratamiento ácido (NOSOL-AC) y alcalino (NOSOL-ALC); (a) curvas termogravimétricas y (b) derivada de la curva termogravimétrica.

Durante el tratamiento ácido se disolvieron los polisacáridos entrecruzados del olote en los remanentes solidos (NOSOL-AC) quedaron los restos de lignina y celulosa. La curva NOSOL-ALC-DTG muestra un solo pico en ~355°C. Al comparar las curvas OLT-DTG y NOSOL-AC-DTG se observa una pequeña diferencia en el intervalo 250-310°C y, a su vez, indica que los polisacáridos entrecruzados del olote se degradan a bajas temperaturas. Posteriormente, los NOSOL-AC fueron sometidos a un tratamiento alcalino y, como resultado, se disolvió la lignina y se obtuvieron moléculas de celulosa. Al comprar la curva NOSOL-ALC-TG con las demás curvas termogravimétricas (OLT-TG y NOSOL-AC-TG), se observa que los NOSOL-ALC se degradan a mayor temperatura (a partir de los ~219°C) y producen menor cantidad de residuos (biochar). Por otra parte, las curvas NOSOL-AC-DTG y NOSOL-ALC-DTG

muestran un solo pico en $\sim 325^{\circ}\text{C}$ y $\sim 357^{\circ}\text{C}$ respectivamente. No obstante, el pico de la curva NOSOL-ALC-DTG aparece es más alto y aparece a mayor temperatura; el incremento en la altura denota mayor intensidad en los procesos de degradación, mientras que los desplazamientos hacia mayor temperatura denotan mayor resistencia a la degradación térmica.

La Figura 38 muestra, en forma de esquema, la secuencia de los tratamientos químicos, así como también, la cantidad de materia disuelta y recuperada en cada una de las etapas; la cantidad de material disuelto y recuperado corresponde a 10 gr de olote. En el tratamiento ácido se recuperaron 4.84 gr de material insoluble, por lo tanto, se disolvieron 5.16 gr de olote triturado. Por otra parte, en el tratamiento alcalino se recuperaron 3.51 gr de material insoluble, por lo tanto, se disolvieron 1.13 gr del material insoluble generado en el tratamiento ácido. Los resultados indican que en el tratamiento ácido se disuelven más componentes del olote y, además, corresponden a los polisacáridos.

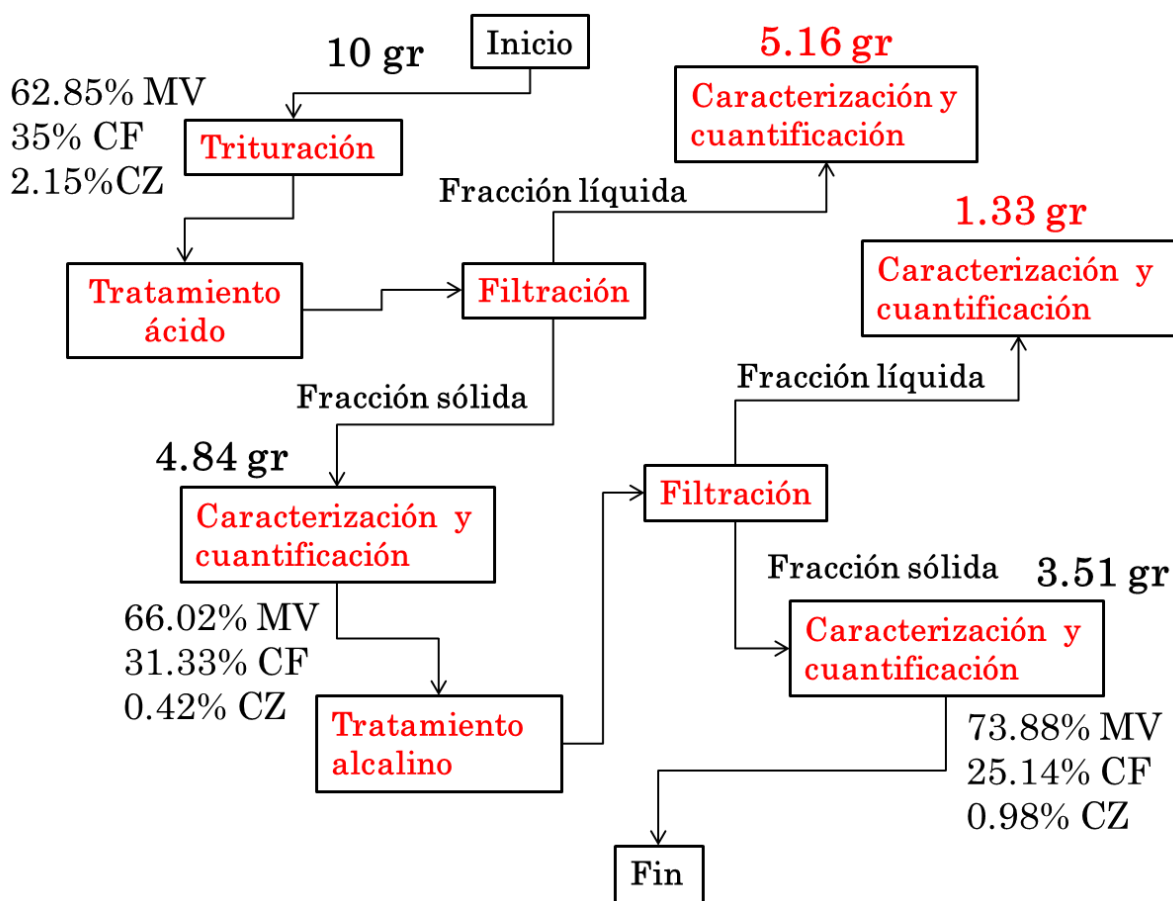


Figura 38. Representación esquemática del tratamiento químico y la cantidad de material recuperado en cada una de las etapas.

Adicionalmente, a cada una de las fracciones insolubles se les realizó un análisis proximal para observar el efecto de los tratamientos químicos en la volatilidad de la materia orgánica del olote. Al principio, el $\sim 63\%$ de la cantidad de olote se convierte en materia volátil (p. ej. CO , CO_2 , N_2 y H_2O) y, después del tratamiento ácido, el $\sim 66\%$ de la cantidad de residuos orgánicos del tratamiento ácido (NOSOL-AC) se convierten en materia volátil. Es posible que

los polisacáridos entrecruzados no permitieran la volatilización de los demás componentes olote y, por ésta razón, la MV del olote es menor a la de los NOSOL-AC; los polisacáridos entrecruzados tienen la característica de degradarse a bajas temperaturas, mas sin embargo, tienden a formar más entrecruzamientos durante los procesos de calentamiento impidiendo así la devolatilización de los demás componentes del olote. Por otra parte, el ~74% de la cantidad de residuos orgánicos del tratamiento alcalino (NOSOL-ALC) se convierten en materia volátil. Los resultados indican que los NOSOL-ALC producen mayor cantidad de materia volátil si se comparan con los NOSOL-AC y es debido a que los NOSOL-ALC están compuestos de moléculas de celulosa.

3.4. Desarrollo de biocombustibles y/o productos de valor agregado

Los biocombustibles o biocarburantes son sustancias orgánicas de origen vegetal o animal que tienen las propiedades de un combustible y que, además, pueden ser utilizados como aditivos o sustitutos de los combustibles fósiles. La mayoría de los biocombustibles se producen a partir de los carbohidratos o los lípidos contenidos en la biomasa y se sintetizan mediante procesos termoquímicos, físico-químicos o bioquímicos. En los procesos bioquímicos se utilizan a los componentes de la biomasa como sustrato para promover el crecimiento de microorganismos y, a su vez, producir indirectamente algún tipo de biocombustible. Por ejemplo, la fermentación alcohólica es un proceso bioquímico anaerobio mediante el cual las levaduras, mohos y algunos tipos de bacterias utilizan a los carbohidratos como sustrato para reproducirse y, al mismo tiempo, se produce etanol y CO₂ como resultado de las reacciones metabólicas; el etanol es un biocombustible que puede ser utilizado como aditivo o sustituto de la gasolina en los motores de combustión interna.

Los carbohidratos (fructuosa, sacarosa, almidones, pectinas, hemicelulosas o celulosa) son el principal componente de la biomasa vegetal y, además, representan una de las fuentes más abundantes y renovables para la producción de biocombustibles. Sin embargo, los carbohidratos siempre se encuentran mezclados con otras moléculas o forman enlaces con otros componentes de la biomasa y, a su vez, esto dificulta la transformación de los carbohidratos en biocombustible. En la práctica, los componentes de la biomasa son separados mediante tratamientos mecánicos, químicos y/o bioquímicos. En los tratamientos químicos se utilizan ácidos, álcalis, peróxido, líquidos iónicos, ozono o solventes orgánicos. No obstante, los tratamientos con ácido diluido son uno de los métodos más utilizados y estudiados. Por otra parte, los tratamientos ácidos disuelven a los carbohidratos y, como resultado, se producen azúcares (hexosas o pentosas), disacáridos u oligosacáridos, así como también, algunos derivados de hidroximetilfurfural (HMF). Además, los productos generados en el tratamiento ácido pueden ser utilizados como sustrato en las fermentaciones alcohólicas. En este contexto, se pueden utilizar a los derivados del olote que fueron generados durante el tratamiento ácido (es decir, los SOL-AC) para producir etanol.

La Figura 39 muestra la apariencia de los biorreactores preparados con derivados de olote de maíz; el sustrato colocado en los biorreactores proviene del tratamiento ácido del olote de maíz. La solución del biorreactor referencia permaneció todo el tiempo transparente, mientras que la solución de los biorreactores preparados (con SOL-AC) se volvía turbia conforme transcurría

el tiempo. La turbidez puede estar relacionada con el crecimiento de los microorganismos; las levaduras utilizan a los carbohidratos como sustrato y comienzan a reproducirse formando aglomerados o biopelículas en las paredes de los recipientes y, a su vez, incrementan la turbidez de la solución.

El gráfico de la Figura 38 muestra la variación de la absorbancia. La absorbancia está relacionada con el incremento en la turbidez y la reproducción de la levadura; el incremento en la absorbancia denota mayor turbidez y, a su vez, significa que aumenta la cantidad de microorganismos. Se puede observar que la absorbancia incrementa conforme transcurre el tiempo, también, significa que los SOL-AC promueven el crecimiento de las levaduras y, por lo tanto, es muy probable que se pueda producir etanol a partir de los productos generados en el tratamiento ácido.



Figura 39. Biorreactores inoculados con levadura (*saccharomyces cerevisiae*); bioreactor de referencia y bioreactores (1-3) preparados con SOL-AC.

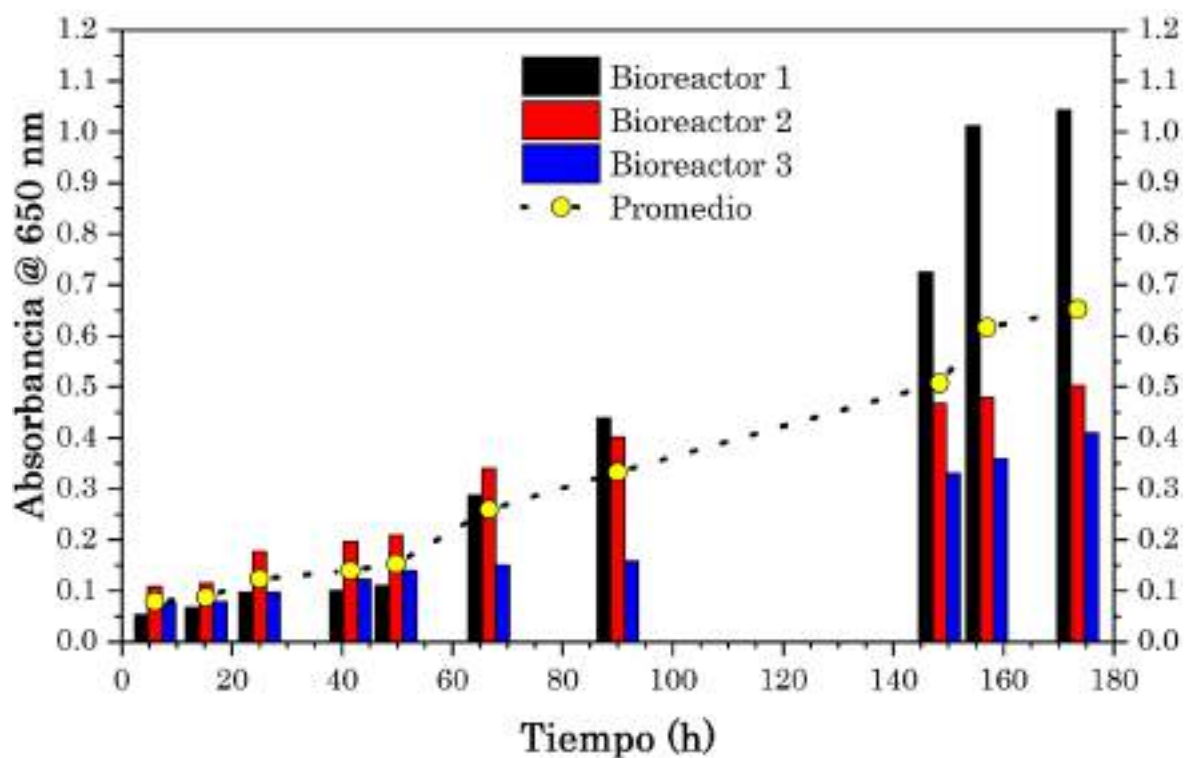


Figura 40. Variación de la absorbancia de los biorreactores preparados con SOL-AC e inoculados con levadura (*saccharomyces cerevisiae*).

En otro experimento se colocaron los SOL-AC, extracto de levadura, glucosa y levadura *saccharomyces cerevisiae* dentro de un biorreactor. La Tabla 17 contiene los valores de la absorbancia y la concentración de sustrato (SOL-AC, extracto de levadura, y glucosa). Los resultados indican que la turbidez incrementa conforme transcurre el tiempo y significa que las el sustrato promueve en crecimiento de la levadura. Por otra parte, la concentración de sustrato disminuye con el tiempo indicando que la levadura utiliza al sustrato como fuente de carbono para reproducirse.

Tabla 17. Parámetros relacionados con el crecimiento de la *Saccharomyces cerevisiae* y la concentración de sustrato.

Tiempo (h)	Temperatura (°C)	Absorbancia @ 600 nm	Absorbancia @ 540 nm	Concentración de sustrato (mM • L ⁻¹)
		Turbidez	DNS	
0.0	32	0.159	1.064	1151.3
1.2	31	0.256	1.032	1117.7
2.5	32	0.301	1.020	1106.5
3.8	32	0.366	0.984	1066.2
5.2	31	0.471	0.943	1020.3
6.4	32	0.539	0.921	995.6
7.8	32	0.594	0.912	985.6
8.9	32	0.688	0.892	963.2
9.7	32	0.692	0.873	941.9
10.9	33	0.721	0.849	915.0
11.8	32	0.785	0.816	878.1
23.4	32	1.123	0.576	609.3
25.7	33	1.284	0.544	573.5
27.1	32	1.364	0.516	542.1
28.3	32	1.498	0.497	520.8
29.5	33	1.515	0.491	514.1
30.9	32	1.568	0.467	487.2
32.6	31	1.662	0.448	466.0

Es muy común que la cantidad de microorganismos incremente y la cantidad de sustrato disminuya desde el comienzo de la fermentación, inclusive este comportamiento ya ha sido reportado en otros trabajos [73–81] donde utilizan azúcares provenientes del rastrojo de maíz o del olote. No obstante, la producción de etanol es muy baja al principio de la fermentación, de modo que, inicialmente los microorganismos utilizan al sustrato para reproducirse y adaptarse a las condiciones anaerobias. También, se ha reportado que los sustratos provenientes del rastrojo de maíz están compuestos, principalmente, de glucosa y xilosa [82,83], y que durante la fermentación los microorganismos consumen principalmente a la glucosa [75].

La Tabla 18 contiene algunos datos relevantes relacionados con la fermentación de azúcares provenientes del rastrojo de maíz o del olote. La mayoría de las fermentaciones se realizan en condiciones anaerobias, a temperaturas de 28-37°C, en condiciones ácidas o neutras (pH=4-6) y por largos periodos de tiempo (72-180 hrs).

Tabla 18. Aspectos relacionados con la fermentación de azúcares provenientes del rastrojo de maíz o del olote.

Biomasa	Condiciones de fermentación	Principal hallazgo	Concentración de etanol	Ref.
Rastrojo de maíz	37°C, 66h, pH=4.8, <i>saccharomyces cerevisiae</i>	La concentración de azúcares pasa de 80 g•L ⁻¹ a 5 g•L ⁻¹ en 18h de incubación.	71.4 g•L ⁻¹ (80.34% de rendimiento)	[73]
Rastrojo de maíz	32°C, 160 h, pH=5, 1g•L ⁻¹ <i>saccharomyces cerevisiae</i>	El máximo de crecimiento celular se alcanzó a las 42h de incubación. La concentración de glucosa pasa de 38 g•L ⁻¹ a 0.8 g•L ⁻¹ en 25h de incubación. La concentración de xilosa pasa de 25 g•L ⁻¹ a 0.2 g•L ⁻¹ en 60h de incubación.	30 g•L ⁻¹ (rendimiento de 159-226 Kg•Ton ⁻¹ biomasa)	[74]
Rastrojo de maíz	28°C, 100 ml, 72h, pH=4.5, 160 rpm, 1g•L ⁻¹ <i>saccharomyces cerevisiae</i>	La hemicelulosa es más fácil de hidrolizar, sin embargo, produce menor cantidad de etanol La celulosa no puede ser trasformada en etanol directamente	Xilosa: 6-9 g•L ⁻¹ (rendimiento de 0.42 g•g ⁻¹ biomasa) Celulosa: 33-37 g•L ⁻¹ (rendimiento de 0.51-0.53 g•g ⁻¹ biomasa)	[75]
Olote de maíz	30°C, 100 ml, 72h, pH=5, <i>saccharomyces cerevisiae</i>	La hidrólisis ácida favorece la conversión del olote en etanol El máximo de conversión de azúcares a etanol se alcanza después de 36h.	12.3 g•L ⁻¹ (rendimiento de 77%)	[76]
Olote de maíz	37°C, 100 ml, 96h, pH=4.8, 5 g•L ⁻¹ levadura <i>saccharomyces cerevisiae</i>	Los tratamientos con amonio producen menor cantidad de etanol Los tratamientos con ácido sulfúrico producen mayor cantidad de etanol.	69.2 g•L ⁻¹ (rendimiento del 81.2%) Celulosa: 33-37 g•L ⁻¹ (rendimiento de 0.51-0.53 g•g ⁻¹ biomasa)	[77]

		La concentración de glucosa pasa de 82 g•L ⁻¹ a 0.2 g•L ⁻¹ en 18h de incubación.		
Rastrojo de maíz	30°C, 144h, no se agregaron nutrientes, <i>Pichia guilliermondii</i> .	La cantidad de glucosa disminuye continuamente	51.2-56.3 g•L ⁻¹	[78]
Olote de maíz	25°C, 144h, pH=6, 100 rpm, 5% v/v levadura <i>saccharomyces cerevisiae</i>	La cantidad de levadura aumenta desde 23.3 a 41.1 g•L ⁻¹ . La cantidad de glucosa decrece rápidamente. Por el contrario, la cantidad de xilosa y celobiosa decrece lentamente. La mayor parte de la glucosa se consume durante las primeras 48 horas.	18-23 g•L ⁻¹	[79]
Olote de maíz	32°C, 180h, pH=4.3-4.8, levadura <i>saccharomyces cerevisiae</i>	La máxima producción de etanol se consigue después de 150h.	57.2 g•L ⁻¹	[80]
Olote de maíz	30-37°C, 250 rpm, 144h, levadura <i>Clavispora</i>	La mayor parte de la glucosa se consume en las primeras 12 horas.	23 g•L ⁻¹	[81]

En el tratamiento alcalino se obtuvieron derivados de fenilpropanol debido a la remoción de la hemicelulosa y la disolución de la lignina. Los derivados de la lignina no son insolubles en soluciones ácidas y, además, limitan el crecimiento de la levadura *saccharomyces cerevisiae*. La Figura 41 muestra apariencia de los biorreactores preparados con los productos del tratamiento alcalino. La solución del biorreactor referencia permaneció todo el tiempo transparente y no se registró un incremento en la turbidez. Por otra parte, los biorreactores preparados (con SOL-ALC) tenían un color marrón oscuro y no se apreciaban a simple vista los cambios en la turbidez.



Figura 41. Biorreactores inoculados con levadura (*saccharomyces cerevisiae*); bioreactor de referencia y bioreactores (1-3) preparados con SOL-ALC.

El gráfico de la Figura 42 muestra la variación de la absorbancia, así mismo, se puede observar que la absorbancia incrementa conforme transcurre el tiempo. No obstante, si se compara el desempeño de los SOL-AC y SOL-ALC resulta que es menor la absorbancia en los bioreactores preparados con SOL-ALC; si la absorbancia es menor quiere decir que hay menos células, o bien, que hay menor cantidad de microorganismos. Entonces, el rendimiento en la producción de etanol sería muy bajo si se utilizan a los SOL-AL como sustrato. Además, existe la posibilidad que se produzcan sustancias distintas al etanol o simplemente se produzca CO_2 debido a que los derivados de la lignina no son el sustrato adecuado para producir etanol con la levadura *saccharomyces cerevisiae*.

La combustión de la biomasa es una reacción química exotérmica no-espontanea en la que los componentes de la biomasa reaccionan con el oxígeno y, como resultado, se forma CO_2 y H_2O debido a la oxidación del carbón y el hidrógeno respectivamente; únicamente se produce CO_2 y H_2O cuando la combustión es completa y en condiciones de saturación de oxígeno. La cantidad de oxígeno es uno de los factores que más influye en la combustión. No obstante, la biomasa presenta ciertas características macroscópicas que pueden alterar el rendimiento de la combustión y, generalmente, están relacionadas con (i) el contenido de humedad, (ii)

tamaño de partícula, (iii) contenido de cenizas, (iv) relación C/H y C/O y (v) la concentración de los componentes estructurales (polisacáridos, lignina, lípidos, ceras, pigmentos).

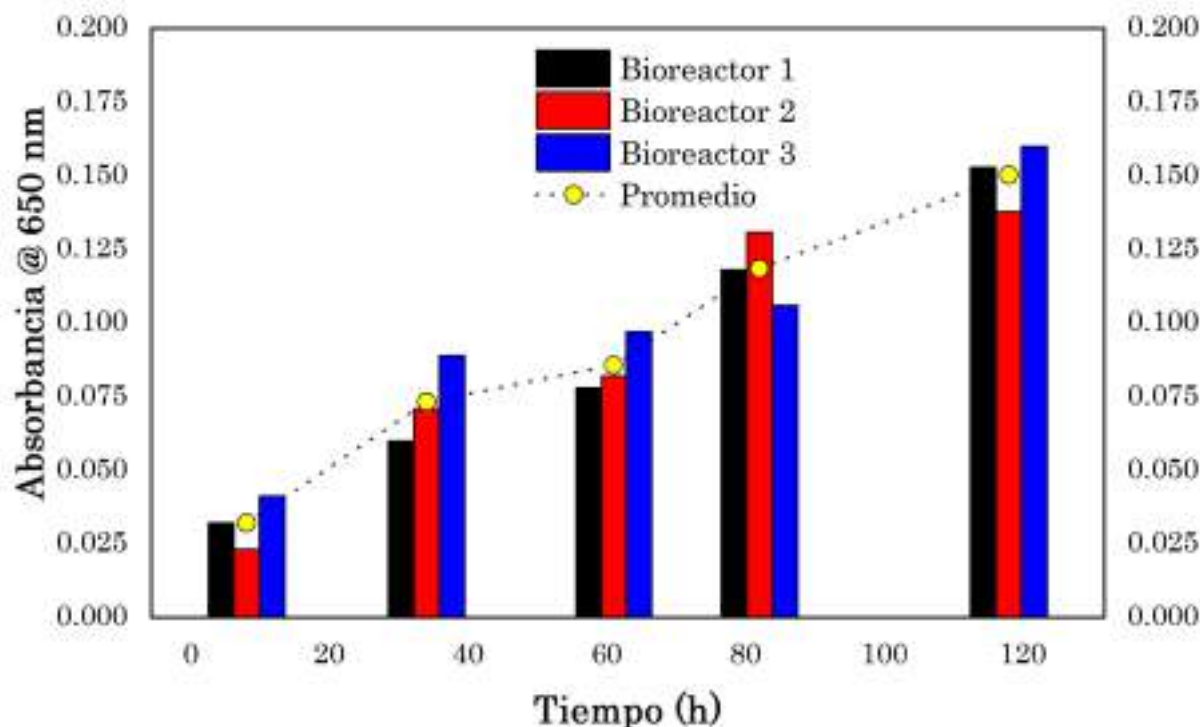


Figura 42. Variación de la absorbancia de los biorreactores preparados con SOL-ALC e inoculados con levadura (*saccharomyces cerevisiae*).

El poder calorífico es una medida de la cantidad de energía almacena o disponible por unidad de masa. Además, es un parámetro importante en el desarrollo y/o evaluación de biocombustibles; es recomendable que el valor del poder calorífico de los biocombustibles sea mayor al de sus predecesores y, de ser posible, lo más cercano al valor de los combustibles fósiles. Por otra parte, existe una relación entre el poder calorífico y el contenido de carbón, hidrógeno y oxígeno; el valor del poder calorífico disminuye con el incremento del oxígeno, y aumenta con el incremento del carbón y el hidrógeno. El oxígeno es un componente elemental de la biomasa vegetal, sin embargo, puede ser contraproducente utilizar biomasa con al contenido de oxígeno para la elaboración de biocombustibles sólidos.

Tabla 19. Poder calorífico superior del olote y sus derivados

Biomasa	PCS (MJ•Kg ⁻¹)
Olote	16.4692
SOL-AC	12.7922
NOSOL-AC	18.8651
SOL-ALC	21.6769
NOSOL-ALC	17.2162

El poder calorífico superior del olote y sus derivados se encuentra en la Tabla 16. El poder calorífico del olote y los componentes solubles generados durante el tratamiento ácido (SOL-AC) fue de $16.4692 \text{ MJ} \cdot \text{Kg}^{-1}$ y $12.7922 \text{ MJ} \cdot \text{Kg}^{-1}$, respectivamente. Durante el tratamiento ácido se disolvieron, principalmente, los polisacáridos entrecruzados y, como resultado, se obtuvieron oligosacáridos y derivados de hidroximetil furfural.

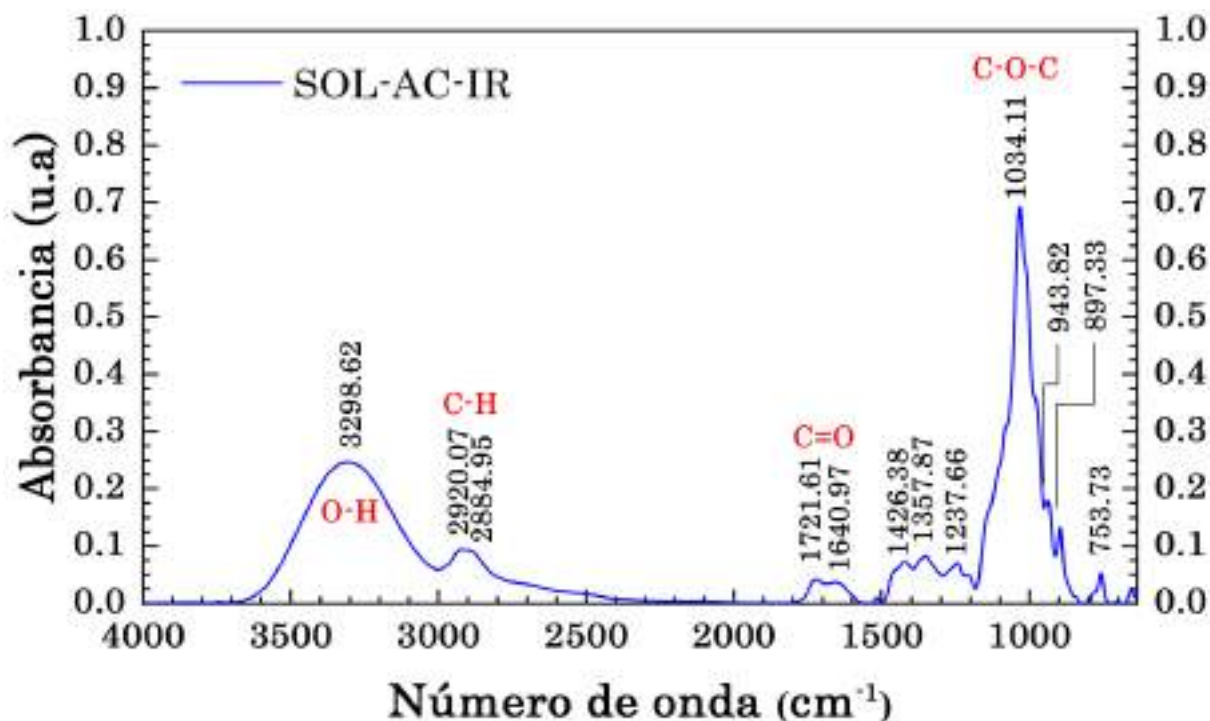


Figura 43. Espectro de infrarrojo de los compuestos solubles generados durante el tratamiento ácido.

La Figura 43 muestra el espectro de infrarrojo de los SOL-AC; el espectro muestra bandas de absorción en los intervalos $3700\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O-H), $3000\text{-}2800 \text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace C-H de metilos y metilenos), también, una banda en 1721 cm^{-1} (estiramiento del enlace C=O de aldehídos o ésteres) y 1640 cm^{-1} (estiramiento del enlace C=O de ácidos o cetonas), múltiples bandas de absorción entre $1500\text{-}1190 \text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C-H, C-C y C-O), bandas de absorción intensas en el intervalo $1200\text{-}900 \text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C-OH y C-O-C), además, una banda en 897 cm^{-1} (vibración no simétrica y fuera del plano de los enlaces C-H de los anillos de piranosa) y 753 cm^{-1} (balanceo fuera del plano de los enlaces C-O-H de ácidos carboxílicos). Los polisacáridos y sus derivados se caracterizan por tener abundante oxígeno en sus moléculas; las bandas de absorción en los intervalos $3600\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O-H) y $1200\text{-}900 \text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C-OH, C-O y C-O-C) que corresponden a la vibración de los enlaces que contienen oxígeno. Entonces, el poder calorífico de los SOL-AC no podría ser mayor al del olote debido a que las moléculas de los SOL-AC son derivados de polisacárido y, además, hay oxígeno en su estructura. Por otra parte, el poder calorífico de los compuestos insolubles generados durante el tratamiento ácido (NOSOL-AC) fue de $18.8651 \text{ MJ} \cdot \text{Kg}^{-1}$. El poder calorífico de los NOSOL-AC es mayor al del olote debido a que se removieron moléculas compuestas de oxígeno; durante el tratamiento ácido se disolvieron los polisacáridos entrecruzados del olote, además, los polisacáridos son moléculas que tienen alto contenido de

oxígeno y, por lo tanto, hay menor cantidad de oxígeno en las moléculas que conforman a los NOSOL-AC.

El poder calorífico de los compuestos solubles (SOL-ALC) e insolubles (NOSOL-ALC) generados durante el tratamiento alcalino fue de $21.6769 \text{ MJ} \cdot \text{Kg}^{-1}$ y $17.2162 \text{ MJ} \cdot \text{Kg}^{-1}$, respectivamente. Durante el tratamiento alcalino se disolvió la lignina del olote y, como resultado, se obtuvieron derivados de fenilpropanol y celulosa. La Figura 44 muestra los espectros de infrarrojo de los SOL-ALC y los NOSOL-ALC. El espectro SOL-ALC-IR muestra una banda de adsorción ancha en los intervalos $3600\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O-H), así como también, dos bandas de absorción en el intervalo $3000\text{-}2800 \text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace C-H de metilos y metilenos), también, una banda en 1579 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=C de alqueno o anillo aromático), 1497 cm^{-1} (dobles del enlace C-H de etilenos o aromáticos, o bien, dobles del enlace Ar-OH de fenoles), 1357 y 1239 cm^{-1} (estiramiento simétrico y asimétrico del enlace Ar-H grupos aromáticos), múltiples bandas en el intervalo $1250\text{-}900 \text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C-OH, C-O y C-O-C) y una banda en 828 cm^{-1} (balanceo fura del plano de los enlaces C-H). Por otra parte, el espectro NOSOL-ALC-IR muestra bandas de adsorción en los intervalos $3600\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O-H), $3000\text{-}2800 \text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace C-H de metilos y metilenos), también, múltiples bandas de absorción entre $1500\text{-}1190 \text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C-H, C-C y C-OH), bandas de absorción intensas en el intervalo $1200\text{-}950 \text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C-OH, C-O y C-O-C) y una banda en 893 cm^{-1} (vibración no simétrica y fuera del plano de los enlaces C-H).

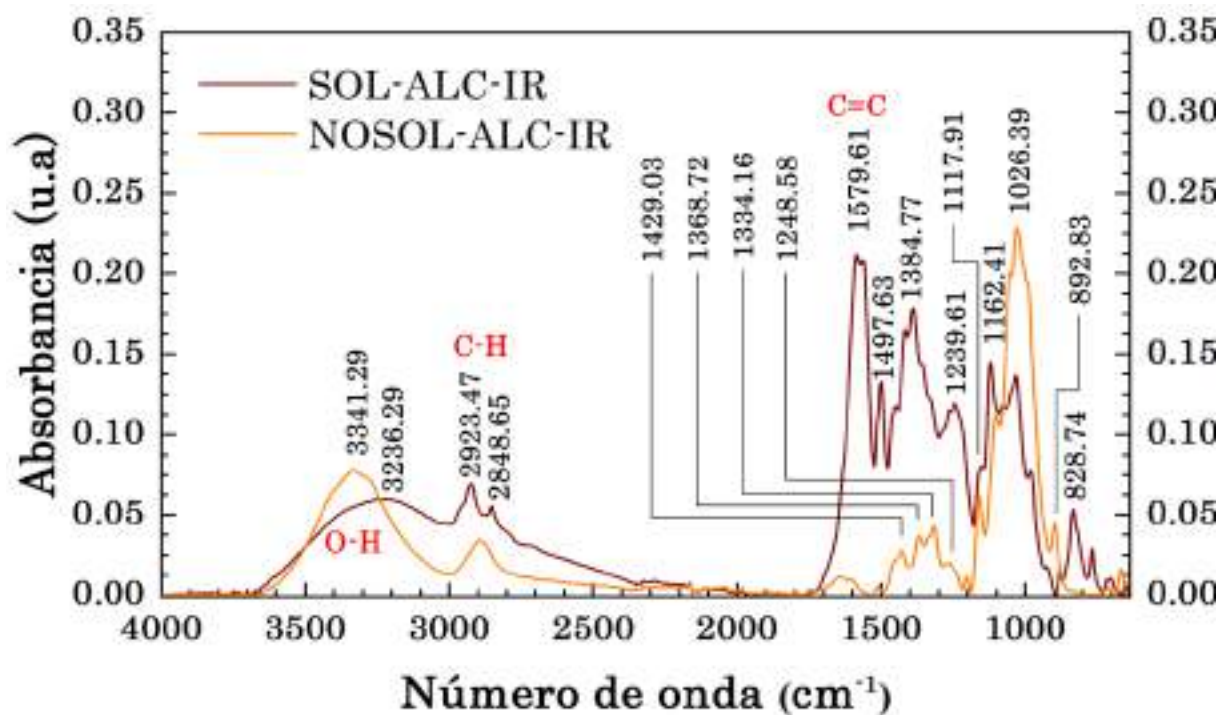


Figura 44. Espectro de infrarrojo de los compuestos solubles (SOL-ALC) e insolubles (NOSOL-ALC) generados durante el tratamiento alcalino.

El poder calorífico de los SOL-ALC es mayor al de sus predecesores y, probablemente, se debe a que en su estructura hay menor cantidad de oxígeno. Los derivados de la lignina se caracterizan por tener abundantes grupos aromáticos en su estructura, así como también, algunos grupos hidroxilo; en el espectro SOL-ALC-IR se observan bandas de absorción en el intervalo $3600-3000\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O-H) y la banda de 1579 cm^{-1} (vibración de los enlaces C=C de alqueno o anillo aromático), las cuales, corresponden a las vibraciones de los grupos hidroxilo y aromático, respectivamente. Por otra parte, las moléculas celulosa se caracterizan por tener abundantes grupos hidroxilo (–OH), así como también, algunos grupos hidroxilo y enlaces del tipo C–O y C–O–C en su estructura; el espectro NOSOL-ALC-IR muestra bandas de absorción en los intervalos $3600-3000\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O–H) y $1200-950\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C–OH, C–O y C–O–C) que corresponden las vibraciones de los enlaces grupos hidroxilo y enlaces del tipo C–O–C, respectivamente. Al comparar los espectros SOL-ALC-IR y NOSOL-ALC-IR se observa que en el espectro SOL-ALC-IR aparecen bandas de absorción en los intervalos $3600-3000\text{ cm}^{-1}$ (estiramiento del enlace O–H) y $1200-950\text{ cm}^{-1}$ (vibración de los enlaces C–OH, C–O y C–O–C) que denotan la abundancia de oxígeno en las moléculas de los NOSOL-ALC y, como resultado, el poder calorífico de los NOSOL-ALC es menor al de los SOL-ALC; el poder calorífico disminuye conforme incrementa la cantidad de oxígeno. Finalmente, es más factible utilizar a los SOL-ALC en la elaboración de biocombustibles sólidos en lugar del olote o cualquiera de sus otros derivados.

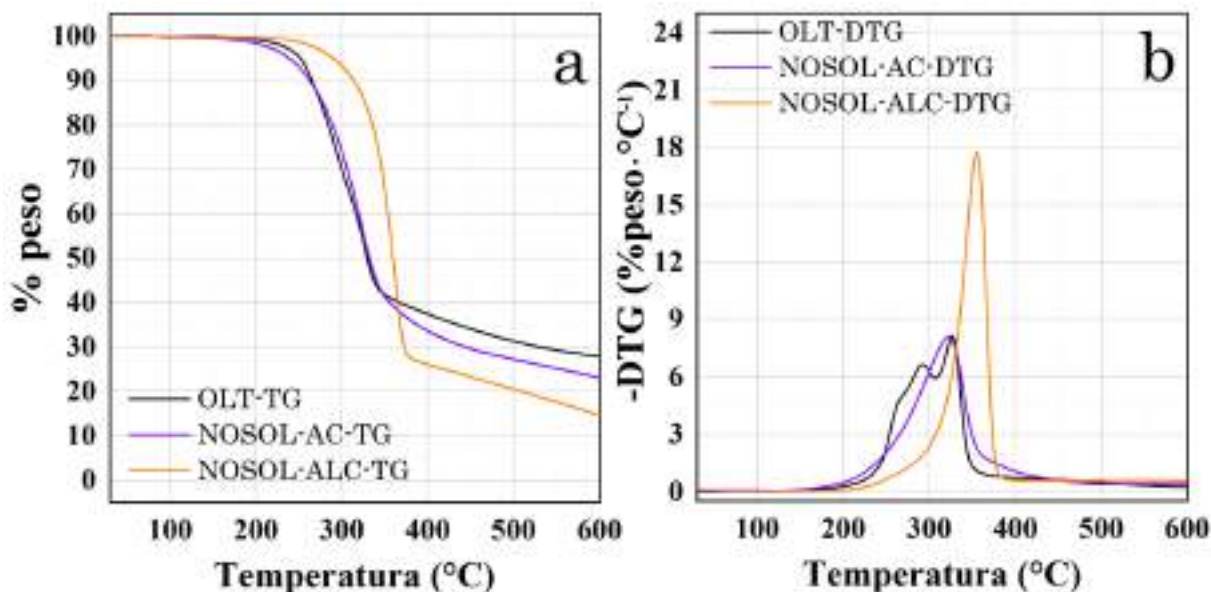


Figura 45. Desempeño termogravimétrico del olote y los compuestos insolubles generados durante el tratamiento ácido (NOSOL-AC) y alcalino (NOSOL-ALC); (a) curvas termogravimétricas y (b) derivada de la curva termogravimétrica.

Los NOSOL-ALC son resistentes a la degradación química y, a su vez, representan la parte más recalcitrante del olote. Sin embargo, su poder calorífico es muy bajo y no sería factible utilizarlos en la elaboración de biocombustibles sólidos. No obstante, la resistencia térmica de los NOSOL-ALC es superior al del olote o sus predecesores. La Figura 45 muestra el perfil termogravimétrico del olote y sus derivados. En el tratamiento químico se disolvieron los

polisacáridos entrecruzados y la lignina del olote y, como resultado, se obtuvieron moléculas de celulosa.

La celulosa del olote puede ser utilizada en la elaboración de materiales refractarios debido a su resistencia térmica. Por otra parte, se pueden sustituir los grupos hidroxilo de la celulosa para elaboración de fibras textiles, materiales explosivos, recubrimientos y/o resinas. Cada una de las unidades repetitivas que conforman a la celulosa contienen grupos hidroxilo ($-OH$), los cuales, son susceptibles a la nitración, sulfonación, esterificación, hidroxialquilación, acetilación, carboximetilación, entre otras [84]. Por lo regular, los $-OH$ de la celulosa presentan baja reactividad, pero en condiciones alcalinas su química es similar a la de los alcóxidos [85]. A su vez, los alcóxidos de celulosa ($Cell-O^-$) pueden reaccionar con el cloro acetato de sodio y provocar la carboximetilación de las unidades de glucosa (como si se tratara de una síntesis de Williamson). Así mismo, la reacción del $Cell-O^-$ con el óxido de propileno produce la hidroxipropilación de las unidades de glucosa como resultado de la apertura del anillo. Los $-OH_{cel}$ también pueden experimentar reacciones de adición (similares a las adiciones de Michael) en las que se generan enlaces del tipo éster. En la obtención de cianoetilcelulosa, los $-OH_{cel}$ forman un enlace del tipo éter con los carbonos sp^2 del acrilonitrilo, cuando se encuentran condiciones alcalinas en una mezcla agua-acetonitrilo [86]. El método más común para la acilación es la reacción, en fase heterogénea, de los $Cell-O^-$ con el ácido acético y los anhídros carboxílicos [87]. Los sulfonatos de celulosa son, por lo regular, sintetizados a partir de la reacción de los $Cell-O^-$ con el cloruro de tosilo, el cloruro de mesilo, el bromuro de mesilo o el ácido tríflico en condiciones alcalinas [88]. En el caso de la nitración, los nitratos (NO_3^-) del ácido nítrico sustituyen a los $-OH_{cel}$ produciendo la nitrocelulosa. Por otra parte, las unidades de repetitivas de la celulosa están unidas mediante enlaces glucosídicos (del tipo éter), los cuales son susceptibles a las reacciones de hidrólisis; la hidrólisis es una reacción química en la se utilizan ácidos o enzimas para protonar al enlace glucosídico y desprender las unidades repetitivas de los polisacáridos. La glucosa es el principal producto de la hidrólisis de celulosa y se puede utilizar como edulcorante o sustrato para la producción de etanol.

Conclusiones

El olote de maíz es un material lignocelulósico compuesto de polisacáridos (hemicelulosa y celulosa), polifenoles (lignina) y algunos lípidos, aminoácidos y minerales. Además, sus componentes pueden ser utilizados en la elaboración de biomateriales, biocombustibles o productos químicos. Sin embargo, los componentes del olote se encuentran entrelazados unos con otros formando una estructura compleja y recalcitrante. Entonces, para transformar a los componentes del olote en productos de valor agregado es importante analizar la estructura y composición del olote, así como también, los factores más influyen en la recalcitrancia.

La recalcitrancia de los materiales lignocelulósicos está relacionada con la cristalinidad de la celulosa, el grado de polimerización de los polisacáridos, la presencia y cantidad de lignina, así como también, los enlaces entre los polisacáridos y la lignina. Además, estos factores también influyen en la degradación térmica de los materiales lignocelulósicos. Por ejemplo, la celulosa se degrada a mayor temperatura debido a la cristalinidad de las fibras y los enlaces entre los polisacáridos y la lignina producen especies de alto peso molecular (especies poliaromáticas) que son difíciles de degradar, además, la presencia de lignina dificulta la devolatilización de la celulosa. La degradación térmica del olote es influenciada por la funcionalidad y las interacciones supramoleculares de sus componentes; durante la pirolisis del olote primero desaparecen los grupos hidroxilo de los polisacáridos entrecruzados debido a la fragilidad de los puentes de hidrogeno, conforme incrementa la se forman estructuras poliaromáticas debido a la deshidratación de la lignia y, a su vez, esto dificulta la devolatilización de la celulosa, además, los grupos hidroxilo de la celulosa forman un red de puentes de hidrogeno que evita la devolatilización de la celulosa a bajas temperaturas.

Las condiciones ácidas promueven la hidrolisis de los polisacáridos entrecruzados mediante la ionización de los enlaces glucosídicos y, como resultado, se producen monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos. Por otra parte, los productos de la hidrolisis (es decir, los SOL-AC) promueven el crecimiento de la levadura *saccharomyces cerevisiae* y, por lo tanto, pueden ser utilizados como sustrato en procesos de fermentación alcohólica.

Las condiciones alcalinas promueven la disolución de la lignina mediante la interacción de cationes de la solución alcalina y los grupos aromáticos de las unidades de fenilpropanol. Los derivados de la lignina (es decir, los SOL-ALC) no promueven el crecimiento de la levadura *saccharomyces cerevisiae* y, por lo tanto, no pueden ser utilizados como sustrato en procesos de fermentación alcohólica. No obstante, el poder calorífico de los SOL-ALC es superior al del olote y, por lo tanto, los SOL-ALC pueden ser utilizados en la elaboración de biocombustibles sólidos.

La celulosa es el componente más recalcitrante del olote, pues no se disolvió durante el tratamiento químico y, además, es el componente del olote que se degrada a mayor temperatura. La resistencia química y térmica de este material es atribuida las interacciones entre los grupos hidroxilo (puentes de hidrogeno) de las unidades repetitivas. Por otra parte, la resistencia térmica de la celulosa del olote puede ser aprovechada para la elaboración de

materiales refractarios, o bien, se pueden sustituir químicamente los grupos hidroxilo de la celulosa para elaborar fibras textiles, materiales explosivos, recubrimientos y/o resinas.

Referencias

- [1] IEA, Total Primary Energy Supply by source, (n.d.). [https://www.iea.org/statistics/?country=WORLD&year=2016&category=Key indicators&indicator=TPESbySource&mode=chart&categoryBrowse=false&dataTable=BALANCES&showDataTable=true](https://www.iea.org/statistics/?country=WORLD&year=2016&category=Key%20indicators&indicator=TPESbySource&mode=chart&categoryBrowse=false&dataTable=BALANCES&showDataTable=true) (accessed June 20, 2021).
- [2] BP, Statistical Review of World Energy 2016, London UK, 2020.
- [3] REN21, Renewables 2017 global status report, Paris, France, 2019.
- [4] WBA, Global Bioenergy Statistics 2020, Stockholm, Sweden, 2020.
- [5] EIA, Primary energy consumption by source, (n.d.). <https://www.eia.gov/totalenergy/data/browser/?tbl=T01.03#/?f=A&start=1949&end=2017&charted=1-2-3-5-12> (accessed June 23, 2021).
- [6] Enerdata, Total energy production, (n.d.). <https://yearbook.enerdata.net/total-energy/>.
- [7] SENER, Balance National de Energía 2017, CDMX, México, 2019.
- [8] International Energy Agency, International Renewable Energy Agency, United Nations Statistics Division, The World Bank, World Health Organization, The Energy Progress Report, Washington DC, USA, 2019.
- [9] J. Goldemberg, S. Teixeira Coelho, Renewable energy - Traditional biomass vs. modern biomass, *Energy Policy*. 32 (2004) 711–714.
- [10] S.N. Naik, V. V. Goud, P.K. Rout, A.K. Dalai, Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14 (2010) 578–597.
- [11] A. Ajanovic, Biofuels versus food production: Does biofuels production increase food prices?, *Energy*. 36 (2011) 2070–2076.
- [12] FAO, Compare data, (n.d.). <http://www.fao.org/faostat/en/#compare> (accessed December 17, 2018).
- [13] UFOP, Report on global market supply: 2017/2018, Berlin, Germany, 2017.
- [14] S.C. Davis, W. Hay, J. Pierce, Biomass in the energy industry: An introduction, 2nd Ed., BP International & Energy biosciences institute, London UK, 2014.
- [15] IEA, Sustainable production of second-generation biofuels, Paris, France, 2010.
- [16] M. Rios, M. Kaltschmitt, Bioenergy potential in Mexico-status and perspectives on a high spatial distribution, *Biomass Convers. Biorefinery*. 3 (2013) 239–254.

- [17] I. Valdez-Vazquez, J.A. Acevedo-Benítez, C. Hernández-Santiago, Distribution and potential of bioenergy resources from agricultural activities in Mexico, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14 (2010) 2147–2153.
- [18] RFA, 2018 ethanol industry outlook., Washington DC, USA, 2020.
- [19] L. Reyes-Muro, T.C. Camacho-Villa, F. Guevara-Hernandez, Rastrojos: manejo, uso y mercado en el centro y sur de México, (2013) 257.
- [20] SAGARPA, Plan de manejo de residuos generados en actividades agrícolas primera etapa: diagnóstico nacional, Zacatecas, México, 2015.
- [21] SAGARPA, Aprovechamiento de esquilmos y subproductos en la alimentación del ganado, EDOMEX, México, 2013.
- [22] M. Zhang, A. Buekens, X. Li, Dioxins from Biomass Combustion: An Overview, *Waste and Biomass Valorization.* 8 (2017).
- [23] INIFAP, Uso De Pollinaza Y Gallinaza En La Alimentacion De Rumiantes, INIFAP. (2007) 1–6.
- [24] G.D. Mendoza-Martínez, R. Ricalte-Velazco, Alimentación de ganado bovino con dietas altas en grano, Universidad Autónoma Metropolitana, CDMX, México., 2015.
- [25] SAGARPA, Manual de procedimientos para la prevención y erradicación de la influenza aviar de alta patogenicidad, (2011) 95.
- [26] P.M. Sanka, M.J. Rwiza, K.M. Mtei, Removal of Selected Heavy Metal Ions from Industrial Wastewater Using Rice and Corn Husk Biochar, *Water. Air. Soil Pollut.* 231 (2020).
- [27] L. Narayanan, Use of Corn Cob as Low Cost Adsorbent for the Removal of Nickel (II) From Aqueous Solution, *Int. J. Adv. Biotechnol. Res.* 5 (2278) 976–2612. <http://www.bipublication.com>.
- [28] A. Zoghalmi, G. Paës, Lignocellulosic Biomass: Understanding Recalcitrance and Predicting Hydrolysis, *Front. Chem.* 7 (2019) 11.
- [29] D.M. Oliveira, T.R. Mota, A. Grandis, G.R. de Moraes, R.C. de Lucas, M.L.T.M. Polizeli, et al., Lignin plays a key role in determining biomass recalcitrance in forage grasses, *Renew. Energy.* 147 (2020) 2206–2217.
- [30] A. Enders, K. Hanley, T. Whitman, S. Joseph, J. Lehmann, Characterization of biochars to evaluate recalcitrance and agronomic performance, *Bioresour. Technol.* 114 (2012) 644–653.
- [31] X. Meng, Y. Pu, C.G. Yoo, M. Li, G. Bali, D.Y. Park, et al., An In-Depth Understanding of Biomass Recalcitrance Using Natural Poplar Variants as the Feedstock, *ChemSusChem.* 10 (2017) 139–150.
- [32] X. Zhao, L. Zhang, D. Liu, Biomass recalcitrance. Part I: the chemical compositions and physicl structures affecting the enzymatic hydrolysis of lignocellulose, *Society*

Chem. Ind. 6 (2012) 465–481.

- [33] N. Sarkar, S.K. Ghosh, S. Bannerjee, K. Aikat, Bioethanol production from agricultural wastes: An overview, *Renew. Energy*. 37 (2012) 19–27.
- [34] S. Haghighi Mood, A. Hossein Golfeshan, M. Tabatabaei, G. Salehi Jouzani, G.H. Najafi, M. Gholami, et al., Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 27 (2013) 77–93.
- [35] C.G. Boeriu, D. Bravo, R.J.A. Gosselink, J.E.G. Van Dam, Characterisation of structure-dependent functional properties of lignin with infrared spectroscopy, in: *Ind. Crops Prod.*, 2004: pp. 205–218.
- [36] P. McKendry, Energy production from biomass (part 2): Conversion technologies, *Bioresour. Technol.* 83 (2002) 47–54.
- [37] J.K. Saini, R. Saini, L. Tewari, Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments, *3 Biotech.* 5 (2015) 337–353.
- [38] H. Zayed, J.N. Sahu, A. Suely, A.N. Boyce, G. Faruq, Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 71 (2017) 475–501.
- [39] J. Cai, Y. He, X. Yu, S.W. Banks, Y. Yang, X. Zhang, et al., Review of physicochemical properties and analytical characterization of lignocellulosic biomass, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 76 (2017) 309–322.
- [40] F.M. Gírio, C. Fonseca, F. Carvalheiro, L.C. Duarte, S. Marques, R. Bogel-Lukasik, Hemicelluloses for fuel ethanol: A review, *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 4775–4800.
- [41] J.B. Sluiter, R.O. Ruiz, C.J. Scarlata, A.D. Sluiter, D.W. Templeton, Compositional analysis of lignocellulosic feedstocks. 1. Review and description of methods, *J. Agric. Food Chem.* 58 (2010) 9043–9053.
- [42] R.O. Ruiz, T. Ehrman, Determination of Carbohydrates in Biomass by High Liquid Chromatography Performance, *ASTM*. (1996) 1–12.
- [43] A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, et al., Analytical procedure - Determination of structural carbohydrates and lignin in Biomass, *NREL*. (2012) 17.
- [44] F. Xu, J. Yu, T. Tesso, F. Dowell, D. Wang, Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: A mini review, *Appl. Energy*. 104 (2013) 801–809.
- [45] S.I. Mussatto, I.M. Mancilha, Non-digestible oligosaccharides: A review, *Carbohydr. Polym.* 68 (2007) 587–597.
- [46] K.S. Başkan, E. Tütem, E. Akyüz, S. Özen, R. Apak, Spectrophotometric total reducing sugars assay based on cupric reduction, *Talanta*. 147 (2016) 162–168.

- [47] R.T. Morrison, R.N. Boyd, *Química Orgánica*, 5ta. Ed., Pearson Educación, Naucalpan, EDOMEX, 1994.
- [48] J. McMurry, *Química Orgánica*, 7a. Ed., Cengage Learning, CDMX, México, 2008.
- [49] H.R. Horton, L.A. Moran, K.G. Scrimgeour, M.D. Perry, J.D. Rawn, *Principios de Bioquímica*, 4ta. Ed., Pearson Prentice Hall, EDOMEX, México, 2008.
- [50] M.T. Madigan, J.M. Martinko, J. Parker, *Microbiología - biología de los microorganismos*, 10a. Ed., Pearson Prentice Hall, México DF., 2008.
- [51] E.M.T. El-Mansi, C.F.A. Bryce, B.D.S. Sanchez, A.L. Demain, A.R. Allman, *Fermentation Microbiology and Biotechnology*, 3th. Ed., Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL USA, 2012.
- [52] J. Park, A. Riaz, R. Insyani, J. Kim, Understanding the relationship between the structure and depolymerization behavior of lignin, *Fuel*. 217 (2018) 202–210.
- [53] D. Watkins, M. Nuruddin, M. Hosur, A. Tcherbi-Narteh, S. Jeelani, Extraction and characterization of lignin from different biomass resources, *J. Mater. Res. Technol.* 4 (2015) 26–32.
- [54] B. Lindman, B. Medronho, L. Alves, C. Costa, H. Edlund, M. Norgren, The relevance of structural features of cellulose and its interactions to dissolution, regeneration, gelation and plasticization phenomena, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 19 (2017) 23704–23718.
- [55] U.J. Kim, S.H. Eom, M. Wada, Thermal decomposition of native cellulose: Influence on crystallite size, *Polym. Degrad. Stab.* 95 (2010) 778–781.
- [56] N. Abidi, L. Cabrales, E. Hequet, Thermogravimetric analysis of developing cotton fibers, *Thermochim. Acta*. 498 (2010) 27–32.
- [57] L. Cabrales, N. Abidi, On the thermal degradation of cellulose in cotton fibers, *J. Therm. Anal. Calorim.* 102 (2010) 485–491.
- [58] H. Yang, R. Yan, H. Chen, C. Zheng, D.H. Lee, D.T. Liang, In-Depth Investigation of biomass pyrolysis based on three major components: Hemicellulose, cellulose, and lignin, *Ind. Eng. Chem. Res.* 50 (2011) 10424–10433.
- [59] H. Yang, R. Yan, H. Chen, D.H. Lee, C. Zheng, Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis, *Fuel*. 86 (2007) 1781–1788.
- [60] S. Xin, H. Yang, Y. Chen, M. Yang, L. Chen, X. Wang, et al., Chemical structure evolution of char during the pyrolysis of cellulose, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*. 116 (2015) 263–271. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2015.09.002>.
- [61] A. Brillard, D. Habermacher, J.F. Brilhac, Thermal degradations of used cotton fabrics and of cellulose: kinetic and heat transfer modeling, *Cellulose*. 24 (2017) 1579–1595.
- [62] N. Abidi, L. Cabrales, C.H. Haigler, Changes in the cell wall and cellulose content of developing cotton fibers investigated by FTIR spectroscopy, *Carbohydr. Polym.* 100

(2014) 9–16.

- [63] J. Liang, J. Chen, S. Wu, C. Liu, M. Lei, Comprehensive insights into cellulose structure evolution: Via multi-perspective analysis during a slow pyrolysis process, *Sustain. Energy Fuels*. 2 (2018) 1855–1862.
- [64] C. Zhang, L. Chao, Z. Zhang, L. Zhang, Q. Li, H. Fan, et al., Pyrolysis of cellulose: Evolution of functionalities and structure of bio-char versus temperature, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 135 (2021) 110416.
- [65] E. Rudnik, G. Matuschek, N. Milanov, A. Kettrup, Thermal stability and degradation of starch derivatives, *J. Therm. Anal. Calorim.* 85 (2006) 267–270.
- [66] X. Liu, L. Yu, F. Xie, M. Li, L. Chen, X. Li, Kinetics and mechanism of thermal decomposition of cornstarches with different amylose/amylopectin ratios, *Starch/Staerke*. 62 (2010) 139–146.
- [67] P.V.F. Lemos, L.S. Barbosa, I.G. Ramos, R.E. Coelho, J.I. Druzian, Characterization of amylose and amylopectin fractions separated from potato, banana, corn, and cassava starches, *Int. J. Biol. Macromol.* 132 (2019) 32–42.
- [68] N. Giummarella, Y. Pu, A.J. Ragauskas, M. Lawoko, A critical review on the analysis of lignin carbohydrate bonds, *Green Chem.* 21 (2013) 23.
- [69] T. Fisher, M. Hajaligol, B. Waymack, D. Kellogg, Pyrolysis behavior and kinetics of biomass driered materials, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*. 62 (2002) 331–349.
- [70] U. Einhorn-Stoll, H. Kunzek, G. Dongowski, Thermal analysis of chemically and mechanically modified pectins, *Food Hydrocoll.* 21 (2007) 1101–1112.
- [71] J. Aburto, M. Moran, A. Galano, E. Torres-García, Non-isothermal pyrolysis of pectin: A thermochemical and kinetic approach, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*. 112 (2015) 94–104.
- [72] U. Einhorn-Stoll, H. Kunzek, Thermoanalytical characterisation of processing-dependent structural changes and state transitions of citrus pectin, *Food Hydrocoll.* 23 (2009) 40–52.
- [73] A.S. Qureshi, J. Zhang, J. Bao, High ethanol fermentation performance of the dry dilute acid pretreated corn stover by an evolutionarily adapted *Saccharomyces cerevisiae* strain, *Bioresour. Technol.* 189 (2015) 399–404.
- [74] D. Van Eylen, F. van Dongen, M. Kabel, J. de Bont, Corn fiber, cobs and stover: Enzyme-aided saccharification and co-fermentation after dilute acid pretreatment, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 5995–6004.
- [75] Y. Chen, B. Dong, W. Qin, D. Xiao, Xylose and cellulose fractionation from corncob with three different strategies and separate fermentation of them to bioethanol, *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 6994–6999.
- [76] P. Kahar, K. Taku, S. Tanaka, Enzymatic digestion of corncobs pretreated with low strength of sulfuric acid for bioethanol production, *J. Biosci. Bioeng.* 110 (2010) 453–458.

- [77] M. Zhang, F. Wang, R. Su, W. Qi, Z. He, Ethanol production from high dry matter corncob using fed-batch simultaneous saccharification and fermentation after combined pretreatment, *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 4959–4964.
- [78] C. Fan, K. Qi, X.X. Xia, J.J. Zhong, Efficient ethanol production from corncob residues by repeated fermentation of an adapted yeast, *Bioresour. Technol.* 136 (2013) 309–315.
- [79] Y.H. Chang, K.S. Chang, C.W. Huang, C.L. Hsu, H. Der Jang, Comparison of batch and fed-batch fermentations using corncob hydrolysate for bioethanol production, *Fuel*. 97 (2012) 166–173.
- [80] K. Liu, X. Lin, J. Yue, X. Li, X. Fang, M. Zhu, et al., High concentration ethanol production from corncob residues by fed-batch strategy, *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 4952–4958.
- [81] Z. Lewis Liu, S.A. Weber, M.A. Cotta, S.Z. Li, A new β -glucosidase producing yeast for lower-cost cellulosic ethanol production from xylose-extracted corncob residues by simultaneous saccharification and fermentation, *Bioresour. Technol.* 104 (2012) 410–416.
- [82] Y. Sewsynker-Sukai, E.B. Gueguim Kana, Simultaneous saccharification and bioethanol production from corn cobs: Process optimization and kinetic studies, *Bioresour. Technol.* 262 (2018) 32–41.
- [83] S. Zhang, D.R. Keshwani, Y. Xu, M.A. Hanna, Alkali combined extrusion pretreatment of corn stover to enhance enzyme saccharification, *Ind. Crops Prod.* 37 (2012) 352–357.
- [84] R.J. Moon, A. Martini, J. Nairn, J. Simonsen, J. Youngblood, Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites, *Chem. Soc. Rev.* 40 (2011) 3941–3994.
- [85] R. Feller, M. Wilt, *Evaluation of Cellulose Ethers for Conservation*, 2nd., USA, 1993.
- [86] T. Heinze, T. Liebert, A. Koschella, *Esterification of Polysaccharides*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2006.
- [87] H.N. Cheng, M.K. Dowd, R.L. Shogren, A. Biswas, Conversion of cotton byproducts to mixed cellulose esters, *Carbohydr. Polym.* 86 (2011) 1130–1136.
- [88] D. Klemm, B. Heublein, H.P. Fink, A. Bohn, Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 44 (2005) 3358–3393.