

Información Importante

La Universidad Santo Tomás, informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea de la Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan **finalidad académica**, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el Artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, la Universidad Santo Tomás informa que “los derechos morales sobre documento son propiedad de los autores, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.”

**Bibliotecas Bucaramanga
Universidad Santo Tomás**

CARACTERIZACIÓN DE RESIDUOS LIGNOCELULOSICOS (*SACCHARUM OFFICINARUM*) PARA DETERMINAR SU POTENCIAL EN LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES

CAROLINA OCHOA MARTINEZ

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISION DE INGENIERIAS Y ARQUITECTURA
FACULTAD DE QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2016**

CARACTERIZACIÓN DE RESIDUOS LIGNOCELULOSICOS (*SACCHARUM OFFICINARUM*) PARA DETERMINAR SU POTENCIAL EN LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES

CAROLINA OCHOA MARTINEZ

**Plan de proyecto de grado
Aspirante a Química ambiental
GINMEA**

**Directora:
OLGA LUCÍA BAYONA AYALA, Qca. MSc.
USTA-Bucaramanga**

**Codirector:
ANGÉLICA MARÍA CANDELA SOTO, Qco. MSc. Ph.D
USTA-Bucaramanga**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISION DE INGENIERIAS Y ARQUITECTURA
FACULTAD DE QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2016**

Nota de aceptación:

Firma del evaluador

Firma del evaluador

Bucaramanga, 16 de enero de 17

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis padres Mariela y Gilberto por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo.

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a Dios, por darme la vida y permitirme culminar esta etapa tan linda.

A mis directoras de proyecto Olga y Angélica María, quienes con su conocimiento y su guía fueron una pieza clave para que pudiera desarrollar cada etapa del proyecto.

Al grupo de investigación GINMEA por abrirme las puertas y permitirme ser parte de ellos.

A mis compañeras Yennifer y Stefany, quienes fueron un gran apoyo durante el desarrollo del proyecto.

A mi novio Gabriel quien me apoyo en cada momento y me alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

A mis compañeros Marlen, Jorge y Freddy en el Laboratorio de análisis ambiental de SIHSA por compartir sus conocimientos conmigo y enseñarme tantas cosas.

Por último, quiero agradecer a la base de todo, a mi familia, en especial a mis padres Mariela y Gilberto, quienes con sus consejos fueron el motor de arranque y mi constante motivación, muchas gracias por su paciencia y comprensión, y sobre todo por su amor.

A todos los que me apoyaron para escribir y concluir esta tesis.

¡Muchas gracias por todo!

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	16
CARACTERIZACIÓN DE RESIDUOS LIGNOCELULOSICOS (<i>SACCHARUM OFFICINARUM</i>) PARA DETERMINAR SU POTENCIAL EN LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES	17
1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	17
1.2 JUSTIFICACIÓN	17
1.3 OBJETIVOS	18
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	18
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
2. MARCO REFERENCIAL	20
2.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA	20
2.1.1 Celulosa	21
2.1.2 Hemicelulosa	22
2.1.3 Lignina	22
2.1.4 Otros componentes: extractivos	23
2.2 LA CAÑA DE AZUCAR	23
2.3 OBTENCIÓN DE ETANOL	26
2.4 TÉCNICAS INSTRUMENTALES	27
2.4.1 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	27
2.4.2 Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPCL)	27
2.4.3 Difractometría de Rayos X (DRX)	28
2.4.4 Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)	28
2.5 MARCO DE ANTECEDENTES	28
3. DISEÑO METODOLÓGICO	32
3.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	32
3.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICA LA MUESTRA	33
3.2.1 Contenido de Humedad	33
3.2.2 Distribución del tamaño de las partículas	33
3.2.3 Contenido de cenizas	34

3.3 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA LA MUESTRA	34
3.3.1 Determinación del contenido de extractivos	34
3.3.2 Determinación de lignina soluble, insoluble y azúcares	35
3.3.3 Determinación de lignina insoluble en ácido	35
3.3.4 Determinación de lignina soluble en ácido	35
3.3.5 Determinación de carbohidratos por HPLC	36
3.3.6 Análisis de las muestras por microscopía electrónica de barrido (MEB)	37
3.3.7 Análisis de las muestras por difracción de rayos x (DRX)	37
3.3.8 Análisis de las muestras por espectroscopia infrarroja con transformación de Fourier (FTIR)	37
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	38
4.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICA LA MUESTRA	38
4.2.1 Contenido de Humedad	38
4.2.2 Distribución del tamaño de las partículas	38
4.2.3 Contenido de cenizas	40
4.3 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA LA MUESTRA	41
4.3.1 Determinación del contenido de extractivos	41
4.3.2 Determinación de lignina soluble e insoluble en ácido	41
4.3.3 Determinación de carbohidratos por HPLC	42
4.3.4 Análisis de las muestras por microscopía electrónica de barrido (MEB)	45
4.3.5 Análisis de las muestras por difracción de rayos x (DRX)	47
4.3.6 Análisis de las muestras por espectroscopia infrarroja con transformación de Fourier (FTIR)	48
4.4 CALCULO TEÓRICO DEL RENDIMIENTO DEL ETANOL POR LAS MUESTRAS	50
5. CONCLUSIONES	52
BIBLIOGRAFIA	54

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de diferentes biomasas lignocelulósicas	21
Tabla 2. Resultados hidrolisis acida	30
Tabla 3. Composición de muestras (Bagacillo de caña, polvillo de fique y afrecho de yuca)	30
Tabla 4. Longitud de onda y adsortividad recomendada para el bagazo y hojas secas	35
Tabla 5. Contenido de humedad de las muestras	38
Tabla 6. Distribución del tamaño de las partículas de la biomasa	39
Tabla 7. Contenido de cenizas de las muestras	40
Tabla 8. Contenido de extractivos con agua-etanol	41
Tabla 9. Contenido de lignina soluble e insoluble en acido en las muestras	42
Tabla 10. Comparación contenido de lignina con otras investigaciones	42
Tabla 11. Muestras madres de los azúcares	42
Tabla 12. Puntos para las curvas de azúcares	43
Tabla 13. Resultados obtenidos de celulosa y hemicelulosa	44
Tabla 14. Comparación resultados celulosa-hemicelulosa	45
Tabla 15. Resultados índice de cristalinidad de las muestras	47
Tabla 16. Banda de vibraciones de los compuestos lignocelulosicos	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales componentes de la biomasa lignocelulósica	20
Figura 2. Estructura de la celulosa	21
Figura 3. Estructura de la hemicelulosa	22
Figura 4. Precursores básicos en la formación de la molécula de lignina	22
Figura 5. Principales unidades aromáticas presentes en la molécula de lignina	23
Figura 6. La caña de azúcar	23
Figura 7. Sector azucarero en Colombia	24
Figura 8. Destilerías de etanol en Colombia	25
Figura 9. Efecto del pretratamiento en la biomasa	26
Figura 10. Análisis por HPLC del hidrolizado de cáscara de papa	32
Figura 11. Bagazo y hojas secas frescas de caña de azúcar	32
Figura 12. Espectrograma FTIR de hojas secas de caña	49
Figura 13. Espectrograma FTIR de 50/(B)/50(H)	49
Figura 14. Espectrograma FTIR del bagazo de caña	50
Figura 15. Rendimiento teórico de etanol	51

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. % de la fracción de masa retenida en función del diámetro promedio de la partícula	40
Gráfica 2. Curva de calibración glucosa y xilosa	43
Gráfica 3. Curva de calibración celobiosa y arabinosa	44
Gráfica 4. Índice de cristalinidad del bagazo	47
Gráfica 5. Índice de cristalinidad de las hojas secas	47

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Granulometría de hojas secas	38
Ilustración 2. Granulometría del bagazo	39
Ilustración 3. Microfotografías del (a) bagazo y (b) hojas secas de caña sin pretratamiento	46
Ilustración 4. Microfotografías de biomasa con pretratamiento	46

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

HPLC:	Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia
FTIR:	Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier
DRX:	Difracción de Rayos X
MEB:	Microscopia Electrónica de Barrido
ART:	Azúcares Reductores Totales
HA:	Hidrolisis Ácida
HE:	Hidrolisis Enzimática
NREL:	Laboratorio Nacional de Energías Renovables
E85:	Mezcla de 85 % de etanol y de 15 % de gasolina
E95:	Mezcla de 95 % de etanol y de 5 % de gasolina

GLOSARIO

BIOMASA: Se utiliza para describir cualquier material de origen biológico, en la industria de la energía, la biomasa se refiere al material que puede ser utilizado como combustible o para producción industrial. Incluye materiales de plantas tales como árboles, pastos y cultivos agrícolas¹.

CELULOSA: Es un polisacárido, con monómeros de glucosa unidos por enlaces β 1-4, es el compuesto orgánico más abundante en la naturaleza.²⁻⁴

ETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN: Se obtiene de la celulosa presente en la biomasa vegetal, material compuesto principalmente de celulosa y hemicelulosa (carbohidratos estructurales de los vegetales) unidos a la lignina que se encuentra en las paredes celulares de las plantas.⁵

FERMENTACIÓN: Es un proceso que genera ATP, en el cual las sustancias orgánicas actúan como dadores de electrones. La fermentación puede darse en ausencia de oxígeno.⁶

HEMICELULOSA: Es el nombre dado a una clase de polisacáridos heterogéneos, lo cual indica que contienen una variedad de unidades monoméricas, en este caso de azúcares de 5 y 6 carbonos. La xilosa es el más abundante de éstos.⁷

HIDROLISIS ENZIMÁTICA: Hidrolisis catalizada por enzimas de alta especificidad, como las celulasas y xilanasas producidas a partir de hongos y bacterias.⁸

LIGNINA: Es un polímero tridimensional altamente ramificado con gran variedad de grupos funcionales que proporcionan centros activos para interacciones químicas y biológicas. Los principales grupos funcionales en la lignina incluyen los hidroxilos fenólicos, hidroxilos alifáticos, metoxilos, carbonilos, carboxilos y sulfonatos.⁹

PRETRATAMIENTO: método por el cual se remueve la lignina, se hidroliza la hemicelulosa a azúcares fermentables, y se reduce la cristalinidad de la celulosa para liberar la glucosa^{10,11}.

CARACTERIZACIÓN DE RESIDUOS LIGNOCELULOSICOS (*SACCHARUM OFFICINARUM*) PARA DETERMINAR SU POTENCIAL EN LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES

Por:
Carolina Ochoa Martínez

RESUMEN

Los residuos lignocelulósicos de la caña de azúcar (*saccharum officinarum*) pueden ser una fuente significativa de celulosa, hemicelulosa y de lignina que puede ser empleada como materia prima en la producción de biocombustibles como el etanol.

En esta investigación se pretende dar a conocer características fundamentales de los residuos lignocelulósicos de la caña de azúcar. Algunas de estas características son, porcentaje de humedad, cenizas y extractivos, el contenido de ligninas solubles e insolubles, hemicelulosa y celulosa. Además de información acerca de la superficie de las fibras y la fracción amorfa disponible. Se emplearon técnicas instrumentales (HPLC, FTIR, MEB y DRX) y métodos estandarizados por el Laboratorio Nacional de Energías Renovables (NREL). Finalmente se realizó el cálculo teórico para el rendimiento de etanol y la información publicada estima ser útil en la conversión a biocombustible de segunda generación.

PALABRAS CLAVE: etanol, biocombustibles de segunda generación, residuo lignocelulósico, caña de azúcar.

INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de energía, junto con el agotamiento previsto de los combustibles fósiles ha promovido la búsqueda de combustibles alternativos que se pueden obtener a partir de fuentes de energía renovables¹³. Los biocombustibles son considerados una fuente prometedora de energía alternativa ya que su inmenso potencial imparte un papel notable para la sostenibilidad y la seguridad en el sector energético.¹²

Se llama de primera generación a los biocombustibles generados a partir de cultivos alimenticios. En la actualidad la bioenergía de primera generación ha sido la principal tecnología utilizada para cumplir con la demanda de una energía alternativa renovable. Sin embargo, la generación de estos combustibles conllevó a una competencia insostenible con la producción de alimentos destinada a consumo humano.¹³ En contraste a lo anterior, los biocombustibles de segunda generación surgen a partir de materias primas no comestibles, como materias lignocelulósicas de origen agroindustrial o residuos forestales.¹⁴

La producción de etanol a partir de material lignocelulósico, requiere de cuatro pasos: pretratamiento, hidrólisis, fermentación y separación. Los residuos de caña de azúcar (bagazo, hojas secas, tallos, etc.) son considerados materiales lignocelulósicos y se puede obtener etanol a través de ellos. Sin embargo, La transformación de esta materia prima hasta etanol es más compleja pues requiere que el material lignocelulósico sea transformado primero hasta sus respectivos azúcares (glucosa, xilosa, arabinosa) para poder ser fermentados. No obstante este material es más barato ya que es considerado un desecho y presenta la ventaja de no afectar la producción de alimentos, tiene un alto contenido de oxígeno y disminuye la emisión de CO₂ a la atmosfera.¹⁵⁻¹⁷

La conversión eficiente de la biomasa lignocelulósica en biocombustibles y compuestos químicos de valor añadido se ve limitada por la recalcitrancia que tiene el material de la pared celular vegetal. Los pretratamientos para la degradación de la biomasa lignocelulósica generalmente representan la mayor cantidad de costos asociados a la producción de biocombustibles. Con el fin de optimizar tales tratamientos previos, la composición de la biomasa lignocelulósica (celulosa, hemicelulosa y lignina) debe ser conocida.^{16,18,19}

Esta investigación tuvo como objetivo trabajar con residuos lignocelulósicos de la caña de azúcar (bagazo y hojas secas) para conocer características que son fundamentales para su conversión a un biocombustible. Se determinaron sus porcentajes de humedad, cenizas y extractivos, contenidos de lignina soluble e insoluble, porcentajes de hemicelulosa y celulosa y se emplearon técnicas instrumentales (HPLC, MEB, DRX y FTIR) para cuantificar azúcares reductores totales, información acerca de la superficie de las fibras, fracción amorfa disponible e identificación de grupos funcionales característicos.

CARACTERIZACIÓN DE RESIDUOS LIGNOCELULOSICOS (*SACCHARUM OFFICINARUM*) PARA DETERMINAR SU POTENCIAL EN LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES

1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Las estadísticas muestran que el consumo de energía ha aumentado exponencialmente desde la Revolución Industrial. Se estima que un 80% del balance de energía consumida en el mundo al año, es atendido por la combustión de combustibles fósiles. Considerando una población mundial de 6,8 mil millones, representa en promedio, el equivalente de aproximadamente 2 toneladas de petróleo por persona al año.²⁰ Si se tiene en cuenta las proyecciones para las próximas décadas este porcentaje se ampliará proporcionalmente con el aumento de la población y el rápido desarrollo de las economías emergentes como China, India y Brasil.²¹ La principal problemática ambiental que se deriva del uso de combustibles fósiles consiste en la contaminación atmosférica que se genera por la combustión de estos y su gran contribución al calentamiento global.²²

La implementación de biocombustibles en las economías industriales se ha visto fuertemente favorecida por la seguridad energética. Sin embargo, el sector de biocombustibles de primera generación enfrenta una fuerte crisis debido a la competencia que desencadenó con los alimentos. Debido a esto, se desataron nuevas investigaciones a nivel mundial para la búsqueda de nuevas materias primas no alimenticias a base de residuos lignocelulósicos que no comprometieran las necesidades básicas humanas y que cumplieran con la visión de sostenibilidad.^{23,24}

Será posible que los residuos de la caña de azúcar sean considerados una materia prima para la producción de etanol, basado en el conocimiento de su contenido de lignina, hemicelulosa y celulosa. Y de ser así, la publicación de las características determinadas en esta investigación pueda servir de información previa para su conversión a biocombustible de segunda generación.

1.2 JUSTIFICACIÓN

Los biocombustibles de segunda generación surgen como una alternativa para reducir la dependencia del petróleo, disminuir las emisiones de gases de efecto invernadero y proteger la seguridad alimentaria.²⁴ Este tipo de materia prima está disponible en abundancia en muchos países y regiones, y su utilización sólo compite con los recursos alimenticios de forma limitada. En muchos casos, este tipo de materia prima no necesita tierra fértil o mantenimiento extensivo para su generación, por lo que se espera que reduzca en gran medida los potenciales impactos ambientales y sociales del sistema de biocombustibles.²⁵ Además, los materiales lignocelulósicos se pueden suministrar a gran escala a partir de

diferentes materias primas de bajo costo, tales como residuos municipales, industriales y residuos agrícolas.²⁶ Actualmente los materiales lignocelulósicos más prometedores y abundantes en los EE.UU., América del Sur, Asia y Europa son el rastrojo de maíz, bagazo de caña de azúcar, pajas de trigo y de arroz, respectivamente.^{27,28} Los países en desarrollo tienen una ventaja comparativa para la producción de biocombustibles debido a la mayor disponibilidad de suelo, las condiciones climáticas favorables para la agricultura y los menores costes laborales.²⁹

La industria azucarera de Colombia produce cerca de 9 millones de toneladas de residuos (bagazo, hojas y tapas) por año, de la cual aproximadamente el 15% es quemada ineficientemente para abastecer las necesidades de energía para las calderas. El bagazo ha llegado a ser el combustible principal de las calderas de los ingenios, con el fin de generar su propia energía para los procesos productivos y para la comercialización de excedentes.³⁰ Con base en esto, se pretende optimizar el aprovechamiento de los residuos (bagazo y hojas secas) y la mezcla de ellos en la obtención de biocombustibles conociendo su composición respectiva.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Caracterizar los residuos lignocelulósicos (*saccharum officinarum*) con el fin de dar a conocer características fundamentales útiles para su conversión a biocombustible de segunda generación.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar físicamente el bagazo, hojas secas y las mezclas 90(B)/10(H) y 50(B)/50(H) de la caña de azúcar para determinar porcentaje de humedad, tamaño de partícula y porcentaje de cenizas por métodos físicos.
- Caracterizar químicamente el bagazo, hojas secas y las mezclas 90(B)/10(H) y 50(B)/50(H) de la caña de azúcar para determinar el porcentaje de extractivos y el porcentaje lignina soluble e insoluble por procedimientos analíticos del laboratorio estándar NREL.
- Cuantificar por HPLC los azúcares reductores totales (ART) para conocer el porcentaje de celulosa, y de hemicelulosa.
- Analizar el bagazo, hojas secas y las mezclas 90(B)/10(H) y 50(B)/50(H) de la caña de azúcar por microscopia electrónica de barrido (MEB) para observar el entrelazamiento de la pared celular del residuo lignocelulósico

en su estado original (tal como viene del campo). Analizar las muestras mediante difracción de rayos X (DRX) para determinar el índice de cristalinidad de la celulosa de la biomasa de estudio. Analizar las muestras mediante espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) para identificar grupos funcionales característicos.

- Calcular teóricamente el rendimiento de etanol producido a partir del el bagazo, hojas secas y la mezcla con mayor potencial de celulosa.

2. MARCO REFERENCIAL

Los combustibles son una fuente de energía necesaria para llevar a cabo las actividades humanas. Sin embargo, el uso prolongado de combustibles fósiles ha enmarcado una notoria problemática ambiental que se agrava con el pasar de los años.²¹ Se hace necesaria por tanto la búsqueda de nuevas alternativas energéticas que generen un mínimo impacto ambiental. En la actualidad, la biomasa lignocelulósica y en especial los subproductos agroindustriales han dejado de ser productos de desecho-problema, para convertirse en materia prima con potencial para diversos procesos tanto de tipo agrícola como industrial, siendo la producción de etanol uno de los más importantes.³¹

2.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

Los principales componentes químicos de la biomasa lignocelulósica son celulosa, hemicelulosa y lignina, junto con una pequeña cantidad de cenizas, extractivos, y otros (Figura 1).³² La concentración de cada componente depende del tipo de biomasa, tipo de tejido, edad de la planta y las condiciones de crecimiento (Tabla 1).³²

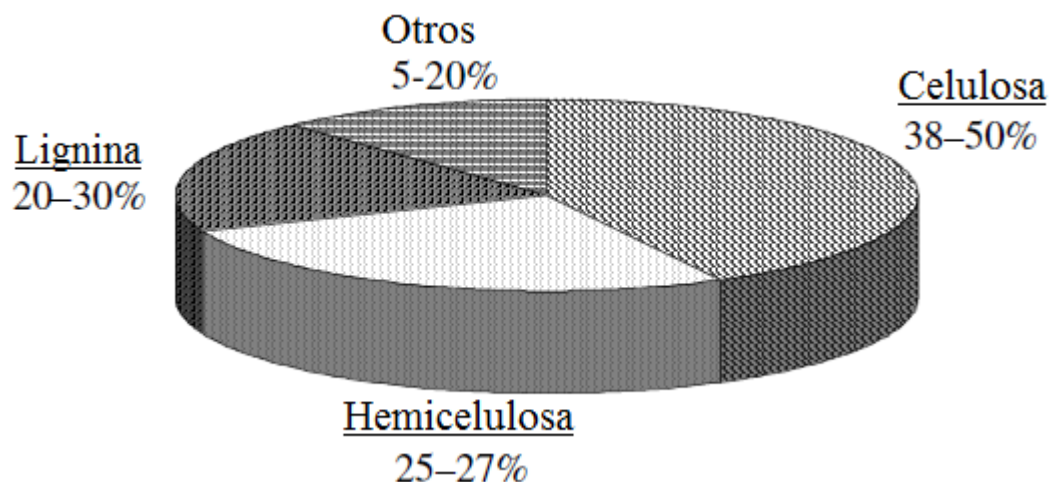


Figura 1. Principales componentes de la biomasa lignocelulósica.³³

Las microfibrillas de celulosa están incrustadas en una matriz compuesta de pectina, un polisacárido del ácido D-galacturónico y otros monosacáridos. También, de hemicelulosa, un polímero corto y ramificado de varios monosacáridos de cinco y seis carbonos.³⁴

La transformación de pared celular primaria a secundaria ocurre cuando aumenta el contenido de glucosa de la pared, y en la mayor parte de los casos, también se incorpora un polímero con fenol llamado lignina. Esta última suministra soporte estructural y confiere el sostén necesario para desplazar agua por la planta.³⁵

Tabla 1. Composición química de diferentes biomásas lignocelulósicas.³²

Biomasa Lignocelulósica	% Celulosa	% Hemicelulosa	% Lignina
Paja de caña	40-44	30-32	22-25
Bagazo de caña	32-48	19-24	23-32
Madera dura	43-47	25-35	16-24
Madera blanda	40-44	25-29	25-31
Tallo de maíz	35	25	35
Espiga de maíz	45	35	15
Algodón	95	2	0,3
Paja de trigo	30	50	15
Sisal	73,1	14,2	11
Paja de arroz	43,3	26,4	16,3
Forraje de maíz	38-40	28	7-21
Fibra de coco	36-43	0,15-0,25	41-45
Fibra de banano	60-65	6-8	5-10
Paja de cebada	31-45	27-38	14-19

2.1.1 Celulosa. La celulosa es la molécula biológica más abundante y constituye el mayor porcentaje de los biopolímeros en la tierra, siendo inclusive mayor que el de todos los demás juntos.³⁶ Su estructura es lineal y está formada por 2000 a 14000 unidades de β -(1,4) glucosa en cadenas no ramificadas (Figura 2), las cadenas de celulosa están unidas entre sí con enlaces tipo puente de hidrógeno. Es un biopolímero insoluble en agua que posee regiones con un alta cristalinidad, y otras donde el grado de cristalinidad es menor.³⁷

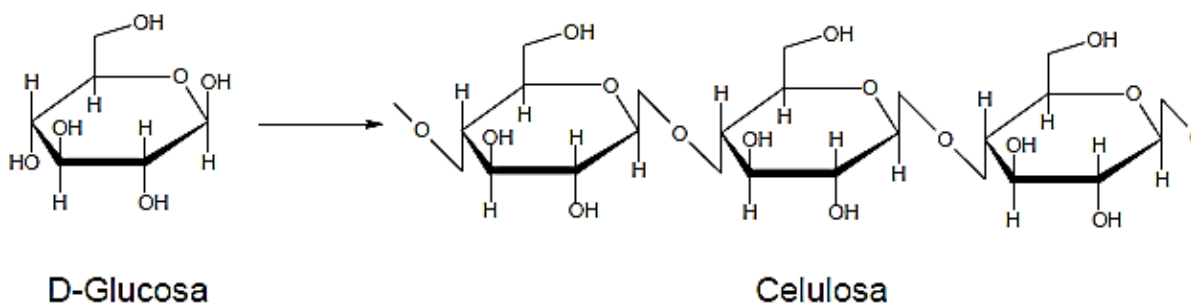


Figura 2. Estructura de la celulosa.³⁶

Las zonas que presentan elevada cristalinidad son difíciles de penetrar por disolventes y reactivos. Por el contrario, las zonas relativamente más desordenadas (amorfias) son más accesibles y más susceptibles a todas las reacciones químicas.³⁸

2.1.2 Hemicelulosa. La hemicelulosa es un heteropolisacarido compuesto por pentosas (como L-arabinosa y D-xilosa) y hexosas (como D-manosa, D-glucosa y D-galactosa) (Figura 3) y pequeñas cantidades de ácido glucurónico, y galacturónico. Se caracteriza por tener una configuración estructural amorfa y muy hidrofílica. La principal función de la hemicelulosa es enlazar la celulosa y la lignina.³⁹

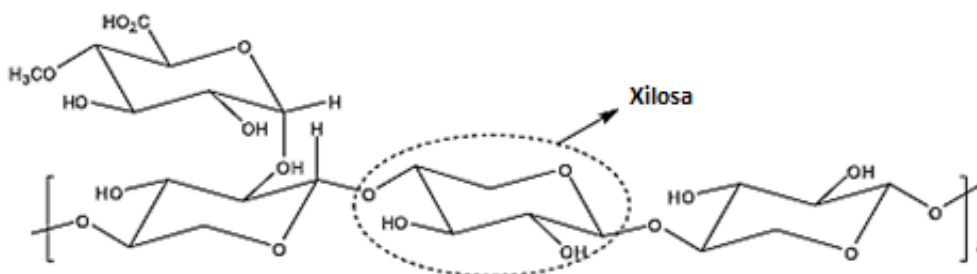


Figura 3. Estructura de la hemicelulosa.³⁹

2.1.3 Lignina. Es un polímero derivado de los grupos llamados fenilpropanoides unidades C_6C_3 o simplemente C_9 , repetidas de forma irregular, que tienen su origen en la polimerización deshidrogenativa del alcohol coniferílico. Las ligninas se forman a partir de tres precursores principales, que son el alcohol *p*-cumarílico, coniferílico y sinapílico (Figura 4). Se componen de unidades de *p*-hidroxifenilo (H), guayacilo (G), y siringilo (S) (Figura 5), en distintas proporciones, según su origen.⁴⁰ El propósito principal de la lignina es dar a la planta soporte estructural, impermeabilidad y resistencia contra el ataque microbiano y el estrés oxidativo. El heteropolímero amorfo es también insoluble en agua y ópticamente inactivo.⁴¹

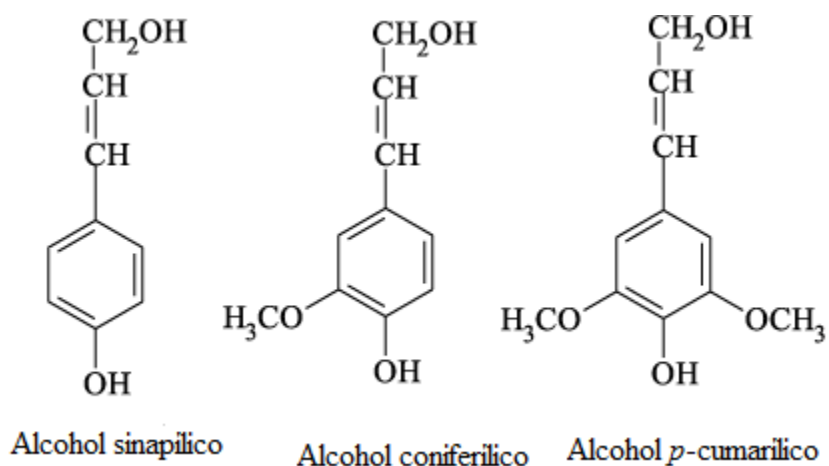


Figura 4. Precursores básicos en la formación de la molécula de lignina.⁴⁰

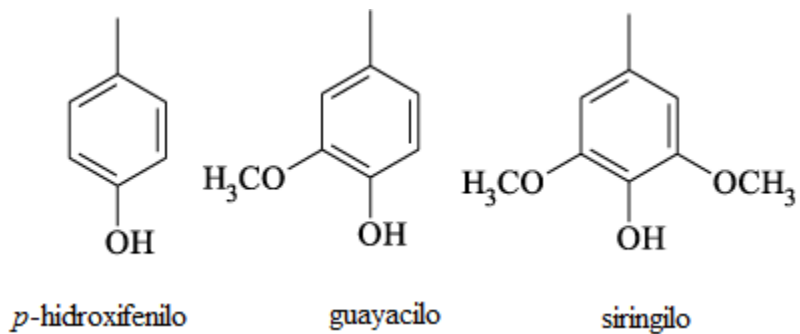


Figura 5. Principales unidades aromáticas presentes en la molécula de lignina.⁴⁰

2.1.4 Otros componentes: extractivos. Los extractivos son un grupo heterogéneo de sustancias que pueden extraerse de la biomasa por medio de disolventes polares y no polares. Ellos incluyen una variedad de compuestos orgánicos como ceras, alcaloides, proteínas, compuestos fenólicos simples y complejos, azúcares simples, pectinas, mucílagos, resinas, terpenos, almidones, glucósidos, saponinas, entre otros. La suma de estos componentes varía con cada tipo de material lignocelulósico, y representa aproximadamente un 5-20 % de todo el material.⁴²

2.2 LA CAÑA DE AZUCAR

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) tiene su origen genético en Nueva Guinea. La planta pertenece a la familia de las gramíneas (pastos). La caña es una planta C4 con alta eficiencia fotosintética (la cuota oscila entre 150 y 200% sobre la media de otras plantas). Es un cultivo duradero y muy autocompatible. Según variedad y condiciones locales, la planta forma entre 4 y 12 tallos que pueden crecer hasta 3-5 m de altura. El contenido de azúcar (sacarosa) oscila entre 11 y 16%.⁴³ La familia de las gramíneas tiene características como el tallo leñoso, lleno de un tejido esponjoso y dulce del que se extrae el azúcar; tiene hojas largas, lampiñas y flores purpúreas en panoja piramidal. Se puede reconocer el cultivo de caña por sus notables hojas verdes en la parte superior del tallo y sus hojas secas en la parte inferior de la planta (Figura 6).⁴⁴

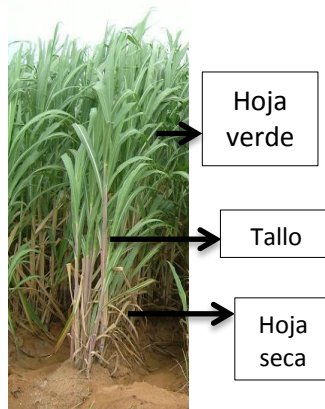


Figura 6. La caña de azúcar

Durante la cosecha de la caña de azúcar, las hojas y las tapas se dejan en el campo, mientras que los tallos son transportados a la fábrica donde son trituradas para extraer el jugo de azúcar para la producción de azúcar y etanol. Dos residuos principales son producidos por la industria de la caña de azúcar, la fracción fibrosa de extracción de zumo (llamado bagazo), y el residuo de la cosecha (paja).⁴⁵

Al igual que otros materiales lignocelulósicos, el bagazo y las hojas secas de caña de azúcar están compuestos principalmente de celulosa, hemicelulosa y lignina de las que se pueden obtener diversos productos, por ejemplo, etanol.³³

En Colombia, se plantó por primera vez en Santa María La Antigua del Darién en 1510. Dice la historia que Pedro de Heredia, fundador de Cartagena, introdujo la caña en la Costa Atlántica alrededor de 1533 y posteriormente Sebastián de Belalcázar, fundador de Santiago de Cali, la plantó en el Valle del Cauca, en su estancia en Yumbo en 1541.⁴⁴

La Asociación de Cultivadores de Caña de Azúcar de Colombia, ASOCAÑA, es una entidad gremial sin ánimo de lucro, fundada el 12 de febrero de 1959, cuya misión es representar al sector azucarero colombiano y promover su evolución y desarrollo sostenible. Hacen parte de Asocaña 13 ingenios azucareros: Cabaña, Carmelita, Manuelita, María Luisa, Mayagüez, Pichichí, Risaralda, Sancarlos, Tumaco, Castilla, Ríopaila, Incauca y Providencia; distribuidos en cinco departamentos: Cauca, Caldas, Risaralda, Quindío y el Valle del Cauca (Figura 7) están afiliados además un número importante de cultivadores de caña de azúcar de la región.⁴⁶



Figura 7. Sector azucarero en Colombia.⁴⁷

El cultivo de la caña de azúcar con destino a la producción de panela en Colombia se extiende en más de 25 departamentos, entre ellos Santander. La región geográfica de la Hoya del Río Suárez aporta a la producción de panela nacional cerca de 32% del total reportado (Dane, 2011) y sus rendimientos por unidad de área en caña y panela se clasifican como uno de los más altos de las zonas productoras de Colombia. Esta región representa cerca de 17% del área sembrada y su extensión supera según la encuesta nacional agropecuaria del 2011 las 45.904 hectáreas.⁴⁸

En la región geográfica del río Cauca (Valle del Cauca, Colombia), 232.070 hectáreas de caña de azúcar se cultivaron en el 2015,⁴⁷ lo que resulta en 19 millones de toneladas de material cosechado. Los residuos estimados a partir de la cosecha se calculan en aproximadamente 9 millones de toneladas (47,37% del peso total de caña), que consisten principalmente de tapas y hojas, que afecta a las actividades de rebrote de la caña y de trabajo de la cosecha como la fertilización y riego, pero proporcionar una cantidad significativa de materia orgánica en el suelo.⁴⁹ Los residuos de la molienda, ósea el bagazo de caña se estiman en 5 millones de toneladas.⁴⁷

El burning es una alternativa al problema de disposición final de estos residuos, pero causa un impacto ambiental negativo. Además, el potencial de estos materiales como una fuente importante de lignocelulosa y otros compuestos no se tiene en cuenta bajo el concepto de bio-refinería. Actualmente estos residuos son empleados en la producción de papel.⁴⁹

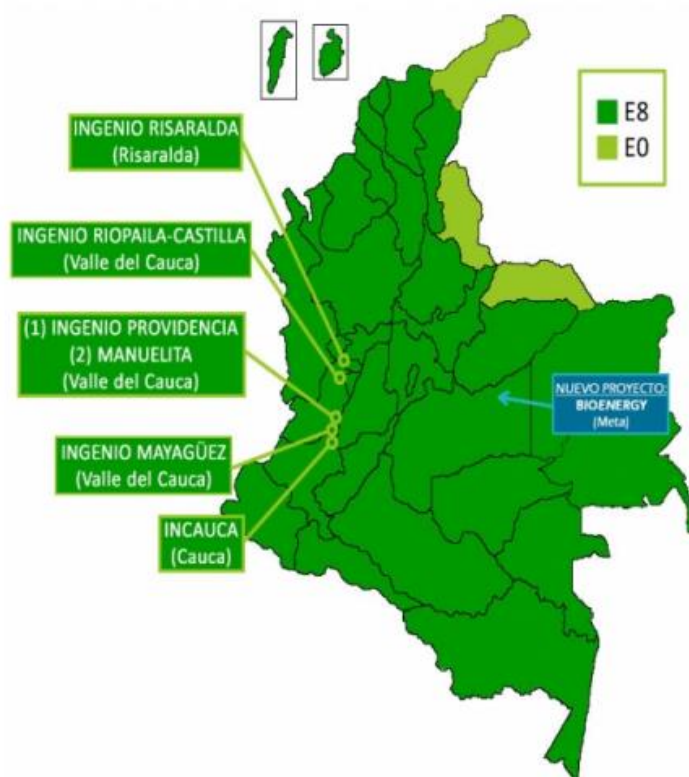


Figura 8. Destilerías de etanol en Colombia.⁵¹

La producción y derivados de la caña de azúcar constituyen una de las principales agroindustrias del país, que representa más del 1,3% del Producto Interno Bruto - en adelante, PIB- nacional, el 10% del PIB regional y el 41,6% del PIB agrícola. Además, tiene uno de los mayores rendimientos productivos: en caña (122 ton/ha) y azúcar (12 ton/ha); y, adicionalmente, la región presenta importantes desarrollos en investigación y biotecnología.⁵⁰ Para el 2015 se produjeron más de 456 millones de litros de etanol para una demanda interna creciente, debido a que las leyes están direccionadas y obligan a combinar la gasolina con etanol en un 10% en las principales ciudades (Figura 8).⁴⁷ Dicha cantidad aumentará en los próximos años, dados los múltiples estímulos del gobierno nacional para promover la producción, los cuales favorecen a los inversionistas con subsidios, exención de impuestos y beneficios, entre otros.⁵⁰

2.3 OBTENCIÓN DE ETANOL

El tratamiento de la biomasa para la obtención de etanol consiste en cuatro principales etapas: pretratamiento, hidrólisis, fermentación y separación de productos/purificación. Se requiere de un pretratamiento para modificar el tamaño de la estructura de la biomasa macroscópica y microscópica (Figura 6), así como su composición química y estructura sub-microscópica de modo que la hidrólisis de la fracción de carbohidratos a azúcares monoméricos se pueden lograr más rápidamente y con mayores rendimientos. La hidrólisis incluye los pasos de procesamiento que convierten los polisacáridos en azúcares monoméricos.⁵²

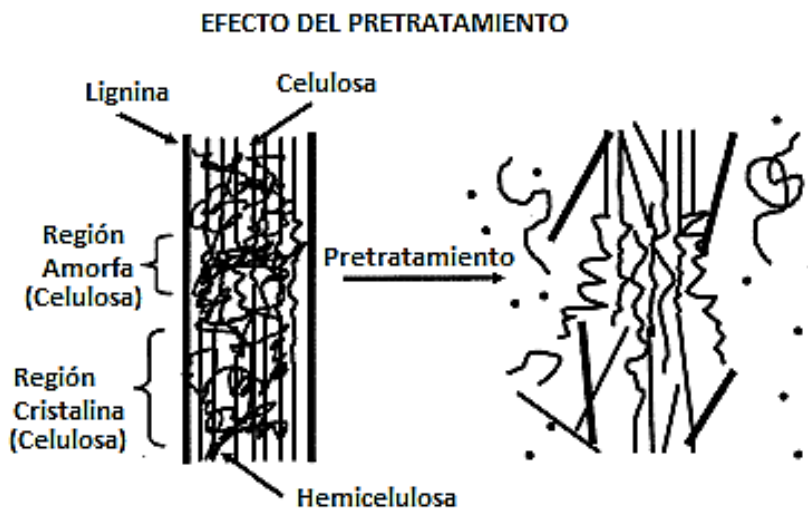
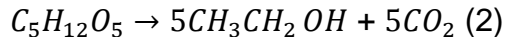
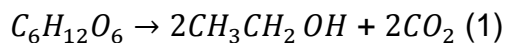


Figura 9. Efecto del pretratamiento en la biomasa.³³

La fermentación, es el método basado en el uso de cultivos de microorganismos que fermentan glucosa o xilosa directamente a etanol (Ecuación 1 y 2). Los microorganismos comúnmente empleados para la transformación de los azúcares presentes en los hidrolizados son la *E. Coli*, *Zymomonasmobilis*, *S. Cerevisiae* y *Pichiastipitis*.¹⁷



El etanol obtenido en el licor de la fermentación se encuentra en una mezcla de diversos compuestos, como biomasa, sales, agua e inhibidores. Se debe separar y preparar el etanol para que cumpla con las especificaciones que permitan su uso como combustible (99,5-99,9 % en etanol). Para remover el agua remanente y obtener el alcohol anhidro se presentan varios procesos para su separación. Algunos de ellos son: deshidratación química o al vacío, destilación azeotrópica, extractiva o por difusión, procesos de membranas o adsorción. Entre otros.¹⁷

A corto plazo la biomasa es la única fuente energética primaria adecuada y renovable que puede proporcionar combustibles de transporte alternativos como el etanol o biodiesel.⁵³ De todos los biocombustibles, el etanol ya se produce en una escala razonable. La mezcla con gasolina es posible y ya se utiliza comúnmente en una proporción de 10% de etanol y 90% de gasolina. Algunos vehículos adaptados pueden utilizar una mezcla de 85% de etanol y 15% de gasolina (E85, en los vehículos de combustibles flexibles) o incluso etanol 95% (E95). Además el etanol aumenta el octanaje, reduce compuestos orgánicos volátiles y las emisiones de partículas de gasolina.⁵⁴

2.4 TÉCNICAS INSTRUMENTALES

2.4.1 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).

Proporciona predicciones precisas de la composición química de la biomasa (grupos funcionales). Un espectro de FTIR divulga información acerca de las vibraciones fundamentales⁵⁵; esto se debe a que cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, su vibración intramolecular aumenta la intensidad al encontrar una frecuencia de radiación igual a la propia, lo que genera señales con frecuencias que corresponden a la vibración de un enlace específico. Además dicho espectro contiene una mayor separación entre señales similares y se obtiene de forma rápida, precisa y con relaciones Señal/Ruido (S/N) elevadas.⁵⁶

2.4.2 Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPCL).

En todas las separaciones cromatográficas, la muestra se desplaza con una fase móvil, que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico. Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria con la que es inmisible, y que se fija a una columna o a una superficie sólida. Las dos fases se eligen de tal forma, que los componentes de la muestra se distribuyen de modo distinto entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven lentamente con el flujo de la fase móvil; por el contrario los componentes que se unen débilmente a la fase estacionaria, se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas discretas que pueden analizarse cualitativa y/o cuantitativamente.⁵⁷

2.4.3 Difractometría de Rayos X (DRX). El fundamento de las técnicas de difracción se basa en la interacción de la estructura cristalina de un sólido con una fuente de rayos X, esta estructura cristalina está presente en muchos sólidos tanto naturales como artificiales y consiste en la repetición periódica de los átomos o moléculas que forman este sólido en las tres direcciones del espacio.

Sobre esta estructura tridimensional se pueden trazar infinitos planos paralelos donde cada uno de los cuales pasará por una serie puntos. Si cogemos uno de estos planos, a una cierta distancia existirá otro plano donde la distribución de puntos que corta será la misma, a la distancia entre estos dos planos se llama distancia interplanar “d”, tendremos infinitos planos paralelos a distancias múltiplos de “d”. Si por dos de estos planos de la estructura se hace incidir un haz de rayos X, se da el siguiente fenómeno: Si el frente de ondas que se difracta por el primer plano lo hace con un ángulo θ , el frente de ondas del segundo plano también se va difractar con un ángulo θ , con esta nueva trayectoria que se describe si los dos frentes no están en fase ocurre una interferencia destructiva y se anula uno al otro, pero si los dos salen en fase, hay una interferencia constructiva y el haz difractado no se anula y es detectable, esto ocurre cuando la diferencia de recorrido entre los dos frentes es un múltiplo de la longitud de onda λ y matemáticamente: $2d \sin\theta = n\lambda$ (Ley de Bragg), como cada familia de planos tiene una distancia d, vamos a detectar estos planos a diferentes ángulos, y los resultados serán diferentes según la estructura de lo que estemos midiendo, por lo que podemos caracterizar las fases que componen la muestra en base a los diferentes “picos” de detección que son en realidad las reflexiones de los planos de cada fase, para una rápida identificación se tienen tabulados los valores de las diferentes fases en fichas y se comparan con los resultados obtenidos.⁵⁸

2.4.4 Microscopia Electrónica de Barrido (MEB). Sirve para analizar la morfología de materiales sólidos de todo tipo, con excepción de muestras líquidas. La resolución nominal del equipo es de 3 nm lo cual permite estudiar características de los materiales a una escala muy pequeña. Con esta técnica es posible detectar los elementos químicos con número atómico mayor a 4 de manera cualitativa y semicuantitativa. Una de las grandes ventajas respecto a otro tipo de microscopía es la facilidad de preparación de muestras ya que sólo en casos especiales se puede tornar laboriosa.⁵⁹

2.5 MARCO DE ANTECEDENTES

Los residuos agroindustriales son los promotores de la obtención de biocombustibles de segunda generación; desde hace varios años numerosos estudios se han basado en los tipos de residuos, desde residuos particulares hasta la mezcla de ellos. En Colombia, las producciones agroindustriales más significativas del sector económico contribuyen a la búsqueda de nuevas materias primas para la producción de biocombustibles.

En el 2010, *Fonseca et.al.* Hace un estudio para evaluar la factibilidad de obtención de etanol a partir de los residuos vegetales generados por Corabastos

S.A., la cual se encuentra ubicada en el sector de Kennedy, Bogotá. El material fue separado y caracterizado de las bodegas y, posteriormente, fue sometido a un pretratamiento con el fin de hacer el lavado del material y disminuir el tamaño de partícula (< 1mm). Luego se sometió a un proceso de sacarificación en un sistema de reflujo con ácido sulfúrico 1:30 de diferentes concentraciones (2%, 4%, 6% y 8%) a diferentes tiempos de reacción (2 h, 4 h y 8 h) y T° de 150°C con agitación constante. El producto de la hidrólisis fue filtrado y ajustado a un pH entre 2 y 4,5 con hidróxido de sodio diluido. Posteriormente, se determinó el contenido de azúcares y etanol empleando el método 4.7.01 de la AOAC (Asociation of Official Analytical Chemical, 2000). Finalmente, la determinación de etanol se realizó basándose en la reacción óxido-reducción que ocurre entre el alcohol presente en 0,5 mL de muestra y una solución de dicromato de potasio. Se valoró por titulación con una solución de sulfato ferroso amónico (FAS), empleando ferroina como indicador de punto final. Los resultados obtenidos indicaron que se pueden obtener 40 L de etanol por tonelada de residuo.⁶⁰

El mismo año, la Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales, hace un importante estudio con los residuos de uno de los sectores agropecuarios más importantes del país; el sector cafetero.⁶¹

“Producción de etanol a partir de residuos provenientes del cultivo de café” es el nombre de la tesis de posgrado de Cristian Fernando Triana Caraton, de la Maestría de Ingeniería Química, en ella se evaluaron pretratamientos como LHW por sus siglas en inglés (Liquid Hot Water), y pretratamiento con ácido diluido, además de la selección de microorganismos aptos para la fermentación de los hidrolizados del residuo de café. Los resultados arrojaron valores positivos para el pretratamiento con ácido diluido frente al pretratamiento con LHW. En la evaluación de microorganismos aptos para la fermentación con tres cepas diferentes: *Candida lusitanae* ATCC 34449, *Pichia stipitis* NRRL Y-7124 y *Zymomonas mobilis* NRRL B-806 los mejores resultados los mostro la bacteria gram negativa *Zymomonas mobilis* NRRL B-806 con un rendimiento del 79 % del valor teórico. En el estudio también se muestran los resultados de la simulación hecha en ASPEN Plus, un software de procesos químicos donde muestra que la producción de etanol a partir de los residuos del cultivo de café es rentable si se utiliza el pretratamiento con ácido diluido y un sistema de cogeneración de energía a partir de la lignina y la fibra no hidrolizada en la hidrólisis enzimática.⁶¹

En el 2011, Tejeda et.al estudio el aprovechamiento de los residuos de poda para producir biocombustibles. Llevaron a cabo la hidrólisis del material lignocelulósico contenido en lo residuos de poda de la Fundación Universitaria Tecnológico Comfenalco en la ciudad de Cartagena con el fin de producir jarabes glucosados para, potencialmente, ser convertidos en bioetanol. Se aplicaron dos metodologías: la hidrólisis acida, usando ácido sulfúrico diluido y la hidrólisis enzimática, con enzimas celulasas (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados hidrolisis acida

Generación de glucosa	Tallos	Hojas	Florez
Glucosa inicial (g/L)	3,84	13	30
Glucosa final (g/L)	10,77	16,85	30,46
Glucosa producida (g/L)	6,93	3,81	0,46
% Rendimiento	16	13	2

La investigación obtuvo una mayor conversión con la hidrolisis acida de todas las muestras (entre 10 y 30g/L de glucosa) que con la hidrolisis enzimática de los residuos mezclados (8,83g/L de glucosa).⁶²

En el 2013, Martínez y Montoya analizaron de forma preliminar la producción de etanol a partir de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (RSU). Desarrollaron pruebas a escala de laboratorio a partir de una muestra sintética producida según D. J. Martin et al. (1997) en un reactor con agitación y recirculación constante. Los resultados indicaron que tras colocar la RSU en el reactor con agitación y recirculación, obtuvieron una mezcla con suficiente contenido de materia orgánica (DBO de 16100 mg/l) para la realización de la fermentación anaerobia; los análisis de las concentraciones reportaron crecimiento de los organismos productores de etanol y la producción del mismo. El rendimiento en la producción de etanol alcanzado fue de 0.5 g/g de glucosa para el tiempo de prueba de cerca de 35 horas.⁶³

En el 2014, Muñoz et.al determinó las propiedades térmicas, fisicoquímicas y morfológicas de muestras con bagacillo de caña, polvillo de fique y afrecho de yuca y sus mezclas (Tabla 3).⁶⁴

Tabla 3. Composición de muestras (Bagacillo de caña, polvillo de fique y afrecho de yuca)

Muestra	Bagacillo de caña	Polvillo de fique	Afrecho de yuca
M1	100%	-	-
M2	-	100%	-
M3	-	-	100%
M4	33,33%	33,33%	33,33%
M5	10%	45%	45%
M6	10%	30%	60%
M7	10%	60%	30%

Los ensayos se realizaron con los protocolos de los laboratorios de combustibles y combustión de la Universidad del Valle, laboratorio de forrajes del CIAT y laboratorio de operaciones unitarias, laboratorio de microscopía óptica y análisis industriales de la Universidad del Cauca. Se aplicaron los procedimientos de la

norma ASTM. Las cantidades de celulosa, hemicelulosa y lignina en cada una de las muestras sin y con pre-tratamiento (autoclave o autoclave más bisulfito de sodio), se cuantificaron con el método Van Soest. La caracterización morfológica se realizó, con la técnica de tinciones para células vegetales.

Los resultados arrojaron que por las características térmicas, físicas, químicas y morfológicas, todas las muestras M1 a M7, tienen posibilidad de ser hidrolizadas, M1, M2 y M3 densificadas y M1, M2 y M6 aprovecharse como biocombustible y/o biorefinería. El polvillo de fique, pretratado con inyección de vapor, hidrolizado con la enzima Alternafull, fermentado y destilado, es rico en el componente etanol (95% en promedio), con un rendimiento estimado de 1mL de etanol por 1,66 g de polvillo de fique. Por lo tanto el polvillo de fique, representa una fuente no convencional de energía apta, para iniciar el desarrollo de las energías renovables en el Departamento del Cauca.⁶⁴

En el 2015 se realizó un estudio titulado “Caracterización de la biomasa de *Agave* y *Opuntia* como potenciales materias primas para biocombustibles.” El estudio se llevó a cabo con base a métodos analíticos estándar del Laboratorio Nacional de Energía Renovable (NREL) donde se compararon constituyentes de las especies *Agave Tequilana* y *Opuntia Ficus*.

La especie *Agave Tequilana* mostró mayores fracciones de los constituyentes solubles en agua, carbohidratos estructurales (43.8%) que la especie *Opuntia Ficus* (36.3%). Ambas especies tuvieron fracciones de lignina (13, 12 %) menores que la mayoría de materias primas de biomasa leñosa. Sin embargo los porcentajes de humedad y cenizas fueron mayores. También se realizó análisis por RMN donde se obtuvieron altos valores de peso de celulosa amorfa, lo que indico que las materias primas son mucho menos recalcitrantes para su deconstrucción que las biomásas tradicionales.⁶⁵

En el 2016, Bhooshan desarrolló un proceso de irradiación por microondas utilizando un catalizador solido ($H_4SiW_{12}O_{40} \cdot nH_2O$, HSiW) para la producción de glucosa a partir de residuos de la cascara de la papa. Se recolecto la muestra de los residuos de piel de papa de las cocinas y se evaluó también la conversión directa de una muestra pura de almidón. Para la hidrolisis se tomó de 0,1 a 0,5 g de residuos de piel de la papa, de catalizador 0,5 a 2,5 g de HSiW y porciones de agua entre 10 a 50 ml, se recolecto en un matraz de redondo con una temperatura de 109°C.

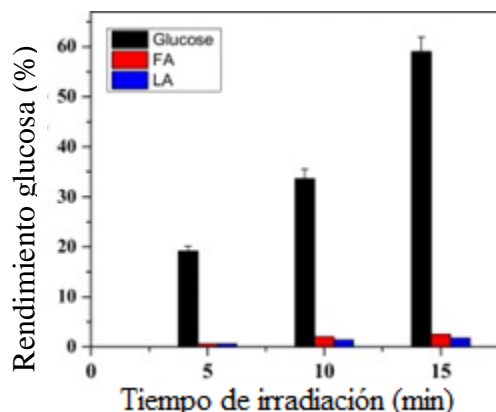


Figura 10. Análisis por HPLC del hidrolizado de cáscara de papa llevadas a cabo en diferentes tiempos de irradiación de microondas.⁶⁶

El hidrolizado fue analizado por ^{13}C RMN y se evaluó la estabilidad del catalizador por medio de DRX, finalmente se usó HPLC con detector de índice de refracción (RID-10A) para cuantificar los componentes del hidrolizado. Se concluyó que la conversión completa de almidón a glucosa se podría lograr en 5 min con catalizador HSiW, y para residuos de piel de papa se lograría en 15 min.

Estos son unos de los muchos estudios que demuestran que en Colombia se están buscando alternativas para la valorización y disposición final de los residuos agroindustriales, debido a su disponibilidad desde este sector. Es por esto que esta investigación quiere seguir la línea de estudio de los residuos agroindustriales en Colombia para la obtención de biocombustibles.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La materia prima o biomasa fue suministrada por la finca Borosur, Municipio de Piedecuesta, Santander (Figura 12).



Figura 11. Bagazo y hojas secas frescas de caña de azúcar

3.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICA LA MUESTRA

3.2.1 Contenido de Humedad. Antes de ser almacenados, el bagazo y las hojas secas se secaron al sol por dos días y posteriormente se almacenaron en bolsas plásticas herméticas fechadas.

Para determinar el contenido de humedad se tomó 1 g del material y se secó en el horno a 105°C por 12, 8 y 4 h. Los análisis se realizaron por triplicado. Para el cálculo (Ecuación 3) se empleó el método NREL/TP-510-42621.⁶⁷

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(M_h - M_s)}{M_h} \times 100 \quad (3)$$

Donde M_h representa el peso húmedo de la muestra y M_s representa el peso seco de la muestra.

3.2.2 Distribución del tamaño de las partículas Luego de realizar el secado, se realizó la reducción de tamaño de las muestras utilizando un molino de cuchillas para desarrollar dos moliendas al material, en la primera se pasó el material por una malla de 2 mm y en la segunda, por una malla de 1 mm. Posteriormente, se realizó una separación granulométrica por medio de una serie de tamices con mallas de diferentes aberturas. Se pesó 100 g de cada muestra y se llevaron a la parte superior del tamizador vibratorio donde se dejó por 10 min mientras cada muestra pasaba por los tamices de N° 40, 60 y 80 según la clasificación ASTM, al terminar este tiempo se pesaron los tamices y el fondo para determinar la masa retenida por cada tamiz. Con los valores de las masas retenidas se calcula la fracción másica y el diámetro medio de partícula. Este proceso se realizó por triplicado. Para el cálculo (Ecuación 4 y 5) se empleó el método NREL/TP-510-42620.⁶⁸

$$\% \text{ Fracción Masica} = \left(\frac{M_{t+1} - M_t}{M_m} \right) * 100 \quad (4)$$

Donde M_{t+1} representa la masa de las partículas retenidas por el tamiz en gramos, M_t representa el peso del tamiz vacío y M_m representa el peso de la muestra inicial.

$$\overline{Dmp} = \frac{Dt_{-1} + Dt}{2} \quad (5)$$

Donde Dmp representa el diámetro medio de las partículas, Dt_{-1} representa el diámetro del tamiz anterior y Dt representa el diámetro del tamiz actual.

3.2.3 Contenido de cenizas. Las cenizas son el resultado de la combustión del material, son los minerales que prevalecen después de la calcinación. Y generalmente están compuestos por potasio, azufre, cloro y sílice.

Inicialmente se pesó 1 g de la muestra, se llevó a una mufla y se programó una rampa de temperaturas (105, 250 y 575 °C). Este proceso se realizó por triplicado. Para el cálculo (Ecuación 6) se empleó el método NREL/TP-510-42622.⁶⁹

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{M_c - M_a}{ODW} * 100 \quad (6)$$

Donde M_c representa el peso del crisol con la masa de cenizas en y M_a representa el peso vacío del crisol y el ODW es el peso seco del horno.

Se debe calcular el peso seco de horno (ODW) de la muestra, usando el contenido de sólidos totales promedio determinado por el método NREL/TP-510-42621.⁶⁷ Para lo cual se emplea la Ecuación 7.

$$ODW = \frac{M_s * \% \text{ Sólidos totales}}{100} \quad (7)$$

Donde M_s representa el peso del material seco (g).

3.3 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA LA MUESTRA

3.3.1 Determinación del contenido de extractivos. Los extractivos se definen como un amplio rango de compuestos que son separados de los materiales vegetales con disolventes. Los compuestos solubles en agua pueden incluir material inorgánico, azúcares no estructurales y material nitrogenado entre otros. Los compuestos solubles en etanol incluyen la clorofila, ceras, u otros componentes menores.⁷⁰ Para la determinación del contenido de sustancias extraíbles en agua y etanol se empleó un equipo de extracción soxhlet, para aproximadamente 7 g de muestra y 185 ml de solvente. Este proceso se realizó por triplicado. Para el cálculo (Ecuación 8) se empleó el método NREL/TP-510-42619.⁷⁰

$$\% \text{ extractivos} = \left(\frac{M_i - M_f}{M_i} \right) * 100 \quad (8)$$

Donde M_i representa el peso del material inicial (g) y M_f representa el peso final de los extractivos libres del material (g).

3.3.2 Determinación de lignina soluble, insoluble y azúcares. Los carbohidratos y la lignina constituyen la mayor porción de las muestras de biomasa. Los carbohidratos pueden ser estructurales o no estructurales. Los estructurales están enlazados en la matriz de la biomasa, mientras que los no estructurales pueden ser removidos usando extracción o lavados.⁷¹

Estos tres análisis se realizaron utilizando la metodología del “Laboratorio Nacional de Energía Renovable” por sus siglas en inglés NREL (2008). Para sus cálculos se tuvo en cuenta las ecuaciones mencionadas en cada análisis.

Inicialmente se realizó una hidrólisis ácida fuerte (Ácido sulfúrico al 72% en peso, durante 60 minutos a 40°C con agitación constante) a una alícuota de 300mg de muestra y posteriormente se realizó a esta misma muestra una hidrólisis ácida diluida (Ácido sulfúrico al 4%, durante 60 minutos a 121°C en autoclave). El hidrolizado se filtra obteniéndose dos fracciones.

3.3.3 Determinación de lignina insoluble en ácido. La fracción sólida fue llevada a una mufla a 575°C, donde fue calcinada. A partir de los resultados obtenidos fue posible calcular el porcentaje en peso del residuo insoluble en ácido (AIR) y lignina insoluble en ácido (AIL) con base a la muestra libre de extractivos. Este proceso se realizó por triplicado. Para el cálculo (Ecuación 9 y 10) se empleó el método NRELL/TP-510-42618.⁷¹

$$\% AIR = \frac{\text{Peso crisol} + \text{AIR} - \text{Peso crisol}}{M_b} \quad (9)$$

$$\% AIL = \frac{\text{Peso pf} + \text{AIL} - \text{Peso pf}}{M_b} - \frac{\text{Peso crisol} + \text{AIR} - \text{Peso crisol}}{M_b} * 100 \quad (10)$$

Donde M_b representa el peso del material seco (g), Peso pf representa el peso del papel filtro (g) y $\text{Peso pf} + \text{AIL}$ representa el peso del papel filtro más la lignina insoluble seca (g).

3.3.4 Determinación de lignina soluble en ácido. La fracción líquida fue empleada para determinar la lignina soluble en ácido, a partir de un espectrofotómetro UV, donde se midió la absorbancia a una longitud de onda adecuada (Tabla 4).

Tabla 4. Longitud de onda y adsortividad recomendada para el bagazo y hojas secas

Material	Longitud de onda recomendada (nm)	Adsorividad a la longitud de onda recomendada (ϵ) (L/(g*cm))
Bagazo	240	25
Hojas secas	240	25

Este proceso se realizó por triplicado. Para el cálculo (Ecuación 11) se empleó el método NRELL/TP-510-42618.⁷¹

$$\%ASL = \frac{UV_{abs} * Volumen\ filtrado * Dilucion}{\epsilon * Mb} \quad (11)$$

Donde U_{vabs} es la absorbancia a la que se midió el hidrolizado (280 nm), Volumen del filtrado el volumen que se tomó (87 ml), la dilución (10 a 15 respectivamente), ϵ es la adsorptividad correspondiente a la longitud de onda y M_b es el peso de la muestra seca.

Para determinar el contenido de lignina total libre de extractivos, se suma la lignina soluble en ácido (ASL) junto con la lignina insoluble en ácido (AIL) como muestra la Ecuación 12.

$$\% Lignina\ total = \% ASL + \% AIL \quad (12)$$

3.3.5 Determinación de carbohidratos por HPLC. La fracción líquida fue empleada también para la determinación de los carbohidratos estructurales. Se tomaron alícuotas de 50 mL de la solución y se refrigeraron hasta el momento del análisis de carbohidratos. Se llevó un pH de 5-6, empleando carbonato de calcio. Se centrifugaron y filtraron para ser analizadas por HPLC para xilosa y glucosa, arabinosa y celobiosa.

Se prepararon las respectivas curvas de calibración por triplicado para la determinación de cada azúcar por medio de la ecuación de la recta. Se utilizó una columna ZORBAX carbohidratos 4.6 x 150 mm – 5 micrómetro. (Fase móvil acetonitrilo-agua 75:25, flujo 1.4 mL/min, tiempo 6 min, T° columna 30°C, T° detector 30°C presión 400 bar). Una vez obtenidos estos valores se pasaron las muestras y a partir de la Ecuación 13 se calcula la concentración de los azúcares poliméricos por medio de la concentración de los correspondientes azúcares monoméricos, usando una corrección anhidra de 0.88 ó 132/150 para los azúcares C-5 (Xilosa y arabinosa), una corrección de 0.9 o 162/180 para los azúcares C-6 (Glucosa, galactosa y manosa).⁷¹

Se determinaron los carbohidratos por medio de la metodología descrita por NRELL/TP-510-42623 (2008). Para calcular el porcentaje de azúcares, se empleara la siguiente Ecuación 13.

$$\% azúcares = \left(\frac{C_{HPLC} * C_A * V_{filtrado}}{M_b} \right) * 100 \quad (13)$$

Dónde:

C_{HPLC} = Concentración de azúcar cuantificado por HPLC g/L

C_A = Corrección anhidra (0,88 o 0,9)

$V_{filtrado}$ = Volumen hidrolizado del filtrado

M_b = Peso de la muestra seca (g)

3.3.6 Análisis de materiales lignocelulósicos de microscopía electrónica de barrido (MEB). La microscopía electrónica de barrido proporciona información morfológica y topográfica sobre la superficie de los sólidos.⁵⁷ Este análisis se llevó a cabo para observar la superficie de las fibras del bagazo y las hojas secas de la caña. Las muestras de bagazo y hojas secas de caña se fijaron en un soporte con cinta de carbono y aluminio (stubs) y se recubrieron metálicamente con 10 nm de fibra de oro. El equipo está en el Laboratorio de microscopía del Parque Tecnológico de Guatiguara

3.3.7 Análisis de materiales lignocelulósicos difracción de rayos x (DRX). Este análisis se realizó con el fin de evidenciar el estado de la cristalinidad del bagazo y las hojas secas. Las muestras debidamente secas y molidas se prepararon para el análisis de Difractometría de rayos X, utilizando un difractómetro de rayos X, con un tubo de cobre generador de rayos X con filamento de wolframio ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) y monocromador de grafito en intervalo angular de 5° a 80° (ángulo de Bragg - 2θ), paso angular de 0.05° y tiempo de conteo de 1 s. El equipo está en el Laboratorio de difracción de rayos X del Parque Tecnológico de Guatiguara

$$I_c = \left(\frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \right) * 100$$

Dónde:

I_c = índice de cristalinidad (%)

I_{002} = Intensidad del pico en el plano cristalino 002 ($2\theta = 22,6^\circ$)

I_{am} = Intensidad del pico en la fase amorfa ($2\theta = 19,0^\circ$)

3.3.8 Análisis de espectroscopia infrarroja por transformación de Fourier (FTIR). Se utilizó el análisis FTIR para detectar la presencia de los principales grupos orgánicos que constituyen la estructura lignocelulósica. El análisis se llevó a cabo en el intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} usando un espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

El bagazo y las hojas secas de la caña de azúcar suministradas por la finca Borosur, Municipio de Piedecuesta, Santander, se prepararon para ser analizadas. En bolsas plásticas herméticas se separaron porciones de la biomasa y dos mezclas de ellas (90/10 bagazo/hojas secas y 50/50 bagazo/hojas secas.)

4.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICA LA MUESTRA

4.2.1 Contenido de Humedad. La biomasa y las dos mezclas de ellas fueron secadas en un horno a una temperatura de $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 12, 8 y 4 horas. El contenido de humedad de las muestras se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Contenido de humedad de las muestras

Muestra	% Humedad	% S.T
Bagazo	$7,88 \pm 0,26$	92,12
Hojas secas	$9,45 \pm 0,31$	90,55
90(B)/10(H)	$3,99 \pm 0,00$	96,01
50(B)/50(H)	$4,73 \pm 0,00$	95,27

4.2.2 Distribución del tamaño de las partículas. Después del secado, se realizó una separación granulométrica a la biomasa (bagazo y hojas) por medio de una serie de tamices (Ilustración 1 y 2) con mallas de diferentes aberturas.



Ilustración 1. Granulometría de hojas secas



Ilustración 2. Granulometría del bagazo

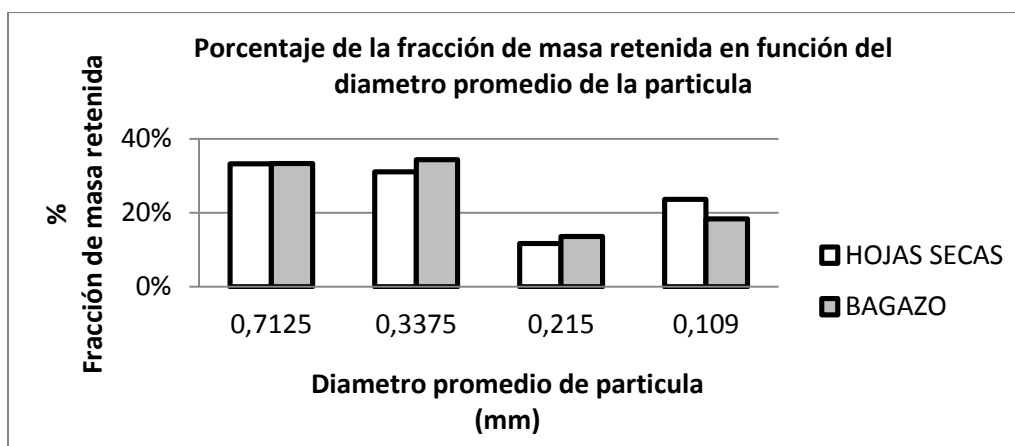
Se pesó 100 g de cada muestra y se llevaron a la parte superior del tamizador vibratorio donde se dejó por 10 min mientras cada muestra pasaba por los tamices de N° 40, 60 y 80 según la clasificación ASTM, al terminar este tiempo se pesaron los tamices y el fondo para determinar la masa retenida por cada tamiz. El análisis se realizó por triplicado y el valor promedio de estos resultados se muestra en la Tabla 6.

N° Tamiz	Diámetro tamiz (mm)	HOJAS SECAS			BAGAZO		
		% Fracción de masa retenida	Diámetro promedio de las partículas (mm)	% Fracción de la masa acumulada	% Fracción de masa retenida	Diámetro promedio de las partículas (mm)	% Fracción de la masa acumulada
40	0,43	33,28	0,71	100,00	33,38	0,71	100,00
60	0,25	31,10	0,34	66,72	34,42	0,34	66,62
80	0,18	11,75	0,22	54,97	13,63	0,22	52,98
Fondo	<0,180	23,63	0,11	23,63	18,35	0,11	18,35

Tabla 6. Distribución del tamaño de las partículas de la biomasa

De estos valores se representó el gráfico del porcentaje de la fracción de masa retenido en función del diámetro promedio de partícula como se muestra en la Grafica 1.

Gráfica 1. % de la fracción de masa retenida en función del diámetro promedio de la partícula



Se observa que la mayoría las hojas utilizadas en los experimentos después del proceso de molienda, cerca del 33,283% tiene un diámetro medio de 0,712 mm; no muy lejano del 31,100% que corresponde a un diámetro medio de 0,337 mm. Con respecto a lo anterior, el diámetro de partícula de la mayor parte del material comprende un rango valores de 0,712 mm a 0,337 mm.

De igual forma, la mayoría del bagazo empleado en este experimento, un 34,417% corresponde a un diámetro de 0,337 mm un valor que tampoco es muy lejano del segundo, con un 33,383% y un diámetro de 0,712 mm. Se concluye entonces, que los materiales empleados en el experimento, ambos tienen un diámetro promedio de partícula entre el 0,712 y 0,337 mm en un porcentaje de aproximadamente 67%.

4.2.3 Contenido de cenizas. En la Tabla 7 se muestran los valores del porcentaje de cenizas calculados para las muestras analizadas.

Tabla 7. Contenido de cenizas de las muestras

Muestra	% Cenizas
Bagazo	1,68 ± 0,05
Hojas secas	10,74 ± 0,39
90(B)/10(H)	2,46 ± 0,10
50(B)/50(H)	5,73 ± 0,36

Se observa que de todas las muestras, las hojas secas tienen una mayor cantidad de cenizas (10,74%) en comparación con el resto del grupo. Esto se puede explicar por la cercanía de las hojas secas al suelo. Las hojas secas ubicadas en la parte interior de la planta rozan con varios materiales con altos contenidos de sulfatos, oxalatos, carbonatos y silicatos que le aportan un mayor contenido de cenizas. La arena puede ser perfectamente uno de estos materiales.³³

Por otro lado, el menor contenido de cenizas (1,68%) se le atribuye al bagazo, valor que puede ser entendido por ser un material que se encuentra en la mitad de la planta. Además después del proceso de molienda es almacenado en bodegas de donde es recogido.

El alto contenido de sustancias inorgánicas está relacionado a escala industrial con las incrustaciones en las calderas en la producción de los biocombustibles.⁷² Materias primas con alto contenido de estas sustancias obedece a mayores mantenimientos anuales por los problemas en la operación de la maquinaria. Por ende, menor producción y mayores costes por mantenimientos. En este caso, el alto contenido de cenizas en las hojas secas limita su uso particular en la obtención de etanol. Debe por tanto estudiar la mezcla con una materia prima con un menor contenido de estas sustancias.

4.3 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA LA MUESTRA

4.3.1 Determinación del contenido de extractivos. Para la determinación del contenido de sustancias extraíbles en agua y etanol se empleó un equipo de extracción soxhlet, para aproximadamente 7 g de muestra y 185 ml de solvente. Este proceso se realizó por triplicado. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Contenido de extractivos con agua-etanol

Muestra	% Extractivos (agua- etanol)
Bagazo	27,39 ± 0,93
Hojas secas	22,92 ± 1,9
90(B)/10(H)	31,34 ± 0,73
50(B)/50(H)	27,22 ± 0,81

De la tabla anterior se puede observar que la muestra con un porcentaje mayor de extractivos (31,34%) es la mezcla 90(B)/10(H) y la de menor porcentaje (22,92%) son las hojas secas. Según la literatura, el contenido de extractivos constituye el 4-1% del peso seco de las especies de biomasa en climas templados. Sin embargo en especies de biomasa tropical puede variar desde 20%.⁴² Esto explicaría los contenidos elevado de extractivos en las muestras.

4.3.2 Determinación de lignina soluble e insoluble en ácido. En la Tabla 9 se presentan los resultados obtenidos para el residuo insoluble en ácido (%AIR), lignina insoluble en ácido (%AIL), lignina soluble en ácido (%ASL).

Tabla 9. Contenido de lignina soluble e insoluble en ácido en las muestras

Muestra	%AIR	%AIL	%ASL	%LT
Bagazo	35,86 ± 0,35	26,70 ± 1,12	0,02 ± 0,0	26,70 ± 1,12
Hojas secas	26,73 ± 1,31	13,80 ± 0,89	0,01 ± 0,0	13,81 ± 0,89
90(B)/10(H)	33,74 ± 1,24	28,30 ± 1,12	0,01 ± 0,0	28,31 ± 1,12
50(B)/50(H)	31,7 ± 0,96	24,15 ± 0,30	0,01 ± 0,0	24,14 ± 0,30

Se observa que la muestra con mayor contenido de lignina es la mezcla 90(B)/10(H) con un 28,31% y la de menor contenido son las hojas secas con un 13,81%. A continuación se comparan los resultados (Tabla 10) de este estudio con otras investigaciones.

Tabla 10. Comparación contenido de lignina con otras investigaciones

Muestra	% LT (Presente estudio)	% LT (⁷³ Bagazo)	% LT (⁷⁴ Bagazo)	% LT (⁷⁵ Hojas y cogollos)	% LT (⁷⁶ Palha de cana)
Bagazo	26,7 ± 1,12	25,2 ± 1,10	23,9 ± 1,70		
Hojas secas	13,8 ± 0,89			21,2 ± 0,40	24,09 ± 0,08

Se puede apreciar que el contenido de lignina presente en el bagazo del estudio actual es similar (Tabla 10) a contenidos de otras investigaciones. El rango de similitud se encuentra de 23% a 27% con un 4% de diferencia. Para el caso de las hojas secas se aprecia un mayor porcentaje para los estudios comparativos, esto puede deberse a las metodologías que emplean ácido para su determinación, ya que esta afecta en mayor medida a la lignina y la hemicelulosa.¹⁷ Se concluye que los valores determinados en este estudio son aceptables para el bagazo en comparación con otras investigaciones.

4.3.3 Determinación de carbohidratos por HPLC. Para la determinación y cuantificación de carbohidratos por cromatografía líquida de alta eficiencia se hallaron los tiempos de retención característicos de los azúcares analizados. Se pasaron inicialmente muestras madres de glucosa, xilosa, arabinosa y celobiosa, a una concentración de 20 g/L como se muestra en la (Tabla 11). La determinación y cuantificación de la celobiosa se hace para evidenciar que la hidrólisis haya sido satisfactoria y así evidenciar la total degradación de celobiosa a glucosa.

Tabla 11. Muestras madres de los azúcares

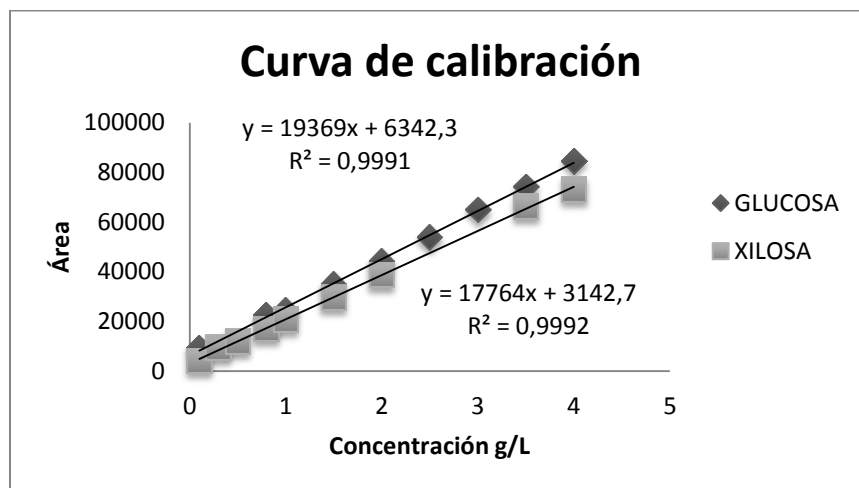
Azúcar	Tiempo de retención (min)
Glucosa	3,40 ± 0,02
Xilosa	2,72 ± 0,01
Celobiosa	4,87 ± 0,06
Arabinosa	2,96 ± 0,01

Como se puede observar en la Tabla 12, para la determinación y cuantificación de los azúcares mencionados, se realiza una curva de calibración por triplicado en un rango de puntos desde 0,1 g/L hasta 4 g/L, y en donde se evidencia la señal correspondiente a los 3.40, 2.72, 4.87 y 2.96 minutos para la glucosa, xilosa, celobiosa y arabinosa.

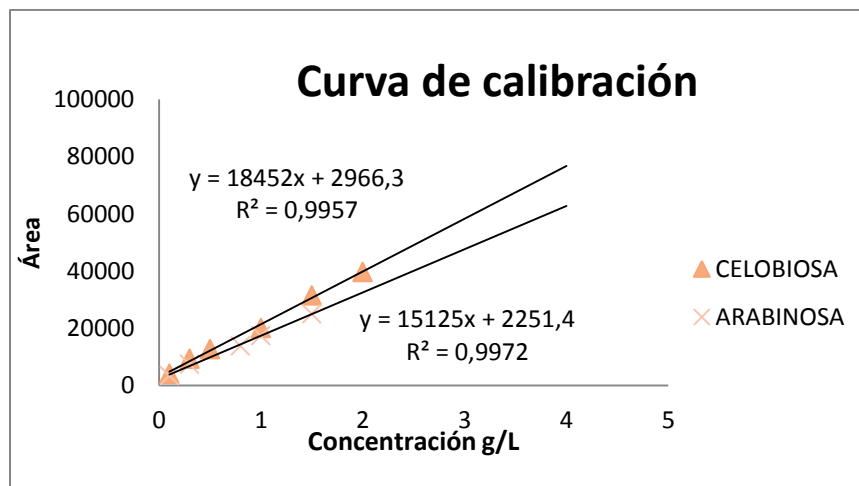
Tabla 12. Puntos para las curvas de azúcares

GLUCOSA		XILOSA		CELOBIOSA		ARABINOSA	
g/L	Área	g/L	Área	g/L	Área	g/L	Área
0,1	9374,87	0,1	4237,05	0,1	4131,33	0,1	3442,77
0,8	22361,56	0,3	9569,27	0,3	9322,63	0,3	7431,65
1	24719,55	0,5	11869,63	0,5	12711,35	0,5	-
1,5	35134,33	0,8	17075,53	0,8	-	0,8	13840,36
2	44334,76	1	20775,5	1	20084,55	1	17449,2
2,5	53842,03	1,5	29697,63	1,5	31551,40	1,5	25056,63
3	64951,26	2	38720,9	2	39639,50	2	-
3,5	74236,56	3,5	66417,76	3,5	-	3,5	-
4	84514,53	4	73285,13	4	-	4	-

Los valores anteriores son graficados para obtener una curva de calibración como se muestra en la Grafica 2



Gráfica 2. Curva de calibración glucosa y xilosa



Gráfica 3. Curva de calibración celobiosa y arabinosa

En la Gráfica 2 se muestra la ecuación de la curva para la glucosa $y=19369x+6342,3$ y coeficiente de correlación de 0,9991 y para la xilosa se muestra la ecuación de la curva $y=17764x+3142,7$ y el coeficiente de correlación de 0,9992. Después de pasar las curvas de calibración se pasaron las muestras y con ayuda de las ecuaciones de la recta y usando una corrección anhidra de 0.88 ó 132/150 para los azúcares C-5 (Xilosa), una corrección de 0.9 o 162/180 para los azúcares C-6 (Glucosa) se obtuvo el contenido celulosa y hemicelulosa. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 13.

En la Gráfica 3 se muestra la ecuación de la curva para la celobiosa $y = 18452x + 2966,3$ y coeficiente de correlación de 0,99571 y para la arabinosa se muestra la ecuación de la curva $y = 15125x + 2251,4$ y el coeficiente de correlación de 0,9972. Una vez analizadas las muestras, se encontró que no había presencia de celobiosa en ellas. Ya que la celobiosa es la molécula compuesta por unidades de glucosa, era un resultado a esperar. La hidrólisis rompe los enlaces en la celobiosa para así poder cuantificar toda la glucosa de la muestra.

Tabla 13. Resultados obtenidos de celulosa y hemicelulosa

Muestra	% Celulosa	% Hemicelulosa
Bagazo	32,57 ± 1,10	6,50 ± 0,43
Hojas secas	31,90 ± 1,19	13,67 ± 0,88
90(B)/10(H)	24,94 ± 1,24	4,99 ± 0,66
50(B)/50(H)	34,60 ± 0,88	11,43 ± 0,78

Se puede observar según la Tabla 13. Que las muestras con mayor contenido de celulosa y hemicelulosa son la mezcla 50(B)/50(H) y las hojas secas con un 34,6% y 13,67% respectivamente. De igual forma, la muestra con menor contenido de celulosa y hemicelulosa es la mezcla 90(B)/10(H). A continuación se comparan los resultados del estudio actual con otras investigaciones Tabla 14.

Tabla 14. Comparación resultados celulosa-hemicelulosa

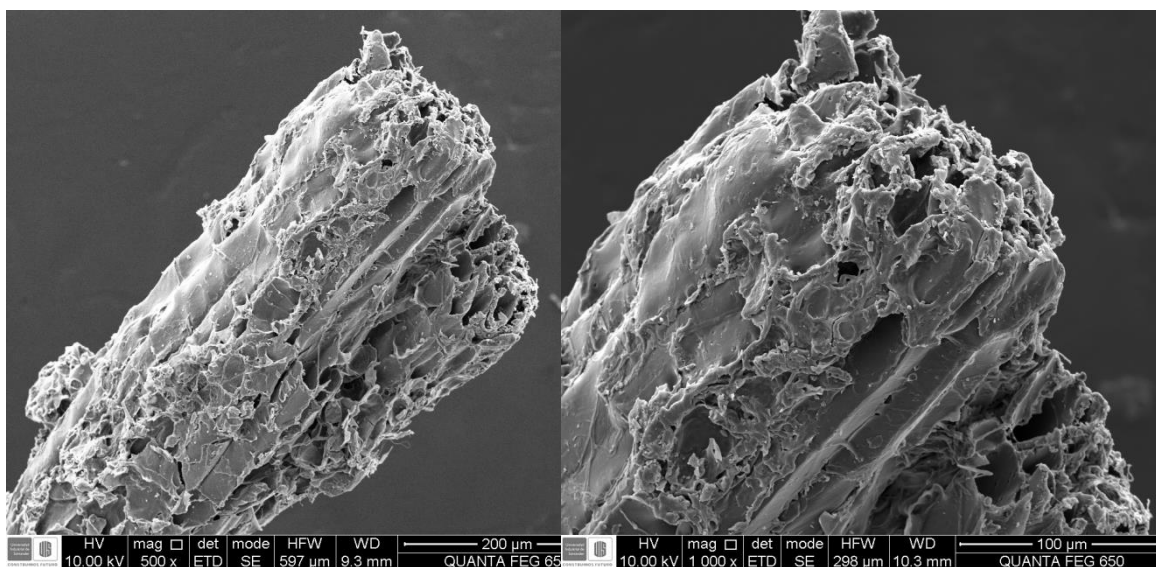
Muestra	% Celulosa	% Hemicelulosa	Muestra	% Celulosa	% Hemicelulosa
Bagazo (PE*)	32,57±1,10	6,50±0,43	Hojas secas (PE*)	31,90 ± 1,19	13,67 ± 0,88
Bagazo panelera ¹⁷	35,7	20,7	Paja de caña ⁷⁶	34,43 ± 0,44	23,61 ± 0,18
Bagazo ⁷³	35,28±1,2	33,28±0,8	Paja de frijol ⁷⁷	30,64 ± 0,64	9,35 ± 0,03

*PE: Presente estudio

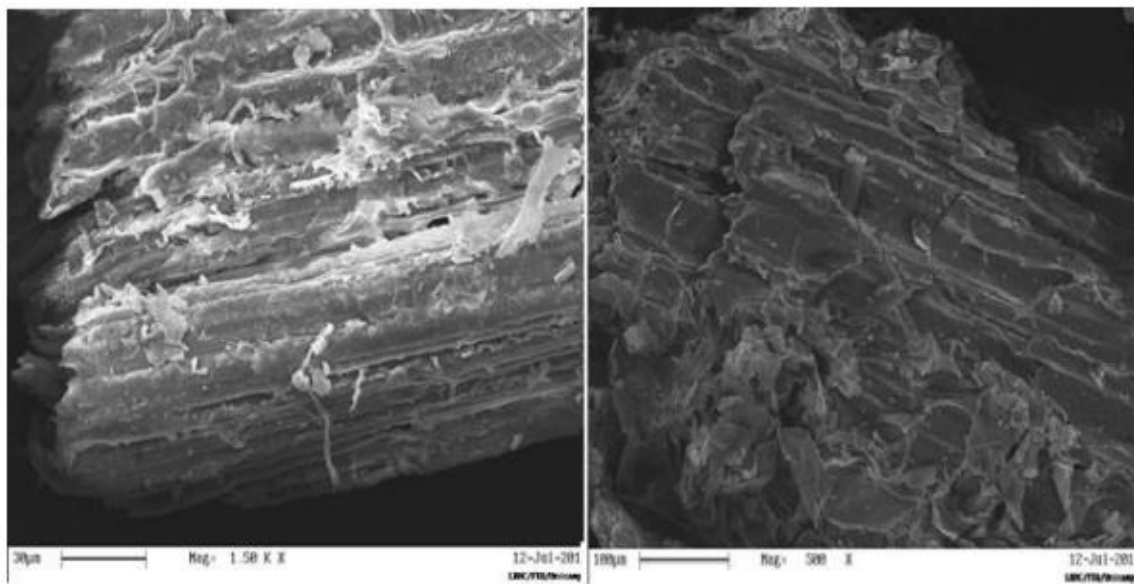
De lo anterior se puede concluir que los valores determinados experimentalmente para el contenido de celulosa no son muy lejanos con los reportados en la literatura, en un rango de 32-36% de celulosa en peso seco de la muestra respectivamente. Así mismo los valores determinados de celulosa en las hojas secas de la caña no pueden ser comparados con la misma matriz, pero se hace una comparación con otras biomazas lignocelulósicas similares como lo son la paja de caña y la paja de frijol. Se observa que se encuentran en un rango de 30-34% de celulosa. Para el caso de la hemicelulosa, no se encontraron valores similares en los artículos. Esto se podría explicar con base a que los azúcares provenientes de la hemicelulosa (C-5) se degradan más fácilmente que los provenientes de la celulosa (C-6). Es decir son más susceptibles a la degradación con ácido.¹⁷

4.3.4 Análisis de las muestras por microscopía electrónica de barrido (MEB)

Las microfotografías del bagazo y las hojas secas de caña sin pretratamiento se muestran en la Ilustración 3. Se observa como la lignina y la hemicelulosa se entrelaza con las fibrillas de celulosa haciendo al material muy compacto y recalcitrante para cualquier ataque.



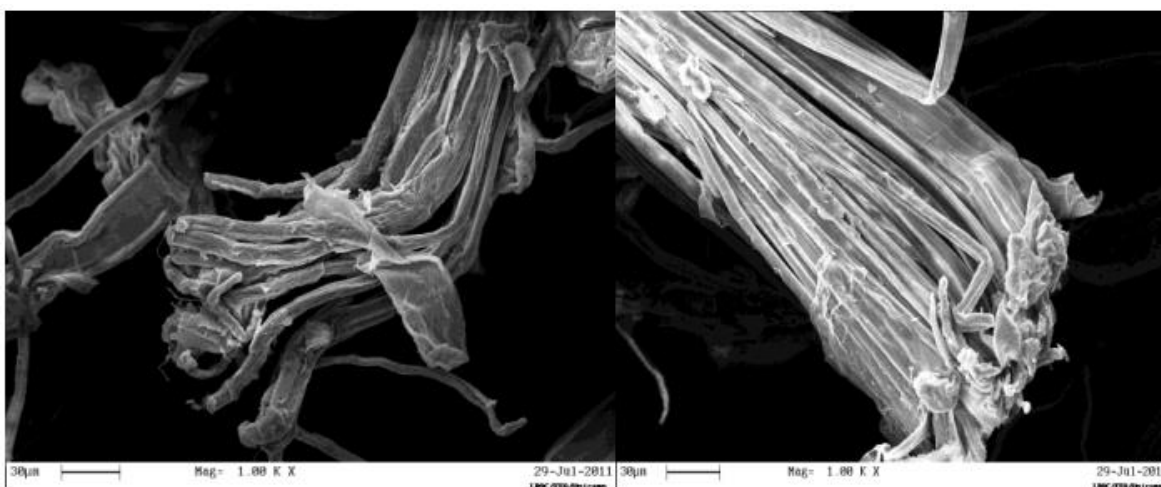
(a)



(b)

Ilustración 3. Microfotografías del (a) bagazo y (b) hojas secas de caña sin pretratamiento.

Como se muestra en la Ilustración 3. Se puede observar que las muestras sin pretratamiento presentan una morfología rígida y compacta. Lo que ocurre después de un pretratamiento es que la estructura de la pared celular más expuesta permitirá una mayor accesibilidad a las enzimas hidrolíticas, lo que facilita la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica.⁷⁶ A continuación (Ilustración 4) se muestran microfotografías de biomasa con pretratamiento para comparar y visualizar la eliminación de lignina y hemicelulosa.



(a)

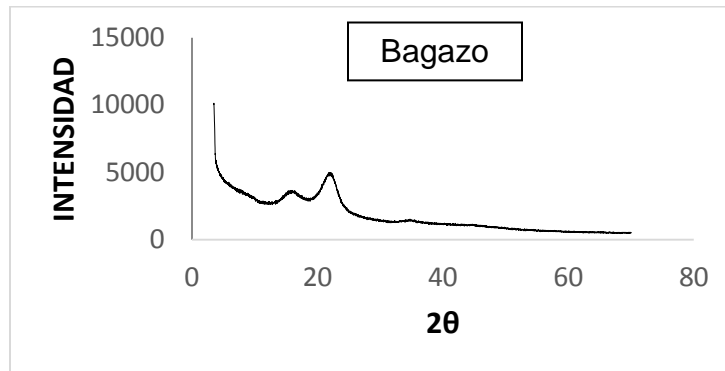
(b)

Ilustración 4. Microfotografías de biomasa con pretratamiento⁷⁶

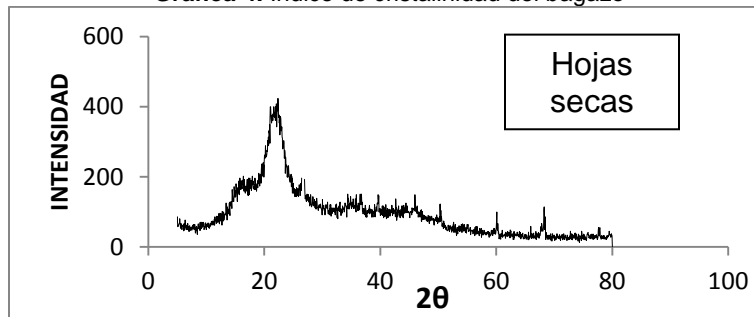
Se puede observar como después de un pretratamiento se muestra una morfología más desorganizada, con una mayor exposición de las fibras, estas pierden compactación y se abren paso entre ellas. En este tiempo, el contenido de lignina y hemicelulosa ha disminuido, dando lugar a las enzimas que continuaran con el paso siguiente en la obtención de biocombustibles.

4.3.5 Análisis de las muestras por difracción de rayos x (DRX)

El índice de cristalinidad mide la cantidad relativa de celulosa cristalina en el sólido total. La intención de los pretratamientos es modificar dicho valor. En la Gráfica 3 y 4 se muestra el índice de cristalinidad del bagazo y las hojas secas de caña de azúcar.



Gráfica 4. Índice de cristalinidad del bagazo



Gráfica 5. Índice de cristalinidad de las hojas secas

Como se puede observar, se aprecian dos picos, uno representa el componente de la fase cristalina y el otro el componente de la fase amorfa. Las muestras exhiben picos de difracción de celulosa típicos, donde el pico más alto corresponde a la Intensidad del pico en el plano cristalino 002. En la Tabla 15. Se presenta los resultados del índice de cristalinidad de las muestras.

Tabla 15. Resultados índice de cristalinidad de las muestras

Muestra	% Índice de cristalinidad	Muestra	% Índice de cristalinidad
Bagazo	34,05	Hojas secas	49,01

Como se puede observar el análisis de difracción de rayos X demuestra que la muestra con mayor índice de cristalinidad son las hojas secas con un 49,01% y le sigue el bagazo con un 34,05%.

4.3.6 Análisis de las muestras por espectroscopia infrarroja por transformación de Fourier (FTIR)

Las características principales de estos espectros se atribuyen a la presencia de lignina, hemicelulosa y celulosa; los componentes naturales de la biomasa lignocelulósica. En la figura 12-14 se muestran los espectrogramas del bagazo de caña, hojas secas y la mezcla 50/(B)/50(H). A continuación en la Tabla 16. Se muestran las bandas de vibraciones correspondientes de los compuestos lignocelulósicos.

Tabla 16. Banda de vibraciones de los compuestos lignocelulosicos⁷⁶

cm⁻¹	Descripción
897 C-O-C	Vibraciones de tensión en los enlaces β -glucosidicos en la celulosa y hemicelulosa
1033 C-O,C-C	Vibraciones de flexión C - OH en la hemicelulosa
1127 C-O,C-C	En la celulosa
1172 C-O-C	Estiramiento de los enlaces glucosidicos en la celulosa
1244 C-O	Estiramiento de aromáticos de la lignina
1325 C-C,C-O	Vibraciones
1374 C-H	Vibraciones alifáticas
1429 C=C	Anillo aromático
1465 C-H	Vibraciones aromáticas
1514 C=C	Vibraciones aromáticas anillos de la lignina
1605	Vibraciones aromáticas dentro del esqueleto
1630	Banda de agua residual
1734 C=O	Estiramiento de la cetona de los grupos carboxilos
2850 C-H	estiramiento de metileno, metilo o metano
3436 O-H	Estiramiento

Figura 12. Espectrograma FTIR de hojas secas de caña

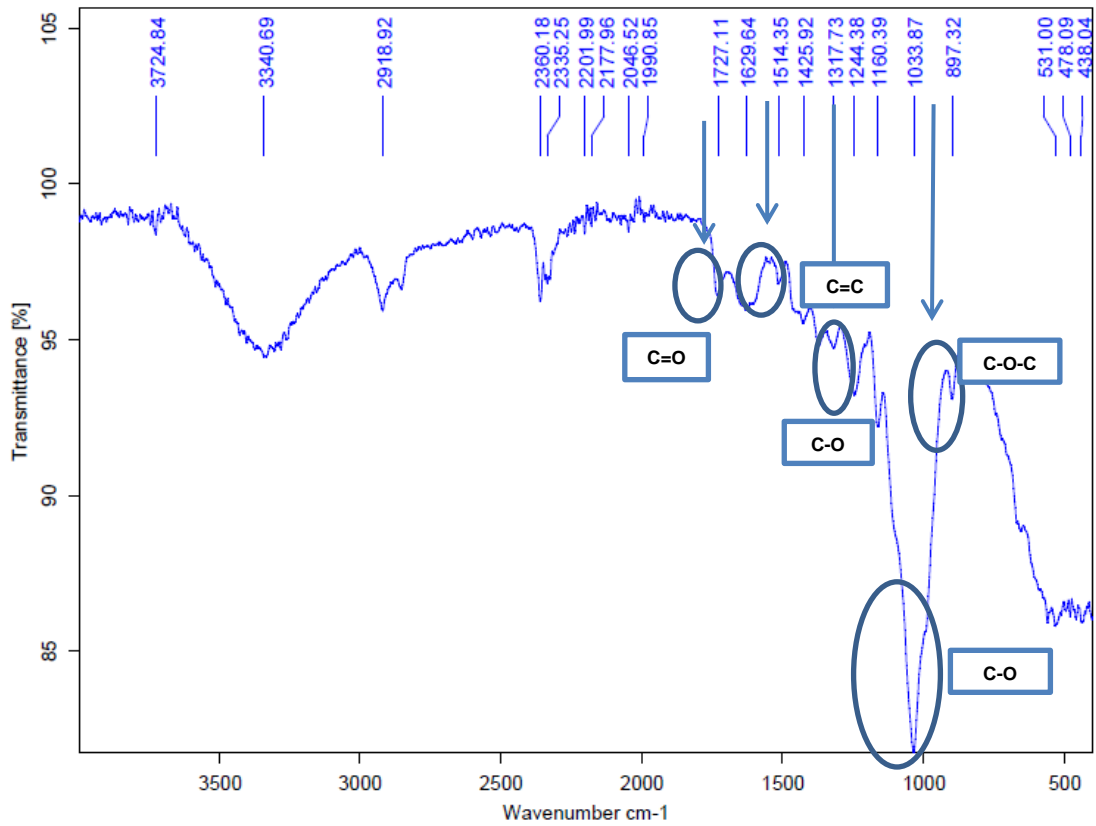


Figura 13. Espectrograma FTIR de 50/(B)/50(H)

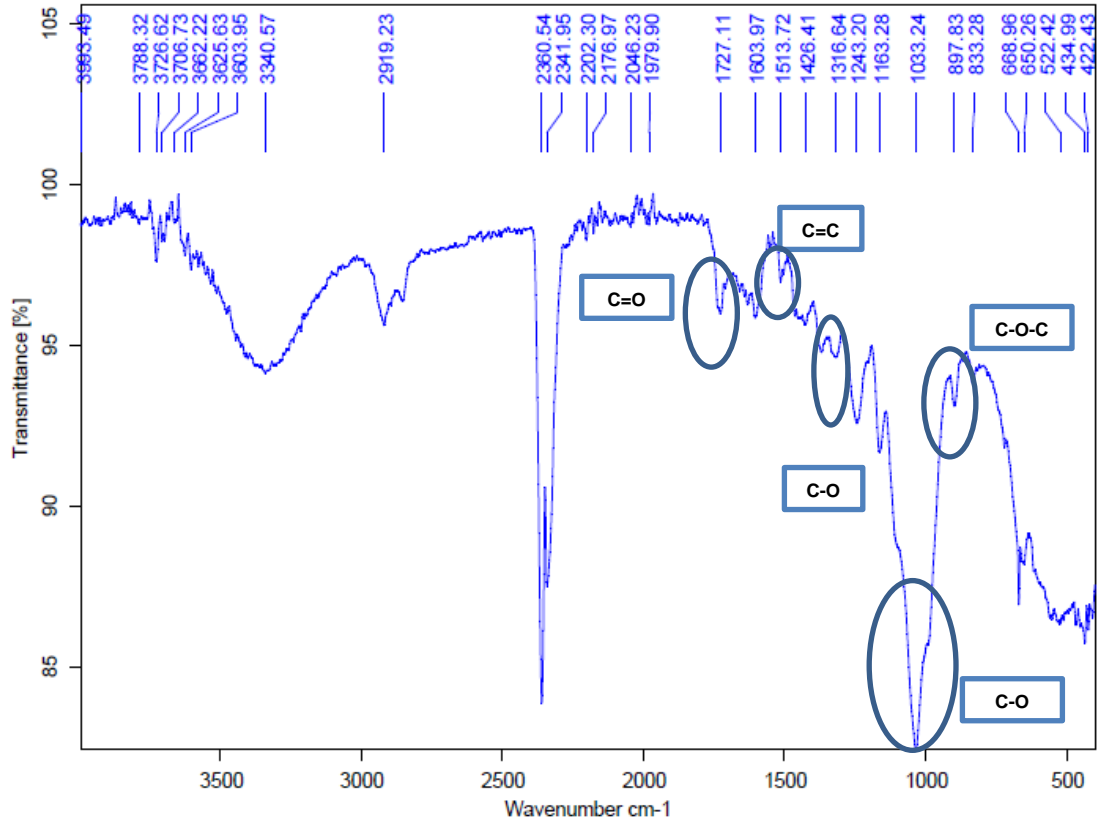
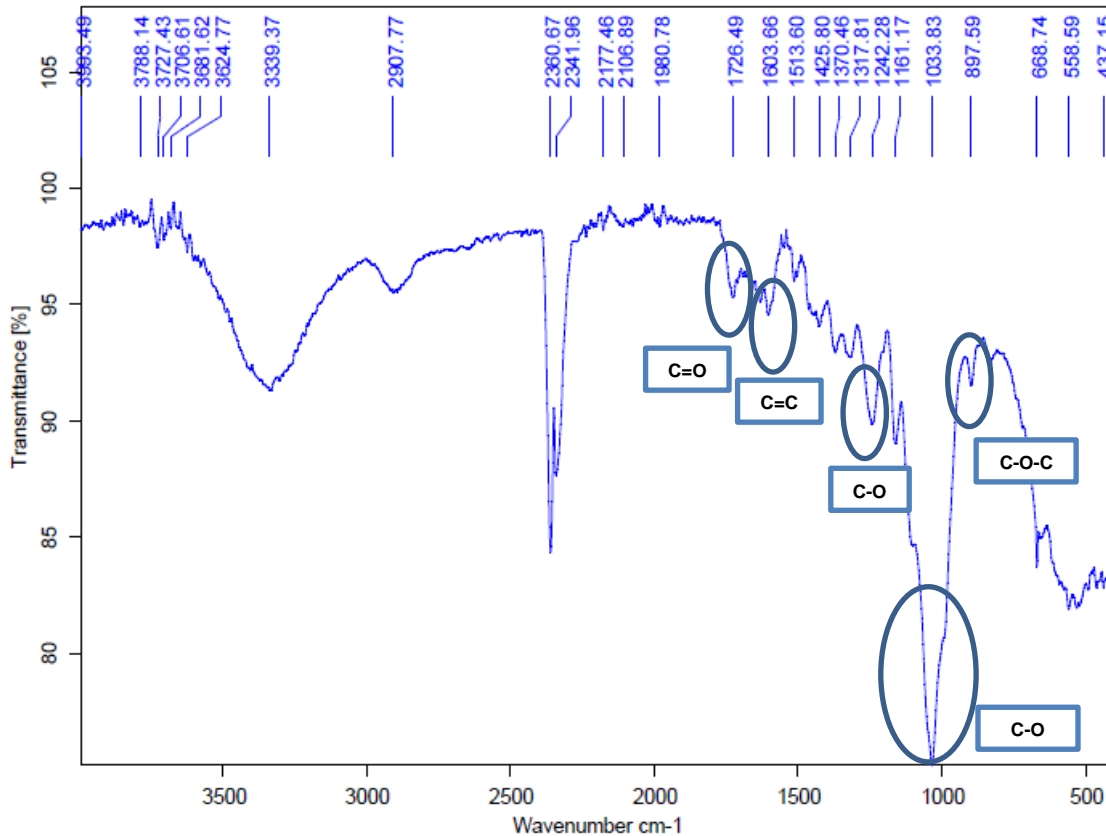


Figura 14. Espectrograma FTIR del bagazo de caña



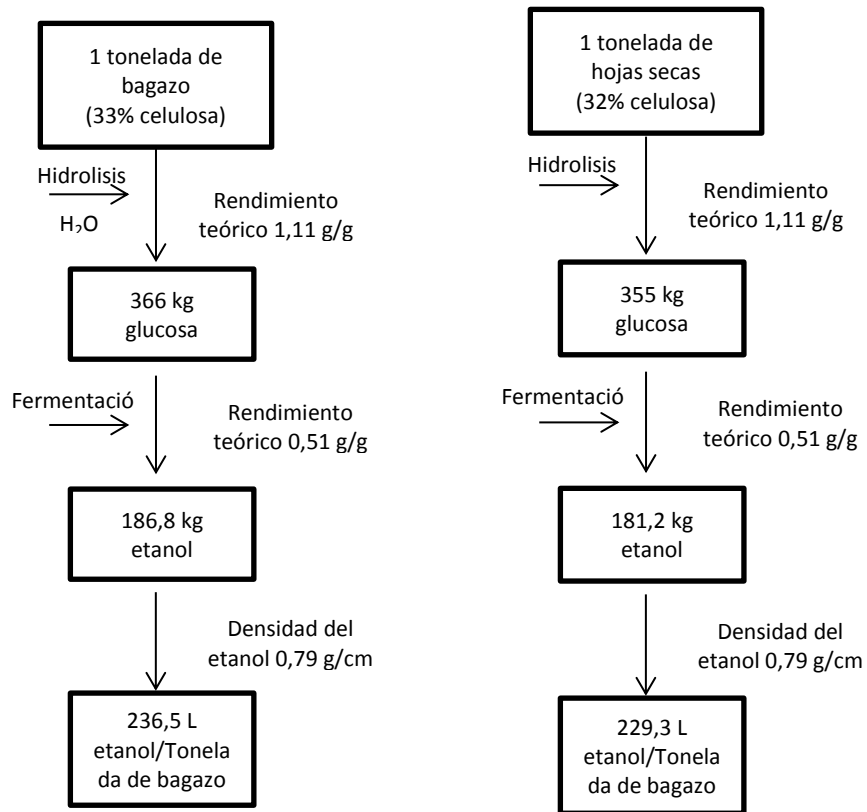
El análisis FTIR se hace con el fin de entender los cambios en la estructura química antes y después de un pretratamiento previo. Los espectros infrarrojos de las muestras son similares entre ellas, puesto que no han sido sometidas a ningún pretratamiento. Como se muestra en las Figuras 12-14 la banda a los 897 cm^{-1} de tipo C-O-C, se atribuye a los enlaces β -glucosídicos en la celulosa. Las bandas en 1033 cm^{-1} y 1242 cm^{-1} representan los grupos OH primarios y secundarios de los compuestos de la lignina. Las bandas a 1513 cm^{-1} se atribuyen a C-Ph y C=C, respectivamente. Estas bandas se encuentran generalmente en la estructura aromática lignina. La banda a 1727 cm^{-1} se hace referencia a los grupos acetilo presentes en la hemicelulosa.

4.4 CALCULO TEÓRICO DEL RENDIMIENTO DEL ETANOL POR LAS MUESTRAS

El programa de oxigenación de las gasolinas colombianas con etanol anhidro combustible contribuye al cumplimiento de la meta de reducción de gases de efecto invernadero presentada por Colombia en la COP21, la cual establece la reducción del 20% de las emisiones al año 2030, tomando como línea base las emisiones del año 2010 del país.⁴⁷ Por este motivo, el sector azucarero puso en marcha la construcción de destilerías para la producción de etanol. Actualmente, en Colombia están en funcionamiento 6 destilerías, todas hacen parte de los

ingenios azucareros. Para el año 2015, se produjeron 456 millones de litros de etanol de los jugos de la caña.⁴⁷ Para aumentar este valor se realiza un cálculo teórico del rendimiento de etanol producido por los residuos lignocelulósicos de la caña. A continuación en la Figura 15. Se muestra el rendimiento teniendo en cuenta los porcentajes de celulosa del presente estudio.

Figura 15. Rendimiento teórico de etanol⁷⁸



Con respecto a la Figura 15. Si se tiene en cuenta que la productividad media de los residuos de la cosecha de caña son 9 millones de toneladas/año y los residuos de la molienda son 6 millones de toneladas/año, los rendimientos de etanol serían 2 millones 128 mil y 2 millones 63 mil litros de etanol, que si se suman darían un total de 4 millones 192 mil litros de etanol. Se concluye que las muestras seleccionadas son aptas para la producción de etanol de segunda generación y con ello, aumentar la producción de etanol anual en Colombia teniendo en cuenta que se pueden sumar más residuos del sector agroindustrial.

5. CONCLUSIONES

Se caracterizó físicamente el bagazo, hojas secas, mezcla 90(B)/10(H) y la mezcla 50(B)/50(H) de la caña de azúcar. Sus porcentajes de humedad se encontraron en un rango de 4-9% donde la muestra con mayor humedad fue para las hojas secas con un $9,45 \pm 0,31\%$, y la muestra con menor humedad fue la mezcla con un $3,99 \pm 0,01\%$. Con respecto al tamaño de partícula, se concluye que los materiales empleados en el experimento, ambos tienen un diámetro promedio de partícula entre el 0,712 y 0,337 mm en un porcentaje de aproximadamente 67%. El porcentaje de cenizas fue mayor en las hojas secas con un $10,74 \pm 0,39\%$ y fue menor en el bagazo con un $1,68 \pm 0,05\%$. Con base a lo anterior, se concluye que las hojas secas no son un material adecuado para ser empleado en la conversión a etanol debido a su alto contenido de sustancias inorgánicas que afectarían el proceso en una escala industrial debido a los gastos empleados en mantenimiento y energía para poner en marcha el sistema.

Se caracterizó químicamente el bagazo, hojas secas, mezcla 90(B)/10(H) y la mezcla 50(B)/50(H) de la caña de azúcar. Se determinaron los porcentajes de extractivos en rangos de 22-31% donde la muestra con mayor porcentaje de extractivos fue la mezcla 90(B)/10(H) con $31,34 \pm 0,73\%$ y la muestra con menor porcentaje fue para las hojas secas con $22,92 \pm 1,9\%$. Se determinó el contenido total de lignina en las muestras y se concluyó que la muestra con mayor contenido de lignina fue la mezcla 90(B)/10(H) con $28,31 \pm 1,12\%$, y la muestra con menor contenido son las hojas secas con $13,81 \pm 0,89\%$. Por tanto, el rango de lignina en las muestras es de 28-13%, valores aceptables para los procesos a escala industrial.

Se determinó y cuantifico por HPLC los azúcares reductores totales (ART), se convirtieron los azúcares monoméricos (glucosa, xilosa, arabinosa) en sus respectivos polisacáridos (celulosa y hemicelulosa) por medio de la corrección anhidra recomendada por NREL. Se concluyó que la muestra con mayor contenido de celulosa fue la mezcla 50(B)/50(H) con $34,60 \pm 0,88\%$ y $1,25 \pm 0,04$ g/L de glucosa y la muestra con menor fue la mezcla 90(B)/10(H) con $24,94 \pm 1,24\%$ y $0,96 \pm 0,04$ g/L de glucosa. Por lo tanto, la muestra con mayor potencial para obtener etanol fue la mezcla 50(B)/50(H) por su mayor contenido de celulosa.

Se analizó el bagazo y hojas secas de la caña de azúcar por microscopia electrónica de barrido (MEB) y se logró observar que las muestras presentan una morfología rígida y compacta como debía esperarse por no haberse sometido a un pretratamiento.

Se analizó el bagazo y hojas secas de la caña de azúcar por difracción de rayos X (DRX) y se determinó que la muestra con mayor índice de cristalinidad son las hojas secas con un 49,01% y le sigue el bagazo con un 34,05%.

Se analizó el bagazo, hojas secas y la mezcla 50(B)/50(H) de la caña de azúcar por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y se observaron

las vibraciones características de los enlaces β -glucosídicos en la celulosa en la región de los 897 cm^{-1} , las vibraciones de los grupos OH primarios y secundarios de los compuestos de la lignina en la región de 1033 cm^{-1} y 1242 cm^{-1} , las vibraciones aromáticas se encuentran generalmente en la estructura aromática lignina en el rango de los 1513 cm^{-1} y las vibraciones características de los grupos acetilo de la hemicelulosa en la región de los 1727 cm^{-1} . Se concluye que se evidenciaron las vibraciones características de los materiales lignocelulósicos.

Se calculó teóricamente el rendimiento de etanol producido a partir el bagazo y hojas secas de la caña de azúcar. Se concluye que si se tiene en cuenta que la productividad media de los residuos de la cosecha de caña son 9 millones de toneladas/año y los residuos de la molienda son 6 millones de toneladas/año, los rendimientos de etanol serían 2 millones 128 mil y 2 millones 63 mil litros de etanol, que si se suman darían un total de 4 millones 192 mil litros de etanol. Se concluye que las muestras seleccionadas son aptas para aumentar la producción de etanol anual en Colombia teniendo en cuenta que se pueden sumar más residuos del sector agroindustrial.

BIBLIOGRAFIA

1. Crocker, M. *Thermochemical Conversion of Biomass to Liquid Fuels and Chemicals*; RSC Publishing: 2010.
2. Peña, A. *Bioquímica*; Editorial Limusa, Norgiega Editores: Mexico, 1988.
3. Koolman, J.; Rohm, K. H. *Bioquímica: texto y atlas*; Editorial Médica Panamericana: Madrid, 2004.
4. Melo, V.; Ruiz, V. M.; Cuamatzi, O. *Bioquímica de los procesos metabólicos*; Reverté: España, 2007.
5. Xiao, B.; Sun, X. F.; Sun, R. Chemical, structural, and thermal characterizations of alkali-soluble lignins and hemicelluloses, and cellulose from maize stems, rye straw, and rice straw. *Polym. Degrad. Stab.* **2001**, *74*, 307-319.
6. Berg, J. M.; Stryer, L.; Tymoczko, J. L.; Macarulla, J. M. *Bioquímica*; Reverté: España, 2007.
7. Pratt, C. W.; Kathleen, C. *Bioquímica*: Editorial El Manual Moderno: Mexico, 2012.
8. Ballesteros, M. 6 - Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass. In *Bioalcohol Production*; Waldron, K., Ed.; Woodhead Publishing: 2010; pp 159-177.
9. Martínez, J. M. R.; Lora, E. E. S.; González, L. N. L. Bioenergía: Fuentes, conversión y sustentabilidad. **2015**, *1*, 1.
10. Castro, E.; Nieves, I. U.; Mullinnix, M. T.; Sagues, W. J.; Hoffman, R. W.; Fernández-Sandoval, M. T.; Tian, Z.; Rockwood, D. L.; Tamang, B.; Ingram, L. O. Optimization of dilute-phosphoric-acid steam pretreatment of *Eucalyptus benthamii* for biofuel production. *Appl. Energy* **2014**, *125*, 76-83.
11. García, A.; Cara, C.; Moya, M.; Rapado, J.; Puls, J.; Castro, E.; Martín, C. Dilute sulphuric acid pretreatment and enzymatic hydrolysis of *Jatropha curcas* fruit shells for ethanol production. *Industrial Crops and Products* **2014**, *53*, 148-153.
12. Masjuki, H. H.; Kalam, M. A.; Mofijur, M.; Shahabuddin, M. Biofuel: Policy, Standardization and Recommendation for Sustainable Future Energy Supply. *Energy Procedia* **2013**, *42*, 577-586.
13. Mofijur, M.; Masjuki, H. H.; Kalam, M. A.; Hazrat, M. A.; Liaquat, A. M.; Shahabuddin, M.; Varman, M. Prospects of biodiesel from *Jatropha* in Malaysia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2012**, *16*, 5007-5020.

14. Glithero, N. J.; Wilson, P.; Ramsden, S. J. Straw use and availability for second generation biofuels in England. *Biomass Bioenergy* **2013**, *55*, 311-321.
15. Harsono, S. S.; Salahuddin; Fauzi, M.; Purwono, G. S.; Soemarno, D.; Kissinger Second Generation Bioethanol from Arabica Coffee Waste Processing at Smallholder Plantation in Ijen Plateau Region of East Java. *Procedia Chemistry* **2015**, *14*, 408-413.
16. Hassan, M. H.; Kalam, M. A. An Overview of Biofuel as a Renewable Energy Source: Development and Challenges. *Procedia Engineering* **2013**, *56*, 39-53.
17. Aguilar, D. M. Producción de etanol a partir de bagazo de caña panelera mediante un sistema híbrido de fermentación y pervaporación, Universidad Nacional de Colombia: Manizales, Colombia, 2011.
18. Harsono, S. S.; Salahuddin; Fauzi, M.; Purwono, G. S.; Soemarno, D.; Kissinger Second Generation Bioethanol from Arabica Coffee Waste Processing at Smallholder Plantation in Ijen Plateau Region of East Java. *Procedia Chemistry* **2015**, *14*, 408-413.
19. Goh, C. S.; Tan, K. T.; Lee, K. T.; Bhatia, S. Bio-ethanol from lignocellulose: Status, perspectives and challenges in Malaysia. *Bioresour. Technol.* **2010**, *101*, 4834-4841.
20. Maurya, D.; Singla, A.; Negi, S. An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. *3 Biotech* **2015**, *5*, 597-609.
21. Haggerty, A. P. Conversion of Wood into Liquid Fuels: a review of the science and technology behind the fast pyrolysis of biomass. In *Biomass Crops Production Energy and the Environment* Nova Science Publishers: New York, 2011; Vol. 1, pp 2.
22. World Health Organization *World Report on Disability*; Malta, 2011; Vol. 1, pp 350.
23. Balat, M.; Balat, H. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. *Appl. Energy* **2009**, *86*, 2273-2282.
24. Raele, R.; Boaventura, J. M. G.; Fischmann, A. A.; Sarturi, G. Scenarios for the second generation ethanol in Brazil. *Technological Forecasting and Social Change* **2014**, *87*, 205-223.
25. Bright, R. M.; Strømman, A. H. Life Cycle Assessment of Second Generation Bioethanols Produced From Scandinavian Boreal Forest Resources. *J. Ind. Ecol.* **2009**, *13*, 514-531.

26. Cardona, C. A.; Sánchez, Ó J. Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities. *Bioresour. Technol.* **2007**, *98*, 2415-2457.
27. Kadam, K. L.; McMillan, J. D. Availability of corn stover as a sustainable feedstock for bioethanol production. *Bioresour. Technol.* **2003**, *88*, 17-25.
28. Cheng, K.; Cai, B.; Zhang, J.; Ling, H.; Zhou, Y.; Ge, J.; Xu, J. Sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process. *Biochem. Eng. J.* **2008**, *38*, 105-109.
29. Balat, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy Conversion and Management* **2011**, *52*, 858-875.
30. Sector Azucarero Colombiano Energía: La nueva agenda del sector azucarero. <http://www.asocana.org/StaticContentFull.aspx?SCid=167> (accessed 09/05, 2016).
31. OECD/FAO (2014) *OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas*; OECD Publishing: Paris, 2014.
32. Santos, F. A. Avaliação do pré-tratamento hidrotérmico de palhas de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais: Brasil, 2013.
33. Rabelo, S. Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2007.
34. Yang, L.; Lu, M.; Carl, S.; Mayer, J. A.; Cushman, J. C.; Tian, E.; Lin, H. Biomass characterization of Agave and Opuntia as potential biofuel feedstocks. *Biomass Bioenergy*, **2015**, *76*, 43-53.
35. Lodish, H. *Biología celular y molecular*; Médica Panamericana: Madrid, 2005.
36. Karp, G., Ed.; In *Biología celular y molecular: Conceptos y Experimentos*; McGraw-Hill Interamericana: Mexico, 2011; Vol. 1, pp 262.
37. Steinbuchel, A.; Jonas, R.; Farah, L. F. Biodegradable Polymers and Macromolecules Production and application of microbial cellulose. *Polym. Degrad. Stab.* **1998**, *59*, 101-106.
38. Carreño Pineda, L. D.; Caicedo Mesa, L. A.; Martínez Riascos, C. A. Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. *Ingeniería y Ciencia* **2012**, *8*, 307-335.

39. Hepworth, D. G.; Bruce, D. M. The mechanical properties of a composite manufactured from non-fibrous vegetable tissue and PVA. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* **2000**, *31*, 283-285.
40. Budziak, C. R.; Maia, C.,M.; Mangrich, A. S. Transformações químicas da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da indústria madeireira. *Quím. Nova* **2004**, *27*, 399-403.
41. Vassilev, S. V.; Baxter, D.; Andersen, L. K.; Vassileva, C. G.; Morgan, T. J. An overview of the organic and inorganic phase composition of biomass. *Fuel* **2012**, *94*, 1-33.
42. Telmo, C.; Lousada, J. The explained variation by lignin and extractive contents on higher heating value of wood. *Biomass Bioenergy* **2011**, *35*, 1663-1667.
43. Augstburger, F. *Asociación Naturland Agricultura Orgánica en el Trópico y Subtrópico Guías de 18 cultivos*; Caña de azúcar; Asociación Naturland: Alemania, 2000; Vol. 1.
44. PROCAÑA Historia de la caña de azúcar. <http://www.procana.org/new/estadisticas/historia-de-la-ca%C3%B1a-de-azucar.html> (accessed 09/11, 2016).
45. del Río, J. C.; Lino, A. G.; Colodette, J. L.; Lima, C. F.; Gutiérrez, A.; Martínez, Á T.; Lu, F.; Ralph, J.; Rencoret, J. Differences in the chemical structure of the lignins from sugarcane bagasse and straw. *Biomass Bioenergy* **2015**, *81*, 322-338.
46. ASOCAÑA ¿Quiénes somos? <http://www.asocana.org/publico/info.aspx> (accessed 09/12, 2016).
47. ASOCAÑA Aspectos generales del sector azucarero Colombiano 2015-2016. **2016**, *Informe anual 2015-2016*, 14.
48. Ramírez Durán, J.; Insuasty Burbano, O.; Viveros Valens, C. A. Comportamiento agroindustrial de diez variedades de caña de azúcar para producción de panela en Santander, Colombia. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria* **2014**, *15*, 183-195.
49. Flórez-Pardo, L.; Parra-Paz, A.; López-Galán, J.; Figueroa-Oviedo, J. Mediator system to increase the delignification of sugarcane residues with fungal enzymes. *CT&F - Ciencia, Tecnología y Futuro* **2015**, *6*, 81-92.

50. Ávila Díaz, Á J.; Carvajal Escobar, Y. Agrocombustibles y soberanía alimentaria en Colombia. *Cuadernos de Geografía - Revista Colombiana de Geografía* **2015**, *24*, 43-60.
51. FEDEBIOCOMBUSTIBLES Información Estadística Sector Biocombustibles. [http://www.fedebiocombustibles.com/v3/estadistica-mostrar_info-titulo-Alcohol_Carburante_\(Etanol\).htm](http://www.fedebiocombustibles.com/v3/estadistica-mostrar_info-titulo-Alcohol_Carburante_(Etanol).htm) (accessed 10/10, 2016).
52. Hendriks, A. T. W. M.; Zeeman, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* **2009**, *100*, 10-18.
53. Mosier, N.; Wyman, C.; Dale, B.; Elander, R.; Lee, Y. Y.; Holtzapple, M.; Ladisch, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* **2005**, *96*, 673-686.
54. Alvira, P.; Tomás-Pejó, E.; Ballesteros, M.; Negro, M. J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresour. Technol.* **2010**, *101*, 4851-4861.
55. Sasmal, S.; Goud, V. V.; Mohanty, K. Characterization of biomasses available in the region of North-East India for production of biofuels. *Biomass Bioenergy* **2012**, *45*, 212-220.
56. Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable. CCIQS Espectroscopía de Infrarrojo/ATR. . http://www.cciqs.uaemex.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=113&Itemid=86 (accessed 10/15, 2015).
57. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A. *Principles of instrumental analysis*; Saunders College Pub.; Harcourt Brace College Publishers: Philadelphia; London, 1998; .
58. Universidad de Sevilla Difracción de Rayos X: Fundamento teórico y ejemplos . https://investigacion.us.es/docs/web/files/fundamentos_drx.pdf (accessed 10/15, 2015).
59. Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable. CCIQS. Microscopio Electrónico de Barrido. http://www.cciqs.uaemex.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=81&Itemid=83 (accessed 10/15, 2015).
60. Fonseca Santanilla, E., Maturana Moreno, G. Aprovechamiento de los residuos vegetales de una central de abastos para la obtención de etanol. *Épsilon* **2010**.

61. Triana, C. F. Producción de etanol a partir de residuos provenientes del cultivo de café. M.Sc., Universidad Nacional de Colombia, Manizales, 2010.
62. Tejeda, L.; Quintana, J.; Pérez, J.; Young, H. Obtención de etanol a partir de residuos de poda, mediante hidrólisis ácida de hidrólisis enzimática. *Rev. U. D. C. A Act. & Div. Cient* **2011**, *14* (1), 111-116.
63. Martínez Sepúlveda, J. A.; Montoya Gómez, N. J. Análisis preliminar de la viabilidad de obtención de bioetanol a partir de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. *Producción Limpia* **2013**, *8*, 72-84.
64. Muñoz, D.; Pantoja, A. J. Aprovechamiento de residuos agroindustriales como biocombustibles y biorefinería. *Rev. Bio. Agro* **2014**, *12* (2), 10-19.
65. Yang, L.; Lu, M.; Carl, S.; Mayer, J. A.; Cushman, J. C.; Tian, E.; Lin, H. Biomass characterization of Agave and Opuntia as potential biofuel feedstocks. *Biomass Bioenergy* **2015**, *76*, 43-53.
66. Kumar, V. B.; Pulidindi, I. N.; Gedanken, A. Glucose production from potato peel waste under microwave irradiation. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* **2016**, *417*, 163-167.
67. Sluiter, A.; Hames, B.; Hyman, D.; Payne, C.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Wolfe, J. Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples. **2008**, *NREL/TP-510-42621*.
68. Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, A.; Sluiter, J.; Templeton, D. Preparation of Samples for Compositional Analysis. **2008**, *NREL/TP-510-42620*.
69. Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D. Determination of Ash in Biomass," National Renewable Energy Laboratory. **2008**, *NREL/TP-510-42622*.
70. Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D. "Determination of Extractives in Biomass", National Renewable Energy Laboratory. **2008**, *NREL/TP-510-42619*.
71. Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Crocker, D. "Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass", National Renewable Energy Laboratory. **2008**, *NREL/TP-510-42618*.
72. Franco, D. L. Caracterização física química das cinzas de palha de cana-de-açúcar através de análises térmicas simultâneas (STA), UNICAMP, Brazil, 2014.

73. Ayeni, A. O.; Adeeyo, O. A.; Oresegun, O. M.; Oladimeji, T. E. Compositional analysis of lignocellulosic materials: Evaluation of an economically viable method suitable for woody and non-woody biomass. *American Journal of Engineering Research* **2015**, *4*, 14-19.
74. R. Aguilar.; J. A. Ramirez.; G. Garrote.; M. Vazquez. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugarcane bagasse. *Journal of Food Engineering* **2002**, *55*, 309-318.
75. Salcedo, J. G.; Lopez, J. E.; Florez, L. M. Evaluación de enzimas para la hidrólisis de residuos (hojas y cogollos) de la cosecha caña de azúcar. *Dyna* **2011**, *78* (169), 182-190.
76. Bayona, O. L. Avaliação de pré-tratamentos para a hidrólise enzimática de palha de cana-de-açúcar considerando a produção de etanol, UNICAMP, Brasil, 2012.
77. González, S. M.; Soto, N. O.; Rutiaga, O. M.; Medrano, H.; Rutiaga, J. G.; López, J. Optimización del proceso de hidrólisis enzimática de una mezcla de pajas de frijol cuatro variedades (Pinto villa, Pinto saltillo, Pinto mestizo y Flor de mayo). *Revista mexicana de ingeniería química* **2011**, *10*, 17-28.
78. Santos, F., Quieroz, J.H., Colodette, J.L., Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, Brasil, 2012.