

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 MEZCLAS DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS,
RAQUIS DE PALMA AFRICANA Y BAGAZO DE CAÑA, PARA VISUALIZAR
SU POTENCIAL EN LA PRODUCCIÓN DE ETANOL DE SEGUNDA
GENERACIÓN.**

**ORLANDO MONCADA CUETO
STEFANY VANESSA CASTRO GUTIÉRREZ**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
FACULTAD DE QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
ñ016**

**CARACTERIZACIÓN DE MEZCLAS DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS
RAQUIS DE PALMA AFRICANA Y BAGAZO DE CAÑA, PARA VISUALIZAR
SU POTENCIAL EN LA PRODUCCIÓN DE ETANOL DE SEGUNDA
GENERACIÓN.**

Estudiantes:

**ORLANDO MONCADA CUETO
STEFANY VANESSA CASTRO GUTIÉRREZ**

Directora:

**OLGA LUCIA BAYONA AYALA,
Química *M.Sc*
Universidad Santo Tomás**

Codirectora:

**ANGÉLICA MARÍA CANDELA SOTO
Química *M.Sc, Ph.D*
Universidad Santo Tomás**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
FACULTAD DE QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2016**

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

BUCARAMANGA, 21 DE NOVIEMBRE DE 2016

DEDICATORIA

La vida en líneas generales, es construcción y de vez en cuando se logran los objetivos, pero lo interesante no es ser exitoso, porque el éxito es una cosa que se consume instantáneamente, porque una vez se logra, se desvanece y se pierde. Por lo cual, si uno deposita toda la atención al éxito, eso duraría muy poco. La construcción, el desarrollo, la búsqueda es lo que consume el tiempo de todos nosotros por eso el hombre sacrifica su salud para conseguir dinero, y cuando lo consigue sacrifica su dinero para recuperar la salud, y esta tan ansioso del futuro que no disfruta del presente, el resultado es que no vive ni el presente ni el futuro, y vive como fuese a morir, y entonces muere sin haber vivido realmente.

Att: Marcelo Bielsa y Dalai lama.

ORLANDO MONCADA CUETO

DEDICATORIA

A Dios por ponerme esta carrera en mi camino y por darme la fortaleza para seguir adelante sin desfallecer.

A mis padres por creer en mí, dándome ejemplo de superación, humildad y sacrificio enseñándome a valorar todo lo que tengo.

A mis hermanos y a Martin Fernando para que nunca se rindan por más duro que sea el camino. Finalmente, a Richard por su gran comprensión, motivación y apoyo.

Desde el fondo de mi corazón a todos los anteriores dedico el presente trabajo, porque han fomentado en mí el deseo de superación y de triunfo, lo que ha contribuido a la consecución de este logro. Espero contar siempre con su valioso e incondicional apoyo.

STEFANY VANEESA CASTRO GUTIERREZ

AGRADECIMIENTOS

Inicialmente doy gracias a Dios Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr este objetivo importante para mi vida.

A mis padres y hermano por haber siempre creído en mí hasta último momento, por sus consejos, valores, perseverancia, por la motivación y aliento constante durante este tiempo y por su profundo amor.

A las maestras OLGAL. BAYONA, ANGELICA M. CANDELAy al grupo de investigación GINMEA por su gran apoyo y dedicación, enseñanzas, paciencia y sobre todo confianza, por haber creído en nosotros en la asignación de este proyecto para la culminación de nuestra etapa en la universidad.

Por último, a la universidad Santo Tomás por haberme permitido formar en ella, a las demás personas que fueron participes en este proceso, ya que de una u otra forma, fueron importantes mediante un pequeño aporte en esta instancia en la universidad.

ORLANDO MONCADA CUETO

AGRADECIMIENTOS

A Dios que me permitió conocer su infinito poder, porque gracias a él he concluido esta etapa.

A mis padres que son la base fundamental de mi vida, por su comprensión, apoyo y cariño en este largo proceso y durante toda la vida.

A mi directora Olga Bayona y codirectora Angélica Candela por su paciencia, acompañamiento, asesorías, consejos y sobre todo por su calidad humana. También al grupo de investigación GIMNEA por brindarme el tiempo, espacio y permitirme participar activamente de sus actividades de investigación.

A la universidad Santo Tomas por hacer parte de mi formación profesional y abrirme las puertas al conocimiento.

Así mismo expreso mi agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna forma contribuyeron a que haya llegado hasta aquí.

STEFANY VANESSA CASTRO GUTIERREZ.

CONTENIDO

GLOSARIO	15
RESUMEN.....	16
INTRODUCCIÓN	17
1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.	20
2. JUSTIFICACIÓN.....	22
3. OBJETIVOS.....	25
3.1 OBJETIVO GENERAL	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
4. MARCO REFERENCIAL	26
4.1 MARCO TEÓRICO	26
4.1.1 MATERIAL LIGNOCELULÓSICO.....	26
4.1.2 RESIDUOS LIGNOCELULOSICOS (RAQUIS DE PALMA AFRICANA Y BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR).....	31
4.1.3 TÉCNICAS INSTRUMENTALES	37
4.1.4 CRITERIO DE CARACTERIZACIÓN.....	38
4.2 MARCO DE ANTECEDENTES	38
5. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	48
5.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.....	50
5.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS	50
5.3 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS EXTRACTIVAS	51
5.4 CARACTERIZACIÓN POR MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).....	52
5.5 CARACTERIZACIÓN MEDIANTE DIFRACCIÓN DE RAYOS-X (DRX) 52	
5.6 ANÁLISIS DE ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	52
5.7 DETERMINACIÓN DE LIGNINA INSOLUBLE.	52
5.8 DETERMINACIÓN DE LIGNINA INSOLUBLE.	53
5.9 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES (ART).....	54

5.10 DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL TEÓRICO DE LA MUESTRA Y LAMEZCLA DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y RAQUIS DE PALMA AFRICANA PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN	55
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS	56
6.1 DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD	57
6.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS	57
6.3 DETERMINACIÓN DE EXTRACTIVOS	58
6.4 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE LIGNINA	59
6.5 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES (ART).....	60
6.6 ANÁLISIS DEL INDICE DE CRISTALINIDAD DE LA CELULOSA	62
6.7 ANÁLISIS DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURRIER (FTIR).	64
6.8 ANÁLISIS MORFOLÓGICO DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y RAQUIS DE PALMA AFRICANA POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).....	68
6.9 DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL TEÓRICO DE LA MUESTRA (MEZCLA DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y RAQUIS DE PALMA AFRICANA) PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN	70
7. CONCLUSIONES	72
8. DIVULGACIÓN DE RESULTADOS	73
9. BIBLIOGRAFÍA.....	74

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Evolución aproximada del porcentaje de reservas de petróleo y de las concentraciones de CO ₂ a lo largo del siglo XX ⁹ .	17
Figura 2. Ubicación del municipio de Puerto López en Colombia.	24
Figura 3. Palma de aceite en Santander ⁴⁰ .	24
Figura 4. Relación de las capas de la pared celular vegetal y la celulosa, hemicelulosa y lignina ²⁶ .	27
Figura 5. Estructura de la celulosa ²³ .	28
Figura 6. Componentes de la hemicelulosa ²⁹ .	28
Figura 7. Estructura aproximada de la lignina ³³ .	29
Figura 8. Estructura de los precursores de la lignina. Sinapil p-curamato (1), alcohol p-cumarílico (2), alcohol conifeferílico (3), sinapil acetato y alcohol sinapílico ³⁵ .	30
Figura 9. Palma africana ³⁶ .	31
Figura 10. Raquis de la palma africana ³⁸ .	32
Figura 11. Producción mundial de aceite de palma ³⁹ .	32
Figura 12. Distribución de zonas de cultivo de la Palma de aceite en Colombia. ³⁹	33
Figura 14. Bagazo de caña de azúcar ⁴³ .	35
Figura 15. Distribución de la producción mundial de la caña de azúcar ⁴⁵ .	35
Figura 16. Distribución de cultivos de caña azúcar a lo largo del país. ³⁹	36
Figura 17. Descripción de la metodología llevada durante el transcurso del proyecto.	49
Figura 18. Rendimiento teórico de la producción de etanol por hectárea ⁷² .	55
Figura 19. Almacenamiento de bagazo de caña de azúcar, finca Bore sur.	56
Figura 20. Cultivo de palma africana situado en la finca vereda la Gómez (Sabana de torres).	56
Figura 21. Curva de calibración para la determinación de glucosa.	60
Figura 22. Difractograma del bagazo de caña de azúcar.	62
Figura 23. Difractograma del raquis de palma africana.	63
Figura 24. Espectro de FTIR del bagazo de caña de azúcar.	64
Figura 25. Espectro de FTIR del raquis de palma africana.	66
Figura 26. Raquis de palma desde otro punto de vista (toma 2).	68
Figura 27. Bagazo de caña de azúcar (toma 1).	68

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Determinación de humedad.	50
Ecuación 2. Determinación de ceniza.	51
Ecuación 3. Determinación de sustancias extractivos.	51
Ecuación 4. Índice de cristalinidad del material lignocelulósico.	52
Ecuación 5. Determinación de la cantidad lignina soluble en ácido.	53
Ecuación 6. Determinación de la cantidad de lignina insoluble en ácido.	54
Ecuación 7. Determinación de la lignina total	54
Ecuación 8. Ecuación de la recta (determinación de la concentración de cada azúcar).	60
Ecuación 9. Determinación porcentaje de ART.	60

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Composición química de diferentes materiales lignocelulósicos.....	26
Tabla 2. Composición del bagazo de caña de azúcar.	34
Tabla 3. Composición química de las fibras de banano, bagazo y calabaza de esponja.	39
Tabla 4. Composición química de las fibras de banano, bagazo y calabaza esponja	40
Tabla 5. Caracterización química de la cascarilla de arroz.....	41
Tabla 6. Caracterización de residuos poda.....	42
Tabla 7. Composición de los materiales utilizados como portador.	43
Tabla 8. Caracterización química (g / 100 g de muestras de biomasa).	44
Tabla 9. Caracterización química de la muestra desgrasada con éter etílico – harina de algodón, bagazo de malta y harina de chontaduro, (valores en %). ...	45
Tabla 10. Porcentajes de composición en base seca.	46
Tabla 11. Composición química de los materiales utilizados para la producción de Bioetanol	46
Tabla 13. Composición de azúcares y lignina en las biomasas (valores en porcentaje %)	47
Tabla 14. Equipos utilizados en el proyecto.....	49
Tabla 15. Resultados del porcentaje de humedad en las muestras.	57
Tabla 16. Resultados del porcentaje de cenizas.	58
Tabla 17. Resultados del porcentaje de Extractivos.	58
Tabla 18. Resultados lignina insoluble en ácido, lignina soluble en ácido y lignina total.....	59
Tabla 19. Resultados del porcentaje de azúcares reductores totales.....	61
Tabla 20. Índices de cristalinidad (IC) para el bagazo de caña de azúcar y el raquis de palma africana.	63
Tabla 21. Grupos funcionales del bagazo de caña azúcar acuerdo con la hemicelulosa, celulosa y lignina.....	65
Tabla 22. Grupos funcionales del raquis de palma de acuerdo con la hemicelulosa, celulosa y lignina.....	66
Tabla 23. Resultados de caracterización de los sustratos y sus mezclas.....	70

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

DRX:Difracción de Rayos X

HPLC: Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento

SEM:Microscopía de Barrido Electrónico

FTIR:Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

RH:Cascarilla de Arroz

EFB: Racimos Vacíos de Palma

SCB: Bagazo de Caña

EFB:Racismos Vacíos de Palma

ACCL: Biomasa después de la etapa del Pretratamiento

PdCl: Biomasa parcialmente deslignificada

SCT: Tapas de Caña de Azúcar

FPU: Carga Enzimática

RPM: Revoluciones Por Minuto

MEB: Microscopía Electrónica de Barrido

DRX: Difracción de rayos x

GLOSARIO

BIOETANOL: alcohol etílico generado a partir de la fermentación de productos agrícolas o de origen vegetal¹.

BIOMASA: es la materia orgánica, tanto de origen animal como vegetal que puede ser utilizada como fuente de energía².

DESTILACIÓN: es una técnica de laboratorio e industrial utilizada para poder separar sustancias miscibles donde se hace hervir una mezcla, normalmente una disolución y condensar después por enfriamiento los vapores que se han producido. Donde el componente más volátil se recoge por condensación de vapor y el compuesto menos volátil se quedará en el matrás de destilación³.

ENERGIAS ALTERNATIVAS: fuentes de energía utilizadas para suplementar las energías convencionales o tradicionales. Estas principalmente se destacan por su capacidad de recuperación natural y cantidad en relación a los consumos de los seres humanos pueden hacer de ellas, además son inagotables⁴.

FERMETACIÓN ALCOHÓLICA: es un proceso de biotransformación en el que se llevan a cabo cambios químicos en un sustrato orgánico por la acción de enzimas sintetizadas por microorganismos conocidos como catalizadores bioquímicos o biocatalizadores, donde su función principal es convertir las hexosas de mosto en etanol por condiciones anaeróbicas⁵.

PRETRATAMIENTO DEL MATERIAL LIGNOLULÓSICO: un pretratamiento efectivo es aquel que disocia el revestimiento que la lignina y la hemicelulosa forman alrededor de la celulosa con la finalidad de aumentar el acceso de las enzimas, rompiendo la estructura cristalina de la celulosa, causando una depolimerización parcialmente de esta y solubilizando la lignina y hemicelulosa⁶.

**CARACTERIZACIÓN DE MEZCLAS DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS
PALMA AFRICANA Y BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR
(*Elaeisguineensis* & *Saccharum officinarum*) PARA VISUALIZAR
SOPOTENCIALEN LA PRODUCCIÓN DE ETANOL DE SEGUNDA
GENERACIÓN**

Por:

Orlando Moncada Cueto, Stefany Vanessa Castro Gutiérrez

RESUMEN

Los biocombustibles constituyen una alternativa importante para la demanda energética a nivel mundial. En este momento el conocimiento sobre la biomasa lignocelulósica y en especial sobre los subproductos agroindustriales ha dejado de ser problema gracias al avance tecnológico y científico que han demostrado que estos mismos pueden considerarse materia prima para la producción de etanol de segunda generación. Sin embargo obtener el etanol de segunda generación no es fácil ya que se requiere un pretratamiento de hidrólisis de la materia prima seguida de una fermentación⁷. Esta investigación evalúa la mezcla de dos residuos lignocelulósicos generados en la agroindustria del departamento de Santander, como lo son el raquis de palma africana y bagazo de caña de azúcar, biomásas que por separado han mostrado ser materias primas promisorias para la obtención de etanol de segunda generación. Estos materiales están constituidos principalmente de una matriz de carbohidratos (celulosa y hemicelulosa) y una macromolécula de lignina.

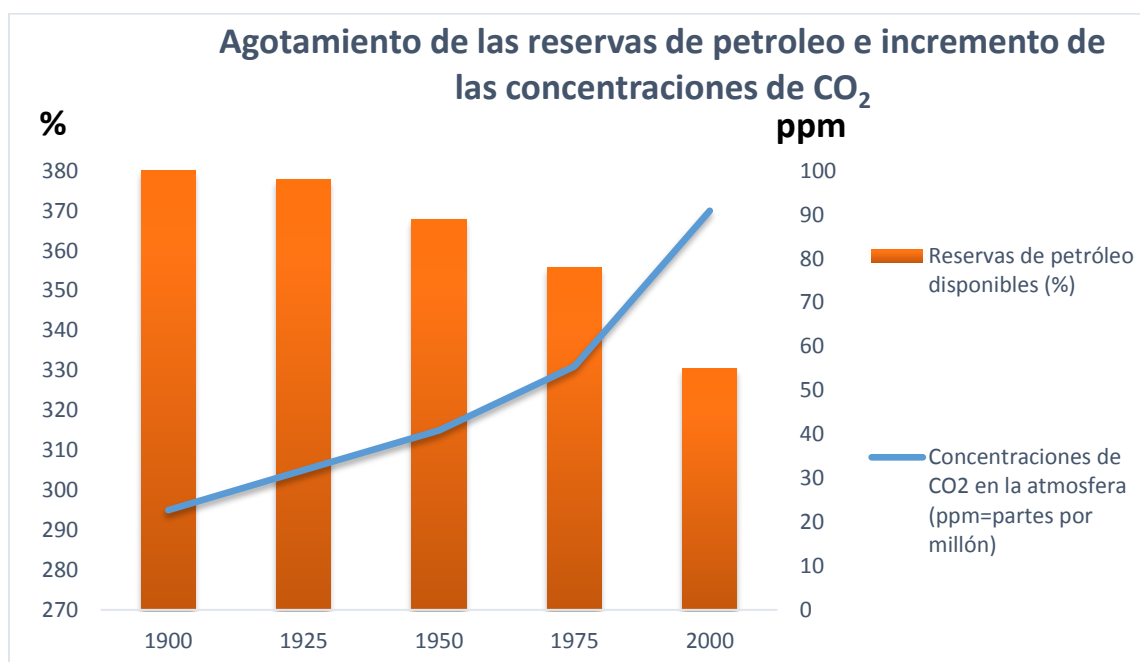
El trabajo realizado muestra los resultados obtenidos de la caracterización de cada uno de los residuos y de las mezclas en las proporciones, 50/50, 90/10, 70/30% con un mayor contenido de bagazo de caña de azúcar, conociendo los porcentajes de celulosa, hemicelulosa y de lignina, mediante técnicas instrumentales como infrarrojo (IR), Difracción de Rayos X (DRX), Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) y Microscopía de Barrido Electrónico (MEB).

Palabras claves: etanol de segunda generación, biocombustibles, lignocelulosa, hemicelulosa, bagazo de caña, raquis de palma.

INTRODUCCIÓN

Es inevitable el agotamiento de los combustibles fósiles y la contaminación que estos causan ya que en un su proceso de fabricación emiten a la atmósfera sustancias como dióxido y monóxido de carbono, que a su vez contribuyen a que el efecto invernadero aumente cada día más a lo largo de los años como se muestra en la figura 1; por este motivo es necesario la búsqueda de nuevos combustibles limpios, de carácter no tóxico, renovables y lo más importante que sean amigables con el ambiente como es el caso de los biocombustibles fabricados y obtenidos a partir de biomasa lignocelulósicas ⁸.

Figura 1. Evolución aproximada del porcentaje de reservas de petróleo y de las concentraciones de CO₂ a lo largo del siglo XX⁹.



Los biocombustibles poco a poco vienen presentando una mayor demanda ya que la mezcla etanol-combustible fósil permite una oxidación más eficiente⁸. En diferentes países como Estados Unidos y Brasil han basado la producción de etanol con maíz, y caña de azúcar. Colombia no se ha quedado atrás, ya que por sus extensas zonas de caña de azúcar en el Cauca ha iniciado una labor de búsqueda para la producción de etanol tomando el segundo puesto a nivel mundial⁸.

Dicha caña de azúcar (***Saccharum officinarum***) perteneciente a la familia de las gramíneas, crece en zonas tropicales o subtropicales. Tiene características como el tallo leñoso, lleno de un tejido esponjoso y dulce del que se extrae el azúcar. Esta planta puede superar los dos metros de altura; tiene hojas largas, lampiñas y flores purpúreas. Todo en esta planta se puede utilizar, hasta sus residuos (bagazo, cachaza y vinaza)⁹. El aprovechamiento de una tonelada de caña produce aproximadamente 330 kg de bagazo, 30 kg de cachaza y 800 L de vinaza¹⁰.

El bagazo de caña de azúcar se obtiene como subproducto después de que se realiza la extracción del jugo de la caña y es aproximadamente el 25 y 40% del total de la materia procesada. Es uno de los residuos agrícolas más abundantes con una producción anual estimada de 600.000 toneladas por año, pero también es un gran contaminante ya que es quemado para ser utilizado como combustible en las centrales azucareras generando gases de efecto invernadero¹¹.

Otro material prometedor para dicha causa es la palma africana (*Elaeisguineensis*), llamada así debido a que se origina en Guinea en el África occidental, es una palma tropical que crece en clima cálido a una altura de 500 metros sobre el nivel del mar. Al ser expuesta a diferentes tratamientos para la producción de aceite se generan residuos o desechos como la tusa (raquis), la fibra y el cuesco. Por ser parte de la planta, estos tres residuos contienen los mismos componentes característicos de la palma incluyendo el material lignocelulósico¹². El raquis es altamente explotado o aprovechado ya que es una fuente rica en carbono renovable y en Colombia se estarían recolectando 1.660.074 toneladas por año con lo que se podrían estudiar soluciones a los problemas de energía y de materia prima.

Uno de los usos más comunes de la materia bruta contenida en el material lignocelulósico es el aprovechamiento como materia prima en la producción de etanol de segunda generación². Se le conoce al etanol combustible de segunda generación a la conversión de lignocelulosa residual, que es producido por materias primas no alimenticias como residuos agroindustriales, a bioetanol¹³. Para obtener el etanol de segunda generación se necesita una serie de 4 pasos: Pre-tratamiento, Hidrólisis, Fermentación y Purificación/Separación del producto.

El bioetanol resultante entre la primera generación o la segunda generación no tiene diferencia alguna, ya que por cualquiera de las dos vías se obtiene alcohol etílico. La diferencia radica en que el etanol de primera generación o convencional, se obtiene de productos agrícolas que tienen valor alimenticio, pero su costo de producción es más bajo¹⁴; se estima que 1L de etanol obtenido convencionalmente estaría entre los \$US 0,88¹⁵. Por su parte, el etanol de

segunda generación se obtiene de biomasa rica en celulosa y hemicelulosa sin valor alimenticio. Sin embargo, la tecnología de procesamiento de estos materiales es más compleja, por lo que los costos de inversión y producción asociados son elevados¹⁶, ya que 1L de etanol obtenido por esta vía se estimaría en \$US 1,50¹⁷.

En Colombia, el bagazo de caña ofrece la mayor disponibilidad de biomasa lignocelulósica en lo que respecta a residuos industriales, lastimosamente en la actualidad de nuestro país no existe una producción industrial importante de agrocarburos lignocelulósicos (segunda generación) pero se aprecia que si se utiliza la tecnología apropiada, este carburante se podría obtener de una gran diversidad de materias primas en mezcla como son árboles de crecimiento rápido, paja, residuos y astillas de madera, así como residuos vegetales y agrícolas¹⁸.

Con el motivo de minimizar los impedimentos o problemas mencionados anteriormente y aprovechar al máximo la producción elevada de los residuos lignocelulósicos descritos anteriormente, se hace necesario determinar cuáles son las mejores alternativas que permitan disminuir la grieta económica o técnica entre los combustibles de primera y segunda generación. Para esto, se quiere analizar en este proyecto el bagazo de caña de azúcar, el raquis de palma africana y tres mezclas entre ellos (90/10, 70/30, 50/50) para visualizar su potencial para la obtención de etanol y conocer teóricamente cuántos litros de Bioetanol se podrían alcanzar por tonelada de residuo al año, por medio de los protocolos aconsejados por NREL (national renewable energy laboratory) con los cuales se obtienen datos importantes para esta investigación como lo son los porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina, y los resultados logrados al caracterizar físicamente los materiales.

1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.

La demanda de energía para el transporte e industria como respuesta al incremento de la población ha llevado a un agotamiento de los combustibles fósiles, no obstante, estos recursos se han usado como una gran fuente de energía durante muchos años, sin embargo, han generado graves problemas ambientales debido a que aumentan los Gases Efecto Invernadero. Además, contribuye al calentamiento global y el deterioro de la salud humana^{19, 20}.

Debido a toda esta problemática que rodea a los combustibles fósiles se han propuesto alternativas más limpias para suplir la demanda de energía con el fin de reducir la dependencia del uso de estos. Es por esto que el Bioetanol se ha considerado una alternativa de combustible ya que su principal ventaja frente a los combustibles generados través del petróleo es su biodegradabilidad, su carácter menos tóxico cabe resaltar que también promueve economía rural y mejora la seguridad energética²¹. El etanol de primera generación es obtenido directamente de los azúcares fermentables de productos agrícolas como el almidón de maíz, remolacha, caña de azúcar soja, destacados por su alto contenido de carbohidratos, mientras que etanol de segunda generación se obtiene principalmente de desechos de cultivos agroindustriales que contienen una matriz compuesta de hemicelulosa, lignina y celulosa, con una proporción variable para cada una de las materias primas, algunos de estos desechos son la palma africana, el bagazo de caña, raquis de palma africana, cascarilla de café la paja arroz, entre otros. Estos residuos lignocelulósicos por medio de un pretratamiento ya sea con ácido o base como los son el H_2SO_4 y $NaOH$ o una mezcla de ellos, seguido de una sacarificación enzimática y por último de una fermentación con microorganismos especializados se logra la obtención de etanol rompiendo las fibras de la matriz lignocelulósica¹⁹.

Sin embargo, el etanol de primera generación presenta un grave problema debido a que su producción se hace de materias primas las cuales se utilizan para producir alimentos de consumo humano. Para atender la producción de biocombustibles en todo el mundo se ha generado una fuerte petición de estos productos agrícolas ocasionando el alza en el precio de estos alimentos esenciales o básicos desatando protestas y caos por los consumidores²².

Por otra parte, los residuos orgánicos agrícolas como rastrojo o paja de trigo, bagazo de caña de azúcar, raquis, fibra, cuesco de palma africana, paja de arroz, paja de trigo, paja de maíz, el pelo de semilla de algodón, hoja de piña, tallo de

plátano, álamo, son considerados actualmente uno de los principales problemas de la agricultura desde el punto de vista ambiental al verlos como un desecho. Sin embargo, múltiples investigaciones han demostrado el uso de esta biomasa como materia prima en la producción de biocombustibles, para la generación de energía es de vital importancia. La producción de bioetanol a partir de residuos agroindustriales es una alternativa adecuada, dada la necesidad de disminuir la dependencia de los combustibles fósiles¹⁹.

Es necesario evaluar el uso de distintitos tipos de biomاسas (abundantes y disponibles en nuestro país) para la producción de etanol de segunda generación a gran escala. En el departamento de Santander se destacan por lo tanto la generación de residuos como el bagazo de caña de azúcar y el raquis de Palma. Debido a que anteriormente se han reportado o hecho experimentos sobre la caracterización física y química del bagazo de caña de azúcar y racimos vacíos de palma africana para la producción de etanol, la importancia del estudio realizado muestra la interacción de ambos sustratos por medio de una mezcla física de estos en distintas proporciones para establecer si esta mezcla mantiene o mejora la producción de etanol conocida a partir del bagazo de caña, ya que con el uso de un sustrato específico en Colombia no se podría pensar en escalar la tecnología.

El desarrollo de etanol de segunda generación a partir de biomasa lignocelulósica puede aumentar la sostenibilidad de la producción de materia prima sin competir con la producción de alimentos o el cultivo de las tierras agrícolas²³.

2. JUSTIFICACIÓN

En los últimos tiempos en Colombia se ha observado un gran desarrollo en los cultivos oleaginosos, referenciando la palma de aceite como el más representativo¹⁰. Por esta razón la industria está generando mayor cantidad de residuos lignocelulósicos en la producción de aceite de palma donde los residuos lignocelulósicos cuentan con una abundante biomasa vegetal ventaja de estos es que permiten la creación de nuevos productos sustentables y de bajo impacto ambiental; entre los más destacados está el etanol¹¹.

La producción de etanol de segunda generación a partir del raquis de la palma africana y bagazo de caña azúcar han sido dos de los precursores más estudiados para la obtención de energías renovables ya que brindan grandes beneficios y ventajas especialmente con el ambiente porque se basa no en materias primas comestibles sino en los residuos o desechos de producción agroindustrial que no compiten con los precios de los alimentos generando como consecuencia el aumento de estos.

Uno de los mayores beneficios para los cultivos de palma africana y caña de azúcar es que puede ser cultivado durante todo el año puesto que se ve favorecido por el clima diverso de Colombia. Sin embargo, esto hace que la generación de residuos también esté disponible todo el año generando problemas de acumulación de los mismos.

Un aspecto positivo para el país es que han mejorado las metodologías de generación de energía, perfeccionamiento del consumo de combustibles en cuanto al transporte, la industria, la zona rural, residencial y comercial basándose en el cumplimiento a la Ley 697 de 2001 (Ley URE), mediante la cual se fomenta el uso racional y eficiente de la energía y se promueve la utilización de energías alternativas¹⁰.

El objetivo actual de los estudios de la palma de aceite es optimizar los procesos de extracción del aceite y el mejoramiento de la calidad del mismo, esto se logra buscando alternativas de aprovechamiento de los residuos como son la tusa, el cusco y el raquis ya que de toda la producción del aceite de palma se desecha a cerca del 47% de estos mismos. Estos tienen en común que, aunque son desechos siguen siendo partes de la planta, por lo tanto, están conformados por el mismo material lignocelulósico que es para nuestro estudio el de mayor importancia.

Estos mejoramientos en la extracción de aceite incrementan la competitividad y sostenibilidad del sector agroindustrial de la palma de aceite lo que genera más y mejores empleos rurales a más colombianos ya que se aprecia que para producir el etanol, será necesario introducir cerca de 170 mil nuevos empleos²⁴; como beneficio adicional dicha extracción aporta en la reducción de la contaminación de gases de efecto invernadero y de los residuos sólidos dando un buen manejo de estos mismos.

El etanol comparado con la gasolina posee un carácter menos tóxico con un poder calorífico menor, una mejor oxidación el octanaje, el calor latente de vaporización del etanol son mayores, sumado a esto el etanol contiene oxígeno en su composición química y estructura lo que hace que se produzca una mejor combustión en el motor²⁵. Dichas ventajas fueron las razones por las cuales en Colombia en el año de 2001 cuando se expidió la ley 693 que obligó la adición de etanol a la gasolina en un 10 % en ciudades con más de 500000 habitantes²⁶.

Sin embargo, la producción actual de bioetanol no cubre el requerimiento de tener una mezcla del 10 % de etanol en el país ya que a mediados de año 2012 esta mezcla fue del 8 %, no obstante Colombia pretende aumentar el contenido de etanol en la gasolina hasta un 20 %, pero actualmente no cuenta con la capacidad de producción necesaria para satisfacer el mercado interno y aún menos como para pensar en la posibilidad de exportar o cubrir la demanda de biocombustible en todo el país²⁶. Para ello Ecopetrol ha contemplado un proyecto, el cual se encuentra en fase de ejecución en el departamento de Meta, en el municipio de Puerto López (Figura 2). Este municipio se ha destacado por sus actividades ganaderas pero ahora se están reconvirtiendo a agrícolas industriales con el cultivo de distintas variedades, entre ellas la caña de azúcar y el raquis de palma siendo este último mayoritario en la zona oriental (Meta y Casanare) ya que cuenta con 135,849 hectáreas plantadas²⁷ (Figura 3).

El proyecto denominado Bioenergy S.A será de la primera empresa de Colombia en producir etanol carburante, la más grande de biocombustible en Colombia y se estima que inicie su actividad en el 2017.²⁸

Bioenergy S.A propone desarrollar sus procesos agrícolas e industriales con alta tecnología, capacidad de producción de 480000 litros diarios y la siembra mecanizada de 14.400 hectáreas de caña de azúcar en los llanos orientales.²⁸

Teniendo en cuenta lo anteriormente nombrado frente los tipos de desechos que se van a utilizar a en este trabajo de investigación, se llevó a cabo una caracterización individual y de los materiales mezclados en las proporciones de 70/30 %, 50/50 %, 90/10 % con una mayor presencia de bagazo en cada una de

las mezclas a considerar, con la finalidad de mirar la viabilidad que podría brindar la interacción de dichos sustratos como preámbulo a frente a las otras etapas de investigación en la obtención de etanol como lo son la evaluación de pretratamientos, hidrólisis enzimática y distintos organismos utilizados en la fermentación sin pasar por alto que posiblemente pueda implementarse a escala industrial.

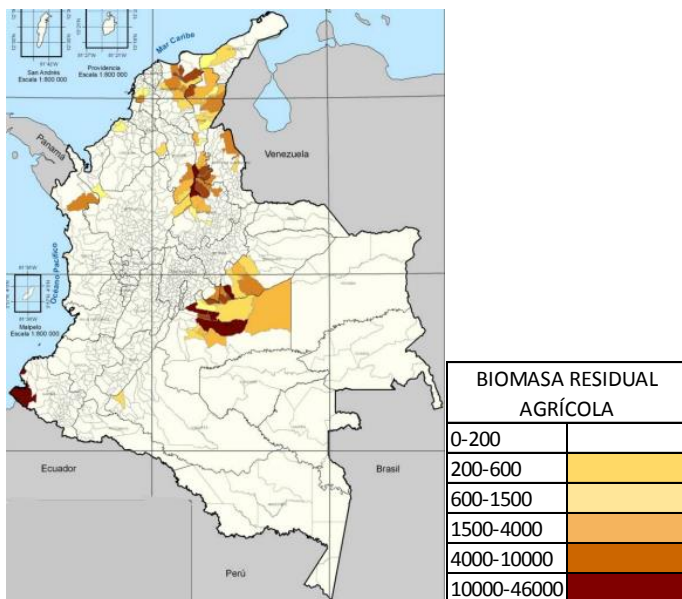
A continuación se ilustra la ubicación del municipio de Puerto López en Colombia, donde se radicará la empresa Bioenergy S.A

Figura 2. Ubicación del municipio de Puerto López en Colombia.



Fuente: Google Maps

Figura 3. Palma de aceite en Santander²⁹.



3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Caracterización química de la mezcla del raquis de la palma africana (*Elaeisguineensis*) y el bagazo de caña de azúcar (*Saccharumofficinarum*) para visualizar su uso potencial en la obtención de etanol de segunda generación.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el porcentaje de hemicelulosa, celulosa y lignina para comparar en residuos lignocelulósicos como bagazo de caña de azúcar y raquis de palma africana utilizados como materia prima en la obtención de etanol de segunda generación.
- Determinar el porcentaje de extractivos y cenizas para conocer las limitaciones que el raquis de la palma africana ofrecería en el momento de escalado de la tecnología a nivel industrial.
- Caracterizar el material lignocelulósico en su estado natural, utilizando técnicas instrumentales como MEB, DRX y FTIR.

4. MARCO REFERENCIAL

4.1 MARCO TEÓRICO

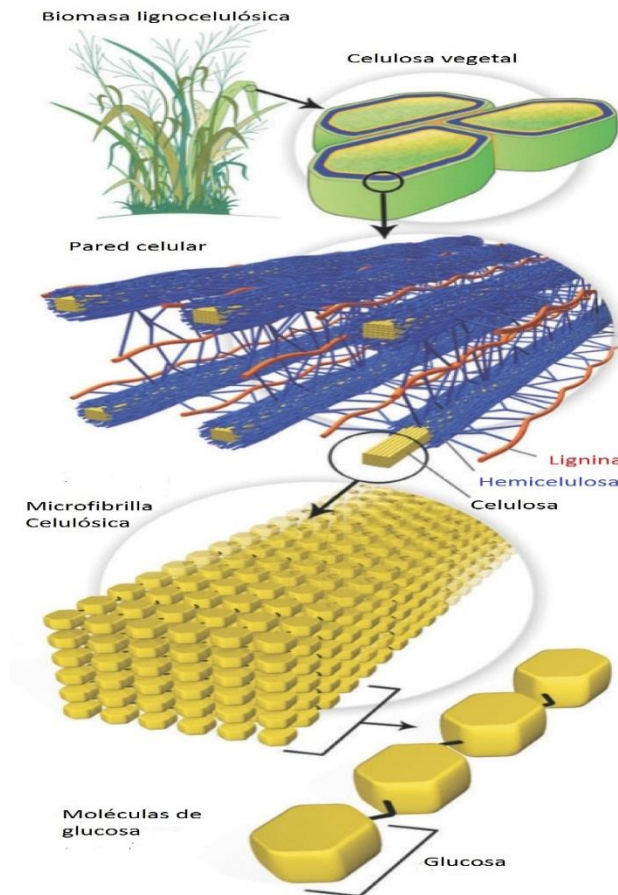
4.1.1 **MATERIAL LIGNOCELULÓSICO.** El material lignocelulósico se compone de celulosa y hemicelulosa en una proporción del 40-50% y 18-27% respectivamente, estos, son polisacáridos estructurales los cuales conforman las paredes celulares de las plantas en un 70-85%; esta porción es comúnmente conocida como holocelulosa. Otro de estos componentes lignocelulósicos es la lignina en proporción del 28-27% y conforma del 10 al 30 % de la ya mencionada pared celular³⁰. La variación de la proporción de los anteriores componentes está ligado al tipo de material como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química de diferentes materiales lignocelulósicos²⁶.

COMPOSICIÓN QUÍMICA (%)				
MATERIAL	CELULOSA	HEMICELULOSA	LIGNINA	OTROS
Bagazo	36	28	20	16
Paja de la caña de azúcar	36	21	16	27
Paja de maíz	36	28	29	7
Mazorca de maíz	36	28	0	36
Paja de trigo	39	36	10	15
Paja de arroz	33	26	7	34
Cáscara de arroz	38	20	19	25
Paja de algodón	42	12	15	31
Madera de pino	44	26	29	1
Hierba	32	20	9	39

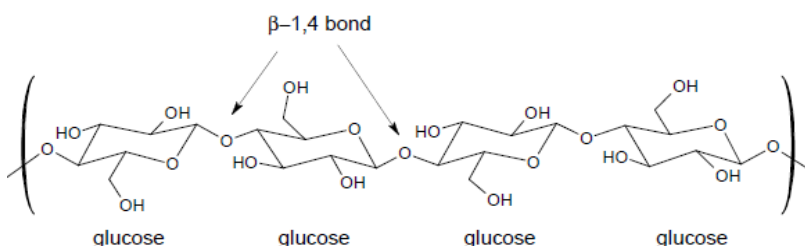
La pared celular se divide en tres paredes que son: Pared primaria (P), pared secundaria (S1, S2, S3) y la pared superior (T). La distribución del material lignocelulósico es diferente entre las capas de la pared celular de la planta. La celulosa se encuentra en mayor cantidad en la capa S2, la hemicelulosa en las capas S1 Y S2, mientras que la lignina se distribuye por toda la estructura³¹ como se muestra en la figura 4.

Figura 4. Relación de las capas de la pared celular vegetal y la celulosa, hemicelulosa y lignina²⁶.



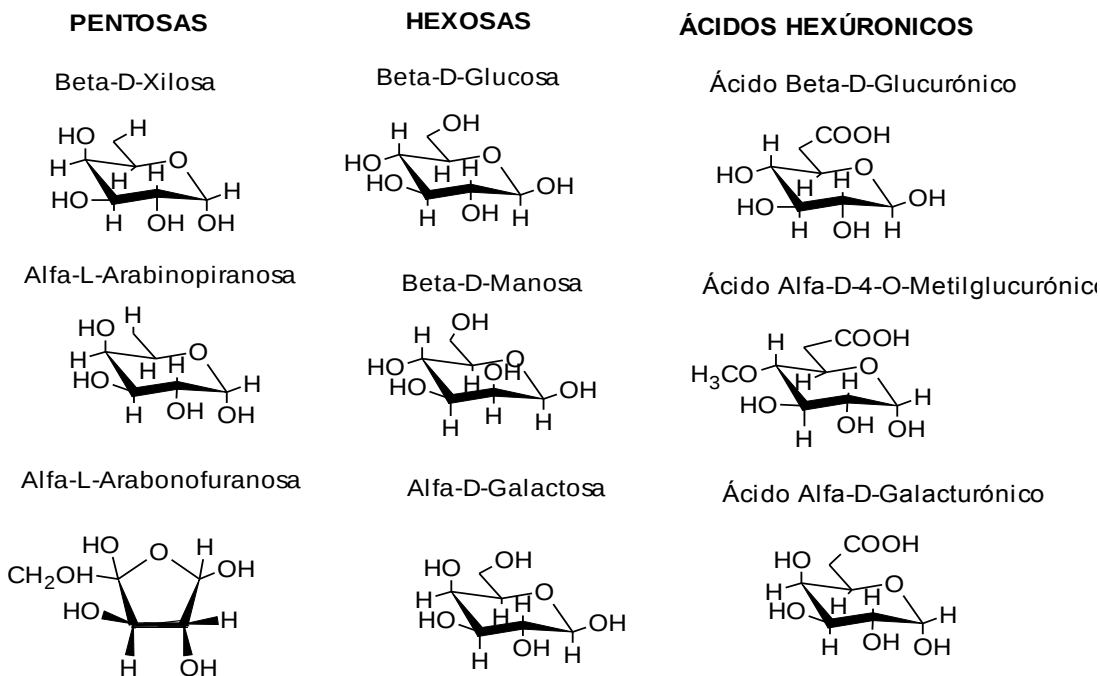
4.1.1.1 **CELULOSA.** La celulosa con fórmula molecular $(C_6H_{10}O_5)_n$ es el mayor constituyente de la pared celular vegetal. Por ser muy abundante es altamente aprovechado en la industria papelera, de aditivos, etc... Es un polímero lineal compuesto por cadenas lineales de celobiosa especialmente monómeros de D-glucosa unidos por enlaces β -(1,4)-O-glucosídicos formando largas cadenas denominadas microfibrillas que se unen por puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals intramoleculares³²(figura 5)..

Figura 5. Estructura de la celulosa²³.



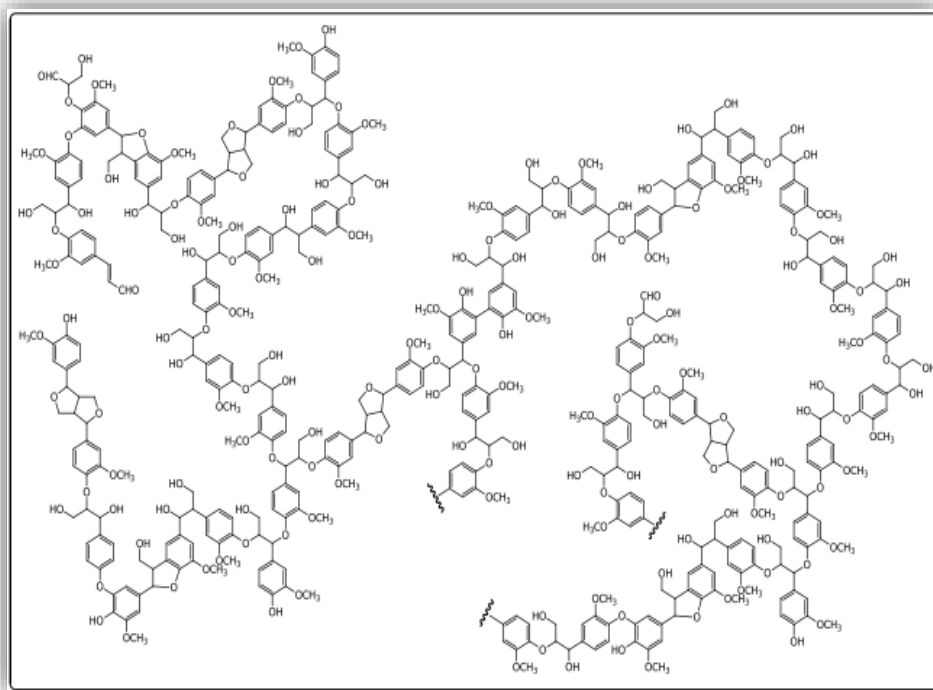
4.1.1.2 HEMICELULOSA. También llamada Poliosa, está compuesta por un grupo de heteropolisacáridos compuestos por pentosas, como la D-xilosa, L-arabinosa, y de hexosas como la D-glucosa, D-manosa y D-galactosa (Figura 6); también ácidos urónicos (glucurónico y galacturónico) y grupos acetilos³⁰ formando cadenas más cortas y ramificadas. La naturaleza ramificada de la hemicelulosa la hace más proclive de hidrolizar que la celulosa por otro lado el contenido de hemicelulosa, tanto por cantidad como por variedad difieren mucho en función de las especies. En el caso de las maderas se puede apreciar una mayor cantidad de manosa y galactosa en las coníferas, mientras que la xilosa y los grupos acetyl son más abundantes en las coníferas²⁶.

Figura 6. Componentes de la hemicelulosa²⁹.



4.1.1.3 LIGNINA. La lignina es el segundo componente después de la celulosa más abundante en el tejido vegetal, es de gran importancia ya que su función es proporcionar rigidez contra la humedad, los agentes atmosféricos y el ataque de microorganismos sin olvidar que puede actuar como elemento de unión de fibras de celulosa. Este polímero se encuentra situado en la lámina media de la pared celular y también en las capas de la pared celular^{33,34}. Esta macromolécula tridimensional altamente ramificada tiene estructura aromática con subunidades de fenilpropano, enlazadas mediante enlaces carbono-carbono o éter lo que le da una estructura tridimensional muy compleja³⁵. La definición estructural de la lignina nunca ha sido tan clara como la de los otros polímeros naturales tales como celulosa y proteínas por su complejidad afectando su aislamiento, análisis de la composición y caracterización estructural. Dicho problema se asocia con la naturaleza de sus múltiples unidades estructurales, las cuales no suelen repetirse de forma regular³⁶ (Figura 7).

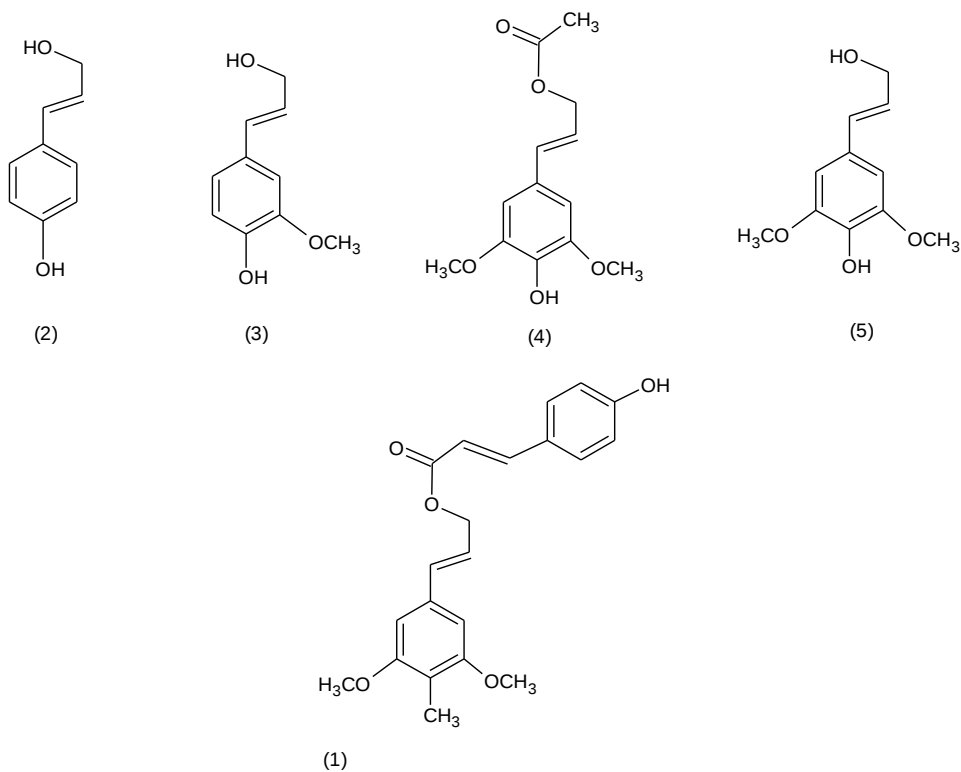
Figura 7. Estructura aproximada de la lignina³³.



La composición química de lignina principalmente radica en tres de unidades repetitivas: cumaril, guaicol y siringil. Son derivadas de los denominados monolignoles, los alcoholes p-cumárico (4-hidroxicinamílico), coniferílico (4-hidroxi-3-metoxicinamílico) y sinapílico (4-hidroxi-3,5-dimetoxicinamílico). Precursores responsables en la biosíntesis de lignina diferenciándose en su

estructura por la ubicación y sustitución con un grupo metoxilo (-OMe) en las posiciones 3 y 5 de la unidad aromática³⁷ (Figura 8).

Figura 8. Estructura de los precursores de la lignina. Sinapil p-curamato (1), alcohol p-cumarílico (2), alcohol conifeferílico (3), sinapil acetato y alcohol sinapílico³⁵.



4.1.1.4 **EXTRACTIVOS.** A pesar de estar presente en menor proporción existen otros compuestos (extractivos y cenizas) que poseen gran influencia en las propiedades y en procesos de conversión de la biomasa lignocelulósica. Los extractivos son los compuestos orgánicos de bajo peso molecular. Se denotan literalmente de esa manera porque se pueden extraer de la madera con agua o con solventes orgánicos. Se incluyen dentro este grupo: carbohidratos de bajo peso molecular, terpenos, ácidos alifáticos y aromáticos. Sus funciones en la célula vegetal son la de protección exterior y reserva de nutrientes³⁴. Los no extractivos son principalmente compuestos inorgánicos tales como carbonatos alcalinotérreos y oxalatos, tanto algunos materiales que no son de la pared celular, como almidones, pectinas y proteínas. Cristales de sílice no extractiva son abundantes en materiales herbáceos, pero no en especies de madera. Los compuestos extraíbles se clasifican según su solubilidad en compuestos lipofílicos (lípidos y derivados) y compuestos hidrofílicos (hidrosolubles). En muchas plantas el olor, color y gusto les determinan casi únicamente los lípidos además de ser importantes contra la defensa de patógenos³⁴.

4.1.2 RESIDUOS LIGNOCELULOSICOS (RAQUIS DE PALMA AFRICANA Y BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR)

4.1.2.1 **RAQUIS DE PALMA AFRICANA.** La palma africana es también conocida como palma de aceite con nombre científico *Elaeisguineensis* de la familia Arecaceae (Palmae). Su nombre hace referencia a su origen en África Occidental específicamente en el golfo de Guinea. (Figura 9)

Figura 9 .Palma africana³⁶.



La industria del aceite de palma solo aprovecha el 10% de esta misma dejando un gran número de residuos que en consecuencia del proceso de la planta provocan un impacto ambiental ya que no son utilizados como abono porque de hacerse un pretratamiento antes lo que aumentaría costos³⁸.

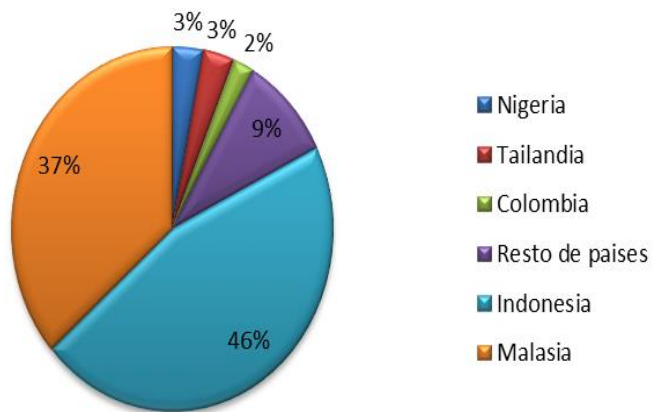
El raquis, ilustrado en la figura 10, es uno de los materiales lignocelulósicos que se tiene al alcance, ya que está compuesto por celulosa, hemicelulosa y lignina. Se calcula que en el proceso de extracción de 10000 kg de racimos de fruta fresca(RFF) se producen tan sólo 2.100 kg de aceite de palma,mientras que se generan aproximadamente unos 2.200 kg de tusa ⁸.

Figura 10.Raquis de la palma africana³⁸.



Indonesia y Malasia dominan abrumadoramente la producción, combinando los próximos tres mayores productores (Tailandia, Nigeria y Colombia) un 8% de la producción. Aproximadamente otros 39 países representan menos del 10% de la producción mundial de aceite de palma³⁹.

Figura 11. Producción mundial de aceite de palma³⁹.



La industria del aceite de palma es actualmente líder a nivel mundial en la provisión de aceites y grasas y uno de los sectores con mayor potencial por la versatilidad de usos y aplicaciones de sus productos, tales como aceite de cocina, grasas especiales, sustitutos de manteca de cacao y de grasas animales, margarinas, productos de aseo, jabones, detergentes, cosméticos, cremas dentales, velas, lubricantes, pinturas, biocombustibles y energía eléctrica, entre muchos otros³⁹.

Colombia es actualmente el primer productor de aceite de palma en América y el cuarto en el mundo. En el país el cultivo de palma africana está integrado en 58 núcleos palmeros distribuidos en las cuatro zonas palmeras: la zona norte la componen la Costa y el Cesar con 15 en la zona central se encuentran el Sur del Cesar, Bucaramanga y Norte de Santander con 13; la zona oriental está compuesta por el Meta y Casanare con 25; y el suroccidente abarca Tumaco y Caquetá con 5⁴⁰.

Hoy en día, Colombia cuenta con cerca de 500.000 hectáreas (Figura 3) sembradas en palma de aceite, con miras a tres a cinco años a extender sus hectáreas más de 2 millones de toneladas de aceite de palma, duplicando la producción actual.⁴¹

Figura 12. Distribución de zonas de cultivo de la Palma de aceite en Colombia.²⁹

Los números del 1 al 11 en color negro significan los municipios palmeros comenzando por: 1. Barrancabermeja, 2. Betulia, 3. Bucaramanga, 4. Girón, 5. Lebrija., 6. Puerto parra, 7. Puerto Wilches, 8. Rionegro, 9. Sabana de Torres, 10. San vicente de Chucurí, 11. Simacota en el departamento de Santander por el contrario los números en azul 3 y 4 representan los 7 núcleos palmeros actuales en funcionamiento en el departamento en total la región promueve 13.973 empleos indirectos y 9315 empleos directos distribuidos en los 11 municipios palmeros.



La palma de aceite es la principal actividad económica del Magdalena Medio Santandereano. Este departamento se destaca por tener las zonas más grandes en palma aceite del país, en lo que concierne a área y producción. De acuerdo a los datos arrojados por la federación nacional de cultivadores de palma, (Fedepalma), la palmicultura santandereana esta sujeta en 434 unidades productivas, donde es catalogada en pequeños productores a menos de 50 hectáreas, en medianos productores desde 167 unidades, con extensiones que va desde la 50 a 500 hectáreas y finalmente, en grandes cultivadores con más de 500 hectáreas⁴².

La producción de palma en Santander en total cuenta 618 unidades productivas las cuales 83.554 hectáreas donde 17886 están en desarrollo y 65.468 están en producción y 74.564 hectáreas de palma de aceite están sembradas actualmente a lo largo de la región⁴².

4.1.2.2 BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR. La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) perteneciente a la familia de angiospermas, *Poaceae*, es uno de los cultivos más importantes para la economía brasileña ya que es generador de cientos de empleos e ingresos en la ciudad más productora de este mismo, São Paulo⁴³, anualmente este residuo genera alrededor de 54 millones de toneladas en el mundo.

Su estructura está compuesta por sacarosa, fibra, ácido ascórbico, ácido cianhídrico y minerales. Es altamente aprovechada ya que tiene usos alimenticios como materia prima para la fabricación de ron, melaza, azúcar y alcohol, además sirve como forraje para la alimentación animal⁴³.

En el proceso de molienda de la caña de azúcar se obtiene un residuo llamado bagazo (Figura 14), rico en material lignocelulósico. Sus proporciones de composiciones se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Composición del bagazo de caña de azúcar⁴².

COMPONENTE	COMPOSICIÓN
Celulosa	23-53%
Hemicelulosa	20-35%
Lignina	10-25%

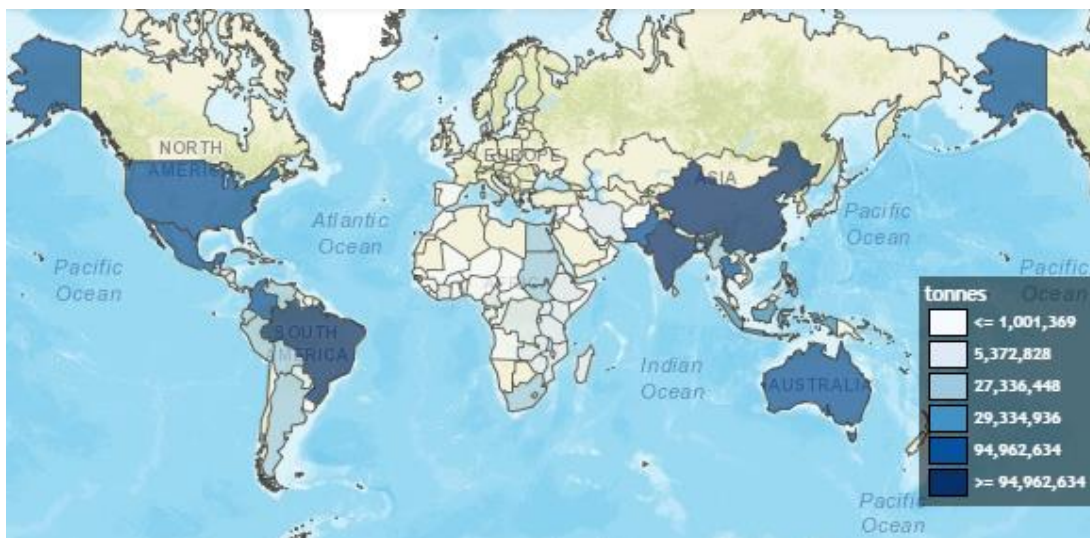
Se estima que por cada tonelada de bagazo seco de caña de azúcar se obtienen 210 litros de etanol, utilizando levadura *Saccharomyces cerevisiae*⁴⁴.

Figura 13 . Bagazo de caña de azúcar⁴³.



La caña de azúcar ocupa un área de 20.24 millones de hectáreas en todo el mundo, con una producción total de 1333 millones de toneladas. No obstante el área destinada a este alimento y materia prima varía de un país al otro inicialmente Brasil posee la mayor producción seguido India, China, Tailandia, Pakistán, México, Cuba, Colombia, Australia, USA, Filipinas, Sudáfrica, Argentina, Myanmar y Bangladesh. Entre todos estos países mencionados se concentra 86,0 % del área y 87.1 % de la producción mundial⁴⁵.

Figura 14. Distribución de la producción mundial de la caña de azúcar⁴⁶.



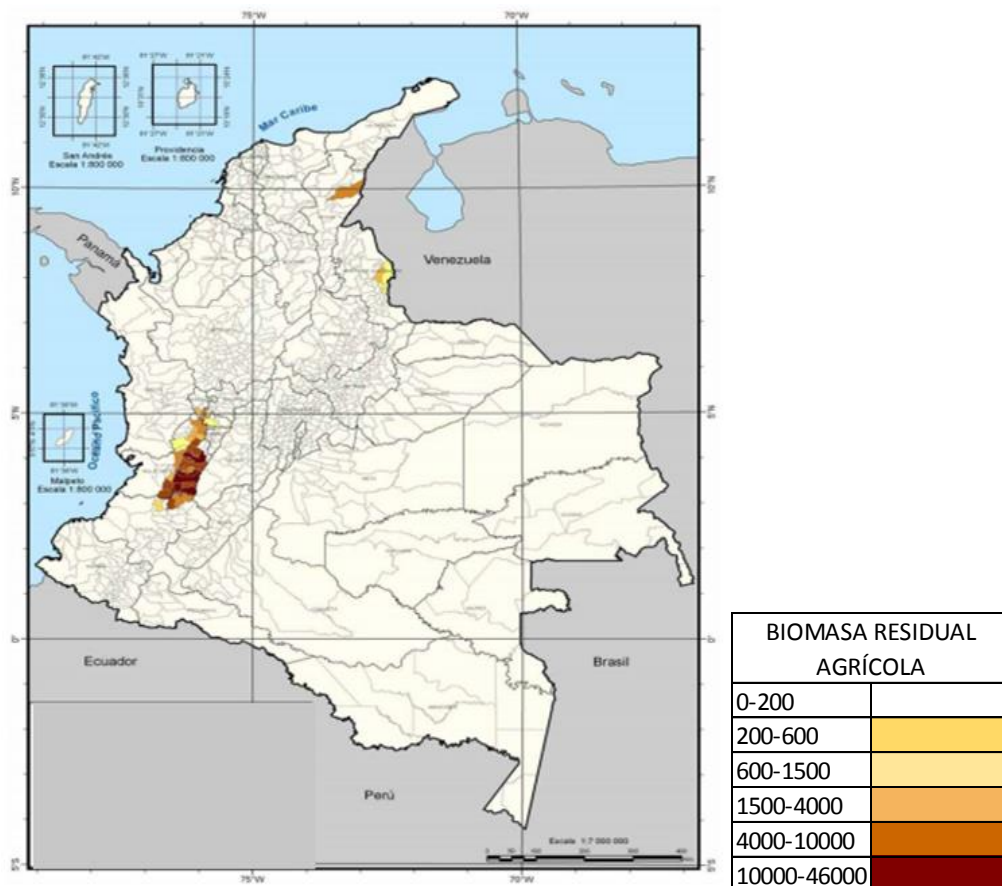
El sector azucarero colombiano se encuentra principalmente ubicado en el valle geográfico del río Cauca, que consta 33 municipios comenzando por el norte del departamento del Cauca, la franja central del Valle del Cauca, Risaralda, Caldas hasta el sur del departamento de Caldas y otra poca proporción en los departamentos del Cesar y Norte de Santander (Figura 16)⁴⁷. En Colombia, en el año 2013 se produjeron 2,12 millones de toneladas de azúcar a partir de 21,56

millones de toneladas de caña. De alcohol carburante se produjeron 387 millones de litros, destinados a la mezcla con gasolina en una proporción E8 (8% etanol, 92% gasolina), de acuerdo con el mandato de oxigenación establecido por el gobierno desde noviembre de 2005⁴⁸.

La extensión sembrada de caña de azúcar en Colombia está por encima de las 170 mil hectáreas con una producción aproximada de 2,5 millones de toneladas de azúcar dicha producción a medida de los años ha venido a en constante crecimiento debido a la gran demanda por parte de la industria más que todo enfocado a los productos de exportación.

Para la zona de producción de azúcar tiene como referencia el departamento del valle del cauca en el cual se producen derivados como etanol y están ubicadas las refinerías más importantes del país.

Figura 15. Distribución de cultivos de caña azúcar a lo largo del país.⁴⁹



El cultivo de caña de azúcar en Colombia se extiende en más de 25 departamentos y 511 municipios donde la región geográfica denominada Holla del Río Suarez en los departamentos de Boyacá y Santander escenifica cerca del 17

% del área sembrada y su extensión supera según su la encuesta nacional agropecuaria del 2011 las 45904 hectáreas la variedad RD-75-11 aporta el 50 % del área cultivada y su periodo vegetativo promedio es 17 meses⁵⁰.

4.1.3 TÉCNICAS INSTRUMENTALES

4.1.3.1 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 fundamentales⁵¹; 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) elevadas⁵².

4.1.3.2 HPLC. Es una técnica instrumental que accede al análisis y a la separación de la mezcla de cualquier clase de compuestos sin importar las polaridades, las estabildades térmicas o volatildades⁵³.

La muestra debe ser líquida para ser inyectada en una columna específica. Cada componente debe pasar por un detector que convierte la información en una señal eléctrica del que se obtiene un cronograma, esta gráfica permite la identificación cualitativa de los compuestos de la muestra en base al tiempo de retención en condiciones cromatográficas concretas, y determinar cuantitativamente la concentración por el área relativa de cada pico³⁷.

4.1.3.3 DRX. La difractometría de rayos X es una técnica basada en el análisis de las radiaciones emitidas por una muestra (polvo) al ser expuesta a un haz de rayos x divergentes. La reflexión de rayos X producida por la muestra en diferentes ángulos y en haces más o menos intensos permite la distinción de compuestos cristalinos en los que el haz de rayos x ha sido incidido. De los datos arrojados por el análisis se puede obtener el espacio interplanar, los índices de Miller de las reflexiones y su intensidad, la identificación cualitativa de los componentes químicos, el análisis cualitativo de las mezclas de cristales y su medida⁵⁴.

4.1.3.4 MEB. La microscopia electrónica de barrido es una técnica de análisis superficial, que se basa en enfocar sobre una muestra electrodensa un fino haz de electrones acelerado con energías de excitación desde 0,1 kV hasta 30 kV. El haz de electrones se desplaza sobre la superficie de la muestra realizando un barrido que obedece a una trayectoria de líneas paralelas⁵⁵.

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 laboriosa⁵⁶.

4.1.4 CRITERIO DE CARACTERIZACIÓN. NREL es un laboratorio estadounidense de energías renovables que desarrolla tecnologías de energía limpia, prácticas de la eficiencia electrónica de avances y de la ciencia innovadora. También procedimientos analíticos de laboratorio para el análisis de la biomasa entandar que colaboran con el desarrollo de los labores científicos y analistas y al conocimiento cercano de la composición química de la biomasa y de los productos intermedios del desarrollo de la conversión a combustibles⁵⁷.

Ciertos protocolos escritos por NREL son para la correcta caracterización de la biomasa son tomados por los investigadores para la realización de proyectos. Algunos de ellos son lapreparación de muestras para el análisis composicional, sólidos totales en la biomasa, contenido de cenizas y proteínas en biomasa, extractivos, hidratos de carbono y lignina en biomasa, azúcares, subproductos y productos de degradación de la fracción líquida de las muestras, sólidos insolubles, sacarificación enzimática, hidrólisis y fermentación.

4.2 MARCO DE ANTECEDENTES

En el Departamento de ingeniería mecánica, UFPR, Curitiba, Brasil, año 2009 J.L. Guimarães *et al* llevó a cabo una investigación sobre la caracterización de fibras de banano, calabaza esponja y bagazo de caña de azúcar en el cual evaluaron su potencial como materias primas como posibles para la obtención de etanol de segunda generación. Donde la composición química detallada de todos los sustratos se logró siguiendo los estatutos de la ABNT NBR 9656 (Asociación Brasileña de Normas Técnicas) para el contenido de humedad. Por otro lado, el contenido de cenizas lo hicieron teniendo por un tiempo de 4 horas a 800 ° C. En tanto para la determinación del contenido de lignina Klason se basaron en el

método TAPPI T13M-54, con ácido sulfúrico concentrado (72%), cogiendo 1,0 g, previamente secado de cada material, los cuales se maceraron usando 72% 15 ml de H₂SO₄ a temperatura ambiente por un lapso de 24 h. Después de eso, el material se le añadieron 560 ml de agua destilada⁵⁸.

Finalmente, el contenido de hemicelulosa se determinó de acuerdo con los lineamientos de TAPPI T19m-54, que consiste en una degradación selectiva del polímero de lignina utilizando hipoclorito de sodio (2,5 g) y ácido acético glacial (1 mL) donde lo añadieron a una suspensión acuosa con una cantidad de 120 mL a cada de las fibras Lignocelulósicas de los sustratos puestas en observación secadas y molidas inicialmente. Dicha mezcla se cubrió con un matraz Erlenmeyer invertido y se mantuvo a 70 °C, bajo agitación magnética durante 1 hora. Los resultados de la caracterización de este estudio se muestran en la Tabla 3⁵⁸.

Tabla 3. Composición química de las fibras de banano, bagazo y calabaza de esponja⁵⁴.

Componente (%)	Plátano	Bagazo	Calabaza Esponja
Humedad	8,57 ± 0,19	9,21 ± 0,01	4,79 ± 0,02
cenizas	4,14 ± 0,92	2.75 ± 0.19	0,66 ± 0,03
Celulosa	50,15 ± 1,09	54,87 ± 0,53	66,59 ± 0,61
Hemicelulosa	0,77 ± 0,58	16,52 ± 0,56	17,44 ± 0,21
lignina	17,44 ± 0,19	23,33 ± 0,02	15,46 ± 0,02
La cristalinidad (%)	39	48	50

En Canadá específicamente en Saskatchewan año 2010, Satyanarayan Naiket *al.*, evaluaron la posibilidad de utilizar cinco sustratos como: la paja de trigo, paja de cebada, paja de lino, Timothy hierba y pinewood con la finalidad de evaluar el potencial de dichas biomásas como materia prima para la producción de biocombustibles en base a su caracterización física y química utilizando las técnicas DRX, TGA, FTIR. Adicionalmente las muestras de biomasa se realizaron de extracciones: una con hexano, alcohol y finalmente agua por separado, seguido de ello de la extracción de la biomasa refinada fue hidrolizada con ácido basado en el protocolo de NREL (ver Tabla 4, consecutivamente la solución de azúcar ácida se neutralizó por carbonato de calcio. Para la cuantificación de los azúcares se utilizó el equipo de HPLC Hewlett-Packard con un detector RID, para la separación utilizaron una columna Aminex HPX 87P (Bioad, Hercules, CA), las condiciones utilizadas para desarrollar el método fue una fase móvil agua desionizada y desmasificada a un flujo de 0,6 ml / min con una temperatura de

columna (35 ° C) y el volumen de inyección fue de 20 µL con un tiempo de ejecución de 20 min⁵⁹.

Tabla 4. Composición química de las fibras de banano, bagazo y calabaza esponja ⁴⁴.

Biomasa	Extractivo en hexano (%)	Extractivos en EtOH (%)	Extractivos en agua (%)	Celulosa (%)	Hemicelulos a (%)	Lignina (%)
Paja de trigo	1,7 ± 0,1	2.1 ± 0.2	10,3 ± 0,3	34,6 ± 0,2	29,3 ± 0,3	21,3 ± 0,3
Paja de cebada	5,3 ± 0,1	4.6 ± 0.2	8.5 ± 0.2	32,5 ± 0,4	25,7 ± 0,2	23,0 ± 0,5
Paja de lino	1,5 ± 0,2	8.0 ± 0.3	10,0 ± 0,2	28,7 ± 0,2	26,8 ± 0,2	22,5 ± 0,4
Timoteo hierba	3.1 ± 0.3	5.4 ± 0.2	8.0 ± 0.4	31,5 ± 0,2	27,5 ± 0,3	24,0 ± 0,6
Pinewood	3.6 ± 0.2	6.8 ± 0.3	4,5 ± 0,2	39,0 ± 0,3	34,0 ± 0,3	12,0 ± 0,5

En Argentina en la Universidad Tecnológica Nacional en el año 2011 Dagnino *et al.*, utilizaron como materia prima la cascarilla de arroz, la cual presenta una estructura compleja para hidrólisis enzimática, por sus características morfológicas y compleja composición química, al pretratar la cascarilla de arroz con ácido diluido notaron una recuperación de hemicelulosa en forma de monómeros, su investigación se enfocó básicamente en encontrar condiciones óptimas de pretratamiento con ácido sulfúrico diluido y calor sobre el residuo con el fin de maximizar la extracción de xilosa y maximizar la concentración de glucanos en sólido pretratado. El pretratamiento llevado a cabo en este trabajo se hizo teniendo en cuenta dos factores: la concentración de la solución de ácido sulfúrico y el tiempo de exposición (16 -30 minutos)⁶⁰.

La cascarilla de arroz es un residuo lignocelulósico que tiene una composición de 36 a 40% de celulosa, 12 a 19 % de hemicelulosa y aproximadamente un 12 % de cenizas que contiene 80-90% de sílice, 5 % K₂O, P₂O₅ y 4 % a 1,2 % de CaO y pequeñas cantidades de Mg, Fe y Na adicionalmente posee grasas, alcaloides, resinas y aceites esenciales. Para la caracterización de la cascarilla de arroz los autores del trabajo incluyeron sustancias extractivas en agua, carbohidratos estructurales, glucanos, xilanos y arabinanos, grupos acetilos, lignina soluble e insoluble en ácido como se muestra en la Tabla 2.⁶⁰

La caracterización de los azúcares y demás sustancias se llevó a cabo mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) utilizando una columna AMINEX –HPX7H (BIO-RAD), con las siguientes condiciones: eluyente H_2SO_4 4mM, flujo 0,6 ml/min, temperatura de 35°C con un detector de índice de refracción y arreglo de yodos⁶⁰.

Tabla 5. Caracterización química de la cascarilla de arroz⁵⁶.

Componentes	% peso seco
Carbohidratos	48,6
totales	
Glucanos	34,1
Xilanos	13,1
Arabinos	1,5
Lignina total	19
Lignina ácido	17,2
insoluble	
Lignina ácido	1,8
soluble	
Grupos acetilos	1,2
Cenizas	15
Extractivos	8,2

En Colombia año 2011 específicamente en el instituto Fundación Universitaria Tecnológico de Comfenalco (Cartagena) Quintana *et al.* En su trabajo de investigación visualizaron el potencial de los residuos de poda para la producción de biocombustibles por medio de una hidrólisis de la biomasa lignocelulósica contenida en los residuos de poda (tallos, hojas y frutos) con la finalidad de producir jarabes glucosados y ser transformadas en Bioetanol, la metodología que se efectuó en esta investigación fue una hidrólisis ácida (ácido sulfúrico al 5%) a una temperatura 125 °C y una presión de 15 psi durante 15 minutos en un estilizador eléctrico de presión de vapor.

Para la hidrólisis básica usaron NaOH al 0,1 N seguido de una sacarificación enzimática con enzimas celulasas, la caracterización de los azúcares contenidos en los residuos de poda se efectuó por la técnica de HPLC con el objetivo de determinar los contenidos de celulosa, hemicelulosa producto de las dos hidrólisis mencionadas (ver Tabla 6). Al final del experimento se obtuvo una generación de glucosa de 16 %,13% y 2% para tallos, hojas y flores para la producción de bioetanol⁶¹.

Tabla 6. Caracterización de residuos poda⁵⁷.

Muestra	Tallos	Hojas	Flores
Glucosa, g/L	3,84	13,04	20,31
Hemicelulosa, g/L	15,42	27,60	23,15
Celulosa, g/L	42,54	28,67	24,17
Promedio, g/L	20,60	23,10	23,66

En la India año 2011 RaveendranSindhuet *al.*, llevaron a cabo un estudio donde utilizaron tapas de caña de azúcar (SCT) como una materia prima apta para la producción de Bioetanol donde el pretratamiento que manejaron fue una mezcla de ácido sulfúrico y ácido clorhídrico con una concentración total del (2% w/w) calentando la muestra a una temperatura de 121°C por 60 minutos, luego las estas fueron neutralizadas con NaOH 1 N además se lavaron con agua destilada y posteriormente se secaron a temperatura ambiente. Seguido de esto procedieron a la etapa sacarificación utilizando hidrólisis enzimática con celulosas, para la parte de optimización del proceso se basaron en varios parámetros, como la carga de biomasa, carga de la enzima, la concentración de surfactante y tiempo de incubación utilizando el diseño de Box-Behnken. Para el análisis de la biomasa nativa y de biomasa pretratada con los ácidos mediante siguieron el método de hidrólisis ácida diluida en dos etapas descrito en el protocolo de NREL no obstante se utilizaron las distintas técnicas instrumentales como Análisis FTIR, análisis SEM, análisis XRD mediante el cual observaron los cambios estructurales en la biomasa nativa y luego del pre tratamiento con ácido sulfúrico ⁶².

En el análisis de Micrografías electrónicas de barrido de las tapas de caña de azúcar nativas y con ácido pretratados se observaron una superficie regular, compacta y lisa, lo que indica una estructura de superficie altamente ordenada, mientras que la muestra de ácido pretratada se observó una superficie áspera, verificando cómo se abre la estructura nativa durante el tratamiento previo, lo que aumenta el área de superficie para la etapa de la hidrólisis enzimática⁶².

Por último en el análisis de difracción de rayos-X se precisó que la cristalinidad de celulosa juega un papel importante en la hidrólisis enzimática ya que presentó un índice de cristalinidad de la SCT nativa de 37.74% cambiando a 43,33% tras el pretratamiento ácido esto quiere decir que hubo a su vez aumento del índice de cristalinidad de las muestras pre tratada con ácido también concluyeron que un método de pre tratamiento eficiente elimina los componentes amorfos tales como hemicelulosa y lignina, finalmente aumentando la cristalinidad de la muestra pretratada⁶².

En la universidad de Antioquia (Colombia) año 2012, Agudelo *et al.*, desarrollaron una investigación sobre un proceso de inmovilización de células de levadura en materiales lignocelulósicos residuales y su evaluación de producción de etanol mediante el uso de biorreactores del lecho compacto , los materiales evaluados fueron: virutas de maíz, caña, mazorcas de maíz y hojas de maíz con el fin de visualizar su contenido de hemicelulosa, lignina, celulosa y ceniza por medio de una caracterización de los materiales utilizados comparando las diferencias estructurales mediante imágenes de microscopía electrónica entre ellos.

Los resultados obtenidos en la caracterización de los residuos agroindustriales se muestran en la Tabla 7 utilizando la técnica de DNS para determinación de azúcares reducidos donde la concentración de etanol se determinó por HPLC, mediante el análisis de muestras del efluente de los reactores usando una columna Supelco C610H gel con estas condiciones: 20 microlitros de volumen de inyección, ácido fosfórico 0,1% como fase móvil, caudal 0,5 ml / min, y una temperatura del horno de 30 ° C , con detector de índice de refracción, y el tiempo de retención de 26,3 minutos, por último la determinación de la lignina, celulosa, hemicelulosa y contenido de ceniza se llevó a cabo por el método de Van Soest⁶³ (ver Tabla 7) .Por otra parte la técnica de microscopía de barrido electrónico fue utilizada con el objetivo de notar las diferencias en las estructuras de los materiales utilizados para la inmovilización⁶³.

Tabla 7. Composición de los materiales utilizados como portador⁵⁹.

	Bagazo	Virutas de madera	Mazorcas de maíz	Hojas de maíz
% Hemicelulosa	7,24	16,62	9,95	24,63
% Celulosa	29,68	27,09	45,95	29,19
% Lignina	29,68	27,09	38,15	5,44
% Ceniza	0,01	0,45	0,34	1,171
% Extractivos	10,89	9,01	5,61	39,03
% Total	100	100	100	100

En la india año 2012SoumyaSasmaletal, desarrollaron un estudio basado en la caracterización de tres diferentes tipos de biomásas abundantes al noreste del respectivo país (areca cáscara de nuez, moj y bonbogori, (las dos últimas son maderas locales utilizados por las tribus), para visualizar su potencial en la obtención de etanol de segunda generación, a dicha investigación los autores del trabajo le realizaron e hicieron los análisis físicos y químicos de cada uno de los sustratos con la ayuda de las técnicas instrumentales como FTIR, DRX,

espectroscopia Raman para comparar las propiedades de las muestras y el contenido de hemicelulosa, celulosa y lignina de cada una de ellas, donde la cantidad de lignina, celulosa y hemicelulosa en las muestras de biomasa se determinaron haciendo un análisis termogravimétrico (TGA). Para ello inicialmente las muestras de biomasa se calentaron bajo una atmósfera de nitrógeno a 30 intervalos de temperatura entre 30°C y 700°C con velocidad de calentamiento de 10 ° C / min. Finalmente para la obtención de los datos generados en el transcurso del experimento se logró mediante el software STAR junto con un perfil de la pérdida de peso frente a la temperatura se obtuvo para cada muestra de biomasa⁵¹.

Adicionalmente los análisis de DRX proporcionan la cristalinidad máxima de la cáscara de nueces de areca tuerca (63,84%), seguido de moj (46,43%) y bonbogori (42,46%), corroborando que la cáscara de nuez de areca fue la menos susceptible a la digestión enzimática en tanto a los otros dos materiales de biomasa. Los resultados del estudio se muestran en la Tabla 8⁵¹.

Tabla 8. Caracterización química (g / 100 g de muestras de biomasa).⁴⁷

Biomasa	Extracto	Celulosa	hemicelulosa	lignina
Areca nuez cáscara	6.25 ± 0.4	44,46 ± 0,3	28,08 ± 0,2	11,03 ± 0,1
Bonbogori	2.98 ± 0.2	51,56 ± 0,3	8,73 ± 0,1	20,51 ± 0,1
Moj	7,61 ± 0,1	53,46 ± 0,1	6.37 ± 0.2	22,97 ± 0,1

En el año 2012 en la universidad Federal dos Vales de Jequitinhonha e Mercuri Alexandre Alves Da Silva en su trabajo de tesis evaluó los residuos agroindustriales como la harina algodón, bagazo de malta y harina de chontaduro para visualizar su potencial en la producción de etanol de segunda generación donde inicialmente se hizo una caracterización observando la composición química para cada uno de estos residuos y poder observar el porcentaje de humedad, cenizas, proteína bruta, azúcares solubles totales (AST), almidón, hemicelulosa, celulosa, lignina, fibra detergente neutro (FSDN) y fibra detergente ácido (FSDA) ver Tabla 9, adicionalmente para poder optimizar el proceso del pretratamiento con sulfúrico se utilizó un diseño compuesto central rotacional (CCRD) versión 8.0 software (statsoftInc, Tulsa) con el objetivo de evaluar factores como tiempo, relación sólido líquido, y concentración del ácido estos efectos fueron calculados con curvas de superficie respuesta ⁶⁴.

Tabla 9. Caracterización química de la muestra desgrasada con éter etílico – harina de algodón, bagazo de malta y harina de chontaduro⁶⁰, (valores en %).

Parámetros	Algodón		Bagazo de malta y harina de chontaduro	
Humedad	7,05	± 0,01	8,43	± 0,02
Cenizas	4,51	± 0,04	6,59	± 0,18
Lípidos	3,82	± 0,04	5,81	± 0,05
Fibra bruta	25,83	± 0,26	12,26	± 0,25
proteína bruta	25,16	± 0,27	12,85	± 0,03
FSDA	42,18	± 0,36	24,77	± 1,18
FSDN	57,37	± 1,15	43,73	± 0,50
Celulosa	30,39	± 1,39	17,39	0,71
Hemicelulosa	15,19	± 1,49	18,97	± 0,89
Lignina	11,79	± 1,02	7,38	± 0,47
AST	4,92	± 0,35	14,74	± 0,05
Almidón	2,02	± 0,18	14,35	± 0,04

En la universidad de Antioquia (Colombia) año 2013, Niño López *et al.*, en su trabajo de investigación evaluaron el efecto de diferentes pretratamientos químicos: ácido sulfúrico, hidróxido de sodio y peróxido de hidrógeno a diferentes concentraciones del químico y del sustrato en la cuantificación de azúcares reductores totales producidos durante la etapa de hidrolisis enzimática de los residuos lignocelulosicos de yuca (hojas y tallos) además calcularon el porcentaje de remoción de lignina después de cada pre tratamiento, adicionalmente los residuos vegetales fueron hidrolizados con enzimas accellerase1500 a 50°C, pH 5 y 140 rpm. El pretratamiento con NaOH permite la mayor liberación de azúcares reductores totales durante la hidrólisis enzimática (3,7g/L) en hojas seguido del pretratamiento con H₂SO₄ (2,11g/L) y H₂O₂ (1,54g/L). En tallos las concentraciones de azúcares fueron menores. La determinación del contenido de celulosa, lignina y hemicelulosa fue determinada a través del método de Van Soets, los resultados se encuentran registrados en la Tabla 10⁶⁵.

Tabla 10. Porcentajes de composición en base seca ⁶¹.

Análisis de fibra por el método de Van Soets	Porcentaje (%)	
	Hojas	Tallos
Fibra detergente Ácida (FDA)	47,96	52,95
Ácido detergente lignina (ADL)	7,06	13,12
Fibra de detergente neutra (FDN)	63,59	65,95
Celulosa	40,9	39,83
Hemicelulosa	15,63	13

En el año de 2013 en la Universidad Federal de Tocantins (Brasil) Rachel de MouraNunes *et al* en su trabajo de investigación analizaron el potencial de varios residuos agrícolas como paja de caña de azúcar, bagazo de caña de azúcar, paja de arroz, paja de trigo, pseudotallo de plátano, ricos en biomasa lignocelulosa con la finalidad de producir etanol de segunda generación. La composición química (ver Tabla 11) de cada uno de esos materiales fue determinante a la hora de tener en cuenta el proceso de obtención de segunda generación ya que cada que cada una de las materias primas utilizadas presentó un tasa de porcentaje de celulosa diferente⁶⁶.

Tabla 11. Composición química de los materiales utilizados para la producción de Bioetanol ⁶².

Biomasa	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)
Paja de trigo	35	24	25
Paja de arroz	38	27	8
Paja de caña de azúcar	39	30	22
Bagazo de caña de azúcar	43	26	25
Pseudo tallo de plátano	46	10	15

En la universidad de las Campinas (Brasil) año 2015 Ramboet *al.*, evaluaron en su trabajo de investigación distintos sustratos lignocelulósicos disponibles en Brasil como semillas de açaí, cáscaras de coco, cáscara de café, cáscaras de arroz, aserrín de eucalipto, hierba, cáscara de soja, bambú, plátano tallos y tallos de banano para la producción de bioenergía donde por medio de sus

características físicas y químicas junto con una serie técnicas instrumentales como difracción de rayos X (DRX), infrarrojo cercano (NIR), espectroscopia UV, cromatografía de intercambio aniónico de alto pH (HPAEC-PAD) alcanzaron el objetivo de visualizar y comparar el potencial de dichas biomásas para la producción de etanol⁶⁷.

En tanto los análisis de DRX para todas las biomásas mostraron los picos característicos de la celulosa en $2\theta = 22^\circ/23^\circ$ y $15^\circ/17^\circ$ representando la alta probabilidad de zonas cristalinas, por otro lado otro factor importante se notó en el aumento del índice cristalinidad para las todas las biomásas debido a eliminación sustancias extractivas con etanol al 95 % con un sistema Dionex ASE 200 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.) trabajando con las siguientes condiciones considerando estas variables, presión de 1.500 psi, una temperatura de 100°C , una tiempo de calentamiento de 5 min y un tiempo de ciclo estático de 7 minutos. Los resultados del estudio de caracterización de los materiales anteriormente nombrados se destacan en la Tabla 13.⁶⁷

Tabla 12. Composición de azúcares y lignina en las biomásas (valores en porcentaje %) ⁶⁴.

Biomasa	Lignina	Celulosa	Hemicelulosa
Semillas de acai	$17,30 \pm 0,23$	$8,66 \pm 0,03$	$59,05 \pm 0,50$
Tallos de banana	$8,40 \pm 0,29$	$36,32 \pm 0,13$	$9,21 \pm 0,31$
Banana stalks	$10,68 \pm 0,01$	$26,83 \pm 0,05$	$12,73 \pm 0,30$
Bamboo	$17,60 \pm 0,10$	$44,65 \pm 0,98$	$16,92 \pm 0,02$
Cascaras de coco	$36,00 \pm 0,44$	$32,42 \pm 0,14$	$17,59 \pm 0,03$
Cascaras de café	$24,50 \pm 0,31$	$35,33 \pm 0,16$	$27,22 \pm 0,4$
Aserrín	$33,00 \pm 0,04$	$38,80 \pm 0,20$	$11,8 \pm 0,9$
Pasto	$15,61 \pm 0,16$	$27,52 \pm 0,21$	$17,32 \pm 0,24$
Cascarilla de arroz	$23,90 \pm 0,17$	$36,17 \pm 0,15$	$19,83 \pm 0,41$
Cascara de soja	$7,60 \pm 0,50$	$35,05 \pm 0,99$	$22,85 \pm 0,01$

5. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Existe una barrera para la obtención del etanol de segunda generación y es el fraccionamiento de los principales componentes de la biomasa lignocelulósica (lignina, celulosa y hemicelulosa). Esto se debe a la estrecha relación entre estos componentes. Por tal razón los materiales que se van a utilizar en esta investigación (raquis de palma africana y bagazo de caña de azúcar) son materias leñosas dificultando la hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa en azúcares fermentables. Por tal razón se debe realizar un rompimiento de las fibras con H_2SO_4 a dichos materiales con el fin de romper el sistema celulosa-hemicelulosa-lignina y de esta manera tener acceso más fácilmente a la celulosa, dadora de la glucosa al ser hidrolizada.

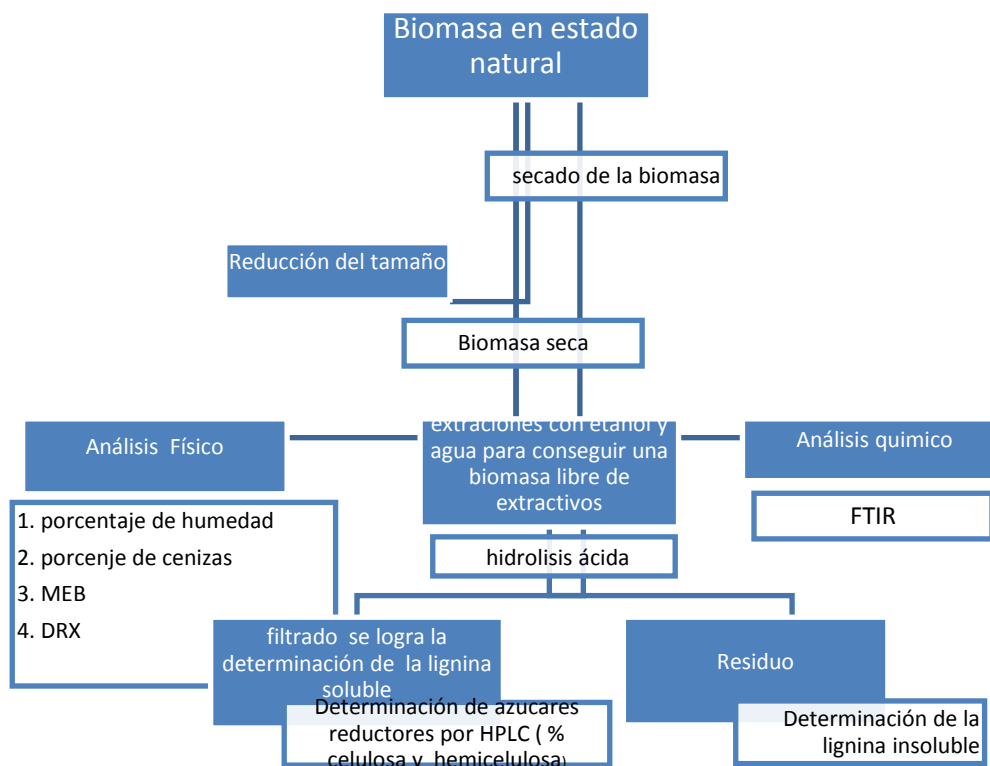
Caracterización fisicoquímica:

Como materia prima para el análisis se utilizó bagazo de caña de azúcar y raquis de palma africana procedentes cada uno de una diferente cosecha y lugar. El bagazo de caña de azúcar fue recolectado en la finca Bore Sur, situada en el municipio de Piedecuesta, vía a san Gil departamento de Santander, y el raquis de palma africana fue recolectado en la vereda La Gómez localizada en el municipio Sabana de Torres del departamento de Santander.

Esta materia prima se molió y cortó con el fin de reducir su tamaño. Ésta misma se expuso a la luz solar por aproximadamente 24 horas y seguidamente se sometió a un secado durante 48 horas a 70°C, esta biomasa seca se almacenó en bolsas herméticas para evitar el regreso de la humedad.

En la Figura 17 se describe el proceso detallado paso a paso llevado a cabo durante el transcurso del proyecto de investigación.

Figura 16. Descripción de la metodología llevada durante el transcurso del proyecto.



Fuente: autores

En la Tabla 14 se encuentran los equipos utilizados en el proyecto de investigación y sus respectivas referencias.

Tabla 13. Equipos utilizados en el proyecto.

Equipo	Referencia
Balanza	OHAUS, PIONEER (capacidad máxima: 210 g; desviación estándar: 0,0001 g) E&Q ,mufla (temperatura constante : 50 a 1100°C)
Mufla	
Estufa	ThermoScientific
UV-VIS	Agilent Technologies Carry 60 UV-Vis
HPLC	Agilent 1200
MEB	Quanta 650 FEG ambiental, con energía dispersa de Rayos -X
FTIR	IRAffinity-1; SHIMADAZU
DRX	Difractometro de polvo Bruker –D8 ADVANCE geometríaDaVinci

Fuente: Autores

5.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

El procedimiento que se utilizó para la determinación del contenido de humedad en las mezclas tanto para los sustratos (bagazo y raquis) fue el descrito por el laboratorio nacional de energía renovable NREL/TP-510-42618⁶⁸. Cabe resaltar que este procedimiento fue ejecutado tres veces.

Inicialmente se pesaron 5 g de muestra ya previamente seca en una caja Petri anteriormente pesada, la cual se depositó en un horno durante 4 horas a 105°C. Luego de este lapso de tiempo, se retiró la muestra y se en un desecador a enfriar por 20 minutos, seguido de la muestra fue pesada e veces para garantizar un peso constante. Finalmente, la humedad de la biomasa fue determinada con la siguiente ecuación:

Ecuación 1. Determinación de humedad⁶⁹.

$$\%H = \left(\frac{\text{masa del residuo húmedo} - \text{masa del residuo totalmente seco}}{\text{masa del residuo húmedo}} \right) * 100$$

5.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS

El procedimiento que se utilizó para la determinación de cenizas en las mezclas tanto para los sustratos (bagazo y raquis) fue descrito por el laboratorio nacional de energía renovable NREL/TP-510-42622⁷⁰. Cabe resaltar que este procedimiento fue ejecutado tres veces.

Como primera medida se colocaron los crisoles en la mufla a 575°C durante 4 horas, para retirar el exceso de humedad que estos podían tener, seguido a esto se retiraron, se dejaron enfriar en un desecador por 20 minutos y se pesaron. Adicionalmente pesaron 2 gramos de muestra previamente seca en un crisol, seguido a esto se puso en la mufla y Se procedió hacer la siguiente rampa de temperatura, teniendo en cuenta que la temperatura inicial fue de 105°C:

- Primero se dejó a la temperatura a 105°C durante 12 minutos
- posteriormente se subió la temperatura a 250°C (10°C por minuto)
- Donde se mantuvieron a 250°C durante 30 minutos
- Luego se subió la temperatura a 575°C (20°C por minuto)
- Se mantuvo la temperatura durante 180 minutos
- Finalmente se bajó la temperatura a 105°C

No obstante, luego de hacer la rampa de temperatura, la muestra fue retirada de la mufla y se dejó enfriar en un desecador hasta el otro día. Seguido a esto se pesó tres veces hasta obtener un peso constante. La determinación de cenizas se realizó usando la siguiente ecuación:

El contenido de cenizas puede ser calculado a partir de la ecuación 2.

Ecuación 2. Determinación de ceniza⁷⁰.

$$\% \text{ceniza} = \left(\frac{\text{peso del crisol con cenizas} - \text{peso del crisol}}{\text{peso de muestra seca en el horno}} \right) * 100$$

5.3 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS EXTRACTIVAS

El procedimiento que se utilizó para la determinación del contenido de sustancias extractivas en la mezclas y cada uno de los sustratos empleados fue el descrito por el laboratorio nacional de energía renovable NREL/TP-510-42618⁷¹. Cabe resaltar que este procedimiento fue ejecutado por triplicado.

Inicialmente se estableció un montaje tipo soxhlet, seguidamente en un papel de filtro, previamente pesado, se adicionaron de 6 gramos de muestra en base seca la cual fue introducida en el tubo Soxhlet. Primariamente se realizaron las extracciones con etanol durante 24 horas por intervalos de tiempo (8 horas) donde después de ese trascurso se cambió etanol fresco. Luego de esto, se realizaron las otras extracciones con agua durante 24 horas con cambios cada 8 horas por agua fresca, esto con el fin de retirar todos los extractivos presentes en la muestra.

Ecuación 3. Determinación de sustancias extractivos⁶⁶.

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

Donde:

M_i: masa inicial de residuo seco en gramos

M_f: masa final de residuo libre de extractivos en gramos.

5.4 CARACTERIZACIÓN POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).

Este análisis se realizó en la metodología Propuesta por Ayala (2011)⁶⁹. Con el fin de determinar la morfología de la materia antes de ser introducidas a la etapa del pretratamiento. Para esto se utilizó el microscopio de barrido electrónico de Quanta 650 FEG ambiental con energía dispersa de rayos-X de la Universidad Industrial de Santander sede Guatiguará. A las muestras se les realizó un recubrimiento de oro para una mejor resolución de la superficie de estas.

5.5 CARACTERIZACIÓN MEDIANTE DIFRACCIÓN DE RAYOS-X (DRX)

El siguiente análisis se realizó siguiendo la metodología de AYALA (2012)⁷², con el fin de determinar el grado de cristalinidad de las muestras antes de ser sometidas a la etapa de pretratamiento.

Para calcular el índice de cristalinidad del material lignocelulósico se debe dar solución a la siguiente ecuación:

Ecuación 4. Índice de cristalinidad del material lignocelulósico⁷².

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

Donde:

I_c = Índice de cristalinidad (%)

I_{002} = Intensidad máxima en el plano de cristal de 002 ($2\theta = 22,6^\circ$)

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

Este análisis se realizó en la Universidad Industrial de Santander sede Guatiguará.

5.6 ANÁLISIS DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Este análisis se realizó en la Universidad Industrial de Santander y se basa en la metodología descrita por Silva (2011)⁴⁴ que tiene como finalidad identificar los grupos funcionales más representativos de las muestras antes de ser sometidas a la etapa de pretratamiento.

5.7 DETERMINACIÓN DE LIGNINA INSOLUBLE.

El procedimiento que se utilizó para la determinación de lignina soluble e insoluble en las mezclas tanto para los sustratos (bagazo y raquis) fue descrito por el

laboratorio nacional de energía renovable NREL/TP-150-42618⁷³. Cabe resaltar que este procedimiento fue ejecutado tres veces.

Inicialmente se pesaron 300 ± 10 mg de la muestra en base seca en un tubo de ensayo. Seguidamente se adicionaron $3 \pm 0,01$ mL de ácido sulfúrico a una concentración del 72% en la muestra. Luego se introdujo el tubo en un baño de agua a 40 ± 3 °C durante una hora donde se agitó la muestra cada cinco retirando el tubo del baño cada 5 minutos para posteriormente ponerlo sobre el agitador para continuar con el baño. Una vez pasado el tiempo establecido se diluyó el ácido a una concentración del 4% mediante la adición de $84 \pm 0,04$ mL de agua desionizada sobre un erlenmeyer.

La mezcla conseguida se filtró al vacío. Seguidamente, se usó el espectrofotómetro UV-VIS, donde se utilizó el filtrado con el cual se le midió la absorbancia a una longitud de onda de 280 nm, obteniendo una absorbancia en un intervalo de 0,7 a 1,0. Por último se registró la absorbancia obtenida. La cantidad de lignina insoluble se halló teniendo en cuenta la ecuación 5.

Finalmente se tomó una alícuota del filtrado que había quedado anteriormente de aproximadamente 50 mL el cual se depositó en un erlenmeyer, donde días más tarde la muestra se utilizó para la determinación de carbohidratos.

Ecuación 5. Determinación de la cantidad lignina soluble en ácido⁶⁹.

$$\%ASL = \left(\frac{UBV_{abs} * volumen\ del\ filtrado * factor\ de\ dilución}{E * mmuestra\ ODW} \right) * 100$$

Donde:

UVabs: promedio de absorbancia UV-vis para la muestra a 320 nm.

Dilución: factor de dilución (en este caso se usó un factor de dilución de 10 para bagazo e raquis y 15 para las mezclas)

ε: absorbancia de la biomasa en la longitud de onda específica (valor recomendado por NREL: 25)

5.8 DETERMINACIÓN DE LIGNINA INSOLUBLE.

Inicialmente se tomó producto que había quedado en el papel filtro tras hacer el filtrado para poder determinar la cantidad de lignina soluble como se describe en

el numeral 3.7. Donde dicho producto se lavó con agua desionizada hasta obtener un pH neutro. Adicionalmente Se secó el papel de filtro junto con los residuos del ácido insoluble a 105 ± 3 °C durante cuatro horas. Una vez pasado el tiempo, se retiró la muestra del horno y se dejó enfriar a temperatura ambiente en un desecador. Se anotó el peso. Seguido a esto, se realizó el procedimiento de cenizas (numeral 5.1.2). La cantidad de lignina insoluble en ácido se calculó teniendo en cuenta la Ecuación 6.

Ecuación 6. Determinación de la cantidad de lignina insoluble en ácido⁶⁸.

$$\%LIA = \left(\frac{g \text{ filtro mas muestra} - g \text{ filtro}}{g \text{ muestra}} \right) * 100 - \%cenizas$$

Para la determinación de lignina total se efectuó la siguiente ecuación

Ecuación 7. Determinación de la lignina total

$$\%Lignina \text{ total} = \%LIA + \%LSA^{68}.$$

5.9 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES (ART)

Se prepararon curvas de calibración para un conjunto de estándares de calibración (D-(+)-glucosa, D-(+)-xilosa, D-(+)-arabinosa, celobiosa), los cuales fueron analizados en el equipo HPLC Agilent 1200, donde se tuvo en cuenta las siguientes condiciones a la hora de llevar a cabo la determinación de celobiosa y hemicelulosa:

- Columna: Agilent ZORBAX CarbohydrateAnalysisColumn (Columna Análisis de Carbohidratos)
- Detector: Agilent 1200 Series RefractiveIndex Detector (Detector Índice de Refracción)
- Volumen de inyección: 5 µL
- Fase móvil: acetonitrilo-agua desionizada (75:25)
- Rango de flujo: 0,8 mL/minuto
- Temperatura de la columna: 25°C
- Temperatura del detector: lo más cercano a la temperatura de la columna
- Tiempo: 12 minutos

En un tubo de ensayo se adicionaron 5mL de la alícuota obtenida en el procedimiento anterior (Análisis de la lignina insoluble en ácido, numeral 5.8). Consecutivamente se adiciono carbonato de calcio poco a poco (muestra sólida, polvo) para neutralizar la muestra a pH 5 – 6, seguido a esto se centrifugó la muestra con el fin de asentarla y decantarla. Se preparó la muestra para el análisis

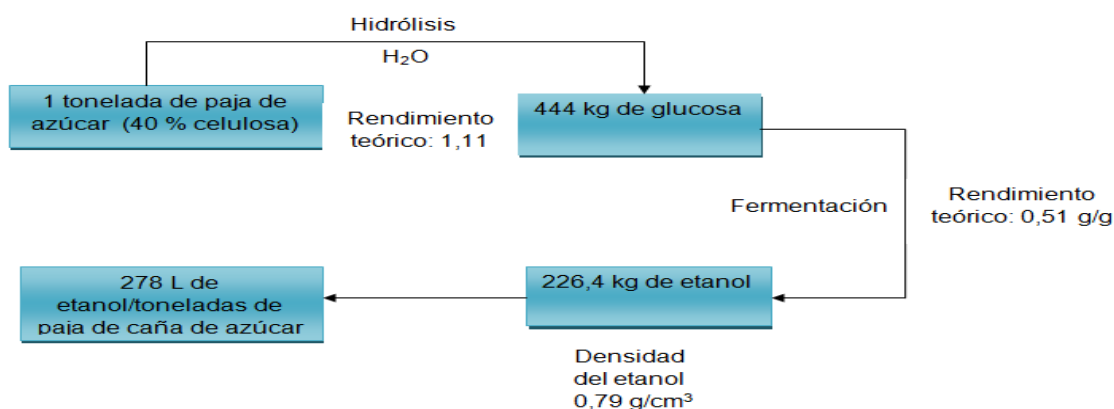
HPLC, el líquido decantado se pasó a través de un filtro de 0,2 µm en un vial de automuestreador. Se procedió al análisis, se tomó nota de los resultados obtenidos.

Teniendo en cuenta la concentración de D-(+)-glucosa y celobiosa se determinó la celulosa presente en la muestra, y la concentración de D-(+)-arabinosa y D-(+)-xilosa permitió determinar la hemicelulosa presente.

5.10 DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL TEÓRICO DE LA MUESTRA Y LAMEZCLA DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y RAQUIS DE PALMA AFRICANA PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN

Para la determinación del porcentaje para la producción de bioetanol de segunda generación a partir de la mezcla del bagazo de caña de azúcar y raquis de palma africana, se siguió el Figura 18, la cual se basa en la trabajo realizado por Santos y col. en el año 2012, donde tomaron como referencia paja de caña de azúcar con un porcentaje teórico de celulosa del 40%, al cual le realizaron una hidrólisis ácida con un rendimiento teórico de 1,11g/g, obteniendo 444 kg de glucosa, a la cual se realizó un proceso de fermentación con un rendimiento teórico de 0,51 g/g, obteniendo 226,4 kg de etanol, finalmente, mediante la densidad del etanol, de 1 tonelada de paja de caña de azúcar con un 40% de celulosa, se obtuvieron 287 litros de Bioetanol.

Figura 17. Rendimiento teórico de la producción de etanol por hectárea⁷⁴.



6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

El bagazo de caña de azúcar usado en este trabajo fue recolectado en la finca Bore Sur, situada en el municipio de Piedecuesta, vía a san Gil departamento de Santander, la cual tiene una cosecha de caña de azúcar panelera (Figura 19). El raquis de palma africana fue recolectado en la vereda la Gómez localizada en el municipio Sabana de Torres departamento de Santander (Figura 20).

Figura 18. Almacenamiento de bagazo de caña de azúcar, finca Bore sur.



Fuente: autores.

Figura 19. Cultivo de palma africana situado en la finca vereda la Gómez (Sabana de torres).



Fuente: autores del trabajo

6.1 DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD

Tanto la humedad, cenizas y extractivos son parámetros que están relacionados con el poder calórico y valor energético de la biomasa sin embargo la humedad es fundamental en el diseño de equipos de manejo del material y la necesidad de pretratamiento haciendo referencia a escala ^{75,76,77}.

Tabla 14. Resultados del porcentaje de humedad en las muestras.

muestra	Humedad (%)	desviación estándar
bagazo	8,54	± 0,73
raquis	9,68	± 1,10
50/50	9,23	± 0,68
70/30	8,59	± 0,50
90/10	9,06	± 0,33

El porcentaje humedad en la muestra de bagazo está dentro de un rango adecuado comparado con los reportados en la literatura (9,21 %), por el contrario, en el caso del raquis de palma presentó una humedad mayor a la descrita en la literatura (6,21 %). Sin embargo tanto el bagazo como el raquis y sus mezclas poseen una humedad adecuada ya que por lo general debe aumentar del 30%⁷⁸.

6.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Las cenizas están conformadas por los compuestos inorgánicos presentes en la materia vegetal, principalmente están compuestas de minerales como hierro, fosforo, magnesio. Dichos compuestos se les atribuye la regulación de la carga hidrostática además son un parámetro importante en el comportamiento de la biomasa durante los procesos de transformación química y termoquímica⁷⁸.

Tabla 15. Resultados del porcentaje de cenizas.

Muestra	Cenizas (%)	desviación estándar
Bagazo	1,31	0,93
raquis	5,71	0,35
50/50	3,49	0,49
90/10	2,75	0,12
70/30	2,11	0,17

Fuente: Autores

La tabla 16 muestra que los porcentajes de cenizas en bagazo y el raquis son bajos comparados con los datos reportados en la literatura para estos mismos (bagazo 1,6 y 7,3 % y raquis 2,75 - 5,24 %) ^{79,82}. Sin embargo en correlación con las mezclas, éstas no superaron el porcentaje adecuado (max 10 %) ⁶⁷.

6.3 DETERMINACIÓN DE EXTRACTIVOS

Según lo descrito en la metodología el agua se utilizó para remover taninos, gomas, azúcares, colorantes y almidones, compuestos nitrogenados (no proteicos y proteicos) y ácido fólico; el etanol se utilizó para remover ácidos grasos, fitoesterina, ceras, grasas, resinas y algunas gomas ^{80,81}.

Estos compuestos representan de 3 al 10 % de la biomasa seca ⁸⁰. La remoción de extractivos para especies tropicales como el raquis, está en el rango del 19%. Comparando los resultados obtenidos con el mencionado anteriormente, no está muy alejado como lo muestra la Tabla 17.

Tabla 16. Resultados del porcentaje de Extractivos.

Muestra	Extractivos (%)	desviación estándar
Bagazo	23,32	± 1,44
raquis	19,41	± 3,75
50/50	19,27	± 1,50
90/10	23,01	± 0,83
70/30	22,02	± 0,76

Fuente: Autores

Por último, estudios anteriores reportan en la literatura que el porcentaje de extractivos determinado para el bagazo de caña panelera es del 4%, comparando éste con el porcentaje hallado en esta investigación es muy bajo. Esto se debe a que la extracción del zumo del bagazo es poco eficiente en la industria panelera por parte de los trapiches, debido a que a la materia sigue presentando un alto contenido de azúcares incluso después del secado⁸². Estos azúcares son solubilizados en el proceso de extracción con agua, haciendo que el porcentaje de extraíbles aumente considerablemente⁸². Por el contrario, el raquis de palma africana está dentro del rango adecuado con respecto a su valor reportado en la literatura ya éste varía desde 2 al 19 %^{83,84}.

6.4 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE LIGNINA

Para la determinación de la lignina total se usó la Ecuación 7, para la cual se debió determinar la lignina insoluble en ácido (Ecuación 6) y la lignina soluble en ácido (Ecuación 5). La biomasa usada en este procedimiento se encontraba libre de extractivos. En el Tabla 18 se pueden observar los resultados obtenidos.

Tabla 17. Resultados lignina insoluble en ácido, lignina soluble en ácido y lignina total.

Muestra	lignina soluble %	lignina insoluble %	lignina total %
Bagazo	8,41 ± 0,59	17,44 ± 0,74	26,15 ± 0,86
Raquis	8,52 ± 0,26	15,80 ± 0,66	24,33 ± 1,51
50/50	14,42 ± 0,03	13,81 ± 0,16	28,23 ± 1,15
70/30	11,33 ± 0,24	18,71 ± 0,74	29,74 ± 0,27
90/10	12,34 ± 0,25	14,90 ± 0,18	27,74 ± 0,05

Fuente: Autores

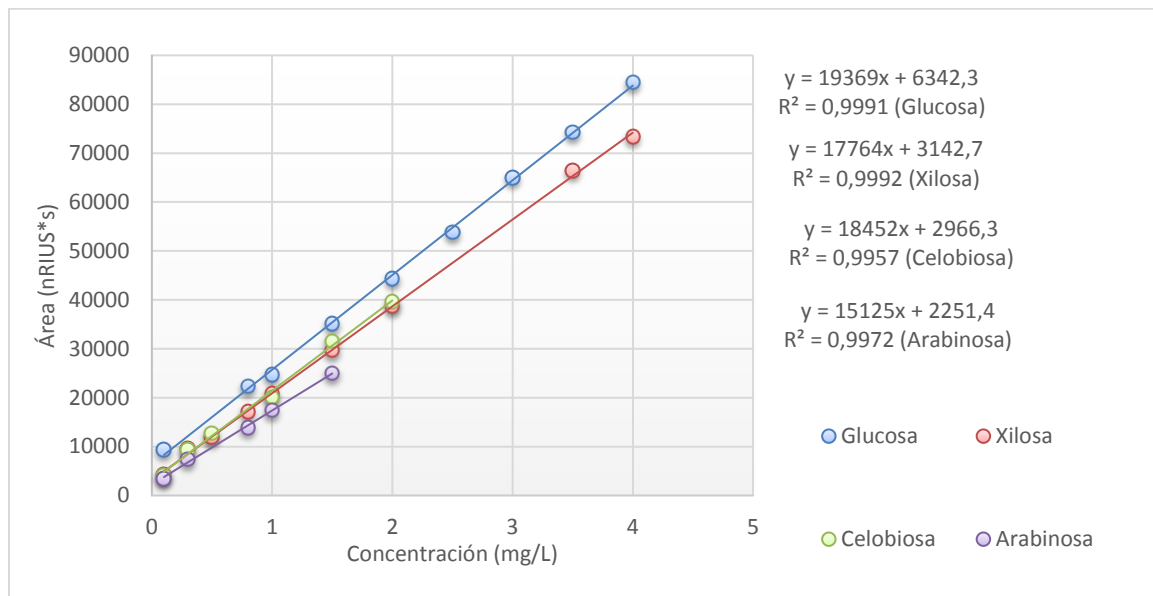
La biomasa lignocelulósica tiene un porcentaje de lignina total que varía entre 15 – 35%, dependiendo del tipo de planta. Por el lado del bagazo de caña de azúcar y el raquis de palma africana, el porcentaje de lignina según estudios realizados anteriormente es de 21,56% y de 15,45 a 24,22%^{58,85} respectivamente. Como se observa en la Tabla 18, el porcentaje de lignina total para el bagazo de caña de azúcar fue de 26,15 % y para el raquis de palma africana fue de 24,13%. Estos resultados están dentro un rango apropiado en relación a los descritos por la literatura. Por otra parte con las mezclas de las biomásas, se puede observar que los porcentajes de lignina son un poco más elevados comparándolos con los dos sustratos principales⁸⁵.

La importancia de la eliminación de la lignina por la hidrólisis química es que actúa como una barrera física para restringir el acceso de enzimas a la celulosa ya que generalmente se incrusta en los espacios de la pared celular entre las composiciones mediante la unión covalente a la hemicelulosa, lo que confiere resistencia mecánica a la pared celular.

6.5 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES (ART)

Los azúcares reductores totales que se analizaron en este trabajo fueron glucosa, celobiosa, arabinosa y xilosa, mediante los cuales se determinó el porcentaje de celulosa y hemicelulosa presente en las muestras analizadas. Para la obtención de dichos resultados, primero se realizó una curva de calibración como se aprecia en la Figura 21.

Figura 20. Curva de calibración para la determinación de glucosa.



Ecuación 8. Ecuación de la recta (determinación de la concentración de cada azúcar).

$$Y = mx + b$$

Ecuación 9. Determinación porcentaje de ART⁶⁸.

$$\% \text{ ART} = \left(\frac{\text{CART} \cdot V_{\text{filtrado}} \cdot FC}{g_{\text{muestra}}} \right) * 100$$

Dónde:

CART: concentración determinada mediante la Ecuación 8.

FC: factor de corrección para determinar la concentración polimérica de los azúcares dada la concentración de los azúcares monoméricos (glucosa: 0,9, celobiosa: 0,95, xilosa: 0,88, arabinosa: 0,88)

Volumen filtrado: 0,087 L

g muestra: gramos usados en el procedimiento para la determinación de lignina.

Para la determinación de la concentración de cada azúcar se usó la Ecuación 8. Una vez obtenido este resultado, se determinó el porcentaje de los azúcares en la biomasa mediante la Ecuación 9. Los resultados obtenidos se pueden observar en la Tabla 19, donde solo se pueden apreciar valores para glucosa y xilosa ya que celobiosa y arabinosa no están presentes en ninguna de las muestras indicando que la hidrólisis con el ácido sulfúrico al 72 % se realizó con éxito.

Tabla 18. Resultados del porcentaje de azúcares reductores totales.

Muestra	% Glucosa	% Celobiosa	% Xilosa	% Arabinosa
Bagazo de caña de azúcar	36,11 ± 2,04	-	10,39 ± 0,51	-
Raquis de palma africana	30,42 ± 7,08	-	12,55 ± 6,93	-
Mezcla 50:50	31,48 ± 0,87	-	9,44 ± 0,88	-
Mezcla 70:30	34,51 ± 0,47	-	14,39 ± 0,84	-
Mezcla 90:10	34,49 ± 2,64	-	10,26 ± 1,59	-

Fuente: Autores del trabajo.

En base seca y dependiendo de la variación de ciertos factores como el material, la ubicación geográfica y el clima donde se encuentra, el contenido de la biomasa lignocelulósica se divide en: celulosa de 23 a 53% y hemicelulosa de 22 a 37%. Algunas experimentaciones anteriores reportaron que el bagazo de caña tiene un porcentaje de celulosa de 42,19% y de hemicelulosa de 27,60%, y el raquis de palma tiene un porcentaje de celulosa de 44,97% y de hemicelulosa de 19,42%.⁸

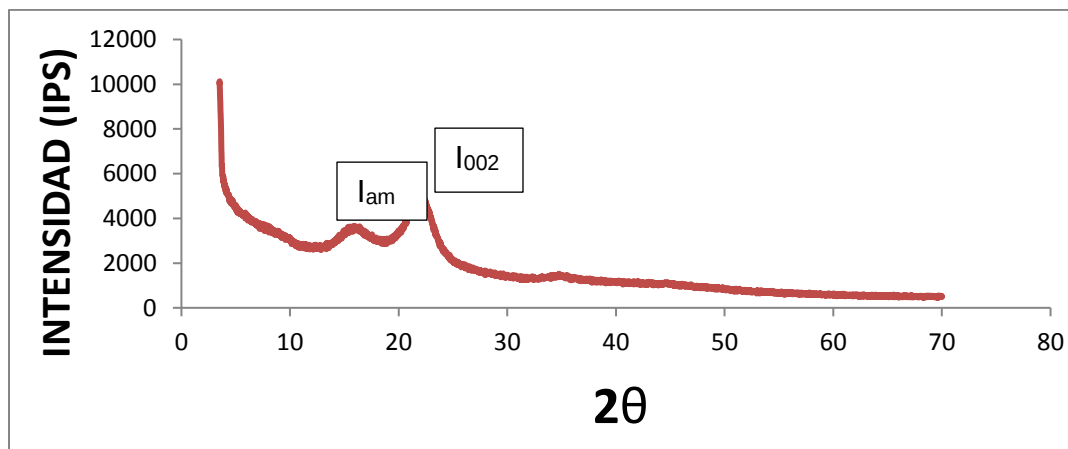
Los porcentajes de celulosa y hemicelulosa obtenidos para el bagazo de caña de azúcar y el raquis de palma africana son bajos comparados con los evidenciados anteriormente. Se puede observar que al ser mezclados dichos materiales sus porcentajes no fluctúan ni aumentaron tanto como se esperaba. Al comparar las mezclas la que mayor generó azúcares fue la de 70/30 seguido de la mezcla 90/10 y por último 50/50, sin embargo, dicha concentración se acerca a la de las biomásas principales (bagazo y raquis de palma africana).

Por último Los azúcares reductores tienden a reducir su concentración cuando aumenta la concentración del ácido, formando compuestos tóxicos, ya que la hidrólisis continua, hasta generar productos como HMF (Hidroxi, MetilFurfural) y furfural, estos compuestos traen alta incidencia en la reducción en el porcentaje de azúcares reductores y sobre los procesos fermentativos, el cual puede inhibir el crecimiento microbiano para etapa de fermentación⁸⁶.

6.6 ANÁLISIS DEL ÍNDICE DE CRISTALINIDAD DE LA CELULOSA

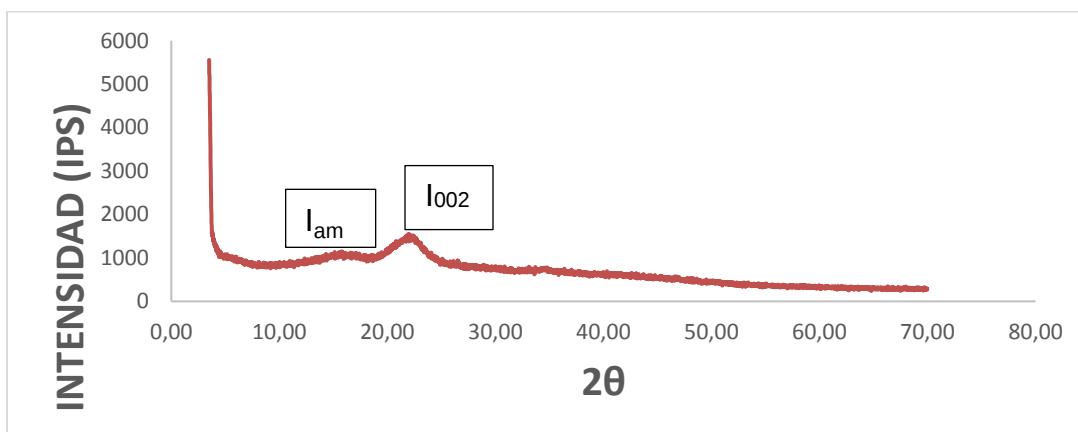
Para la determinación del índice de cristalinidad de la celulosa presente en el bagazo de caña de azúcar y el raquis de palma se usó la técnica de Difracción de Rayos X (DRX). Teniendo en cuenta la Figura 22 (bagazo de caña de azúcar) y Figura 23 (raquis de palma africana), se empleó la Ecuación 4, para así obtener los datos reportados en la Tabla 20.

Figura 21. Difractograma del bagazo de caña de azúcar



Fuente: autores

Figura 22.Difractograma del raquis de palma africana.



Fuente: autores

Los grupos hidroxilo presentes en la celulosa son los responsables de su arreglo ya que están involucrados en una serie de enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares, que dan lugar a diversas disposiciones cristalino ordenado⁸⁷.

Tabla 19. Índices de cristalinidad (IC) para el bagazo de caña de azúcar y el raquis de palma africana.

Muestra	índice de cristalinidad (%)
Bagazo de caña de azúcar	34,11
Raquis de palma africana	27,00

Fuente:Autores.

La celulosa también se debe estructura cristalina a los enlaces de hidrógeno y las interacciones de Van der Waals que hay entre las moléculas de celulosas adyacentes, contrario a la hemicelulosa y lignina que son de naturaleza amorfas⁸⁸.La cristalinidad de celulosa cumple un papel importante en la hidrólisis enzimática.

Como se observa en el Figura 23 y 24, para el bagazo de caña de azúcar y raquis de palma. Donde el pico de la celulosa cristalina se encuentra en el rango de 2θ en $22,6^\circ$ y el pico de la celulosa amorfa se encuentra en el rango de 2θ en $19,0^\circ$, teniendo como resultado un índice de cristalinidad del bagazo de caña de azúcar de 34,11% y 27,00 % para el raquis de palma africana. Según datos reportados en la literatura, el bagazo de caña de azúcar tiene un índice de cristalinidad que

varía entre 49 – 59%⁵⁸, comparando éste con el obtenido por éste estudio se afirma que el índice de cristalinidad fúe bajo.

Tanto para el bagazo de caña de azúcar como para el raquis de palma africana, los picos de la celulosa amorfa son menos intensos y más anchos que los de la celulosa cristalina.

6.7 ANÁLISIS DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURRIER (FTIR).

Figura 23. Espectro de FTIR del bagazo de caña de azúcar.

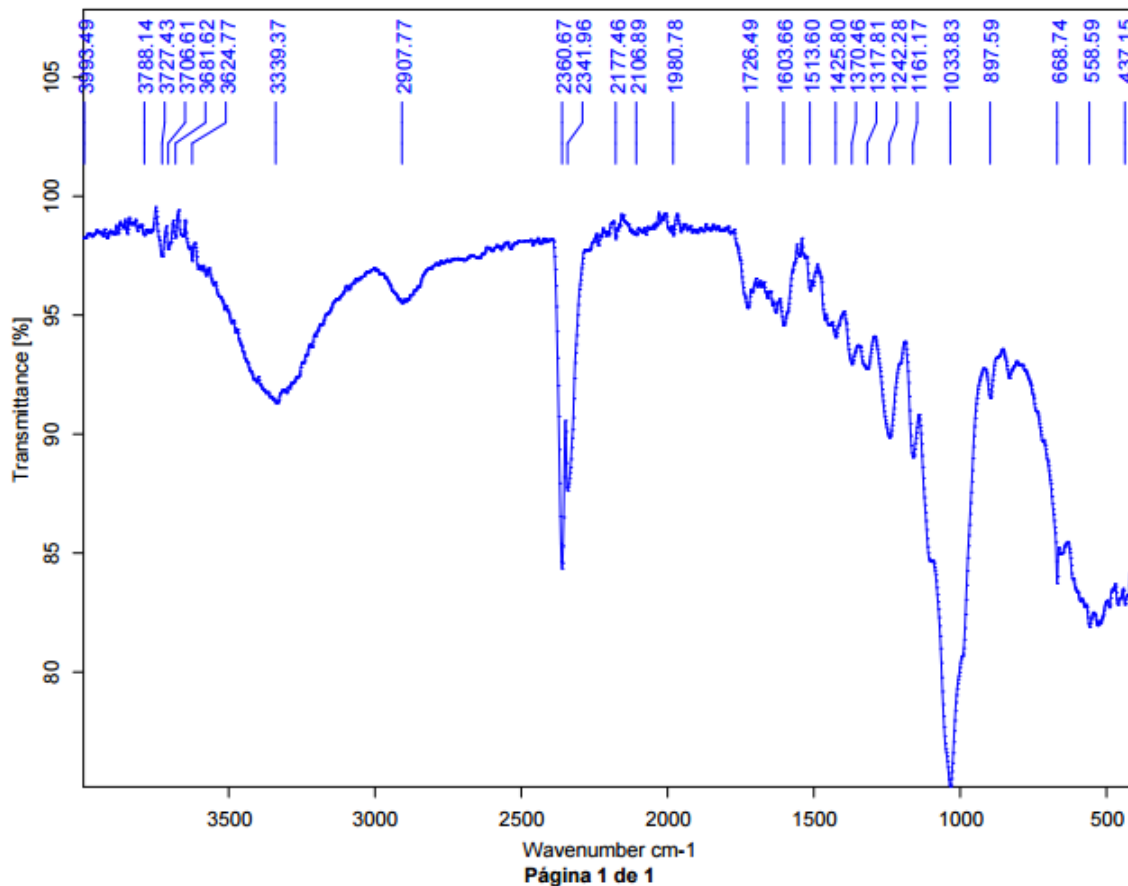


Tabla 20. Grupos funcionales del bagazo de caña azúcar acuerdo con la hemicelulosa, celulosa y lignina.

Longitud de onda (cm ⁻¹)	Descripción
3393	Absorciones C-OC, C-O (celulosa y hemicelulosa)
2907	CH ₂ Y CH ₃ de la celulosa, hemicelulosa y lignina
1726	Tensión no conjugada C=O
1603	Lignina
1425.80	O-CH ₃ en la lignina
1370	Absorción α y β
1242.28	Estiramiento C-O fenol (celulosa y hemicelulosa)
1101	Estiramiento C-O-C y C-O
1033	hidróxido (celulosa y lignina)
896	Estiramiento C-H (celulosa y hemicelulosa)

La señal 3393 y la de 1030 corresponden a las absorciones atribuidas a los carbohidratos (celulosa y hemicelulosa), incluyendo C-OC y C-O son señales que pertenecientes a los grupos hidroxilos primario y secundario y en los enlaces posiblemente de la lignina ya que tiene en su estructura hiroxifelino, guayacil y siringil que son compuestos aromáticos^{67,58, 89}.

La señal de 2907 corresponde a los carbonos CH₂ Y CH₃ de la celulosa, hemicelulosa y lignina⁹⁰.

La banda en la región de 1726cm-1 se puede atribuir a la tensión no conjugada C=O estiramiento (Vibración de ácidos carboxílicos alifáticos y cetonas, principalmente propios de la hemicelulosa⁶⁷).

1622se puede asignar al enlace conjugado carbonilo presentes en grupos de lignina típicos, aunque esto también se puede asignar a las proteínas, la cantidad de proteína la cual es insignificante y, normalmente, producen una banda ancha si no hay presencia de agua debido a los grupos amino, pero este caso como lo ilustra la imagen todavía presencia de agua.

1427 corresponde a la región del grupo O-CH₃ de la lignina. Las formas anoméricas α y β de polisacáridos que absorben alrededor de los 1330.

1242 corresponde a la señal C-O estiramiento del grupo fenol característica de la hemicelulosa y celulosa del material. Las bandas de 896,23 corresponden al estiramiento de C-H de hemicelulosa y celulosa⁶⁷.

Figura 24. Espectro de FTIR del raquis de palma africana.

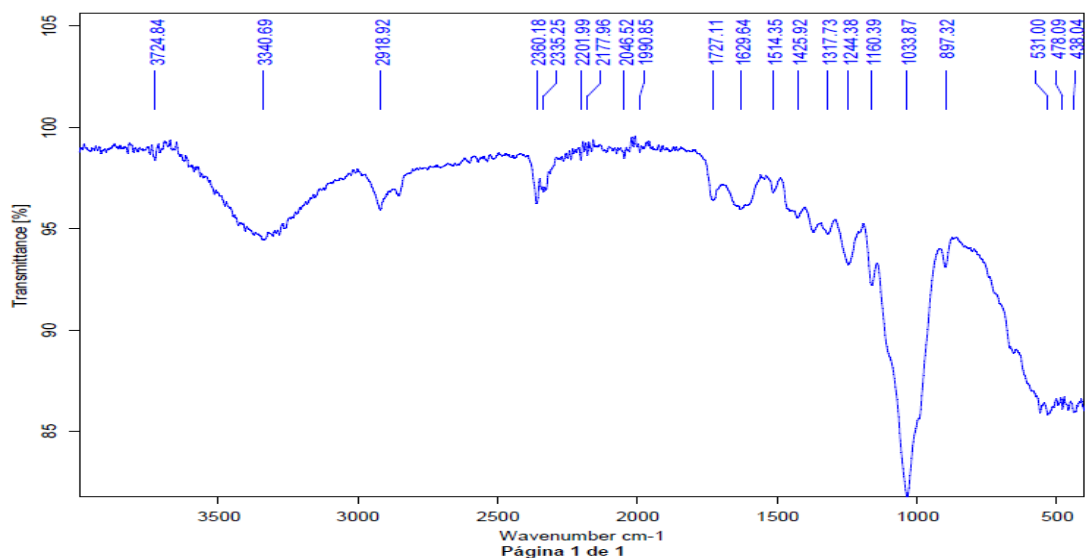


Tabla 21. Grupos funcionales del raquis de palma de acuerdo con la hemicelulosa, celulosa y lignina.

Longitud de onda (cm ¹)	descripción
3340	O-H anillos fenólicos
2918	Vibración C-H en grupos CH ₂
1727	Tensión del grupo C=O cetona no conjugada y éster
1629	Tensión del C=C alcoholes coniferílico y sináptico
1514	Estiramiento del anillo aromático asimétrico (lignina)
1425	Vibración de los aromáticos (lignina)
1244	Estiramiento C-O fenol (celulosa y hemicelulosa)
1160	Absorbancia arabinoglucaronoxilanos y galactoglucomananos (hemicelulosa)
1030	

Fuente: Autores

En la Figura 26 se muestra que la primera banda 3340 cm^{-1} pertenece al grupo OH presente en los anillos fenólicos, un comportamiento similar tiene la banda a 2918 correspondiente a la vibración del C-H en grupos CH_2 que corresponde a grasas o ceras presentes en el material.(ver Figura 20)⁹¹.

La banda a 1727 cm^{-1} corresponde a la tensión del grupo C=O, cetona no conjugada, grupos éster, la cual disminuye notablemente con el tratamiento rompimiento de los enlaces éster que unen la lignina con la hemicelulosa. La banda 1629 cm^{-1} corresponde a la tensión del C=C conjugado con el anillos en alcoholes coniferílico y sinaliptico⁸³.

Las bandas 1514 derivados de los aromáticos de la lignina y 1425, corresponden a la vibración del anillo aromático, usualmente sirven de bandas de referencia en estudios lignina. La banda 1514 corresponde al estiramiento del anillo aromático asimétrico⁸³.

La señal de 1244 corresponde a la señal C-O estiramiento del grupo fenol característica de la hemicelulosa y celulosa del material. Así mismo las bandas 1160, 1030 y 897, pueden ser atribuidas a la absorbancia arabinoglucaronoxilanos y galactoglucomananos los cuales son componentes de la hemicelulosa.⁸³

6.8 ANÁLISIS MORFOLÓGICO DEL BAGAZO DE CAÑA Y RAQUIS DE PALMA AFRICANA POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).

El análisis de MEB se realizó con el fin de evaluar la superficie y morfología de las biomásas analizadas (bagazo de caña y raquis de palma africana).

Figura 25. Raquis de palma desde otro punto de vista (toma 2).

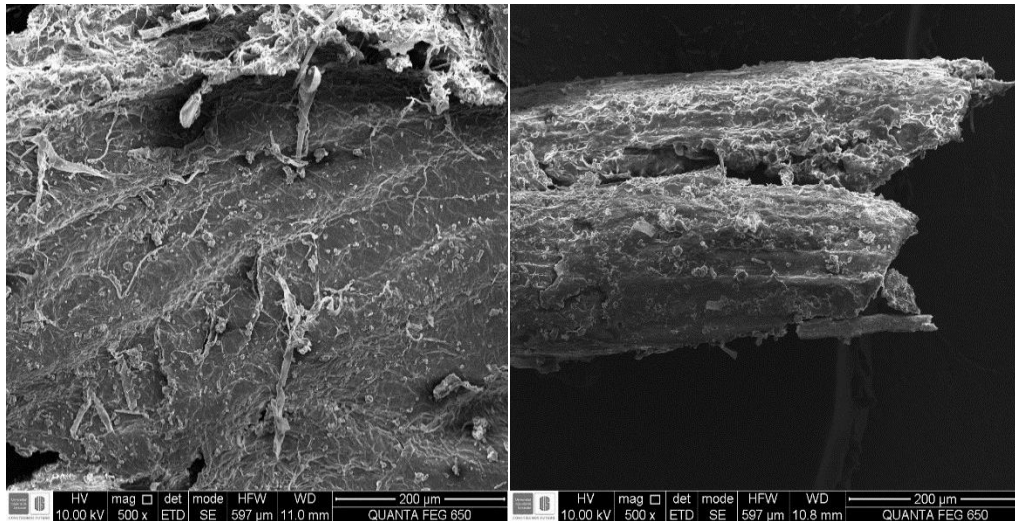


Figura 267. Bagazo de caña (toma 1).

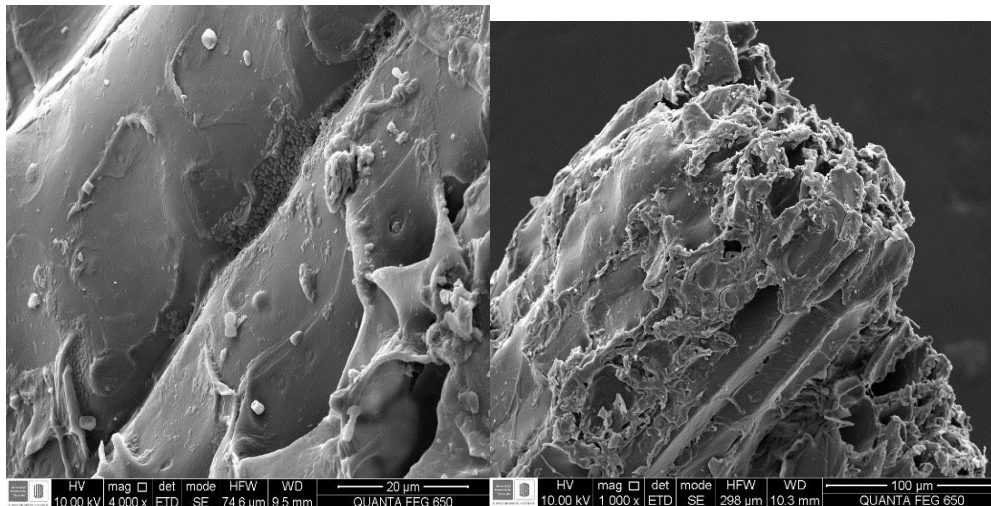
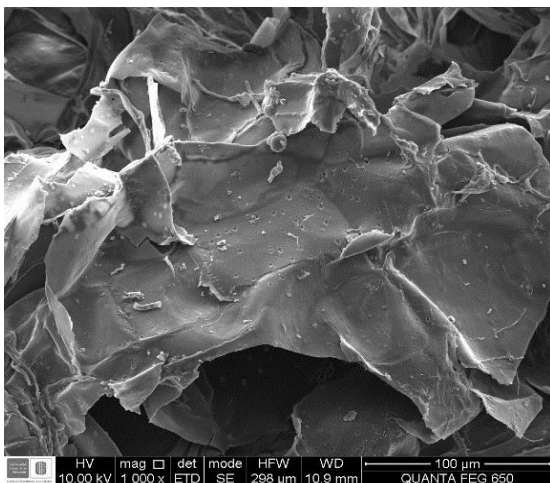


Figura 28. Bagazo de caña de azúcar (toma 3).



El raquis de palma presenta una estructura más rigurosa y compacta con un área superficial accesible un poco menor por la poca porosidad y volumen de poros con mayor número de material residual y extractivos que el bagazo de caña de azúcar (Ver figura 26).

La figura 27 se muestra una estructura de superficie regular y compacta, comprimida y rigurosa, con las fibras dispuestas de manera regular e uniforme y las paredes de las células están intactas interrelacionadas con la médula además su superficie aún está cubierta por extractivos y residuos producto de la molienda que son los pequeños los puntos que se pueden ver. El bagazo de caña de azúcar posee un área superior un poco mayor comparado con el raquis de palma debido a que su estructura es más porosa^{92, 93, 94, ,}.

La figura 28 es una región ampliada de la médula, la cual es una estructura que contiene pozos más frágiles y fragmentados, que son pequeños poros que conectan las células vecinas en la superficie. Por otra parte en ninguna de las imágenes se logra ver las fibras alargadas y paralelas como habría de esperarse, esta clase de análisis para las dos biomásas sin tratar.

El bagazo caña está formado por estructuras de fibra que a su vez están formados por haces vasculares. Por otro lado, los residuos de médula se observan en la Figura 28, y también los residuos en las superficies de las fibras que no se alcanzan a ver muy bien. Las imágenes tomadas por el microscopio sobre esta materia prima, confirman que posee una superficie plana y continúa. Están formados principalmente por paredes suaves a partir de células de parénquima⁹⁶.

6.9 DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL TEÓRICO DE LA MUESTRA (MEZCLA DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR Y RAQUIS DE PALMA AFRICANA) PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN

A partir de la Figura 18 se realizaron los cálculos teóricos para determinar el potencial teórico del bagazo de caña de azúcar, el raquis de palma africana y sus respectivas mezclas para la producción de bioetanol de segunda generación. En la Tabla 23, se presentan todos los resultados obtenidos en este trabajo, datos necesarios para la determinación de los litros (teóricos) producidos por tonelada de la biomasa. Donde sí se tiene un mayor porcentaje de celulosa, se tendrá un rendimiento teórico de producción de etanol mayor.

Tabla 22. Resultados de caracterización de los sustratos y sus mezclas.

Parámetro	Bagazo de caña de azúcar	Raquis de palma	Mezcla 50/50	Mezcla 70/30	Mezcla 90/10
% humedad	8,54 ± 0,73	9,68 ± 1,10	9,23 ± 0,68	8,59 ± 0,50	9,06 ± 0,33
% cenizas	1,31 ± 0,93	5,71 ± 0,35	3,49 ± 0,49	2,75 ± 0,12	2,11 ± 0,17
%extractivos	23,32 ± 1,44	19,41 ± 3,75	19,27 ± 1,50	23,01 ± 0,83	22,01 ± 0,76
% lignina	26,17 ± 0,86	24,33 ± 1,51	28,23 ± 2,04	29,74 ± 0,27	27,74 ± 0,05
%LIA	17,44 ± 0,74	15,80 ± 0,66	13,81 ± 0,16	18,71 ± 0,74	14,90 ± 0,18
%LSA	8,41 ± 0,59	8,52 ± 0,26	14,42 ± 0,03	11,33 ± 0,24	12,34 ± 0,25
% celulosa	36,11 ± 2,04	30,42 ± 7,08	31,48 ± 0,87	34,51 ± 0,47	34,49 ± 2,64
% hemicelulosa	10,39 ± 0,51	12,55 ± 6,93	9,44 ± 0,88	14,39 ± 0,84	10,26 ± 1,59
Litros de etanol/ tonelada de la biomasa	258,74	217,98	225,58	247,29	247,14

Fuente: autores.

Según análisis propuesto por santos y colaboradores sobre los litros de etanol por tonelada para cada sustrato empleado en el estudio varía teniendo en cuenta el porcentaje de celulosa y hemicelulosa luego de transcurrir la hidrólisis exitosamente el cual hay que tener cuenta también los parámetros como ceniza, tamaño de partícula, humedad, densidad aparente, extractivos, tipo de biomasa, condiciones climáticas entre otras como se ha descrito a lo largo del documento. El bagazo de caña de azúcar tiene porcentaje de celulosa reportado en literatura

que de celulosa hasta 40- 52%. En cambio, el raquis tiene un porcentaje de celulosa de 30-49%⁸³.

Como se aprecia en la Tabla 23, los litros de etanol producidos por los respectivos sustratos y sus mezclas, son cercanos a la producción de etanol producidos por las biomásas trabajadas como materia prima para la producción de etanol, ya que con un pretratamiento como explosión a vapor, oxonolisis, alcalino e una hidrólisis enzimática u otros adecuado se puede llegar a obtener un mayor porcentaje de azúcares como celulosa disponible ya que habrá sitios activos para realizar la fermentación, lo cual influirá en el aumento de los litros de etanol producidos por tonelada para las mezclas trabajadas.

Con bases a este análisis y a los resultados mostrados en la Tabla 23 sobre las mezclas de bagazo caña de azúcar y el raquis de palma africana, muestran ser promisorias a la hora de implantar un proceso a escala industrial ya que su porcentaje no es menor al bagazo ni al raquis de palma africana, pero tampoco superior ya que estudios en literatura demuestran el potencial del raquis y el bagazo a ser utilizados como materias para producir etanol de segunda generación.

7. CONCLUSIONES

Se cuantificaron los azúcares reductores de los materiales iniciales y sus mezclas por HPLC, lo cual permitió conocer el porcentaje de celulosa, hemicelulosa y lignina. Los valores encontrados son: celulosa (Bagazo 36,11, Raquis 30,42%, mezcla 50/50 31,48%, mezcla 70/30 34,51% y mezcla 90/10 34,49%), hemicelulosa (Bagazo 10,39%, Raquis 12,55%, mezcla 50/50 9,44%, mezcla 70/30 14,39% y mezcla 90/10 10,26%) y lignina (Bagazo 26,15%, raquis 24,33%, mezcla 50/50 28,23%, mezcla 70/30 29,74% y 90/10 27,74%).

Los niveles de celulosa y hemicelulosa se encuentran en un bajo nivel al ser comparados con los valores reportados en la literatura (celulosa bagazo 42,19% y hemicelulosa 27,60%, celulosa raquis de palma 44,97% y hemicelulosa 19,42%); incluyendo allí las mezclas ya que están aproximados a los porcentajes a los de las biomásas iniciales. Por el contrario, el contenido de lignina se encuentra por arriba de los porcentajes reportados en la literatura para las biomásas estudiadas (bagazo 21,56% y raquis 15,45-24,22%).

Se determinaron los valores de cenizas del bagazo de caña (1,31%) y raquis de palma africana (5,71%,) que se encontraron un poco bajos en comparación con los reportados en la literatura (bagazo de caña 2,75% y raquis de palma 6,5%), sin embargo al relacionar estos valores con los porcentajes de las mezclas (mezcla 50/50 3,49%, mezcla 90/10 2,75% y mezcla 70/30 2,11%) se encuentran en un rango aceptable para la producción del Bioetanol ya que no superan el 10% de cenizas lo que causaría mayor consumo de ácido en la hidrólisis o aumentaría la fricción en canales industriales lo que elevaría el costo en la producción. Asimismo, se determinó el porcentaje de extractivos para las biomásas y sus mezclas (Bagazo 23,32%, raquis 19,41%, mezcla 50/50%, mezcla 90/10 23,01% y mezcla 70/30 22,02%), encontrando que la extracción para el bagazo en esta experimentación fue muy alta en comparación a las anteriormente reportadas (4%). Contrario a esto el raquis de palma se considera que está justo en el rango aceptable comparado con los reportados en otros estudios (2-19%).

Mediante el análisis de DRX, se determinó el índice de cristalinidad de la celulosa contenida en el bagazo y el raquis en 34,11% y 27,00% respectivamente. Al comparar este índice de cristalinidad del bagazo con el reportado en la literatura (49 y 59%) se afirma que se encuentra dentro del rango. Teniendo en cuenta estos

datos se concluye que el bajo porcentaje de celulosa amorfa obtenido se debe a que el análisis de las biomásas se realizó en su estado natural y este aumentará a medida que se realicen los adecuados pretratamientos ya sea químicos o físico-químicos.

Se determinó la morfología de las biomásas mediante la técnica MEB, demostrando que aun existían residuos de extractivos sobre la superficie y la compactación del material específicamente del raquis.

Se realizó la caracterización por medio de FTIR, donde se observó que las biomásas tenían los grupos funcionales característicos de este tipo de material lignocelulósico en torno a celulosa, hemicelulosa y lignina los biopolímeros principales.

Se llegó a la conclusión de que las mezclas de raquis de palma africana y bagazo de caña de azúcar en proporciones 90/10, 70/30 y 50/50 se muestran como potenciales recursos para la producción del etanol de segunda generación ya que los litros que se pueden obtener de éstas (247,14, 247,29, y 255,58 respectivamente), como se pudo observar en la tabla 23, son menos que los que se pueden obtener solo con el bagazo de caña (258,74) pero mayores al raquis de palma africana (217,98).

Recomendación

- Por otra parte, la accesibilidad de celulosa no solo se ve afectada por la cristalinidad, si no también es afectada por otros parámetros, tales como el contenido de lignina, hemicelulosa y distribución, porosidad y tamaño de partícula .

8. DIVULGACIÓN DE RESULTADOS

- Este proyecto fue expuesto en el simposio de investigaciones USTAMED 2016 de la Universidad Santo Tomas sede Medellín.

9. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Díaz Elilla Jorge Pablo. *Sistemas de Energías Renovables*, 1st ed.; S.A, P., Ed.; Madrid-España, 2015; p 190.
- (2) Rico, J. Energía de La Biomasa. *Inst. para la Divers. y Ahorr. la energía* 2007, 2, 5–7.
- (3) Vollrath, H. *Fundamentos de Tecnología Química*, 1st ed.; REVERTÉ, S. A., Ed.; Barcelona - España, 1994; pp 394–995.
- (4) Estrada Gasca Claudio, I. S. J. *Energías Alternas: Propuesta de Investigación Y Desarrollo Tecnológico Para México*, 1st ed.; Academia Mexicana de Ciencias, Ed.; México, D.F., 2010; p 2.
- (5) Carolina Ybalo - Mercedes Escorcía - Agustín Codevilla*. REVALORIZACIÓN DE DESCARTES AGROINDUSTRIALES PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL. *Invenio* 2012, 15 (0329-3475), 141–157.
- (6) Juri Awad Sebastián Andrés. Sacarificación Y Fermentación Simultánea Para La Producción de Bioetanol de Segunda Generación, Mediante Pretatamientos Alternativos: Líquidos Iónicos Reciclados Y Hongos de Pudricción Blanca, Universidad de Chile, 2011, p 10.
- (7) Cardona, Ó. J. S. and C. A. Producción Biotecnológica de Alcohol Carburante I: Obtención a Partir de Diferentes Materias Primas. *Scielo* 2005, 30 (0378-1844).
- (8) González, A. F.; Jiménez, I. C.; Restrepo, S.; Gómez, J. M. Biocombustibles de Segunda Generación Y Biodiesel. *Rev. la Fac. Ingeniería la Universidad los Andes* 2008, 28, 70–82.
- (9) Asociacion colombiana de productores y proveedores de caña de azucar. Procaña. Historia de la caña de azúcar <http://www.procana.org/new/estadisticas/historia-de-la-ca%C3%B1a-de-azucar.html> (accessed May 13, 2015).
- (10) Un, E. N.; Guanacaste, V. D. E. Efecto de Los Residuos de La Industria Azucar-Alcoholera, Bagazo, Cachaza Y Vinaza, En La Produccion de Cana Y Azucar En Un Vertisol de guanacaste1. 1983, 12 (2), 147–153.
- (11) Pernalet, Z.; Piña, F.; Suarez, M.; Ferrer, A.; Aiello, C. Fraccionamiento Del Bagazo De Caña De Azúcar Mediante Tratamiento Amoniacal: Efecto De La Humedad Del Bagazo Y La Carga De Amoníaco. *Bioagro* 2008, 20 (1), 3–10.

- (12) Castillo, A.; Hernández, E. G.; Domínguez, M. M. D.; Granandos, J. M.; Cruz, a A.; García, R. C.; Cepeda, a M.; Franco, P. J. H.; Claveríe, a L.; Martínez, a M. M. Aprovechameinto Integral de Los Materiales Lignocelulósicos. *Rev. Iberoam. Polímeros* 2012, 13 (4), 140–150.
- (13) Batista, E. M.; Moy, A. P. Evaluación de Rutas de Producción de Etanol de Segunda Generación Mediante El Análisis Económico E Integración de Procesos, San buenaventura Seccional Cartagena Facultad de Ingenieria Quimica, 2013, pp 12–42.
- (14) Korn, P. C. Biocombustibles de Primera Generación. *Electro Ind.* 2008.
- (15) McAloon, A.; Frank Taylor; Winnie Yee; Kelly Ibsen; Robert Wooley. *Determining the Cost of Producing Ethanol from Corn Starch and Lignocellulosic Feedstocks*. NREL/TP-580-28893; Golden, Colorado, 2000; p 4.
- (16) Korn, P. C. Biocombustibles de Primera Generación. *Electro Ind.* 2008.
- (17) McAloon, A.; Frank Taylor; Winnie Yee; Kelly Ibsen; Robert Wooley. *Determining the Cost of Producing Ethanol from Corn Starch and Lignocellulosic Feedstocks*. NREL/TP-580-28893; Golden, Colorado, 2000.
- (18) No et mengis el món. AGROCARBURANTES DE PRIMERA Y SEGUNDA GENERACIÓN
http://www.noetmengiselmon.org/IMG/pdf/Agrocarb_1era_2da_generacion.pdf (accessed Oct 15, 2015).
- (19) Brunschwig, C.; Moussavou, W.; Blin, J. Use of Bioethanol for Biodiesel Production. *Prog. Energy Combust. Sci.* 2012, 38 (2), 283–301.
- (20) Hai, F. I.; Fattah, K. P.; Saroj, D. P.; Moreira, M. T. 11 - *Membrane Reactors for Bioethanol Production and Processing*; Elsevier Ltd, 2015; pp 313–343.
- (21) Raghavi, S.; Sindhu, R.; Binod, P.; Gnansounou, E.; Pandey, A. Development of a Novel Sequential Pretreatment Strategy for the Production of Bioethanol from Sugarcane Trash. *Bioresour. Technol.* 2015, -.
- (22) Gupta, A.; Prakash, J. Sustainable Bio-Ethanol Production from Agro-Residues : A Review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2015, 41, 550–567.
- (23) Baeyens, J.; Kang, Q.; Appels, L.; Dewil, R.; Lv, Y.; Tan, T. Challenges and Opportunities in Improving the Production of Bio-Ethanol. *Prog. Energy Combust. Sci.* 2015, 47, 60–88.

- (24) Viatcheslav Kafarov; Ojeda, K.; Sánchez, E. *Situación Y Perspectiva de Biocombustibles En Colombia*; Bucaramanga-Colombia, 2006.
- (25) Carolina, B. D. Obtención de Bioetanol 2G a Partir de Hidrolizados de Paja de Trigo. Fermentación Conjunta de Los Penta Y Exa Carobohidratos Con *Pichia Stipitis*, Valladolid, 2013, pp 5–16.
- (26) Montaña Morales Fabio Héctor. Producción de Bioetanol a Partir de Material Lignocelulósico de Moringa Oleífera, Nacional de Colombia, 2014, pp 1–13.
- (27) Ministerio de Ambiente, V. y D. T. –MAVDT; Fedepalma. *GUIA AMBIENTAL DE LA AGROINDUSTRIA DE LA PALMA DE ACEITE EN COLOMBIA*; bogotá D.C- Colombia, 2011; p 86.
- (28) Ecopetrol. Bioenergy
http://www.ecopetrol.com.co/wps/portal/es/?urile=wcm%3Apath%3A/Ecopetrol_ES/Ecopetrol/Medio-Ambiente/gestion-ambiental-proactiva/Ecoeficiencia/Biocombustibles/Nuestros-Proyectos/Bioenergy
 (accessed Nov 16, 2016).
- (29) Hernández, H. E.; Prada, J. O.; Lesmes, H. J. Z.; Ruiz, M. C. C.; Ortega, M. D. *Atlas Del Potencial Energético de La Biomasa Residual En Colombia*; Colombia, 2011; p 81.
- (30) VIVAS, E. A. A. OBTENCION DE BIOETANOL A PARTIR DE *Pinus Radiata* D. Don., Universidad de Concepción, 2008, pp 27–31.
- (31) NASCIMENTO, V. M. PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO (NaOH) DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL E OBTENÇÃO DE XILOOLIGÔMEROS., UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, 2011, pp 19–24.
- (32) Walford, S. Sugarcane Bagasse: How Easy Is It to Measure Its Constituents? *Proc. 81st Annu. Congr. South ...* 2008, 266–273.
- (33) Rincón Martínez José María, S. L. E. E. *Bioenergía: Fuentes, Conversión Y Sustentabilidad*, 1st ed.; Cyted, Ed.; Bogotá D.C- Colombia, 2014; pp 140–146.
- (34) Sebastián, Noguéz Fernando, G. a-G. D. *Energía de La Biomasa*, 1st ed.; Zaragoza, P. U. de, Ed.; Zaragoza, 2010; pp 127–129.
- (35) Rodríguez, F. C. Biodegradacion de Compuestos Naturales III. In *Biotecnología ambiental*; Tebar: Madrid-España, 2005; p 407.

- (36) Tomás Pejó Elia. Bioetanol de Paja de Trigo : Estrategias de Integración de Las Etapas Del Proceso, Complutense de Madrid, 2010, pp 11–22.
- (37) Casillas, M. B. Pretratamiento de Biomasa Celulósica Para La Obtención de Etanol En El Marco de Una Biorrefinería., Universidad Politécnica de Madrid, 2010.
- (38) Ayala, O. L. B.; Soledad, M. J. S. Activación Física Del Ráquis de La Palma Africana (ELAEIS GUINEENSIS) Para La Obtención de Carbón Activado., Universidad Insdustria de Santander, 2006, p 5.
- (39) Un panorama sobre el sector Palma africana por países y por compañías.
- (40) Portafolio. Colombia, cuarto productor de aceite de palma en el mundo.
- (41) Díaz, Á. J. Á.; Escobar, Y. C. Agrocombustibles Y Soberanía Alimentaria En Colombia. *Cuad. Geogr. Rev. Colomb. Geogr.* 2015, Vol. 24, N.
- (42) Vanguardia liberal. Cultivo de palma en Santander es de pequeños productores.
- (43) Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Aspectos Da Emergência, Crescimento Inicial E Suscetibilidade a Herbicidas Utilizados Em Cana-de-Açúcar de. 2011.
- (44) SILVA, G. M. DA. PRE-TRATAMIENTO DE BAGAZO DE CAÑA CON AGUA AMONIACO PARA LA PRODUCCIÓN ETANOL, Universidad federal de Sao Carlos., 2011, p 32.
- (45) Dirección de Investigación y evaluación económica y sectorial. Panorama Agroalimentario.
- (46) Organización mundial de la salud. Infección humana por virus de la gripe aviar A(H7N9) - Actualización
http://www.who.int/csr/don/2014_01_31/es/index.html.
- (47) Asocaña. El sector azcarero colombiano e.
- (48) Asocaña. *Aspectos Generales Del Sector Azucarero 2015-2016*; Cali, Colombia, 2016.
- (49) Hernández, H. E.; Prada, J. O.; Lesmes, H. J. Z.; Ruiz, M. C. C.; Ortega, M. D. *Atlas Del Potencial Energético de La Biomasa Residual En Colombia*; Colombia, 2011; p 71.

- (50) Durán, J. R.; Burbano, O. I.; Arturo, C.; Valens, V. Comportamiento Agroindustrial de Diez Variedades de Caña de Azúcar Para Producción de Panela En Santander , Colombia Agro Industrial Yield of Ten Sugar Cane Varieties for Production of Panela in Santander , Colombia. *Genética Veg. y Biodivers.* 2014, *15*, 183–195.
- (51) Sasmal, S.; Goud, V. V.; Mohanty, K. Characterization of Biomasses Available in the Region of North-East India for Production of Biofuels. *Biomass and Bioenergy* 2012, *45*, 212–220.
- (52) 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 Oct 15, 2015).
- (53) Casillas, M. B. Pretratamiento de Biomasa Celulósica Para La Obtención de Etanol En El Marco de Una Biorrefinería., Universidad Politécnica de Madrid, 2010, p 86.
- (54) Lozano, S. M. Evaluación de La Biomasa Como Recurso Energético Renovable En Cataluña, Uniersidad de Girona, 2009, pp 191–192.
- (55) vicerrectoría de investigaciones. *Descripción de La Técnica MEB*; Colombia, 2012.
- (56) 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 Oct 15, 2015).
- (57) NREL. NATIONAL RENEWABLE ENERGY LABORATORY, NREL.
- (58) Guimarães, J. L.; Frollini, E.; da Silva, C. G.; Wypych, F.; Satyanarayana, K. G. Characterization of Banana, Sugarcane Bagasse and Sponge Gourd Fibers of Brazil. *Ind. Crops Prod.* 2009, *30* (3), 407–415.
- (59) Naik, S.; Goud, V. V.; Rout, P. K.; Jacobson, K.; Dalai, A. K. Characterization of Canadian Biomass for Alternative Renewable Biofuel. *Renew. Energy* 2010, *35* (8), 1624–1631.
- (60) Dagnino E.P. , Chamorro R.E., Romano S. D., F. F. LIGNOCELULÓSICA PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL. *Hyfusen* 2011, *3* (12-050), 8–13.
- (61) Quintana, J.; Pérez, J.; Young, H. Obtención De Etanol a Partir De Residuos De Poda , Mediante Hidrólisis Ácida E Hidrólisis Enzimática Ethanol From

Waste of Pruning By Acid Hydrolysis and Enzymatic Hydrolysis. 2011, 111–116.

- (62) Sindhu, R.; Kuttiraja, M.; Binod, P.; Janu, K. U.; Sukumaran, R. K.; Pandey, A. Dilute Acid Pretreatment and Enzymatic Saccharification of Sugarcane Tops for Bioethanol Production. *Bioresour. Technol.* 2011, 102 (23), 10915–10921.
- (63) Escobar, L. M. A.; Álvarez, U. S.; Peñuela, M. Yeast Immobilization in Lignocellulosic Wastes for Ethanol Production in Packed Bed Bioreactor. *Rev. Fac. Ing.* 2012, No. 62, 66–76.
- (64) Alexandre Alves Da Silva. Otimizacao Do Pre-Tratamento Ácido Do Torta de Caroco de Algadoo E Bagaco de Malte Com Farinha de Pupunha Para Producao de Bioetanol de Segunda Geracao, Universidade Federal dos Vales do Jequitihonha e Mucuri, 2012, pp 1–57.
- (65) Niño López Lilibeth, Acosta Cardenas Alejandro, G. Z. R. Evaluación de Pretratamientos Químicos Para La Hidrólisis Enzimática de Residuos Lignocelulósicos de Yuca (Manihot Esculenta Crantz). *Fac. ingenirias la Univ. Antioquia [online]* 2013, 69 (0120-6230), 317–326.
- (66) Guarda, E. A.; Carlos, J.; Serra, V. Resíduos Agroindustriais: Potencial de Produção Do Etanol de Segunda Geração No Brasil. *Liberato* 2013, 14, 113–123.
- (67) Rambo, M. K. D.; Schmidt, F. L.; Ferreira, M. M. C. Analysis of the Lignocellulosic Components of Biomass Residues for Biorefinery Opportunities. *Talanta* 2015, 144, 696–703.
- (68) Sluiter, A.; Hames, B.; Hyman, D.; Payne, C.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Nrel, J. W. Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples. 2008, No. March.
- (69) Sluiter, a; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Nrel, D. C. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. 2011, 2011 (July).
- (70) Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R. O.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Energy, D. of. Determination of Ash in Biomass. *Biomass Anal. Technol. Team Lab. Anal. Proced.* 2004, No. January, 1–6.

- (71) Sluiter, A.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Sluiter, A.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J. Determination of Extractives in Biomass. 2008, No. 71.
- (72) Ayala, O. L. B. AVALIAÇÃO DE PRÉ-TRATAMENTOS PARA A HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR CONSIDERANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL, UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2012, pp 75–82.
- (73) Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Nrel, D. C. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. 2008, No. April.
- (74) Santos, F. a; Queiróz, J. H. De; Colodette, J. L.; Fernandes, S. a; Guimarães, V. M. Potencial Da Palha de Cana-de-Aucar Para Produção de Etanol. *Quim. Nova* 2012, 35 (5), 1004–1010.
- (75) Yuri Alexandra González Castillo, Sahra Nathalie Rincón Rincón, G. de J. C. V.; German Eduardo Dévora Isiordia, F. E. S. V. Caracterización de Materiales Lignocelulósicos Residuales de Palma de Aceite Y Palma de Coco Para La Fabricación de Pellets. *Investig. en Ingeniería* 2014, 11 (1784-4953), 83–91.
- (76) Delfina de Jesús Ríos Benitez. Determinación Del Porcentaje de Carbono No Quemado En El Ingenio Azucarero Cuatutolapan, Univerisidad Veracruzana, 2011.
- (77) Diaz, R. Caracterización Energética Del Bagazo de Caña de Azúcar Del Ingenio Valdez. *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*. Riombamba, Ecuador 2008, pp 1–5.
- (78) Reinoso, D. A. G. Mezcla de Cascarrilla de Nuez de Palmiste Y Raquis de Palma Como Combustible Alternativo Para Generación Eléctrica, Univerisidad Central del Ecuador, 2014.
- (79) Of, C.; Sugar, C.; In, H.; Second, F. O. R.; Ethanol, G. CARACTERIZAÇÃO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR IN NATURA E PRÉ-TRATADO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO. No. 1, 1–6.
- (80) Paz Fong, J. F. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA MADERA OBTENIDA DEL PRIMER CLAREO EN ÁRBOLES DE MELINA (Gmelina Arborea Roxb.), DE UNA PLANTACIÓN PROVENIENTE DEL DEPARTAMENTO DE IZABAL, Univerisidad de San Carlos De Guatemala, 2008.

- (81) Bonilla Chaves, Róger , Moya Roque, R. Determinación de Los Extractivos Y Su Correlación Con El Peso Específico Básico de Diez Especies Utilizadas Como Sombra En Cafetales de Costa Rica. *Rev. For. Mesoam. Kúru* 2014, 11 (27), 34–46.
- (82) Aguilar Valencia, D. M. Producción de Etanol a Partir de Bagazo de Caña Panelera Mediante Un Sistema Híbrido de Fermentación Y Pervaporación, Nacional de Colombia, 20011.
- (83) Piñeros Castro, N. Y. Hidrólisis de Residuos Lignocelulosicos Derivados de La Explotación de Palma de Aciete Hasta Azúcares Fermentables, Nacional de Colombia, 2012.
- (84) García N., Jesús Alberto, Cárdenas M., Mónica, Yañez A., E. E. Generación Y Uso de Biomasa En Plantas de Beneficio de Palma de Aceite En Colombia. *Palmas* 2010, 31 (2), 41–48.
- (85) Ramírez Contreras Nidia Elizath, Arévalo Angélica, Garcías Núñez, J. A. Inventario de La Biomasa Disponible En Plantas de Beneficio Para Su Aprovechamiento Y Caracterización Fisicoquímica de La Tusa En Colombia*. *palmas* 2015, 36 (0121-2923), 41–54.
- (86) Aimarett, N.; Ybalo, C.; Escorcía, M.; Codevilla, A.; Rojas, M. L.; Plou, F.; Yori, J. C. *OBTENCION DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACION A PARTIR DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES*; Santa fé. Argentina, 2013; pp 1–12.
- (87) Park, S.; Baker, J. O.; Himmel, M. E.; Parilla, P. A.; Johnson, D. K. Cellulose Crystallinity Index: Measurement Techniques and Their Impact on Interpreting Cellulase Performance. 2010, 1–10.
- (88) Xu, C.; Zhu, S.; Xing, C.; Li, D.; Zhu, N. Isolation and Properties of Cellulose Nanofibrils from Coconut Palm Petioles by Different Mechanical Process. 2015, 1–11.
- (89) Yang, H. Characteristics of Hemicellulose , Cellulose and Lignin Pyrolysis. 2007, 86, 1781–1788.
- (90) Pereira, S. C.; Maehara, L.; Machado, C. M. M.; Farinas, C. S. Physical E Chemical E Morphological Characterization of the Whole Sugarcane Lignocellulosic Biomass Used for 2G Ethanol Production by Spectroscopy and Microscopy Techniques. *Renew. Energy* 2016, 87, 607–617.
- (91) Nubia Yineth Piñeros Castro. Hidrólisis de Reiduos Lignocelulósicos Deirvados de La Explotación de Palma de Aciete Hasta Azúcares Fermentables, Nacional de Colombia, 2012.

- (92) Chandel, A. K.; Antunes, F. A. F.; Anjos, V.; Bell, M. J. V; Rodrigues, L. N.; Polikarpov, I.; Azevedo, E. R. De; Bernardinelli, O. D.; Rosa, C. A.; Pagnocca, F. C.; et al. Multi-Scale Structural and Chemical Analysis of Sugarcane Bagasse in the Process of Sequential Acid – Base Pretreatment and Ethanol Production by *Scheffersomyces Shehatae* and *Saccharomyces Cerevisiae*. 2014, 1–17.
- (93) Zhao, X.; Zhang, L.; Liu, D. Biomass Recalcitrance . Part I : The Chemical Compositions and Physical Structures Affecting the Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose. 2012, 465–482.
- (94) Boluda-aguilar, M.; López-gómez, A. Production of Bioethanol by Fermentation of Lemon (*Citrus Limon* L .) Peel Wastes Pretreated with Steam Explosion. *Ind. Crop. Prod.* 2013, *41*, 188–197.