



Universidad **Mariana**

Aprovechamiento de la caña panelera del municipio de Sandoná (Nariño), en la producción conjunta de bioetanol de primera y segunda generación en un proceso de sacarificación y fermentación simultaneo SSF, acompañada de productos de alto valor

Hevelin Dayana Eraso Valencia

Jose Andres Fajardo Martinez

Autores

Universidad Mariana

Facultad de Ingeniería

Programa Ingeniería de Procesos

San Juan de Pasto

2024

Aprovechamiento de la caña panelera del municipio de Sandoná (Nariño), en la producción conjunta de bioetanol de primera y segunda generación en un proceso de sacarificación y fermentación simultánea SSF, acompañada de productos de alto valor

Hevelin Dayana Eraso Valencia

Jose Andres Fajardo Martinez

Autores

Informe de investigación para optar al título de: Ingeniero de Procesos

M.Sc. Iván Alexander Ortiz Cabrera

Asesor

Universidad Mariana

Facultad de Ingeniería

Programa Ingeniería de Procesos

San Juan de Pasto

2024

Artículo 71: los conceptos, afirmaciones y opiniones emitidos en el Trabajo de Grado son responsabilidad única y exclusiva del (los) Educando (s) Reglamento de Investigaciones y Publicaciones, 2007 Universidad Mariana

Agradecimientos

En primer lugar, agradecemos a Dios, por su infinita gracia y bendiciones, que nos ha permitido alcanzar este logro académico. A él le damos las gracias por la salud, la sabiduría y la fortaleza necesarias para llevar a cabo este trabajo de grado.

A nuestros padres, por su amor incondicional, su apoyo y su dedicación en este proceso. Gracias por sus oraciones, sus sacrificios y su fe inquebrantable. Siempre podremos contar con ustedes.

Agradecimiento a los laboratorios de la universidad por el apoyo y la asistencia técnica brindada durante la realización de este trabajo especialmente a la Esp. Edith Santacruz y el Qco. Hugo Espinoza. Gracias por el acceso a las instalaciones, equipos, que nos permitieron llevar a cabo experimentos y obtener resultados confiables, también su disponibilidad y su disposición para resolver cualquier duda o problema que haya surgido durante el proceso de investigación.

Por último y no menos importante, queremos agradecer a nuestro asesor M.Sc. Iván Alexander Ortíz, por su continua guía, conocimiento, paciencia y su disposición para ayudarnos en todo momento, han sido fundamentales para el éxito de este trabajo de grado. Su compromiso y dedicación han superado nuestras expectativas y siempre estaremos agradecidos por su valioso aporte.

Tabla de Contenido

<i>1. Resumen del proyecto.....</i>	<i>12</i>
<i>1.1 Descripción del problema.....</i>	<i>13</i>
<i>1.1.1. Formulación del problema.....</i>	<i>15</i>
<i>1.2. Justificación.....</i>	<i>15</i>
<i>1.3. Objetivos.....</i>	<i>18</i>
<i>1.4. Marco referencial o fundamentos teóricos.....</i>	<i>18</i>
<i>1.4.1 Antecedentes.....</i>	<i>18</i>
<i>1.4.2. Marco teórico.....</i>	<i>29</i>
<i>1.4.3. Marco legal.....</i>	<i>41</i>
<i>1.5. Metodología.....</i>	<i>44</i>
<i>1.5.1 Objetivo 1 Caracterizar químicamente el bagazo de caña de azúcar (Saccharum officinarum) para determinar el contenido de carbohidratos estructurales y lignina.....</i>	<i>46</i>
<i>1.5.2 Objetivo 2 Establecer el pretratamiento y las condiciones adecuadas para la deslignificación del bagazo de caña (Saccharum officinarum).....</i>	<i>47</i>
<i>1.5.3 Objetivo 3 Obtener bioetanol mediante una fermentación con Saccharomyces cerevisiae a partir de azúcares reductores generados en un proceso simultáneo de sacarificación (hidrólisis enzimática) catalizada por la enzima celulasa del bagazo de caña pretratado y jugo de caña....</i>	<i>49</i>
<i>1.5.4 Objetivo 4 Evaluar la capacidad de producción de furfural a partir de la fracción líquida del pretratamiento.....</i>	<i>51</i>
<i>2.Resultados.....</i>	<i>53</i>
<i>2.1. Objetivo 1 Caracterizar químicamente el bagazo de caña de azúcar (Saccharum officinarum) para determinar el contenido de carbohidratos estructurales y lignina.....</i>	<i>53</i>
<i>2.2. Objetivo 2 Establecer el pretratamiento y las condiciones adecuadas para la deslignificación del bagazo de caña (Saccharum officinarum).....</i>	<i>54</i>

2.3. *Objetivo 3 Obtener bioetanol mediante una fermentación con Saccharomyces cerevisiae a partir de azúcares reductores generados en un proceso simultáneo de sacarificación (hidrólisis enzimática) catalizada por la enzima celulasa del bagazo de caña pretratado y jugo de caña....61*

2.4. *Objetivo 4 Evaluar la capacidad de producción de furfural a partir de la fracción líquida del pretratamiento.....65*

3. *Conclusiones66*

4. *Recomendaciones68*

Anexos86

Índice de Tablas

Tabla 1 Producción de bioetanol a partir de jugo de caña (1G).....	20
Tabla 2 Producción de bioetanol a partir de bagazo de caña en un proceso SHF (2G)	21
Tabla 3 Producción de bioetanol (1G y 2G) en un proceso SSF.....	25
Tabla 4 Condiciones de producción de furfural a partir de bagazo de caña	26
Tabla 5 Tipos de pretratamientos de biomasa, el procedimiento que usa y su detalle.....	31
Tabla 6 Ventajas y desventajas presentes en los sistemas combinados de producción de bioetanol: SHF, SSF, SSCF y CBP	37
Tabla 7 Normatividad biocombustibles caso: etanol para Colombia.....	41
Tabla 8 Caracterización del bagazo de caña de azúcar (Saccharum officinarum) por método NERL y ASTM.....	53
Tabla 9 Caracterización química con técnica cromatográfica del bagazo de caña de azúcar sin pretratar de lignina, hemicelulosa y celulosa realizada por varios autores.	54
Tabla 10 Condiciones óptimas del pretratamiento químico para maximizar la remoción de lignina y minimizar el costo de pretratamiento	55
Tabla 11 Verificación experimental de las condiciones óptimas del pretratamiento químico para maximizar la remoción de lignina y minimizar el costo de pretratamiento	59
Tabla 12 Pretratamiento alcalino en la solubilización de lignina del bagazo de caña	60

Índice de Figuras

Figura 1 Esquema de producción de etanol de 1G y 2G a partir de las diferentes materias primas	36
Figura 2 Productos químicos de biorrefinería que transforman la lignocelulosa.....	40
Figura 3 Producción bioetanol y furfural a partir del del bagazo de caña pretratado y jugo de caña mediante SSF.....	44
Figura 4 metodología a llevar a cabo para el cumplimiento de los objetivos	46
Figura 5 Condiciones de los pretratamientos	49
Figura 6 Obtención de bioetanol mediante una fermentación con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> a partir de azúcares reductores generados en un proceso simultáneo de sacarificación (hidrólisis enzimática) catalizada por la enzima celulasa del bagazo de caña pretratado y jugo de caña.....	50
Figura 7 Condiciones de producción de furfural a partir de la fracción líquida del pretratamiento.	52
Figura 8 Gráficos de contorno para la optimización de pretratamiento con NaOH y Mix	58
Figura 9 Producción de bioetanol 1G.....	62
Figura 10 Producción de bioetanol 1G y 2G.....	63

Índice de Anexos

Anexos 1 Preparación de las muestras para el análisis composicional	92
Anexos 2 Determinación de extractivos en biomasa	100
Anexos 3 Determinación de cenizas	103
Anexos 4 Determinación de carbohidratos estructurales y lignina en la biomasa	111
Anexos 5 Determinación de la cantidad en porcentaje de la holocelulosa, hemicelulosa y celulosa en biomasa.....	114
Anexos 6 Cronograma de actividades	115
Anexos 7 Presupuesto	116
Anexos 8 Resultado diseño experimental Box-Behnken (RSM) con NaOH.....	116
Anexos 9 Resultado diseño experimental Box-Behnken (RSM) con H ₂ O ₂	117
Anexos 10 Resultado diseño experimental Box-Behnken (RSM) Mixto (NaOH – H ₂ O ₂).....	118

Introducción

La industria panelera en Colombia enfrenta varios desafíos que pueden afectar su crecimiento y desarrollo. El gremio panelero anunció que el sector se encuentra en crisis. De acuerdo con (Fedepanela, 2023), los desafíos que enfrenta el sector se derivan del hecho de que los costos de producción están excediendo las ganancias. El precio que los productores reciben por kilogramo ya no es suficiente para cubrir los costos, lo que resulta en que la mayoría de los paneleros estén operando con pérdidas en muchas regiones.

En contraste, la elaboración de bioetanol de primera generación (1G) implica el tratamiento del jugo de caña de azúcar y otros cultivos ricos en azúcar. No obstante, la producción de estos cultivos no logra cubrir la demanda global de bioetanol, dado que la mayoría de estos cultivos se destinan prioritariamente a la alimentación (Mohanty y Swain, 2019).

La producción de bioetanol abarca diversas técnicas, entre las cuales se encuentra la producción de segunda generación (2G). Este proceso, llevado a cabo en biorrefinerías, implica el procesamiento de tres componentes esenciales derivados de biomasa lignocelulósica (celulosa, hemicelulosa y lignina), los cuales constituyen la materia prima para producción de productos químicos y biocombustibles (Singh et al., 2022). Este método implica etapas como: (I) pretratamiento de biomasa, (II) hidrólisis ácida o enzimática de polisacáridos en monosacáridos, (III) fermentación microbiana de monosacáridos a bioetanol, y (IV) separación y concentración de bioetanol, siendo la etapa (I) clave para el rendimiento final de bioetanol.

En esta etapa, los pretratamientos buscan reducir la resistencia de materia vegetal, mediante la descomposición y reducción del tamaño de las estructuras celulares, y el aumento de la accesibilidad a los polisacáridos de la celulosa y hemicelulosa como a sus monosacáridos más representativos glucosa para los polisacáridos de celulosa y xilosa para los polisacáridos de hemicelulosa. No obstante, como estrategia para ahorrar tiempo y energía, las técnicas de producción de bioetanol de segunda generación (2G) emplean procesos de sacarificación y fermentación simultáneas (SSF), los cuales ofrecen ventajas significativas en comparación con los procesos de hidrólisis y fermentación por separado (SHF). Entre estas ventajas se incluye la

reducción de la inhibición enzimática por el sustrato, costos inferiores, una mayor conversión global de bioetanol y tiempos de producción más cortos en relación con los sistemas SHF (Portero, 2019).

Por lo mencionado anteriormente, la integración de tecnologías para la producción y gestión industrial de productos químicos y biocombustibles implica el manejo integral de los suelos y sus cultivos, a fin de lograr un equilibrio con la producción de alimentos en escenarios económicos y ambientales positivos (Vásconez et al., 2021; Melendez, 2022).

Debido a esto, el objetivo principal de esta investigación radica en proporcionar información sobre el efecto del tratamiento químico alcalino del bagazo de caña, y su consecuencia en la producción de bioetanol 1G y 2G, donde el jugo de caña y el bagazo pretratado se mezclen en un proceso de sacarificación y fermentación simultáneas (SSF), paralelo a ello evaluar la producción de furfural a partir de la fracción líquida del pretratamiento, generando así un aprovechamiento integral y sostenible del cultivo de caña panelera en el municipio de Sandoná Nariño.

1. Resumen del proyecto

El bioetanol es uno de los principales biocombustibles mencionados a ser protagonista en el nuevo sistema energético sostenible, ofreciendo ventajas sociales, económicas y ambientales sobre los combustibles fósiles, al ser una fuente renovable de energía. Su producción a partir de biomasa lignocelulósica requiere pretratamientos para aumentar la accesibilidad enzimática al romper parcialmente la hemicelulosa y lignina, hidrólisis enzimática de la celulosa en azúcares fermentables seguida de su fermentación a etanol o síntesis catalítica con el fin de elevar rendimientos de producción. El estudio describe un método integrado que utiliza una mezcla de bagazo de caña y jugo de caña para producir bioetanol de 1G y 2G por medio de la sacarificación y fermentación simultánea (SSF), además, aprovecha eficazmente el residuo rico en hemicelulosa del pretratamiento para producir furfural como un valioso subproducto, maximizando el uso de la biomasa en una estrategia prometedora para un sistema energético más sostenible.

Las condiciones óptimas se dieron en el pretratamiento con NaOH a condiciones de 0,50 M, 90,15 °C y 2,07 h, alcanzando 0,14 g de lignina solubilizada y un costo de 240,94 COP/gLS, con un coeficiente de correlación ajustado (R_{2aj}) del 98% para la lignina solubilizada por gramo de biomasa y de 85% del costo del reactivo en pesos colombianos por gramo de lignina solubilizado, La producción de bioetanol utilizando un sistema SSF se hizo con toma de muestras de producción de etanol cada 6 h con una relación S/L 18 g residuo de pretratamiento: 95 mL jugo de caña, pH 4,5, fermentado con levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y sacarificado con enzimas celulasa con condiciones de 34°C, 120 rpm, 120 h; con un agotamiento casi total de la glucosa.

La producción de bioetanol de 1G a partir de jugo de caña, alcanzó su máxima producción a las 42 h con una cantidad de 46,12 g/L (4,61% p/v) y un rendimiento de 73,38% basado en la cantidad de glucosa total producida. Por otro lado, la mayor cantidad de glucosa se produce a las 24 horas alcanzando 128,77 g/L. La producción de bioetanol de 1G y 2G, alcanzó su producción máxima a las 84 horas con una cantidad de 51,60 g/L (5,16% p/v) y un rendimiento del 69,51% basado en la cantidad de glucosa total producida. Por otro lado, la mayor cantidad de glucosa se produce a las 48 horas alcanzando 162,72 g/L.

La SSF desempeñó un papel considerable en la optimización del proceso. La producción de bioetanol 2G generó un incremento de 5,48 g/L comparado con el bioetanol 1G, elevando la producción en un 11,88 %. Por otro lado, la corriente líquida del pretratamiento permitió la producción de furfural, lo que aportó beneficios para el aprovechamiento de hemicelulosas presentes, por su parte, se obtuvo que a 170 °C el rendimiento p/p fue de 35,8 (55,94 % mol) con el mayor rendimiento alcanzado.

Palabras clave: Bagazo de caña, Pretratamiento, SSF, Bioetanol, furfural.

1.1 Descripción del problema

De acuerdo con (Fedepanela, 2023), los desafíos que enfrenta el sector se deben a que los costos de producción están por encima de los beneficios. El presidente del Comité Panelero, Norberto Úsuga, indicó que *“Producir un kilogramo de panela en Colombia tiene un costo aproximado de \$3,000, mientras que actualmente se está vendiendo entre \$2,000 y \$2,500, lo que significa que se está incurriendo en pérdidas en la producción”*.

En el año 2020, el área de caña panelera sembrada en Colombia fue de 192.863 ha, de las cuales se cosecharon 165.980, durante el mismo año, la producción de panela en el país fue de 1.085.670 ton, con respecto al año 2019, el área de caña panelera sembrada en Colombia fue de 201.547 ha, de las cuales se cosecharon 183.350, con una producción de panela de 1.162.396 ton, denotando una disminución en el mercado.

Nariño es el octavo departamento productor de caña panelera, representando el 7,54% (14.537 ha) de área sembrada en Colombia para el año 2020, con respecto al año 2019 no presenta disminución en el área sembrada, pero sí una disminución del 10,90% en el área cosechada pasando de 13.144 ha a 11.720 ha y una disminución de un 35,77% en la producción de panela pasando de 100.346 ton a 64.460 ton (MinAgricultura, 2021). Por lo tanto, los productores de panela en Nariño reportan costos de producción más altos que en otras regiones del país, y venden sus productos a precios entre un 10% y un 15% por debajo del precio nacional (Gobernación de Nariño, 2019). En el departamento de Nariño; Ancuya, El Tambo y Sandoná son los principales municipios paneleros,

para el año 2018 Sandoná tuvo una producción de caña panelera de 26.400 Ton con un área aproximada de 3.200 hectáreas sembradas (Gobernación de Nariño y Secretaría de agricultura, 2020). En contraste, la producción de bioetanol se realiza por medio de varias rutas, siendo la vía de primera generación (1G) la más común.

Los cultivos agrícolas más utilizados en la producción de bioetanol 1G son el maíz, caña de azúcar y remolacha azucarera. Sin embargo, las biomásas de primera generación (madera, residuos agrícolas y cultivos energéticos) prolonga problemas de sostenibilidad y al mismo tiempo competencia directa en el uso de biomasa para energía y productos químicos y como materia prima en la producción de alimentos, lo que conlleva a tener implicaciones en la seguridad alimentaria conllevando a limitaciones de indagación a búsqueda de otras fuentes de biomasa (Mejías et al., 2016) (Mohanty y Swain, 2019).

La alternativa de segunda generación (2G) para la producción de bioetanol emplea residuos en lugar de cultivos alimentarios, haciéndola una alternativa más sostenible; sin embargo, aún presenta varias problemáticas y desafíos como: el pretratamiento de la biomasa, los costos de producción elevados, la disponibilidad y logística de la biomasa, composición variable de esta, falta de plantas comerciales, entre otros (Chen et al., 2021). Entre los tres usos principales del bagazo de caña están: utilizarlo como abono orgánico al dejarlo en el campo, venderlo como materia prima para la fabricación de papel, o se emplea como combustible en las calderas para generar calor. Sin embargo, estas aplicaciones tienen un valor agregado relativamente bajo. Además, su uso como combustible, especialmente en calderas para ingenios azucareros, emite gases contaminantes y produce cenizas que se dispersan en el entorno (Reinosa et al., 2018).

En la actualidad, la industria de producción de bioetanol ha centrado su atención en mejoras tecnológicas que buscan incrementar el rendimiento, reducir el tiempo del proceso y simplificar los pasos necesarios. Específicamente, entre las principales mejoras es la implementación de procesos integrados, los cuales reducen tanto el tiempo del proceso como los costos de capital y operación.

En el caso del proceso de fermentación e hidrólisis por separado (SHF), surge el problema de inhibición de celulasas debido al producto de hidrólisis enzimática (glucosa) (Alfani et al., 2000; Dahnum et al., 2015). En el proceso de sacarificación y co-fermentación simultánea (SSCF), se encuentra como desafío emplear microorganismos que puedan fermentar azúcares hexosas y pentosas (Bondesson y Galbe, 2016). En el Bioproceso consolidado (CBP) se presenta la problemática de la ingeniería genética para el diseño de microorganismos etanológicos productores de celulasas y hemicelulasas, y microorganismos degradantes de lignocelulosa aptos para producir etanol (Shahab et al., 2018).

Estos desafíos requieren de soluciones integrales que abordan tanto los aspectos técnicos como los regulatorios y de mercado, para garantizar el crecimiento y desarrollo sostenible de la industria panelera en Colombia.

En este contexto es necesario, estudiar alternativas que tengan menos impacto ambiental y reduzcan costos y tiempos de producción; ajustando las condiciones del proceso a fin de elevar los rendimientos de los productos deseados, para así lograr un adecuado aprovechamiento del cultivo de caña panelera en el municipio de Sandoná.

1.1.1. Formulación del problema

¿Será posible elevar la producción en más de un 5% de bioetanol producido en un proceso de sacarificación y fermentación simultáneo SSF de 1G y 2G a partir de la caña panelera del municipio de Sandoná (Nariño), con respecto a la producción convencional de 1G?

1.2. Justificación

Las proyecciones indican que la producción y uso de bioetanol aumentará significativamente en los próximos años como protagonista esencial de la transición energética hacia fuentes más limpias y renovables. Esto lo convierte en un actor clave para lograr un sistema energético más sostenible a nivel social, económico y ambiental frente al petróleo (Jiménez, 2018; Lin et al., 2022).

Con el fin de incrementar la competencia del bioetanol respecto a los combustibles provenientes del petróleo, es esencial disminuir los gastos de producción y aumentar la producción mediante nuevas alternativas. Para lograr esto, es crucial disminuir el costo de materias primas, las cuales constituyen aproximadamente el 60% del costo total del bioetanol. Se requiere el desarrollo de nuevos cultivos y la consideración de biomasa secundaria y residuos orgánicos como fuentes adicionales en la producción de biocombustibles.

Debido a la creciente demanda de petróleo y productos químicos, la valorización de biomasa es un tema relevante permitiendo reducir considerablemente la dependencia mundial de los combustibles fósiles (Dragone et al., 2020; Aguiar et al., 2021).

Las biomásas 2G como el bagazo de caña, están expuestas a la eliminación de los desechos producidos por las diversas industrias del sector agroalimentario que plantean desafíos significativos para desarrollar técnicas y procesos alternativos para transformar estos residuos que son aún limitados (Mejías et al., 2016). La biomasa lignocelulósica, es el material renovable más abundante en la Tierra, está compuesta por celulosa, hemicelulosa (polímeros de azúcares) y lignina (polímero de hidrocarburos y refuerza toda la red de biomasa). Es una materia prima potencial para producir químicos, biocombustibles y materiales de forma sostenible (Retsina et al., 2017). La celulosa y hemicelulosa derivada de la biomasa vegetal pueden ser una fuente adecuada de azúcares para ser utilizadas en el proceso de obtención de productos químicos como el bioetanol y el furfural respectivamente. Por lo tanto, es deseable la conversión de dicho material en productos químicos de valor agregado.

Las tecnologías para el aprovechamiento de estas biomásas son diversas y aún se encuentra en estado de investigación, algunas de las tecnologías para su aprovechamiento se basan en producción de energía y productos químicos, siendo la preparación de productos químicos basados en una plataforma molecular en base a azúcares de biomasa lignocelulósica una economía cada vez más rentable (Wenzhi et al., 2016). Por otro lado, la producción de Alcohol etílico sin desnaturizar de grado alcohólico volumétrico $\geq 80\%$ vol y la producción de Alcohol etílico y desnaturizados, con graduación $\geq 96,3\%$ vol, ha venido presentando una creciente demanda con

una tasa de aumento anual en valores entre el año 2018 y 2022 del 12% y 15% respectivamente. De manera similar, la tasa de crecimiento anual en valores entre el año 2021 y 2022 es del 32% y 31% respectivamente. Para la oferta se tiene el mismo comportamiento con tasas de crecimiento anual en valores entre el año 2018 y 2022 del 12% y 19% respectivamente. Para los valores entre el año 2021 y 2022 la tasa de crecimiento anual es del 32% y 32% respectivamente.

En Colombia, la producción de Alcohol etílico sin desnaturalizar con grado alcohólico volumétrico $\geq 80\%$ vol, presenta una demanda insatisfecha, importando un valor de 49'726.000 USD y exportando un valor de 6'211.000 USD para el año 2022. Con respecto a la producción de Alcohol etílico y desnaturalizados, de cualquier graduación $\geq 96,3\%$ vol, también se presenta una demanda insatisfecha con importaciones por el valor de 30'965.000 USD y exportaciones por un valor de 267.000 USD, consultado en las Estadísticas del comercio para el desarrollo internacional de las empresas TradeMap el 10 de septiembre de 2023, tomando como fuente la Dirección de Impuestos y Aduanas Nacionales (DIAN).

Con respecto a la tecnología de producción, se empleará el método de sacarificación y fermentación simultánea (SSF). Aquí, la descomposición enzimática de biomasa previamente tratada y fermentación del producto enzimático son llevados a cabo en un solo reactor. Para lograr esto, se usan enzimas que funcionan catalíticamente a más bajas temperaturas y levaduras termófilas, las cuales operan óptimamente a temperaturas entre 34 y 40°C. La glucosa, producto de la descomposición enzimática, se metaboliza y convierte simultáneamente en etanol. Así, el proceso de SSF supera la limitación de la inhibición enzimática causada por el producto final que se encuentra en el proceso de fermentación e hidrólisis separadas (SHF), mejorando tanto la eficiencia de la descomposición enzimática como el rendimiento de etanol (Kumneadklang et al., 2015; Olofsson et al., 2008).

En el proceso también se evaluará la producción de furfural tomando la fracción líquida del pretratamiento, generando así un aprovechamiento integral y sostenible del cultivo de caña panelera en el municipio de Sandoná Nariño.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Aprovechar el cultivo de la caña panelera del municipio de Sandoná (Nariño), en la producción conjunta de bioetanol de primera y segunda generación en un proceso de sacarificación y fermentación simultaneo SSF, acompañada de productos de alto valor.

1.3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar químicamente el bagazo de caña panelera (*Saccharum officinarum*), para determinar el contenido de carbohidratos estructurales y lignina.
- Establecer el pretratamiento y las condiciones adecuadas para la deslignificación del bagazo de caña panelera (*Saccharum officinarum*).
- Obtener etanol mediante una fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* a partir de azúcares reductores generados en un proceso simultaneo de sacarificación (hidrolisis enzimática) catalizada por la enzima *celulasa* del bagazo de caña pretratado y jugo de caña.
- Evaluar la capacidad de producción de furfural a partir de la fracción líquida del pretratamiento.

1.4 Marco referencial o fundamentos teóricos

1.4.1 Antecedentes

1.4.1.1. Nacionales e Internacionales. A continuación, en la Tabla 1 se muestran los antecedentes en la producción de bioetanol a partir del jugo de caña (1G), en la Tabla 2 a partir de bagazo de caña (2G) y, en la Tabla 3 la producción de bioetanol en un proceso SSF donde la sacarificación y fermentación se realizan simultáneamente adicionando al bagazo pretratado el jugo

de caña o melaza (1G y 2G), adicionalmente se relaciona una compilación de los parámetros clave para su producción, como también tipos y condiciones de pretratamientos y rendimientos obtenidos. Por otro lado, en la Tabla 4 se muestra la producción de furfural a partir del bagazo de caña utilizando un catalizador homogéneo, de igual manera se realiza una compilación de los parámetros clave para su producción y rendimientos obtenidos.

Tabla 1*Producción de bioetanol a partir de jugo de caña (1G)*

°Brix	Azúcares	Nutrientes	Condiciones	Rend. (g/L)	Ref.
18.5	NA	Fosfato de amonio: 3,0 ppm, Sulfato de amonio: 5,5 ppm, Sulfato de Zinc: 3,0 ppm, Sulfato de Manganeso: 1,0 ppm, Sulfato de magnesio: 1,0 ppm	T: 29 °C pH: 4,78 t: 16 h Levadura: <i>S. cerevisiae</i> (1g/L)	58.3 61,66% del teórico	(Barrera y Reyes, 2015)
22	NA	0,05 % (NH ₄) ₂ SO ₄ , 0,05 % KH ₂ PO ₄ y 0,15 % MgSO ₄ ·7H ₂ O	T: 37°C t: 60 h pH: 5,0 Levadura: <i>K. marxianus</i> DMKU 3-1042 4% (p/v)	87 77,5% del teórico	(Limtong et al., 2007)
NA	300 g/L	NA	T: 27°C V: 1,5L t: 30h pH: 4,5 Levadura: Y-904 <i>S. cerevisiae</i> 15,0 % (v/v)	135,0 90% del teórico	(Cruz et al., 2021)
18	NA	0,5 g L ⁻¹ KH ₂ PO ₄ ; 0,5 g L ⁻¹ (NH ₄) ₂ SO ₄ ; 0,5 g L ⁻¹ MgSO ₄ 7H ₂ O	T: 30 °C t: 5 días Levadura: <i>S. cerevisiae</i> : 10 g L ⁻¹ 20 g L ⁻¹ de peptona;	67 72,83% del teórico	(Ramos et al., 2013)
NA	175 g/L	En ausencia de nutrientes añadidos	pH:4,5 T:30°C 120 RPM t: 18h <i>S. cerevisiae</i> libre o inmovilizado en perlas de alginato de calcio	29.66 33,09 % teórico	(Vučurovi ć et al., 2018)

Tabla 2*Producción de bioetanol a partir de bagazo de caña en un proceso SHF (2G)*

Comp. química	Adecuación biomasa	Pretratamiento	Comp. BCP	Sacarificación	Azúcares reductores	Fermentación	Rend. (g/L)	Ref.
C: 33,1%, H: 19,2% L: 29,2%	Secado horno (50 °C - 24 h) Fresado (0,061 - 0,25 mm)	Fisicoquímico: Optimizado por RSM. (0,05M H ₂ SO ₄ - 160 °C - 60 min)	C: 29,4%, H: 0,59% L: 23,5%	Hidrolisis enzimática: Cellic CTec2 (Novozymes) 5% sustrato p/v (25 FPU/g), tampón citrato sódico 50 mM, pH 4,8, ácido sódico al 1%, 150 rpm, 50 °C, 72 h	Rend. glucosa: 96,86%	Precultivo de <i>S. cerevisiae</i> (30°C, 24 h en agar), YPD, 35°C, 150 rpm SSF: pH 4,8, 6,25%. residuo sólido restante	19,9	(Khongc hamnan, 2022)
C: 46,21% H:20,86% Lsoluble: 3,13% Linso:19, 54% Cenizas:1, 19%	Lavado, secado en horno ventilado a 37°C, triturado 3-5 mm	Químico: NaOH 1% (m/m),10% (w/w, base seca), 121°C, 1h	NA	6% (m/m) de materia seca en disolución tampón de citrato de sodio 0,1 M y pH=4,8, 10 FPU/g celulosa y 30 CPU/g celulosa, 48 h a 50°C y 300 rpm,	NA	Pre-inoculo levadura <i>Saccharomyce</i> <i>s cerevisiae</i> bakery, sales y nutrientes (4 g/L de extracto de levadura 2 g/L de (NH ₄) ₂ SO ₄ , 2 g/L de KH ₂ PO ₄ y 0,75 g/L de MgSO ₄ *7	3,01	(Sánchez , 2019)

						H ₂ O, (Wanderley et al., 2013) y se inocularon con 5,5% v/v del pre-inóculo crecido, 30°C y 175 rpm, 24 h, medio a semi-anaeróbica los sólidos se transfirieron a penicilin flasks		
C: 48,7%, H: 21,14% L: 24,81%	Luz solar secado (15 días) Fresado (0,42 mm)	Químico: NaOH (aq, 0,2M), relación L/S 10 mL/g, 2800 RPM, 30 s	C:78,91%, H: 7,13% L: 17,6%	Hidrólisis enzimática: Fracción sólida residual (1g), tampón citrato 0,05 M, pH 4,8, 0,02% azida sódica, 15% CellicHTec2 y 85% Cellic CTec 2 (celulasa 10 FPU/g, β- glucosidasa, 52,21 U/g), relación L-S 10 mL/g,72 h, 150 rpm, 50°C	Rend. glucosa: 60,9%	Precultivo S. cerevisiae: 34 °C, 150 rpm	37	(Bittencourt, 2019)
NA	Secado al sol	Químico: Optimizado por RSM. 0,62 M,	Rend. azúcar	Hidrolisis enzimática: 30 UFC/g sustrato,	NA	P. sanguineus y S. cerevisiae, 2 días.	1,48	(Yoon et al., 2012)

		128 °C, 30 min, L/S (0,1 g/g)	reductor 97,8 %.	relación 2% p/v, tampón citrato 50 Mm, pH 4,8, 50 °C, 48 h				
NA	Humedad: 10%	Biológico y químico: hongo de pudrición blanco 106 UFC/g y nutriente A (3 kg de KH ₂ PO ₄ , 1 kg de MgSO ₄ y 4 kg CH ₃ COOH) 6%, fermentación 4 días a 20 -30°C. Cocinar bagazo al vapor 200- 220 ° C, 3 min, agua de cal 16 % , vapor 1200 ° C, 1-2 h, sólido- líquido de 1:18 (g:L)	NA	Nutriente B (vitamina C y cisteína 2:1, 10 %), celulasa 1 g/L y xilanasas 0,2 g/L, 28-30 °C 30 min	NA	Levadura 106 UFC/L, 30-35 ° C, 24 h, y 5% melaza -caña azúcar	93,60	(Huang et al., 2019)
NA	Mezclar bagazo y cola caña azúcar 6:2, pulverizar, malla 40-80, y triturar polvo	Químico: Mezclar bagazo y cola caña azúcar, sumergir H ₂ SO ₄ 0,1%, s/L 1:10, 170°C, 2-10 min. CaO pH 9, 50 °C, 20- 30 min, filtrar y	NA	pH = 4,8, celulasa y xilanasas 1,5 g/L, 6:3, 30 °C, 50 h	NA	La cepa levadura 2g/L, Pichia stipitis y Cándida utilis 2:1, 35°C, pH=6, 20 h, melaza caña azúcar, mezclar y	22,85	(Zhang, 2016)

		absorber hidrolizado a través Carbón activado, pH 5,5 con H ₂ SO ₄			fermentar proporción 10% vol hidrolizado celulosa		
NA	Mezclar bagazo y cola caña azúcar 6:2, malla 40-80, y triturar polvo	Químico: El bagazo sumergir solución mixta FeCl ₃ y NaOH, remojar 20°C, 20 h; calentar 130°C, 8 h, pH 7, desintegra suspensión fibrosa, refinador	NA	Suspensión fibrosa pretratada y citrato sodio o tampón citrato 1:25, pH 4,8-5,0, agregar fibra. Bacterias mixtas celulasa y xilanasa 1,5 g/L, 30°C, 50-80 h.	NA	Líquido semilla levadura, acuerdo volumen inóculo hidrolizado celulosa caña de azúcar 5-10%, y 30 ° C, 12 h, vol hidrolizado 10 %. La melaza mezcló fermentación proporción 15 %	93,50 (Zhan, 2016)
NA	Triturar bagazo hasta un peso cte, malla 60	Químico: NaOH 2% , 80 °C, 2 h, pH neutro, secar 70 °C peso cte y reservar.	NA	Relación s/L inicial 10% (P/V), celulasa 30FPU/g, tampón ácido acético-acetato sodio, pH 4,8, 50°C, 6% (p/v), enzimólisis 12 h, y enzimólisis 4% (p/v), 24 h	NA	Centrifugar enzimólisis hidrolizado bagazo, solución nutritiva básica ((NH ₄) ₂ SO ₄ 2g, levadura 2g, KH ₂ PO ₄ 5g, MgSO ₄ · 7H ₂ O 0,4g,	91,2 (Pei et al., 2014)

CaCl₂ 0,2g),
Saccharomyces cerevisiae
10% (v/v),
30°C, 12h, y
melaza 5%,
10% y 15% en
3 dispositivos.

Tabla 3

Producción de bioetanol (1G y 2G) en un proceso SSF

Composición química BC	Adecuación biomasa	Pretratamiento	Composición BCP	SSF	Azúcares reductores	Rend (g/L)	Ref.
NA	Pulverizar el bagazo hasta una malla de 40-60.	Químico: NaOH al 2%, s/L 1:20, 80 °C, 2 h, lavar y secar	NA	Relación 24% S/L (18 g bagazo – 6 g melaza – 95 mL agua), levadura: <i>S. cerevisiae</i> 3,3 g/L, enzima: celulasa 15 UFC/g bagazo pretratado, pH: 4,5, 34 °C, 120 RPM, 120 h fermentación.	141 g	53,65 74,57% teórico	(Xie y Fan, 2019)
C:34,15%, H: 29,38% L: 24,80%	Secar aire y triturar, malla 100-200 y almacenar estado seco y sellado	Químico: H ₃ PO ₄ 8%, 121°C, 60 min; S/L 1:10	Lignina: 7,83 %	Relación s/L 1:50 bagazo (g)/ suero (mL), 25 mL tampón ác acético y acetato sodio, pH 4,8. Celulasa CTec2 2G, 30 FPU/g, 50 °C, 200 rpm ,72 h, peptona 20 g/ L, y cepa fermentación Saccharomyces cerevisiae 1445 medio YPD se inserta en caldo fermentación DO600 inicial	14,55 g/L	6,11 82 % del teórico	(Liu et al., 2020)

0,5. Fermentación 30°C y 200 rpm.							
13,5 Fibra 13-15°Brix	Juego de 4 a 6 trajes de fresado, bagazo malla 40-60	Químico: SEM acido 1%	NA	Jugo de caña concentrado y bagazo, 25 g de sacarosa/L, 4 g de glucosa/L y 4 g de fructosa/L, carga enzimática de 2,5% m/m (enzima/bagazo seco de caña), enzimas (celulasas y β-glucosidasas), 8% solidos solubles, 48h, pH 4.8, 37°C, levadura Saccharomices cerevisae y opcionalmente bacterias del tipo Zymomonas mobilis.	NA	12,79 % del teórico	(Queipo et al., 2021)

Tabla 4

Condiciones de producción de furfural a partir de bagazo de caña

Comp.	Cat.	°T	t (min)	Rend. (%mol)	Ref.
NA	1% H ₂ SO ₄	200	45	65	(Moghaddam et al., 2017)
NA	30.5 wt% H ₃ PO ₄	150	5	45,80	(Wang et al., 2018)
NA	H ₂ SO ₄ 0,5 mol/L y FeCl ₃ 0,25 mol/L	171	50	40,17	(Zhang y Chen, 2020)
Humedad: 50% C: 35-50% peso H: 22-23% peso L: 15-22% peso Cen:1,3-1,5% peso	1% m/v H ₂ SO ₄	180	25	3,12	(Morales et al., 2021)

H: 33% C: 34.06% L:29.53%	HCl 1 M y 30g NaCl	NA	60	7,80	(Ameh et al., 2016)
P: 25-27%	10 g NaCl y 100 mL H ₂ SO ₄ diluido	200	40	3,12	(Gebre et al., 2015)
H: 24% C: 40% L: 2%	2 % (H ₂ SO ₄)	180		15,62	(Asif et al., 2024)
C:36% H: 23% L: 24% Cen:4% Extr:6%	0,5 % H ₂ SO ₄ p/p	170	90	69	(Ntimbani et al., 2021)
Humedad 54%	8% H ₂ SO ₄ diluido y Solución NaCl 23 (%) 1 N	165	10	25,73	(Yazdizadeh et al., 2018)
G:25,55% X:4,57% Arab: 2,31% Lig: 8,92% Cen:7,83%	2% w H ₂ SO ₄	140	90	60,43	(Soludongwe, 2020)
C: 36 ± 1,05% H: 29 ± 0,8% L:21±1,16%	2 % p/v H ₂ SO ₄	190	20	62,50	(Negesso, 2022)
NA	1,25% p/p H ₂ SO ₄ /fibra seca	185	40	15	(Mesa et al., 2014)
NA	0,5 % en peso H ₂ SO ₄	170	90	17,87	(Rhulani et al., 2021)

NA	1% H ₂ SO ₄	175-185	25	25,68	(Morales-Zamora et al., 2021)
----	-----------------------------------	---------	----	-------	----------------------------------

1.4.2. Marco teórico

1.4.2.1. Caña panelera. La caña panelera es un cultivo antiguo de gran importancia económica y demanda por los consumidores, originario de Nueva Guinea y extendido hacia el Caribe y Suramérica. Perteneció a la familia Poaceae, género *Saccharum* y especie *S. officinarum* L. La planta está compuesta por tallo, hojas, inflorescencia, raíz y semillas (InfoAgro, 2023). El tallo es crucial ya que almacena sacarosa, siendo subterráneo (rizoma) o aéreo. Alcanzando entre 3 y 6 m de alto y 2 y 5 cm diámetro, con variedades en colores diversos. Requiere temperatura óptima de 26-30°C, precipitación mayor a 1500 mm/año, altitud de 400-1300 m.s.n.m., humedad relativa 80-85%, fotoperiodo de 6-9 h/día, suelo franco o franco arcilloso, drenaje adecuado, pH entre 5,5 y 7,5, topografía plana o semiplana, densidad de siembra de aproximadamente 90.000 tallos/ha (Abonamos, 2023).

1.4.2.2 Biomasa lignocelulósica. La biomasa residual es un recurso renovable que ha ganado interés global debido a su potencial para producir productos energéticos y no energéticos. Está compuesta principalmente por hidratos de carbono (75 %), lignina (20 %) y productos minoritarios (5 %) (Conteratto et al., 2021).

Proviene de residuos agrícolas, forestales, orgánicos sólidos y materiales como papel, madera y celulosa. La producción anual en el mundo de biomasa lignocelulósica es alrededor de 181,500 millones de toneladas, con solo 8,200 millones de toneladas utilizadas en diversas aplicaciones. Se puede convertir en bioenergía a través de procesos termoquímicos (pirólisis, combustión, gasificación, licuefacción) y bioquímicos (tratamiento con microorganismos y enzimas).

Este recurso ha sido exitosamente empleado en la producción de biocombustibles para transporte, tintas, remediación ambiental, aplicaciones médicas y producción más limpia (Mujtaba et al., 2023). Su composición influye en su potencial de conversión y funcionalidad de los productos finales. La biomasa lignocelulósica ofrece oportunidades significativas para la sostenibilidad y diversificación de fuentes de energía y productos.

Celulosa: la celulosa es una molécula fibrosa compuesta por unidades de glucosa unidas por enlaces β 1,4 y organizadas en cadenas paralelas. Es encontrada en la membrana citoplasmática de plantas, y su estructura cristalina en forma de microfibrillas influye en la dirección del crecimiento celular, así como en la forma y tamaño de las células. Actúa como un soporte para las plantas, regulando su crecimiento y protegiendo el contenido celular contra influencias externas. Además, proporciona resistencia y rigidez, contribuyendo a mantener la presión osmótica en la célula (Angellinno et al., 2022).

Hemicelulosa: La hemicelulosa es un componente importante de la pared celular, representando entre el 25% y el 35% de su peso seco. Se trata de un heteropolisacárido compuesto por hexosas (glucosa, galactosa y manosa) y pentosas (xilosa y arabinosa), se organizan en cadenas cortas y ramificada entre 50 y 200 monómeros. La hemicelulosa se encuentra ligada a otros componentes de la membrana citoplasmática, como la celulosa y la lignina, mediante enlaces de hidrógeno y covalentes. Esto se debe a enlaces químicos y a los grupos funcionales que se encuentran unidos a su estructura principal de carbono (Angellinno et al., 2022).

En los procesos de biorrefinerías, se busca descomponer las hemicelulosas con la ayuda de enzimas especializadas. De manera similar a la celulosa, se están investigando y explorando diferentes aplicaciones para obtener productos con mayor valor agregado (Fodil Cherif et al., 2020).

Lignina: polímero complejo tridimensional y amorfo compuesto de alcoholes aromáticos conocidos como monolignoles. Estos se integran a su estructura con forma de fenilpropanoides, como el p-hidroxifenilo (H), guayacol (G) y siringilo (S) (Fodil Cherif et al., 2020).

Además, entre los biopolímeros presentes en las plantas, la lignina ocupa el segundo lugar en abundancia, constituye entre el 20% y el 40% del contenido en árboles, depositándose sobre la membrana citoplasmática en células especializadas (Barros et al., 2015). Los monolignoles, con una estructura química de conformación C6-C3, exhiben diferentes grados de metilación: p-cumaril no es metilado, coniferil es metilado en el carbono 3 y carbono 5 libre para enlaces, y

sinapil presenta metilación en los carbonos 3, 20 y 5. Esto sugiere que lignina es heteropolímero aromático complejo.

1.4.2.3. Bagazo de la caña panelera. El bagazo de caña (BC) es un residuo lignocelulósico obtenido luego de extraer el jugo de la caña de azúcar. y constituye alrededor del 30-40 % en peso de esta, la cantidad de bagazo generado depende de muchos factores: tiempo de cosecha, prácticas agronómicas, condición del suelo, la extensión de las operaciones de trituración y molienda realizadas en la caña de azúcar en la industria azucarera (Bantacut et al., 2018; Guerra et al., 2020). El bagazo se compone de cuatro partes distintas: la fibra o bagazo (que representa aproximadamente el 45%), los sólidos no solubles (aproximadamente el 2–3%), los sólidos solubles (también alrededor del 2–3%) y el agua (entre el 49% y el 51%). La fracción denominada fibra comprende toda la parte sólida orgánica que no se disuelve en agua (Aguilar, 2011).

1.4.2.4. Pretratamientos lignocelulósicos. Su objetivo más importante es alcanzar la despolimerización de polisacáridos llamados celulosa y hemicelulosa, así como de polímeros como lignina, con el fin de producir monosacáridos, incluyendo xilosa, arabinosa, galactosa, manosa y, principalmente, glucosa, que es la más abundante en términos de rendimiento (Flores et al., 2008). Se puede generar utilizando métodos físicos, químicos, físico-químicos, enzimáticos, biológicos y novedosos. A continuación, en la Tabla 5, se presenta el tipo de pretratamiento con el procedimiento usado y su detalle.

Tabla 5

Tipos de pretratamientos de biomasa, el procedimiento que usa y su detalle.

Tipo	Procedimiento	Detalle
Físicos	Trituración mecánica	Los materiales sólidos grandes se pueden pulverizar en una granularidad adecuada para aumentar el área de superficie específica y reducir la cristalinidad de la celulosa. Reducción de partículas: 25 mm

	Ultrasónico		El material de la superficie es impactado y cortado por la acción mecánica y la acción de cavitación producida por el medio (generalmente acuoso) en un entorno ultrasónico. Frecuencia: 40 kHz, potencia: 360 W, T: 60 °C, t: 0,5 h
	Microondas		Las moléculas del sustrato cambian de orientación repetidamente, lo que potencia la colisión entre las moléculas de los polímeros (celulosa, hemicelulosas y lignina) a degradar. Frecuencia de 300 MHz - 300 GHz, potencias (10.6, 8.5, 6.4, 4.3 y 2.1 W/g), t: 30 min T: 120 °C
Químicos	Ácido	H ₂ SO ₄ concentrado	Concentración (> 10% (p/V) T: 180°C, t: 3 min
		H ₂ SO ₄ diluido	Concentración (0,1%-1,5% (p/V)) T: 120-200°C, t: 10 min
		CH ₃ COOH	Concentración 6,5 %, T: 170°C, t: 27 min
		H ₃ PO ₄	Concentración 1,5 %, T: 140°C, t: 60 min
	Alcalino	NaOH	Concentración (0,5 %, 1,0 %, 1,5 %, 2,0 % (p/p)), T: 50-70°C, t: 45 min
NH ₃		Concentración (0.4 g g ⁻¹ carga de agua, 5.0 g g ⁻¹ amoníaco), T:130°C, t: 17,5 min	
Físico Químico	Explosión con vapor	Vapor de agua saturada	T:160-260°C, P: 0,6-4,83 Mpa, t: 10-600 s
	Explosión de fibra de amoníaco	(AFEX)	T: 90-100°C, t: 20-30 min, 1-2 kg/1 kg de dosificación sólida de amoníaco
	Hidrotérmico	Agua caliente	T: 120-260°C, t: 10 min

Enzimáticos	Celulasas (CTec2) y xilanasas (HTec2)	2 g de sustrato en 100 mL de tampón sódico citratado (100 mM, pH 4,8). La sacarificación enzimática se realizó añadiendo una mezcla de celulasas (CTec2) 8 y xilanasas (HTec2) a 50°C. La dosificación de 20 FPU de celulasas y 40 UI de 9 xilanasas por gramo de sustrato
	CO ₂ supercrítico	scCO ₂ T: 60°C, P: 20 MPa; t: 36 h
Novedosos	Líquido iónico	[C4mim] [OAC] Concentración de sales metálicas (1-5%, w/v), T: 100°C, t: 6 h
	Disolvente eutéctico profundo	Urea (donante de enlaces de hidrógeno) y el cloruro de colina (ChCl aceptor de enlaces de hidrógeno) DES (solvente eutéctico); DES 10:1, T: 110°C, t: 6 h
	Biológicos	Organosolv P: 250 - 350 psi T: 180-200 °C

Nota: La Tabla 6, fue modificada tomando información de (Huang et al., 2021) y (Meenakshisundaram et al., 2021).

Los pretratamientos alcalinos de biomasa lignocelulósica emplean usualmente hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH), hidróxido de calcio Ca(OH)₂ e hidróxido de amonio (NH₄OH). Estos procesos conducen a la deslignificación de lignina y hemicelulosa, así como a de-esterificación de los enlaces éster intermoleculares. Esto modifica el grado de polimerización (DP) para cada componente, aumentando porosidad, área superficial y cristalinidad de lignocelulosa. La cristalinidad aumenta al remover las regiones amorfas de la hemicelulosa y la lignina, sin afectar las fibras de celulosa. Estos pretratamientos pueden realizarse a temperatura ambiente y presión atmosférica, con tiempos de reacción que varían de segundos a días. Una ventaja relevante es que

generan una menor degradación del polisacárido comparado con pretratamientos ácidos (Kim et al., 2016a).

Según (Ramírez et al., 2013; Guilherme et al., 2015), el tratamiento alcalino parece ser el enfoque más efectivo para provocar rupturas de enlaces éster y glucósidos entre la lignina y los polisacáridos, lo que conduce a cambios estructurales en la lignina, la expansión y descristalización de la celulosa, así como la disolución de las hemicelulosas. Esto resulta en un incremento en la generación de azúcares fermentables tras la hidrólisis, un aumento en la superficie accesible y una reducida formación de compuestos nocivos (Kumar y Sharma, 2017).

1.4.2.5. Hidrólisis enzimática. Después del pretratamiento, la siguiente fase involucra la despolimerización de polisacáridos (celulosa y hemicelulosa) de la biomasa mediante diversas enzimas como celulasas y xilanasas. Las celulasas operan conjuntamente: las endo- β -(1,4)-glucanasas descomponen áreas amorfas de celulosa, las celobiohidrolasas fragmentan los extremos no reductores liberando celobiosa, glucosa y oligosacáridos, y las β -(1,4)-glucosidasas convierten celobiosa y otros oligómeros en glucosa, produciendo un efecto sinérgico entre estas enzimas, ya que las β -(1,4)-glucosidasas degradan la celobiosa, que inhibe las endo- β -(1,4)-glucanasas. (García y Martínez, 2012).

1.4.2.6. Fermentación. Una vez completada la hidrólisis enzimática o química, los azúcares fermentables se convierten en etanol efecto de los microorganismos (García y Martínez, 2012). Aunque la transformación teórica de glucosa y xilosa es elevada, en la práctica es difícil alcanzarla debido a que las levaduras desvían energía a su metabolismo y crecimiento. Además, los microorganismos deben tolerar compuestos tóxicos del pretratamiento (R.C. Saxena, D.K. Adhikari, 2009). La fermentación de xilosa tiene limitaciones, debido a que ciertas levaduras pueden convertir a esta en etanol y no toleran altas concentraciones de etanol, inhibidores ni pH extremos (R.C. Saxena D.K. Adhikari, 2009). El residuo de la fermentación puede utilizarse para la producción de metano por medio de biodegradación anaerobia, actuando como sustrato para los microorganismos que lo generan (Angelidaki et al., 2009).

1.4.2.7. Saccharomyces cerevisiae. *Saccharomyces cerevisiae* hacer parte de las levaduras unicelulares, es ampliamente usada en fermentación alcohólica industrial para la producción de etanol 1G (Sánchez, 2016). A pesar de su capacidad para tolerar productos tóxicos, no puede fermentar azúcares pentosas (xilosa y otras) (R.C. Saxena, D.K. Adhikari, 2009).

Esta levadura transforma glucosa en etanol por medio de glicólisis, generando ATP y NADH (fuentes de energía). En la fermentación alcohólica, el piruvato se convierte en acetaldehído y luego en etanol por enzimas específicas. *Saccharomyces cerevisiae* se emplea en la producción de pan, vino y cerveza. Su versatilidad y eficiencia en la producción de etanol lo convierten en un microorganismo clave en la industria alimentaria y de biocombustibles.

1.4.2.8 Bioetanol. Ampliamente usado globalmente como biocombustible en la industria de transportes. Los biocombustibles derivados de cultivos (alimentos) son llamados de primera generación (1G) presentan limitaciones de disponibilidad y compiten con la alimentación. Para superar esto, se han desarrollado tecnologías que permiten obtener biocombustibles de segunda generación (2G) por medio de residuos lignocelulósicos no alimentarios, como residuos agrícolas y agroindustriales (Sánchez, 2016).

1.4.2.8.1 Bioetanol de primera generación. se obtiene desde alimentos, lo cual presenta desventajas éticas por desviar alimentos para producir combustible, alta demanda de suelo cultivable y reducción de la biodiversidad debido a la expansión de plantaciones, con el dilema ético-moral sobre el uso de cultivos para alimentos o combustible (Naik, et al., 2010).

Bioetanol a partir de fuente de azúcar. aquí está el resumen del procesamiento para producción de etanol a partir de fuentes de azúcar: Aproximadamente 40% de etanol mundial se obtiene de fuentes con alto contenido de azúcar, siendo Brasil el principal productor utilizando caña de azúcar. El proceso general involucra: (I) Extracción del jugo azucarado de las plantas mediante trituración. (II) Preparación del mosto concentrando la solución de azúcar, agregando nutrientes y esterilizando. (III) Fermentación del mosto con levaduras (IV) Destilación y deshidratación para obtener etanol anhidro (Dias et al., 2015).

Bioetanol a partir de fuentes de almidón: en la actualidad, alrededor del 60% del bioetanol se produce a partir de fuentes ricas en almidón, principalmente maíz. Este proceso es más rentable económicamente debido a los subproductos obtenidos. Los pasos clave son: (I) Trituración en seco o en húmedo de los granos/tubérculos (II) Licuefacción de la suspensión con la enzima alfa-amilasa (III) Sacarificación con la enzima glucoamilasa para obtener azúcares fermentables (IV) Fermentación de los azúcares con levaduras (V) Destilación y deshidratación para obtener etanol anhidro (Mohanty y Swain, 2019).

1.4.2.8.2. Bioetanol de segunda generación. es diferenciado del 1G por utilizar como fuente a los residuos agrícolas y no cultivos alimentarios. Esto permite valorizar desechos de cultivos existentes sin requerir nuevas áreas de cultivo. Sin embargo, al tratarse de un proceso más complejo que con las fuentes convencionales, la producción de biocombustibles 2G o de segunda generación conlleva mayores costos (Aditiya et al., 2016).

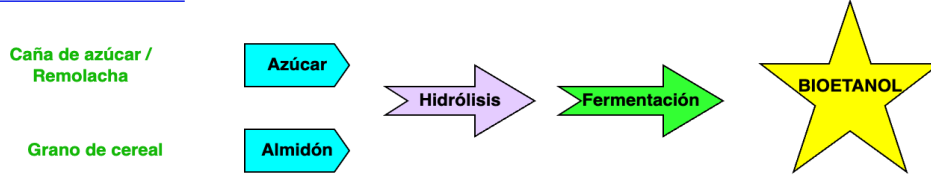
Bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica: La biomasa lignocelulósica, compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina, emerge como una fuente prometedora y versátil en la producción de bioetanol 2G. No obstante, sus variaciones físico-químicas dificultan la estandarización de procesos. La producción de etanol proveniente de biomasa involucra: (I) Pretratamiento físico, químico o biológico con el fin de descomponer la composición lignocelulósica (II) Sacarificación enzimática de celulosa y hemicelulosa con el fin de liberar azúcares fermentables (III) Fermentación microbiana de azúcares (IV) Destilación y deshidratación para obtener etanol anhidro (Adekunle et al., 2016).

En la Figura 1 se puede evidenciar el resumen general de producción de etanol de 1G y 2G a partir de las diferentes materias primas (García y Martínez, 2012).

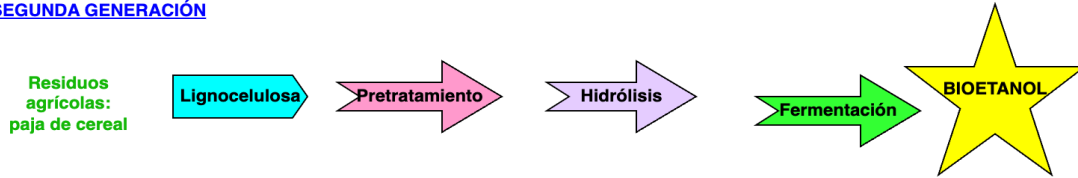
Figura 1

Esquema de producción de etanol de 1G y 2G a partir de las diferentes materias primas

PRIMERA GENERACIÓN



SEGUNDA GENERACIÓN



Nota: tomada y modificada de García y Martínez, 2012. Producción integrada de etanol y metano a partir de bagazo de caña de azúcar pretratado mediante procesos térmicos.

1.4.2.9. Enfoques tecnológicos para la producción de bioetanol. La industria del etanol busca optimizar la producción de bioetanol 2G proveniente de biomasa lignocelulósica, integrando las fases de pretratamiento, hidrólisis y fermentación para incrementar la productividad, reducir tiempos y costos, haciéndolo más viable económicamente que los procesos convencionales de primera generación (1G).

Específicamente, una de las mejoras fundamentales para el bioetanol lignocelulósico consiste en simplificar los pasos del proceso (procesos integrados), lo que conlleva una reducción en el tiempo y costos tanto capitales como operacionales. Dichos procedimientos comprenden: SHF (sacarificación y fermentación por separado), SSF (sacarificación y fermentación simultánea), SSCF (sacarificación y co-fermentación simultánea), CBP (bioproceso consolidado) y SSFF (sacarificación, filtración y fermentación simultánea) (Portero, 2019). Estos procesos presentan ventajas y limitaciones, las cuales se encuentran resumidas en la Tabla 6.

Tabla 6

Ventajas y desventajas presentes en los sistemas combinados de producción de bioetanol: SHF, SSF, SSCF y CBP.

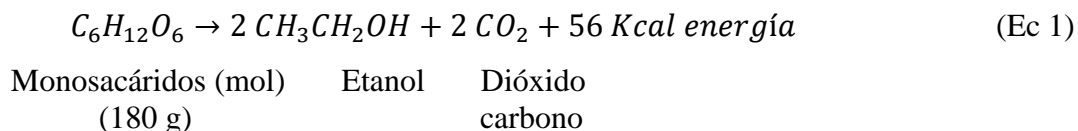
Proceso	Ventajas	Desventajas	Referencia
---------	----------	-------------	------------

SHF	Realizados separadamente a temperaturas óptimas	Alto costo y tiempo Enzimas son inhibidas por producto (glucosa)	(Alfani et al., 2000)
SSF	Realizadas simultáneamente, disminuyendo tiempo de producción, riesgo de contaminación y costos de enfriamiento, no se requiere un enfriador para bajar temperatura del licor dulce para fermentación	Diferentes temperaturas óptimas de SF Las celulasas pueden afectar el crecimiento celular Dificultad de reutilizar las levaduras Concentración de etanol >0.2 M, afecta la acción de las exoglucanasas en la celulosa	(Olofsson et al., 2008)
SSCF	Completa utilización del sustrato (glucosa y xilosa) Reducción en el costo del capital Continua remoción del producto final de sacarificación (evita la inhibición por retroalimentación)	Alta afinidad de glucosa para ingreso a célula de levadura	(Bondesson y Galbe, 2016)
CBP	Reducción en costo del capital Utilización de un solo reactor para tres pasos (producción enzimas, sacarificación y fermentación)	Elevada carga de sólidos afecta procesos operativos Complejo desarrollo microorganismo efectivo para producción de enzimas y fermentación	(Shahab et al., 2018)

Simplificación del
proceso

Nota: tomada de Portero, 2019. Etanol celulósico: desarrollo de una tecnología óptima para la producción semi-continua.

1.4.2.10. Rendimiento ideal (Gay-Lussac). De la ecuación estequiométrica de la fermentación, según Gay-Lussac se establece:



180 g de Glucosa → 92 g Etanol

Por factor de conversión estequiométrico, se calcula los gramos de etanol teóricos según la cantidad de celulosa entrante.

X g Glucosa de la materia prima → ¿cuánto etanol produce?

Con 100 g glucosa genera, a través del proceso de fermentación, 51,1 g de etanol. Esta cantidad de etanol, a una temperatura de 15 °C y considerando su densidad de 0,7943 g/mL, equivale a un volumen de 64,34 ml.

Cuando una cantidad equivalente a un mol de glucosa (180) se transforma en etanol y CO₂ mediante oxidación, se genera una energía total de aproximadamente 56 Kcal. De esta cantidad, alrededor de 40 Kcal se disipan en forma de calor, mientras que las restantes 16 Kcal se almacenan como energía en forma de ATP.

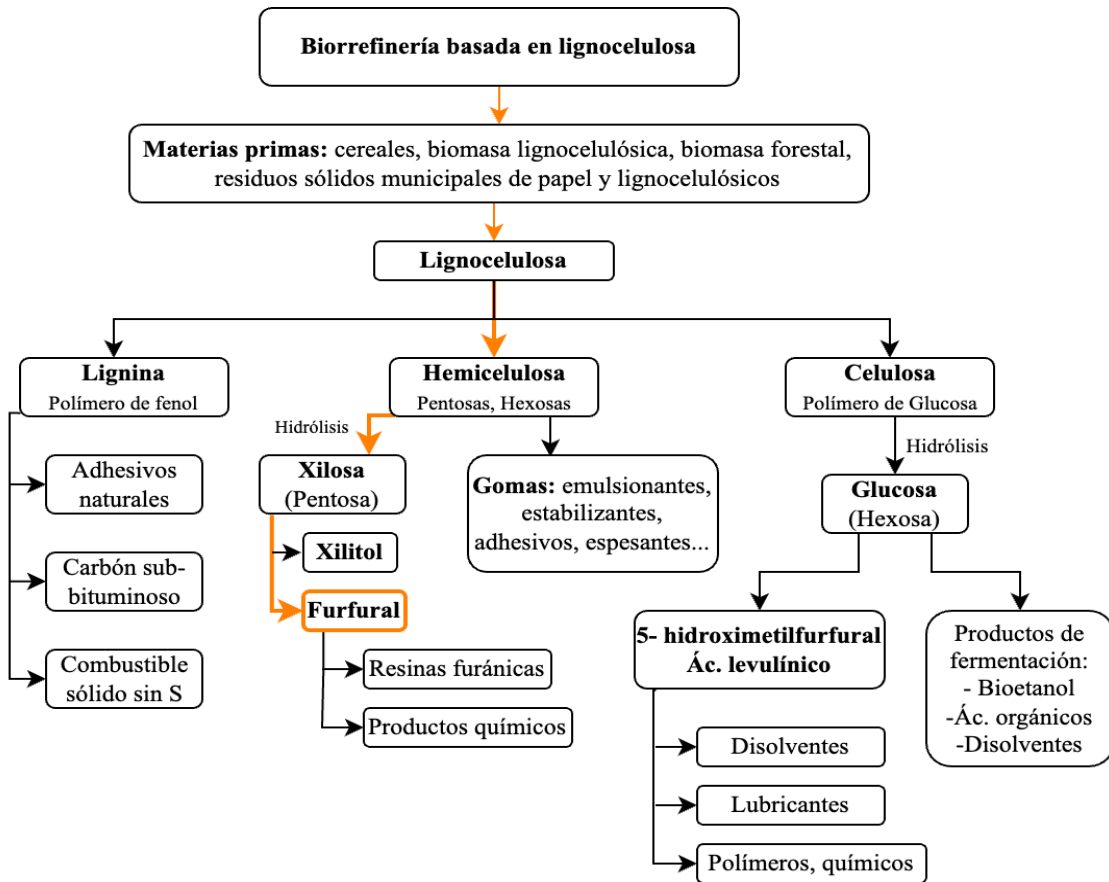
1.4.2.11. Furfural. El furfural (2-furaldehído) cuya fórmula molecular es (C₅H₄O₂) es una sustancia química orgánica utilizada como reactivo inicial a escala industrial de múltiples compuestos químicos, comúnmente por medio de la síntesis del alcohol furfurílico. Bajo condiciones normales de temperatura, el furfural se presenta en estado líquido que hierve a 161.7 °C y es soluble en muchos disolventes, con la excepción de los compuestos alifáticos saturados.

Cuando se destila recientemente, es incoloro y estable. Además, se utiliza como solvente con capacidad selectiva aplicado en depuración de lubricantes, diésel y aceites de naturaleza vegetal.

El furfural tiene numerosos usos adicionales, con propiedades que permiten su empleo como antifúngico, antinematodos, adhesivo, aromatizante y precursor químico de una amplia variedad de productos químicos. De igual forma se emplea extensamente en la fabricación de resinas, estas presentan propiedades resistentes frente a corrosión, térmicas y físicas (Campos, 2015). Tal como se observa en la Figura 2 el furfural se puede producir paralelamente al bioetanol puesto que este deriva de las hemicelulosas y el bioetanol de celulosas.

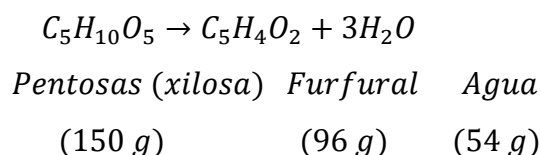
Figura 2

Productos químicos de biorrefinería que transforman la lignocelulosa



Nota: tomado de Kamm et al., 2006. Productos químicos de biorrefinería que transforman la lignocelulosa.

1.4.2.12. Rendimiento ideal de furfural. De la ecuación estequiométrica para la producción de furfural se establece:



(Ec 2)

150 g de Pentosas \rightarrow 96 g furfural

Por factor de conversión estequiométrico, se calcula los gramos de etanol teóricos según la cantidad de pentosas entrante.

1.4.3. Marco legal

Colombia

Con base en la Federación Nacional de Biocombustibles en Colombia para el año 2021, Vargas et al., 2021 muestra la Normatividad biocombustibles caso: etanol.

Tabla 7

Normatividad biocombustibles caso: etanol para Colombia

Tipo	Número	Año	Contenido
Resolución	40294	2022	Se acordó un aumento gradual hasta llegar al nivel E10, que entró en vigencia en enero de 2022. Después, la mezcla se redujo a E4 a partir del segundo semestre del año.
Resolución	40185	2018 (Feb.27)	Se establece el porcentaje de mezcla de alcohol carburante en la gasolina motor corriente y extra a nivel nacional, conocido como E10.

Resolución	1962	2017 (Sep.25)	Se emite una regulación sobre el límite del índice de emisiones de gases de efecto invernadero para el etanol anhidro utilizado como combustible desnaturalizado, además de otras medidas que se aplicarán.
Resolución	40626	2017 (Jul.04)	Se aprueba la mezcla de alcohol carburante con gasolina motor corriente en una proporción de 8 partes de alcohol por cada 100 partes de gasolina, la cual será implementada a nivel nacional.
Resolución	40434	2017 (May.18)	Se decreta la suspensión de la combinación de alcohol carburante y gasolina motor corriente en determinadas áreas del país.
Resolución	789	2016 (May.20)	Se realizan cambios en la Resolución 898 de 1995, específicamente en lo referente a los estándares y criterios de calidad para el etanol anhidro utilizado como componente oxigenante de gasolinas, además de introducir otras disposiciones pertinentes.
Resolución	41072	2015 (Oct.01)	Se determina el nivel de combinación de alcohol carburante adecuado para la región Suroccidental del país, destinado al uso en vehículos de motor.
Resolución	40565	2015 (May.15)	Se establece un método para calcular la escasez de alcohol carburante en la oferta nacional.
Ley	1715	2014 (May.13)	Se establecen normativas para la incorporación de fuentes de energía renovable no tradicionales en el Sistema Energético Nacional.
Resolución	90454	2014 (Abr. 29)	Se realiza una modificación a la Resolución 180687 de 2003, permitiendo la exportación de alcoholes carburantes con la condición de asegurar el suministro nacional y autorizando la importación en caso de escasez en la oferta doméstica.

Resolución	90932	2013 (Oct.31)	Se determina el nivel de combinación de alcohol carburante con las gasolinas en ciertas instalaciones de distribución mayorista, siendo del 10%.
Decreto	4892	2011 (Dic.23)	Se emiten normativas referentes al empleo de alcoholes carburantes y biocombustibles en vehículos de motor.
Resolución	181555	2010 (Ago.31)	Se realiza una modificación a la Resolución 8 2438 del 23 de diciembre de 1998 y se introducen disposiciones referentes a la configuración de los precios de la gasolina motor corriente y la gasolina motor corriente oxigenada.
Decreto	1135	2009 (Mar.31)	Se realiza una modificación al Decreto 2629 de 2007, concerniente al empleo de alcoholes carburantes en el país y a las regulaciones aplicables a los vehículos de motor que empleen gasolina como combustible.
Conpes	3510	2008 (Mar.31)	Directrices de política para fomentar la producción sustentable de biocombustibles en Colombia.
Resolución	2200	2005 (Dic.29)	Se realiza una modificación parcial a la Resolución 1565 del 27 de diciembre de 2004.
Resolución	181069	2005 (Ago.18)	Se efectúa una modificación a la Resolución 18 0687 del 17 de junio de 2003 y se introducen nuevas disposiciones.
Resolución	1565	2004 (Dic.27)	Se lleva a cabo una modificación parcial a la Resolución 898 del 23 de agosto de 1995, la cual establece los estándares ambientales de calidad para los combustibles líquidos y sólidos empleados en hornos, calderas comerciales e industriales, así como en motores de combustión interna.

Resolución	180687	2003 (Jun.17)	Se emite la normativa técnica contemplada en la Ley 693 de 2001, referente a la fabricación, almacenamiento, distribución y sitios de mezcla de alcoholes carburantes, así como su utilización en los combustibles tanto nacionales como importados.
Ley	788	2002 (Dic.27)	Se establecen regulaciones en los ámbitos tributario y penal a nivel nacional y local, además de introducir otras medidas legislativas.

1.5. Metodología

A continuación, en la Figura 3 se describe el proceso para la obtención de bioetanol y evaluación de la producción de furfural a partir del bagazo de caña pretratado y jugo de caña mediante un proceso SSF.

Figura 3

Producción bioetanol y furfural a partir del del bagazo de caña pretratado y jugo de caña mediante SSF

Producción de bioetanol 1G y 2G a partir de la caña panelera

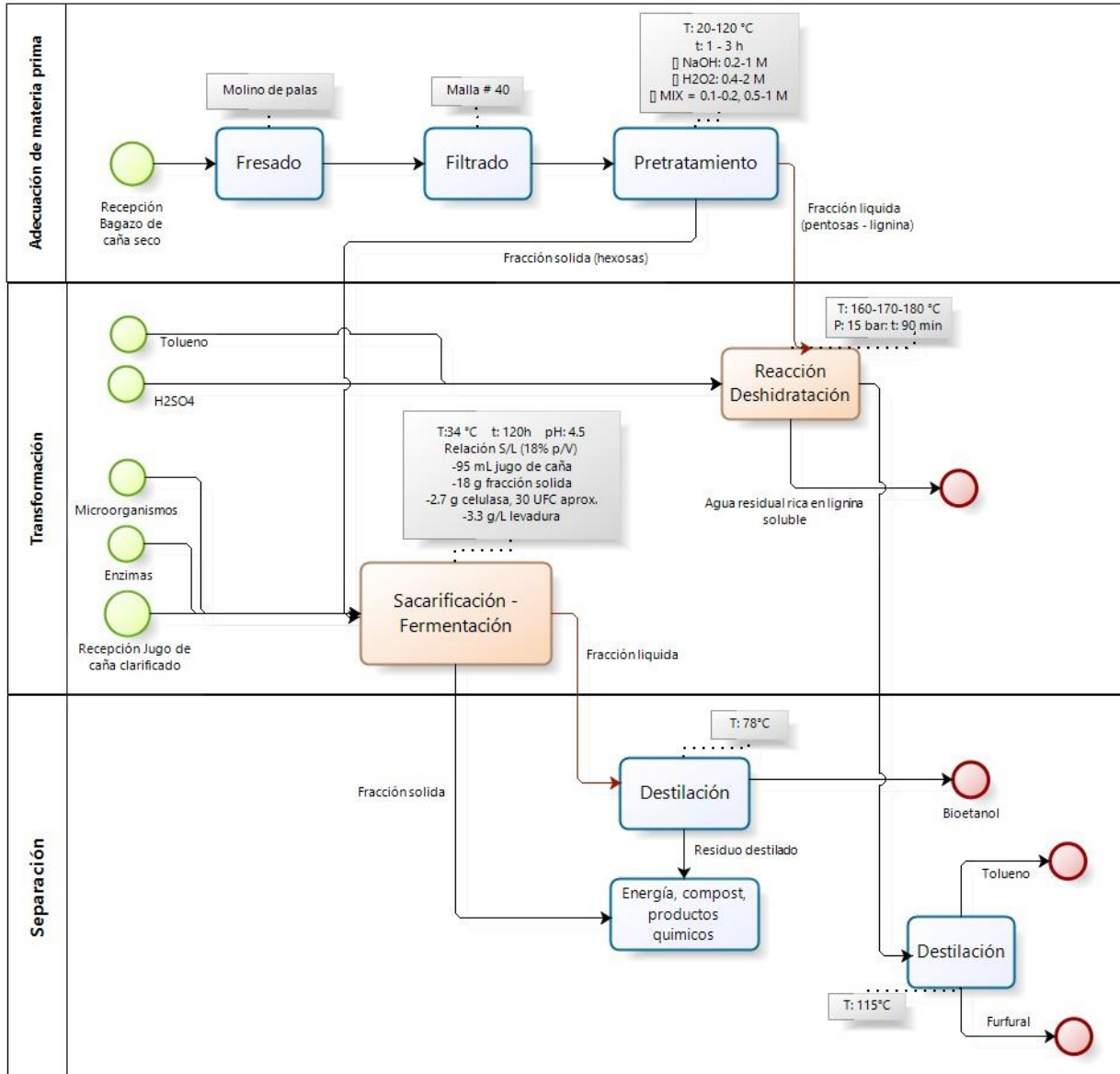
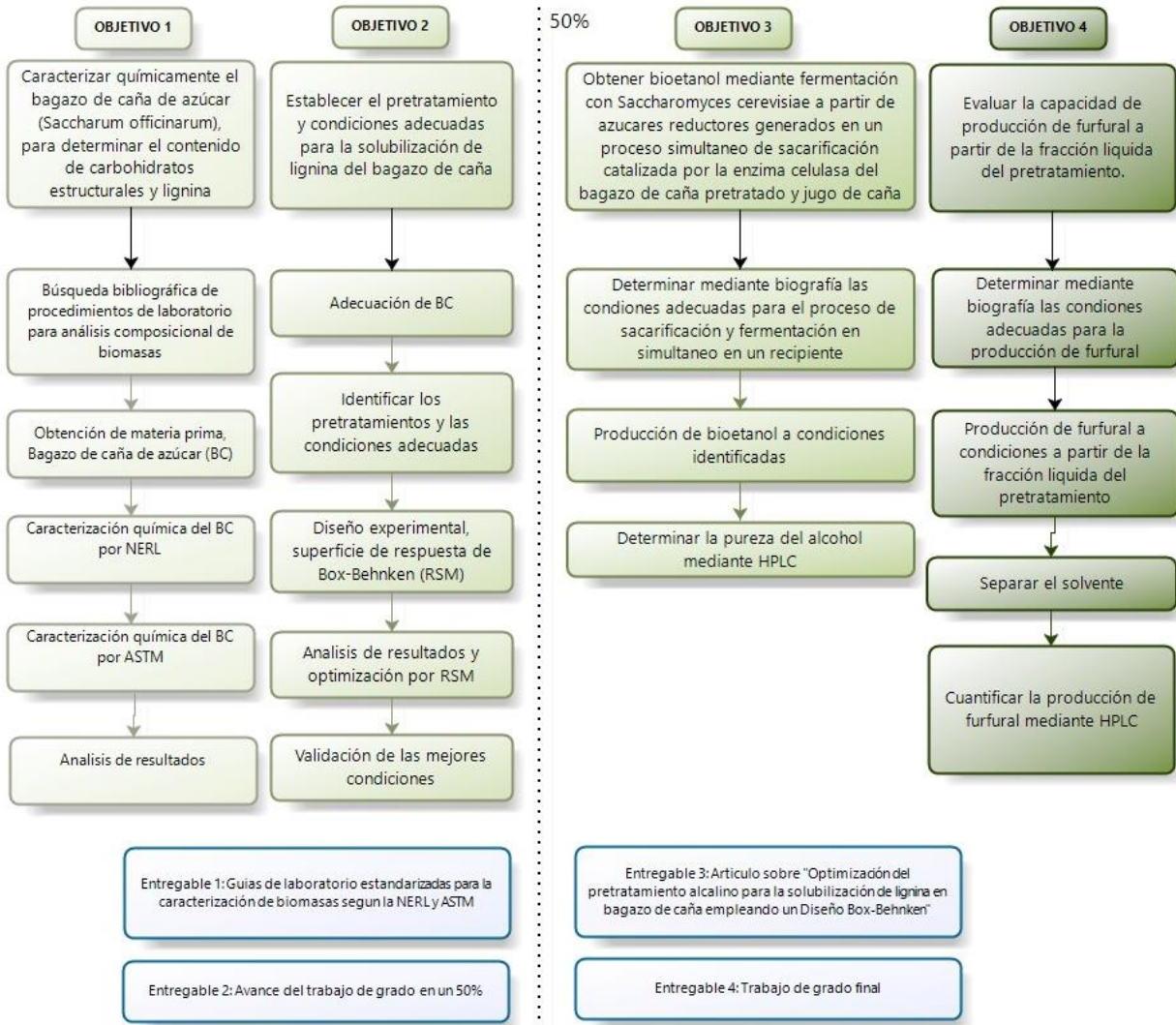


Figura 4

Metodología por llevar a cabo para el cumplimiento de los objetivos



1.5.1 Objetivo 1 Caracterizar químicamente el bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) para determinar el contenido de carbohidratos estructurales y lignina

Entre los métodos utilizados para analizar los azúcares en la biomasa, la cuantificación se realiza mediante métodos como la cromatografía, que son más precisos, pero con costos muy elevados y complejos, de modo que todavía se utilizan procedimientos tradicionales como Weender y Van Soest para analizar estructuras de carbohidratos y lignina, como métodos potenciométricos,

colorimétricos y gravimétricos como alternativas atractivas entre otras pruebas (Epinosa-Negrin et al., 2022).

Para la cuantificación de los carbohidratos estructurales y lignina se implementará una técnica de cromatografía propuesta por el laboratorio nacional de energías renovables de Estados Unidos (NREL) y otra gravimétrica propuesta por la Sociedad Estadounidense para Pruebas y Materiales (ASTM).

Técnica por cromatografía (NREL).

Se hace uso de las guías propuestas por (NREL). La primera guía NREL/TP-510-42620 para preparar una muestra (Ver Anexos 1), la segunda guía NREL/TP-510-4269 para determinar de Extractivos en Biomasa (Ver Anexos 2), la tercera guía para determinar las cenizas en la biomasa libre de extractivos NREL/TP 510-42622 (Ver Anexos 3), y la cuarta guía NREL/TP-510-42618 para determinar los carbohidratos estructurales y lignina en la biomasa libre de extraíbles (Ver Anexos 4).

Técnica gravimétrica (ASTM).

Para cuantificar el contenido porcentual de holocelulosa se utiliza el método de cloración basándose en la norma ASTM D 1104. Para determinar el porcentaje de celulosa y hemicelulosa se hace uso de la norma ASTM 1695-77, para determinar α -, β - y γ -celulosa. La hemicelulosa se determinó con la diferencia entre cantidad inicial de holocelulosa libre de extractivos y cantidad de celulosa determinada aplicando la metodología anteriormente descrita.

1.5.2 Objetivo 2 Establecer el pretratamiento y las condiciones adecuadas para la deslignificación del bagazo de caña (Saccharum officinarum)

Con el fin de determinar las condiciones óptimas en la solubilización de lignina se plantean tres diseños experimentales; el primero con NaOH, el segundo con H₂O₂ y el tercero una mezcla de ellos. Utilizando la metodología de superficie de respuesta con un diseño tipo Box-Behnken

optimizado (MSR), con un modelo de ajuste de polinomio de segundo orden, en donde los factores son: Temperatura (A), tiempo (B), concentración (C). Las variables de respuesta son lignina solubilizada por gramo de biomasa (gLS) y costo del reactivo en pesos colombianos por gramo de lignina solubilizada (COP/gLS). El análisis estadístico se realiza utilizando el software Design Expert (versión de prueba 12.0, Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, EE. UU.).

Se identificaron tres variables como los factores del proceso tras el pretratamiento alcalino del bagazo de caña de azúcar: temperatura de reacción, tiempo de residencia y concentración del álcali, con tres niveles de cada factor (-1, 0, 1). Por lo tanto, para estimar los coeficientes del modelo, se realizaron 12 experimentos con tres repeticiones en el punto central para un total de 15 experimentos por cada diseño experimental.

Para investigar el efecto de interacción y las condiciones óptimas de los pretratamientos se tiene a la ecuación 3, siendo esta la ecuación de regresión de superficie de respuesta ajustada a un polinomio de segundo orden

$$Y_1 = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \beta_{12}X_1X_2 + \beta_{13}X_1X_3 + \beta_{23}X_2X_3 + \beta_{11}X_1^2 + \beta_{22}X_2^2 + \beta_{33}X_3^2 \quad \text{ec (3)}$$

Donde Y_1 es la respuesta predicha; X_1 , X_2 y X_3 son Los factores; β_0 es una constante; β_1 , β_2 y β_3 son los términos del coeficiente lineal; β_{12} , β_{13} y β_{23} son los términos del coeficiente de interacción; y β_{11} , β_{22} y β_{33} son los términos del coeficiente cuadrático.

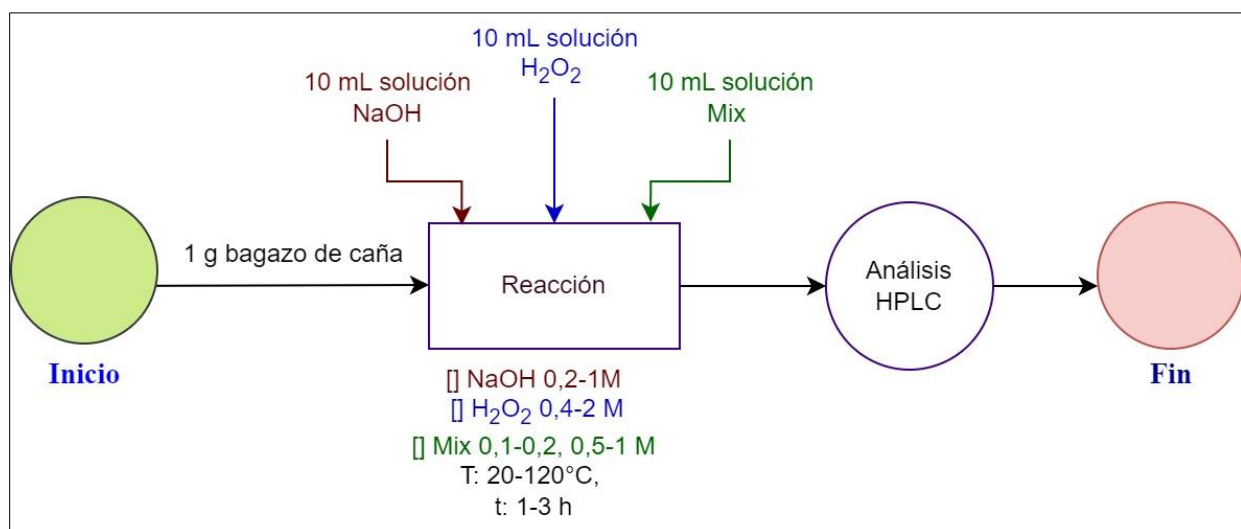
La solubilidad de la lignina se determinará con la diferencia de pesos entre la lignina insoluble antes de pretratamiento y la lignina insoluble después de pretratamiento.

Se efectúa un estudio ANOVA para determinar la relevancia estadística de cada uno de los efectos y sus interrelaciones. Los valores de P-value fueron utilizados con el objetivo de reconocer los factores que ejercen un impacto estadísticamente relevante sobre la variable de respuesta en específico.

Para los pretratamientos se hizo uso de una relación 1:10 S/L, tomando 1g de bagazo y 10 mL de solución de reactivo. En la Figura 5 se indican las condiciones de los experimentos.

Figura 5

Condiciones de los pretratamientos



1.5.3 Objetivo 3 Obtener bioetanol mediante una fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* a partir de azúcares reductores generados en un proceso simultáneo de sacarificación (hidrólisis enzimática) catalizada por la enzima celulasa del bagazo de caña pretratado y jugo de caña.

La producción de bioetanol a partir de caña panelera, mediante la integración de tecnologías de primera generación (1G) con segunda generación (2G), presenta las ventajas de reducción del consumo de energía y agua. Más específicamente, el jugo proveniente del proceso de molienda (1G) se utiliza para dilución, en la hidrólisis enzimática, en producción de etanol celulósico (2G). Por tanto, tras el procesamiento, el bagazo, se utiliza para formar un caldo secundario, utilizado para ajustar la consistencia del medio de reacción e integrar estas corrientes. Este hecho reduce el consumo de energía en los evaporadores y elimina la necesidad de agregar agua para ajustar la consistencia del medio, lo que promueve la hidrólisis enzimática en condiciones ideales en la unidad de segunda generación.

Para ello, se lava con agua caliente el bagazo pretratado buscando disminuir al máximo los inhibidores en la muestra que podrían interferir con la actividad enzimática, después de proceder a un secado de 6 horas a 60°C y un almacenamiento en desecador por 1 hora. Se carga el autoclave con una relación sólido: líquido del 18% p/v. Se toma 18 g (en base seca) del residuo de pretratamiento y se mezclan en 95 mL de jugo de caña, se ajusta el pH a 4,5 con H₂SO₄, y se tratan a 121°C durante 20 minutos. Se agregan 2,4 mg de urea y 0,01mg de cloruro férrico y sulfato de magnesio por cada gramo de azúcar en la muestra. Paralelamente se prepara la solución de activación de levadura: pesando 2 g de glucosa en 100 mL de agua desionizada, añadir 6,6 g de levadura en polvo y activar a 160 rpm, 34 °C por 30 minutos.

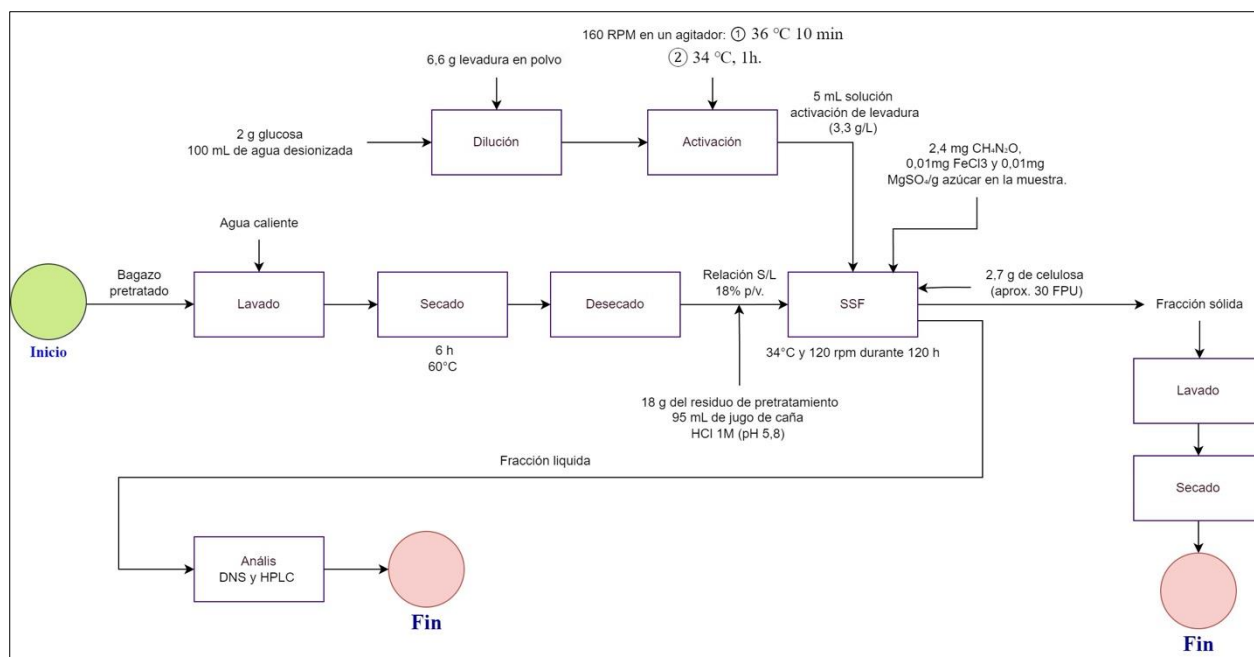
Luego añadir 5 mL de la solución de activación de levadura (0,33 g) con 2,7 g de celulasa (aprox. 30 FPU, (15 UFC/g BCP)) y reaccionan a 34°C, 120 rpm durante 132 h con mediciones cada 6 horas.

Se realiza el mismo proceso descrito anteriormente eliminando del sistema el bagazo de caña pretratado y la enzima celulasa, con la finalidad de comparar el efecto en la incorporación del bagazo. De igual manera se adicionan al medio nutrientes los cuales favorecen el consumo de glucosa por el microorganismo (por cada gr de azúcar en la muestra, se encuentran 2,4 mg de urea, así como 0,01 mg de cloruro férrico y sulfato de magnesio) (PINILLA, 2019)

La cuantificación de bioetanol y azúcares se realizará mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), detector de índice de refracción (RI) y una columna (Hi-Plex Ca-300 x7,7 mm, temperatura del detector RI y la columna 60°C, fase móvil agua 100%, a un flujo de 0,6 mL/min (Moncada et al., 2016). Tal y como se muestra en la Figura 6.

Figura 6

*Obtención de bioetanol mediante una fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* a partir de azúcares reductores generados en un proceso simultáneo de sacarificación (hidrólisis enzimática) catalizada por la enzima celulasa del bagazo de caña pretratado y jugo de caña*



1.5.4 Objetivo 4 *Evaluar la capacidad de producción de furfural a partir de la fracción líquida del pretratamiento.*

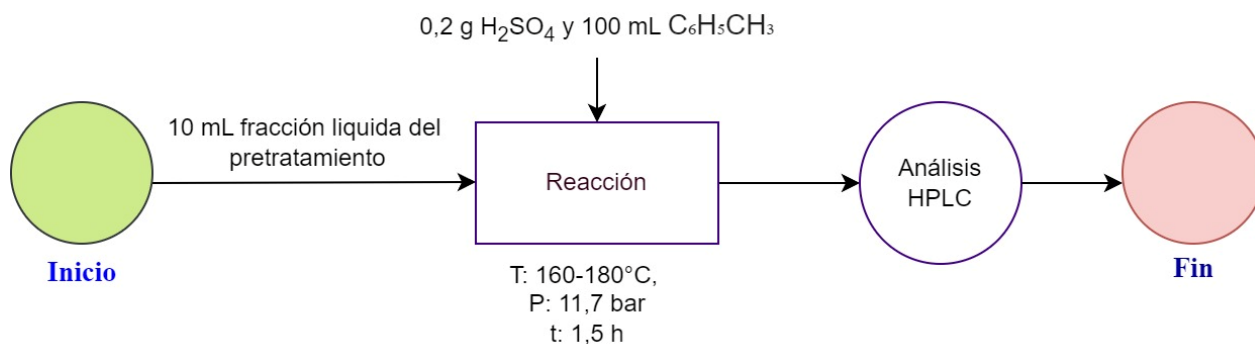
Para la reacción catalítica es necesario la presencia de agua y un solvente orgánico, debido a una mayor eficiencia en comparación con los sistemas monofásicos, en éstos el furfural producido en la fase acuosa se puede extraer de inmediato en la fase orgánica. Por lo tanto, las reacciones secundarias no deseadas entre productos e intermedios u otros compuestos podría reducirse considerablemente e incluso suprimirse (Dussan et al., 2013; Ji et al., 2017). Para este proceso se han evaluado diferentes disolventes orgánicos (tolueno, MIBK, CPME, GVL), en sistemas de agua pura, el agua/tolueno y el agua/CPME como sistemas bifásicos exhibieron mejores rendimientos de furfural (48,27% y 50,23%, respectivamente) (Qing et al., 2016). Por tanto, se es necesario incorporar un solvente orgánico al proceso, para este trabajo será el tolueno.

A continuación, se vierte 10 mL de solución acuosa de la etapa previa de pretratamiento en un autoclave de 250 mL con 0,2 g de H_2SO_4 como catalizador y agregue 100 mL de tolueno. El proceso se realiza por 90 minutos a 160 °C, 170 °C y 180 °C. La cuantificación del furfural se realizará mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), detector de índice de refracción (RI) y una columna Aminex HPX-87H (Bio-Rad). La temperatura del detector RI y la

columna se mantiene a 55 ° C, y la fase móvil es ácido sulfúrico 5 Mm, con un flujo de 0,6 mL/min. A continuación, en la Figura 7 se describe el proceso completo propuesto.

Figura 7

Condiciones de producción de furfural a partir de la fracción líquida del pretratamiento.



2. Resultados

2.1 Objetivo 1 Caracterizar químicamente el bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) para determinar el contenido de carbohidratos estructurales y lignina

A continuación, en la Tabla 8 se evidencia los resultados de la caracterización del bagazo de caña por el método NREL y ASTM. Se puede observar que la caracterización por el método ASTM presenta un contenido mayor de celulosa y hemicelulosa, esto puede deberse a que todavía hay lignina en la holocelulosa, pues al ser un método gravimétrico las trazas de lignina influyen en el pesaje (Prinsen, 2010).

Tabla 8

Caracterización del bagazo de caña de azúcar por método NREL y ASTM

Método	Contenido % peso						
	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina		Extractivos	Cenizas	Humedad
			Soluble	Insoluble			
NREL	33,95 ± 0,7	24,27 ± 1,1	5,05 ± 0,3	20,82 ± 1,3	8,32 ± 0,4	2,02 ± 0,05	5,20 ± 0,02
ASTM	35,17 ± 0,9	25,05 ± 0,7	4,91 ± 0,2	19,81 ± 1,4	8,01 ± 0,3	2,32 ± 0,06	5,20 ± 0,02
Prom	34,56	24,66	4,98	20,32	8,17	2,17	5,20

En la Tabla 9, se indican algunos resultados reportados por esta investigación y otros autores, las pequeñas variaciones pueden deberse a factores como:

Según Liu et al., 2020 y Khongchamnan, 2022, la variedad influye directamente en su composición, así como las condiciones de crecimiento y la edad de la planta son de gran importancia frente a las características deseadas de la caña. Yao et al., 2021 presenta pequeñas variaciones debido al tiempo de corte y condiciones nutritivas del suelo de donde se obtuvo la caña las cuales presentan variaciones influyendo en las características de esta.

En esta investigación como se evidenció en la Tabla 8, se reportan condiciones como humedad, cenizas y extractivos en la caracterización mientras la mayoría se limitan solo a reportar la celulosa, hemicelulosa y lignina.

Tabla 9

Caracterización química con técnica cromatográfica del bagazo de caña de azúcar sin pretratar de lignina, hemicelulosa y celulosa realizada por varios autores.

Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)	Referencias
34,15 ± 0,20	29,38 ± 0,45	24,80 ± 0,30	(Liu et al., 2020)
33,10 ± 2,00	19,20 ± 0,70	29,19 ± 1,05	(Khongchamnan, 2022)
48,46 ± 0,45	21,14 ± 1,22	24,81 ± 1,47	(Bittencourt, 2019)
38,40 ± 1,29	24,10 ± 0,26	25,00 ± 0,63	(Dequeiroz y Stradi, 2009)
34,10 ± 0,20	29,60 ± 1,08	19,40 ± 0,31	(Nobuyuki et al., 2013)
37,72 ± 0,68	22,95 ± 0,42	22,34 ± 0,09	(Yao et al., 2021)
34,56 ± 0,80	24,66 ± 0,90	25,30 ± 1,30	Este trabajo

2.2. Objetivo 2 Establecer el pretratamiento y las condiciones adecuadas para la deslignificación del bagazo de caña (*Saccharum officinarum*)

Respecto a los valores de P-value, se reconoció los factores que ejercen un impacto estadísticamente relevante sobre la variable de respuesta en específico, el P-value para las variables de respuesta en los 3 pretratamientos, fue menor que 0,05, es decir se descartó la hipótesis nula que planteaba la inexistencia de diferencias entre las medias y se acepta la hipótesis alternativa, por lo tanto, se puede afirmar con un nivel de confianza superior al 95% que el factor analizado y su efecto difieren significativamente de cero, dando a entender que las condiciones optimizadas tuvieron influencia para cada variable de respuesta (Montgomery, 2017).

Los resultados del análisis de varianza y de las condiciones de los puntos óptimos para cada variable de respuesta (gLS y COP/gLS) se resumen a continuación en la Tabla 11.

Tabla 10

Condiciones óptimas del pretratamiento químico para maximizar la remoción de lignina y minimizar el costo de pretratamiento

Diseño	Variable Respuesta	Modelo	P-value	R ² A _j	T (°C)	t (h)	[M	LS (g)	Costo/LS (COP/g)	Deseab .
NaOH	LS (g)	Cuadrático	< 0,0001	0,98	90,15	2,07	0,50	0,14	240,94	0,98
	Costo/LS (COP/g)	Cuadrático	0,01	0,85						
H ₂ O ₂	LS (g)	Cuadrático	<0,0068	0,88	79,01	2,54	0,95	0,06	441,14	0,95
	Costo/LS (COP/g)	Cuadrático	0,0001	0,98						
MIX	LS (g)	Cuadrático	<0,0085	0,86	76,69	2,73	0,10	0,10	124,05	0,98
	Costo/LS (COP/g)	Cuadrático	0,0001	0,99			- 0,20			

Según (Ramírez et al., 2013; Guilherme et al., 2015), el tratamiento alcalino parece ser el enfoque más efectivo para provocar rupturas de enlaces éster y glucósidos entre la lignina y los polisacáridos, lo que conduce a cambios estructurales en la lignina, la expansión y descristalización de la celulosa, así como la disolución de las hemicelulosas. Esto resulta en un incremento en la generación de azúcares fermentables tras la hidrólisis, un aumento en la superficie accesible y una reducida formación de compuestos nocivos (Kumar y Sharma, 2017).

Si se desea analizar la producción de lignina, el pretratamiento MIX presenta un menor costo con un valor de 124,05 COP por gramo de lignina solubilizada, logrando solubilizar 0,10 g de lignina por gramo de biomasa (49,21%). Puesto que, el costo fue calculado en base al precio del reactivo la concentración de este es menor (0,10 M NaOH – 0,20 M H₂O₂), el costo puede disminuir más debido a que presenta una menor temperatura de procesamiento (76,69 °C). Por otro lado, el costo puede incrementar debido a un mayor tiempo de procesamiento (2,73 h) y a la cantidad de

biomasa utilizada, donde se necesita de 9,93 g de biomasa para solubilizar 1 g de lignina. La biomasa posterior al pretratamiento sigue siendo una buena fuente de polisacáridos aprovechables.

El objetivo de esta investigación fue utilizar los polisacáridos disponibles posterior al pretratamiento, por tanto, el pretratamiento con NaOH fue el más efectivo. Aunque presenta un costo más elevado que el MIX con un valor de 240,94 COP por gramo de lignina solubilizada, logrando solubilizar 0,10 g de lignina por gramo de biomasa (68,90%), indicando que la concentración de reactivo fue mayor (0,50 M NaOH – 1.0 M H₂O₂), el costo puede incrementar más debido a que presenta una mayor temperatura de procesamiento (90,15 °C). Por otro lado, el costo puede disminuir debido a un menor tiempo de procesamiento (2,07 h) y a la cantidad de biomasa utilizada, donde se necesita de 7,06 g de biomasa para solubilizar 1 g de lignina.

Del mismo modo, el pretratamiento con NaOH logra solubilizar el 36,82% de las hemicelulosas mientras que el pretratamiento MIX alcanza una solubilización de 31,79%. Al solubilizar una mayor cantidad de lignina y hemicelulosa el pretratamiento con NaOH permite una mayor disposición de celulosa incrementándose en un 35,36% mientras el pretratamiento MIX incrementa su disposición en un 28,90%.

El pretratamiento con H₂O₂ resulta menos efectivo presentando el mayor costo con un valor de 441,14 COP por gramo de lignina solubilizada, logrando solubilizar 0,06 g de lignina por gramo de biomasa (27,25%), indicando que sus variables son menos favorables que los demás pretratamientos.

Según Montgomery (2017) “el propósito de realizar estimaciones confiables, se sugiere emplear un coeficiente de regresión ajustado que no sea inferior a 0,70”, para este estudio se obtuvo un R² ajustado superior al 0,70 en todos los casos.

Las regresiones polinómicas de segundo orden resultantes para las variables dependientes presentan un ajuste adecuado y logran modelar apropiadamente cada una de estas variables (Montgomery y Runger, 2014). En la ecuación 3.1 se presenta la ecuación de regresión para la variable gLS del pretratamiento con NaOH y en la ecuación 3.2 se presenta la ecuación de regresión para la variable Costo/gLS del pretratamiento Mix.

- ec 3.1

$$gLS = 0,1414 + 0,0300 \times (T) + 0,0064 \times (t) + 0,0173 \times [NaOH] + (-0,0108) \times (T) \times (t) + (0,0040) \times (T) \times [NaOH] + (-0,0076) \times (t) \times [NaOH] + (-0,0362) \times (T)^2 + (-0,0259) \times (t)^2 + (-0,0205) \times [NaOH]^2$$

- ec 3.2

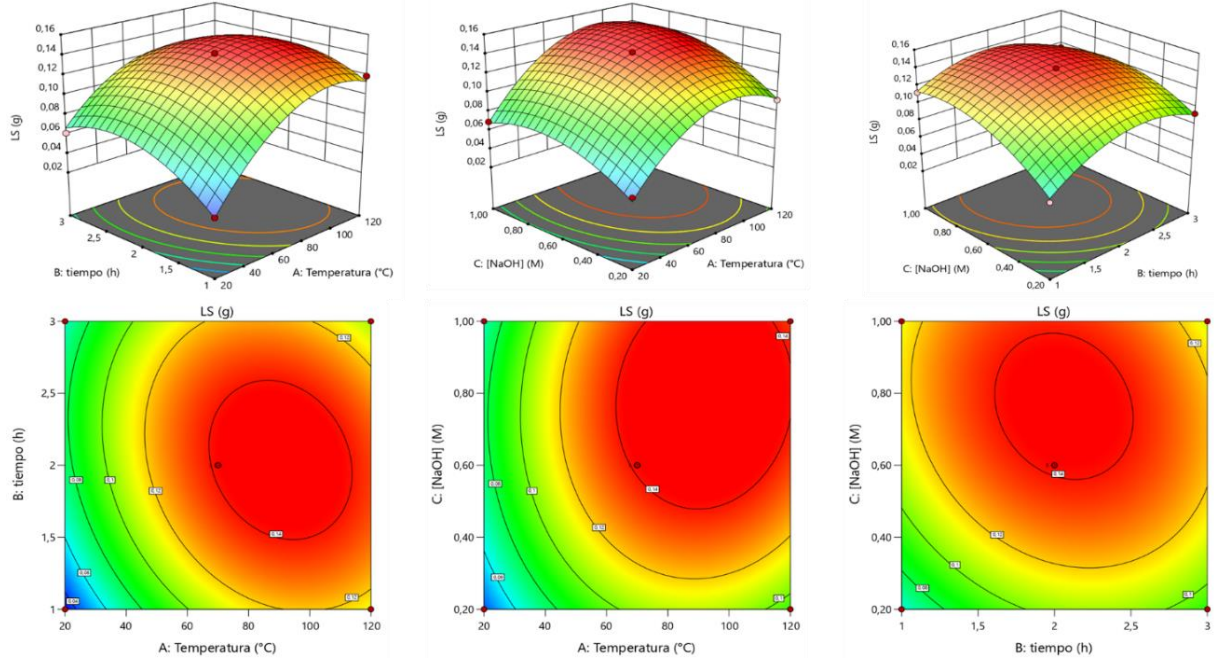
$$COP/gLS = 518,95 + (-101,22) \times (T) + (-69,77) \times (t) + 437 * [NaOH-H_2O_2] + 6,65 \times (T) \times (t) + (-114,82) \times (T) \times [NaOH-H_2O_2] + (-55,24) \times (t) \times [NaOH-H_2O_2] + 91,84 \times (T)^2 + 42,77 \times (t)^2 + 25,73 \times [NaOH-H_2O_2]^2$$

A continuación, en la Figura 8 se indica la gráfica de superficie de respuesta con sus contornos permitiendo visualizar la interacción entre los factores y su impacto con las variables, evidenciando los resultados de las variables de respuesta y puntos óptimos según el comportamiento de los factores.

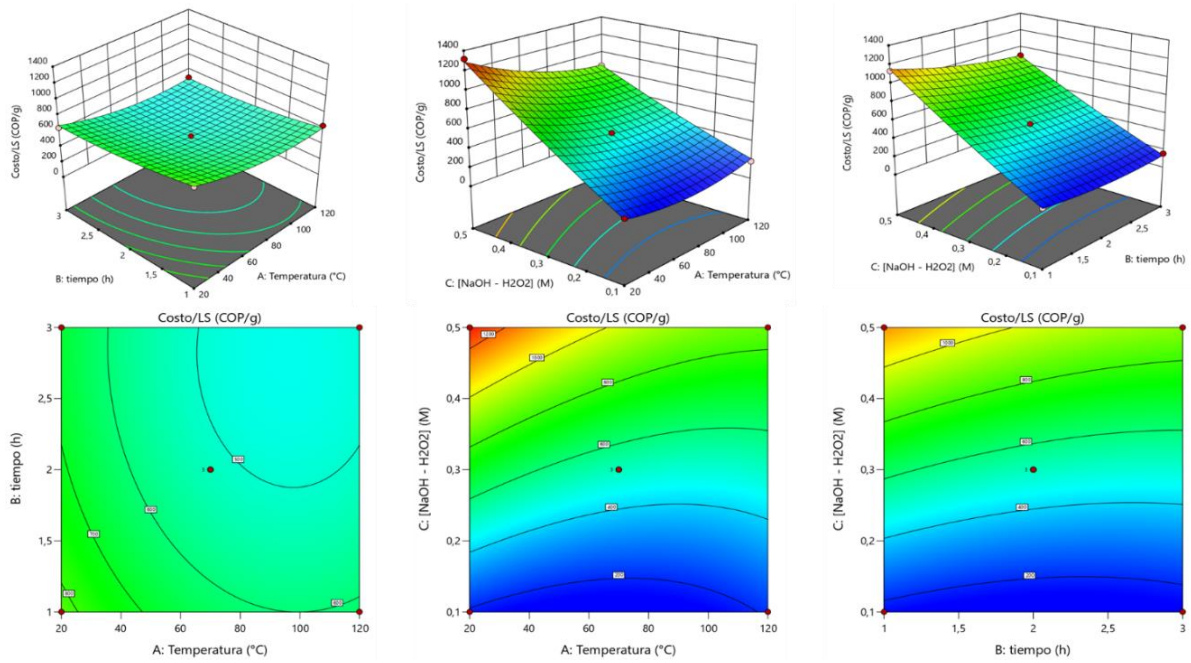
Figura 8

Gráficos de contorno para la optimización de pretratamiento con NaOH y Mix

(a)



(b)



Estos contornos indican el comportamiento del mejor pretratamiento, en la Figura 8a se evidencia que los rangos seleccionados en los factores para la evaluación de la variable de respuesta LS (g) fueron los adecuados generando una visualización de puntos óptimos tanto en el diagrama en 2D como en el 3D. Por otro lado, en la Figura 8b para la evaluación del comportamiento de la variable de respuesta COP/LS (COP/g) se evidencia que al involucra el factor de la concentración del reactivo los gráficos no indican un punto óptimo debido a que esta variable depende directamente de este factor y la primera variable de respuesta, por tanto, mientras más disminuya la concentración del reactivo más va a disminuir el costo, sin importar las demás variables. En cuanto al comportamiento de los factores temperatura y tiempo, no se alcanza a evidenciar un punto óptimo con los rangos establecidos, pero permiten predecir si tuviese un punto óptimo extendiendo un poco los rangos.

Los parámetros óptimos de operación en el pretratamiento con NaOH fueron validados, y su resultado se indica en la Tabla 11, el porcentaje de error es de 7,02 para gLS y 8,2 para el costo/LS (COP/g). Las diferencias pueden deberse a errores en la exactitud de las mediciones de biomasa y una desviación en las condiciones de operación, sin embargo, los datos recopilados exhiben una concordancia apropiada entre los valores experimentales y los obtenidos en la validación.

Tabla 11

Verificación experimental de las condiciones óptimas del pretratamiento químico para maximizar la remoción de lignina y minimizar el costo de pretratamiento

Reactivo	Tiempo (h)	Temperatura °C	Concentración (M)	LS (g)	% Error	Costo/LS (COP/g)	% Error
NaOH	2,07	90,15	0,50	0,14	7,02	240,94	8,20
	2,07	90,15	0,50	0,132 ± 0,01		260,69 ± 1,82	

Algunos autores como los que se muestran en la

Tabla 12, logran disolver la lignina presente en la composición estructural del bagazo de caña con resultados similares en algunos casos, logrando solubilizaciones de lignina desde 5% hasta un 92%.

Tabla 12*Pretratamiento alcalino en la solubilización de lignina del bagazo de caña*

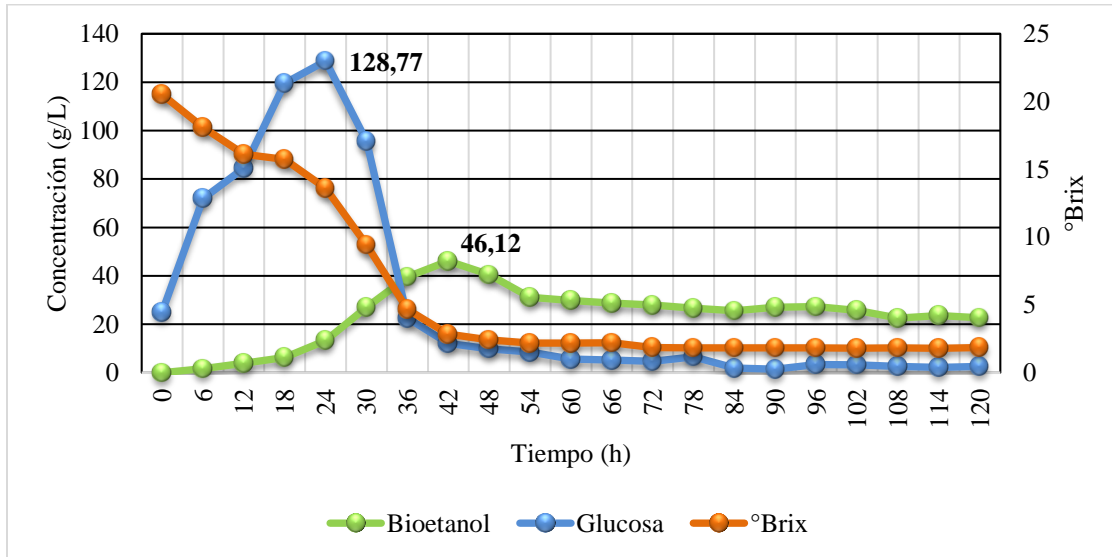
Composición química del bagazo de caña	Preparación de biomasa	Pretratamiento	Composición BCP	Referencia
C: 37,4%, H: 35,0% L: 26,7%	Fresado (< 2 mm)	<u>Alcalino</u> : Relación S/L 1:20, NaOH 0.5 p/v, 3 h, T: 20°C.	C: 44,2%, H: 38,4% L: 17,0%	(González et al., 2019)
C: 44,43%, H: 22,9% L: 17,52%	Fresado (Tamaño de malla 40)	<u>Alcalino</u> : Relación S/L 1:12, NaOH 1N, 30 min, 100 °C	C: 62,16%, H: 18,62% L: 7,16%	(Maryana, 2014)
C: 35,61%, H: 32,29% L: 22,56%	Fresado (2 mm)	<u>Alcalino</u> : Relación S/L 1:12, NaOH 1N, 45 min, 100 °C	C: 58,54%, H: 11,08% L: 3,09%	(Talha et al., 2016)
C: 34,56%, H: 24,66% L: 20,32%	Fresado (2 mm)	<u>Alcalino</u> : Relación S/L 1:10, NaOH 0,5 M, 2,07 h, 90,15 °C	C: 53,47%, H: 15,58% L: 6,3 %	Este trabajo
C: 34,56%, H: 24,66% L: 20,32%	Fresado (2 mm)	<u>Alcalino</u> : Relación S/L 1:10, NaOH- H2O2 0,1 M, 2,73 h, 76,69 °C	C: 48,61%, H: 16,82% L: 10,3 %	Este trabajo

Como se mencionó anteriormente los resultados de esta investigación indican que la mayor fracción de lignina y hemicelulosa solubilizada se generó en el pretratamiento con NaOH, sin

embargo la patente CN109337947A, la cual presenta un método para mejorar la eficiencia de la digestión del bagazo mediante pretratamiento alcalino con NaOH donde las tasas de eliminación de hemicelulosa y lignina fueron del 37,4% y 16,3% y con la adición de H₂O₂ las tasas de eliminación de hemicelulosa y lignina incrementan a 84,7% y 38,9%, mostrando así el efecto en la adición de H₂O₂. Estas diferencias pueden deberse al tipo de material utilizado y su adecuación, como también a las concentraciones de reactivos evaluadas.

2.3. Objetivo 3 Obtener bioetanol mediante una fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* a partir de azúcares reductores generados en un proceso simultaneo de sacarificación (hidrólisis enzimática) catalizada por la enzima celulasa del bagazo de caña pretratado y jugo de caña.

A continuación, en la Figura 9 se muestra la obtención de bioetanol de 1G a partir de jugo de caña, alcanzando su máxima producción a las 42 horas con una cantidad de 46.12 g/L (4,61% p/v) y un rendimiento de 73.38% basado en la cantidad de glucosa total producida. Por otro lado, la mayor cantidad de glucosa se produce a las 24 horas alcanzando 128.77 g/L. Los °Brix iniciales fueron de 20,50 en la producción de glucosa representan la concentración de sólidos solubles, principalmente azúcares, siendo la sacarosa el azúcar más representativo del jugo de caña que en el proceso se descompone en sus monosacáridos como glucosa y fructosa. Durante la fermentación alcohólica las levaduras consumen los azúcares presentes, lo cual hace que disminuya gradualmente al pasar el tiempo hasta que los azúcares se transforman en bioetanol y otros subproductos.

Figura 9*Producción de bioetanol 1G*

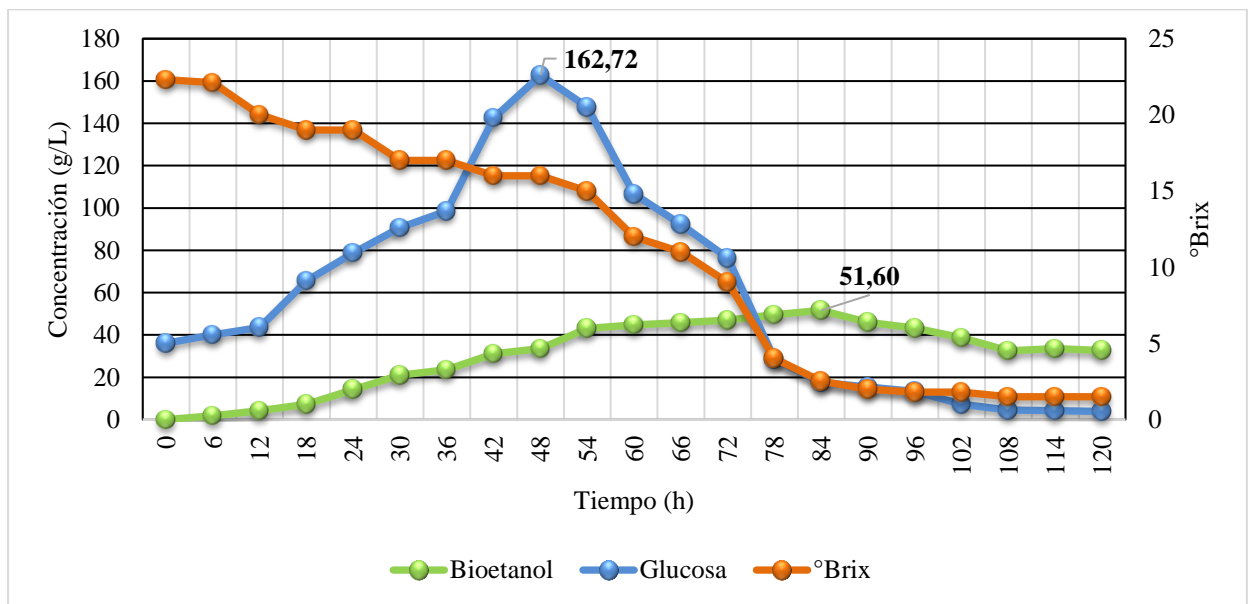
Como se observa en la **Tabla 1**, sobre la producción de bioetanol de 1G a partir del jugo de caña, los valores alcanzados en esta investigación se encuentran similares a los reportados por algunos autores, los rendimientos alcanzados por diferentes autores van desde 33,09% hasta 90%, donde la elevada producción depende de microorganismos utilizados como en el caso de (Limtong et al., 2007; Cruz et al., 2021), donde utilizan distintos tipos de microorganismos (*K. marxianus* DMKU 3-1042, *Y-904 S. cerevisiae*) las cuales se modifican genéticamente para ser más eficientes en metabolizar azúcares, y una mayor tolerancia al bioetanol e inhibir subproductos no deseados y como en el caso de (Ramos et al., 2013) donde utiliza peptona para la SSF, así mismo pueden deberse a la alta cantidad de glucosa inicial en la fermentación, haciendo uso de nutrientes y un tiempo de permanencia más largo, la cantidad de microorganismos utilizados como es el caso de (Barrera y Reyes, 2015) y una notoria disminución de producción haciendo uso de perlas de alginato de calcio con la posible disminución de actividad metabólica debido a la inmovilización afecta la eficiencia de conversión de azúcares en bioetanol (Vučurović et al., 2018).

En la **Figura 10**, se muestra la producción de bioetanol de 1G y 2G, alcanzando su producción máxima a las 84 horas con una cantidad de 51.60 g/L (5,16% p/v) y un rendimiento del 69.51%

basado en la cantidad de glucosa total producida. Por otro lado, la mayor cantidad de glucosa se produce a las 48 horas alcanzando 162,72 g/L. Los °Brix de la mezcla inicial fueron de 22,31 durante la fermentación alcohólica las levaduras consumen los azúcares presentes, monosacáridos como glucosa y fructosa, lo cual hace que la sacarosa disminuya gradualmente al pasar el tiempo hasta que los azúcares se transforman en bioetanol y otros subproductos.

Figura 10

Producción de bioetanol 1G y 2G



Como se observa en la Tabla 3, la producción de bioetanol de 1G y 2G en un proceso SSF, los valores alcanzados en esta investigación se encuentran similares a los reportados por algunos autores, los rendimientos alcanzados por diferentes autores van desde 74,57% hasta 82%, donde la elevada producción depende de factores como el sustrato, las enzimas, el microorganismo, el medio de fermentación y una fuente de nitrógeno, vitaminas y minerales (Santos y Batistone, 2020). Estos contribuyeron a obtener un rendimiento elevado en la producción de bioetanol. Según (Liu et al., 2020) la producción de bioetanol fue de 6,11 g/L, a un tiempo de 72 h y obtuvo un rendimiento teórico del 82% utilizando diferentes tipos de enzimas y una levadura modificada *S. cerevisiae* 1445 en un caldo fermentativo YPD.

La presente investigación tomó como referencia la patente CN110564779A, citada en la Tabla 3, como Xie y Fan (2019). Donde se evidencian producciones y rendimientos similares, la diferencia puede deberse a que se utilizaron diferentes pretratamientos en el bagazo y la composición de nutrientes en las mezclas. La mayor diferencia se presenta en el tiempo, puesto que el jugo de caña puede aportar una mayor cantidad de nutrientes a parte de los adicionados, haciendo que los microorganismos digieran la glucosa en un menor tiempo.

Sin embargo, la eficiencia de la fermentación con bagazo es inferior en términos de rendimiento y tiempo debido a la mayor presencia de fase sólida, lo que dificulta la disponibilidad de azúcares directos y requiere una sacarificación más compleja para descomponer la celulosa (Santos y Batistone, 2020).

En ambos casos para fermentación 1G y la mezcla 1G y 2G, la producción de etanol disminuye después de alcanzar los puntos óptimos debido a factores como el agotamiento de los azúcares fermentables, la acumulación de etanol y otros subproductos inhibidores, el aumento de la presión osmótica, las fluctuaciones de temperatura y pH fuera de los rangos óptimos, y el envejecimiento de las cepas de microorganismos productores de etanol (Vasić et al., 2021). Después de la fermentación el bioetanol se puede degradar y generar compuestos no deseados como los derivados de furano (HMF-5hidroxi-2-metil-furfural y furfural), compuestos fenólicos y ácidos débiles (ácido acético, fórmico y levulínico), estos compuestos tienen un impacto negativo en la eficacia de la hidrólisis al limitar su actividad microbiana o interferir con la eficacia de las enzimas, por lo tanto, su presencia es no deseable (Broda et al., 2022).

En respuesta a la pregunta problema, si es posible elevar la producción en más de un 5% de bioetanol producido en un proceso de sacarificación y fermentación simultaneo SSF de 1G y 2G a partir de la caña panelera del municipio de Sandoná (Nariño), con respecto a la producción convencional de 1G. Puesto que la producción de bioetanol a partir de jugo de caña (1G) fue de 46,12 g/L, al adicionar un 18% p/v de bagazo de caña pretratado la producción de bioetanol (1G y 2G) fue de 51,60 g/L, generando un incremento de 5,48 g/L elevando la producción en un 11,88 % de incremento.

2.4. Objetivo 4 Evaluar la capacidad de producción de furfural a partir de la fracción líquida del pretratamiento.

Se tomaron inicialmente 18 g de bagazo de caña, con una concentración de hemicelulosa del 24,66% (4,43 g), posterior al pretratamiento la concentración de hemicelulosa en el bagazo fue del 15,58% (2,80 g). La hemicelulosa solubilizada (1,63 g), quedó disponible en los 180 mL de la solución acuosa del hidrolizado.

Para la producción de furfural se tomaron 10 mL de la solución acuosa, es decir, 0,09 g de hemicelulosa (pentosas) como materia prima de partida. Los ensayos se realizaron por un tiempo de 90 minutos utilizando como catalizador H_2SO_4 al 2% p/v. A una temperatura de 160 °C el rendimiento p/p fue de 27,84 (43,50 % mol), a 170 °C el rendimiento p/p fue de 35,8 (55,94 % mol) y a una temperatura de 180 °C el rendimiento p/p fue de 33,57 (54,02 % mol).

Los elevados rendimientos presentados en esta investigación radican en que se toman las mejores condiciones encontradas en literatura para su producción, de igual manera, puede deberse a que la materia prima es el hidrolizado de la biomasa el cual no contiene presencia de fase sólida, lo cual favorece en una menor resistencia para la interacción efectiva entre reactivos y productos en un medio homogéneo líquido (Lee y Wu, 2020).

Como se observa en la Tabla 4, sobre la producción de furfural a partir del bagazo de caña, los valores alcanzados en esta investigación son similares a los reportados por algunos autores, las diferencias en el rendimiento pueden deberse a:

Los rendimientos teóricos obtenidos por diferentes autores van desde 3,12% hasta 69% mol, donde producción dependió de condiciones de temperatura más elevados, tiempos de reacción más cortos y una concentración de catalizador más bajo (Moghaddam et al., 2017; Morales et al., 2021; Ntimbani et al., 2021; Rhulani et al., 2021; Negesso, 2022).

3. Conclusiones

El bagazo de caña es un material promisorio para el aprovechamiento de sus polisacáridos celulosa y hemicelulosa, por medio de SSF, permiten la producción de bioetanol (2G) con el fin de aumentar su eficiencia y reducir costos de procesamiento. La técnica de cromatografía para la caracterización química de una biomasa resulta ser más detallada, precisa y confiable, siendo esta una técnica altamente selectiva y ofrece una mejor resolución, que una técnica gravimétrica debido a que la composición de la lignina es semejante a los otros polisacáridos.

Puesto que no se encontró un método gravimétrico para determinar la lignina soluble en ácido y debido a que los procesos de hidrólisis, extractivos, cenizas y determinación de lignina insoluble (lignina klarson) son similares a los descritos por la NREL, estas cuantificaciones se realizaron como se describen anteriormente por las guías de la NREL.

Por otra parte, el pretratamiento con NaOH fue el más efectivo a la hora de solubilizar la lignina, en el caso de producción de lignina las condiciones óptimas se dieron a 0,50 M, 90,15 °C y 2,07 h, alcanzando 0,14 g de lignina solubilizada y un costo de 240,94 COP/gLS con un coeficiente de correlación ajustado (R^2_{aj}) del 98% para la lignina solubilizada por gramo de biomasa y de 85% del costo del reactivo en pesos colombianos por gramo de lignina solubilizado, sin embargo, la adición de H_2O_2 en el pretratamiento Mix permitió bajar condiciones en un pretratamiento con NaOH garantizando una buena solubilidad de lignina, reduciendo el costo del pretratamiento con base en gramo de lignina solubilizada.

Las condiciones óptimas en el pretratamiento Mix se dieron a 0,10 M, 76,69 °C y 2,73 h, alcanzando 0,10 g de lignina solubilizada y un costo de 124,05 COP/gLS, con un coeficiente de correlación ajustado (R^2_{aj}) del 86% para la lignina solubilizada por gramo de biomasa y de 99% y del costo del reactivo en pesos colombianos por gramo de lignina solubilizado.

Para esta investigación es significativo que el pretratamiento (tratamiento químico) además de lograr una alta deslignificación también pueda solubilizar hemicelulosas puesto que son la materia prima para la producción de furfural.

La SSF desempeñó un papel considerable en la optimización del proceso. La producción de bioetanol 2G fue de 51,60 g/L, generando un incremento de 5,48 g/L comparado con el bioetanol 1G, elevando la producción en un 11,88 %.

La corriente líquida del pretratamiento permitió la producción de furfural, lo que aportó beneficios para el aprovechamiento de hemicelulosas presentes, por su parte, se obtuvo que a una temperatura de 160 °C el rendimiento p/p fue de 27,84 (43,50 %mol), a 170 °C el rendimiento p/p fue de 35,8 (55,94 %mol) y a una temperatura de 180 °C el rendimiento p/p fue de 33,57 (54,02 %mol). Siendo a 170°C la producción con mayor rendimiento alcanzado.

4. Recomendaciones

Es esencial realizar un estudio profundo de los procesos de pretratamiento, hidrólisis enzimática y fermentación para maximizar el rendimiento de la producción de bioetanol, tanto de primera como de segunda generación. Además, se recomienda evaluar la viabilidad económica y el impacto ambiental de implementar estas tecnologías a escala industrial, considerando factores como disponibilidad de materia prima, costos de inversión y operación.

Así mismo, es crucial buscar estrategias para aprovechar integralmente los residuos generados a partir de los flujos líquidos ricos en lignina, como obtener productos de alto valor de las fracciones lignocelulósicas, entre las que se encuentran sustancias fenólicas como vainillina, ácido vainílico, ácido homovanílico, acetosiringona, ácido siríngico, siringaldehído, siringol y similares, como resultado de la degradación de la lignina y hemicelulosa.

Por otro lado, se sugiere la implementación de nuevas cepas de levadura genéticamente modificadas capaces de sintetizar glucosa, así como la implementación de enzimas como peptona, β -glucosidasa, entre otras, para elevar la desintegración de celulosa a glucosa y evaluar el efecto de las mismas en elevar rendimientos de producción de bioetanol y estudiar el efecto de nanopartículas capaces de tolerar elevados rendimientos de bioetanol e inhibir la generación de subproductos no deseados.

Se recomienda así mismo realizar un análisis económico profundo con la finalidad de determinar la relación S/L para aprovechar la mayor cantidad de biomasa.

Se recomienda hacer un diseño experimental en la producción de furfural con valores de temperatura entre 170 °C y 180 °C ya que el rendimiento es muy similar, por lo cual una temperatura óptima debería estar en este rango.

Finalmente, se sugiere analizar el marco regulatorio actual y proponer políticas públicas que incentivan el desarrollo y adopción de biocombustibles avanzados en el país.

Referencias bibliográficas

- Abonamos. (2023). Ficha técnica para cultivo de caña de azúcar. <https://www.abonamos.com/cana-de-azucar>
- Adekunle, A., Orsat, V., y Raghavan, V. (2016). Lignocellulosic bioethanol: A review and design conceptualization study of production from cassava peels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *64*, 518–530. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.06.064>
- Aditiya, H., Mahlia, T., Chong, W., Nur, H., y Sebayang, A. (2016). Second generation bioethanol production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *66*, 631–653. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.07.015>
- Aguiar, A., Milessi, T. S., Mulinari, D. R., Lopes, M. S., da Costa, S. M., y Candido, R. G. (2021). Sugarcane straw as a potential second generation feedstock for biorefinery and white biotechnology applications. *Biomass and Bioenergy*, *144*. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105896>
- Aguilar-Rivera, N. (2011). Effect of Storing of Sugar Cane Bagasse on Physical Properties from Cellulose for Paper. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, *1*, 189–197. <https://doi.org/10.22201/fi.25940732e.2011.12n2.019>
- Alfani, F., Gallifuoco, A., Saporosi, A., Spera, A., y Cantarella, M. (2000). Comparison of SHF and SSF processes for the bioconversion of steam-exploded wheat straw. *Journal of Industrial Microbiology y Biotechnology*, *25*, 184–192. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000054>
- Ameh, A. O., Ojo, A. A., y Gaiya, J. (2016). Preliminary investigation into the synthesis of furfural from sugarcane bagasse. *FUW Trends in Science y Technology Journal*, *1*(2), 582 – 586.
- Angellinnov, F., Krisnandi, Y. K., Rahayu, D. U. C., y Dhaneswara, D. (2022). Comparison of Xylene and Ethyl Acetate as Solvent in the Isolation of Levulinic Acid from Conversion

Reaction of Cellulose Rice Husk using Hierarchical Mn₃O₄/ZSM-5 Catalyst. *International Journal of Technology*, 13(4), 880–889. <https://doi.org/10.14716/ijtech.v13i4.5524>

Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J. L., Guwy, A. J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., y van Lier, J. B. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water science and technology*, 59(5), 927–934. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.040>

Asif, M., Hameed, M., Farid, M., Shahzad, A., y Sultan, S. (2024). Sugarcane Waste (Bagasse), a Goldmine: Quantifying Furfural Production Potential and Feasibility in Rahim Yar Khan District. *International Research Journal of Education and Technology* 6, 1-23

Bantacut G., Romli, M., y Noor, E. (2018). Biomass by-product from crystal sugar production: A comparative study between Ngadirejo and Mauritius sugar mill. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 141(1). DOI: 10.1088/1755-1315/141/1/012009

Barbosa, B., Colodette, J., Longue-Junior, D., Gomes, F., y Martino, D. (2014) Preliminary studies on furfural production from lignocellulosics. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 34, 178–190. <https://doi.org/10.1080/02773813.2013.844167>

Baudel, H., Galvao, C., Finguerut, J., Travassos, J., y Morelli, D. (2009). Proceso fermentativo para biomasa vegetal lignocelulósica. (Patente mundial n.º WO2009155673A1). *Oficina mundial de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/WO2009155673A1/>

Barrera, R., y Reyes, J. (2015). Optimización de los parámetros del proceso de fermentación del jugo de caña para obtener bioetanol en la planta piloto de alcohol de la facultad de Ingeniería Química-UNAP. *Universidad Nacional de la Amazonia Peruana*. <https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/4160>

Barros, J., Serk, H., Granlund, I., y Pesquet, E. (2015). The cell biology of lignification in higher plants. *Annals of botany*, 115(7), 1053–1074. DOI: 10.1093/aob/mcv046

- Bittencourt, G., Barreto, E., Brandão, R., Baêta, B., y Gurgel, L. (2019). Fractionation of sugarcane bagasse using hydrothermal and advanced oxidative pretreatments for bioethanol and biogas production in lignocellulose biorefineries. *Bioresource technology*, 292, 121963. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121963
- Bondesson, P., y Galbe, M. (2016). Process design of SSCF for ethanol production from steam-pretreated, acetic-acid-impregnated wheat straw. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0635-6>
- Broda, M., Yelle, D., y Serwańska-Leja, K. (2022). Bioethanol Production from Lignocellulosic Biomass - Challenges and Solutions. *Molecules*, 27(24), 8717. <https://doi.org/10.3390/molecules27248717>
- Burgos -Montañez, L. (2020). Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico. *Revista De Investigación*, 13(1), 57–66. <https://doi.org/10.29097/23461098.308>
- Campos, M. (2015). Nuevos procesos catalíticos para la obtención de furfural. *Universidad Autónoma de Madrid*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=45856>
- Cantero, D., Dolores-Bermejo, M., y José, C. (2015). Reaction engineering for process intensification of supercritical water biomass refining. *Journal of Supercritical Fluids*, 96, 21–35. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.07.003>
- Cardona, E., Rios, L., y Peña, J. (2012). Disponibilidad de variedades de pastos y forrajes como potenciales materiales lignocelulósicos para la producción de bioetanol en Colombia. *Información Tecnológica*, 23, 87–96. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642012000600010>
- Chen, X., Lian, J., Liao, P., Huang, W., He, J., y Chen, J. (2021). Effect of process parameters and raw material characteristics on the physical and mechanical quality of sugarcane bagasse pellets.

Biomass and Bioenergy, 154, 106242.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106242>

Conteratto, C., Artuzo, F., Benedetti, O., y Talamini, E. (2021). Biorefinery: A comprehensive concept for the sociotechnical transition toward bioeconomy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 151, 111527. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111527>

Cruz, M., de Resende, M., y Ribeiro, E (2021). Improvement of ethanol production in fed-batch fermentation using a mixture of sugarcane juice and molasse under very high-gravity conditions. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 44(3), 617-625. doi:10.1007/s00449-020-02462-x

Dahnum, D., Tasum, S., Triwahyuni, E., Nurdin, M., y Abimanyu, H. (2015). Comparison of SHF and SSF processes using enzyme and dry yeast for optimization of bioethanol production from empty fruit bunch. *Energy Procedia*, 68, 107–116. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.03.238>

Daza, S. (2019). Viabilidad en aprovechamiento de los desechos generados en un restaurante de la sabana de Bogotá. *Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano*. <https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/handle/20.500.12010/8026>

Dequeiroz, G., y Stradi-Granados, B. (2009). Tratamiento termoquímico de lignocelulósicos para la producción de etanol. (Patente mundial n.º WO2009102609A1). *Oficina mundial de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/WO2009102609A1/en?q=WO2009102609A1>

Dias, M., Maciel- Filho, R., Mantelatto, P., Cavalett, O., Rossell, C., Bonomi, A., y Leal, M. (2015). Sugarcane processing for ethanol and sugar in Brazil. *Environmental Development*, 15, 35–51. <https://doi.org/10.1016/j.envdev.2015.03.004>

Dragone, G., Kerssemakers, A., Driessen, J., Yamakawa, C., Brumano, L., y Mussatto, S. (2020). Innovation and strategic orientations for the development of advanced biorefineries. *Bioresource Technology*, 302. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122847>

- Dussan, K., Girisuta, B., Haverty, D., Leahy, J., y Hayes, M. (2013). Kinetics of levulinic acid and furfural production from *Miscanthus×giganteus*. *Bioresource Technology*, 149, 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.09.006>
- Espinosa-Negrin, A., López-González, L., y Casdelo-Gutiérrez, N. (2022). Pretratamientos aplicados a biomásas lignocelulósicas: una revisión de los principales métodos analíticos utilizados para su evaluación. *Revista Cubana de Química*, 34(1) 87+. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443570155006>
- FedePanela. (2023). La vida sabe a panela. <https://fedepanela.org.co/gremio/tag/la-vida-sabe-a-panela/>
- Flores, J., Caballero, C., y Guimarães, M. (2008). Una Interpretación Aproximativa Del Concepto de Hidrólisis En Estructuras Peptídicas En Un Curso de Bioquímica Del IPC En El Contexto de La Teoría de los Campos Conceptuales de Vergnaud. *Revista de Investigación*, 64, 135-159. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=376140379006>
- Fodil- Cherif, M., Trache, D., Brosse, N., Benaliouche, F., y Tarchoun, A. (2020). Comparison of the Physicochemical Properties and Thermal Stability of Organosolv and Kraft Lignins from Hardwood and Softwood Biomass for Their Potential Valorization. *Waste and Biomass Valorization*, 11(12), 6541–6553. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-00955-0>
- Galbe, M., y Zacchi, G. (2002). A review of the production of ethanol from softwood. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59, 618–628. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1058-9>
- García, A., y Martínez, Á. (2012). Producción de bioetanol: mejora del proceso a partir de grano de cereal y de biomasa lignocelulósica tratada con steam explosión. *Universidad Complutense de Madrid, Tesis doctorales*, 1–263

- Gebre, H., Fisha, K., Kindeya, T., y Gebremichal, T. (2015). Synthesis of Furfural from Bagasse. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, 57, 72–84. <https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ilcpa.57.72>
- Gobernación de Nariño. (2019). «LA SECRETARÍA DE AGRICULTURA DE NARIÑO RESPALDA A PRODUCTORES DE PANELA».
- Gobernación de Nariño y Secretaría de agricultura y desarrollo rural. (2020). *Plan departamental de extensión agropecuaria PDEA Nariño 2020-2023*. 1-179
- González, A., Hernández, A., y Pereda, I. (2019). Pretratamiento alcalino de bagazo de caña para mejorar la producción de biometano. *Centro Azúcar*, 46(4), 79–88. http://centrozucar.uclv.edu.cu/index.php/centro_azucar.
- Guerra, S., Denadai, M., Saad, A., Spadim, E., y da Costa, M. (2020). Sugarcane: Biorefinery, technology, and perspectives. *Sugarcane Biorefinery, Technology and Perspectives*, 49–65. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814236-3.00003-2>
- Guilherme, A., Dantas, P., Santos, E., Fernandes, F., y Macedo, G. (2015). Evaluation of composition, characterization, and enzymatic hydrolysis of pretreated sugar cane bagasse. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 32(1), 23-33. DOI: 10.1590/0104-6632.20150321s00003146
- Huang, C., Liu, J., Geng, W., Tang, W., y Yong, Q. (2021). A review of lignocellulosic biomass pretreatment technologies. *Paper and Biomaterials*, 6(3), 61–76. DOI: 10.1213/j.issn.2096-2355.2021.03.007
- Huang, G., Gin, D., Su, X., Zhang, Z., Li, B., Chen, H., y Lu, J. (2019). Método para producir etanol mediante el uso de bagazo. (Patente china n.º CN109652467A) *Oficina china de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/CN109652467A/en?q=CN109652467A>

- Ikeo, M., y OKino, S. (2015). Método para producir etanol. (Patente mundial n.º WO2015087422A1). *Oficina mundial de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/WO2015087422A1/en?q=WO2015087422A1>
- Inamdas, S., Sonti, V., Kulkarni, M., Rao, P., Babu, M., Joshi, S., Lokare, A., Gokhale, P., Shete, A., y Mukharjee, G. (2010). Un proceso para la producción de etanol a partir de material lignocelulósico. (Patente mundial n.º WO2010029568A2). *Oficina mundial de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/WO2010029568A2/en?q=WO2010029568A2>
- InfoAgro. (2023). El cultivo de la caña de azúcar. https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_cana_azucar.asp
- Ji, H., Zhu, J., y Gleisner, R. (2017). From corncob in a one-pot batch reaction pro filing. *RSC Advances*, 7(73), 46208–46214. <https://doi.org/10.1039/C7RA08818C>
- Jiménez, A. (2018). Proceso de producción de bioetanol, a partir de la biomasa hidrolizada de la eichhornia crassipes con la levadura (saccharomyces cerevisiae). *Fundación Universitaria los Libertadores. Tesis pregrado*. <https://repository.libertadores.edu.co/items/bc888eea-880e-45a8-8012-fc5bae976bd5>
- Kamm, B., Gruber, P., y Kamm, M. (2006). Biorefineries. *Industrial Processes and Products: Status Quo and Future Directions*, 1(3), 3-527. <https://doi.org/10.1002/9783527619849>
- Kim, J., Lee, Y., y Kim, T. (2016). A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 199, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.085>
- Khongchamnan, P., Suriyachai, N., Kreetachat, T., Laosiripojana, N., Weerasai, K., Champreda, V., Suwannahong, K., Sakulthaew, C., Chokejaroenrat, C., y Imman, S. (2022). Optimization of Liquid Hot Water Pretreatment and Fermentation for Ethanol Production from Sugarcane

Bagasse Using *Saccharomyces cerevisiae*. *Catalysts*, 12(5).
<https://doi.org/10.3390/catal12050463>

Kumar, A., Kumar, S., Dutt, S., y Chand, P. (2009). Nueva cepa y un nuevo proceso para la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica a alta temperatura. (Patente de Estados Unidos n.º US2009226993A1). *Oficina estadounidense de patentes y marcas*.
<https://patents.google.com/patent/US20090226993A1/en?q=US2009226993A1>

Kumar, A., y Sharma, S. (2017). Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review. *Bioresources and Bioprocessing* 4(7). DOI 10.1186/s40643-017-0137-9

Kumneadklang, S., Larpiattaworn, S., Niyasom, C., y O-Thong, S. (2015). Bioethanol Production from Oil Palm Frond by Simultaneous Saccharification and Fermentation. *Energy Procedia*, 79, 784–790. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.11.567>.

Lee, C., y Wu, Ta. (2020). A review on solvent systems for furfural production from lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, (), 110172–. doi:10.1016/j.rser.2020.110172

Lin, H., Zhang, H., Xiong, Q., Wu, G., Liu, J., Li, D., Shen, N., Wei, N y Ventilador, B. (2022). Método para preparar fertilizante orgánico y combustible líquido biológico utilizando. (Patente china n.º CN114075579A). *Oficina china de patentes y marcas*.
<https://patents.google.com/patent/CN114075579A/en?q=CN114075579A>

Limtong, S., Sringiew, C., y Yongmanitchai, W. (2007). Production of fuel ethanol at high temperature from sugar cane juice by a newly isolated *Kluyveromyces marxianus*. *Bioresource Technology*, 98(17), 3367–3374. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.044>

Li, X., Rui, X., Liu, Q., Min L, Yang, J., Lu, S., Li, G., Lu, L., y Si, C. (2019). Valorization of corn stover into furfural and levulinic acid over SAPO-18 zeolites: Effect of Brønsted to Lewis acid

sites ratios. *Industrial Crops and Products*, 141(29), 111759.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111759>

Liu, Z., Lin, J., Zhang, L., Gong, Y., y Li, X. (2020). Método para preparar combustible de etanol mediante el pretratamiento de bagazo con fosfato de calcio. (Patente china n.º CN111763695A). *Oficina china de patentes y marcas*.
<https://patents.google.com/patent/CN111763695A/en?q=CN111763695A>

López, A., Ortegón, G., y Robles, F. (2010). “Obtaining of Reducing Sugars from Kikuyu Grass (Pennisetum Clandestinum).” *Avances Investigación en ingeniería*, 1(13). 4. *Universidad Libre, Bogotá*. <https://dialnet.unirioja.es/ejemplar/284812>

Manorach, K., Poonsrisawat, A., Viriya-Empikul, N., y Laosiripojana, N. (2015). Optimization of Sub-Critical Water Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis of Sugarcane Bagasse. *Energy Procedia*, 79, 937–942. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.11.590>

Maryana, R., Ma'rifatun, D., Wheni, A., Satriyo, K., y Rizal, A., (2014). Alkaline pretreatment on sugarcane bagasse for bioethanol production. *Energy Procedia*, 47, 250-254. DOI:10.1016/j.egypro.2014.01.221

Meenakshisundaram, S., Fayeulle, A., Leonard, E., Ceballos, C., y Pauss, A. (2021). Fiber degradation and carbohydrate production by combined biological and chemical/physicochemical pretreatment methods of lignocellulosic biomass – A review. *Bioresource Technology*, 331. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125053>

Mejías, B., Orozco, G., y Galáan, N. (2016). Aprovechamiento de los residuos agroindustriales y su contribución al desarrollo sostenible de México. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, 2(6), 27–41. *Universidad Politécnica de Sinaloa*

Melendez, J. (2022). Biotecnología y gerencia aplicada en la producción de bioetanol 1G y 2G. *Revista de Ciencias Sociales (Ve)*, 28(4), 415-429. *Universidad del Zulia*

- Mesa, L., Morales, M., González, E., Cara, C., Romero, I., Castro, E., y Mussatto, S. (2014). Restructuring the processes for furfural and xylose production from sugarcane bagasse in a biorefinery concept for ethanol production. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 85(), 196–202. doi:10.1016/j.cep.2014.07.012
- Minagricultura. (2021). Cadena Agroindustrial de la panela. 1-18
- Mohanty, S., y Swain, M. (2019). Chapter 3 - Bioethanol Production From Corn and Wheat: Food, Fuel, and Future. *Bioethanol Production from Food Crops*. 45-59. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813766-6.00003-5>
- Moghaddam, L., Rencoret, J., Maliger, V., Rackemann, D., Harrison, M., Gutiérrez, A., del Rio, J., y Doherty, W. (2017). Structural Characteristics of Bagasse Furfural Residue and Its Lignin Component. An NMR, Py-GC/MS, and FTIR Study. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(6), 4846–4855. doi:10.1021/acssuschemeng.7b00274
- Moncada, J., Cardona, C., Higuera, J., Vélez, J., y López-Suarez, F. (2016). 23 Wood residue (Pinus patula bark) as an alternative feedstock for producing ethanol and furfural in Colombia: experimental, techno-economic and environmental assessments. *Chemical Engineering Science*, 140, 309–318. <https://doi.org/10.1016/J.CES.2015.10.027>
- Montgomery, D. (2017). Design and analysis of experiments. 8th Edition. EE. UU: John wiley y sons. ISBN 978119113478
- Morales, O. (2015). “Etanol lignocelulósico, a partir de cascarilla de café, por medio de hidrólisis química-enzimática y fermentación.” *Tesis de maestría, Universidad Veracruzana*.
- Morales-Zamora, M., Mesa-Garriga, L., Ley-Chong, N., Martínez, A., Acosta-Martinez, D., y González-Suárez, E. (2021). Estudios previo inversionistas para la producción de furfural-etanol

y tableros a partir de bagazo de caña de azúcar. *Revista ION*, 34(2).
<https://doi.org/10.18273/revion.v34n2-2021002>

Montgomery, D., y Runger, G. (2014). Probabilidad y estadística aplicadas a la ingeniería. ISBN 9681859154

Mujtaba, M., Fraceto, L., Fazeli, M., Mukherjee, S., Savassa, S. M., Araujo de Medeiros, G., do Espírito Santo Pereira, A., Mancini, S., Lipponen, J., y Vilaplana, F. (2023). Lignocellulosic biomass from agricultural waste to the circular economy: A review with focus on biofuels, biocomposites and bioplastics. *Journal of Cleaner Production*, 402, 136815.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136815>

Naik, S., Goud, V., Rout, P., y Dalai, A. (2010). Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 578–597.
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.003>

Negesso, D. (2022). Catalytic conversion of sugarcane bagasse into furfural. *Addis Ababa University*

Nobuyuki, R., Barcelos, C., Anna, L., y Pereira, N. (2013). Cellulase production by *Penicillium funiculosum* and its application in the hydrolysis of sugar cane bagasse for second generation ethanol production by fed batch operation. *Journal of Biotechnology*, 163(1), 38–44.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.10.014>

Oliva, J. (2003). “Efecto de Los Productos de Degradación Originados En La Explosión Por Vapor de Biomasa de Chopo Sobre *Kluyveromyces Marxianus*”. *Universidad Complutense de Madrid, Tesis doctoral*

Olofsson, K., Bertilsson, M., y Lidén, G. (2008). A short review on SSF - An interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks. *Biotechnology for Biofuels*, 1(7).
<https://doi.org/10.1186/1754-6834-1-7>

- Pinilla, H. (2019). Producción de furfural y etanol a partir de zoca de café: evaluación experimental. *Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano*. <https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/handle/20.500.12010/7760>
- Pei, J., Pang, H., Lin, L., Guo, Y., Li, Z., Chen, D., Huang, Z., y Huang, R. (2014). Method for producing butanol by mixed fermentation of bagasse and molasses serving as raw materials. (Patente china n.º CN102703523B). *Oficina china de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/CN102703523B/en>
- Portero, P. (2019). Etanol celulósico: desarrollo de una tecnología óptima para la producción semi-continua. *Tesis doctoral*. <https://doi.org/10.35376/10324/39472>
- Prinsen, P. (2010). Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas. *Universidad de Sevilla. Tesis de maestría*. <http://hdl.handle.net/10261/66265>
- Queipo, A., Do Cuoto, F., y Bandeira, M. (2021). Proceso optimizado para la producción de azúcares y productos de fermentación de segunda generación. (Patente mundial n.º WO2021155452A1). *Oficina mundial de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/WO2021155452A1/en?q=WO2021155452A1>
- Ramirez, R., Holtzapple, M., y Piemonte, N. (2013). Fundamentals of biomass pretreatment at high pH. *Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological and Chemical Conversion to Fuels and Chemicals*. 145–167. DOI: 10.1002/9780470975831.ch8
- Ramos, C., Duarte, W., Freire, A., Dias, D., Eleutherio, E., y Schwan, R. (2013). Evaluation of stress tolerance and fermentative behavior of indigenous *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(3), 935–944. doi:10.1590/S1517-83822013005000051

- Ramos, L. (2003). The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Química Nova*, 26(6), 863–871. doi:10.1590/S0100-40422003000600015
- RC, Saxena., DK, Adhikari., y HB, Goyal. (2009). Combustible energético basado en biomasa a través de rutas bioquímicas: una revisión. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 13(1), 167–178. doi:10.1016/j.rser.2007.07.011
- Reales, J., Castaño, H., y Zapata, J. (2016). Evaluación de Tres Métodos de Pretratamiento Químico sobre la Deslignificación de Tallos de Yuca. *Información tecnológica*, 27(3), 11–22. doi:10.4067/S0718-07642016000300003
- Reinosa, M., Canciano, J., Hernández, A., Ordoñez, Y., y Figueroa, I. (2018). Huella de carbono en la industria azucarera. Caso de estudio. *Tecnología Química*, 38 (2), 516–526. <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v38n2/rtq20218.pdf>
- Resano, D., Guillen, O., Ubillús, F., y Barranzuela, J. (2022). Caracterización fisicoquímica del bagazo de caña de azúcar industrial y artesanal como material de construcción. *Información Tecnológica*, 33(2), 247–258. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642022000200247>
- Retsina, T., Pylkkanen, V., Nelson, K., y O’connor, R. (2017). Processes and apparatus for the production of levulinic acid and furfural and other sugar products from biomass. (Patente estadounidense n.ºUS2017190682A1). *Oficina estadounidense de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/US20170190682A1/en?q=US2017190682A1>
- Rhulani, N., Somayeh, F., y Johann, F. (2021). Furfural production from sugarcane bagasse along with co-production of ethanol from furfural residues. *Biomass Conversion and Biorefinery*. doi:10.1007/s13399-021-01313-3
- Sánchez, A. (2016). Producción integrada de etanol y metano a partir de bagazo de caña de azúcar pretratado mediante procesos térmicos.

Universidad de Valladolid. Escuela de Ingenierías Industriales
<http://uvadoc.uva.es/handle/10324/18699>

Santos, M. y Batistote, M. (2020). Renewable Sources and their Applications in Biotechnological Processes. *Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science*, 9(2), 155-170. <https://doi.org/10.21664/2238-8869.2020v9i2.p155-170>

Shahab, R., Luterbacher, J., Brethauer, S., y Studer, M. (2018). Consolidated bioprocessing of lignocellulosic biomass to lactic acid by a synthetic fungal-bacterial consortium. *Biotechnology and Bioengineering*, 115(5), 1207–1215. <https://doi.org/10.1002/bit.26541>

Singh, N., Singhanian, R., Nigam, P., Dong, C., Kumar, A., y Puri, M. (2022). Global status of lignocellulosic biorefinery: *Challenges and perspectives. Bioresource Technology*, 344(Part-B), 126415. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126415>

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., y Crocker, D. (2008). Determination of Extractives in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP) (Revised July 2011). *National Renewable Energy Laboratory*. <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42619.pdf>

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., y Crocker, D. (2008). Preparation of Samples for Compositional Analysis: Laboratory Analytical Procedure (LAP) (Revised July 2011). *National Renewable Energy Laboratory*. <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42620.pdf>

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., y Crocker, D. (2012). Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP) (Revised July 2011). *National Renewable Energy Laboratory*. <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy13/42618.pdf>

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., y Crocker, D. (2008).

Determination of Ash in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP).
<https://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42622.pdf>

Soludongwe, S. (2020). Co-production of furfural and wood composite products from bio-based processing residues. *Stellenbosch University, Tesis de maestría.*
<http://hdl.handle.net/10019.1/108271>

Talha, Z., Ding, W., Mehryar, E., Hassan, M., y Bi, J. (2016). Alkaline pretreatment of sugarcane bagasse and filter mud Codigested to improve biomethane production. *BioMed Research International*. 1-10. DOI: 10.1155/2016/8650597

Vargas, D., Rojas, A., y Betancourth, J. (2021). La normatividad en la producción de biocombustibles. *El consumidor y la agricultura sostenible para el siglo XXI*. 123-170. 1 *Universidad Santiago de Cali*.

Vásconez, G., Caicedo, L., Véliz, D., y Sánchez, F. (2021). Producción de biomasa en cultivos de maíz: Zona central de la costa de Ecuador. *Revista de Ciencias Sociales*, 27(3), 417-431,
<https://www.redalyc.org/journal/280/28068276032/movil/>

Vasić, K., Knez, Ž., y Leitgeb, M. (2021). Bioethanol Production by Enzymatic Hydrolysis from Different Lignocellulosic Sources. *Molecules*, 26(3), 753.
<https://doi.org/10.3390/molecules26030753>

Vásquez, O. (2015). Etanol lignocelulósico, a partir de cascarilla de café, por medio de hidrólisis química-enzimática y fermentación. *Universidad Veracruzana, Tesis de maestría.*

Vučurović, V., Puškaš, V., y Miljić, U. (2018). Bioethanol production from sugar beet molasses and thick juice by free and immobilised *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of the Institute of Brewing*. doi:10.1002/jib.536

- Wang, Q., Zhuang, X., Wang, W., Tan, X., Yu, Qiang., Qi, W., y Yuan, Z. (2017). Rapid and simultaneous production of furfural and cellulose-rich residue from sugarcane bagasse using a pressurized phosphoric acid-acetone-water system. *Chemical Engineering Journal*. doi:10.1016/j.cej.2017.10.089
- Wenzhi, L., Minghao, L., Qiaozhi, M., Qiyu, L., Tingwei, Z., y Dong, P. (2016). Método de preparación de furfural y ácido levulínico. (Patente china n.º CN105859545A). *Oficina china de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/CN105859545A/en?q=CN105859545A>
- Xie, J y Fan, M. (2019). Method for fermenting ethanol and co-producing biogas by using bagasse-molasses mixed raw material. (Patente china n.º CN110564779A). *Oficina china de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/CN110564779A/en?q=CN110564779A>
- Yao, L., Xiaojie, Z., Shunhui, T., Lei, H., Xiaodong, Z., y Xiaoqing, L. (2021). Process optimization for deep eutectic solvent pretreatment and enzymatic hydrolysis of sugar cane bagasse for cellulosic ethanol fermentation. *Renewable Energy*. 177, 259-267. doi:10.1016/j.renene.2021.05.131
- Yazdizadeh, M., Nasr, M., y Safekordi, A. (2018). A new methodology for the production of furfural as a renewable energy source from bagasse in acidic aqueous media. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, 40(2), 125–133. <https://doi.org/10.1080/15567036.2016.1248801>
- Yin, J., Hao, L., Yu, W., Wang, E., Zhao, M., Xu, Q., y Liu, Y. (2014). Enzymatic hydrolysis enhancement of corn lignocellulose by supercritical CO₂ combined with ultrasound pretreatment. *Chinese Journal of Catalysis*, 35(5), 763–769. [https://doi.org/10.1016/s1872-2067\(14\)60040-1](https://doi.org/10.1016/s1872-2067(14)60040-1)

Yoon, L., Ngoh, G., y Chuaa, A. (2012). Simultaneous production of cellulase and reducing sugar from alkali-pretreated sugarcane bagasse via solid state fermentation. *BioResources*, 7(4), 5319–5332. <https://doi.org/10.15376/biores.7.4.5319-5332>

Zhang, C. (2016). Método de producción de etanol mediante el uso de celulosa de bagazo de caña y melaza de caña de azúcar. (Patente china n.º CN106086085A). *Oficina china de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/CN106086085A/en?q=CN106086085A>

Zhang, C. (2016a). Método para producir alcohol etílico a partir de hemicelulosa de bagazo y melaza de caña. (Patente china n.º CN105907803A). *Oficina china de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/CN105907803A/en?q=CN105907803A>

Zhang, Z., y Chen W. (2020). Method and device for co-production of furfural and levulinic acid by biomass graded hydrolysis. (Patente china n.º CN111440134A). *Oficina china de patentes y marcas*. <https://patents.google.com/patent/CN111440134A/en?q=CN111440134A>

Anexos

Anexo 1 Metodología preparación de muestras para análisis composicional

Tiempo estimado: 1 hora

Preparación de muestras para análisis composicional

OBJETIVOS

- ✓ Enumerar procedimientos adecuados para la preparación de materias primas de biomasa y una variedad de materiales derivados de la biomasa.
- ✓ Abordar el muestreo representativo de muestras de biomasa.

INTRODUCCIÓN

Este procedimiento describe métodos de secado, reducción de tamaño, obtención de muestras con un tamaño de partícula uniforme y el muestreo representativo de muestras de biomasa. Este procedimiento describe una forma reproducible de convertir una variedad de muestras de biomasa en un material uniforme adecuado para el análisis composicional. Los LAP del Laboratorio Nacional de Energías Renovables (NREL) para el análisis composicional se han optimizado utilizando muestras con un rango específico de tamaño de partícula y contenido de humedad. Todos los procedimientos de análisis composicional de biomasa del NREL asumen que las muestras han sido preparadas para cumplir con estas especificaciones. Las desviaciones de estos parámetros pueden invalidar las suposiciones hechas en esos métodos y por lo tanto introducir errores en el análisis.

TERMINOLOGÍA

Condiciones ambientales: una temperatura de 20°C a 30°C (68°F a 85°F), menos del 50% de humedad relativa.

Biomasa preparada: biomasa que ha sido preparada de acuerdo con esta práctica.

Peso seco al horno (PSO): peso de la biomasa corregido matemáticamente por la cantidad de humedad presente en la muestra en el momento del pesaje.

MATERIALES Y REACTIVOS

Reactivos:

- Sólo para el método de liofilización

- Acetona, grado electrónico, hielo seco, molido.

Materiales

1. Bandejas y recipientes surtidos, según convenga para el método de secado seleccionado.

Equipos:

1. Mesa grande o rejilla de secado para secar al aire la biomasa (sólo método A).
2. Horno de convección capaz de mantener $45 \pm 5^{\circ}\text{C}$ (sólo método B).
3. Liofilizador - Sistema con cámara de vacío y bomba capaz de mantener una presión de <1 torr y un dedo frío en la cámara capaz de mantener una temperatura de -50°C (sólo método C).
4. Balanza, sensible a 0,1 g.
5. Molino de cuchillas estándar de laboratorio con criba de 2 mm. Un molino Wiley, tamaño n.º 4 con una malla de 2 mm, es adecuado para muestras de más de 20 mm de diámetro, es adecuado para muestras >20 g, y el modelo intermedio Wiley Mill, con criba de 1 mm, es adecuado para muestras <20 g que no se tamizarán. Los molinos de cuchillas equivalentes son aceptables.
6. Tamizadora con movimiento en los ejes horizontal y vertical - para la etapa de tamizado opcional
7. Juego de tamices, tamices apilables n.º 20 ($850 \mu\text{m}$), n.º 80 ($180 \mu\text{m}$) con tapa y fondo inferior. Los tamices y la bandeja inferior deben tener una altura de 8,9 cm ($3\frac{1}{2}$ pulg.). Los tamices deben ajustarse a la especificación E 11 de la ASTM.

PROCEDIMIENTO

Ensayo 1: TIPOS DE SECADO

Procedimiento 1: Método A - Secado al aire

- ❖ **Nota:** Este método es adecuado para la preparación de grandes cantidades (>20 g) de muestras recolectadas sobre el terreno en una forma adecuada para el análisis composicional.
- 1. Este método es adecuado para el secado de materiales en los que la humedad ambiental permite que la muestra se seque al aire hasta alcanzar un contenido de humedad inferior al 10%, medido con el método LAP "Determinación de Sólidos Totales en Biomasa y Sólidos Totales Disueltos en Muestras de Procesos Líquidos"
- ❖ Este es un proceso para cantidades a nivel escalar por lo cual en este caso no se describe

paso a paso su procedimiento debido a las cantidades utilizadas a preparar.

Procedimiento 2: Método B - Secado en estufa de convección

❖ **Nota:** Una alternativa al secado al aire es secar la biomasa en un horno de convección a temperaturas no superiores a 45°C. Este método puede utilizarse para muestras de biomasa muy húmedas que corren el riesgo de crecimiento microbiano durante el secado, biomasa húmeda pretratada, muestras que no serían estables durante una exposición prolongada a condiciones ambientales, o para secar materiales cuando la humedad ambiental no permita que la muestra se seque al aire hasta alcanzar un contenido de humedad inferior al 10%, medido con LAP "Determinación de sólidos totales en biomasa y sólidos totales disueltos en Process Samples". Este método de secado es adecuado para muestras pequeñas de biomasa (<20 g).

1. Seleccione un recipiente adecuado para el secado en estufa de la muestra de biomasa y seque este recipiente a $45 \pm 3^\circ\text{C}$ durante un mínimo de 3 h.
2. Coloque el recipiente en un desecador y déjelo enfriar a temperatura ambiente.
3. Pesar el recipiente con una precisión de 0,1 g y registrar este peso como W_t .
4. Colocar el material de biomasa en el recipiente seco a una profundidad máxima de 1 cm.
5. Pesar el recipiente y la biomasa con una precisión de 0,1 g y registrar este peso como W_i .
6. Coloque el recipiente y la biomasa en una estufa de secado manteniendo la temperatura a $45 \pm 3^\circ\text{C}$. Deje que el material se seque entre 24 y 48 h.
7. Retire el recipiente y la biomasa de la estufa de secado, coloquelos en un desecador y dejar que la muestra se enfríe a temperatura ambiente
8. Pesar el recipiente y la biomasa con una precisión de 0,1 g y registrar este peso como W_f .
9. Volver a introducir la muestra en la estufa de secado, mantener la muestra en la estufa de secado a $45 \pm 3^\circ\text{C}$ durante un mínimo de 4 h .
10. Retire el recipiente y la biomasa de la estufa de secado, coloquelos en un desecador y dejar que la muestra se enfríe a temperatura ambiente
11. Pesar cada muestra con una precisión de 0,1 mg y registrar este peso.
12. Volver a colocar las muestras en la estufa de secado a 45°C durante 1 h.
13. Sacar el recipiente y la biomasa de la estufa de secado, colocarlos en un desecador y dejar que la muestra se enfríe a temperatura ambiente.
14. Pesar cada muestra con una precisión de 0,1 mg y registrar este peso.

15. Repetir los pasos 12 a 14 hasta que el cambio en la masa de la biomasa sea inferior al 1% en una hora.

16. Utilizar los cálculos de la parte final para determinar los sólidos totales obtenidos con este método.

Procedimiento 3: Método C - Liofilización.

Nota: Este método es adecuado para biomasa muy húmeda con riesgo de crecimiento microbiano durante el secado, biomasa húmeda con riesgo de crecimiento microbiano durante el secado, biomasa húmeda con riesgo de crecimiento microbiano durante el secado, biomasa húmeda pretratada, muestras que no serían estables durante una exposición prolongada a condiciones ambientales, o para secar materiales cuando la humedad ambiental no permite que la muestra se seque al aire hasta alcanzar un contenido de humedad inferior al 10%, medido con LAP "Determinación de sólidos totales en biomasa y sólidos totales disueltos en muestras de procesos". Este método de ensayo también es adecuado para materiales sensibles al calor y que se degradarían si se sometieran a la estufa de secado del método de prueba B. Este método de secado es adecuado para muestras pequeñas de biomasa (<20 g).

- 1.** Pesar un recipiente liofilizador adecuado con una precisión de 0,1 g y registrar este peso como W_t .
- 2.** Colocar el material de biomasa en el recipiente. Para muestras sólidas, no llenar el contenedor más de la mitad. En el caso de materiales líquidos o en suspensión, limitar la muestra a la cantidad de material que proporcione un recubrimiento uniforme cantidad de material que proporcione una capa uniforme de unos 0,5 cm en las paredes del recipiente cuando se congele la muestra del recipiente cuando la muestra esté congelada.
- 3.** Pesar el recipiente y la biomasa con una precisión de 0,1 g y registrar este peso como W_i .
- 4.** Combinar el hielo seco y la acetona en un recipiente poco profundo adecuado para la congelación de conchas.
- 5.** Colocar el matraz de liofilización que contiene la muestra de biomasa en la mezcla de hielo seco y acetona. Girar lentamente el recipiente (10 r/min) para congelar el material y formar una capa uniforme en las paredes del recipiente.
- 6.** Colocar inmediatamente el recipiente en el liofilizador y dejar que el material se seque hasta que desaparezcan de la muestra todos los restos visibles de hielo y escarcha. Este proceso

suele durar 12 horas en el caso de muestras pequeñas (<20 g) y puede prolongarse más de 96 horas en el caso de muestras grandes (>250 g).

7. Retirar el recipiente y la biomasa del liofilizador.
8. Dejar que la muestra se caliente a temperatura ambiente.
9. Pesarse el recipiente y la biomasa con una precisión de 0,1 g y registrar este peso como Wf.
10. Utilizar los cálculos de la última parte para determinar los sólidos totales obtenidos con este método.

Ensayo 2: Moler la muestra seca y tamizarla si se desea.

Fresado

1. Introducir la biomasa secada al aire en el molino de cuchillas, y moler hasta que toda la muestra pase por medio de la malla de 2 mm en la parte inferior del molino, o una malla de 1 mm en molinos pequeños molinos.
2. Si la muestra preparada no se analiza inmediatamente después de la molienda por tamizado, la muestra debe guardarse en un recipiente hermético o en una bolsa de polietileno sellable y a -20°C hasta que se necesite.

Tamizado opcional

Nota: El tamizado puede realizarse si el contenido de cenizas según LAP "Determinación de cenizas en la biomasa" es elevado. El tamizado también puede realizarse si el tamaño homogéneo de las partículas es crítico. Sin embargo, sí debe analizarse toda la muestra de biomasa, el tamizado puede causar frecuentemente fraccionamiento y no debe realizarse.

1. Apile los tamices en el siguiente orden, empezando por abajo: bandeja de recogida de sólidos, tamiz de malla 80, tamiz de malla 20.
2. Colocar la biomasa molida en el tamiz de 20 mallas. La muestra no debe tener más de 7 cm de profundidad en el tamiz de 20 mallas. La muestra molida podrá procesarse en lotes si es necesario.
3. Colocar la tapa sobre la pila de tamices y fijar la pila en la tamizadora.
4. Agitar los tamices durante 15 ± 1 min.
5. La fracción retenida en el tamiz de 20 mallas (fracción de malla +20) deberá volver a procesarse (pasos del fresado) hasta que no quede biomasa en el tamiz de 20 mallas.
6. La fracción retenida en el tamiz de malla 80 (fracción de malla -20/+80) debe retenerse para el análisis de composición.

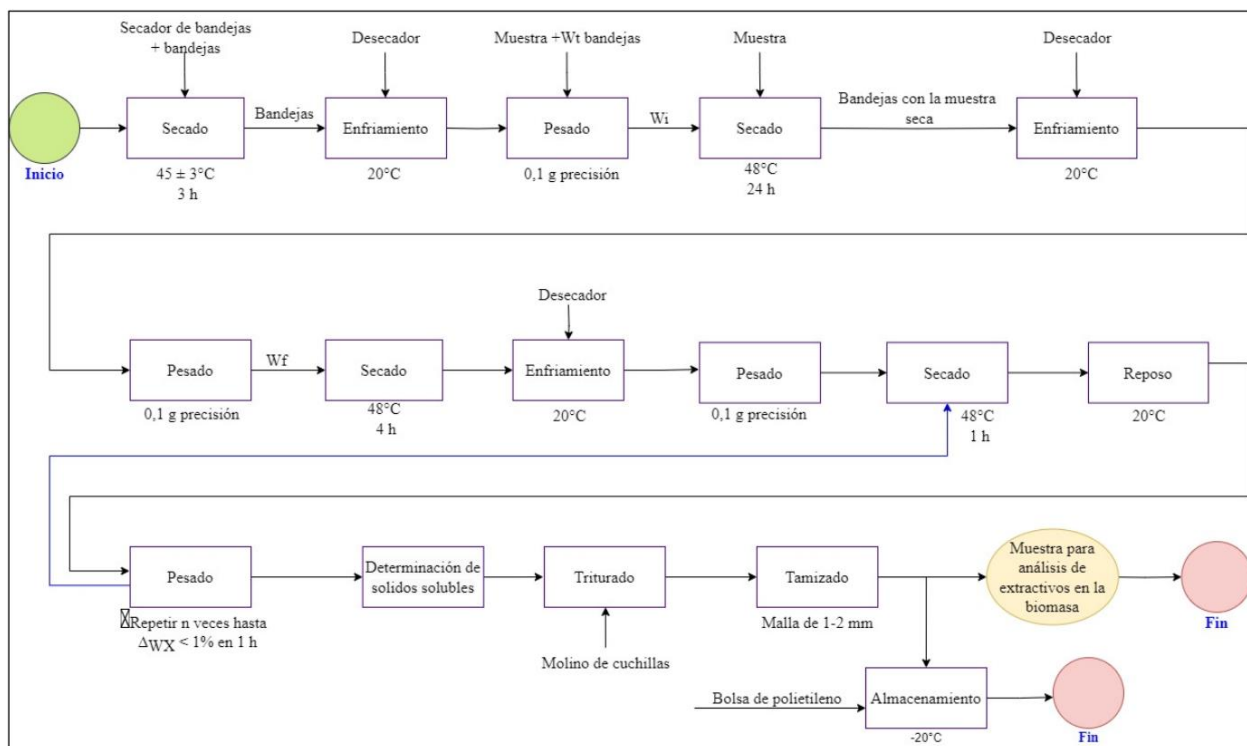
7. El material de la bandeja de recogida de sólidos es la fracción de finos (-80 mallas). Este para el análisis de cenizas.
8. Combinar todos los lotes de -20/+80 mallas. Pesar la fracción combinada de malla -20/+80 con una precisión de 0,1 g. Registrar el peso de la fracción de malla -20/+80 como Wt20/80.
9. Combinar todos los lotes de -80 malla. Pesar los finos combinados con una precisión de 0,1 g. Registrar el peso de la fracción de finos como Wt80.
10. Si se combinaron varias muestras tamizadas, deben homogeneizarse. Vierta la fracción de malla - 20/+80 en el muestreador de rejilla.
- ❖ La muestra debe distribuirse uniformemente en todas las aberturas del muestreador. Se utilizará una bandeja, deberá utilizarse un recipiente tan ancho como la abertura de la rejilla. Vierta la muestra uniformemente por todo el lado del recipiente y no desde el extremo o la esquina. No transfiera la muestra de biomasa desde un recipiente de boca estrecha, como un frasco.
11. Recombinar las submuestras rifadas.
12. Repita los pasos 10. al 11 un total de cuatro veces.
13. Determine el contenido total de sólidos (ST) tanto de la fracción de malla -20/+80 como de la fracción de utilizando LAP "Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples". Registrar los sólidos totales de la fracción de malla -20/+80 como TS 20/80. Registrar el contenido total de sólidos de los finos como TS-80.
14. Determine el contenido de cenizas de cada fracción utilizando LAP "Determinación de cenizas en Biomasa". Registrar el contenido de cenizas de la fracción de malla -20/+80 como Cenizas 20/80. Registrar el contenido de cenizas de los finos como Cenizas-80.
15. Si la muestra preparada no se analiza inmediatamente después de tamizarla y rizarla, la muestra debe almacenarse en un recipiente hermético o en una bolsa de polietileno sellable y a -20°C hasta que se necesite.

Bibliografía

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., y Crocker, D. (2008). *Preparation of Samples for Compositional Analysis: Laboratory Analytical Procedure (LAP) (Revised July 2011)*.

Anexos 1

Preparación de las muestras para el análisis composicional



Determinación de extractivos en la biomasa

Tiempo estimado: 8 horas

OBJETIVO

La eliminación de extractivos antes del análisis de carbohidratos y lignina mejora la precisión de esos métodos. La partición irreproducible de los extractivos introduce errores en esos métodos.

FUNDAMENTO TEÓRICO

Es necesario eliminar el material no estructural de la biomasa antes del análisis para evitar interferencias con los pasos analíticos posteriores. Este procedimiento utiliza un proceso de extracción en dos pasos para eliminar el material soluble en agua y en etanol. Los materiales solubles en agua pueden incluir material inorgánico, azúcares no estructurales y material nitrogenado, entre otros. El material inorgánico en el material soluble en agua puede proceder tanto de la biomasa como de cualquier material soluble que esté asociado a la biomasa, como el suelo o

el fertilizante. No se intenta de distinguir la fuente del material inorgánico. El material soluble en etanol incluye clorofila, ceras u otros componentes menores. Algunas biomásas pueden requerir ambas fases de extracción, mientras que otras biomásas sólo requieren una extracción exhaustiva de etanol.

MATERIALES Y REACTIVOS

Reactivos:

- Agua, grado HPLC
- Alcohol etílico, 190 grados, grado USP

Materiales

1. Materiales necesarios para la extracción Soxhlet

1.1 Matraces de ebullición, fondo redondo, 500 mL de capacidad, junta 24/40, igual al número de extracciones deseadas de extracciones deseadas

1.2 Fichas de ebullición de teflón o barras agitadoras (las barras agitadoras sólo pueden utilizarse con mantos calefactores equipadas con capacidad de agitación).

1.3 Papel de filtro de celulosa, de porosidad media, de tamaño adecuado

1.4 Embudos Buchner, para papel de diámetro igual o superior a 70 mm

1.5 Matraces aforados de 200 mL, necesarios sólo para la determinación de sacarosa

1.6 Desecador(es) con desecante, de volumen suficiente para alojar material de vidrio adecuado.

2. Materiales necesarios para la extracción automática

2.1 Frascos de recogida con tapas y septos, del tamaño adecuado para el volumen de células de extracción

2.2 Filtros de células de extracción, de fibra de vidrio o de polipropileno, cortados a medida si es necesario.

Equipos:

1. Balanza analítica, con una precisión de 1 mg o 0,1 mg.
2. Estufa de capacidad media a grande, regulada a 105 ± 5 °C para el secado del material de vidrio.
3. Estufa de vacío regulada a 40 ± 2 °C o estufa de secado regulada a 45 ± 2 °C.
4. Aparato de extracción, Soxhlet o automático
- 4.1 Aparato de extracción Soxhlet

4.4.1 Tubos de extracción Soxhlet de vidrio de tamaño adecuado (capacidad 85 ml).

4.1.2 Mantas calefactoras adecuadas para matraces de ebullición de 500 ml

4.1.3 Condensadores con accesorios adecuados para los tubos Soxhlet y una fuente de agua fría u otro sistema de refrigeración

4.1.4 Dedales de celulosa de algodón de espesor simple, de 94 mm de longitud exterior por 33 mm de diámetro interior (también pueden utilizarse dedales de Alundum, de porosidad media, del tamaño adecuado para el tubo Soxhlet). También pueden utilizarse tubos Soxhlet.

4.1.5 Trampa de evaporador rotativo de vidrio de 250 mL, opcional.

4.2 Aparatos para la extracción automática

4.2.1 Extractor de disolventes acelerado Dionex, modelo 200.

4.2.2 Cubetas de extracción, 11 ml

4.2.3 Filtros de vidrio o polipropileno de tamaño adecuado y varilla de apisonamiento. Polipropileno

puede utilizarse para cortar los filtros y puede adquirirse en Sigma-Aldrich, catálogo #Z557722, W 102 cm factor de permeabilidad actividad 60 cfm. Los filtros de polipropileno no deben utilizarse para disolventes incompatibles, como el hexano.

4.3 Evaporador, aparato de la lista o dispositivo equivalente adecuado para evaporar agua y etanol.

4.3.1 Evaporador rotativo con trampa y baño de agua regulado a 40 ± 5 °C

4.3.2 Sistema automático de eliminación de disolventes, como TurboVap II, con tubos adecuados

4.4 Analizador YSI con membranas adecuadas o método equivalente de cuantificación de sacarosa.

PROCEDIMIENTO

• Extraer la muestra - Sólo método Soxhlet:

- Secar los matraces de ebullición y demás material de vidrio pertinente (trampas de protuberancias y evaporador automático) en una estufa de secado a 105 ± 5 °C durante un mínimo de 12 horas.
- Retirar el material de vidrio y dejar que alcance la temperatura ambiente en un desecador. Añada piedras de ebullición (o barras agitadoras si se utilizan mantas calefactoras con capacidad de agitación) a los frascos, etiquételos claramente y registre el peso seco en estufa (PSO) con una precisión de 0,1 mg.

- Si se espera que se forme mucha espuma durante las extracciones de agua, también puede registrarse el PSO de las trampas de protuberancias, también puede registrarse.
- Añada de 2 a 10 g de muestra a un dedal de extracción tarado. Anote el peso con una precisión de 0,1 mg. La cantidad de muestra necesaria dependerá de la densidad aparente de la biomasa. La altura de la biomasa en el cartucho no debe superar la altura del sifón Soxhlet. Si la altura de la biomasa excede la altura del sifón, se producirá una extracción incompleta. Rotule el borde superior del dedal con un lápiz.
- Montar el aparato Soxhlet. Añadir una trampa de protuberancias de 250 mL entre el matraz receptor y el tubo Soxhlet para controlar la formación de espuma si es necesario. Introducir el dedal en el tubo Soxhlet.
 - **Analizar la muestra en busca de extractos de agua:**
- Añadir 190 ± 5 mL de agua de grado HPLC al matraz receptor tarado. Colocar el en el aparato Soxhlet. Ajustar las mantas calefactoras para proporcionar un mínimo de 4-5 ciclos de sifón por hora.
- Dejar refluir durante 6-24 horas. El tiempo de reflujo necesario dependerá de la tasa de eliminación de componentes de interés, la temperatura de los condensadores y la velocidad de sifón. En algunas biomاسas, como el rastrojo de maíz, el tiempo de reflujo suele ser de unas ocho horas, y cualquier resto de material soluble en agua se extraerá durante la extracción de etanol.
- Una vez finalizado el tiempo de reflujo, apague las mantas calefactoras y deje que la cristalería se enfríe a temperatura ambiente.
- Si se va a realizar una extracción sucesiva con etanol, dejar el dedal en el extractor Soxhlet, eliminando la mayor cantidad posible de agua residual del tubo Soxhlet. Si no es necesaria una extracción con etanol, se retira el cartucho y se transfieren los sólidos extraídos, lo más cuantitativamente posible, al tubo Soxhlet. Sólidos extraídos, lo más cuantitativamente posible, sobre papel de filtro de celulosa en un embudo Buchner. Lavar los sólidos con aproximadamente 100 mL de agua fresca de grado HPLC. Dejar secar los sólidos al vacío o al aire.
 - **Si se desea, analizar el extracto acuoso para determinar el contenido de sacarosa.**

- Una vez que el matraz receptor de agua haya alcanzado la temperatura ambiente, transfiera el agua a un matraz aforado de 200 mL. Llevar a volumen con agua de grado HPLC y mezclar bien. Extraer una alícuota de 10,00 mL de la solución. Analizar la alícuota utilizando un analizador YSI equipado con membranas apropiadas o un método equivalente de cuantificación de sacarosa equivalente. Vuelva a introducir los 190,00 mL restantes de extracto acuoso en el matraz receptor de agua en el matraz receptor de agua. Este volumen eliminado debe compensarse durante los cálculos.
- **Analizar la muestra en busca de extractos de etanol.**
- Añadir 190 + 5 mL de alcohol etílico de 190 grados al matraz receptor de etanol tarado. Colocar el matraz receptor en el aparato Soxhlet. Ajustar las mantas calefactoras para proporcionar un mínimo de 6-10 ciclos de sifón por hora.
- Dejar refluir durante 16-24 horas. El tiempo de reflujo necesario dependerá de la tasa de eliminación de componentes de interés, la temperatura de los condensadores y la velocidad de sifón.
- Una vez finalizado el tiempo de reflujo, apague las mantas calefactoras y deje enfriar la cristalería a enfriar a temperatura ambiente.
- Retirar el dedal y transferir los sólidos extraídos, lo más cuantitativamente posible sobre papel de filtro de celulosa en un embudo Buchner. Lavar los sólidos con aproximadamente 100 mL de etanol fresco de 190 grados. Dejar secar los sólidos mediante filtración al vacío o al aire.
- **Preparar el aparato para la extracción**
- Secar los tubos de recogida, pero no las tapas ni los septos de plástico, en una estufa de secado a 105 ± 5 °C durante un mínimo de 12 horas. Retirar el material de vidrio y dejarlo a temperatura ambiente en un desecador. Etiquetar claramente cada tubo y registrar el peso seco en estufa (PSO) con una precisión de 0,1 mg.
- Colocar dos filtros de vidrio de tamaño adecuado en el fondo de una cubeta de extracción etiquetada, apisonándolos de uno en uno. Se dispone de una varilla de apisonamiento para cada celda de extracción. Como alternativa, puede colocarse un único filtro de polipropileno del tamaño adecuado en el fondo de la celda de extracción. Puede utilizarse tela filtrante de polipropileno para cortar los filtros, y está disponible en

Sigma-Aldrich, catálogo #Z557722, W 102 cm factor de permeabilidad actividad 60 cfm. Los filtros de polipropileno no deben utilizarse para disolventes incompatibles como el hexano.

- Añada 1-10 g de muestra a una cubeta de extracción tarada. Registrar el peso con una precisión de 0,1 mg. La cantidad de muestra necesaria dependerá de la densidad aparente de la biomasa. No introduzca la biomasa apretada en el dedal, ya que esto puede interferir con la extracción completa. No utilice rellenos inertes para llenar el volumen muerto si se requiere un análisis posterior de la biomasa. Atornillar bien los extremos de la cubeta. Coloque la cubeta en el extractor automático, asegurándose de que el extremo con los filtros está en la parte inferior.

Analizar la muestra para determinar los extractos de agua y de etanol.

- **Determinación de extractivos orgánicos solubles en agua**

Para determinar los extractivos solubles en agua se sigue el procedimiento de la norma NREL/TP-510-42619, el cual se puede resumir de la siguiente manera:

1. Se toman aproximadamente 6 g de zoca previamente molida y seca, con una humedad inferior al 10%.
2. Se coloca el material a extraer dentro de un capuchón hecho con papel filtro, verificando que la biomasa no se salga del mismo.
3. Posteriormente se coloca el capuchón en un extractor tipo Soxhlet y se ajusta una plancha para garantizar el mayor intercambio de calor posible.
4. Se agrega 160 ml de agua al extractor y se genera una ebullición vigorosa.
5. Después de la ebullición, se seca el material sólido libre de extractivos.
6. El material se lleva a un desecador durante 1 hora.
7. Se calcula el porcentaje de masa libre de extractivos solubles en agua.
8. El agua que contiene los minerales y extractivos se lleva a rota evaporar para generar la evaporación del solvente.
9. Se determina la cantidad de extractivos por diferencia de peso en el balón.

- **Determinación de extractivos orgánicos solubles en etanol**

Para determinar los extractivos orgánicos, se sigue el procedimiento de la norma NREL/TP-510-42619, el cual se puede resumir de la siguiente manera:

1. Se toma el material libre de extractivos solubles en agua, obtenido previamente, y se realiza un proceso de extracción por método Soxhlet.

2. Se utiliza 160 mL de etanol al 96% (v/v) como solvente para la extracción.
 3. Se programa la plancha del extractor a una temperatura superior a la de ebullición del etanol, con el objetivo de realizar una ebullición energética.
 4. Después de este tratamiento, se lleva el sólido libre de extractivos a un horno para ser secado.
 5. Posteriormente, se coloca el material en un desecador para su enfriamiento y posterior pesaje.
 6. El etanol utilizado en la extracción se traslada a un rota evaporador para generar la recuperación del solvente y separarlo de los extractivos.
 7. La cantidad de extractivos se determina por la diferencia de peso inicial y final del balón, una vez que se ha evaporado el etanol.
- **Eliminar el disolvente de los extractos**
 - Combine cualquier disolvente del tubo Soxhlet con el disolvente del matraz receptor método Soxhlet. Para el método de extracción automática, retire los viales de recogida del instrumento
 - **El disolvente puede eliminarse del extracto utilizando cualquiera de los aparatos enumerados o un dispositivo equivalente adecuado para evaporar agua y etanol:**
 - Para eliminar el disolvente mediante un evaporador rotativo, utilice un evaporador rotativo equipado con un baño de agua a $40 + 5$ °C y una fuente de vacío. Transvasar el extracto a un matraz de ebullición de fondo redondo tarado. La fuente de vacío debe ser suficiente para eliminar el disolvente sin golpes extremos. Continuar eliminando disolvente hasta que desaparezca todo el disolvente visible.
 - Para eliminar el disolvente con un TurboVapII, transfiera el extracto a un tubo tarado TurboVap si es necesario, ajuste la presión de entrada a 15 - 18 psi y ajuste el baño de agua a 40 °C baño de agua a 40 °C. Continúe eliminando disolvente hasta que desaparezca todo el disolvente visible.
 - Colocar el matraz o el tubo en una estufa de vacío a $40 + 2$ °C durante 24 horas. Enfriar a temperatura ambiente en un desecador. Pesar el matraz o el tubo y registrar el peso con una precisión de 0,1 mg. Si es necesario, este paso puede realizarse también en la trampa de grumos para cuantificar el extracto restante en la trampa.

Ecuaciones

$$\% \text{masa sin extractivos} = \frac{m \text{ seca con recipiente} - \text{peso recipiente}}{(\text{muestra inicial})} *$$

%muestra libre de humedad. (1)

$$\% \text{extractivos} = \frac{\text{peso balon mas extractivos} - \text{peso balon}}{\text{muestra}} * \% \text{muestra libre de humedad}$$

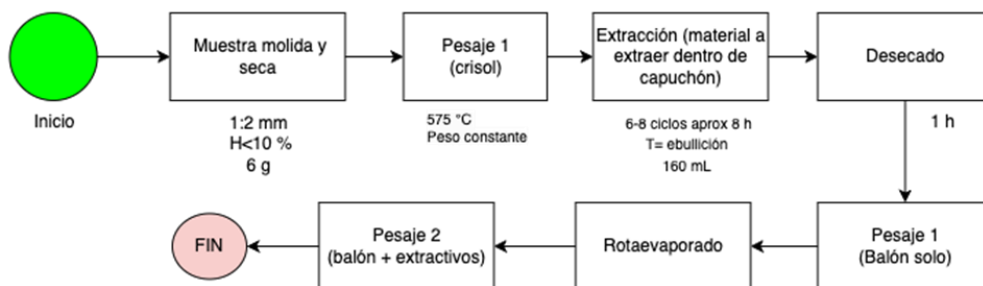
Bibliografía

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., y Crocker, D. (2008). Determination of Extractives in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP) (Revised July 2011).

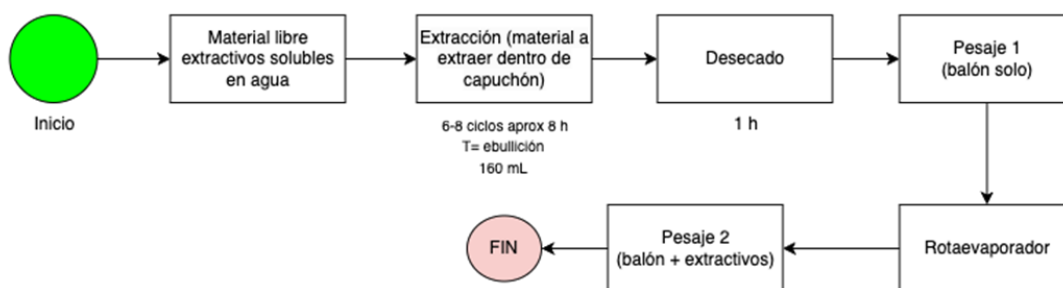
Anexos 2

Determinación de extractivos en biomasa

Determinación de extractivos orgánicos solubles en agua



Determinación de extractivos orgánicos solubles en etanol



Anexos 3 Metodología para la determinación de cenizas en la biomasa

Determinación de cenizas

OBJETIVOS

- ✓ Enumerar procedimientos adecuados para la determinación de cenizas en la biomasa.
- ✓ Abordar el muestreo representativo de muestras de biomasa.

INTRODUCCIÓN

La cantidad de material inorgánico en la biomasa ya sea estructural o extraíble, debe medirse como parte de la composición total. La ceniza estructural es el material inorgánico que está ligado a la estructura física de la biomasa, mientras que la ceniza extraíble es el material inorgánico que puede eliminarse lavando o extrayendo el material. La ceniza extraíble puede ser el resultado de restos de tierra en la biomasa. Este procedimiento es sustancialmente similar al Método Estándar ASTM Número E1755-01 "Método estándar para la determinación de cenizas en biomasa". Este método de ensayo cubre la determinación de cenizas, expresada como el porcentaje de residuo

que queda después de la oxidación seca entre 550 y 600°C. Todos los resultados se refieren al 105°C peso seco en estufa de la muestra.

MARCO TEÓRICO

Peso seco al horno (PSO): peso de la biomasa corregido matemáticamente por la cantidad de humedad presente en la muestra en el momento del pesaje. de humedad presente en la muestra en el momento del pesaje

Biomasa preparada: biomasa preparada de acuerdo con LAP "Preparación de Muestras para Biomass Compositional Analysis".

Ceniza: El residuo inorgánico que queda después de la oxidación seca a 575°C.

MATERIALES Y REACTIVOS

Materiales y equipos:

1. Horno de mufla, equipado con un termostato, ajustado a 575 ± 25 °C o equipado con un programa de rampa opcional.
2. Balanza analítica, con una precisión de 0,1 mg.
3. Desecador con desecante
4. Crisoles de cenizas, 50 mL, porcelana, sílice o platino
5. Marcadores de porcelana, alta temperatura, o método equivalente de marcado de crisoles
6. Quemador de cenizas, fuente de ignición, pinzas y triángulo de arcilla con soporte
7. Horno de secado por convección, con control de temperatura de 105 ± 3 °C, opcional
- 8.

PROCEDIMIENTO

1. Con un rotulador de porcelana, marcar un número adecuado de crisoles con identificadores y coloquelos en el horno de mufla a 575 ± 25 °C durante un mínimo de cuatro horas.
2. Saque los crisoles del horno y pasarlos directamente a un desecador. Si se utiliza un horno ajustado a 575 ± 25 °C, enfriar durante un período de tiempo determinado, se recomienda una hora.
3. Registrar el tiempo de enfriamiento. Pesar los crisoles con una precisión de 0,1 mg y anotar este peso.
4. Volver a introducir la muestra en el horno de mufla a 575 ± 25 °C y secar hasta peso constante.

5. En un crisol se deposita 1 g de muestra en una mufla, se calienta columna rampa de calentamiento de 10 °C/ min desde 20°C hasta 105°C se conserva la temperatura durante 12 minutos
6. Después de esto se realiza una segunda rampa de 10 °C / min desde 105 °C hasta 250 °C conservando esta temperatura durante 30 minutos.
7. Rampa a 575 °C a 20 °C / minuto, mantener a 575 °C durante 180 minutos.
8. Dejar que la temperatura descienda a 105 °C.
9. Mantener a 105 °C hasta que se retiren las muestras.
10. Se pone en un desecador por 1 h.
11. Pesarse los crisoles y la ceniza con una precisión de 0,1 mg y registrar el peso.
12. Colocar de nuevo la muestra en el horno de mufla a $575 \pm 25^{\circ}\text{C}$ y la ceniza hasta peso constante.
13. Determinar la diferencia de pesos.

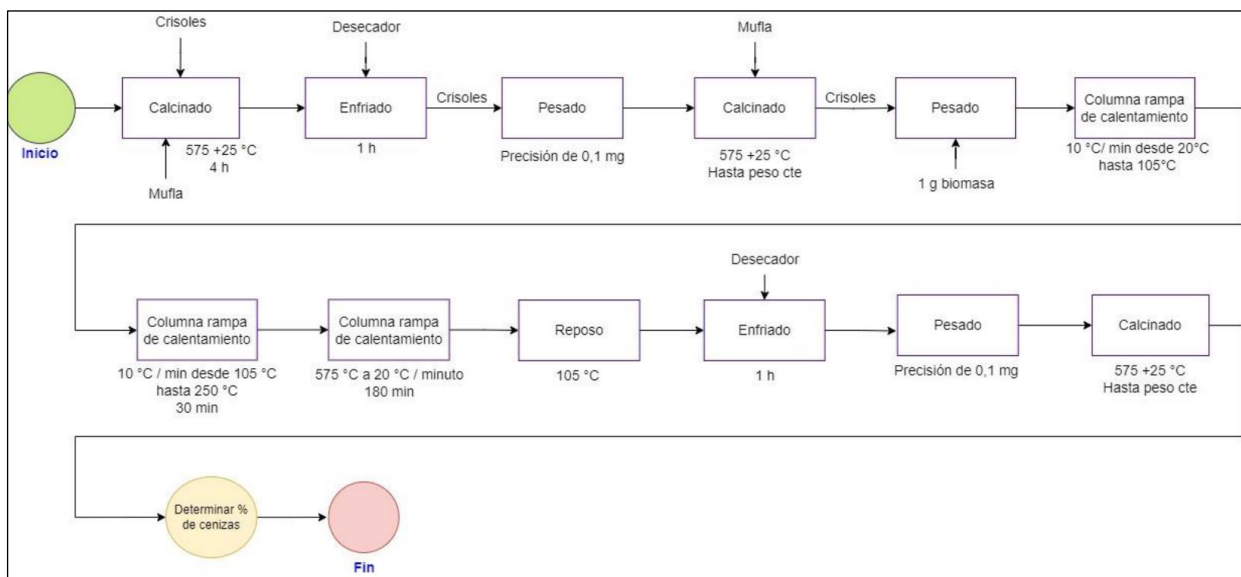
$$\% \text{ Cenizas} = \frac{M \text{ cenizas con recipiente} - \text{peso de recipiente}}{\text{masa inicial}} * 100$$

Bibliografía

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., y Crocker, D. (2008). *Determination of Ash in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP)*. <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42622.pdf>

Anexos 3

Determinación de cenizas



Anexos 4 Metodología determinación de carbohidratos estructurales y lignina en la biomasa

Determinación de carbohidratos estructurales y lignina en la biomasa.

Tiempo estimado: 6 horas

OBJETIVOS

- ✓ Determinar la cantidad de carbohidratos totales presentes en una muestra de 3 tipos de pastos por el método cromatográfico HPLC.
- ✓ Evaluar y comparar el contenido de carbohidratos presentes en una muestra de 3 tipos de pastos con la reportada por la literatura.

FUNDAMENTO TEÓRICO

Los carbohidratos y la lignina constituyen una parte importante de las muestras de biomasa. Estos constituyentes deben medirse como parte de un análisis completo de la biomasa.

Todos los azúcares como oligosacáridos y polisacáridos pueden ser determinados, recordando que éstos bajo hidrólisis ácida producen monosacáridos. La forma en que procede la reacción no

es estequiométrica y depende de la estructura del azúcar, por lo tanto, se realiza una curva patrón. (Nielsen, 1998).

MATERIALES Y REACTIVOS

Reactivos: Ácido sulfúrico, 72% p/p (gravedad específica 1,6338 a 20°C), Carbonato cálcico, grado reactivo ACS, Agua purificada filtrada 0,2 μm .

→ Estándares de alta pureza:

D-cellobiosa, D(+)glucosa, D(+)xilosa, D(+)galactosa, L(+)arabinosa y D(+)manosa. Segundo juego de patrones de alta pureza, como los enumerados anteriormente, de una fuente diferente (fabricante o lote), que se utilizará para preparar patrones de verificación de la calibración (CVS).

Materiales

1. Estándar de control de calidad, bien caracterizada de composición similar a las muestras que se están analizando, Tubos de presión, capacidad mínima de 90 mL, de vidrio, con tapones de teflón a rosca y juntas tóricas (tubo Ace glass # 8648-30 con tapón #5845-47, o equivalente).
2. Varillas agitadoras de teflón de tamaño adecuado para encajar en los tubos de presión y aproximadamente 5 cm más largas que los tubos de presión.
3. Cisoles de filtración, 25 mL, porcelana, porosidad media, Coors #60531 o equivalen.
4. Cisoles filtrantes, 25 mL, porcelana, porosidad media, Coors #60531 o equivalente.
5. Botellas, boca ancha, 50 mL
6. Matraces de filtración, 250 mL
7. Matraces Erlenmeyer, 50 mL
8. Pipetas ajustables, cubriendo rangos de 0,02 a 5,00 mL y 84,00 mL
9. Papel de pH, rango 4-9
10. Jeringas desechables, 3 mL, equipadas con filtros de jeringa de 0,2 μm
11. viales de automuestreador con cierres superiores de engarce para encajar.

Equipos:

1. Balanza analítica, con una precisión de 0,1 mg.
2. Horno de secado por convección, con control de temperatura de 105 ± 3 °C.
3. Horno de mufla, equipado con un termostato, ajustado a 575 ± 25 °C o equipado con un programa de rampa opcional.

4. Baño de agua, regulado a 30 ± 3 °C.
5. Autoclave, adecuado para autoclavar líquidos, ajustado a 121 ± 3 °C.
6. Instalación de filtración, equipada con una fuente de vacío y adaptadores de vacío para crisoles.
7. Desecador con desecante.
8. Sistema HPLC equipado con detector de índice de refracción y las siguientes columnas:
 - Columna Shodex Sugar SP0810 o Biorad Aminex HPX-87P (o equivalente) con columna de guarda desgasificadora de forma iónica H⁺/CO₃.
 - Columna Biorad Aminex HPX-87H (o equivalente) equipada con una columna de guarda adecuada.
9. Espectrofotómetro UV-Visible, matriz de diodos o de longitud de onda única, con cubetas de cuarzo de alta pureza de alta pureza de 1 cm de longitud de paso.
10. Bureta automática, capaz de dispensar 84,00 mL de agua, opcional.

PROCEDIMIENTO

Ensayo 1: Preparar la muestra para análisis e hidrolizar

1. Marque y coloque un número adecuado de crisoles de filtración en el horno de mufla a 575 ± 25 °C por 4 h. Retire los crisoles del horno directamente en un desecador y enfríe durante 1 h. Pese los crisoles con una precisión de 0,1 mg y registre este peso. **No marque el fondo del crisol de filtración** con un marcador de porcelana, ya que esto impediría la filtración.
 2. Volver a introducir el crisol en el horno de mufla a 575 ± 25 °C y calcinar hasta peso constante. (El peso constante se define como un cambio inferior a $\pm 0,3$ mg en el peso tras una hora de recalentamiento del crisol).
 3. Pesar $300,0 \pm 10,0$ mg de la muestra o del patrón de control de calidad en un tubo de presión tarado.
 4. Registrar el peso con una precisión de 0,1 mg. Rotular el tubo de presión con un rotulador permanente. LAP "Determinación de sólidos totales en la biomasa" debe realizarse al mismo tiempo, para medir con precisión el porcentaje de sólidos para la corrección.
- ❖ Cada muestra debe analizarse por triplicado, como mínimo. El tamaño de lote recomendado es de tres a seis muestras y un patrón de control de calidad, todas ellas analizadas por duplicado.

5. Añadir $3,00 \pm 0,01$ mL (o $4,92 \pm 0,01$ g) de ácido sulfúrico al 72% a cada tubo de presión. Utilice una varilla agitadora de teflón para mezclar durante un minuto, o hasta que la muestra esté bien mezclada.
6. Coloque el tubo de presión en un baño de agua a 30 ± 3 °C e incube la muestra durante 60 ± 5 min. Usando la varilla de agitación, mezclar la muestra cada 5 a 10 min sin sacar la muestra del baño. (La agitación es esencial para garantizar un contacto uniforme del ácido con las partículas y una hidrólisis uniforme).
7. Una vez completada la hidrólisis de 60 min, retire los tubos del baño de agua. Diluya el ácido a una concentración del 4 % agregando $84,00 \pm 0,04$ mL de agua desionizada con una bureta automática. La dilución también se puede hacer agregando $84,00 \pm 0,04$ g de agua purificada utilizando una balanza con una precisión de 0,01 g.

★ **Nota:** El volumen de la solución al 4 % será de 86,73 ml, como se demuestra en los siguientes cálculos

- Density 72% $\text{H}_2\text{SO}_4 = d_{72\% \text{H}_2\text{SO}_4} = 1.6338$ g/mL
 Density $\text{H}_2\text{O} = d_{\text{H}_2\text{O}} = 1.00$ g/mL
 Density 4% $\text{H}_2\text{SO}_4 = d_{4\% \text{H}_2\text{SO}_4} = 1.025$ g/mL
1. The weight of 3.00 mL 72% H_2SO_4 is:
 $3.00 \text{ mL } 72\% \text{ H}_2\text{SO}_4 \times d_{72\% \text{H}_2\text{SO}_4} = 4.90 \text{ g } 72\% \text{ H}_2\text{SO}_4$
 2. The composition of 3 mL of 72% H_2SO_4 is:
 $4.90 \text{ g } 72\% \text{ H}_2\text{SO}_4 \times 72\% \text{ (acid wt)} = 3.53 \text{ g acid}$
 $4.90 \text{ g } 72\% \text{ H}_2\text{SO}_4 \times 28\% \text{ (water wt)} = 1.37 \text{ g water}$
 3. The concentration of H_2SO_4 after dilution is:
 $3.53 \text{ g acid} / (84.00 \text{ g H}_2\text{O} + 4.90 \text{ g } 72\% \text{ H}_2\text{SO}_4) = 3.97\% \text{ H}_2\text{SO}_4 \text{ (w/w)}$
 4. The total volume of solution present after dilution is:
 $(4.90 \text{ g H}_2\text{SO}_4 + 84.00 \text{ g H}_2\text{O}) \times (d_{4\% \text{H}_2\text{SO}_4})^{-1} = 86.73 \text{ mL}$

8. Atornille bien las tapas de teflón. Mezcle la muestra invirtiendo el tubo varias veces para eliminar la separación de fases entre las capas de ácido de alta y baja concentración.
9. Preparar un conjunto de estándares de recuperación de azúcares (SRS), deben incluir D-(+)glucosa, D-(+)xilosa, D-(+)galactosa, -L-(+)arabinosa y D-(+)manosa, debe ser lo más cercanos a los azúcares de la muestra problema.
10. Pesar las cantidades de cada azúcar, con una precisión de 0,1 mg, y añada 10,0 mL de agua desionizada. Añada 348 μL de ácido sulfúrico al 72%.
11. Transferir el SRS a un tubo de presión y tapar herméticamente.
12. Coloque los tubos en una rejilla segura para autoclave y coloque la rejilla en el autoclave. Esterilice en autoclave las muestras selladas y los estándares de recuperación de azúcar

durante 1 h a 121 °C, generalmente en la configuración de líquidos. Después de completar el ciclo de autoclave, deje que los hidrolizados se enfríen lentamente hasta casi la temperatura ambiente antes de quitar las tapas.

Ensayo 2: Analice la muestra en busca de lignina insoluble en ácido

1. Filtrar al vacío la solución de hidrólisis autoclavada a través de uno de los crisoles filtrantes. Capturar el filtrado en un matraz de filtrado.
2. Transfiera una alícuota, aproximadamente 50 ml, a una botella de almacenamiento de muestras. Esta muestra se utilizará para determinar la lignina soluble en ácido, así como los carbohidratos y el acetilo si es necesario. La determinación de lignina soluble en ácido debe realizarse dentro de las 6 horas posteriores a la hidrólisis.
3. Use agua desionizada para transferir cuantitativamente todos los sólidos restantes del tubo de presión al crisol de filtración.
4. Enjuague los sólidos con un mínimo de 50 mL de agua desionizada fresca. Se puede usar agua desionizada caliente en lugar de agua a temperatura ambiente para disminuir el tiempo de filtración.
5. Secar el crisol y el residuo insoluble en ácido a 105 ± 3 °C hasta peso constante por 4h
6. Retire las muestras del horno y enfríe en un desecador. Registre el peso del crisol y el residuo seco con una precisión de 0,1 mg.
7. Colocar los crisoles y el residuo en la mufla a 575 ± 25 °C durante 24 ± 6 horas.
8. Retire con cuidado el crisol del horno directamente en un desecador y enfríe durante un tiempo específico, igual al tiempo de enfriamiento inicial de los crisoles.
9. Pese los crisoles y la ceniza con una precisión de 0,1 mg y registre el peso.
10. Vuelva a colocar los crisoles en el horno y caliéntelos hasta un peso constante. (La cantidad de cenizas insolubles en ácido no es igual a la cantidad total de cenizas en la muestra de biomasa.

Ensayo 3: Analice la muestra en busca de lignina soluble en ácido

1. Al líquido filtrado producido en la hidrólisis se aplica el método de espectroscopía UV-VIS a 205 nm. Para poder determinarla.
2. Se procede a una determinación de la concentración por medio de la absorbancia, dado que conocemos la absortividad de la lignina soluble, la cual es constante.
3. Se utiliza el procedimiento propuesto por el Laboratorio Nacional de Energía Renovable

(NREL), para lo cual la celda de medición debe tener 1x1 cm de longitud y se debió de disponer de una solución al 4 % (v/v) de H₂SO₄, la cual se emplea como muestra de blanco.

4. Los cálculos requeridos son los siguientes:

$$\% (w/w) ASL = \frac{\frac{A}{b \cdot a} \cdot df \cdot V \cdot \frac{L}{1000 \text{ mL}}}{\frac{WT_{final}}{100}} \cdot 100\%$$

Donde:

A: Absorbancia a 205 nm.

df: Factor de dilución.

b: Longitud de la celda, 1 cm.

Ensayo 4: Analice la muestra en busca de carbohidratos estructurales

1. Preparar una serie de estándares de calibración que contengan los compuestos que se van a cuantificar, refiriéndose a la Tabla 1 para el rango de concentración sugerido. Utilice una calibración de cuatro puntos. Si los estándares se preparan fuera de los rangos sugeridos, se debe validar el nuevo rango para estas curvas de calibración.

★ **Tabla 1:** Rangos de concentración sugeridos para los estándares de calibración.

Component	Suggested concentration range (mg/ml)
D-cellobiose	0.1–4.0
D(+)-glucose	0.1–4.0
D(+)-xylose	0.1–4.0
D(+)-galactose	0.1–4.0
L(+)-arabinose	0.1–4.0
D(+)-mannose	0.1–4.0
CVS	Middle of linear range, concentration not equal to a calibration point (2.5 suggested)

- No se requiere un nuevo conjunto de estándares para cada análisis. Se puede producir un gran lote de estándares, filtrar a través de filtros de 0,2 μm en el muestreador automático.
- Preparar un estándar de verificación de calibración (CVS) independiente para cada conjunto de estándares de calibración.
- Utilice reactivos de una fuente o lote distintos a los utilizados en la preparación de los estándares de calibración.
- Prepare el CVS a una concentración que se encuentre en el medio del rango validado de la

curva de calibración.

6. El CVS debe analizarse en HPLC después de cada conjunto de calibración ya intervalos regulares a lo largo de la secuencia, agrupando grupos de muestras.
7. El CVS se utiliza para verificar la calidad y la estabilidad de la(s) curva(s) de calibración a lo largo de la ejecución.
8. Usando el licor de hidrólisis obtenida en el paso 2 ensayo 2, transfiera una alícuota de aproximadamente 20 mL de cada licor a un matraz Erlenmeyer de 50 mL.
9. Use carbonato de calcio para neutralizar cada muestra a pH 5–6.
10. Evite neutralizar a un pH superior a 6 controlando con papel de pH.
11. Agregue el carbonato de calcio lentamente después de alcanzar un pH de 4.
12. Agite la muestra con frecuencia. Después de alcanzar un pH de 5 a 6, detenga la adición de carbonato de calcio, deje que la muestra se asiente y decante el sobrenadante.
13. El pH del líquido después de la sedimentación será de aproximadamente 7. (Nunca se debe permitir que las muestras superen un pH de 9, ya que esto provocará una pérdida de azúcares).
14. Prepare la muestra para el análisis HPLC pasando el líquido decantado a través de un filtro de 0,2 μm hacia un vial de automuestreador.
15. Selle y etiquete el vial.
16. Prepare cada muestra por duplicado, reservando uno de los duplicados para su posterior análisis si es necesario.
17. Si es necesario, las muestras neutralizadas pueden almacenarse en el refrigerador durante tres o cuatro días.
18. Después de este tiempo, las muestras deben considerarse comprometidas debido al posible crecimiento microbiano.
19. Después del almacenamiento en frío, revise las muestras para detectar la presencia de un precipitado.
20. Las muestras que contengan un precipitado deben volver a filtrarse, mientras aún están frías, a través de un filtro de 0,2 μm .

Ensayo 4: Analice los estándares de calibración, el CVS y las muestras mediante HPLC utilizando una columna Shodex sugar SP0810 o Biorad Aminex HPX-87P equipada con la precolumna adecuada.

1. Condiciones de HPLC:

- Volumen de inyección: 10–50 μL , dependiendo de la concentración y los límites del detector
- Fase móvil: Agua de grado HPLC, 0,2 μm filtrada y desgasificada
- Velocidad de flujo: 0,6 mL/minuto
- Temperatura de la columna: 80–85 °C
- Temperatura del detector: lo más cercano a temperatura de la columna como sea posible
- Detector: índice de refracción
- Tiempo de ejecución: 35 minutos **Nota:** La precolumna de eliminación de cenizas debe colocarse fuera de la unidad de calentamiento y mantenerse a temperatura ambiente. Esto evitará picos de artefactos en el cromatograma.
- Verifique los cromatogramas de las muestras de prueba para detectar la presencia de celobiosa y azúcares oligoméricos
- Los niveles de celobiosa superiores a 3 mg/mL indican una hidrólisis incompleta. Las muestras frescas deben hidrolizarse y analizarse.
- Verifique los cromatogramas de las muestras de prueba para detectar la presencia de picos que eluyen antes que la celobiosa (tiempo de retención de 4 a 5 minutos usando las condiciones recomendadas).
- Estos picos pueden indicar altos niveles de productos de degradación del azúcar en la muestra anterior, lo que es indicativo de una hidrólisis excesiva.
- Todas las muestras de lotes que muestren evidencia de sobre hidrólisis deben tener muestras frescas hidrolizadas y analizadas.

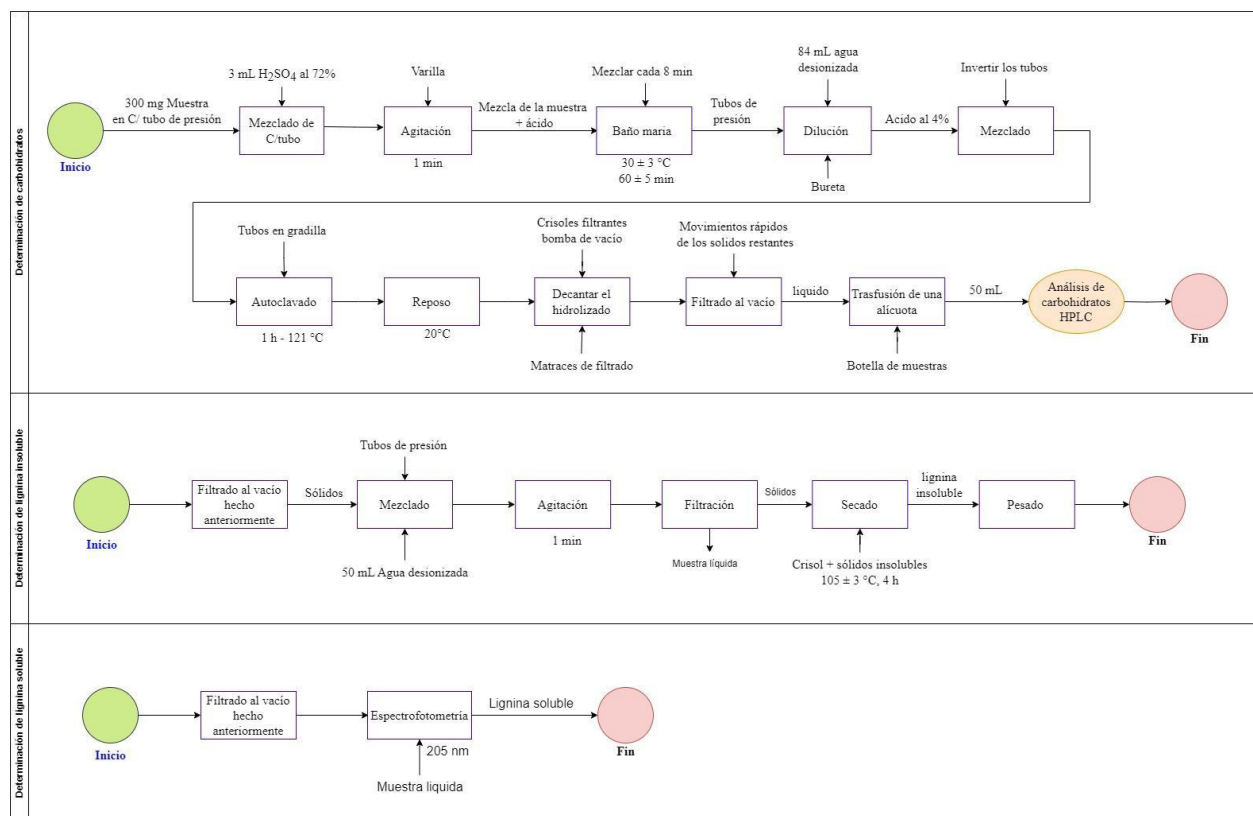
Bibliografía

Morales, O. V. (2015). “Etanol lignocelulósico, a partir de cascarilla de café, por medio de hidrólisis química-enzimática y fermentación.”

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., y Crocker, D. (2008). Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP) (Revised July 2011)

Anexos 4

Determinación de carbohidratos estructurales y lignina en la biomasa



Anexos 5 Metodología determinación de la cantidad en porcentaje de la holocelulosa, hemicelulosa y celulosa en biomasa

Determinación de la cantidad en porcentaje de la holocelulosa, hemicelulosa y celulosa en biomasa

Tiempo estimado: 7 h

OBJETIVOS

- ✓ Cuantificar holocelulosa, de acuerdo con las normas establecidas por la American Standard Testing Materials (ASTM) ASTM 1104 y hemicelulosa y celulosa ASTM 1695-77.
- ✓ Enumerar procedimientos adecuados para la cuantificación de holocelulosa, hemicelulosa y celulosa en materias primas de biomasa y una variedad de materiales derivados de la biomasa.

MARCO TEÓRICO

La holocelulosa es el término utilizado para referirse al total de los carbohidratos, celulosa y

hemicelulosas. La muestra debe estar libre de extraíbles. El resultado se expresa como el porcentaje respecto al peso inicial en base seca de la biomasa. Se considera holocelulosa al producto obtenido después de la resignificación de la muestra. Las determinaciones de holocelulosa van desde valores altos porque todavía tienen lignina o a valores bajos porque hay pérdida de hemicelulosas.

MATERIALES Y REACTIVOS

Reactivos:

- Ácido acético (63mL) y clorito de sodio (12 g), acetona, 75 mL de NaOH al 17.5%.

Materiales

1. 3 matraces Erlenmeyer de 250 mL
2. Vidrio de reloj
3. 6 Crisoles (Filtro Gooch de porosidad fina)
4. Filtros
5. Muestra libre de extraíbles
6. 3 Crisoles

Equipos:

1. Plancha de calefacción
2. Balanza de 0,01 g de precisión
3. Desecador

PROCEDIMIENTO

Ensayo 1: Determinación de la cantidad en porcentaje de la holocelulosa norma ASTM D 1104

1. Se toman 2 gramos de muestra sin extractivos en un matraz erlenmeyer de 250 mL y se le adicionan 80 mL de agua destilada caliente, seguido de 0.5 mL de ácido acético y 1 g de clorito de sodio.
- 2- La mezcla anterior se cubre con un vidrio de reloj y se calienta en baño maría a una temperatura de aproximadamente 70-80°C durante 45 minutos, agitando de vez en cuando.

3- Luego de este tiempo se agrega nuevamente 0.5 ml de ácido acético y 1g de clorito de sodio y así sucesivamente cada 45 minutos. La adición de estos dos reactivos se hace un total de 4 veces incluyendo la inicial.

4- Terminado el tratamiento, se enfría en agua helada y se filtra la holocelulosa obtenida en un crisol (filtro gooch de porosidad fina) previamente pesado, se lava el residuo con agua destilada fría o acetona.

5- Se seca en la estufa a $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta peso constante. Se enfría en un desecador y se pesa en balanza a 0.01 g de precisión.

Se determina el porcentaje de holocelulosa, siendo el peso final. El porcentaje se define por la siguiente fórmula:

$$\text{Holocelulosa (\%)} = \frac{\text{Peso de holocelulosa}}{\text{Peso seco de la muestra sin extractivos}} \times 100 \%$$

El resultado se expresa como porcentaje respecto al peso inicial en base seca

Ensayo 2: Determinación de la cantidad en porcentaje de hemicelulosa y celulosa, norma ASTM 1695-77.

1. Se toman 2 g de holocelulosa libre de extractivos y se agregan 10 mL de NaOH al 17.5% a una temperatura constante de 20°C en un baño termorregulado. Después de 2 minutos se agregan 5 mL de la solución de NaOH en intervalos de 5 minutos hasta completar 25 mL de NaOH en total incluyendo la cantidad inicial.

2. Se deja la mezcla a 20°C durante 30 min, para un total de 45 min.

3. Pasados los 45 minutos, se agregan 33 mL de agua destilada a 20°C y el sólido se deja reposar por 1 hora antes de filtrar. Se usan crisoles gooch para llevar a cabo la filtración, lavando con agua destilada.

4. Luego a la celulosa recogida en el crisol se le agregan 15 mL de ácido acético al 10%. El ácido es retirado, pero no en su totalidad, solo para que el sólido celulósico quede ligeramente cubierto por 3 minutos.

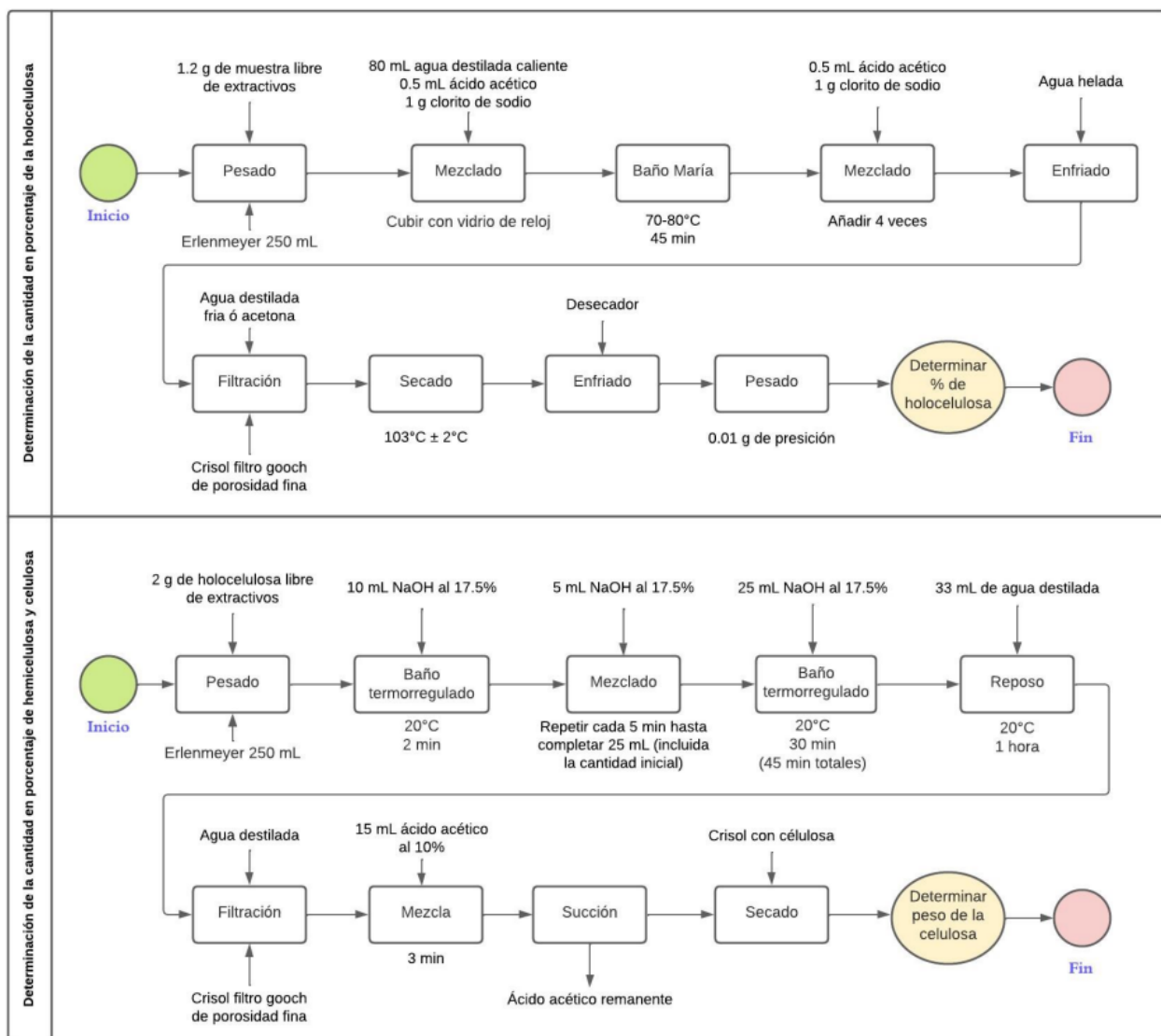
5. Posteriormente se retira el ácido acético remanente por succión y se efectúan lavados hasta que la concentración de ácido sea la mínima posible.

6. Por último, se seca el crisol con la celulosa. El peso de celulosa se determina como la diferencia entre el peso del crisol con sólidos y el peso del crisol vacío.

La hemicelulosa se determina haciendo la diferencia entre la cantidad inicial de libre de extractivos y la cantidad de celulosa determinada aplicando la metodología anterior.

Anexos 5

Determinación de la cantidad en porcentaje de la holocelulosa, hemicelulosa y celulosa en biomasa



Bibliografía

Vásquez, O. (2015). *Etanol lignocelulósico, a partir de cascarilla de café, por medio de hidrólisis química-enzimática y fermentación.*

Daza, S. (2019). *Viabilidad en aprovechamiento de los desechos generados en un restaurante de la sabana de Bogotá.*

Cronograma

En el **Anexos 6** se describe las actividades y el tiempo que se asignará a cada una de las actividades durante los 17 meses en el que se realizó el proyecto, el cual dio inicio en el mes de febrero de 2023 y que da por terminado en mayo de 2024.

Anexos 6

Cronograma de actividades

		CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES																		
Objetivos	Actividades	Meses	ene-23	feb-23	mar-23	abr-23	may-23	jun-23	jul-23	ago-23	sep-23	oct-23	nov-23	dic-23	ene-24	feb-24	mar-24	abr-24	may-24	
1. Caracterizar químicamente el residuo de caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i>) para determinar el contenido de carbohidratos y lignina	Búsqueda bibliográfica	17																		
	Obtención de materiales (bagazo de caña de azúcar BC)	1																		
	Adecuación de MP	1																		
	Caracterización química del material (bagazo de caña de azúcar BC) con metodo NREL y DNS	3																		
	Análisis de resultados parciales 1	1																		
2. Establecer el pretratamiento y las condiciones adecuadas para la deslignificación del bagazo de caña panelera (<i>Saccharum officinarum</i>).	Identificar los pretratamiento y codiciones más efectivas	1																		
	Desarrollo del diseño experimental (temperaturas, tiempo y concentraciones de reactivo : MP)	1																		
	Análisis de resultados y optimización por RMS	1																		
	Validación de las mejores condiciones	1																		
	Elaboración de guías de laboratorio por metodo NREL y ASTM para caracterización de biomasa y cuantificación de lignina	1																		
3. Obtener etanol mediante una fermentación con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> a partir de azúcares reductores generados en un proceso simultáneo de sacarificación	Mediante bibliografía determinar las condiciones adecuadas para el proceso de sacarificación y fermentación en simultaneo SSF	1																		
	Producción de bioetanol a condiciones identificadas	1																		
	Cálculo de rendimiento de producción de bioetanol	1																		
	Determinar la pureza del alcohol mediante HPLC	1																		
4. Evaluar la capacidad de producción de furfural a partir de la fracción líquida del pretratamiento.	Producción de furfural con la fase líquida del pretratamiento utilizando solvente tolueno	1																		
	Cuantificar furfural por HPLC	1																		
	Redacción de artículo científico "Optimización del pretratamiento alcalino para la solubilización de lignina en bagazo de caña empleando un Diseño Box-Behnken "	1																		
	Redacción del documento final	17																		

Presupuesto

En el **Anexos 7** se encuentra el presupuesto requerido para el desarrollo del proyecto.

Anexos 7

Presupuesto

Descripción	Unidad	Número de unidades	Costo unitario COP	Fuente de financiación			
				Estudiante		Universidad Mariana	
				Efectivo	Contrapartida	Efectivo	Contrapartida
Fotocopias/Impresiones	Hojas	400	\$ 300	\$ 120.000			
Papelería	Unitario	10	\$ 2.000	\$ 20.000			
EXPERIMENTACION (Materia prima)							
Bagazo de caña panelera (Saccharum officinarum).	Kg	1	\$ 30.000	\$ 30.000			
EXPERIMENTACION (Materiales y equipos de laboratorio)							
Filtros 0,45 µm	Unitario	20	\$ 4.000	\$ 80.000			
Frascos ambar	Unitario 50 mL	45	\$ 3.000				\$ 135.000
Viales de vidrio ambar	Unitario	36	\$ 2.778				\$ 100.000
Jeringas	Unitario	20	\$ 600	\$ 12.000			
Materiales de laboratorio							\$ 100.000
EXPERIMENTACIÓN (Reactivos)							
NaOH	g	14	\$ 150				\$ 2.100
C6H12	g	61,4	\$ 14				\$ 860
H2SO4	mL	20	\$ 305				\$ 6.100
C5H4O2	100 mL	1	\$ 400.000				\$ 400.000
C ₂ H ₆ O	100 mL	1	\$ 310.000				\$ 310.000
Celulasa	Kg	1	\$ 72.800	\$ 72.800			
Saccharomyces Serevisiae	500 g	1	\$ 39.000	\$ 39.000			
DIVULGACION							
Artículo	Publicación (Industrial Crops and products)	1	\$ 24.387.000			\$ 24.387.000	
RECURSOS HUMANOS							
Asesor	Horas	280	\$ 92.000				\$ 25.760.000
3 Estudiantes	Horas	480	\$ 4.830	\$ 6.955.200			
TOTAL				\$ 7.329.000		\$ 24.387.000	\$ 26.814.060
							\$ 58.530.060

Anexos 8

Resultado diseño experimental Box-Behnken (RSM) con NaOH

Bagazo de caña	Condiciones de pretratamiento			Lignina			Solubilización lignina %
	A	B	C	Insoluble	Soluble	Total	
Sin pretratar		---		20.32	4.98	25.30	---
Pretratado	20	1	0.60	16.18	9.08	25.27	20.33
	120	1	0.60	7.69	17.52	25.21	62.13
	20	3	0.60	14.47	9.76	24.23	28.79

120	3	0.60	9.84	16.43	26.27	51.56
20	2	0.20	14.60	9.43	24.03	28.15
120	2	0.20	9.78	16.63	26.41	51.87
20	2	1.00	11.65	12.54	24.20	42.63
120	2	1.00	8.92	16.63	25.55	56.08
70	1	0.20	14.37	10.98	25.35	29.26
70	3	0.20	10.82	14.24	25.05	46.75
70	1	1.00	9.09	16.26	25.35	55.26
70	3	1.00	9.08	16.13	25.22	55.28
70	2	0.60	7.03	17.99	25.02	65.40
70	2	0.60	7.13	17.98	25.10	64.91
70	2	0.60	7.35	17.92	25.27	63.83

Anexos 9

Resultado diseño experimental Box-Behnken (RSM) con H_2O_2

Bagazo de caña	Condiciones de pretratamiento			Lignina			Solubilización lignina %
	A	B	C	Insoluble	Soluble	Total	
Sin pretratar		---		20.32	4.98	25.30	---
	20	1	0.60	18.59	6.28	24.87	8.48
	120	1	0.60	16.41	9.63	26.04	19.24
	20	3	0.60	16.51	9.17	25.68	18.73
	120	3	0.60	15.61	10.20	25.82	23.14
	20	2	0.20	18.03	7.50	25.53	11.23
	120	2	0.20	17.59	7.53	25.13	13.39
	20	2	1.00	16.90	9.39	26.29	16.83
Pretratado	120	2	1.00	15.41	9.43	24.84	24.16
	70	1	0.20	18.07	6.13	24.20	11.05
	70	3	0.20	15.56	9.08	24.64	23.41
	70	1	1.00	17.35	6.70	24.05	14.60
	70	3	1.00	16.01	9.10	25.11	21.18
	70	2	0.60	15.52	9.69	25.20	23.62
	70	2	0.60	15.39	9.50	24.89	24.25
	70	2	0.60	15.70	9.82	25.51	22.73

Anexos 10*Resultado diseño experimental Box-Behnken (RSM) Mixto (NaOH – H₂O₂)*

Bagazo de caña	Condiciones de pretratamiento			Lignina			Solubilización lignina %
	A	B	C	Insoluble	Soluble	Total	
Sin pretratar		---		20.32	4.98	25.30	---
	20	1	0.60	16.72	7.88	24.60	17.71
	120	1	0.60	15.18	9.47	24.65	25.27
	20	3	0.60	14.25	10.74	24.99	29.85
	120	3	0.60	13.72	11.75	25.47	32.47
	20	2	0.20	14.86	10.74	25.60	26.83
	120	2	0.20	14.95	9.93	24.88	26.42
	20	2	1.00	16.45	8.67	25.13	19.01
Pretratado	120	2	1.00	13.19	11.70	24.89	35.05
	70	1	0.20	15.04	10.00	25.04	25.96
	70	3	0.20	14.19	12.01	26.20	30.15
	70	1	1.00	15.49	10.41	25.90	23.74
	70	3	1.00	13.73	10.94	24.67	32.41
	70	2	0.60	13.36	11.51	24.87	34.22
	70	2	0.60	13.43	11.82	25.26	33.87
	70	2	0.60	13.60	12.14	25.74	33.05

Producción de bioetanol 1G y 2G a partir de la caña panelera

trademap.org/Product_SelProductCountry.aspx?nvpm=3%7c%7c%7c%7c%7c220710%7c%7c%7c...

Inicio & Búsqueda Disponibilidad de Datos Documentos de referencia Otras Herramientas Más Mr. IvanAlexander Ortiz Cabrera Español

Producto: 220710 - Alcohol etílico sin desnaturalizar con gra... Grupo de productos: Ninguno
 Mundo País: Todos Grupo de países: Ninguno
 Socio: Todos Grupo de socios: Ninguno
 otros criterios: Importaciones Indicadores por producto Al mismo nivel (6 dígitos)

Lista de productos al nivel de 6 dígitos importado en 2022 en el mismo nivel de agregación que el producto:220710 Alcohol etílico sin desnaturalizar con grado alcohólico volumétrico >= 80% vol

Tabla Gráfico Mapa Empresas Licitaciones públicas Datos IED Normas voluntarias

Descargar: [iconos] líneas por página: Por defecto (25 por página)

SA8	Código	Descripción del producto	Valor importado en 2022 (miles de USD)	Balance comercial 2022 (miles de USD)	Tasa de crecimiento anual en valor entre 2018-2022 (% p.a.)	Tasa de crecimiento anual en cantidad entre 2018-2022 (% p.a.)	Tasa de crecimiento anual en valor entre 2021-2022 (% p.a.)	Tasa de crecimiento anual del mundo exportaciones entre 2018-2022 (% p.a.)	Distancia media de los países proveedores (km)	Concentración de los países proveedores
TOTAL		Todos los productos	25.049.890.327	-563.110.581	7		14	7	5.293	0.05
	220710	Alcohol etílico sin desnaturalizar con grado alcohólico volumétrico >= 80% vol	10.153.844	932.357	12		32	12	4.387	0.08
	220720	Alcohol etílico y aguardiente desnaturalizados, de cualquier graduación	4.369.045	-1.125.679	15		31	19	4.782	0.43

Fuentes: Cálculos del ITC basados en estadísticas de UN COMTRADE e del ITC. Los datos agregados son una mezcla de datos directos y datos espejo y son presentados en violeta.

Evalúe esta página: ☆☆☆☆☆

10°C 9:19 p. m. 10/09/2023

trademap.org/Product_SelProductCountry.aspx?nvpm=3%7c%7c%7c%7c%7c220710%7c%7c%7c...

Inicio & Búsqueda Disponibilidad de Datos Documentos de referencia Otras Herramientas Más Mr. IvanAlexander Ortiz Cabrera Español

Producto: 220710 - Alcohol etílico sin desnaturalizar con gra... Grupo de productos: Ninguno
 Mundo País: Todos Grupo de países: Ninguno
 Socio: Todos Grupo de socios: Ninguno
 otros criterios: Exportaciones Indicadores por producto Al mismo nivel (6 dígitos)

Lista de productos al nivel de 6 dígitos exportado en 2022 en el mismo nivel de agregación que el producto:220710 Alcohol etílico sin desnaturalizar con grado alcohólico volumétrico >= 80% vol

Tabla Gráfico Mapa Empresas Licitaciones públicas Datos IED Normas voluntarias

Descargar: [iconos] líneas por página: Por defecto (25 por página)

SA8	Código	Descripción del producto	Valor exportada en 2022 (miles de USD)	Balance comercial 2022 (miles de USD)	Tasa de crecimiento anual en valor entre 2018-2022 (% p.a.)	Tasa de crecimiento anual en cantidad entre 2018-2022 (% p.a.)	Tasa de crecimiento anual en valor entre 2021-2022 (% p.a.)	Tasa de crecimiento anual del mundo importaciones entre 2018-2022 (% p.a.)	Distancia media de los países importadores (km)	Concentración de los países importadores
TOTAL		Todos los productos	24.486.779.746	-563.110.581	7		12	7	4.859	0.04
	220710	Alcohol etílico sin desnaturalizar con grado alcohólico volumétrico >= 80% vol	11.086.201	932.357	12		32	12	4.485	0.09
	220720	Alcohol etílico y aguardiente desnaturalizados, de cualquier graduación	3.243.366	-1.125.679	19		32	15	3.068	0.21

Fuentes: Cálculos del ITC basados en estadísticas de UN COMTRADE e del ITC. Los datos agregados son una mezcla de datos directos y datos espejo y son presentados en violeta.

Evalúe esta página: ☆☆☆☆☆

Propuesta trabajo de grado bioetanol - Word

10°C 9:24 p. m. 10/09/2023