



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA**

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA

**PRETRATAMIENTO QUÍMICO DE LA CÁSCARA DEL
FRUTO DE LA HIGUERILLA PARA LA OBTENCIÓN DE
CELULOSA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRO EN INGENIERÍA QUÍMICA

P R E S E N T A:

ING. ULISES VELASCO LOZANO



DIRECTOR DE TESIS:

DR. MANUEL SÁNCHEZ CANTÚ

CO-ASESOR:

**DRA. JUANA DEISY SANTAMARÍA
JUÁREZ**

OCTUBRE 2023

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos al Dr. Manuel Sánchez Cantú, por todo su esfuerzo, dedicación y empeño que puso sobre mí y en la confianza que me otorgó para poder realizar de manera correcta el trabajo de tesis, ya que, gracias a sus oportunos y acertados comentarios, fue posible terminar este proyecto de investigación.

La Dra. Juana Deisy Santamaría Juárez merece todo mi reconocimiento, admiración y agradecimiento por todo el apoyo tanto académico como personal que me brindó. Su paciencia y enseñanza fueron los factores clave que me permitieron terminar el trabajo que tanto esfuerzo requirió.

También quiero agradecer al Dr. Jenaro Varela Caselis por sus asertivas observaciones y comentarios que ayudaron a consolidar este trabajo y por su valioso tiempo, y sobre todo a la Dra. María Elena Ramos Cassellis por compartirme sus conocimientos y enseñanzas, sin ella quizás este trabajo no sería lo que es, gracias la considero mi segundo co-asesor.

A mi papá, mi mamá, hermana y hermanos ya que desde un principio conté con todo su apoyo y jamás recibí un no por respuesta, son el pilar que me ayudó a salir adelante y siempre confiaron en mí y en cada una de mis metas propuestas, no existen las palabras para expresar toda la gratitud que les tengo.

Las amistades que formé en todo este proceso son una parte muy importante en mi vida, con ellos reí, bailé, me enojé, hicimos de todo. Fede, Dalia, Soco y Clau, gracias por ser las personas más cercanas a mí, les agradezco por su tiempo y por cada uno de los consejos que me dieron, todo ello está reflejado en la culminación de este trabajo.

También quiero agradecer al CONAHCYT por el apoyo económico brindado, ya que sin él se me hubiera dificultado desarrollar en tiempo y forma la culminación de la maestría.

Pero sobre todo agradecer a Dios, estoy sumamente agradecido por el apoyo espiritual, por nunca dejarme caer y en tiempos de desesperación, brindarme la fortaleza para continuar.

ÍNDICE

RESUMEN	11
ABSTRACT	13
OBJETIVOS	15
OBJETIVO GENERAL	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
HIPÓTESIS	15
INTRODUCCIÓN	16
<i>I FUNDAMENTOS TEÓRICOS</i>	18
1.1 Higuierilla	19
1.1.1 Planta de la higuierilla	19
1.1.2 Partes y composición de la planta	19
1.1.3 Beneficios de la planta de higuierilla	20
1.1.4 Distribución en México	21
1.2 Biomasa lignocelulósica (BLC)	21
1.3 Fuentes de biomasa lignocelulósica	22
1.3.1 Biomasa de origen forestal	22
1.3.2 Biomasa de origen agrícola	23
1.3.3 Biomasa de origen industrial	24
1.4 Composición química de la biomasa lignocelulósica	24
1.4.1 Celulosa (Cel).....	25
1.4.2 Hemicelulosa (Hm).....	26
1.4.3 Lignina (Lg).....	26
1.5 Aplicaciones de los materiales lignocelulósicos	27
1.6 Pretratamiento	28
1.6.1 Parámetros para un pretratamiento efectivo	29
1.6.2 Tipos de pretratamiento	30
1.7 Blanqueo	38
1.8 Diseño de experimentos	40
<i>II METODOLOGÍA EXPERIMENTAL</i>	48
2.1 Preparación de la muestra	49

2.1.1	Recolección de la muestra	49
2.1.2	Clasificación del tamaño	50
2.2	Determinaciones analíticas.....	51
2.2.1	Humedad.....	51
2.2.2	Cenizas	51
2.2.3	Determinación de lignina.....	52
2.2.4	Determinación de holocelulosa	53
2.2.5	Determinación de celulosa.....	54
2.2.6	Determinación de hemicelulosa.....	55
2.2.7	Fibra cruda.....	55
2.2.8	Azúcares reductores.....	56
2.2.9	Azúcares totales	57
2.3	Pretratamiento	58
2.3.1	Pretratamiento alcalino	59
2.4	Blanqueamiento	60
2.5	Caracterización	61
2.5.1	Difracción de rayos X (DRX).....	61
2.5.2	Espectroscopia de energía dispersiva (EDS)	62
2.5.3	Microscopia electrónica de barrido (MEB)	62
2.5.4	Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)	63
2.5.5	Análisis termogravimétrico (TGA)	63
	<i>III DISCUSIÓN DE RESULTADOS</i>	66
3.1	Caracterización de la materia prima	67
3.1.1	Tamaño de partícula	67
3.1.2	Análisis de composición proximal	68
3.1.3	Análisis elemental	70
3.1.4	Difracción de Rayos X (DRX)	71
3.1.5	Microscopia electrónica de barrido (MEB)	74
3.1.6	Espectroscopia infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	75
3.1.7	Análisis termogravimétrico (TGA)	76
3.2	Pretratamiento alcalino y diseño de experimentos	77
3.3	Análisis estadístico	81

3.4	Blanqueo	85
3.5	Caracterización de E3 y B3.....	86
3.5.1	Análisis de composición proximal de E3 y B3.....	86
3.5.2	Análisis elemental de E3 y B3.....	87
3.5.3	Difracción de rayos X de la muestra E3 y B3	88
3.5.4	Microscopia electrónica de Barrido (MEB) de E3 y B3	91
3.5.5	Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) de E3 y B3. 92	
3.5.6	Análisis Termogravimétrico (TGA) de E3 y B3	94
3.6	Balance económico (BE).....	95
3.7	Comparación metodológica de diversos trabajos que involucran el proceso de designificación	96
	<i>IV CONCLUSIONES</i>	108
	<i>V ANEXOS</i>	111
5.1	Experimentos preliminares	112

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Planta de la higuera.....	21
Figura 1.2 Composición de la pared celular.....	27
Figura 1.3 Efecto del pretratamiento a la biomasa lignocelulósica.....	31
Figura 1.4 Clasificación de los diseños experimentales.....	41
Figura 2.1 Recolección y secado de la cáscara.....	50
Figura 2.2 Tamizado de la cáscara.....	50
Figura 2.3 Cenizas obtenidas después de la calcinación de la CFH.....	52
Figura 2.4 Proceso de determinación de lignina.....	53
Figura 2.5 Digestión de la CFH.....	56
Figura 2.6 Proceso de obtención de azúcares reductores de la CFH.....	57
Figura 2.7 Pretratamiento alcalino de la cáscara.....	60
Figura 2.8 Blanqueamiento de la cáscara resultante del pretratamiento.....	61
Figura 3.1 Patrón de Difracción de rayos X de la CFH a) método de la altura máxima b) método de deconvolución.....	71
Figura 3.2 Ficha JCPDS 50-2241 para la Cel nativa.....	73
Figura 3.3 Microscopía Electrónica de Barrido de la CFH a una amplificación de a) 200x y b)1000x.....	74
Figura 3.4 Espectro FTIR de la CFH.....	75
Figura 3.5 Análisis termogravimétrico y diferencial de la CFH.....	77
Figura 3.6 Análisis por bloques de los efectos: a) temperatura, b) tiempo y c) Concentración de NaOH.....	79
Figura 3.7 Mecanismo de hidrólisis de una base al enlace éster.....	81
Figura 3.8 Gráfica de efectos principales.....	83
Figura 3.9 Gráficas de interacciones binarias a) Tiempo-Concentración NaOH b) Tiempo-Temperatura c) Concentración NaOH-Temperatura.....	83
Figura 3.10 Gráfica de Pareto.....	84
Figura 3.11 Patrón de Difracción de rayos X de la CFH. Método de a) altura máxima y b) deconvolución.....	89

Figura 3.12 SEM de la muestra E3 a una amplificación de a) 200x y b) 1000x	91
Figura 3.13 SEM de la muestra B3 a una amplificación de c) 200x y d) 1000x.....	91
Figura 3.14 FTIR de la muestra virgen, E3 y B3	93
Figura 3.15 a) TGA y b) DTG de la CFH virgen, E3 y B3.	94

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Composición lignocelulósica de distintas biomásas.....	25
Tabla 1.2 Efectos de diferentes métodos de pretratamiento en la composición química y estructura en la biomasa lignocelulósica	37
Tabla 2.1 Diseño de experimentos para el pretratamiento de la CFH	59
Tabla 3.1 Análisis de composición proximal de la CFH	68
Tabla 3.2 Resultados del análisis elemental de la CFH.....	70
Tabla 3.3 Resultados del IC de la CFH mediante el método de la altura máxima y el método de deconvolución.....	72
Tabla 3.4 Tamaño promedio de cristal y distancia interplanar de la CFH	73
Tabla 3.5 Resultados obtenidos aplicando el DFC 2 ³ con puntos centrales a la CFH ...	78
Tabla 3.6 Análisis de varianza del DFC 2 ³ con 3 puntos centrales	82
Tabla 3.7 Análisis de composición proximal de E3 y B3	86
Tabla 3.8 Resultados del análisis elemental del pretratamiento y blanqueo de la CFH	88
Tabla 3.9 IC de E3 y B3 mediante el método de altura máxima y deconvolución	90
Tabla 3.10 Tamaño promedio de cristal de E3 y B3	90
Tabla 3.11 Precios de los reactivos utilizados en el proceso	96
Tabla 3.12 Costos del proceso del pretratamiento y blanqueo	96
Tabla 5.1 Experimentos preliminares de la CFH	112

ABREVIATURAS

SIAP:	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
BLC:	Biomasa lignocelulósica
Cel:	Celulosa
Hm:	Hemicelulosa
Lg:	Lignina
HPMC:	Hidroxipropilmetilcelulosa
CMC:	Carboximetilcelulosa
PHA:	Polihidroxicanoatos
PLA:	Polilactatos
HMF:	5-hidroximetilfurfural
ACL:	Agua caliente líquida
EV:	Explosión de vapor
EFA:	Explosión de fibra de amoníaco
LIs:	Líquidos iónicos
Bmim-Cl:	Cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio
Amim-Cl:	Cloruro de 1-alil-3-metilimidazolio
Emim-OAc:	Acetato de 1-etil-3-metilimidazolio
ANOVA:	Análisis de varianza
CFH:	Cáscara del fruto de la higuera
EDS:	Espectroscopía de Energía Dispersiva
DRX:	Difracción de rayos X
MEB:	Microscopía Electrónica de Barrido
FTIR:	Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier
TGA:	Análisis Termogravimétrico
DTG:	Termogravimetría derivada
IC:	Índice de cristalinidad

Cz: Cenizas
TPC: Tamaño promedio de cristal
DFC: Diseño factorial completo
E3: Experimento 3
B3: Blanqueo 3
BE: Balance económico

RESUMEN

El presente proyecto de investigación contempla el aprovechamiento de la cáscara del fruto de la higuera derivado del proceso de la extracción de la semilla para la producción de aceite de ricino con el objetivo final de poder extraer la celulosa que contiene la cáscara. El proceso involucra la eliminación de lignina por medio de un pretratamiento alcalino modificando los factores que influyen de manera directa. El proceso se complementó mediante un diseño de experimentos para determinar el efecto de las diferentes variables como la concentración del hidróxido de sodio, tiempo y temperatura de reacción, respectivamente.

Se retomó el mejor resultado obtenido a partir del diseño de experimentos y este, a su vez, se sometió al proceso de blanqueo para obtener los valores de celulosa, hemicelulosa y lignina con la finalidad de comparar los resultados en cada proceso.

La caracterización de los resultados se realizó por medio de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), Difracción de Rayos X (DRX), Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS), Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) y Análisis Termogravimétrico (TGA).

Los resultados por MEB con respecto al pretratamiento mostraron una superficie con mayor porosidad con respecto a la muestra original, lo cual demuestra que la lignina que forma la capa exterior fue removida. Por otra parte, con respecto al blanqueo, la superficie forma pequeños fibrillas características de la celulosa, aumentando aún más la cantidad de lignina removida. El análisis EDS mostró como resultados la presencia de los elementos C, O, Si, Cl, K y Na.

Además, el análisis DRX proporcionó información con respecto a las reflexiones características de la celulosa tipo I, y la intensidad de las señales se utilizó para calcular el Índice de cristalinidad y el tamaño promedio de cristal, el cual tuvo un aumento en el pretratamiento, por una parte, demostrando la remoción de la lignina y de la celulosa amorfa, y, por otra parte, una re-cristalización de la celulosa cristalina.

Con FTIR se identificaron las bandas de los grupos funcionales característicos de la celulosa, hemicelulosa y lignina, con la disminución de algunas señales demostrando la efectividad del pretratamiento.

Mediante el análisis TGA, se determinó la estabilidad térmica de la muestra original, pretratada y blanqueada.

ABSTRACT

This research project contemplates the use of the shell of the castor fruit derived from the process of extracting the seed for the production of castor oil with the ultimate goal of being able to extract the cellulose contained in the shell.

The process involves the elimination of lignin by means of an alkaline pretreatment modifying the factors that directly influence. The process was complemented by a design of experiments to determine the effect of the different variables such as sodium hydroxide concentration, reaction time and temperature, respectively.

The best result obtained from the design of experiments was taken up and this, in turn, was subjected to the bleaching process to obtain the values of cellulose, hemicellulose and lignin in order to compare the results in each process.

The characterization of the results was carried out by means of Scanning Electron Microscopy, X-ray Diffraction, Energy Dispersive Spectroscopy, Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Thermogravimetric Analysis.

The results by MEB with respect to the pretreatment showed a surface with greater porosity with respect to the original sample, which shows that the lignin that forms the outer layer was removed. On the other hand, with respect to bleaching, the surface forms small fibrils characteristic of cellulose, further increasing the amount of lignin removed. The EDS analysis showed as results the presence of elements C, O, Si, Cl, K and Na.

Furthermore, the XRD analysis provided information regarding the characteristic reflections of type I cellulose, and the intensity of the signals was used to calculate the crystallinity index and the average crystal size, which had an increase in pretreatment, on the one hand, demonstrating the removal of lignin and amorphous cellulose, on the other hand, a re-crystallization of crystalline cellulose.

With FTIR, the bands of the characteristic functional groups of cellulose, hemicellulose and lignin were identified, with the decrease of some signals demonstrating the effectiveness of the pretreatment.

Finally, by TGA analysis, the thermal stability of the original, pretreated and bleached sample was determined.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar las condiciones óptimas del pretratamiento químico el cual será utilizado para la remoción de lignina y hemicelulosa de la cáscara del fruto de la higuera y de esta manera obtener la mayor cantidad posible de celulosa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Recolección, obtención y disposición de la cáscara del fruto de la higuera.
- Obtención de un tamaño de partículas uniforme en el intervalo de malla #60-80.
- Establecimiento de las condiciones de operación del pretratamiento químico (temperatura, tiempo, concentración).
- Implementación del diseño experimental en el proceso del pretratamiento para evaluar la interacción de los factores con la finalidad de eliminar la mayor cantidad de lignina y hemicelulosa, y obtener el más alto porcentaje de celulosa posible.
- Blanqueamiento de la pulpa resultante que implica la eliminación del color marrón y remoción de lignina residual que aún se encuentre presente en la pulpa.
- Caracterización antes y después del pretratamiento y blanqueo mediante las técnicas de SEM (morfología), DRX (tipo de celulosa), FTIR (grupos funcionales) y TGA (estabilidad térmica).

HIPÓTESIS

Las variables que definen las condiciones de operación (temperatura, tiempo y concentración) del tratamiento químico influyen directamente en la cantidad de lignina y hemicelulosa que se puede remover de la cáscara del fruto de la higuera y como resultado, la mayor obtención de celulosa posible.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, las necesidades básicas del ser humano han ido en aumento, lo que ha conllevado a la utilización en mayores proporciones de la materia prima que nos proporciona la naturaleza. Este descontrol desmedido ha implicado la búsqueda de nuevas alternativas para mitigar este impacto negativo, por lo que una de las alternativas ha sido la utilización de residuos.

Un residuo es aquel material generado de la actividad agrícola, forestal o comercial que no posee ningún valor económico, permaneciendo como un excedente. Dentro de estos residuos podemos encontrar los lignocelulósicos, los cuales han sido el centro de atención por parte de la comunidad de investigadores debido a su posible uso como fuentes de energía. Ejemplos de estos residuos son la paja de trigo, la cáscara de arroz, el rastrojo de maíz, entre muchos otros. Estos residuos están constituidos principalmente de 3 biopolímeros: la celulosa, la hemicelulosa y la lignina. Debido a su clasificación, los residuos son de fácil disponibilidad y no son costosos.

La higuierilla es una planta arbustiva muchas veces considerada como maleza, debido a que para su reproducción no es necesario una condición específica ya que puede desarrollarse en regiones áridas, húmedas o templadas y es muy resistente a condiciones extremas, como por ejemplo la falta de lluvias y temperaturas elevadas. El valor de esta planta reside en su semilla, ya que a partir de ella se extrae el aceite de ricino, utilizado como purga para el estreñimiento, humectante de la piel o como ingrediente en artículos cosméticos. Por otra parte, la cáscara que cubre esta semilla no tiene algún uso en específico y solo se utiliza como fertilizante orgánico o en composta y, por lo tanto, es considerado como residuo.

De los biopolímeros anteriormente mencionados, la celulosa es el de mayor interés debido a sus diversas aplicaciones. Es el biopolímero más abundante que existe en la naturaleza y se obtiene principalmente de las plantas terrestres, acuáticas y actualmente de los residuos lignocelulósicos. Con ella se elaboran una amplia variedad de productos como el papel, cartón, aislantes térmicos, acetato de celulosa, nitrocelulosa utilizada como barniz para madera, entre otras aplicaciones.

El obtener la celulosa implica su extracción de estos residuos, para lo cual existen un proceso denominado pretratamiento que involucra procedimientos físicos, químicos y/o biológicos, que a su vez implica el análisis de factores como el tiempo, la concentración de reactivos (solo para procesos químicos) y la temperatura, por lo que un buen pretratamiento debe implicar bajos costos de inversión como operacionales, para lo cual es necesario trabajar con las condiciones menos severas que conlleven al ahorro de recursos económicos.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente mencionado, se pretende utilizar la cáscara del fruto de la higuera como un residuo al cual se le extraerá la celulosa mediante la eliminación de hemicelulosa y lignina, analizando los principales factores del pretratamiento mediante el análisis estadístico y poder realizar el proceso a las condiciones de menor severidad con un alto grado de extracción de la celulosa.

I FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 Higuierilla

1.1.1 *Planta de la higuierilla*

La planta de higuierilla (*Ricinus communis L.*) es una biomasa lignocelulósica del reino Plantae, subreino Tracheobinta, clase Magnoliopsida, orden Euphorbiales. La higuierilla fue probablemente uno de los primeros cultivos que el hombre utilizó para la extracción de aceite de la semilla para una amplia variedad de usos incluyendo lámparas de aceite. Esta es miembro de la familia Euphorbiaceae que se piensa tuvo su origen en el África oriental, pero se ha distribuido a diferentes partes del mundo [1].

Actualmente es cultivada en muchas regiones tropicales y subtropicales del mundo. La superficie cultivada a nivel mundial en el 2009 fue de 1,473,751 ha, con una producción total de 1,499,111 toneladas de semilla. Los países productores más importantes son: India con 840,000 ha, China 210,000 ha, Brasil 159,205 ha y Paraguay 11,000 ha, con una producción de semilla de 109,800 t, 190,000 t, 90,384 t, 13,000 t, respectivamente.

El grano de higuierilla tiene un alto contenido de aceite, entre 45 y 55 %, comparado con el girasol que contiene entre 38 y 48 % o la soya que tiene entre 40 y 47 %, característica que hace a la planta muy atractiva para la extracción de este producto [2]. Por otra parte, la cáscara del fruto de la higuierilla representa el 35 % y la semilla el 65 % de la totalidad de la fruta [3].

1.1.2 *Partes y composición de la planta*

Las partes características de la planta de higuierilla incluyen la flor, semilla, hojas y tallo. De acuerdo a la literatura, por cada tonelada de la planta se producen 468 kg de semillas, 388 kg de tallos y 144 kg de hojas.

a) Flor

Cada planta tiene flores masculinas y femeninas. Las flores masculinas se colocan en la parte inferior mientras que las flores femeninas ocupan la parte superior de la espiga.

b) Semilla

La semilla de la planta, es producida principalmente para extraer su aceite. La semilla es una cápsula espinosa globular de menos de 2,5 cm de largo multicolor (crema, marrón, rojo, gris y negro). La semilla está cubierta por una cápsula esférica cubierta con espinas suaves y flexibles y tiene tres carpelos en ellas. Después de la maduración, la semilla es removida mediante la aplicación de una fuerza considerable, rompiendo el carpelo.

c) Hojas

Las hojas de la planta miden entre 10-75 cm y se encuentra en forma de sombrilla. Hay alrededor de cinco a once lóbulos puntiagudos en cada hoja, con bordes dentados y venas centrales abultadas.

d) Tallo

El tallo de la planta de ricino es redondo, liso y rojo, con una savia clara [4].

1.1.3 *Beneficios de la planta de higuierilla*

El aceite de ricino obtenido de la semilla de la planta aún es ampliamente utilizado tradicionalmente en la herbolaria, así como en la medicina. La semilla de la planta es usada como fertilizante después de que el aceite ha sido extraído de ella y cocida para destruir la toxina denominada ricina, e incorporarla al alimento animal. El principal uso del aceite de ricino es de purgante y laxante. También se ha usado como lubricante, combustible en lámparas, un ingrediente clave de maquillajes y en la fabricación de jabones, en plásticos, fibras, pinturas, tintes en textiles, en el acabado de cueros, adhesivos y fungicidas. En la India, las hojas son usadas como comida para los gusanos de seda y los tallos son usados como combustibles [5]. La figura 1.1 muestra la planta de la higuierilla.



Figura 1.1 Planta de higuera

1.1.4 *Distribución en México*

De acuerdo con cifras que presenta el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), la producción de higuera en 2017 fue de 3,5 mil toneladas, todas recolectadas bajo la modalidad de riego. En México, solo se produce en dos entidades: Sonora, quien aportó 65,6% del volumen total y Nayarit, con el 34,4 % restante [6].

El principal municipio productor de Sonora es Hermosillo, quien contribuyó con 99,9% del volumen del estado; mientras que, en Nayarit, la totalidad se cosechó en el municipio de Santiago Ixcuintla [6].

Esta planta también se encuentra distribuida en los estados de Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Colima, Ciudad de México, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Yucatán [7].

1.2 Biomasa lignocelulósica (BLC)

La biomasa es definida como la fracción biodegradable de productos de desperdicios y residuos de origen biológico procedentes de la agricultura, silvicultura e industrias conexas, incluida la pesca y la acuicultura, así como también la fracción biodegradable de residuos

industriales y municipales. De acuerdo desde un punto de vista ecológico, se pueden distinguir: (1) biomasa primaria, que es la materia orgánica producida directamente mediante organismos fotosintéticos (algas, plantas y otros organismos autótrofos), (2) biomasa secundaria producida mediante organismos heterótrofos que consumen la biomasa primaria, como carne y desechos de herbívoros, y (3) biomasa terciaria, que abarca la biomasa producida de organismos que se alimentan de biomasa secundaria [8].

La BLC puede ser usada directamente (por ejemplo, en la quema de madera para calentamiento o cocción de alimentos) o indirectamente mediante su conversión en combustibles líquidos o gaseosos. La biomasa es quemada directamente mediante la combustión para producir vapor, el cual se introduce a una turbina, y la turbina conduce a un generador, produciendo electricidad. Además, aceites vegetales, biodiesel, biogás y etanol ya han sido producidos partir de la biomasa [9].

Generalmente la BLC puede obtenerse a través de los siguientes residuos: agrícolas (bagazo de la caña de azúcar rastrojo de maíz, paja de trigo arroz, entre otros) de madera dura (álamo) y madera blanda (pino y abeto), residuos de celulosa (papel periódico, residuos de papel de oficina) y biomasa herbácea (heno de alfalfa y hierba). Recientemente este tipo de biomasa es considerado solo como un residuo y no es usado a pesar de su fácil acceso y grandes cantidades que se generan. El contenido de residuos lignocelulósicos a nivel mundial se considera que es alrededor de 10-50 billones de toneladas por año [10].

La BLC es considerada como un material recalcitrante por la estructura de su pared celular formada por un polímero fenólico (lignina) que protege los diferentes tipos de carbohidratos internos (celulosa y hemicelulosa) [10].

1.3 Fuentes de biomasa lignocelulósica

1.3.1 Biomasa de origen forestal

La biomasa forestal hace referencia a la masa vegetal existente en los bosques y su aprovechamiento energético puede enfocarse desde dos puntos de vista: el aprovechamiento

directo de toda la masa y el aprovechamiento energético únicamente de los residuos generados en la silvicultura [11].

Las maderas blandas y duras son los dos tipos principales de madera de origen forestal. La madera dura pertenece a los árboles de hoja caduca, el cual es un árbol que pierde sus hojas en la época de otoño. Algunos ejemplos de este tipo de biomasa incluyen el roble, el arce, el nogal y el abedul. Las maderas blandas pertenecen a los árboles coníferos, un árbol de hoja perenne. Algunos ejemplos incluyen el pino, el abeto y enebro [12].

El procesamiento de la madera en productos de valor resulta en residuos de madera o desperdicios de madera como subproductos. Aproximadamente 50 % de la madera es convertida en productos de algún valor, y el resto pasa a ser considerado como desperdicios. Los residuos generados de los procesos de fabricación primaria incluyen corteza, aserrín, astillas, virutas y núcleos de troncos. Los residuos secundarios incluyen virutas, aserrín, polvo de lija, entre otros [12].

La composición química de la madera consiste de sustancias estructurales y no estructurales. Los compuestos estructurales son celulosa, hemicelulosa y lignina, mientras que los compuestos no estructurales son extractivos, compuestos orgánicos solubles en agua, y compuestos inorgánicos. Generalmente, la madera contiene celulosa (40-45 %) hemicelulosa (20-30 %) y lignina (20-32 %) [12].

1.3.2 *Biomasa de origen agrícola*

Los residuos generados de la producción directa de la agricultura incluyen hojas, rastrojos y pajas. Actualmente, la producción global anual estimada es de 2,802 millones de toneladas. Cabe recalcar que son los residuos orgánicos más abundantes y más baratos, los cuales pueden ser fácilmente transformados en diferentes productos de valor agregado.

Mundialmente, hay tres principales residuos agrícolas que han sido utilizados para la producción de bioetanol: la paja de arroz, la paja de trigo y el rastrojo de maíz. Esos residuos han estado disponibles a través de los años y una pequeña porción es utilizada como forraje o en la producción de biocombustible [13].

1.3.3 *Biomasa de origen industrial*

Se trata de subproductos de la actividad industrial en los sectores agroalimentario y de transformación de la madera, principalmente [11]. Esto incluye subproductos tales como vegetales, cáscaras de frutas, pulpas de frutas después de la extracción del jugo, bagazo de la caña de azúcar, entre otros [13].

Una gran cantidad de residuos orgánicos y efluentes relacionados son producidos cada año a través de las industrias alimentarias tales como jugos, carne, papas fritas, confitería y frutas. Esos residuos orgánicos pueden ser utilizados para diferentes fuentes de energía. Aproximadamente, 20 % de la producción de frutas y verduras en la India son desperdiciados cada año debido a que son producidas grandes cantidades de manzana, algodón, soja y trigo. La mayoría de esos desperdicios se quedan sin tratar o utilizar, lo cual causa efectos adversos al medio ambiente, así como a la salud humana y animal [14].

1.4 Composición química de la biomasa lignocelulósica

Para un mejor entendimiento de lo que es la biomasa lignocelulósica y su posible aprovechamiento, se deben conocer cuáles son los principales componentes de la pared celular. Estos se pueden dividir en tres principales fracciones orgánicas: celulosa que constituye aproximadamente 20-50 %, hemicelulosa del 15-35 % y lignina del 10-30 %. Además, también contiene cantidades más pequeñas de otros componentes minoritarios tales como: proteínas (3-10 %), lípidos (1.5 %), azúcares solubles y minerales (10.5 %) [15].

En la tabla 1.1 se resumen los porcentajes en peso con respecto a la composición de celulosa, hemicelulosa y lignina de diferentes biomásas [16].

Tabla 1.1 Composición lignocelulósica de distintas biomásas

Biomasa	Composición lignocelulósica (% peso)		
	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina
Bagazo de la caña de azúcar	42	25	20
Madera dura	40-55	24-40	18-25
Madera blanda	45-50	25-35	25-35
Mazorca de maíz	45	35	15
Rastrojo de maíz	38	26	19
Paja de arroz	32	24	18
Pastos	25-40	25-50	10-30
Paja de trigo	29-35	26-32	16-21
Desperdicio de plátano	13.2	14.8	14

1.4.1 Celulosa (*Cel*)

Es el biopolímero más abundante en el mundo, también conocido como β -1-4-glucano. Es un polisacárido lineal compuesto de unidades de celobiosa (repetición de unidades de glucosa) y es el componente principal de los polisacáridos de la pared celular. Las cadenas individuales de glucano están unidas por enlaces β -1,4-glucosídicos que se asocian a través de enlaces H^+ y se alinean de forma paralela una tras otra para formar microfibrillas que son en gran parte cristalinas [17].

Cada cristal de Cel contiene numerosas decenas de cadenas poliméricas en una orientación paralela. Esta complicada y especial estructura hace a la Cel resistente tanto a tratamientos químicos como biológicos. Además, su estructura no es uniforme, ya que contiene regiones altamente cristalinas y regiones amorfas menos ordenadas. Esta última, tiene un nivel reducido de enlaces H^+ por lo que es más susceptible a la hidrólisis [17].

1.4.2 *Hemicelulosa (Hm)*

Las Hms son definidas como polisacáridos de bajo peso molecular, solubles en álcali. Se alinean a lo largo de la superficie de las microfibrillas de Cel y actúan como una especie de pegamento fisiológico en la pared celular de la planta [17].

A diferencia de la Cel, la cual está compuesta exclusivamente de unidades de glucosa, las Hms son heteroglicanos compuestos de una combinación de pentosas (azúcares C5) y hexosas (azúcares C6), que incluyen, *D*-xilosa, *L*-arabinosa, *D*-glucosa, *D*-manosa, *D*-galactosa, además de pequeñas cantidades de *L*-ramnosa, *D*-ácido glucorónico y *D*-ácido galacturónico [17].

Los azúcares que dominan en las Hms son la manosa en las maderas blandas y la xilosa en las maderas duras y residuos agrícolas, incluyendo pastos. Como las Hms están ramificadas, estos heteropolímeros no forman estructuras cristalinas o microfibrillas. Las Hms son de cadenas más cortas (en longitud) que la Cel ya que tienen un menor grado de polimerización. Las estructuras ramificadas tienen una pequeña resistencia a la hidrólisis, y son fácilmente hidrolizadas por ácidos a sus componentes monoméricos [17].

1.4.3 *Lignina (Lg)*

La Lg es una molécula muy compleja y está constituida de unidades fenilpropano enlazados en una estructura tridimensional la cual es particularmente difícil de biodegradar. Es el componente más resistente a la degradación química y enzimática. La función básica de la Lg es compactar las células. Generalmente, las maderas blandas contienen más Lg (por arriba del 30 %), que las maderas duras y la mayor parte de los residuos agrícolas. Es insoluble en la mayoría de los disolventes orgánicos, debido a que es un material amorfo altamente polimerizado. El contenido de Lg del material lignocelulósico es el principal inconveniente para su uso como materia prima en la fermentación, ya que hace que la lignocelulosa sea resistente a la degradación química y biológica [17]. En la figura 1.2 se observa cómo está constituida la pared celular de las plantas.

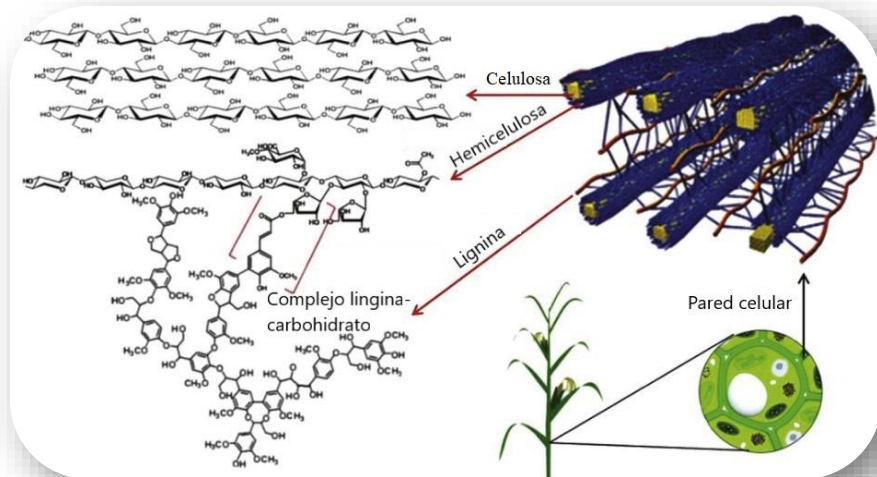


Figura 1.2 Composición de la pared celular [15].

1.5 Aplicaciones de los materiales lignocelulósicos

Los biopolímeros que se encuentran dentro de los residuos lignocelulósicos tienen diversos usos y aplicaciones, entre los que se pueden hacer mención:

- Cel

La oxixelulosa es usada en el desarrollo de una variedad de productos cosméticos, farmacéuticos y agrícolas. La Cel microcristalina se usa como emulsificante y estabilizante, como agente antiaglomerante y dispersante. La hidroxietilcelulosa es utilizada en los cosméticos, como por ejemplo el champú, en la industria papelera y textil, y como pesticida. La hidroxipropilcelulosa es utilizada para la fabricación de lágrimas artificiales, como lubricantes o como aditivo en la comida, entre otras aplicaciones [18].

Los derivados de la Cel, especialmente los éteres de Cel son usados ampliamente como bioadhesivos. Los derivados de éter y éster de Cel son ampliamente utilizados como recubrimientos de productos farmacéuticos sólidos. Por su parte, derivados tales como hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y carboximetilcelulosa (CMC) son los agentes gelificantes más usados en las formulaciones farmacéuticas. Esos polímeros son menos sensibles a la contaminación microbiana que agentes gelificantes tales como acacia, agar, pectina y alginato de sodio. Otro uso de los derivados de Cel es para espesar soluciones

farmacéuticas y dispersar sistemas tales como emulsiones y suspensiones, por lo tanto, estos polímeros pueden incrementar la viscosidad de soluciones farmacéuticas no acuosas como soluciones de recubrimiento de base orgánica [19].

- Hm

La Hm se puede hidrolizar en hexosas (glucosa, galactosa y manosa) y pentosas (xilosa y arabinosa), que pueden ser transformadas en etanol y otros productos de valor agregado como 5-hidroximetilfurfural (HMF), butanodiol, butanol, etc. Las Hms también pueden ser convertidos en varios polímeros, como los polihidroxicanoatos (PHA) y polilactatos (PLA). En aplicaciones industriales, las Hms son usadas para el control de agua y la reología de fases acuosas. Por lo tanto, puede ser usado como aditivos alimenticios, emulsificantes, adhesivos y adsorbentes [20].

- Lg

La Lg Kraft puede ser utilizada como antioxidante y como antiinflamatorio. Esta Lg y lignosulfonatos, son usados para el desarrollo de fibras de carbono. Por otra parte, también puede ser utilizado como combustible en lo que se conoce como “licor negro” [21].

1.6 Pretratamiento

El pretratamiento es un paso requerido para modificar el tamaño y la estructura de la biomasa a nivel macroscópico y microscópico, así como su composición química para que la hidrólisis de la fracción de carbohidratos a azúcares monoméricos sea alcanzada más rápidamente y con mayores rendimientos. El pretratamiento afecta la estructura de la biomasa solubilizando la Hm, reduciendo la cristalinidad e incrementando el área superficial por el aumento de volumen de poro del sustrato [22].

1.6.1 *Parámetros para un pretratamiento efectivo*

a) Cristalinidad de Cel

Las microfibrillas de Cel tienen tanto regiones cristalinas como amorfas, y la cristalinidad de Cel ha sido considerada como uno de los factores más importantes en la determinación de las tasas de hidrólisis de sustratos celulósicos relativamente refinados. La mayor cantidad de Cel (alrededor de 2/3 del total de Cel) se encuentra en su forma cristalina [23].

La Cel altamente cristalina será más resistente a la hidrólisis enzimática, y es ampliamente aceptado que disminuyendo la cristalinidad incrementará la digestibilidad de la lignocelulosa [23].

b) Efecto del área de superficie accesible (ASA)

Diversos estudios han indicado una buena correlación entre el volumen de poro (superficie accesible para la Cel y Hm) y la digestibilidad enzimática del material lignocelulósico. La principal ventaja de esta correlación es el mejoramiento de la hidrólisis enzimática mediante la remoción de Lg. La biomasa lignocelulósica tiene dos tipos de superficie: externa e interna. La superficie externa está relacionada al tamaño y forma de partícula; mientras que la superficie interna depende de la estructura capilar de las fibras celulósicas [23].

c) Efecto de la Lg

La presencia de Lg es responsable de la integridad y rigidez estructural del material lignocelulósico. La Cel y Hm están cubiertas por Lg. La presencia de Lg dificulta el acceso a la Cel cristalina, y, por consiguiente, reduciendo la eficiencia de la hidrólisis. Por lo tanto, un eficiente proceso de deslignificación puede mejorar la velocidad y el alcance de la hidrólisis [23].

d) Efecto de la Hm

La Hm es una barrera física la cual cubre las fibras de Cel y la protege de la hidrólisis enzimática. Se ha demostrado que la remoción de Hm aumenta el tamaño medio de poro y del sustrato y, por lo tanto, incrementa la accesibilidad y la probabilidad de la hidrólisis [23].

1.6.2 Tipos de pretratamiento

El pretratamiento es un paso crucial para la descomposición de la capa de la Lg la cual afecta a la Cel y Hm para que puedan ser extraídas fácilmente por tratamientos posteriores. Los resultados del pretratamiento disminuyen la cristalinidad del contenido celulósico restante e incrementan la superficie de la biomasa y que finalmente conlleva a la descomposición de la Hm [24].

Los métodos de pretratamiento pueden ser divididos dentro de cuatro categorías diferentes, los cuales son: físico, químico, fisicoquímico y biológico. Las metas que se buscan en el pretratamiento son:

- Incremento de la superficie y porosidad.
- Remoción de la Lg.
- Remoción de la Hm.
- Reducción de la cristalinidad de la Cel.
- Mínima generación de compuestos tóxicos.
- Mínima degradación de productos.

En la figura 1.3 se muestra una representación del efecto del pretratamiento aplicado a la biomasa lignocelulósica.

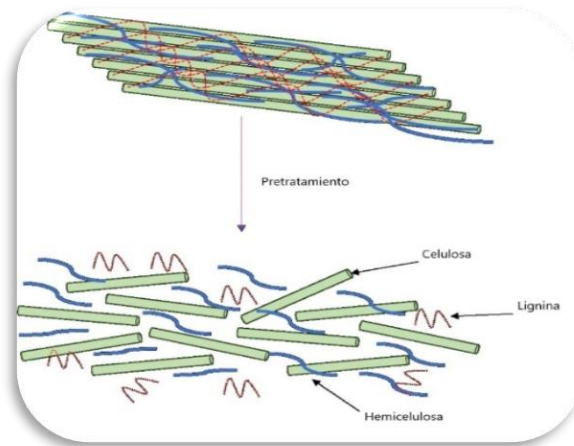


Figura 1.3 Efecto del pretratamiento a la biomasa lignocelulósica [25].

1.6.2.1 Pretratamiento físico

i) Molienda

El cambio en la estructura de la biomasa incrementa el área superficial y reduce su grado de polimerización, y esto es posible por tratamientos físicos que reducen el tamaño. Ejemplos de estos pretratamientos son molienda, irradiación y extrusión. La modificación de la estructura de la biomasa solo con el pretratamiento físico no es suficiente para una hidrólisis efectiva. Por lo tanto, los pretratamientos físicos son llevados antes de los pretratamientos químicos y biológicos [26].

ii) Microondas

El pretratamiento de radiación por microondas ha sido probado eficientemente en el rompimiento de las moléculas orgánicas y la separación de estructuras complejas, permitiendo la liberación del material extracelular e intracelular, el cual incrementa la accesibilidad y biodisponibilidad del sustrato. Sin embargo, el efecto actual de este pretratamiento en diferentes tipos de sustrato no está del todo claro y varía dependiendo no solo del sustrato que va a ser tratado, sino también de la temperatura y del tiempo de energía aplicada [27].

1.6.2.2 *Pretratamiento fisicoquímico*

◆ Agua caliente líquida (ACL)

El pretratamiento con agua caliente líquida usa elevadas temperaturas (160°C-240°C) y altas presiones para mantener el agua en forma líquida para promover la desintegración y separación de la matriz lignocelulósica. Los intervalos de tiempo varían desde unos cuantos minutos hasta horas. El proceso del ACL usa características semejantes que el proceso de explosión de vapor: primero, una autohidrólisis, seguido con la rápida descompresión de la matriz. El proceso de ACL utiliza un flujo a través de reactores de diferentes configuraciones o técnicas por lotes, siendo esta última llevada a nivel laboratorio [28].

La meta de este proceso es solubilizar completamente la Hm y separarla del resto del material sólido mientras se reduce la formación de inhibidores. Hay dos principales corrientes producto que son formadas a la salida de este proceso: una pasta rica en Hm solubilizada y una fracción sólida rica en Cel. La temperatura juega un rol importante en este pretratamiento, ya que la formación de inhibidores está principalmente correlacionada con el incremento de la temperatura [28].

◆ Oxidación húmeda

La oxidación húmeda es un pretratamiento usando agua y aire u oxígeno para fraccionar la biomasa a temperaturas por encima de 120 °C. La oxidación húmeda facilita la separación de la Cel después de que la mayoría de la Hm y Lg han sido solubilizadas. La cantidad de Lg removida después del pretratamiento varía de 50 % a 70 % dependiendo del tipo de biomasa pretratada y las condiciones empleadas. La oxidación húmeda combinada con el pretratamiento álcali ha demostrado la reducción de formación de subproductos, por lo tanto, disminuyendo la inhibición [28].

◆ Explosión de vapor (EV)

Este es un pretratamiento hidrotérmico en el cual la biomasa es sujeta a una corriente presurizada por un periodo de tiempo en el intervalo de segundos hasta unos cuantos minutos,

y entonces se despresuriza rápidamente. Combina fuerzas mecánicas y efectos químicos; los efectos mecánicos son causados por la descompresión explosiva que separan las fibras, mientras que los efectos químicos son debido a la hidrólisis de grupos acetilo presentes en la Hm [29].

La EV ofrece varias características atractivas cuando se compara con otras tecnologías de pretratamiento. Ellos incluyen un impacto ambiental mucho más bajo, baja inversión de capital y menor procesamiento de compuestos químicos. Las principales desventajas de la EV incluyen la destrucción de una porción de la fracción de xilano, separación incompleta de la matriz Lg-carbohidrato, y generación de compuestos que pueden inhibir a los microorganismos usados en los pasos posteriores (pasos de fermentación e hidrólisis) [29].

◆ Explosión de fibra de amoníaco (EFA)

En el proceso de EFA, la biomasa es tratada con amoníaco anhidro líquido (NH_3) a temperaturas moderadas (entre 60°C y 100°C) y a altas presiones por un periodo de tiempo variable. La presión es entonces liberada instantáneamente, haciendo que el NH_3 destelle violentamente y rompa la estructura fibrosa de la biomasa. El NH_3 entonces puede ser recuperado y reciclado [29].

El EFA es más efectivo en residuos agrícolas y cultivos herbáceos, con efectividad limitada en biomasa leñosa y otras fuentes con altas cantidades de Lg [29].

◆ Explosión de CO_2

El CO_2 es usado como un fluido supercrítico a alta presión, donde la Lg se solubiliza de manera efectiva. A alta presión, el CO_2 penetra la biomasa y da como resultado un aumento de su digestibilidad. El bajo costo del CO_2 como un solvente de pretratamiento, la no generación de toxinas, uso de bajas temperaturas y alta capacidad de sólidos son características atractivas de este pretratamiento. Sin embargo, el alto costo de los equipos que puedan soportar altas condiciones de presión del CO_2 es una gran limitación para la aplicación de este proceso a gran escala [30].

1.6.2.3 Pretratamiento químico

- Ácido

La hidrólisis ácida ya ha sido descrita desde el siglo XIX, con aplicaciones comerciales desde el comienzo del siglo XX. El ácido actúa para descomponer la Hm y abre la estructura lignocelulósica para un subsecuente ataque enzimático. Los dos principales enfoques utilizados en este pretratamiento son ácido concentrado a baja temperatura o ácido diluido a alta temperatura. Ácido concentrado con bajas temperaturas de operación tienen una clara ventaja comparado con el proceso de ácido diluido. El proceso con ácido concentrado (30-70 %) generalmente reporta mayores rendimientos de azúcares resultando en mayores rendimientos de etanol. Sin embargo, concentraciones altas hacen al proceso extremadamente corrosivo, peligroso y caro [17].

La recuperación del ácido, lo cual es necesario en este proceso por razones económicas, involucra un proceso de demanda energética y también es requerido un proceso de neutralización. Adicionalmente, este proceso no es atractivo debido a que se corre el riesgo de que se produzcan compuestos inhibidores tales como furanos [17].

Como alternativa, la hidrólisis con ácido diluido es probablemente el método mayormente aplicado de entre los métodos de pretratamiento químico. El H_2SO_4 es el ácido más utilizado, mientras que otros ácidos tales como el HCl y HNO_3 también han sido reportados. Durante el pretratamiento, la mayoría de la Hm es solubilizada e hidrolizada a monómeros de azúcar [17].

- Alcalino

El pretratamiento con NaOH es uno de los métodos más comunes que ha sido estudiado extensamente en la bioconversión de la lignocelulosa. El pretratamiento con NaOH es muy efectivo incrementando la digestibilidad de la madera dura y residuos agrícolas con bajo contenido de Lg. Regularmente, el pretratamiento alcalino se lleva a cabo a temperaturas y presiones bajas, e incluso puede realizarse a condiciones ambientales. La principal desventaja de este proceso es el tiempo, ya que puede tomar desde horas o incluso días para completar

la reacción [31]. Las principales reacciones durante el pretratamiento alcalino incluyen la disolución de la Lg y Hm y de-esterificación (saponificación) de los enlaces éster intermoleculares [32].

- Organosolv

El tratamiento con solventes orgánicos involucra el uso de un líquido orgánico (metanol, etanol, acetona, etilenglicol) y agua, con o sin la adición de un catalizador (ácido o base). Esta mezcla parcialmente hidroliza los enlaces de Lg y los enlaces Lg-carbohidrato, resultando en un residuo sólido compuesto principalmente de Cel y una pequeña cantidad de Hm. El pretratamiento Organosolv remueve eficientemente la Lg de los materiales lignocelulósicos además de que la mayoría de los azúcares de la Hm también son solubilizados en este proceso [33]. El intervalo de temperatura de este proceso se encuentra entre 100-250 °C. Los solventes orgánicos usados en este proceso necesitan ser reciclados para reducir costos [34].

- Líquidos iónicos (LIs)

En este proceso, la biomasa lignocelulósica es pretratada con LIs y agua mediante calentamiento y agitación. Entonces un anti-solvente tal como una mezcla de acetona-agua, agua desionizada, alcohol o ácido diluido se agregan para precipitar la Cel de la solución. El anti-solvente puede ser recuperado mediante evaporación. Una vez que el anti-solvente es removido, la Lg puede ser separada de la solución mediante filtración. Algunos ejemplos de LIs que se han usado son [Bmim][Cl], [Amim][Cl] y [Emim][OAc] [35].

1.6.2.4 Pretratamiento biológico

a) Hongos

En el pretratamiento biológico microorganismos tales como hongos de pudrición café, blanco y blanda son usados para la degradación de la Lg y Hm de la biomasa lignocelulósica. El pretratamiento biológico usando hongos de pudrición blanda que pueden degradar la Lg son una alternativa prometedora ya que consumen menos energía. Los subproductos que se

producen durante el pretratamiento biológico regularmente no inhiben los pasos subsecuentes de la hidrólisis debido a que el pretratamiento es llevado a condiciones suaves [36].

b) Bacteriano

Algunas bacterias, la mayoría de ellas presentes en el suelo, también tienen la habilidad de degradar la Lg. Estas bacterias crecen más rápido que la mayoría de los hongos y degradan la Lg en fragmentos más pequeños y solubles en agua que pueden ser recuperados y usados como productos de valor agregado. A pesar de que la degradación microbiana de la Lg ha sido bien estudiada en hongos y muy poco estudiada en bacterias, la comunidad científica ha mostrado su interés en este último debido a que recientemente se han descubierto peroxidases bacterianas, lacasas y β -eterasas, las cuales pueden ser usadas de manera efectiva en la deslignificación [37].

c) Enzimático

En lugar de cultivar los microorganismos directamente en la biomasa, los extractos enzimáticos pueden ser agregados a la materia prima para despolimerizar la Lg. Este procedimiento de agregado puede reducir potencialmente el tiempo del pretratamiento y la degradación de carbohidratos, simplificando el proceso. Una de las desventajas de este proceso es la producción de esas enzimas que regularmente dependen del agotamiento de nutrientes específicos (como el nitrógeno) [37].

En la tabla 1.2 se resumen los efectos de cada uno de los pretratamientos aplicados a la biomasa lignocelulósica [38].

Tabla 1.2 Efectos de diferentes métodos de pretratamiento en la composición química y estructura de la biomasa lignocelulósica

Pretrata- miento	Incremento de la superficie	Decristali- zación de la Cel	Remoción de Hm y solubilizació n	Remoción de lignina	Formación de compuestos inhibidores
Físico	++	++	-	-	-
Ácido	++	-	++	+	++
Alcalino	++	-	+	++	+/-
Líquidos iónicos	++	++	+	+	-
Organosol v	++	ND	++	++	-
Ozonólisis	++	ND	-	++	-
Explosión de vapor	++	-	++	+/-	++
EFA	++	++	+	++	+/-
Explosión de CO ₂	++	-	++	-	-
Oxidación húmeda	++	+	++	++	+/-
ACL	++	ND	++	+/-	+
Biológico	++	+	+/-	++	-

++: efecto alto; +: efecto moderado; +/-: efecto bajo; -: sin efecto; N.D: no determinado.

1.7 Blanqueo

El blanqueo es un factor importante que debe ser considerado en el proceso de la extracción de la Cel, ya que no solo actúa como removedor del color indeseado, sino que también es capaz de degradar compuestos no celulósicos. El proceso de blanqueo es afectado por varios factores tales como temperatura, pH, agitación y tiempos de procesamiento. Un buen y aceptable proceso de blanqueo es capaz de reducir impurezas, Lg y Hm sin dañar la estructura de la fibra Cel, operando a bajas temperaturas y cortos periodos de tiempo [39].

El blanqueo consiste en la remoción de los colores del pigmento en la estructura de la biomasa mediante varios compuestos químicos y sistemas de blanqueo. El objetivo del blanqueo es el siguiente:

1. Obtener un color más uniforme o remover rayas oscuras.
2. Obtener colores más claros.
3. Una mejor estabilidad del color y disminuir la probabilidad de desvanecimiento o un cambio de color debido a la naturaleza química de algunas maderas [40].

Dependiendo de la naturaleza de la pulpa y las condiciones de operación, el pH inicial requerido para un óptimo blanqueamiento se encuentra en el intervalo de 10 a 12, y su nivel final se encuentra de 8.5 a 10 [41].

Varios agentes blanqueadores pueden ser usados para el blanqueamiento químico de la pulpa, tales como hipoclorito (ClO^-), cloro elemental (Cl_2), dióxido de cloro (ClO_2), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), oxígeno (O_2) y ozono (O_3). Estas sustancias químicas tienen un gran potencial de oxidación y son reconocidos como agentes blanqueadores muy efectivos. El proceso de blanqueo tradicional de la pulpa Kraft comienza con una etapa de cloración en la cual el cloro ataca y modifica la estructura de la Lg para formar distintos grupos ácidos [29].

A pesar de que el método tradicional usando cloro elemental es extremadamente eficiente, los efluentes generados por este proceso no son apropiados para la recuperación de

las sustancias químicas o su incineración debido a la presencia de iones cloro, los cuales son potencialmente corrosivos [41].

Por otra parte, El H_2O_2 es un compuesto químico blanqueador compatible con el medio ambiente, ya que ha sido empleado en los molinos de papel Kraft por muchos años. El blanqueo con H_2O_2 ocurre en presencia de un álcali de pH alto (11-13). Las condiciones alcalinas se necesitan para producir el anión activo (anión perhidroxilo (HOO^-)). Por otra parte, el efecto del tiempo y temperatura están interrelacionados: a altas temperaturas la reacción de blanqueo ocurre más rápido, pero reacciones indeseadas tales como la descomposición del H_2O_2 y reacciones de oscurecimiento del álcali también son aceleradas [42].

Algunas desventajas que presenta el blanqueo con H_2O_2 son:

1. Inestabilidad: la solución de H_2O_2 es inestable a altas concentraciones de alcalinidad y en la presencia de impurezas metálicas.
2. Estabilizador: el H_2O_2 asegura un buen blanqueo en condiciones donde es bastante inestable. Por lo tanto, un agente estabilizador debe ser empleado el cual regula la cantidad de oxígeno que no ha sido utilizado como agente de blanqueo y puede causar daños a la fibra.
3. Control de proceso: el uso de múltiples compuestos químicos, como las bases (NaOH, KOH, $Ca(OH)_2$, entre otros) necesita ser controlados cuidadosamente [43].

El $NaClO_2$ es otro agente de blanqueo que puede remover de manera efectiva la Lg, pigmentos y otras impurezas [44]. La deslignificación ácido-clorito es selectiva en la remoción de Lg con solo trazas de solubilización de glucano y xilano, aunque también puede llegar a afectar a los polisacáridos. Los dos escenarios más comunes para la degradación de la Cel durante la deslignificación ácido-clorito son la división de los enlaces glucosídicos y/o la degradación oxidativa de los polisacáridos. La degradación oxidativa es limitada bajo condiciones ácidas, y generalmente se utiliza CH_3COOH [45].

1.8 Diseño de experimentos

El diseño estadístico de experimentos es precisamente la forma más eficaz de hacer pruebas. Este método consiste en determinar cuáles pruebas se deben realizar y de qué manera, para obtener datos que, al ser analizados estadísticamente, proporcionen evidencias objetivas que permitan responder las interrogantes planteadas, y de esta manera clarificar los aspectos inciertos de un proceso, resolver un problema o lograr mejoras. En otras palabras, el diseño de experimentos es la aplicación del método científico para generar conocimiento acerca de un sistema o proceso, por medio de pruebas planteadas adecuadamente [46].

En todo proceso, intervienen distintos tipos de variables o factores que a través de estos se conoce el efecto de los resultados de cada prueba experimental, por lo que pueden ser características de la calidad de un producto [46].

El diseño de experimentos consiste de una serie de etapas que conllevan a una buena ejecución de la misma. Las etapas son las siguientes:

- Planeación y realización. En esta etapa, se deben hacer investigaciones preliminares que conduzcan a entender y delimitar el problema, elegir las variables de respuesta que serán medidas, seleccionar los niveles de cada factor, así como el diseño de experimentos adecuado, planear y organizar el trabajo experimental, y, por último, realizar el experimento.
- Análisis. Se deben realizar métodos estadísticos inferenciales para ver si las diferencias o efectos muestrales (experimentales) son lo suficientemente grandes para que garanticen diferencias poblacionales. La técnica estadística más usada es el análisis de varianza ANOVA.
- Interpretación. Se debe analizar con detalle lo que ha pasado con el experimento y observar los nuevos aprendizajes que sobre el proceso se lograron, verificar supuestos y elegir el tratamiento ganador.
- Control y conclusiones finales. En esta etapa se recomienda decidir qué medidas implementar para generalizar el resultado del estudio y para garantizar que las

mejoras se mantengan. Además, es preciso organizar una presentación para difundir los logros [46].

Los cinco aspectos que más influyen en la selección de un diseño de experimentos, en el sentido de que cuando cambian por lo general nos llevan a cambiar de diseño, son:

1. El objetivo del experimento.
2. El número de factores a estudiar.
3. El número de niveles que se prueban en cada factor.
4. Los efectos que interesa investigar (relación factores-respuesta).
5. El costo del experimento, tiempo y precisión deseada [46].

La figura 1.4 muestra la clasificación de los diferentes diseños de experimentos.

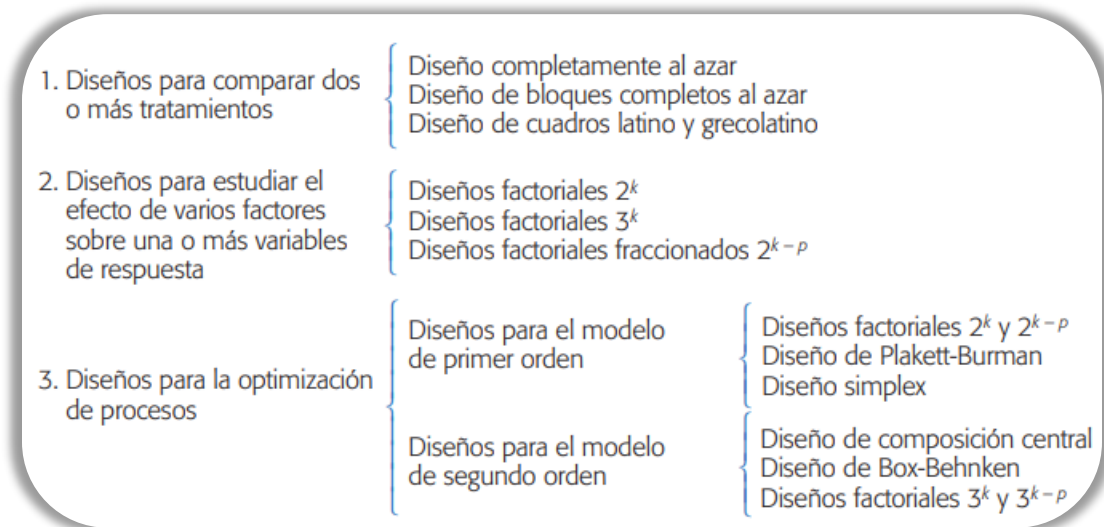


Figura 1.4 Clasificación de los diseños experimentales.

Referencias bibliográficas

[1] Auld D, Zanotto M, McKeon T, Morris J. Castor. En Vollmann J, Rajcan I. Oil Crops. New York: Springer; 2009. p. 317-332.

[2] Valencia GL, Borbon Gracia A, Ochoa Espinoza XM, Antuna Grijalva O, Hernández Hernández A, Coyac Rodríguez JL. Productividad de higuerilla (*Ricinus communis* L.) en el norte de Sinaloa. Rev Mex De Cienc Agric [Internet]. 2019;10(5):1011–22. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.29312/remexca.v10i5.1790>.

[3] Ramírez Hernández, I. Potencial de uso de la torta de higuerilla (*Ricinus communis*) como suplemento alimenticio para la producción bovina. [tesis de Maestría]. Medellín. Universidad Nacional de Colombia. 2017.

Morales de la Rosa S. Hidrólisis ácida de Cel y biomasa lignocelulósica asistida con líquidos iónicos [tesis doctoral]. Madrid: Instituto de catálisis y petroquímica. Consejo superior de investigaciones científicas; 2015.

[4] Kaur R, Bhaskar T. Potential of castor plant (*Ricinus communis*) for production of biofuels, chemicals, and value-added products. En: Tsang D, Rene E, Pandey A, Bhaskar T. Editores. Waste Biorefinery: Integrating Biorefineries for waste valorisation. Elsevier; 2020. p. 269-310.

[5] Jena J, Kumar Gupta A. *Ricinus Communis* Linn: a phytopharmacological review. Int. J Pharm Sci [internet]. 2012; 4(4): 25-29.

[6] Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [internet]. Ciudad de México. [Citado el 31 de agosto de 2018]. Recuperado a partir de: <https://www.gob.mx/siap/articulos/higuerilla-planta-tropical-oleaginosa?idiom=es>.

[7] Mondragón J, Vibrans H, Tenorio P. Malezas de México. [internet]. Recuperado a partir de: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/euphorbiaceae/ricinus-communis/fichas/ficha.htm>.

- [8] Sánchez J, Curt MD, Robert N, Fernández J. Biomass Resources. En: Lago C, Caldés N, Lechón Y. The Role of Bioenergy in the Bioeconomy. Elsevier; 2019. p. 25–111.
- [9] Balat M, Ayar G. Biomass energy in the world, use of biomass and potential trends. Energy Sources [Internet]. 2005;27(10):931–40. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/00908310490449045>.
- [10] Arenas-Cárdenas P, López-López A, Moeller-Chávez GE, León-Becerril E. Current pretreatments of lignocellulosic residues in the production of bioethanol. Waste Biomass Valorization [Internet]. 2017;8(1):161–81. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12649-016-9559-4>.
- [11] Sebastián F, García D, Rezeau A. Energía de la Biomasa [Internet]. Zaragoza. Universidad de Zaragoza; 2010.
- [12] Millati R, Cahyono RB, Ariyanto T, Azzahrani IN, Putri RU, Taherzadeh MJ. Agricultural, industrial, municipal, and forest wastes. En: Taherzadeh M, Bolton K, Wong J, Pnadey A. Sustainable Resource Recovery and Zero Waste Approaches. Elsevier; 2019. p. 1–22.
- [13] Pattanaik L, Pattnaik F, Saxena DK, Naik SN. Biofuels from agricultural wastes. En: Basile A, Dalen F. Second and Third Generation of Feedstocks. Elsevier; 2019. p. 103-42.
- [14] Sadh PK, Duhan S, Duhan JS. Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. Bioresour Bioprocess [Internet]. 2018;5(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s40643-017-0187-z>.
- [15] Yousuf A, Pirozzi D, Sannino F. Fundamentals of lignocellulosic biomass. In: Lignocellulosic Biomass to Liquid Biofuels. Elsevier; 2020. p. 1–15. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815936-1.00001-0>.
- [16] Das N, Jena PK, Padhi D, Kumar Mohanty M, Sahoo G. A comprehensive review of characterization, pretreatment and its applications on different lignocellulosic biomass for

bioethanol production. *Biomass Convers Biorefin* [Internet]. 2021; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s13399-021-01294-3>.

[17] O'Donovan A, Gupta VK, Coyne JM, Tuohy MG. Acid pre-treatment technologies and SEM analysis of treated grass biomass in biofuel processing. En: *Biofuel Technologies*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013. p. 97–118. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-34519-7_4.

[18] Devabaktuni L, Kulkarni M, Prudhvi K, Naga K. Sources of cellulose and their applications-a review. *Int J Drug Dev Res Formulation Res*. [Internet]. 2011; 2(6): 19-38. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/283447497_Sources_of_cellulose_and_their_applications-_A_review.

[19] Shokri J, Adibki K. Application of cellulose and cellulose derivates in pharmaceutical industries. En: Van De Ven T. *Cellulose-Medical, Pharmaceutical and Electronic Applications*. InTech; 2013. p. 47-66.

[20] Canilha L, Lacerda Brambilla Rodrigues R de C, Fernandes FA, Kumar A, Santos Milessi TS dos, Almeida Felipe M das G, et al. Bioconversion of hemicellulose from sugarcane biomass into sustainable products. En: Chandel A, Silverio Da Silva S. *Sustainable Degradation of Lignocellulosic Biomass - Techniques, Applications and Commercialization*. InTech; 2013. p. 15-45.

[21] Verma S, Hashmi SAR, Mili M, Hada V, Prashant N, Naik A, et al. Extraction and applications of lignin from bamboo: a critical review. *Eur J Wood Wood Prod* [Internet]. 2021;79(6):1341–57. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00107-021-01743-w>.

[22] Chandel AK, Chan EC, Rudravaram R, Narasu ML, Rao LV, Ravinda P. Economics and environmental impact of bioethanol production technologies: an appraisal. *Biotechnol Mol Biol Rev* [internet]. 2007;2(1):14–32. Disponible en: <https://academicjournals.org/journal/BMBR/article-full-text-pdf/3B685B910909>.

- [23] Maurya DP, Singla A, Negi S. An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. *3 Biotech* [Internet]. 2015;5(5):597–609. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s13205-015-0279-4>.
- [24] Anukam A, Berghel J. Biomass pretreatment and characterization: A review. En: *Biotechnological Applications of Biomass*. IntechOpen; 2021.
- [25] Latif A, Harun S, Sajab M, Markom M. Ammonia-based pretreatment for lignocellulosic biomass conversion – an overview. *J. Sci. Eng. Technol* [internet]. 2018; 13:1595–620.
- [26] Karimi K, Shafiei M, Kumar R. Progress in physical and chemical pretreatment of lignocellulosic biomass. En: *Biofuel Technologies*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013. p. 53–96. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-642-34519-7_3.
- [27] Pelleria F-M, Gidakos E. Microwave pretreatment of lignocellulosic agroindustrial waste for methane production. *J Environ Chem Eng* [Internet]. 2017;5(1):352–65. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2016.12.009>.
- [28] De Jong E, Gosselink RJA. Lignocellulose-based chemical products. En: *Bioenergy Research: Advances and Applications*. Elsevier; 2014. p. 277–313. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-59561-4.00017-6>.
- [29] Refaat AA. Biofuels from Waste Materials. En: *Comprehensive Renewable Energy*. Elsevier; 2012. p. 217–61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-087872-0.00518-7>.
- [30] Behera S, Arora R, Nandhagopal N, Kumar S. Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renew Sustain Energy Rev* [Internet]. 2014;36:91–106. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.047>.
- [31] Xu J-K, Sun R-C. Recent advances in alkaline pretreatment of lignocellulosic biomass. En: *Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery*. Elsevier; 2016. p. 431–59. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802323-5.00019-0>.

- [32] Kim JS, Lee YY, Kim TH. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol* [Internet]. 2016;199:42–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.085>.
- [33] Mesa L, González E, Cara C, González M, Castro E, Mussatto SI. The effect of organosolv pretreatment variables on enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. *Chem Eng J* [Internet]. 2011;168(3):115.
- [34] Zhao X, Cheng K, Liu D. Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Appl Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2009;82(5):815–27. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-009-1883-1>.
- [35] Halder P, Kundu S, Patel S, Setiawan A, Atkin R, Parthasarthy R, et al. Progress on the pre-treatment of lignocellulosic biomass employing ionic liquids. *Renew Sustain Energy Rev* [Internet]. 2019;105:268–92. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2019.01.052>.
- [36] Raveendran S, Parameswaran B, Ashok P. Biological pretreatment of lignocellulosic biomass--An overview. *Bioresour Technol* [Internet]. 2016; 199:76–82. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.030>.
- [37] Vasco-Correa J, Ge X, Li Y. Biological Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. En: *Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery*. Elsevier; 2016. p. 561–85. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802323-5.00024-4>.
- [38] Haghghi Mood S, Hossein Golfeshan A, Tabatabaei M, Salehi Jouzani G, Najafi GH, Gholami M, et al. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renew Sustain Energy Rev* [Internet]. 2013; 27:77–93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2013.06.033>.
- [39] Arnata IW, Suprihatin S, Fahma F, Richana N, Candra Sunarti T. Cellulose production from sago frond with alkaline delignification and bleaching on various types of bleach agents. *Orient J Chem* [Internet]. 2019;35(08–19). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/35specialissue102>.

- [40] Uysal B, Atar M, Özçifçi A. The Effects of Chemicals for Using the Bleaching of the Wood Surfaces on the Layer Hardness of Varnish. *Turkish J Agriculture Forestry* [internet]. 1999; 23 (443-450). Disponible en: <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/vol23/iss4/12>.
- [41] de Souza MF, Teixeira RSS, da Silva AS, Ferreira-Leitão VS, da Silva Bon EP. Chlorine-free biomass processing: Enzymatic alternatives for bleaching and hydrolysis of lignocellulosic materials. En: *Chemistry Beyond Chlorine*. Cham: Springer International Publishing [internet]. 2016; p. 241–68. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-319-30073-3_8.
- [42] Enberg S. Storage of hydrogen peroxide bleached mechanical pulp; reduction in reflectance over the visible spectrum [tesis doctoral]. Sundsvall, Suecia: Fibre Science and Communication Network; 2014.
- [43] Roy Choudhury AK. 3 - Pre-treatment and preparation of textile materials prior to dyeing [Internet]. Clark M, editor. Vol. 1, ScienceDirect. Woodhead Publishing; 2011. p. 64–149. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845696955500039>.
- [44] Wang, Y., Yang, Y., Qu, Y., & Zhang, J. (2021). Selective removal of lignin with sodium chlorite to improve the quality and antioxidant activity of xylo-oligosaccharides from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 337(125506), 125506. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125506>.
- [45] Hubbell, C. A., & Ragauskas, A. J. (2010). Effect of acid-chlorite delignification on cellulose degree of polymerization. *Bioresource Technology*, 101(19), 7410–7415. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.029>.
- [46] Gutiérrez H, Vara R. Análisis y diseño de experimentos. México: Editorial McGrawHill; 2012.

II METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

En este capítulo, se describe la metodología experimental que se realizó en el presente proyecto de investigación, como los materiales, los reactivos, y los equipos que se utilizaron.

Primeramente, se recolectó la materia prima (la fruta de la higuera) en el estado de Oaxaca con la finalidad de separar la cáscara, materia prima para este proyecto de investigación. A la materia prima se le determinaron los parámetros de cenizas, fibra cruda, humedad, azúcares, lignina, Cel y Hm. Posteriormente, se le realizó a la cáscara un pretratamiento alcalino por medio de una solución de NaOH con la finalidad de solubilizar la Lg. Este pretratamiento implicó el estudio de 3 principales factores: la temperatura, la concentración de NaOH, y el tiempo; factores analizados mediante la aplicación de un diseño factorial completo 2^3 con 3 puntos centrales. Una vez obtenidos los resultados de la matriz experimental, se eligió el mejor resultado (aquel con mayor porcentaje de deslignificación y condiciones no tan severas) para aplicar el proceso de blanqueo con la finalidad de eliminar el color marrón de la pulpa y la lignina remanente. También se determinó la cantidad de Lg, Cel y Hm a la muestra que mostró el mejor resultado del diseño experimental y a la muestra blanqueada, con la finalidad de comparar los resultados obtenidos con respecto a la muestra original. Por último, la caracterización se realizó mediante 5 técnicas: Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS), Difracción de rayos X (DRX), Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) y Análisis Termogravimétrico (TGA).

2.1 Preparación de la muestra

2.1.1 Recolección de la muestra

Inicialmente la cáscara del fruto de la higuera se recolectó de las plantas de la higuera que se encuentran en el municipio de San Andrés Sinaxtla, en el estado de Oaxaca (17.467995, -97.28057); esta recolección se llevó a cabo cortando los racimos de la planta y colocándolos en una superficie plana expuesta a la luz solar, con la finalidad de poder separar de manera natural la cáscara de la semilla, lo cual se puede apreciar en la figura 2.1. La separación se realizó de manera manual y una vez separadas y recolectadas las muestras (cáscara), se prepararon de la siguiente manera: la molienda se realizó por medio de un

molino de cuchillas el cual lo molió de la manera más fina posible. Una vez realizada la molienda, la muestra se almacenó en una bolsa de plástico.



Figura 2.1. Recolección y separación de la cáscara.

2.1.2 *Clasificación del tamaño*

Para obtener un tamaño de partículas uniforme se realizó el tamizado de las muestras en un intervalo de tamiz con una apertura de malla de número 60-80 (250-177 micrómetros). Ver figura 2.2.



Figura 2.2 Tamizado de la cáscara.

2.2 Determinaciones analíticas

2.2.1 Humedad

El cálculo de la humedad se realizó de acuerdo a la NOM-116-SSA1-1994 [47] con algunas variaciones para adaptarla al proceso de este trabajo. Primero, se pesó 1 gramo de muestra en un crisol previamente llevado a peso constante en una balanza analítica y se colocó en una estufa a 105 °C por 2 horas para eliminar la humedad. Una vez transcurrido el tiempo, el crisol con muestra se introdujo en un desecador y transcurrida ½ hora se pesó en la balanza. El porcentaje de humedad se calculó de acuerdo a la ecuación (1).

$$\% \text{ Humedad} = \left(\frac{m_1 - m_2}{m} \right) * 100 \quad \text{Ecuación (1)}$$

m = peso de la muestra

m₁ = peso del crisol más muestra antes del secado

m₂ = peso del crisol más muestra después del secado

2.2.2 Cenizas

Para el cálculo de cenizas, se utilizó la norma NMX-F-066-1978 [48] como referencia. El primer paso consiste en pesar 2 gramos de muestra y colocarlos en un crisol. A continuación, se utilizó una mufla y adentro de ella se colocó el crisol; la temperatura alcanzada debe ser de 550 °C por 4 horas con la finalidad de calcinar los compuestos orgánicos presentes en la biomasa. Se apagó la mufla, se abrió la puerta y se esperó a que la temperatura descendiera a 100 °C, se retiró el crisol y se colocó en un desecador por ½ hora. Una vez pasado el tiempo, se tomó el crisol con las pizas y se colocó en la balanza con la finalidad de obtener el peso. Una vez hecho este, se procedió a calcular el porcentaje de cenizas de acuerdo a la ecuación (2).

$$\% \text{ Cenizas} = \left(\frac{m_2 - m_1}{m - m_1} \right) * 100 \quad \text{Ecuación (2)}$$

m = peso del crisol con la muestra

m_1 = peso del crisol

m_2 = peso del crisol más muestra calcinada



Figura 2.3 Cenizas obtenidas después de la calcinación de la CFH.

2.2.3 Determinación de lignina

Para determinar la Lg presente en la muestra, se utilizó el procedimiento descrito por Klason [49]:

Se colocó un crisol gooch y papel filtro en una estufa hasta peso constante. Después, se pesaron 0.25 g de muestra y se colocaron en un matraz Erlenmeyer. Posteriormente, se preparó una solución de H_2SO_4 al 72% (v/v) y se añadieron 2.5 mL en el matraz (figura 2.4 a)); este se llevó a un baño maría por 1 hora a 30 °C y terminado este tiempo, se añadieron 70 mL de agua destilada. El matraz se introdujo en una autoclave por 1 hora a 15 psi de presión. Una vez terminado el tiempo, se retiró y se procedió a realizar el filtrado a vacío (figura 2.4 b)). Se utilizó un lavado con 210 mL de agua destilada para remover el ácido que aún esté presente. El sólido recuperado se introdujo en una estufa tomando el peso cada hora (figura 2.4 c)) y una vez obtenido un peso constante, se calculó el porcentaje de lignina mediante la ecuación (3).

$$\% \text{ Lignina} = \left(\frac{m_2 - m_1}{m} \right) * 100 \quad \text{Ecuación (3)}$$

m = peso de la muestra

m_1 = peso del crisol más papel

m_2 = peso del crisol seco a peso constante

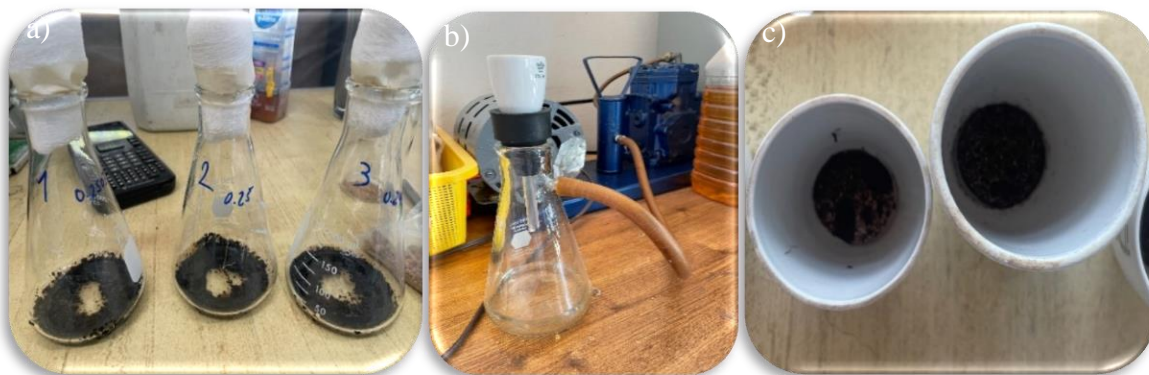


Figura 2.4 Proceso de determinación de Lg a) hidrólisis ácida b) filtración y c) muestra resultante después del proceso de secado.

2.2.4 Determinación de holocelulosa

La determinación del contenido de holocelulosa se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Browning [50], el cual procede de la siguiente manera:

Se pesaron 2 g de muestra (P1), con precisión de 0,0001 g en un Erlenmeyer de 250 mL de capacidad y se añadieron 63 mL de agua desionizada. A la suspensión se le añadieron 0,2 mL de CH_3COOH y 0,6 g de NaClO_2 . Se cubrió con un vidrio de reloj y se colocó en un baño maría a 75 °C, con agitación de manera constante mediante la ayuda de un agitador magnético. Este proceso se repitió dos veces más. Al finalizar la tercera hora, se colocó el Erlenmeyer en un baño de agua-hielo hasta que la temperatura bajó a los 10 °C. Se filtró en un filtro gooch, previamente pesado (P2) y se lavó con agua desionizada hasta la eliminación de la coloración amarilla. Luego se dejó secar a 60 °C por 12 horas y se pesó (P3). En el sólido obtenido se determinó los porcentajes de humedad HUM (% Hholo) y de la materia orgánica MO (% Moholo). El contenido de holocelulosa se calculó de acuerdo con a la ecuación (4):

$$\% \text{ Holocelulosa} = (P3 - P2) * (100 - \% \text{Hholo}) * \left(\frac{\% \text{Moholo}}{P1 * (100 - \% \text{H})} \right) \quad \text{Ecuación (4)}$$

Donde

% HUM (H) es el porcentaje de agua respecto a muestra seca y molida.

%Hholo es 100% - %cenizas obtenidas después de la calcinación.

2.2.5 Determinación de celulosa

El procedimiento para la determinación de Cel se realizó de acuerdo a la norma ANSI/ASTM 1977b [51], la cual describe lo siguiente: se pesa 1 g de holocelulosa (P1), con precisión de 0,0001 g, en un Erlenmeyer de 100 mL. Se añadieron 5 mL de NaOH al 17,5% mezclando con una varilla de vidrio. Cada 5 minutos se siguió añadiendo 2,5 mL de NaOH 17,5 % hasta consumir un total de 12,5 mL y se mantuvo 30 minutos a temperatura ambiente. Se agregaron 16,5 mL de agua desionizada a 20 °C para pasar de NaOH 17,5% a 8,3%, se mezcló bien y se mantuvo durante 1 h a temperatura ambiente. A continuación, se filtró en placa filtrante de peso conocido (P2) y se lavó con 50 mL de NaOH 8,3% y posteriormente con agua desionizada. Se repitió el lavado con NaOH 8,3% y agua desionizada dos veces. Se cortó la succión y se añadieron 7,5 mL de CH₃COOH al 10 % y se dejó en contacto 3 minutos. Se volvió a conectar el vacío y se lavó con agua desionizada hasta neutralidad del filtrado. Se secó a 105 °C en estufa durante 12 h y se pesó (P3). Se calculó el contenido en materia orgánica del sólido obtenido (% MOcel) y el contenido en Cel de acuerdo con la ecuación (5):

$$\% \text{ Celulosa} = \left(\frac{(P3 - P2) * (\% \text{MOcel}) * (\% \text{Holocelulosa}) * 100}{P1 * (\text{MOholo}) * (100 - \% \text{Hholo})} \right) \quad \text{Ecuación (5)}$$

2.2.6 Determinación de Hemicelulosa

Al contemplar solamente los tres biopolímeros como los principales constituyentes de la biomasa, el contenido de Hm se calculó por diferencia aplicando la ecuación (6):

$$\% \text{ Hemicelulosa} = 100 - (\% \text{ Celulosa} + \% \text{ Lignina}) \quad \text{Ecuación (6)}$$

2.2.7 Fibra cruda

Para el cálculo de la determinación de la fibra cruda se utilizó como referencia la norma NMX-Y-094-SCFI-2008 [52]. Se pesaron 2 g de muestra y se colocaron en un vaso de precipitados. Se prepararon 2 soluciones, la primera de H₂SO₄ al 1.25 % (v/v) en 100 mL de agua, y la segunda, de NaOH también al 1.25 % (p/v) en 100 mL de agua. A continuación, se colocó la solución alcalina en el vaso con la muestra y se colocó en una parrilla. Antes de comenzar con la ebullición, se puso un matraz con hielo encima del vaso. Una vez hecho esto y comenzada la ebullición se contabilizó el tiempo por 30 minutos, cuidando que el suministro de hielo fuera constante, esta hidrólisis se puede observar en la figura 2.5 a). Terminado el tiempo se filtró la muestra y se lavó con 200 mL de agua destilada. Se recuperó la muestra y nuevamente fue colocada en un vaso de precipitados. Se le añadió la solución ácida, nuevamente se puso el matraz con hielos encima del vaso y se calentó hasta ebullición, nuevamente contando el tiempo por 30 minutos, mostrando la hidrólisis en la figura 2.5 b). Se filtró y lavó con 200 mL de agua destilada y 30 mL de etanol. Se recuperó la muestra y se secó en una estufa por 24 h a 105 °C. Transcurrido el tiempo, se pesó la muestra y posteriormente se introdujo en una mufla por 2 h a 550 °C. Se pesó la muestra y se calculó el porcentaje de fibra de acuerdo a la ecuación (7).

$$\% \text{ Fibra cruda} = \left(\frac{m_1 - m_2}{m} \right) * 100 \quad \text{Ecuación (7)}$$

m = peso de la muestra

m₁ = peso del crisol y muestra transcurridas las 24 horas

m₂ = peso del crisol y muestra después de la calcinación

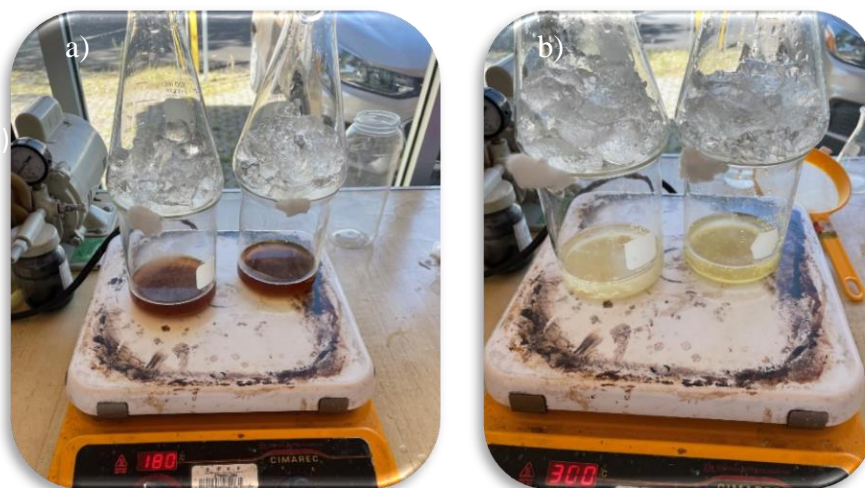


Figura 2.5. Digestión de la CFH mediante a) hidrólisis alcalina b) hidrólisis ácida.

2.2.8 Azúcares reductores

Para la determinación de azúcares reductores, se utilizó la norma NMX-F-217-1975 [53] como referencia. Se pesó 1 gramo de muestra y se colocó en un matraz aforado de 100 mL. Se le añadió 2.5 mL de $Pb(C_2H_3O_2)_2$ y se aforó con agua destilada. Pasados 3 minutos, se filtró y se recuperó la fase líquida, llamada solución azucarada. Esta solución se depositó en una bureta. En un matraz Erlenmeyer de 500 mL se colocó 5 mL de solución Buffer A, 5 mL de solución buffer B, 200 mL de agua destilada, 1 agitador magnético y 5 perlas de ebullición. Se tituló la solución a $400^\circ C$ (temperatura en parrilla) y cuando se observó el cambio de vire (azul intenso a azul más claro) se añadieron 3 gotas de azul de metileno. Se aumentó el flujo de la titulación y se elevó la temperatura y la reacción se detuvo hasta observar un cambio de vire color cobre; todo este proceso puede apreciarse en la figura 2.6. El contenido de azúcares reductores se calculó con la ecuación (8).

$$\% \text{ Azúcares reductores} = \left(\frac{0.05 * V_{\text{aforo}}}{W_{\text{muestra}} * V_{\text{gastado en la titulación}}} \right) * 100 \quad \text{Ecuación (8)}$$

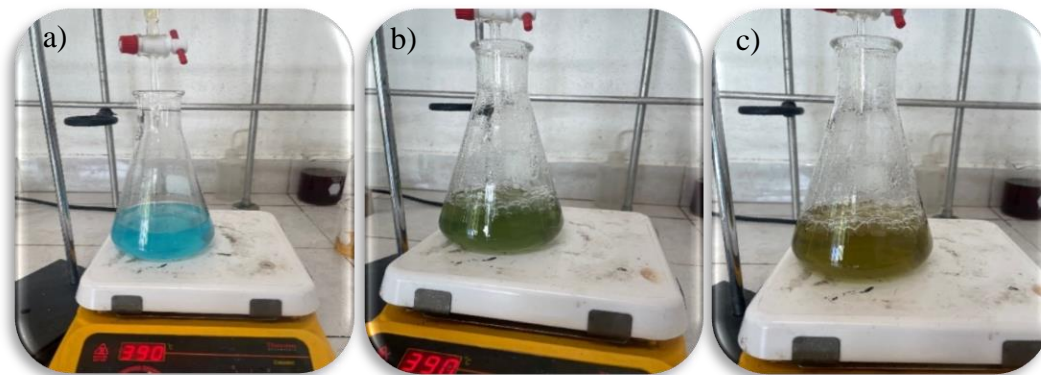


Figura 2.6. Proceso de obtención de azúcares reductores de la CFH a) inicio de la reacción b) Adición de azul de metileno. c) Cambio de vire

2.2.9 Azúcares totales

La determinación de azúcares totales se utilizó como referencia la norma NMX-F-496-SCFI-2011 [54]. Se pesó 1 g de muestra y se colocó en un vaso de precipitados. A este se le añadieron 5 mL de HCl 1N y 50 mL de agua destilada. Un matraz con hielos fue colocado sobre el vaso y este último colocado en una parrilla a 350 °C por 30 minutos. Transcurrido el tiempo se dejó enfriar por aproximadamente 10 minutos, se le añadieron 5 mL de NaOH y nuevamente a ebullición por 30 minutos. Terminado el tiempo se filtró y recuperó el líquido, esta fase se introdujo en un matraz aforado de 100 mL y se aforó con agua destilada. Esta solución fue puesta en una bureta. Antes de continuar con la titulación, en un matraz Erlenmeyer de 500 mL se añadieron 5 mL de solución buffer A y 5 mL de solución buffer B junto con 200 mL de agua destilada, 5 perlas de ebullición y 1 agitador magnético. La titulación se llevó en agitación a 400 °C (temperatura en parrilla) a flujo constante, y cuando se observó el primer cambio de vire (azul intenso a azul más claro) se le añadieron 3 gotas de azul de metileno. Se aumentó tanto el flujo y la temperatura y la reacción se detuvo hasta observar un cambio de vire a color cobre. El contenido de azúcares totales se calculó con la ecuación (9).

$$\% \text{ Azúcares totales} = \left(\frac{0.05 * V_{\text{aforo}}}{W_{\text{muestra}} * V_{\text{gastado en la titulación}}} \right) * 100 \quad \text{Ecuación (9)}$$

2.3 Pretratamiento

Para la realización del pretratamiento, se tuvo primero que trabajar en la delimitación de la región experimental.

Esto se llevó a cabo de acuerdo a trabajos previamente consultados, como el de Cheng *et al.* [55] el cual trabajó con hierba de las bermudas a condiciones altas de temperatura y equipos como autoclave, o el trabajo realizado por Iberahim *et al.* [56] con fibras de mesocarpio de palma aceitera, a condiciones de concentración altas de NaOH. Una vez realizados los experimentos preliminares tomando y replicando las condiciones de estos y otros trabajos (ver anexo I), se acotó la región experimental de acuerdo a los factores más relevantes, siendo temperatura, concentración de NaOH y tiempo, cada uno con su respectivo intervalo, nuevamente delimitados por los experimentos preliminares.

Por último, fue necesario establecer un diseño de experimentos para evaluar las diferentes combinaciones de los factores y sus respuestas y, como punto de partida, se escogió un diseño de experimentos factorial completo 2^k con 3 puntos centrales, debido a la facilidad en la elaboración de los experimentos.

La tabla 2.1 muestra los experimentos necesarios al aplicar el diseño de experimentos con 3 factores.

Tabla 2.1 Diseño de experimentos para el pretratamiento de la cáscara del fruto de la higuera.

<i>Experimento</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Concentración del álcali</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Concentración del álcali (%p/v)</i>	<i>Tiempo (min)</i>
1	-	-	-	40	0.5	2
2	-	-	+	40	0.5	10
3	-	+	-	40	4	2
4	-	+	+	40	4	10
5	+	-	-	70	0.5	2
6	+	-	+	70	0.5	10
7	+	+	-	70	4	2
8	+	+	+	70	4	10
9	0	0	0	55	2.25	6
10	0	0	0	55	2.25	6
11	0	0	0	55	2.25	6

2.3.1 Pretratamiento alcalino

Para llevar a cabo la metodología del pretratamiento alcalino de acuerdo al diseño de experimentos de la tabla 5, se recurrió como punto de partida al trabajo descrito por McIntosh *et al.* [57].

Se utilizaron 5 gramos de muestra y 50 mL de una solución alcalina preparada de acuerdo a las concentraciones mostradas en la tabla anterior con la finalidad de obtener una relación sólido/líquido de 10% (p/v) colocados en un vaso de precipitados. El vaso se introdujo en un recipiente con agua previamente calentada a la temperatura deseada a modo de baño maría. Un agitador magnético se introdujo en el vaso para realizar una correcta homogeneización. Una vez que la solución comenzó a aumentar la temperatura, se esperó a que esta llegara a la temperatura descrita en el diseño de experimentos y se contabilizó el tiempo, esto también de acuerdo a la tabla 2.1. Después se retiró el vaso y se enfrió a temperatura ambiente. La

fracción sólida fue separada del líquido denominado “licor negro” mediante un proceso de filtración utilizando un sistema a vacío. Se emplearon múltiples lavados con agua desionizada hasta la desaparición del color amarillo y neutralización de la biomasa pretratada (pH de 7). La biomasa se secó en una estufa de secado por 24 horas a 75 °C. Transcurrido el tiempo, la biomasa se almacenó en bolsas de plástico selladas herméticamente para su posterior análisis. El proceso del pretratamiento se aprecia en la figura 2.7.

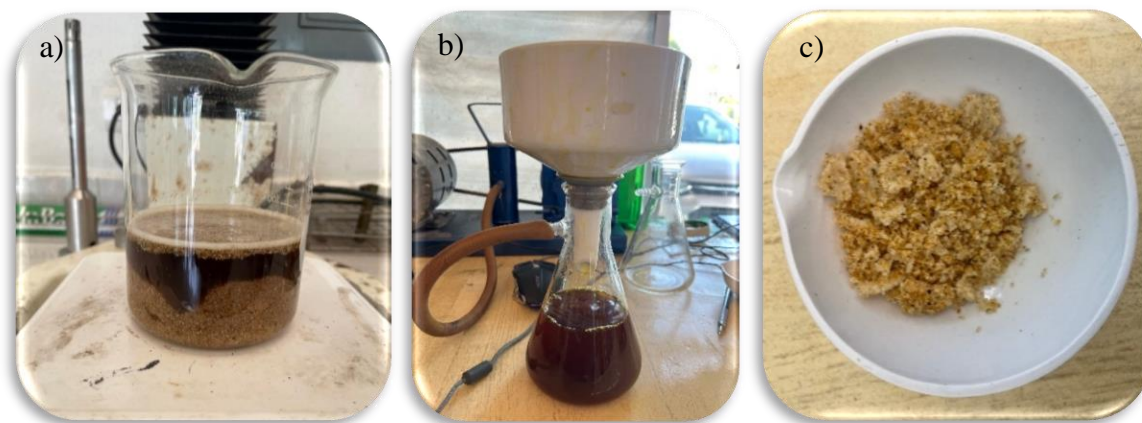


Figura 2.7. Pretratamiento alcalino de la CFH a) Adición de la solución de NaOH b) Filtración y lavado c) muestra filtrada

2.4 Blanqueamiento

El blanqueamiento se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Santos *et al.* [58] con algunas modificaciones propuestas por Mendoza *et al.* [59].

Se tomaron 10 gramos de muestra y se depositaron en un vaso de precipitado. Se prepararon 0.19 L de un buffer de acetato hecho de partes iguales de una solución A (NaClO_2 , 1.7% (w/w) en agua), y una solución B (NaOH , 2.7% (w/v) y CH_3COOH glacial, 7.5% (v/v)). El tratamiento del blanqueo se llevó a cabo por 4 horas a 80 °C mediante el sellado del vaso de precipitado para evitar la evaporación de la solución. Todo esto se realizó en una campana de extracción. Terminado el tiempo, se filtró la muestra con agua destilada y con una bomba de vacío hasta alcanzar un pH de 7 y, por último, el secado de la muestra por 24 horas a 75 °C. el blanqueo y la pulpa resultante se muestra en la figura 2.8.

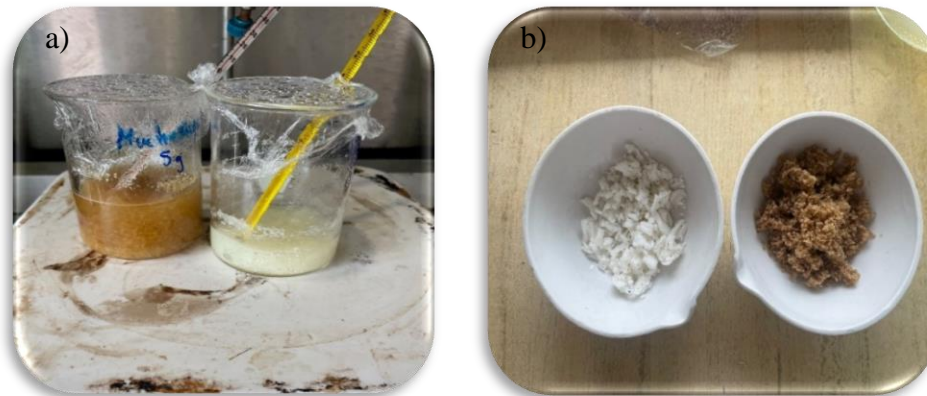


Figura 2.8. Blanqueamiento de la cáscara resultante del pretratamiento a) proceso de blanqueo b) muestra blanqueada, filtrada y lavada.

2.5 Caracterización

2.5.1 Difracción de rayos X

El análisis por DRX se realizó con la finalidad de observar las reflexiones características de la Cel tipo I y observar los cambios en la cristalinidad de la muestra, o, en otras palabras, la estructura ordenada de la Cel [60]. Esta caracterización se realizó en un Difractómetro marca Brucker Discover el cual utiliza un ánodo de cobre con radiación $K\alpha$, en un intervalo de 5 a 90° de 2θ , empleando un tiempo de 14:05:14 minutos, un tamaño de paso de 0.04003 y un tamaño de tiempo de 0.8 s. Se determinó el índice de cristalinidad (IC) mediante la ecuación de Segal descrita en la ecuación (10) y por el método de deconvolución por la ecuación (11), además, también se calculó el tamaño promedio de cristal mediante la ecuación de Scherrer [61] descrito en la ecuación (12).

$$\% \text{ IC} = \left(\frac{I_{002} - I_{\text{am}}}{I_{002}} \right) * 100 \quad \text{Ecuación (10)}$$

IC = Índice de cristalinidad

I_{002} = Intensidad máxima en el pico cristalino

I_{am} = Intensidad del pico en la fase amorfa

$$\% \text{ IC} = \left(\frac{A_c}{A_c + A_{am}} \right) \quad \text{Ecuación (11)}$$

IC = Índice de cristalinidad

A_c = Área cristalina

A_{am} = Área amorfa

$$L = \left(\frac{K * \lambda}{\beta * \cos(\theta)} \right) \quad \text{Ecuación (12)}$$

L = Tamaño de cristal

λ = Longitud de onda, valor de 1.5046

β = Ancho completo a la mitad del máximo de picos

$\cos(\theta)$ = coseno de la posición del ángulo θ

K = Factor de forma, constante con valor de 0.9

2.5.2 Espectroscopia de energía dispersiva (EDS)

Para la determinación de la composición química elemental, se utilizó un espectrofotómetro de energía dispersiva modelo INCA x-act Penta F6T de instrumentos Oxford, acoplada a un microscopio electrónico de barrido.

2.5.3 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Para la observación de la morfología se utilizó un microscopio electrónico de barrido JEOL modelo JSM-5610LV con una aceleración de voltaje de 20 keV. Las muestras que se emplearon para esta técnica se analizaron completamente secas y fueron recubiertas por una delgada capa de oro para mejorar la conductividad de las muestras [62]. La finalidad de esta técnica para este procedimiento es evaluar la posible porosidad que se presente una vez

realizado el pretratamiento, observar las microfibrillas de la Cel con el proceso de blanqueo y la eliminación de capas compuestas por lignina, Hms y ceras.

2.5.4 *Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)*

La caracterización mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier se realizó en un espectrofotómetro marca Perkin Elmer, modelo Spectrum One, con accesorio de ATR En la zona media de 4000 a 650 cm^{-1} .

2.5.5 *Análisis termogravimétrico (TGA)*

Este análisis se realizó en un equipo marca TGAi1000 Instrument Specialists Incorporated, con flujo de N_2 a 40 mL/min, con una rampa de calentamiento de 10°C / min y con un intervalo de temperatura de 25 a 800 °C.

Referencias bibliográficas

- [47] NORMA Oficial Mexicana NOM-116-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa. (08-10-1995).
- [48] NMX-F-066-S-1978. Determinación de cenizas en alimentos. (03-11-1978).
- [49] Yoshihara K, Kobayashi T, Fujii T, Akamatsu I. JPN TAPPI J [Internet]. 1984;38(4):466–75. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2524/jtappij.38.466>
- [50] Browning B. Methods od wood chemistry. Interscience Publ [Internet]. 1967.
- [51] ANSI/ASTM. Standard test methods for alpha-cellulose in wood. (01-1977).
- [52] NMX-Y-094-2008. Alimentos para animales-determinación de fibra cruda en ingredientes y alimentos terminados-método de prueba. (12-12-2008)
- [53] NMX-F-217-1975. Determinación de dextrosa equivalente en glucosa de maiz.
- [54] NMX-F-496-SCFI-2011. Industria azucarera y alcoholera - determinación de reductores totales en azúcares y materiales azucarados
- [55] Wang Z, Keshwani DR, Redding AP, Cheng JJ. Sodium hydroxide pretreatment and enzymatic hydrolysis of coastal Bermuda grass. Bioresour Technol [Internet]. 2010;101(10):3583–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.097>
- [56] Iberahim NI, Jahim JM, Harun S, Nor MTM, Hassan O. Sodium hydroxide pretreatment and enzymatic hydrolysis of oil palm mesocarp fiber. Int J Chem Eng Appl [Internet]. 2013;101–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.7763/ijcea.2013.v4.272>.
- [57] McIntosh S, Vancov T. Enhanced enzyme saccharification of Sorghum bicolor straw using dilute alkali pretreatment. Bioresour Technol [Internet]. 2010;101(17):6718–27. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.116>

[58] Santos RM dos, Flauzino Neto WP, Silvério HA, Martins DF, Dantas NO, Pasquini D. Cellulose nanocrystals from pineapple leaf, a new approach for the reuse of this agro-waste. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2013; 50:707–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.049>

[59] Resendiz-Vazquez JA, Roman-Doval R, Santoyo-Fexas F, Gómez-Lim MA, Verdín-García M, Mendoza S. Chemical and biological delignification treatments from blue agave and sorghum by-products to obtain cellulose nanocrystals. *Waste Biomass Valorization* [Internet]. 2022;13(2):1157–68. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12649-021-01547-2>

[60] Sánchez Ortiz A. Síntesis de nanopartículas derivadas de biopolímeros extraídos de biomasa por métodos térmicos [tesis de maestría]. Nuevo León: Universidad Autónoma de Nuevo León; 2015. Disponible en <http://eprints.uanl.mx/9397/>

[61] Lim DJ, Marks NA, Rowles MR. Universal Scherrer equation for graphene fragments. *Carbon N Y* [Internet]. 2020;162:475–80. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbon.2020.02.064>

[62] Morales de la Rosa S. Hidrólisis ácida de Cel y biomasa lignocelulósica asistida con líquidos iónicos [tesis doctoral]. Madrid. Universidad Autónoma de Madrid; 2015. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=47433>

III DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el capítulo que a continuación se presenta, se realiza la discusión de los resultados obtenidos en el capítulo II para poder validar los argumentos predichos y consolidar el trabajo de investigación. En primera instancia, se discuten los resultados con respecto a la caracterización de la materia prima, como la elección del tamaño de partícula, el análisis de composición proximal y elemental, así como las técnicas de caracterización empleadas. En segunda instancia se presentan los resultados obtenidos en el pretratamiento complementado con el diseño de experimentos para posteriormente discutir y corroborar lo obtenido mediante un análisis estadístico.

Continuando con el trabajo, se aplicó una solución blanqueadora al experimento que mejor resultado dio con respecto a la deslignificación, con la finalidad de obtener la Cel con el mayor grado de pureza posible. A estos experimentos también se les realizó su respectiva caracterización (análisis de composición proximal, elemental y técnicas de caracterización). Se realiza un balance económico para comparar el costo del proceso de obtención de Cel y el costo de la Cel comercial. La última sección, se enfoca en contrastar las condiciones y resultados obtenidos (con respecto a la deslignificación) con otros trabajos y exponer la novedad del presente proyecto de investigación.

3.1 Caracterización de la materia prima

3.1.1 Tamaño de partícula

Una vez llevado a cabo la molienda y el tamizado de la cáscara del fruto de la higuera (CFH) y su almacenamiento, se obtuvieron diferentes tamaños de partículas entre los que se encuentran diferentes tamaños; mayor a 841 μm , 84-250 μm , 250-177 μm , 177-149 μm y menor a 74 μm . El tamaño de partícula propuesto para este trabajo se encuentra en el intervalo de 250-177 μm (malla #60-80).

De acuerdo a trabajos enfocados en el tamaño de partícula, Dougherty *et al.* [63] encontró que el mayor rendimiento de glucosa se obtuvo con un tamaño de partícula de 74-105 μm para el pretratamiento con ácido y un tamaño de 53-63 μm para el pretratamiento EFA y con líquidos iónicos, esto para la biomasa pasto varilla. Singh *et al.* [64] demostró que

para *Miscanthus* el tamaño de partícula de 88 μm es el adecuado para la mayor obtención de azúcares, tanto para el tratamiento con agua caliente líquida, ácido diluido y NH_4OH diluido.

Yu *et al.* [65] trabajó con diferentes biomásas con un tamaño de 250-841 μm obteniéndose los siguientes resultados: para la paja de trigo, un aumento de 20,8 % de glucano y una reducción de 11,3 % de Lg, para la paja de maíz un aumento de 68 % y disminución de Lg de 71,61 % y para el bagazo de la caña de azúcar un aumento de 34,36 % y con respecto a la Lg, bajó un 58,47 %. Por otra parte, el trabajo de Wang *et al.* [66] menciona que la reducción del tamaño del rastrojo de maíz incrementa la superficie de la biomasa, la cual facilita el proceso de hidrólisis.

De acuerdo a lo anteriormente descrito, el contenido de glucosa (azúcar propio de la Cel) obtenido de diferentes biomásas se ve afectada por el tamaño de partícula, por lo que, para el presente trabajo de investigación, el intervalo propuesto (177-250 μm) es una buena opción, considerando que cada proceso es único al igual que cada tipo de biomasa.

3.1.2 *Análisis de composición proximal*

El análisis de composición proximal es un término usado en el campo de alimentos y se refiere a los componentes de humedad, proteína cruda, extracto de éter, fibra cruda, cenizas y extractos libres de nitrógeno, los cuales son expresados como el contenido (%) en la muestra. Para la elaboración de este análisis, se tomó en cuenta el trabajo publicado por Mendoza *et al.* [67] donde los componentes mostrados son los siguientes: Cel, Hm, Lg, cenizas y humedad. La tabla 3.1 muestra los valores obtenidos de la CFH.

Tabla 3.1. Análisis de composición proximal de la CFH.

Componente (%)	Valor promedio
Cel	36,63
Hm	29,39
Lg	25,18
Cenizas	3,32
Humedad	4,89

De acuerdo a los valores obtenidos de Cel, Hm y Lg de la CFH, estos se encuentran dentro del intervalo reportado por diversos autores al tratar diferentes biomásas. Por ejemplo, los contenidos de Cel, Hm y Lg reportados por López *et al.* [68] para la madera de abeto son 38, 30 y 24 % respectivamente. Por otro lado, Asadieraghi *et al.* [69] reportó un valor de 34,5, 31,8 y 25,7 % para las fibras de mesocarpio de palma. En la tesis de doctorado, Sanmartín reportó los siguientes valores: Cel 28,9 %, Hm 41,46 % y Lg 10,41 % para la cáscara de higuera. De acuerdo a la tabla 3.1, los valores de Sanmartín difieren a lo obtenido en el presente proyecto de investigación, debido posiblemente a una variedad diferente de la planta, a diversas condiciones de crecimiento (clima, humedad, suelo) o incluso el tiempo de madurez de la semilla.

Continuando con el argumento de lo obtenido en la tabla 3.1, los porcentajes de Cel, Hm y Lg que se obtuvieron en el presente trabajo son similares a lo reportado en la literatura para otras biomásas como se mencionó en el párrafo anterior, por lo que el contenido de Cel en la CFH con un porcentaje de 36,63 % representa un objetivo de interés para su extracción. Por otra parte, el contenido de Lg de 25,18 %, implica un problema en el proceso lo que conlleva a un estudio de los factores claves del pretratamiento con la finalidad de solubilizar la Lg.

La incineración de la biomasa implica la obtención de cenizas (cz) al final del proceso de combustión, pero es muy difícil encontrar una aplicación específica para todas las cz, por lo que identificar las propiedades de estas proporcionará información valiosa sobre los posibles métodos de procesamiento [70]. De estas posibles aplicaciones se puede hacer mención su uso en la agricultura como fertilizante (debido a que contiene elementos como Ca, Na, K, Mn, entre otros) o el uso de la biomasa como combustible en procesos de combustión [71], por lo que la determinación de cz de la CFH es un paso importante.

El contenido de cz obtenido de la CFH se encuentra dentro de valores reportados en literatura, por ejemplo y retomando el trabajo de López *et al.* [68], este reportó un valor de 3,4 % para la madera de abeto, mientras que Haykiri-Acma *et al.* [72] reportó un valor de 3,3 % para la cáscara de girasol. El contenido de 3,32 % de cz de la CFH, aunque se encuentra dentro de valores establecidos en literatura, es un contenido bajo, por lo que su posible uso

en la agricultura no es factible y se adecua de mejor manera en los procesos de combustión para la generación de energía.

Por otra parte, el contenido de humedad también es de importancia en los procesos de generación de energía como calderas para la generación de vapor, ya que la biomasa húmeda no solo reduce la capacidad de producción de vapor, sino también reduce la temperatura del horno, haciendo que sea más difícil mantener el fuego y la quema del material húmedo [73]; por lo que la determinación de humedad de la CFH también es un factor muy importante a determinar.

El valor de la humedad de 4,89 % de la CFH se encuentra dentro del intervalo reportado para otras biomásas, por ejemplo, Chen *et al.* [74] reportó un valor de 5,08 % para la paja de canola y Andrade *et al.* [75] un valor de 4.87 % de humedad para la cáscara de las semillas de mango. El bajo contenido de humedad del 4,89 % representa un buen indicador para su uso potencial como fuente de combustible.

3.1.3 Análisis elemental

El análisis elemental es un proceso muy utilizado en la industria para cuantificar elementos contenidos en muestras de diversa naturaleza, tales como alimentos, fertilizantes, aguas, lodos, productos procedentes del petróleo y plantas. Es utilizado de forma más común para determinar la cantidad de nitrógeno y carbono, entre otros compuestos [76]. Los resultados del análisis elemental de la CFH son mostrados en la tabla 3.2.

Tabla 3.2. Resultados del análisis elemental de la CFH.

Cáscara del fruto de la higuera					
Elemento	C	O	Si	Cl	K
Porcentaje peso	49,4	47,5	0,345	0,495	2,305

El alto contenido de carbono es un parámetro característico de los residuos lignocelulósicos. Demirbas [77] reportó un valor de C de 52,8 %, y de O de 42,6 % para la cáscara de avellana y, con respecto al elemento Cl, el mismo autor (Demirbas) reportó un valor de 0,2 % para la cáscara de aceituna. Para el elemento Si, Saeed *et al.* [78] reportó un

valor de 0,57 % para la paja de sorgo y de 0,23 % para el bagazo (de sorgo), siendo el contenido de Si de la CFH un valor dentro del intervalo de estos residuos. Agblvor *et al.* [79] determinó que el pasto varilla tiene un contenido de K de 0,85 %, mientras que Thy *et al.* [80] reportó un valor de K de 10,33 % para el rastrojo de maíz. Los valores obtenidos del análisis elemental de la CFH son similares a algunos trabajos y se encuentran dentro de los intervalos reportados en literatura. La variación se explica debido a que cada tipo de biomasa es diferente y, por lo tanto, presenta cantidades únicas en sus porcentajes.

3.1.4 Difracción de Rayos X (DRX)

La finalidad de utilizar la técnica de difracción de rayos X es para poder determinar la naturaleza cristalina de la muestra, el índice de cristalinidad (IC) y el tamaño promedio de cristal. Uno de los métodos más utilizados para la determinación del IC es el propuesto por Segal denominado método de la altura máxima, que se basa en la medición de la altura máxima de la reflexión característica de la Cel y la medición de la parte amorfa. También se utilizó el método de deconvolución para el cálculo de las áreas de la fase cristalina y de la fase amorfa y, dado los resultados es posible calcular el tamaño promedio de cristal. Los patrones de difracción de rayos X se muestran en la figura 3.1.

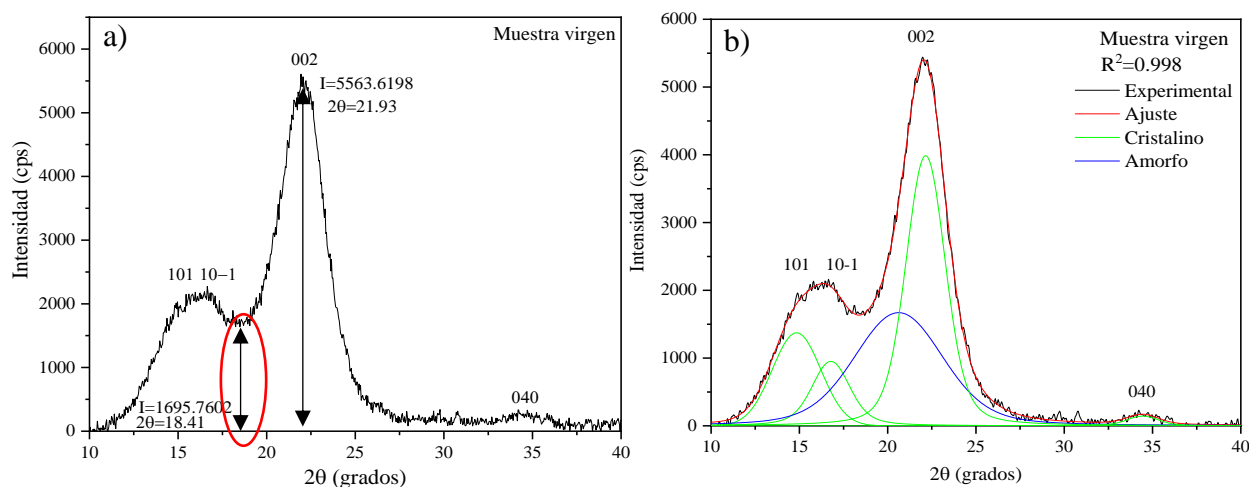


Figura 3.1. Patrón de Difracción de rayos X de la CFH a) método de la altura máxima b) método de deconvolución.

La Cel tiene regiones tanto amorfas como cristalinas. En las regiones cristalinas, las cadenas de Cel están estrechamente empaquetadas y estabilizadas por medio una fuerte y compleja red de enlaces de hidrógeno. En esta región (cristalina), la orientación molecular y los enlaces de hidrógeno pueden variar ampliamente, lo cual puede dar lugar a polimorfos de Cel.

Hay 4 polimorfos de Cel: Cel I, Cel II, Cel III y Cel IV [81]. La Cel nativa, característica de los residuos lignocelulósicos, está compuesta de dos distintos alomorfos, I_α (triclínico) y I_β (monoclínico) dependiendo del origen. El primero se encuentra en la mayoría de las algas y bacterias, mientras que el segundo es dominante en las plantas [82]. El IC es un factor muy importante en el proceso de hidrólisis y es frecuentemente utilizado para interpretar los cambios en la estructura de la Cel después de los pretratamientos [83]. El alto grado de cristalinidad de la Cel cristalina confiere protección a la célula y constituye un impedimento estérico al ataque de reactivos [84]. Los resultados del IC de la CFH se encuentran en la tabla 3.3.

Tabla 3.3. Resultados del IC de la CFH mediante el método de la altura máxima y el método de deconvolución.

Método	IC (%)
Altura máxima	76.64
Deconvolución	62.84

De acuerdo a la figura 3.1, la reflexión más intensa se encuentra en el ángulo $2\theta = 21,93^\circ$ correspondiente plano cristalino 002, cercano al intervalo $2\theta = 22$ y 23° y la porción amorfa de la cáscara en el valor de $2\theta = 18,41^\circ$, que se encuentra en el intervalo de $2\theta = 18^\circ$ y 19° , valores característicos de la Cel tipo I; además de las reflexiones propias de este tipo de Cel, siendo $2\theta = 15,4^\circ$ en el plano 101, $2\theta = 16,2^\circ$ en el plano 10-1 y $2\theta = 34,6^\circ$ en el plano 040 [85, 86].

La identificación de la Cel también se realizó por medio de la ficha JCPDS 50-2241 [87]. Esta se muestra en la figura 3.2.

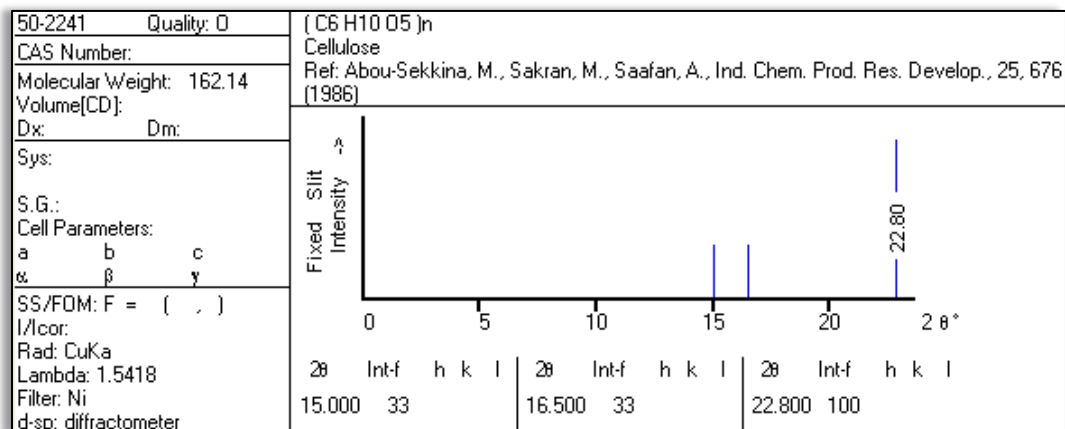


Figura 3.2 Ficha JCPDS 50-2241 para la Cel nativa.

Diversos autores reportan el IC de diferentes biomásas, como, por ejemplo, Dhabhai *et al.* [88] reportó para la paja de trigo un valor de 60 %. Por otro lado, Jafari *et al.* [89] trabajó con la cáscara de nuez, obteniendo un valor de 49 %. Wei *et al.* [90] reportó un valor de 77 % para la paja de arroz. El resultado del IC obtenido para la CFH de este proyecto es de 76,64 %, este valor puede deberse a la alta porción amorfa contenido de la cáscara, contribuyendo a un menor valor del IC.

Por otra parte, el IC obtenido mediante el método de deconvolución fue un 13,8 % menor. El valor del IC por el primer método (altura máxima) es siempre mayor que el valor obtenido por el método de deconvolución, probablemente debido a la sobrestimación de la intensidad del pico amorfo debido a que el valle es usado para estimar la contribución amorfa en el primer método [91].

En la tabla 3.4, se muestran los resultados con respecto al tamaño promedio de cristal y el cálculo de la distancia interplanar.

Tabla 3.4. Tamaño promedio de cristal y distancia interplanar de la CFH.

Método	Tamaño promedio de cristal (nm)	Distancia interplanar (Å)
Deconvolución	3.0624	4.0497

Para el cálculo del tamaño promedio de cristal (TPC), se trabajó con la reflexión característica de la Cel ubicada en el plano 002. A pesar de que el tamaño se encuentra reportado en literatura en el intervalo de 4 a 7 nm [92] no es aplicable de manera general. Saha *et al.* [93] encontró que el tamaño de cristal para la cáscara de coco es de 3.42 nm. Por otro lado, López *et al.* [94] determinó el tamaño de cristal para el bagazo de la caña de azúcar, teniendo un valor de 2 nm. Debido a esto, la muestra de la CFH con un valor de 3,0624 nm se encuentra dentro de los valores reportados. Esta variación puede deberse al tipo de materia, ya que, cada residuo es diferente y posee características únicas.

Con respecto a la distancia interplanar, la planta guarea negra [95] presenta una distancia interplanar de 3.933 Å en el plano 002 y para el algodón [96] un valor de 3.94 Å. La diferencia con respecto al valor obtenido en el presente trabajo, se puede deber al uso de software, el método de deconvolución e incluso al valor del ángulo 2θ que puede ocasionar diferencias significativas al momento del cálculo.

3.1.5 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

La microscopía electrónica de barrido es utilizada para observar la morfología de la muestra, en este caso, de la CFH. Esto se muestra en la figura 3.3.

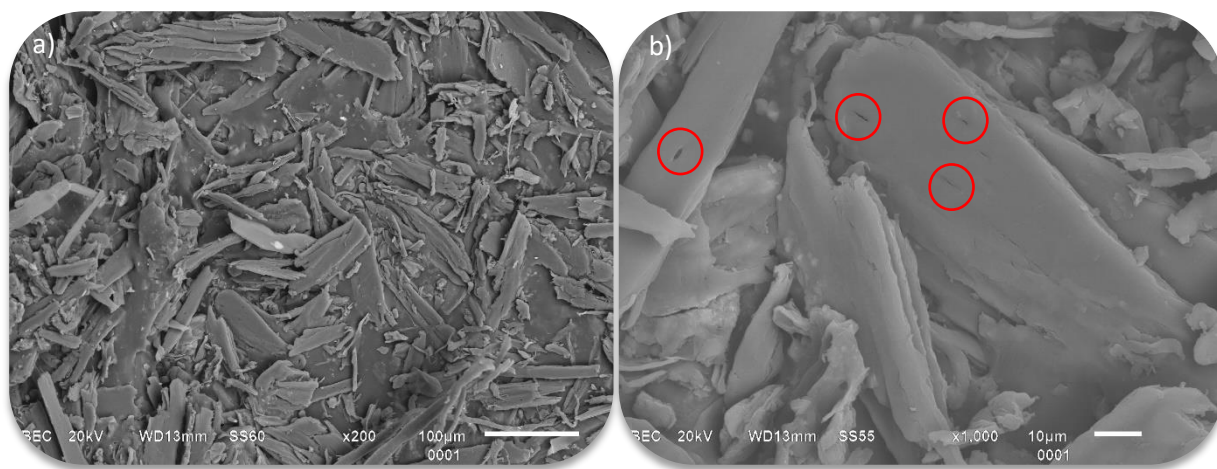


Figura 3.3. Microscopía Electrónica de Barrido de la CFH a una amplificación de a) 200x y b) 1000x

La técnica de MEB es sumamente utilizada por los investigadores para diferentes tipos de biomásas. Un ejemplo de esto es el trabajo realizado por Zheng *et al.* [97] con la paja de

trigo, el cual para esta biomasa a un tamaño de 100 μm describe una estructura superficial regular y compacta con fibras dispuestas en haces. De acuerdo a la figura 3.3 a) se pueden observar diferentes tamaños de partículas en forma de placas rectangulares, con una superficie lisa y compacta. Por otra parte, Pletschke *et al.* [98] describe para la mazorca de maíz a un tamaño de partícula de 20 μm una superficie cubierta de lignina, formando una capa blanquecina gruesa y suave. En la figura 3.3 b) a una ampliación de 1000x, se presenta una aparente superficie lisa, aunque esto solo se observa por partes con posibles puntos de porosidad denotados con círculos de color rojo, además de una capa blanca en la superficie de la cáscara, semejante a lo reportado por Pletschke. Esta característica de la superficie puede deberse al recubrimiento por parte de la Lg que, comprende la capa exterior y es la encargada de darle la rigidez a la pared celular.

3.1.6 Espectroscopia infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier es uno de los métodos analíticos más ampliamente utilizados para estudiar los grupos funcionales de la biomasa midiendo las bandas de absorción de las muestras y poder observar los cambios durante o después del tratamiento [99]. El espectro de FTIR de la CFH sin tratar se ilustra en la figura 3.4.

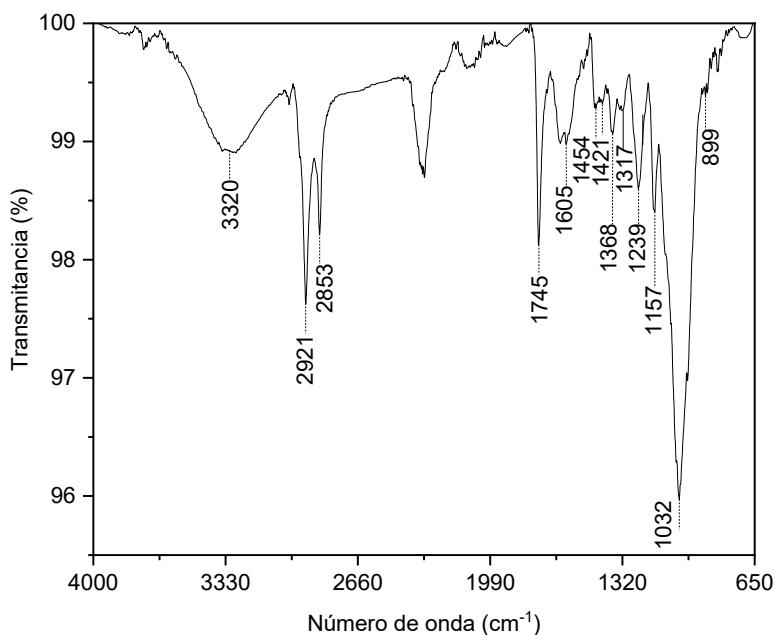


Figura 3.4. Espectro FTIR de la CFH.

De acuerdo a la figura 3.4, se aprecian diferentes intensidades correspondientes a los diferentes grupos funcionales característicos de la Cel, Hm y Lg. Estos grupos son descritos a continuación.

La banda en 3315 es atribuida al estiramiento intramolecular de OH. La banda en 2924 es asignada al estiramiento simétrico de metil y metilo y 2853 al estiramiento asimétrico de metil y metilo [101]. La banda 1745 es correspondiente al estiramiento C=O [100]. La banda 1605 se atribuye a la vibración del anillo aromático de la lignina [101] y la banda 1454 a la deformación del grupo C-H, también de la lignina. La banda 1421 implica el estiramiento simétrico del grupo carboxil y deformación de C-H. la banda 1368 es atribuido al estiramiento C-H del grupo CH₃. La banda 1317 es debido al estiramiento C-O de unidades aromáticas sustituidas en C5. La banda 1239 corresponde estiramiento C-O de la unidad de guayacilo característico de la lignina. Otra banda en 1157 se debe al estiramiento de C-O-C. 1032 corresponde al estiramiento de C-O y deformación de C-H y la banda en 899 al estiramiento C-O-C [100]. El obtener la información de las señales es de suma importancia ya que permite evaluar los cambios que se presenten al aplicar el pretratamiento y blanqueo, como el aumento, disminución o desaparición de estas señales que corresponden a la eliminación de la Lg y Hm, así como el aumento de Cel.

3.1.7 *Análisis termogravimétrico (TGA)*

El análisis termogravimétrico (TGA) es un método de análisis térmico para entender e investigar los perfiles de descomposición térmica de diferentes materiales sobre un intervalo de temperatura particular [102]. La estabilidad térmica se refiere a que no hay una aparente pérdida de peso a la temperatura bajo investigación, y da una indicación de la cantidad de contenido volátil en la muestra de biomasa. Esta información de estabilidad térmica es de gran importancia ya que a partir de ella se puede determinar la temperatura o intervalo de temperatura a la cual sustancias como aleaciones, materiales para construcción, polímeros, fibras de biomasa, entre otros, pueden ser usado [103].

El análisis termogravimétrico fue llevado a cabo en la CFH para determinar la estabilidad térmica. La figura 3.5 muestra el resultado de este análisis.

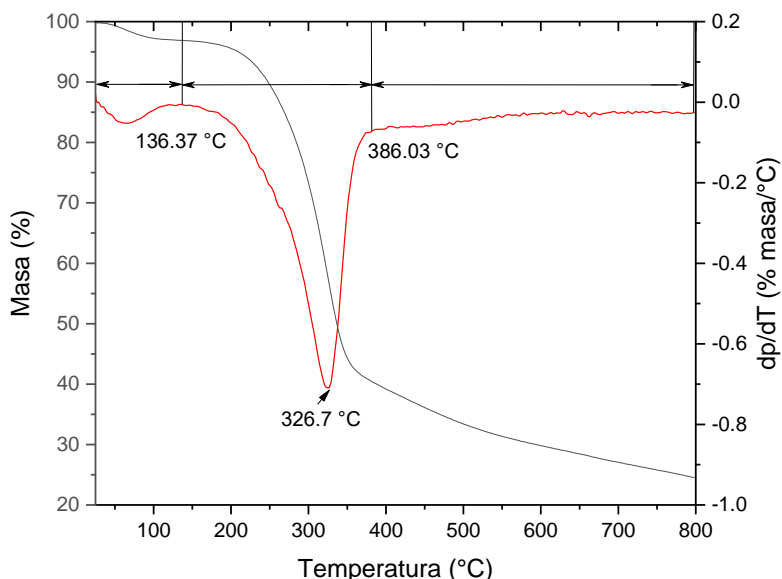


Figura 3.5. Análisis termogravimétrico y diferencial de la CFH.

De acuerdo a la figura 3.5, se pueden apreciar 3 zonas que comprenden el análisis termogravimétrico de la CFH. La zona I comprende un valor menor a 136.37 °C la cual corresponde a la humedad en la muestra y a compuestos de bajo peso molecular. La zona II representa la descomposición de la CFH (Hm, Cel y Lg) y se encuentra en el intervalo de 136.37 a 386.03 °C, en donde se observa la temperatura de degradación a 326,7°C, mientras que la etapa III en el intervalo de 386.03° a 800 °C corresponde a la degradación total de la muestra. [104,105].

3.2 Pretratamiento alcalino y diseño de experimentos

En esta fase del trabajo se evaluó el desempeño de los 3 factores que afectan de manera directa el proceso de deslignificación de la cáscara del fruto de la higuera por medio del proceso de pretratamiento químico con NaOH comparándolo con la muestra virgen. El primer paso fue determinar los intervalos de temperatura, tiempo y concentración adecuados para poder realizar la delimitación de la región experimental.

La segunda etapa consiste en conocer cómo afectan los factores en cuanto a la respuesta denominada deslignificación, que consiste en la degradación y disolución de macromoléculas de Lg [106]. La valoración se realizó mediante el diseño factorial completo (DFC) 2^3 con 3 puntos centrales descrito anteriormente en el capítulo II. Este diseño describe los

experimentos más adecuados para conocer simultáneamente que efecto tienen k factores sobre una respuesta y descubrir si interaccionan entre ellos. Los experimentos se contemplan de tal modo que la información buscada se obtiene combinando las respuestas de todos ellos. Esto permite obtener la información con el mínimo número de experimentos, a diferencia del método tradicional de variar un factor ya que puede implicar más experimentos de los necesarios y, a pesar de ello, proporcionar solo información parcial, por ejemplo, no mostrará si existe interacción entre factores [107]. En la tabla 3.5 se muestran las respuestas que se obtuvieron aplicando el diseño de experimentos 2^3 en términos de deslignificación.

Tabla 3.5. Resultados obtenidos aplicando el DFC 2^3 con puntos centrales a la CFH.

Experimento	T (°C)	NaOH (% p/v)	t (min)	% Deslignificación
1	40	0,5	2	38,40
2	40	0,5	10	34,39
3	40	4	2	61,00
4	40	4	10	60,64
5	70	0,5	2	41,38
6	70	0,5	10	35,23
7	70	4	2	62,75
8	70	4	10	60,56
Punto central 1	55	2,25	6	50,16
Punto central 2	55	2,25	6	51,03
Punto central 3	55	2,25	6	49,05

De acuerdo a la tabla 3.5, se obtuvieron diferentes porcentajes de deslignificación que comprende a cada combinación de los factores. El trabajo de Minmunin *et al.* [108] a condiciones de 60 °C, 180 minutos y de NaOH de 0.5 % y 3 % p/v obtuvo un porcentaje de deslignificación para la hierba de plátano de 4,88 % y 14,63 % respectivamente. Por otra parte, Harun *et al.* [109] determinaron el pretratamiento de la cáscara de arroz a las condiciones de NaOH de 2% por 1 hora a 55°C, obteniendo un porcentaje de deslignificación del 53,25 %. Un último trabajo correspondiente al elaborado por Irfan *et al.* [110] a una concentración de 2.5 % de NaOH, A 121 °C y 30 minutos, reportaron una deslignificación del 63,5 % para la paja de trigo. Comparando los trabajos de los autores anteriormente mencionados, el porcentaje de deslignificación que se obtuvo en este trabajo es bastante

aceptable, recalcando que el tiempo propuesto en la secuencia experimental es mucho menor, debido a que el límite máximo es de tan solo 10 minutos.

Los tres factores tienen un efecto en cada experimento del diseño, para lo cual se agruparon en bloques para una mejor interpretación y se muestran en la figura 3.6.

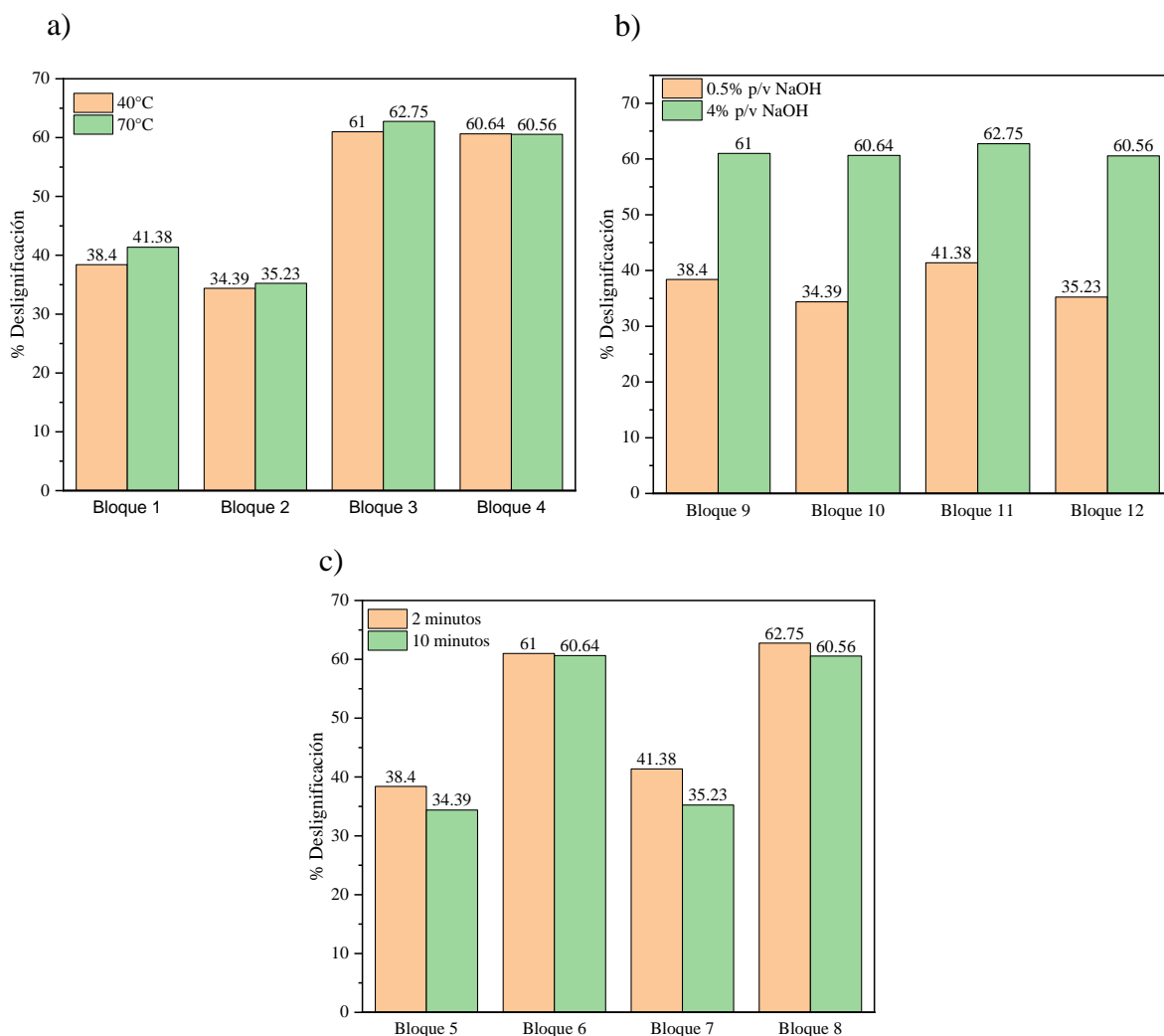


Figura 3.6. Análisis por bloques de los efectos: a) temperatura, b) tiempo y c) Concentración de NaOH

Analizando la figura 3.6 a) que representa solo la variación de la temperatura, el bloque 1 en el nivel bajo de concentración y tiempo, hay una diferencia de 2,98 %. El bloque 2 en el nivel bajo de concentración y nivel alto de tiempo, la diferencia es solo de 0,84 %. Siguiendo esta misma línea, el bloque 3, a nivel alto de concentración y bajo de tiempo, la diferencia es

solo de 1,75 %. Para el bloque 4 a nivel alto de concentración y tiempo, hay una mínima diferencia de 0,08 %. El aumentar la temperatura ayuda a un mayor porcentaje de deslignificación, aunque no se puede considerar de mucho beneficio, debido a que este aumento (con respecto a deslignificación) es poco y la diferencia de temperatura de 30°C es significativa por lo que se requiere bastante energía.

Los resultados de la figura 3.6 b) son con respecto al factor tiempo, del cual se puede interpretar lo siguiente: el bloque 5 que corresponde los niveles bajos de temperatura y concentración, hay una diferencia de 4,01 %. El bloque 6, a nivel bajo de temperatura y alto de concentración, la diferencia solo es de 0,36 %. Por otra parte, el bloque 7 que corresponde al nivel alto de temperatura y bajo de concentración, la diferencia es del 6,15 %. Por último, el bloque 8 que representa los niveles altos de temperatura y concentración, la diferencia es de 2,19 %. Está claro que el aumento del tiempo no es de gran ayuda para el proceso, debido a que, si este aumenta, la deslignificación se ve afectada de manera negativa.

Por último, analizando la figura 3.6 c) correspondiente a la concentración de NaOH y comenzando con el bloque 9, a niveles bajos de temperatura y tiempo, la diferencia es de 22,6 %. El bloque 10 a niveles bajo de temperatura y alto de tiempo, la diferencia es de 26,25 %. En el bloque 11, que representa el nivel alto de temperatura y bajo de tiempo, hay una diferencia 21,37 %. El último bloque, el 12, en el cual se encuentran los niveles alto de temperatura y tiempo, la diferencia es de 25,33 %.

Analizados los 3 factores, es evidente que aquel que tiene mayor impacto es la concentración de NaOH debido a que pasar de una concentración de 0,5 % a 4% tiene un mayor efecto en el proceso de deslignificación.

Lo que ocurre al momento de someter la biomasa a la solución alcalina se puede explicar de la siguiente manera: el enlace éster entre el ácido ferúlico y el carbohidrato es altamente susceptible a la degradación alcalina, por lo que el ion hidroxilo (disociado del NaOH), incrementa la velocidad a la cual ocurre la reacción de hidrólisis, por lo que la Lg es totalmente solubilizada. El mecanismo del pretratamiento alcalino se presenta en la figura 3.6 en la cual el ion hidroxilo ataca al carbón del enlace éster, ya sea entre la Lg y el carbohidrato o incluso entre dos componentes de Lg o dos componentes de carbohidrato. Se

forma un intermediario tetraédrico, pero rápidamente colapsa cuando un átomo de oxígeno con carga negativa expulsa un alcóxido ($-\text{OCH}_3$) del ácido carboxílico. En una reacción muy rápida, el alcóxido resultante, actúa como una base, desprotonando el ácido carboxílico. El resultado es una hidrólisis irreversible del enlace éster, debilitando la integridad estructural de la lignocelulosa [111].

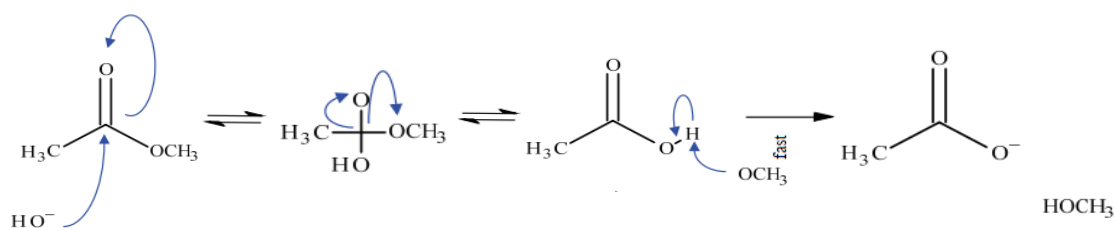


Figura 3.7. Mecanismo de hidrólisis de una base al enlace éster.

De la tabla 3.7 es necesario determinar aquel experimento que presentó los mejores resultados para llevar a cabo las siguientes etapas en el proceso experimental, ya que hacerlo con todos y cada uno de ellos conlleva tiempo, esfuerzo y costos. Tomando estas consideraciones, se determinó que el experimento 3 (E3) es el adecuado para proseguir con el trabajo. Los criterios que se tomaron en cuenta son: el resultado de deslignificación con un valor de 61 % (el segundo más alto) y los niveles de temperatura y tiempo son los más bajos. Ahorrar tiempo, una temperatura baja y una deslignificación alta, favorecen el proceso del pretratamiento.

3.3 Análisis estadístico

Para llevar a cabo una mejor interpretación de los resultados obtenidos en la sección anterior, es necesario realizar un análisis estadístico y corroborar lo anteriormente mencionado. Los resultados de este análisis estadístico son presentados en la tabla 3.6.

Tabla 3.6. Análisis de varianza del DFC 2³ con 3 puntos centrales.

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Valor de p
Modelo	8	1174,98	146,87	149,11	0,01
Lineal	3	1165,19	388,40	394,31	0,00
Tiempo	1	20,19	20,19	20,50	0,05
Concentración	1	1141,23	1141,23	1158,60	0,00
Temperatura	1	3,77	3,77	3,82	0,19
Interacción de 2 términos	3	9,79	3,26	3,31	0,24
Tiempo*Concentración	1	7,24	7,24	7,35	0,11
Tiempo*temperatura	1	1,97	1,97	2,00	0,29
Concentración*temperatura	1	0,58	0,58	0,59	0,52
Interacción de 3 términos	1	0,01	0,01	0,01	0,92
Tiempo*Concentración*temperatura	1	0,01	0,01	0,01	0,92
Curvatura	1	1,35	1,37	1,39	0,36
Error	2	1,97	0,99		
Total	10	1178,30			

La interpretación de los resultados se puede observar de mejor manera mediante la implementación de gráficas, como lo son: gráficas de efectos principales, de interacción binaria y de Pareto. Estas se muestran en la figura 3.8, 3.9 y 3.10, respectivamente.

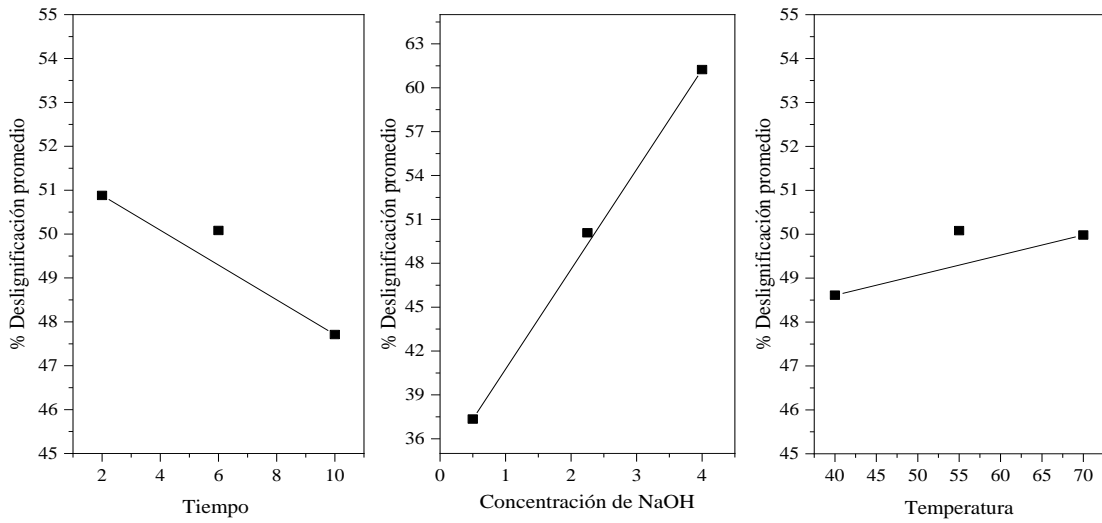


Figura 3.8. Gráfica de efectos principales.

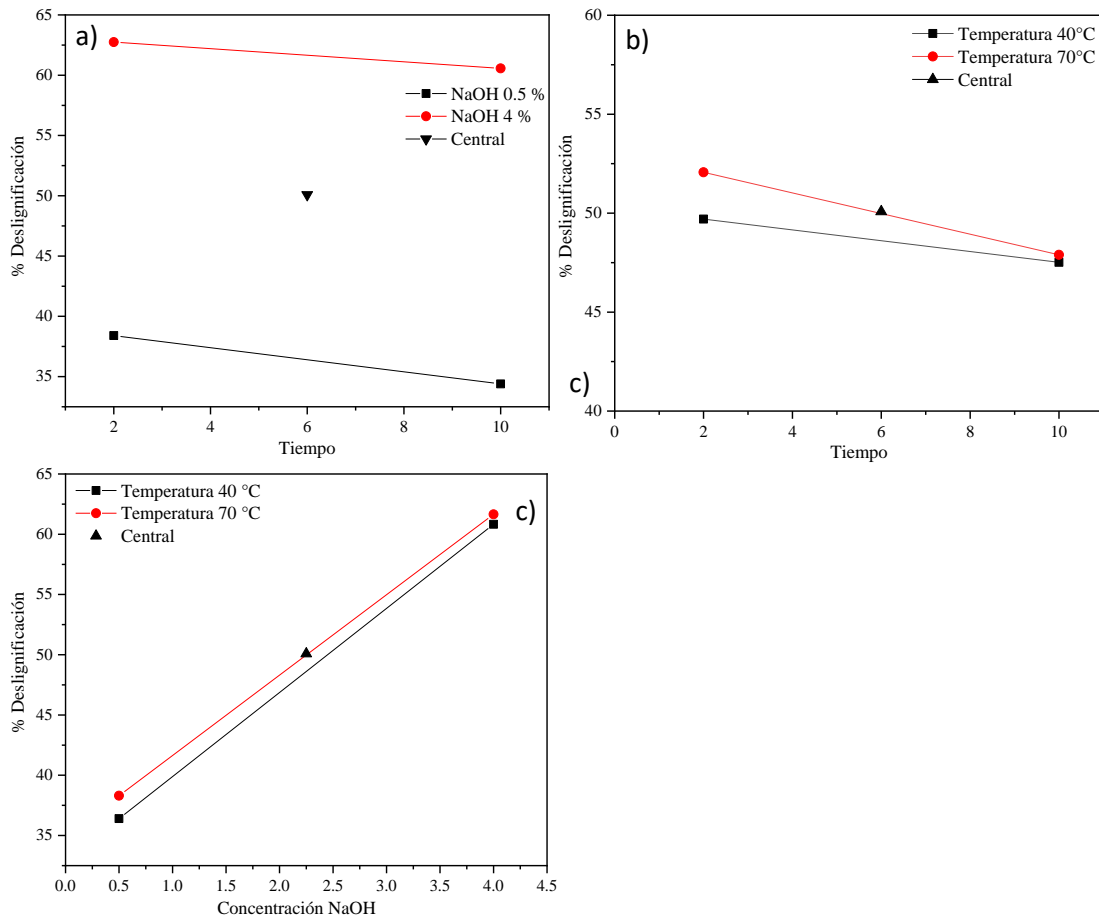


Figura 3.9. Gráficas de interacciones binarias a) Tiempo-Concentración NaOH b) Tiempo-Temperatura c) Concentración NaOH-Temperatura

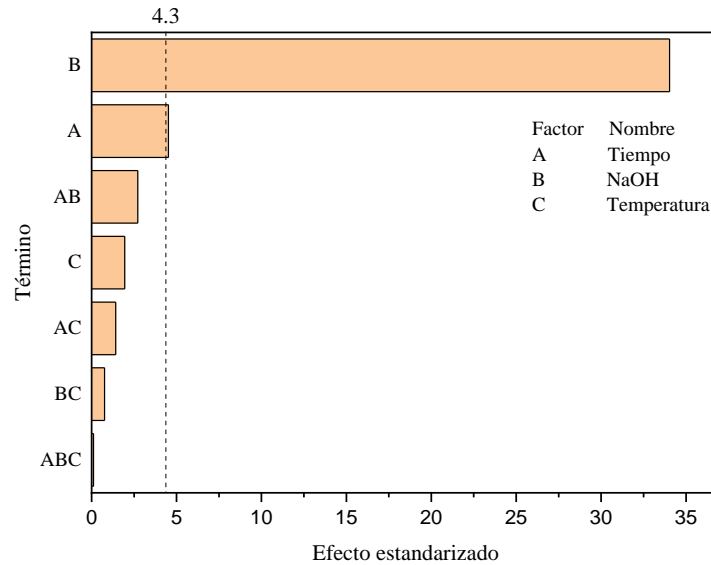


Figura 3.10. Gráfica de Pareto

En el análisis que se observa en la tabla 3.8, el error que se obtuvo en los cuadrados medios ajustados (columna de datos número 2) no sobrepasa la unidad, por lo que los valores que se obtuvieron de los puntos centrales determinan un error relativamente pequeño con respecto al proceso experimental.

Del análisis de varianza y de acuerdo a los valores de p (con un valor de confianza del 95%), se puede observar que el factor que afecta en mayor grado es la concentración de NaOH, seguido por el tiempo, siendo corroborado por el trabajo de Rawat *et al.* [112] en el cual los factores de su trabajo (concentración del álcali, relación sólido/líquido, temperatura y tiempo) son menores a $p < 0.01$, afectando proceso. El factor temperatura ni las interacciones son significativas en este proceso. La figura 3.8 muestra la gráfica de efectos principales con respecto a la respuesta deslignificación. En ella se pueden observar los impactos de los 3 factores. El factor tiempo indica que mientras mayor sea, afecta de manera negativa el proceso. La concentración al tener una pendiente sumamente pronunciada y en el intervalo propuesto, da inferencia de que se trata del factor de mayor impacto. Por su parte, la temperatura tiene una pendiente casi nula, siendo un factor que afecta de manera poco significativa, resultados que contrastan con lo reportado por Rezende *et al.* [113] quien sostiene que al aplicar un diseño factorial fraccional y obtener ambos efectos (A y B)

positivos (pendiente positiva), esos factores proporcionan los más altos valores de obtención de azúcar, algo semejante a lo obtenido con la figura 3.8 para el factor concentración.

Por otro lado, la figura 3.9 muestra la gráfica de interacción binaria de los factores con respecto al porcentaje de deslignificación. La figura 3.9 a) involucra líneas paralelas con un incremento alto, por lo que, el efecto de uno de los factores no depende de los niveles del otro factor, lo cual indica que no hay interacción entre los factores y ya sea a niveles bajos o altos de concentración, el aumento de la temperatura desfavorece el proceso de deslignificación. La figura 3.9 b) no presenta un cruce de las líneas al igual que la figura anterior, por lo que tampoco hay una interacción entre los factores tiempo-temperatura. El aumento el tiempo ya sea a condición baja o alta de temperatura, también desfavorece el proceso de deslignificación. En la figura 3.9 c) tampoco hay un cruzamiento de las líneas en los valores del intervalo propuesto, por lo que no existe ninguna interacción en estos factores, pero la diferencia en esta gráfica, es que el aumentar la concentración favorece (aunque de manera poco significativa) a condiciones altas de temperatura el proceso de deslignificación, resultados semejantes descrito por Park *et al.* [114].

La figura 3.10 muestra el diagrama de Pareto. Este diagrama representa de una manera visual los factores y sus interacciones que pueden afectar el proceso. Es evidente que el efecto de mayor impacto es la concentración de NaOH, seguido por el tiempo. Por otra parte, el factor temperatura y las interacciones no son significativas en el proceso del pretratamiento, resultados que se pueden contrastar con lo obtenido por Duque *et al.* [115].

3.4 Blanqueo

El blanqueamiento de la pulpa representa un proceso químico por el medio del cual los constituyentes residuales que no son carbohidratos, principalmente Lg, son removidos de la pulpa. La mejora del color en el proceso (color marrón a blanco) se debe a que los grupos cromóforos responsables de la coloración se eliminan efectivamente de la pulpa disolviéndose en el líquido blanqueador [116].

El método de blanqueo se aplicó a E3 por las razones explicadas en la sección 3.2, denominando a este experimento B3. La finalidad de llevar a cabo este proceso es eliminar aún más la cantidad de Lg presente en la muestra y de esta manera obtener una mayor pureza

con respecto a la Cel, y, por otra parte, mejorar el color de la pulpa resultante del proceso de pretratamiento, pasando de un color marrón a un color blanco, característico de la Cel.

Para este proceso (blanqueo), se utilizó una solución de NaClO₂, NaOH y CH₃COOH glacial. La condición ácida es creada mediante una solución buffer de acetato hecha de partes iguales de NaOH y CH₃OOH, diluida con agua destilada [117]. Cuando se pone en contacto con la solución buffer, el NaClO₂ se descompone en dióxido de cloro (ClO₂) bajo la presencia de sales tampón las cuales ayudan a liberar el ClO₂ del NaClO₂ durante el proceso de blanqueo. La función común de esos ácidos es su capacidad de liberar los iones hidronio (H⁺) para la escisión hidrolítica de los enlaces glucosídicos en las cadenas moleculares dentro de las regiones amorfas junto con las fibrillas de Cel [118].

3.5 Caracterización de E3 y B3

3.5.1 Análisis de composición proximal de E3 y B3

Una vez realizado el blanqueo a E3, se le determinó el porcentaje de Cel, Hm y Lg por las técnicas anteriormente explicadas. Los resultados se muestran en la tabla 3.7.

Tabla 3.7. Análisis de composición proximal de E3 y B3.

Componente (%)	E3	B3
Cel	53,3	62,74
Hm	30,33	26,58
Lg	9,82	3,8

Trabajos con respecto al pretratamiento alcalino se encuentran dentro de la literatura. Ashoor et al. [119] aplicó un pretratamiento alcalino con NaOH a la cáscara de arroz, obteniendo una remoción de 36,71 % de Lg y un aumento tanto de Cel como de Hm, siendo 30,21 % y 24,23 % respectivamente. Por otra parte, Pletschke et al. [120] trabajó con la mazorca de maíz y el bagazo de sorgo dulce aplicando NaOH para el pretratamiento. Para la primera biomasa, obtuvo una reducción de Lg del 57,44 %, un aumento de 41,3 % para la Cel y también un aumento de 5,06 % en la Hm. Para la segunda, logró una remoción de 62,91 % de Lg, aumento de 34,14 % para la Cel y remoción de 19,84 % de Hm.

De acuerdo a los resultados obtenidos para E3, la remoción de Lg es de un 61 %, con un aumento de Cel de 45,51 % y aumento de Hm de 3,2 %. Al removerse una alta cantidad de Lg, era de esperarse que la cantidad de Cel aumentara debido al proceso de purificación que involucra reacciones con condiciones más severas. Por otra parte, y de acuerdo a literatura, el pretratamiento alcalino es básicamente un proceso de deslignificación, en el cual una cantidad significativa de Hm es solubilizada. El mecanismo de acción se trata de una saponificación intermolecular de los enlaces éster de xilano y otros componentes [121]. La cantidad de Hm de la CFH tuvo un aumento de 3,19 %, esto puede deberse a que, para esta cáscara en específico, la cantidad de xilosa (azúcar de pentosa), que es la que se degrada por el tratamiento alcalino, es mínima, por lo que no hay una reducción de la cantidad de Hm.

Por otra parte, para la muestra blanqueada, la remoción de Lg fue de 84,91 % con respecto a la muestra original. Esto demuestra que la solución de blanqueo efectivamente solubiliza la Lg, ayudando en el proceso de pretratamiento. Por otro lado, la cantidad de Cel aumentó 71,28 % y el contenido de Hm disminuyó 9,56 %. Todo esto con respecto a la muestra original. Esto demuestra que la aplicación del pretratamiento alcalino junto con el proceso de blanqueo, ayuda en una alta remoción de Lg y una mayor pureza de la Cel, pero baja eliminación de Hm para la CFH.

3.5.2 *Análisis elemental de E3 y B3*

Se determinó el análisis elemental a E3 y B3, para observar si hay disminución, aumento, desaparición o aparición de algún elemento debido al proceso del pretratamiento y blanqueo. Los resultados de este análisis se muestran en la tabla 3.8.

Tabla 3.8. Resultados del análisis elemental del pretratamiento y blanqueo de la CFH.

E3		B3	
Elemento	Porcentaje en peso	Elemento	Porcentaje en peso
C	46,2	C	47,17
O	53	O	52,42
Si	ND	Si	ND
Cl	ND	Cl	0,15
K	ND	K	ND
Na	0,79	Na	0,27

N/D: no se detectó.

De acuerdo a los resultados de la tabla 3.8, se puede observar que el porcentaje de carbono disminuyó ligeramente con respecto a la muestra original (49.4%), siendo 46,2 % y 47,15 % para E3 y B3, respectivamente. Esto se puede deber a una posible degradación de la materia orgánica debido a los procesos por el cual es sometida la biomasa. Esta degradación también afecta a los elementos de Si y K.

Por otra parte, el contenido de Cl en E3 no fue detectado y en B3 disminuyó hasta tener el valor de 0,15 %. Esto puede deberse a que las zonas donde se llevó el mapeo no contenían este elemento o, por otro lado, al momento de llevar el lavado con agua desionizada, se removieron las trazas de Cl que aún pudiese haber.

Por último, se puede apreciar la aparición del elemento Na en E3 Y B3. Esto puede explicarse debido algunos iones de Na^+ de la solución de NaOH se quedan retenidos en la pulpa resultante del pretratamiento. En el caso de B3, hay un aumento de este elemento (Na^+). Esto también se puede explicar debido a que la solución utilizada involucra NaClO_2 y nuevamente los iones pudieron haber quedado retenidos.

3.5.3 Difracción de rayos X de la muestra E3 y B3

Para continuar con los resultados obtenidos, a E3 y B3 se les realizó la difracción de rayos X y también se evaluaron por las dos técnicas (altura máxima y deconvolución). Los

patrones de difracción se muestran en la figura 3.11 y los resultados del IC se muestran en la tabla 3.9. Además, en la tabla 3.10 se muestran los resultados del tamaño de cristal promedio y de la distancia interplanar calculados.

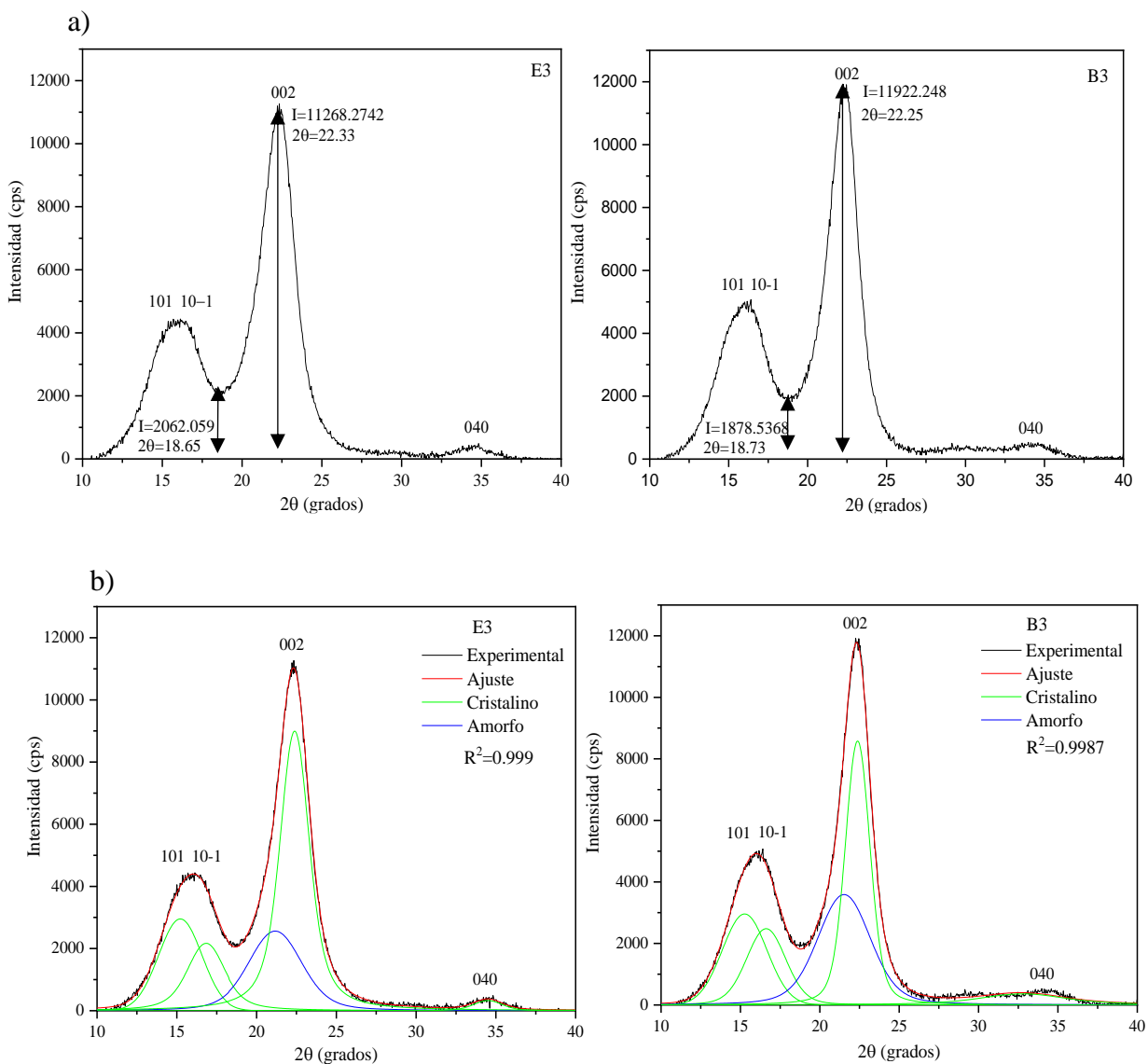


Figura 3.11. Patrón de Difracción de rayos X de la CFH. Método de a) altura máxima y b) deconvolución.

Tabla 3.9. IC de E3 y B3 mediante el método de altura máxima y deconvolución.

Experimento	Índice de cristalinidad (IC %)	
	Altura máxima	Deconvolución
E3	84.53	69.4
B3	86.38	70.39

Tabla 3.10. Tamaño promedio de cristal de E3 y B3.

Muestra	Tamaño promedio de cristal (nm)	Distancia interplanar (Å)
E3	3.9212	3.9781
B3	4.4076	3.9922

El grado de cristalinidad depende de la cantidad amorfa que se encuentra en la biomasa; esto puede contribuir a una mayor o mayor cristalinidad [85]. Por otra parte, las zonas de la Cel que presentan elevada cristalinidad son difíciles de penetrar por disolventes y reactivos. Por el contrario, las zonas amorfas son más accesibles y más susceptibles a todas las reacciones químicas [122].

Si se compara el valor del ángulo 2θ de la muestra virgen (21.93°) con el de la muestra E3 (22.33°) se puede apreciar un corrimiento de 0.37° , denotando una expansión de la red cristalina. Este fenómeno puede deberse a la eliminación de la parte amorfa de la Cel y/o la reducción de la distorsión estructural de la Cel, posiblemente debido a la eliminación o reubicación de los componentes de la matriz de los cristales de Cel [123].

De acuerdo a los resultados de la tabla 3.10 y tomando como base los valores de la muestra virgen, el IC con respecto al método de la altura máximo tuvo un incremento de 10,29 % y de 12,7 %, esto con respecto a E3 y B3. Por su parte, el método de deconvolución proporcionó una tendencia similar, donde el IC incrementó 10,43 % y 12,01 % para E3 y B3 respectivamente. El incremento del IC en los dos métodos indica que la fase que mayor predomina es la cristalina, característica de la Cel, debido a que la porción amorfa está siendo removida, incluida la fase amorfa de la Cel.

También es apreciable que la diferencia del IC entre E3 y B3 es muy poco, teniendo los valores de 1,85 % y 0,99 % para los métodos de la altura máxima y deconvolución, respectivamente. Está claro que la diferencia es mínima. Esto quiere decir que, aunque el blanqueo efectivamente remueve la Lg y a la Hm muy poco (ambos amorfos), posiblemente afecte la cristalinidad de la Cel, degradándola.

Por otro lado, el valor del IC por el primer método (altura máxima) es siempre mayor que el valor obtenido por el método de deconvolución, probablemente debido a la sobrestimación de la intensidad del pico amorfo debido a que el valle es usado para estimar la contribución amorfa en el primer método [124].

De acuerdo a los resultados de la tabla 3.11 correspondientes al TPC, hubo un aumento del 28,1 % con respecto a E3, y un 43,92 % con respecto a B3, esto comparándolo con la muestra virgen. Este aumento también es reportado por otros autores como, por ejemplo, Bilatto *et al.* [125] reportó para la paja de la caña de azúcar, un aumento de 11,52 % después de ser sometido mediante el pretratamiento Organosolv. Este aumento después de haber ocurrido la deslignificación y el proceso de blanqueo se explica al considerarse una posible re-cristalización de la Cel remanente [126].

3.5.4 Microscopia electrónica de Barrido (MEB) de E3 y B3

Para poder observar la morfología de la muestra una vez llevado a cabo del proceso de pretratamiento y blanqueo (muestras E3 y B3) fue necesario emplear la técnica de microscopia electrónica de barrido. Los resultados se muestran en la figura 3.12 y 3.13.

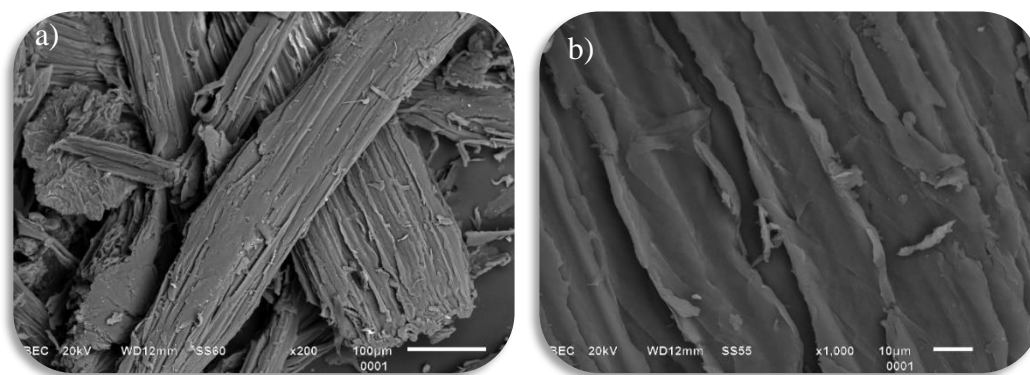


Figura 3.12. SEM de la muestra E3 a una amplificación de a) 200x y b) 1000x.

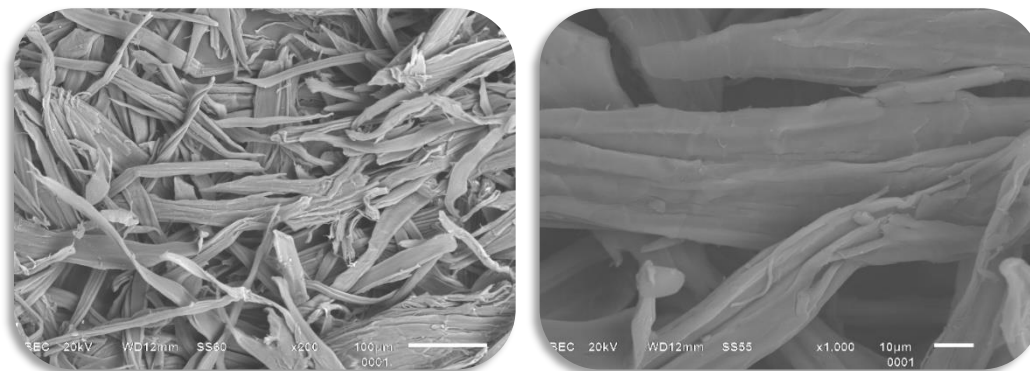


Figura 3.13. SEM de la muestra B3 a una amplificación de c) 200x y d) 1000x.

De acuerdo a la figura 3.12, es posible observar el efecto del pretratamiento con respecto a la morfología e la muestra. En la figura 3.12 a) se puede apreciar una superficie con mayor porosidad en comparación con la muestra original, quedando expuesta la parte más interna (Cel y Hm) de la cáscara. En la figura 3.12 b) que corresponde a una amplificación de 1000x, se aprecian “canales” quedando expuesta las fibrillas de Cel, con pequeñas partículas que pueden deberse a la Lg remanente. La superficie ya no se encuentra en su mayoría lisa, por lo que el pretratamiento eliminó una gran parte de Lg.

La figura 3.13 c) corresponde a la muestra B3 a una amplificación de 200x. Se puede observar que para esta muestra se aprecian pequeños hilos, posiblemente se trate de las microfibrillas de Cel. En la figura 3.13 d) se aprecia una superficie limpia donde no existen partículas (que puedan deberse a Lg, ceras o extractivos) y nuevamente se pueden observar las microfibrillas. No hay mucha porosidad debido a que esto solo es perceptible en el pretratamiento, puesto que la Cel es muy resistente a los reactivos alcalinos y ácidos.

3.5.5 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) de E3 y B3.

La técnica de Infrarrojo también fue aplicado a la muestra E3 y B3, esto para observar las bandas características y su posible aumento, reducción o desaparición. La figura 3.14 muestra el espectro de Infrarrojo.

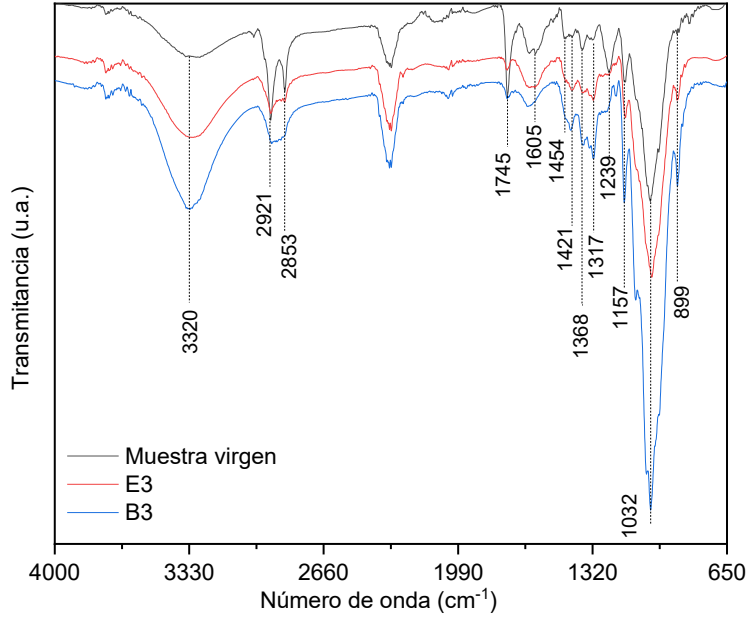


Figura 3.14 FTIR de la muestra virgen, E3 y B3.

La banda característica en la señal en 1605, que corresponde a la vibración del grupo funcional C=O, está relacionado con la vibración del anillo aromático característico de la Lg. La desaparición de la señal indica que el pretratamiento alcalino ayudó en el proceso de deslignificación [127].

La señal representada en 1745 y 1239 son características del grupo funcional C=O, que indican el estiramiento del enlace carbonil-éster de la unidad ácida p-cumárico. La reducción de la intensidad de la banda está relacionada con la remoción de la Hm de la biomasa [127]. La deformación de la señal en 1454 indica la remoción de la Lg [128].

La banda correspondiente a 3320 está asociada a la Cel, una señal más intensa indica el incremento de la Cel. Las señales 1157 y 1032 representan los enlaces glucosídicos C-O-C, la vibración del anillo esquelético C-O-C, y el estiramiento del alcohol, respectivamente. Con el tiempo de reacción, la biomasa pretratada muestra un incremento consistente de la cantidad relativa de glucosa y también la señal en 1032 indica que el pretratamiento proporciona una estructura más cristalina de glucano [128].

3.5.6 Análisis Termogravimétrico (TGA) de E3 y B3

Los resultados del análisis termogravimétrico aplicados a E3 y B3 se muestran en la figura 3.15.

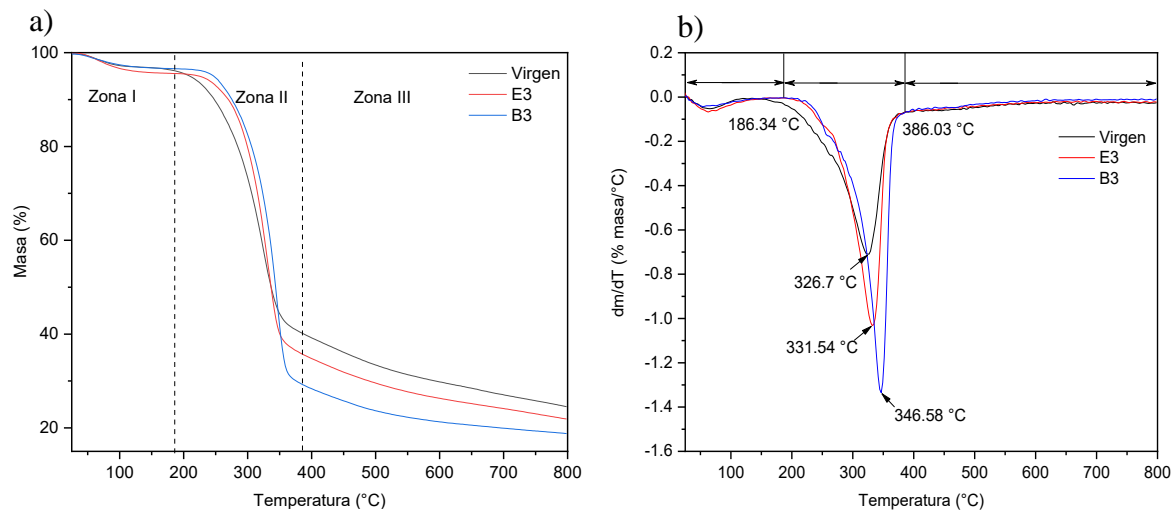


Figura 3.15. a) TGA y b) DTG de la CFH virgen, E3 y B3.

Diversos autores realizan una división por zonas a los resultados obtenidos una vez realizado el análisis termogravimétrico. Por ejemplo, Nayaranan *et al.* [129] realizaron los análisis termogravimétricos del bagazo, la médula de coco, la cáscara de maní y las hojas de casuarina, determinado 3 zonas, la primera entre 27,25 y 131,91 °C debido a la liberación de humedad, la segunda entre 192,61 y 415,73 °C comprende la degradación de la Hm-Cel y la última entre 415,73 °C y 798,13 °C a la degradación de la lignina. Otro trabajo que también reporta estas 3 zonas es el elaborado por Moniruzzaman *et al.* [102] a la palma de aceite, con las zonas comprendidas entre 50 y 150 °C que se le atribuye la eliminación de la humedad y los compuestos volátiles ligeros fijados por la tensión superficial. La segunda zona de 150 a 450 °C comprende la degradación de la Hm y Cel, y la última zona de 450 a 600°C se debe principalmente la descomposición térmica de la lignina. La diferencia entre los intervalos de los trabajos anteriormente mencionados se debe a que cada biomasa sufre la degradación a diferentes velocidades basado en su composición elemental.

De acuerdo a la figura 3.15 a), la primera zona con respecto a E3 y B3, se encuentra en el intervalo de 25 a 186,34 °C (de acuerdo al análisis DTG de la figura 3,15 b)), esta

comprende el contenido de humedad y de materia volátil. La pérdida de masa hasta 186,34 °C es de 3.87, 4.44 y 3,42 % para la muestra virgen, E3 y B3 respectivamente. De acuerdo a estas pérdidas de masa, E3 contiene mayor contenido de humedad y/o materia volátil.

La segunda zona se encuentra en el intervalo de 186,34 a 386,03 °C, en donde la cantidad de masa perdida en esta zona es de 56, 59.87 y 67.36 % para la muestra virgen, E3 y B3 respectivamente. Esta zona, como se mencionó anteriormente, comprende la descomposición de la Hm y Cel, por lo que el aumento de la cantidad de masa perdida es justificable en B3, siendo la muestra con el mayor contenido de Cel.

Por último, en la zona III existe una pérdida de masa del 15.6, 13.7 y 10.42 % de la muestra virgen, E3 y B3, respectivamente. En esta zona es apreciable que el menor valor corresponde a B3, por lo que la Lg sufre una descomposición, pero menor que la muestra virgen, siendo esta última la que contiene el mayor contenido de Lg debido a una mayor pérdida de masa.

De la figura 3,15 b) es evidente que el pico característico de la Cel sufre una mayor degradación en B3. La diferencia entre la muestra virgen y E3 es de 4,84 °C, mientras que la diferencia entre la virgen y B3 es de 19,88 °C, por lo que se sugiere que la muestra B3 contiene una mayor cantidad de Cel en comparación con las otras 2 muestras, por lo que es más estable térmicamente que la muestra original.

3.6 Balance económico (BE)

El balance económico es de suma importancia para poder conocer los costos que se generan debido al proceso empleado. El BE que se presenta en la tabla 3.12 solo contempla el costo de reactivos y está calculado para una base de 1 kg de muestra.

Tabla 3.11. Precios de los reactivos utilizados en el proceso.

Reactivo	Precio (\$)
NaOH	126 (kg) [130]
NaClO ₂	553,2 (kg) [130]
CH ₃ COOH	273,7 (L) [130]
Cel comercial	417,6 (kg) [130]

Tabla 3.12. Costos del proceso del pretratamiento y blanqueo.

Proceso	Reactivo	Cantidad	Costos (\$)
Pretratamiento	NaOH	412,37 g	51,95
	NaClO ₂	194,57 g	107,63
Blanqueo	NaOH	264,43 g	33,31
	CH ₃ COOH	719,69 ml	196,98
	Total (\$)		389,87

De acuerdo a los resultados de la tabla 3.13, el costo total que involucra los reactivos para la obtención de 1 kg de Cel es de \$ 389,87 mientras que el costo de Cel comercial es de \$ 417,6 [131]. Aunque el proceso empleado en este trabajo ahorra \$ 27,73, como se comentó con anterioridad, no se obtiene Cel totalmente pura, a diferencia de la comercial.

El precio final del costo del proceso podría reducirse aún más debido a que la cotización está basada en precios que no exceden grandes volúmenes, a diferencia de los procesos que ya se encuentran establecidos comercialmente y el precio de obtención de las materias primas está dado en toneladas.

3.7 Comparación metodológica de diversos trabajos que involucran el proceso de deslignificación

El proyecto de investigación que involucra el proceso de pretratamiento alcalino para la deslignificación es un tema bastante complejo donde el principal reto es determinar los factores que afectan a este proceso, así como los intervalos de trabajo de las variables de

estudio. La muestra E3 presentó una deslignificación del 61 % a condiciones de 40 °C, 2 minutos y 4 % p/v, resultado que puede compararse al de otros trabajos. Por ejemplo, Dewi *et al.* [132] con las fibras de coco maduro, alcanzaron una deslignificación del 74,66 % bajo las condiciones de 90 °C, 150 minutos y 5 % de NaOH. Por otra parte, Kolar *et al.* [133] trabajó con pasto varilla alcanzando una deslignificación del 84,3 % a 121 °C (en un reactor o autoclave), 60 minutos y 1.5 % p/v de NaOH. Otra biomasa que se puede mencionar con respecto a trabajos de deslignificación son las hojas de sagú, investigación de Sunarti *et al.* [134] el cual obtuvo un porcentaje de deslignificación del 61,14 % a las condiciones de 100 °C, tiempo de 180 minutos y concentración del 15 % p/v de NaOH. Otro trabajo citado es el que realizó Maryana *et al.* [135] al bagazo de la caña de azúcar con una deslignificación del 59,13 % llevado a cabo en un reactor a 100 °C, tiempo de 30 minutos y concentración 1 N de NaOH. Por último, Yu *et al.* [65] logró una deslignificación del 16 % para el árbol de ciprés a 80°C, 120 minutos y 2 % p/v de NaOH.

El porcentaje de deslignificación de 61 % para el experimento E3 de la CFH en el presente trabajo se encuentra dentro de los valores mencionados en el párrafo anterior en base al tratamiento de diferentes biombras, indicando un valor aceptable para la metodología experimental establecida. Lo más novedoso de este trabajo de investigación son las condiciones de los factores que se mencionan a continuación: la mayoría reporta valores por encima de los 100 °C, a diferencia de los 40 °C con los que se trabajó. También el valor del factor tiempo tuvo un cambio sumamente significativo, pasando de horas en las metodologías reportados por otros autores a tan solo minutos, más específicamente 2 minutos. La concentración de NaOH del 4 %p/v no tuvo una variación tan significativa siendo similar a lo reportado por los otros trabajos.

Referencias bibliográficas

[63] Dougherty MJ, Tran HM, Stavila V, Knierim B, George A, Auer M, et al. Cellulosic biomass pretreatment and sugar yields as a function of biomass particle size. PLoS One [Internet]. 2014;9(6):e100836. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0100836>

[64] Khullar E, Dien BS, Rausch KD, Tumbleson ME, Singh V. Effect of particle size on enzymatic hydrolysis of pretreated Miscanthus. Ind Crops Prod [Internet]. 2013;44:11–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.10.015>

[65] Wang W, Wang X, Zhang Y, Yu Q, Tan X, Zhuang X, et al. Effect of sodium hydroxide pretreatment on physicochemical changes and enzymatic hydrolysis of herbaceous and woody lignocelluloses. Ind Crops Prod [Internet]. 2020;145(112145):112145. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112145>

[66] Khan MFS, Akbar M, Xu Z, Wang H. A review on the role of pretreatment technologies in the hydrolysis of lignocellulosic biomass of corn stover. Biomass Bioenergy [Internet]. 2021;155(106276):106276. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106276>

[67] Resendiz-Vazquez JA, Roman-Doval R, Santoyo-Fexas F, Gómez-Lim MA, Verdín-García M, Mendoza S. Chemical and biological delignification treatments from blue agave and sorghum by-products to obtain cellulose nanocrystals. Waste Biomass Valorization [Internet]. 2022;13(2):1157–68. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12649-021-01547-2>

[68] Amutio M, Lopez G, Alvarez J, Moreira R, Duarte G, Nunes J, et al. Pyrolysis kinetics of forestry residues from the Portuguese Central Inland Region. Chem Eng Res Des [Internet]. 2013;91(12):2682–90. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cherd.2013.05.031>

- [69] Asadieraghi M, Daud WMAW. In-depth investigation on thermochemical characteristics of palm oil biomasses as potential biofuel sources. *J Anal Appl Pyrolysis* [Internet]. 2015;115:379–91. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2015.08.017>
- [70] James A, Thring R, Helle S, Ghuman H. Ash management review—applications of biomass bottom ash. *Energies* [Internet]. 2012;5(10):3856–73. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/en5103856>
- [71] Zając G, Szyszlak-Bargłowicz J, Gołębiowski W, Szczepanik M. Chemical characteristics of biomass ashes. *Energies* [Internet]. 2018;11(11):2885. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/en11112885>
- [72] Haykiri-Acma H, Yaman S. Interpretation of biomass gasification yields regarding temperature intervals under nitrogen–steam atmosphere. *Fuel Process Technol* [Internet]. 2007;88(4):417–25. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2006.11.002>
- [73] Orang N, Tran H. Effect of feedstock moisture content on biomass boiler operation. *Tappi J* [Internet]. 2015;14(10):629–37. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.32964/tj14.10.629>
- [74] Chen J, Wang Y, Lang X, Ren X, Fan S. Evaluation of agricultural residues pyrolysis under non-isothermal conditions: Thermal behaviors, kinetics, and thermodynamics. *Bioresour Technol* [Internet]. 2017;241:340–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.036>
- [75] Andrade LA, Barrozo MAS, Vieira LGM. Thermo-chemical behavior and product formation during pyrolysis of mango seed shell. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2016;85:174–80. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.004>
- [76] Equipos y Laboratorio de Colombia [Internet]. Equipos y Laboratorio de Colombia. 2011 [citado el 04 julio 2023]. Disponible en: <https://equiposylaboratorio.net/portal/articulo-ampliado/analisis-elemental-dumas>

[77] Demirbas A. Combustion characteristics of different biomass fuels. Prog Energy Combust Sci [Internet]. 2004;30(2):219–30. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pecs.2003.10.004>

[78] Saeed HAM, Liu Y, Lucia LA, Chen H. Evaluation of Sudanese sorghum and bagasse as a pulp and paper feedstock. Bioresources [Internet]. 2017;12(3). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15376/biores.12.3.5212-5222>

[79] Agblevor FA, Besler S. Inorganic compounds in biomass feedstocks. 1. Effect on the quality of fast pyrolysis oils. Energy Fuels [Internet]. 1996;10(2):293–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/ef950202u>

[80] Thy P, Yu C, Jenkins BM, Leshner CE. Inorganic composition and environmental impact of biomass feedstock. Energy Fuels [Internet]. 2013;27(7):3969–87. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/ef400660u>

[81] Gong J, Li J, Xu J, Xiang Z, Mo L. Research on cellulose nanocrystals produced from cellulose sources with various polymorphs. RSC Adv [Internet]. 2017;7(53):33486–93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1039/c7ra06222b>

[82] Sunday O, Mathew A. Influence of size classifications on the structural and solid-state characterization of cellulose materials. En: Rodríguez A, Eugenio M, editores. Cellulose. IntechOpen; 2019. p. 1-16. Disponible en: <https://www.intechopen.com/chapters/65563>

[83] Da Silva Lacerda V. aprovechamiento de residuos lignocelulósicos para la producción de biocombustibles y bioproductos [tesis doctoral]. Valladolid. 2015.

[84] Capítulo 12. Determinación de la Cristalinidad y de la Accesibilidad de las Fibras de Cel Mediante Diferentes Técnicas.

[85] López G, González A, Andreeva A. Cellulose whiskers from agro-industrial banana wastes: isolation and characterization. Rev. Mex. Ing. Quim. [Internet]. 2011;10(2):291-299. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/236987676_cellulose_whiskers_from_agro-industrial_banana_wastes_isolation_and_characterization

[86] Herrera M, Sinche L, Bonilla O. Obtención de nanoCel a partir de Cel de puntas de Abacá. *J Chem Eng Theor Appl Chem*. [Internet]. 2019;76(586):123-131. Disponible en: <https://raco.cat/index.php/afinidad/article/view/359059>

[87] Sun, X., Yang, L., Li, Q., Zhao, J., Li, X., Wang, X., & Liu, H. (2014). Amino-functionalized magnetic cellulose nanocomposite as adsorbent for removal of Cr(VI): Synthesis and adsorption studies. *Chemical Engineering Journal (Lausanne, Switzerland: 1996)*, 241, 175–183. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.12.051>

[88] Dhabhai R, Chaurasia SP, Dalai AK. Effect of pretreatment conditions on structural characteristics of wheat straw. *Chem Eng Commun* [Internet]. 2013;200(9):1251–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/00986445.2012.743895>

[89] Hemmati F, Jafari SM, Kashaninejad M, Barani Motlagh M. Synthesis and characterization of cellulose nanocrystals derived from walnut shell agricultural residues. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2018;120(Pt A):1216–24. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.012>

[90] Wei CJ, Cheng CY. Effect of hydrogen peroxide pretreatment on the structural features and the enzymatic hydrolysis of rice straw. *Biotechnol Bioeng* [Internet]. 1985;27(10):1418–26. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/bit.260271005>

[91] Rambo MKD, Ferreira MMC. Determination of cellulose crystallinity of banana residues using near infrared spectroscopy and multivariate analysis. *J Braz Chem Soc* [Internet]. 2015; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20150118>

[92] Park S, Baker JO, Himmel ME, Parilla PA, Johnson DK. Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnol Biofuels* [Internet]. 2010;3(1):10. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/1754-6834-3-10>

[93] Kumar S, Saha A. Utilization of coconut shell biomass residue to develop sustainable biocomposites and characterize the physical, mechanical, thermal, and water absorption

properties. Biomass Convers Biorefin [Internet]. 2022; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s13399-022-03293-4>

[94] López A, López G, Veleza L, Solórzano M, Acosta G, Hernández M, Salgado S, Córdova S. Obtención de Cel a partir de bagazo de caña de azúcar (*saccharum spp.*). Agro P [Internet]. 2016;9(7): 41-45. Disponible en: <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/784/650>.

[95] Oluyamo S, Adekoya A. Influence of size classifications on the structural and solid-state characterization of cellulose materials. En: Rodríguez A, Martín M, editor. Cellulose. London: IntechOpen; 2019. p. 43-57

[96] Ford ENJ, Mendon SK, Thames SF, Rawlins JW. X-ray diffraction of cotton treated with neutralized vegetable oil-based macromolecular crosslinkers. J Eng Fiber Fabr [Internet]. 2010;5(1):155892501000500. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1177/155892501000500102>

[97] Zheng Q, Zhou T, Wang Y, Cao X, Wu S, Zhao M, et al. Pretreatment of wheat straw leads to structural changes and improved enzymatic hydrolysis. Sci Rep [Internet]. 2018;8(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-19517-5>

[98] Mafa MS, Malgas S, Bhattacharya A, Rashamuse K, Pletschke BI. The effects of alkaline pretreatment on agricultural biomasses (corn cob and sweet sorghum bagasse) and their hydrolysis by a termite-derived enzyme cocktail. Agronomy (Basel) [Internet]. 2020;10(8):1211. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy10081211>

[99] Zhuang J, Li M, Pu Y, Ragauskas A, Yoo C. Observation of potential contaminants in processed biomass using Fourier transform infrared spectroscopy. Appl Sci (Basel) [Internet]. 2020;10(12):4345. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/app10124345>

[100] Zhuang J, Li M, Pu Y, Ragauskas A, Yoo C. Observation of potential contaminants in processed biomass using Fourier transform infrared spectroscopy. Appl Sci (Basel) [Internet]. 2020;10(12):4345. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/app10124345>.

[101] Javier-Astete R, Jimenez-Davalos J, Zolla G. Determination of Hmlulose, cellulose, holocellulose and lignin content using FTIR in *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) K.

Schum. and Guazuma crinita Lam. PLoS One [Internet]. 2021;16(10):e0256559. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0256559>.

[102] Mahmood H, Moniruzzaman M, Iqbal T, Yusup S, Rashid M, Raza A. Comparative effect of ionic liquids pretreatment on thermogravimetric kinetics of crude oil palm biomass for possible sustainable exploitation. J Mol Liq [Internet]. 2019;282:88–96. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2019.02.133>

[103] Olatunji OO, Akinlabi SA, Mashinini MP, Fatoba SO, Ajayi OO. Thermo-gravimetric characterization of biomass properties: A review. IOP Conf Ser Mater Sci Eng [Internet]. 2018;423:012175. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1088/1757-899x/423/1/012175>

[104] Balasundram V, Ibrahim N, Kasmani RM, Hamid MKA, Isha R, Hasbullah H, et al. Thermogravimetric catalytic pyrolysis and kinetic studies of coconut copra and rice husk for possible maximum production of pyrolysis oil. J Clean Prod [Internet]. 2017;167:218–28. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.08.173>

[105] Sato A, Soeprijanto, Widjaja A. Influence of alkaline hydrothermal pretreatment of rice Straw on biomass composition. Int Energy J [Internet]. 2019;19(2):115-124. Disponible en: <http://www.rericjournal.ait.ac.th/index.php/eric/article/view/1913>

[106] Sun R, Tomkinson J. Comparative study of lignins isolated by alkali and ultrasound-assisted alkali extractions from wheat straw. Ultrason Sonochem [Internet]. 2002;9(2):85–93. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s1350-4177\(01\)00106-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1350-4177(01)00106-7)

[107] Medina V, López M. análisis crítico del diseño factorial 2k sobre casos aplicados. scientia et technica [internet]. 2011;17(47):101-106. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/849/84921327018.pdf>

[108] Minmunin J, Limpitipanich P, Promwungkwa A. Delignification of Bana Grass Using Sodium hydroxide and Ozone. Waste Biomass Valorization [Internet]. 2018;9(11):2099–105. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12649-017-0002-2>

- [109] Harun S, Geok SK. Effect of sodium hydroxide pretreatment on rice straw composition. *Indian J Sci Technol* [Internet]. 2016;9(21). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17485/ijst/2016/v9i21/95245>
- [110] Asghar U, Irfan M, Iram M, Huma Z, Nelofer R, Nadeem M, et al. Effect of alkaline pretreatment on delignification of wheat straw. *Natural Product Research* [Internet]. 2015;29(2):125–31. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2014.964712>
- [111] Effects of sodium hydroxide pretreatment on structural components of biomass. *Trans ASABE* [Internet]. 2014;1187–98. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.13031/trans.57.10046>
- [112] Rawat R, Kumbhar BK, Tewari L. Optimization of alkali pretreatment for bioconversion of poplar (*Populus deltoides*) biomass into fermentable sugars using response surface methodology. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2013;44:220–6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.10.029>
- [113] Moreira BR, Breikreitz MC, Simister R, McQueen-Mason SJ, Gomez LD, Rezende CA. Improved hydrolysis yields and silica recovery by design of experiments applied to acid-alkali pretreatment in rice husks. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2021;170(113676):113676. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113676>
- [114] Lee KH, Lee SK, Lee J, Kim S, Park C, Kim SW, et al. Improvement of enzymatic glucose conversion from chestnut shells through optimization of KOH pretreatment. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2021;18(7):3772. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph18073772>
- [115] Duque A, Manzanares P, Ballesteros I, Negro MJ, Oliva JM, Saez F, et al. Optimization of integrated alkaline–extrusion pretreatment of barley straw for sugar production by enzymatic hydrolysis. *Process Biochem* [Internet]. 2013;48(5–6):775–81. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2013.03.003>
- [116] Sarkanen K. The chemistry of delignification in pulp bleaching. *Pure and Applied Chemistry*. 1962;5(1-2): 219-232. Disponible en: <https://doi.org/10.1351/pac196205010219>
- [117] Vilay V, Mariatti M, Mat Taib R, Todo M. Effect of fiber surface treatment and fiber loading on the properties of bagasse fiber–reinforced unsaturated polyester composites.

Compos Sci Technol [Internet]. 2008;68(3–4):631–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.compscitech.2007.10.005>

[118] Tee T-T, Sin LT, Gobinath R, Bee S-T, Hui D, Rahmat AR, et al. Investigation of nano-size montmorillonite on enhancing polyvinyl alcohol–starch blends prepared via solution cast approach. Compos B Eng [Internet]. 2013;47:238–47. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.compositesb.2012.10.033>

[119] Ashoor S, Sukumaran RK. Mild alkaline pretreatment can achieve high hydrolytic and fermentation efficiencies for rice straw conversion to bioethanol. Prep Biochem Biotechnol [Internet]. 2020;50(8):814–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/10826068.2020.1744007>

[120] Mafa MS, Malgas S, Bhattacharya A, Rashamuse K, Pletschke BI. The effects of alkaline pretreatment on agricultural biomasses (corn cob and sweet sorghum bagasse) and their hydrolysis by a termite-derived enzyme cocktail. Agronomy (Basel) [Internet]. 2020;10(8):1211. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy10081211>

[121] Zheng Y, Pan Z, Zhang R. Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. Int J Agric & Biol Eng [Internet]. 2009;2(3):51-68. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3965/j.issn.1934-6344.2009.03.051-068>

[122] Vázquez Guerrero A. Evaluación del adsorbente sintetizado con nanopartículas de hierro y soportados en Cel de *Moringa oleífera Lam.*, en el proceso de adsorción de As(V), Cd(II) Y Pb(II) en solución acuosa [tesis doctoral]. Michoacán. 2021.

[123] Kafle K, Lee CM, Shin H, Zoppe J, Johnson DK, Kim SH, et al. Effects of delignification on crystalline cellulose in lignocellulose biomass characterized by vibrational sum frequency generation spectroscopy and X-ray diffraction. Bioenergy Res [Internet]. 2015;8(4):1750–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12155-015-9627-9>

[124] Rambo MKD, Ferreira MMC. Determination of cellulose crystallinity of banana residues using near infrared spectroscopy and multivariate analysis. J Braz Chem Soc [Internet]. 2015;26(7):1492-1499. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20150118>

- [125] Bilatto S, Marconcini JM, Mattoso LHC, Farinas CS. Lignocellulose nanocrystals from sugarcane straw. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2020;157(112938):1129-38. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112938>
- [126] Santana U, Quiroz O, Rodríguez A, Granados J, Quinto A. Efectos en la cristalinidad del bagazo de caña de azúcar (*saccharum spp.*) por pretratamientos químicos usando dispersión de rayos x en ángulo amplio (WAXS). *Agro P* [Internet]. 2017;10(10):67-72. Disponible en: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/FullTextPDF/2018/20183369043.pdf>
- [127] Silva TAL, Zamora HDZ, Varão LHR, Prado NS, Baffi MA, Pasquini D. Effect of steam explosion pretreatment catalysed by organic acid and alkali on chemical and structural properties and enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. *Waste Biomass Valorization* [Internet]. 2018;9(11):2191–201. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12649-017-9989-7>
- [128] Kundu C, Samudrala SP, Kibria MA, Bhattacharya S. One-step peracetic acid pretreatment of hardwood and softwood biomass for platform chemicals production. *Sci Rep* [Internet]. 2021;11(1):11183. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-90667-9>
- [129] Parthasarathy P, Narayanan SK. Determination of kinetic parameters of biomass samples using thermogravimetric analysis. *Environ Prog Sustain Energy* [Internet]. 2014;33(1):256–66. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/ep.11763>
- [130] Corporación científica [Internet]. COSISA. 2023 [citado el 04 julio 2023]. Disponible en: <https://cocisa.mx/collections/reactivos>
- [131] Royal Chemical [Internet]. RCH. 2022 [citado el 04 julio 2023]. Disponible en: <https://royalchemical.com.mx/tienda/varios/Cel/>
- [132] Dewi IA, Ihwah A, Setyawan HY, Kurniasari AAN, Ulfah A. Optimization of NaOH concentration and cooking time in delignification of mature coconut (*Cocus nucifera L.*) coir. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* [Internet]. 2021;733(1):012034. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/733/1/012034>.

- [133] Jung W, Savithri D, Sharma-Shivappa R, Kolar P. Changes in lignin chemistry of Switchgrass due to delignification by sodium hydroxide pretreatment. *Energies* [Internet]. 2018;11(2):376. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/en11020376>
- [134] Arnata IW, Suprihatin S, Fahma F, Richana N, Candra Sunarti T. Cellulose production from sago frond with alkaline delignification and bleaching on various types of bleach agents. *Orient J Chem* [Internet]. 2019;35(Special1):08–19. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/35specialissue102>
- [135] Maryana R, Ma'rifatun D, Wheni AI, Satriyo KW, Rizal WA. Alkaline Pretreatment on Sugarcane Bagasse for Bioethanol Production. *Energy Procedia* [Internet]. 2014;47:250–4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.egypro.2014.01.221>

IV CONCLUSIONES

1. Se logró extraer la Cel de la CFH con una pureza del 62.74 % mediante la aplicación de un pretratamiento alcalino utilizando como reactivo NaOH y, posteriormente, la aplicación de una solución blanqueadora que ayudó a eliminar el color marrón de la pulpa y lignina que aún se encontraba presente en la muestra pretratada.
2. Los factores temperatura, tiempo y concentración del álcali influyen de manera directa en el proceso de deslignificación removiendo la lignina presente en la CFH, siendo el último factor el de mayor severidad a una concentración de 4 % p/v.
3. La implementación del diseño factorial completo 2^k con 3 puntos centrales determinó la correcta combinación de los 3 factores, en el cual se concluye que el experimento 3 (E3) resulta ser el óptimo, debido a que se obtuvo un alto porcentaje de deslignificación (61.59 %) a condiciones bajas de temperatura (40 °C) y tiempo (2 minutos), y alta de concentración (4 % p/v).
4. Mediante la técnica de EDS para el análisis elemental, se obtuvieron los elementos correspondientes a la CFH tanto virgen, pretratada y blanqueada, elementos esperados como el C y el O, que representan más del 99% de la totalidad, resultados característicos de la biomasa.
5. Con respecto a los resultados obtenidos mediante la aplicación de la técnica de DRX, se determinaron las reflexiones características de la Cel tipo I correspondiente a los residuos lignocelulósicos, reflexiones reportadas en distintos trabajos. También se determinó que mediante la aplicación de un pretratamiento alcalino el IC aumenta, factor que implica la eliminación de los biopolímeros amorfos, así como la porción no cristalina de Cel. Por otro lado, el método más confiable para determinar el IC es la deconvolución, ya que esta toma en cuenta toda el área de las reflexiones, mientras que en el método de la altura máxima posiblemente ocurra una sobreestimación de la intensidad del pico amorfo.
6. Utilizando la técnica MEB, se observa la morfología de las muestras presentando una superficie parcialmente lisa y compacta en la muestra original, que, posteriormente al uso de la solución de NaOH, se presentó una desigualdad en su superficie con aparentes porosidades y, finalmente en la muestra blanqueada, se aprecian delgados hilos correspondientes posiblemente a las microfibrillas de Cel.

7. Por medio de la técnica de infrarrojo (FTIR), se localizaron las bandas características de los grupos funcionales que pertenecen a cada biopolímero (Cel, Hm y Lg), con la disminución de algunas señales denotando la eliminación de Lg y la efectividad del pretratamiento, y por otro lado el aumento de otras señales correspondientes al aumento de la Cel cristalina.
8. Con la aplicación de la técnica de TGA, se corrobora que la estabilidad térmica de las muestras pretratadas aumenta, debido a que para la cáscara virgen la degradación ocurre a los 136,37 °C, mientras que la pretratada y blanqueada se degradan a 186,34 °C.
9. De acuerdo a los resultados obtenidos mediante el pretratamiento alcalino, la hipótesis propuesta para la CFH se cumple con respecto a la remoción de lignina, debido a que los factores temperatura, tiempo y concentración de NaOH remueven este biopolímero. Pero, por otra parte, la Hm no se ve afectada por lo que no hay una remoción de esta.

V ANEXOS

5.1 Experimentos preliminares

Para poder llevar a cabo la delimitación de la región experimental, se tuvieron que realizar experimentos preliminares replicando condiciones de temperatura, concentración de NaOH y tiempo de distintas biomásas ante la carencia de información con respecto a la CFH. La tabla 5.1 muestra los distintos experimentos que se realizaron a distintas condiciones.

Tabla 5.1 Experimentos preliminares de la CFH

Experimento	Temperatura (°C)	Concentración de NaOH (%p/v)	tiempo (min)	%Deslignificación
<i>1</i>	60	2	90	59.29
<i>2</i>	80	5	60	67.71
<i>3</i>	60	4	10	62.83
<i>4</i>	60	1	5	51.15
<i>5</i>	70	2	10	66.04
<i>6</i>	80	3	15	69.74
<i>7</i>	86	4	15	66.08
<i>8</i>	86	5	15	66.92
<i>9</i>	121	3	60	62.87
<i>10</i>	121	4	60	65.57
<i>11</i>	80	10	15	67.20
<i>12</i>	80	2	15	63.94
<i>13</i>	80	4	5	62.67
<i>14</i>	80	4	15	65.41
<i>15</i>	40	0.5	2	29.86