



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA.
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA.
COLEGIO DE INGENIERÍA QUÍMICA.**

Tesis.

Estudio cinético de la hidrólisis ácida en hoja de plátano.

Para obtener el título de
Licenciatura en Ingeniería Química.

Presenta:
Jazmín Gutiérrez Meza.

Asesor de Tesis:
Dra. Juana Deisy Santamaría Juárez.

Co-Asesor de Tesis:
Dr. Héctor Toribio Cuaya.

Octubre 2025



BUAP

Oficio No. FIQ/AC/240/2024
Asunto: Registro de Tema de Tesis.

C. Jazmín Gutiérrez Meza
PASANTE DE LA LICENCIATURA EN
INGENIERÍA QUÍMICA
P R E S E N T E:

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería Química cuyo título es el siguiente:

“Estudio Cinético de la hidrólisis ácida en hoja de plátano”

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	ANTECEDENTES
CAPÍTULO 2	METODOLOGÍA
CAPÍTULO 3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA

Directora de Tesis: Dra. Juana Deisy Santamaría Juárez.
Co-Director de Tesis: Dr. Héctor Toribio Cuaya.

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **UNICAMENTE POR UN AÑO**.

Atentamente
“Pensar Bien, Para Vivir Mejor”
H. Puebla de Z., a 12 de noviembre de 2024

Dra. Valeria Jordana González Coronel
Secretaria Académica

C.c.p. Directora de Tesis: Dra. Juana Deisy Santamaría Juárez.
C.c.p. Co-Directora de Tesis: Dr. Héctor Toribio Cuaya.
C.c.p. Archivo.

Facultad
de Ingeniería
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San
Manuel, Ciudad Universitaria,
Puebla, Pue. C.P. 72590
01 (222) 229 55 00
Exts. 7250 y 7251



BUAP

Oficio No. FIQ/DI/648/2025

Asunto: Modalidad de Titulación por Examen Profesional por Tesis

Mtro. Juan Manuel Rosas Tapia
Director de Administración Escolar de la BUAP
Presente:

At'n: Psic. Marcela Juárez Zenteno
Jefa del Departamento de Titulación

Por este medio, me permito hacer de su conocimiento que la alumna:

Nombre completo de la alumna: **Jazmín Gutiérrez Meza**
Matrícula: **201828480**
Sustentante de la Carrera en: **Ingeniería Química**
Fecha de Examen Profesional: **Jueves 6 de Noviembre 2025 10:00 horas Presencial.**

JURADO:

NOMBRE	CARGO
Dra. Dolores Castañeda Antonio	Presidente
Dr. Guillermo Santamaría Juárez	Secretario
Dra. Juana Deisy Santamaría Juárez	Vocal

NOTA: ESTE DOCUMENTO TIENE VIGENCIA POR 6 MESES A PARTIR DE LA FECHA DE SU EXPEDICIÓN.

Sin otro particular, le reitero las seguridades de mi atenta y distinguida consideración.

Atentamente
"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"
H. Puebla de Z., a 29 de Septiembre de 2025

M.I.C. Ma. Gpe. Tita Vázquez Espinosa de los Monteros
Directora



C.c.p. Archivo.

Facultad
de Ingeniería
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San
Manuel, Ciudad Universitaria,
Puebla, Pue. C. P. 72590
(222) 229 55 00
Exts. 7250 y 7251

Dedicatoria.

Le dedico este logro a mis padres, **Vianney Meza** y **Carlos Enciso** por confiar en mí. En especial a mi mamá que ha destinado sacrificios y esfuerzos por sus hijas, los éxitos de mi vida son gracias a las bases de la buena educación que me has dado, te amo mami, gracias por tu apoyo, gracias por ser una mujer valiente, guerrera y resiliente. Gracias por motivarme a seguir adelante.

A mis abuelos, mis segundos padres. **Paula De Jesús** y **Romualdo Meza** que fueron parte de mi educación por muchos años de mi vida. Agradezco su gran amor y esfuerzos.

A mis hermanas **Ixchel Meza** y **Karina Enciso** por ser mis confidentes, por tantas anécdotas graciosas, por compartir conmigo momentos difíciles y por sus consejos, sé que siempre cuento con ustedes y ustedes conmigo, las quiero mucho hermanitas.

A mi esposo, **Israel Poblano** por su paciencia y amor, por ser mi apoyo emocional, por respaldar mis decisiones y alentarme a seguir mis metas.

Reconozco mi compromiso para finalizar esta etapa, por no rendirme a pesar de tener nuevas responsabilidades, por tener la fortaleza de trabajar y estudiar simultáneamente para conseguir mis sueños, a mí, por mi esfuerzo en este proyecto.

Gracias Jehová por estar conmigo en cada etapa de mi vida.

Jazmín Meza.

Agradecimientos.

Quiero agradecer y reconocer el apoyo brindado por mis asesores, el Dr. Héctor Toribio y la Dra. Juana Santamaría, por compartirme una parte de su gran conocimiento, en especial gracias por no soltarme cuando estuve a punto de rendirme.

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla que me ha formado. A la Facultad de Ingeniería Química por permitirme cursar la licenciatura en sus aulas y laboratorios.

Agradezco la contribución de la universidad Iberoamericana Ciudad de México que apoyo en la ejecución de las técnicas HPLC y TGA, esenciales para el desarrollo de esta investigación.

Índice.

Resumen.....	8
Introducción.....	10
Capítulo I. Antecedentes.....	15
1.1 Biomasa lignocelulósica.....	15
1.1.1 Composición de biomasa lignocelulósica.....	15
1.1.2 Celulosa.....	16
1.1.3 Hemicelulosa.....	16
1.1.4 Lignina.....	17
1.2 Biorrefinería.....	18
1.2.1 Tipos de biorrefinerías.....	19
1.2.2 Pretratamientos para materiales lignocelulósicos.....	19
1.2.2.1 Pretratamiento físico.....	20
1.2.2.2 Pretratamiento biológico.....	21
1.2.2.3 Pretratamiento químico.....	21
1.3 Hidrólisis ácida.....	22
1.3.1 Ruta de conversión química de lignocelulosa por hidrólisis ácida.....	23
1.3.2 Ácido diluido.....	24
1.3.3 Ácidos concentrados.....	25
1.4 Métodos térmicos.....	26
1.4.1 Método termogravimétrico (TGA).....	26
1.5 Espectroscopía.....	28
1.5.1 Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-VIS).....	28
1.6 Método DNS.....	29
1.7 Cromatografía líquida de alta resolución.....	29
Capítulo II. Metodología.....	31
2.1 Diseño de experimentos.....	31
2.2 Selección del material lignocelulósico.....	32
2.3 Preparación del material lignocelulósico.....	32
2.4 Determinación del tamaño de partícula.....	32
2.5 Preparación de la solución de ácido sulfúrico.....	33
2.5.1 Determinación de la carga de sólidos de la hoja de planta de plátano.....	33
2.6 Hidrólisis ácida del material de la hoja de plátano en una autoclave.....	34

2.7 Filtración de hidrolizados.....	35
2.8 Cuantificación de lignina por espectroscopía UV/VIS.....	35
2.9 Cuantificación de azúcares reductores por el método DNS.....	36
2.10 Análisis TGA.....	37
2.11 HPLC.....	38
Capítulo III. Resultados y discusión.....	39
3.1 Tamaño de partícula.....	39
3.2 Material degradado.....	43
3.3 Lignina.....	45
3.4 Xilosa.....	48
3.5 TGA.....	51
3.6 Determinación de azúcares y ácido acético por HPLC.....	52
Conclusiones.....	56
Bibliografía.....	58
Anexos.....	61
Bibliografía de anexos.....	74

Resumen.

Debido a la preocupación por el agotamiento de combustibles fósiles y el manejo inadecuado de los residuos agroindustriales, esta investigación propone el aprovechamiento de las hojas de plátano mediante hidrólisis ácida como pretratamiento en un esquema de biorrefinería.

Se determinaron las condiciones óptimas para lograr una la producción alta de azúcares reductores a través de un diseño experimental factorial, los resultados arrojan que la concentración alta de ácido y carga de sólidos favorecen la liberación de xilosa y arabinosa, sin afectar en gran medida a la celulosa, lo que sugiere que el proceso tiene una alta selectividad hacia la hemicelulosa.

A partir de la cuantificación de los productos generados, se propuso una secuencia de pasos elementales involucrados en la reacción de hidrólisis ácida.

Por ello, este trabajo demuestra el potencial que tiene la hoja de plátano como materia prima para la obtención de productos de valor agregado y sugiere una ruta viable para los procesos de conversión de la biomasa.

Palabras clave: Biomasa, hidrólisis ácida, hoja de plátano, biorrefinería, hemicelulosa, azúcares reductores.

Abstract.

Due to concerns about the depletion of fossil fuels and the inadequate management of agro-industrial waste, this research proposes the use of banana leaves through acid hydrolysis as a pretreatment within a biorefinery scheme.

Optimal conditions for high production of reducing sugars were determined using a factorial experimental design. The results show that high acid concentration and solid loading favor the release of xylose and arabinose, without significantly affecting cellulose, suggesting that the process has high selectivity toward hemicellulose.

Based on the quantification of the products obtained, a sequence of elementary steps involved in the acid hydrolysis reaction was proposed.

Therefore, this work demonstrates the potential of banana leaf as raw material for obtaining value-added products and suggests a viable route for biomass conversion processes.

Key words: Biomass, acid hydrolysis, banana leaf, biorefinery, hemicellulose, reducing sugars.

Introducción.

La revolución industrial marcó el inicio de una era en la que los combustibles fósiles se convirtieron en la principal fuente de energía para el crecimiento económico y desarrollo industrial. Desde entonces, la energía fósil ha pasado de niveles insignificantes a una producción anual de casi 10 000 millones de toneladas equivalentes de petróleo. En la actualidad, alrededor del 80% de toda la energía del mundo procede de combustibles fósiles [1].

Existe una reducción en la disponibilidad futura de combustibles fósiles, causada por su extracción, que está vinculada al uso de carburantes, energía y la producción de otros insumos. El agotamiento de los combustibles fósiles y el de otros materiales no renovables son motores de insostenibilidad, ya que reduce la disponibilidad de estos recursos para las generaciones presentes y futuras [2].

Por ello, es posible que resulte esencial aumentar la disponibilidad de los recursos renovables escasos y detener su degradación. En general, pueden adoptarse tres medidas básicas de gestión para ampliar la disponibilidad de estos recursos:

1. Detener la conducta degradante durante un período suficiente para permitir la regeneración y el aumento en los suministros [3].

2. Mejorar la eficiencia en el uso de los recursos y reducir el índice de consumo per cápita [3].

3. Sustituir los recursos escasos por alternativas. Por ejemplo, la electricidad producida con combustibles fósiles puede reemplazarse por energías renovables [3].

Residuos agroindustriales en México.

México genera cerca de 76 millones de toneladas de materia seca proveniente de cultivos, de los cuales aproximadamente 60 millones de toneladas corresponden a residuos primarios obtenidos al momento de la cosecha [4]. Sin embargo, solo una mínima fracción puede ser consumida de manera directa por el hombre y animales.

La fruta tropical más cultivada en México es el plátano, en 2020 su producción aumentó 2.9%, alcanzando 2 millones 469 mil toneladas. Lo que convierte a México en el duodécimo productor mundial de este fruto. Actualmente, es una de las frutas más consumidas en el país, con un consumo per cápita de 14.4 kg. Durante el año, la producción de plátano es estable, con promedio mensual de 200 mil toneladas [5].

En el territorio nacional, es cultivado en 16 estados, donde Chiapas, Tabasco y Veracruz se han colocado como los principales productores, entre ellos se genera más del 60% del total de la producción nacional [5].

Después de la cosecha de este fruto, solo se utiliza alrededor del 20% de la biomasa de la planta, mientras que del 70% al 80% restante se desperdicia. Los residuos de biomasa generados por el cultivo de plátano incluyen los pseudotallos, láminas foliares, raquis y restos del fruto [6].

La falta de alternativas económicas, sociales y nutricionales para el aprovechamiento de los residuos agroindustriales, provoca que estos sean mal manejados [7], afectando a humanos y biodiversidad. La eliminación de estos residuos se realiza mediante vertido en el suelo, quema o dispersión en vertederos [8] convirtiéndose así en fuentes de contaminación para el suelo, agua y aire [7] y generando efectos adversos como el aumento de la temperatura y la emisión de gases de efecto invernadero. Por lo tanto, es de suma importancia desarrollar estrategias de gestión sostenible para mitigar el impacto ambiental de estos residuos [8].

Por ello, surge la necesidad de convertirlos en productos útiles y de mayor valor agregado [7] que contribuyan a la preservación o mejora de la calidad ambiental [9], además de solucionar el problema, generen ingresos económicos

adicionales [7] e impulsen el desarrollo de tecnologías orientadas a una transformación sustentable de los recursos naturales [9].

Tal como se señaló previamente, el fruto de la planta de plátano representa solo el 20% del peso total de la planta, mientras que el tallo, las hojas y otras partes no son comestibles [10]. El uso de los residuos de esta planta en aplicaciones no alimentarias se presenta como una excelente alternativa de aprovechamiento, ya que se ha determinado que contienen buenas cantidades de lignina (25%), hemicelulosa (17%) [10] y celulosa (45%) [11]. Por lo general, las plantas de plátano producen alrededor de 30 hojas, que pueden alcanzar una longitud de hasta 2 metros y un ancho de entre 30 y 60 centímetros [10].

Para aprovechar estos recursos, se plantea un enfoque de biorrefinería.

La biomasa lignocelulósica se ha convertido en una fuente de energía renovable atractiva, ya que ofrece una alternativa sostenible a los combustibles fósiles y puede contribuir a reducir los impactos ambientales negativos asociados con su combustión [12].

En algunos países desarrollados, la producción de energía a partir de biomasa representa aproximadamente el 11% del total de energía producida. Por ejemplo, Europa genera alrededor del 3.5% de su energía a partir de biomasa, mientras que países como Austria, Finlandia y Suecia generan alrededor del 13%, 18% y 17% de su energía total producida a partir de recursos de biomasa. En general, existe un enorme potencial para la explotación de biomasa como fuente de energía debido a que algunos países en Europa central y del norte han establecido grandes plantas para la producción de calor y energía a partir de residuos lignocelulósicos [13].

Limitaciones en la producción de biocombustibles.

Los residuos agrícolas y forestales presentan una estructura altamente compleja [12] y resistente al ataque de microorganismos o de cualquier mecanismo de degradación, ya sea biológico o químico [14]. Esta estructura limita su uso para la producción de biocombustibles, por ello se emplean técnicas de pretratamiento que buscan descomponer la matriz lignocelulósica, liberando la celulosa y la hemicelulosa de la lignina. Esto permite una mayor accesibilidad y conversión de los componentes de la biomasa en biocombustibles [12].

El pretratamiento es la primera etapa en un proceso de conversión para una biorrefinería. En muchos casos la eficiencia sigue siendo un desafío, ya que muchos procesos aún se encuentran en etapas iniciales de desarrollo y no han alcanzado su máximo potencial. Esto genera barreras en términos de costos y productividad que requieren la implementación de estrategias de optimización para superarlas [15].

La eficiencia de una biorrefinería de biomasa lignocelulósica depende en gran medida de un pretratamiento efectivo que permita la liberación de azúcares estructurales, la hidrólisis ácida se presenta como una técnica para descomponer la matriz lignocelulósica de la biomasa. Por ello, se considera fundamental centrar la investigación en la hidrólisis ácida de la biomasa lignocelulósica para optimizar su aplicación en la obtención de productos de valor agregado como lo son los azúcares fermentables obtenidos en los pretratamientos.

Objetivo general.

Describir la secuencia de pasos elementales involucrados en la reacción de hidrólisis ácida del residuo de hojas de plátano, para su conversión como materia prima en un esquema de biorrefinería.

Objetivos específicos.

- Determinar la composición química de la hoja de plátano mediante métodos termogravimétricos, antes y después de pretratamiento.
- Estudiar la distribución de tamaño de partícula en un proceso de molienda de hoja de plátano.
- Evaluar un diseño de experimentos factorial para proponer el proceso adecuado de hidrólisis ácida de la hoja de plátano como pretratamiento en un enfoque de biorrefinería.

Analizar y cuantificar los productos, como azúcares, lignina y material pretratado, obtenidos del proceso de hidrólisis ácida, para idear la secuencia de pasos elementales involucrados en la reacción de hidrólisis ácida.

Hipótesis.

Se plantea que la hidrólisis ácida sea un método adecuado de pretratamiento en un proceso de conversión de hojas de plátano a productos refinados en una biorrefinería.

Capítulo I.

Antecedentes.

1.1 Biomasa lignocelulósica.

Se considera como biomasa lignocelulósica, en general, a cualquier material orgánico derivado directa o indirectamente del proceso de fotosíntesis, presente en diversas formas como madera, bagazo de caña de azúcar, cáscara de arroz, paja de arroz, olote, residuos de papel, residuos sólidos urbanos, estiércol animal, aguas residuales, algas, derivado de árboles, residuos agroforestales, hierbas, etc [16].

1.1.1 Composición de biomasa lignocelulósica.

La biomasa lignocelulósica está compuesta de tres tipos diferentes de polímeros, celulosa, hemicelulosa y lignina (Figura 1). La composición típica de los residuos agrícolas es 40-50% celulosa, 25-35% hemicelulosa y 15-20% lignina [17].

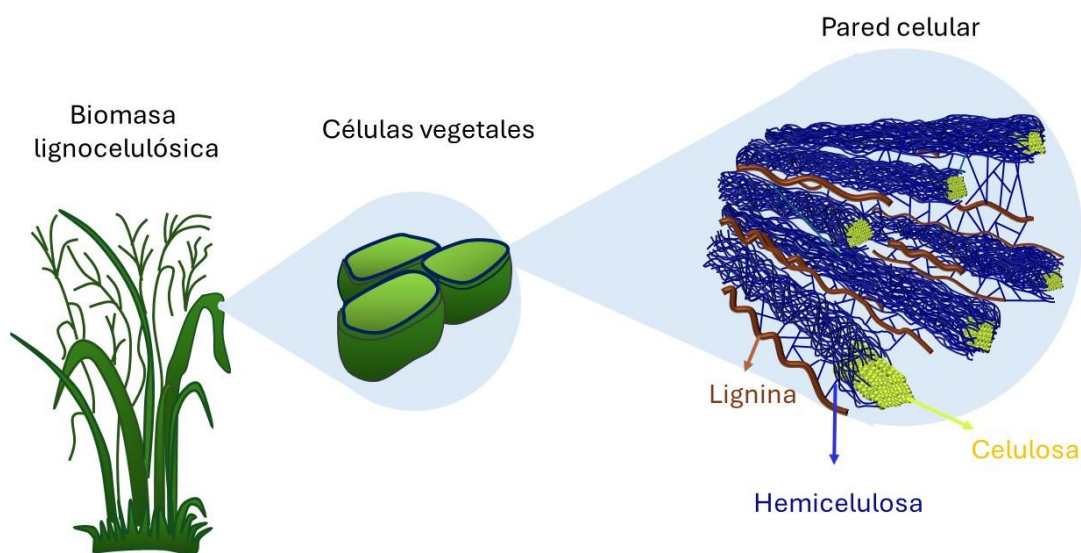


Figura 1. Composición de material lignocelulósico. *Elaboración propia.*

1.1.2 Celulosa.

La celulosa está compuesta por subunidades de D-glucosa. La celulosa en una planta se compone de piezas con una estructura cristalina. Las capas de celulosa se juntan y forman las llamadas fibrillas de celulosa, estas fibrillas de celulosa son en su mayoría independientes y débilmente unidos a través de enlaces de hidrógeno [16] (Figura 2). La celulosa puede ser transformada en azúcares fermentables para después convertirse en etanol [17].

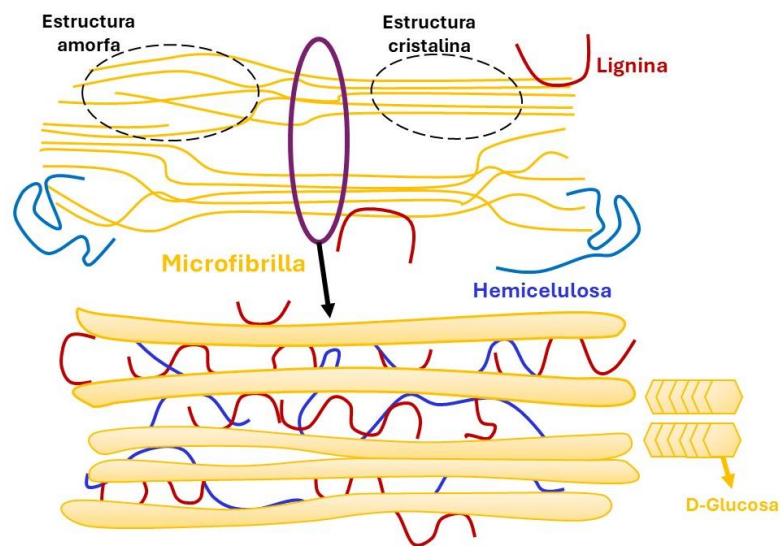


Figura 2. Celulosa y las fibrillas de celulosa. *Elaboración propia.*

1.1.3 Hemicelulosa.

La hemicelulosa sirve como una conexión entre la lignina y las fibras de celulosa, es una estructura compleja de carbohidratos constituida principalmente por combinaciones de xilosa y arabinosa (pentosas), manosa, glucosa, galactosa (hexosas) y ácidos de azúcar (Figura 3). El componente dominante de la hemicelulosa de la madera y plantas agrícolas es el xilano. La hemicelulosa tiene un peso molecular más bajo que la celulosa, y con cadenas laterales cortas con diferentes polímeros de azúcares, fáciles de hidrolizar [16]. La hemicelulosa se puede extraer del material lignocelulósico para convertirlo en furfural. Algunos de

sus principales derivados son el alcohol furfúrico, que se utiliza para producir resinas, furano, ácido furoico y furfuralamina [17].

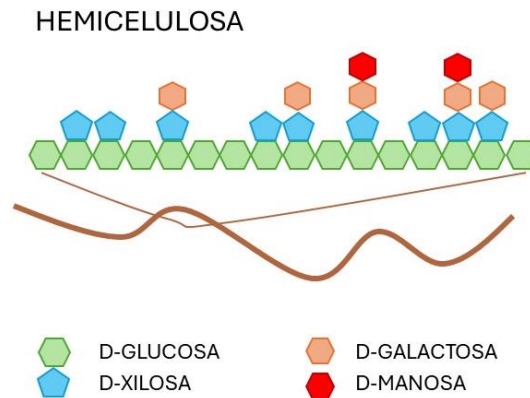


Figura 3. Estructura de la hemicelulosa. *Elaboración propia.*

1.1.4 Lignina.

La lignina es, después de la celulosa y la hemicelulosa, uno de los polímeros más abundantes en la naturaleza y está presente en la pared celular. El objetivo principal de la lignina es dar a la planta el soporte estructural, impermeabilidad, y la resistencia contra el ataque microbiano y el estrés oxidativo [16].

La lignina contiene cantidades importantes de hidrocarburos monoaromáticos [16], y polímeros complejos lo que protege y rodea a los azúcares celulósicos que interesan para la producción de biocombustibles [17]. Es insoluble en agua y se considera ópticamente inactiva, todo esto hace que la degradación de la lignina sea muy difícil [16]. Actualmente, se utiliza como adhesivo o aglomerante [17].

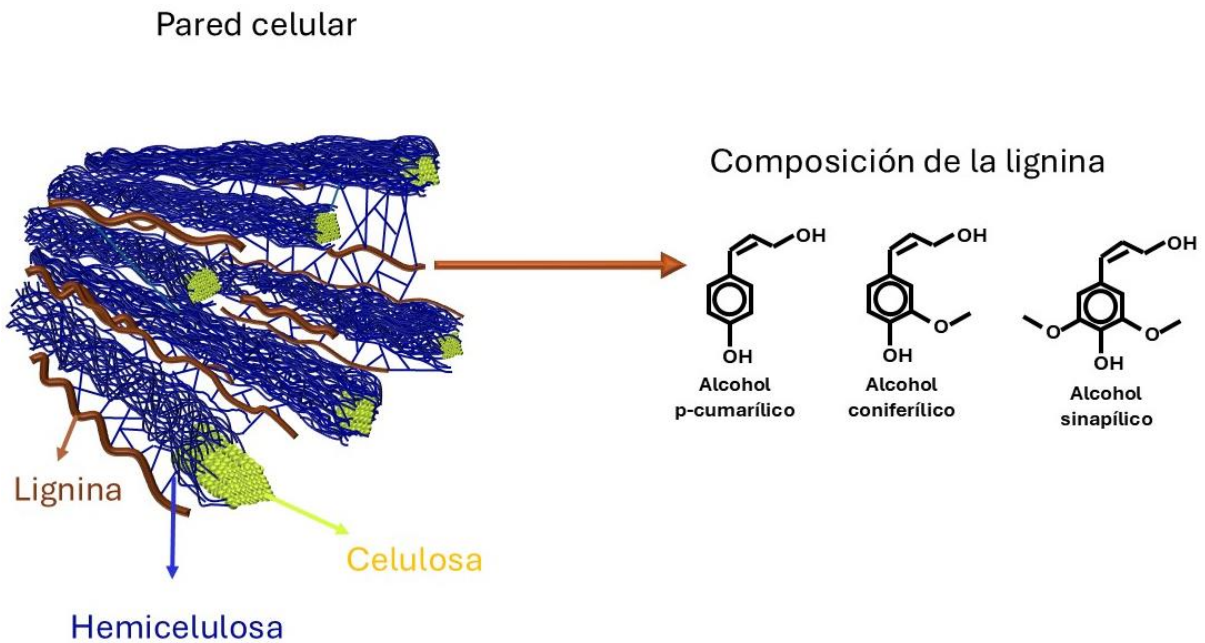


Figura 4. Composición de la lignina. *Elaboración propia.*

1.2 Biorrefinería.

Biorrefinería es el concepto análogo a las refinerías de petróleo que producen combustibles y productos químicos a base de combustibles fósiles. La biomasa lignocelulósica está constituida principalmente por azúcares que pueden ser convertidos en biocombustibles y bioproductos; sin embargo, estos azúcares se encuentran en una red lignocelulósica compleja que obstaculiza su extracción y conversión. [17].

La producción de bioenergía, biocombustibles y bioquímicos, a través de procesos altamente tecnológicos de separación y conversión que minimicen el impacto en el ciclo del carbono, define a una biorrefinería [17].

Los productos obtenidos de las biorrefinerías pueden ser categorizados en tres diferentes clases: biocombustibles (ejemplo: biodiésel y bioetanol), bioenergía (energía eléctrica y calefacción), bioproductos químicos y materiales (como el ácido succínico), todos ellos producidos por una biorrefinería que integra procesos de conversión de biomasa [17].

1.2.1 Tipos de biorrefinerías.

La siguiente clasificación describe los tipos de biorrefinería según la biomasa utilizada.

- Primera generación. Se trata del uso de la biomasa alimentaria, por ejemplo: maíz, soya, palma y caña de azúcar [17].
- Segunda generación. Son aquellas que incluyen una variedad de biomasa lignocelulósica hasta desechos municipales sólidos; por ejemplo, tallos de maíz, bagazo de caña de azúcar [17].
- Tercera generación. Incluye la biomasa proveniente de algas para producir combustible, químicos y otros materiales [17].
- Cuarta generación. Estas plantas se relacionan con tecnología que combina materia prima genéticamente modificada con microorganismos sintetizados genómicamente, para producir combustibles en forma eficiente [17].

1.2.2 Pretratamientos para materiales lignocelulósicos.

La biomasa en su forma natural es difícil de utilizar para la producción de energía, por lo que se requiere un pretratamiento para superar la resistencia a la degradación y hacer que la biomasa sea adecuada para su transformación a través de diversas rutas de conversión.

El pretratamiento conduce a cambios físicos, químicos y alteraciones estructurales en la biomasa dirigidos a superar la resistencia a la degradación que desempeña un papel importante en la viabilidad del proceso [18] (Figura 5).

Las barreras más importantes que enfrentan las tecnologías de pretratamiento actuales son los altos costos y cómo obtener un producto pretratado con una degradación mínima de los componentes vitales. Estos problemas aún no han sido abordados de manera convincente por la investigación y en desarrollos pasados y presentes, por lo que se requieren estudios orientados al desarrollo de tecnologías que exploren aún más los enfoques de pretratamiento [18].

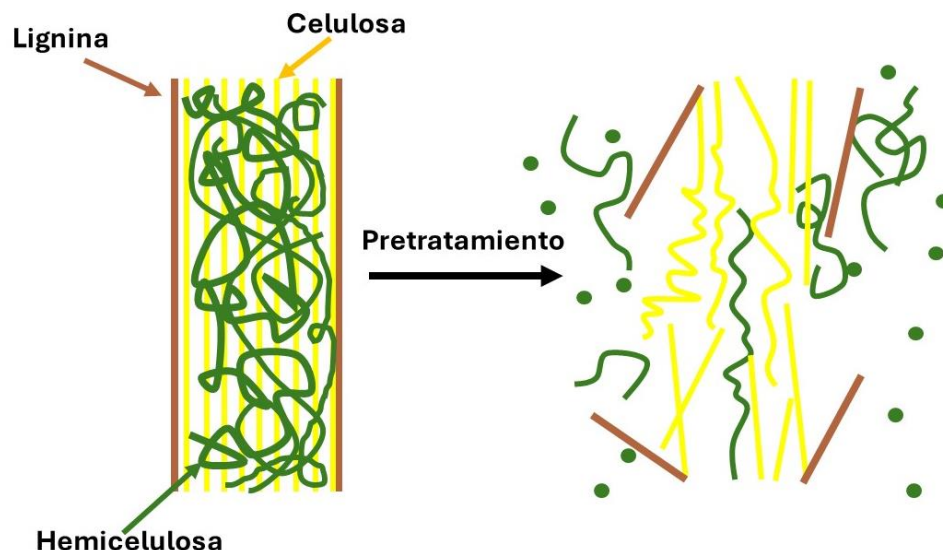


Figura 5. Impacto del pretratamiento en la superficie y la estructura interna de la biomasa lignocelulósica. *Elaboración propia.*

Los objetivos del proceso de conversión en la biorrefinación definen el tipo de medidas que el pretratamiento para la biomasa debe cumplir [18]. A continuación, se detallará la clasificación de pretratamientos que se analizará en esta investigación; físicos, químicos y biológicos.

1.2.2.1 Pretratamiento físico.

El pretratamiento físico de la biomasa tiene como objetivo reducir el tamaño de las partículas para aumentar el área superficial y el tamaño de los poros [18]. También disminuye la cristalinidad de la celulosa y el grado de polimerización. El proceso puede ser mecánico o por irradiación. Dentro de los mecánicos el más utilizado es la molienda mediante cuchillas y molinos, cuando se reduce el tamaño del material lignocelulósico puede obtenerse aumento en el rendimiento de metano respecto a la biomasa sin pretratar de un 10 - 60 %, aunque reducir de manera excesiva el tamaño de partícula pueden reducir la producción de biogás. En el caso de la irradiación por microondas la energía es directamente aplicada a la biomasa, esta se calienta rápidamente, se producen desviaciones en la orientación de los dipolos de los compuestos polares y se incrementa la solubilidad del material [19].

Este es un paso vital antes de la conversión bioquímica y termoquímica de la biomasa [18].

1.2.2.2 Pretratamiento biológico.

El pretratamiento biológico de la biomasa está principalmente vinculado a la acción de hongos productores de enzimas que son capaces de degradar, despolimerizar e hidrolizar los contenidos de celulosa, hemicelulosa y lignina de la biomasa. Se incluyen hongos, actinomicetos y bacterias de pudrición parda, blanca y blanda. Estos hongos son particularmente conocidos por capacidad para eliminar hemicelulosa y lignina [18].

1.2.2.3 Pretratamiento químico.

El pretratamiento químico de la biomasa implica el uso de compuestos orgánicos o inorgánicos para provocar la ruptura de la estructura de la biomasa mediante la interacción con los enlaces intra e inter poliméricos de los componentes orgánicos primarios [18].

A lo largo del proceso de pretratamiento químico, se interrumpe la rigidez estructural de los materiales lignocelulósicos, lo que resulta en la reducción de la cristalinidad de la celulosa y la despolimerización, así como en la degradación de la celulosa y la descomposición de la lignina. El pretratamiento químico se realiza comúnmente para aislar los respectivos constituyentes biopoliméricos del material [18] (Figura 5).

Su modo de acción depende del agente químico (ácido, álcalis, oxidativo y orgánico) y las condiciones de operación utilizados [19].

- **Pretratamiento alcalino.** Su mecanismo induce principalmente la hinchazón de las partículas orgánicas por acción de los aniones hidroxilo (OH^-) causando delignificación y ruptura de los enlaces éster intermoleculares. Pueden emplearse soluciones de hidróxido de sodio (NaOH), calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), potasio (KOH) y amoníaco. El pretratamiento oxidativo promueve la ruptura de núcleos aromáticos, sustitución electrofílica, dislocación de cadenas laterales. En este proceso se puede integrar el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como un

catalizador que genera radicales hidroxilos (OH^\cdot) que actúan sobre la biomasa, pero el mecanismo es menos selectivo por lo que porciones de hemicelulosa y celulosa se pueden perder durante el proceso. En la producción de metano se observa un aumento en el rendimiento de que oscila entre 30 - 90 %. También puede utilizarse la oxidación de Fenton, ozono y ozono combinado con H_2O_2 y Fe^{2+} [19].

- **Pretratamiento ácido** implica la aplicación de un ácido diluido o concentrado que causa la interrupción de las fuerzas de Van der Waals de los enlaces de hidrógeno y la ruptura de los enlaces covalentes que mantienen unidos los componentes de la biomasa, provocando la lisis celular y la liberación de los compuestos orgánicos intracelulares [19]. El ácido más utilizado para este fin es el ácido sulfúrico (H_2SO_4), pero también se ha reportado el uso de ácido acético, nítrico y clorhídrico. Se han observado incrementos en el rendimiento de metano para pretratamientos con H_2SO_4 , aunque pueden ser mucho menores si las condiciones (por ejemplo: temperatura, tiempo, pH) propician la formación de inhibidores [19]. El pretratamiento ácido facilita la hidrólisis posterior, ya que la biomasa se vuelve más accesible.

1.3 Hidrólisis ácida.

Los polisacáridos estructurales (celulosa y hemicelulosa) presentes en la biomasa lignocelulósica se pueden descomponer mediante la hidrólisis ácida en sus azúcares constituyentes (como la glucosa y la xilosa) seguida de la fermentación de estos azúcares por levaduras u otros microorganismos [20]. La manera más simple para hidrolizar químicamente la celulosa en glucosa es mediante la utilización de un catalizador ácido [21].

La celulosa puede ser despolimerizada a través de hidrólisis ácida en monómeros, estos se pueden utilizar en una biorrefinería de azúcares para producir combustibles con alta densidad de energía y otros productos químicos [21].

Industrialmente hablando, el proceso más importante es la hidrólisis con ácidos minerales concentrados o diluidos, predominantemente ácido sulfúrico [20].

El pretratamiento con ácido depende de parámetros tales como el tipo de ácido, la concentración de ácido, relación de sólido a líquido y la temperatura. Los ácidos inorgánicos tales como ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido clorhídrico y ácido fosfórico han sido utilizados en el pretratamiento de material lignocelulósico y algunos ácidos orgánicos tales como ácido peracético, ácido maleico, entre otros [22].

1.3.1 Ruta de conversión química de lignocelulosa por hidrólisis ácida.

El modelo y los datos cinéticos son clave en el diseño, desarrollo, operación y evaluación de los procesos de conversión de los polisacáridos de los materiales lignocelulósicos a azúcares fermentables y lignina ácida despolimerizada (Figura 6). El grado de hidrólisis y la velocidad del proceso dependen de muchos factores, entre otros del pH, temperatura, concentración de biomasa, tipo de materia orgánica y tamaño de la partícula [23].

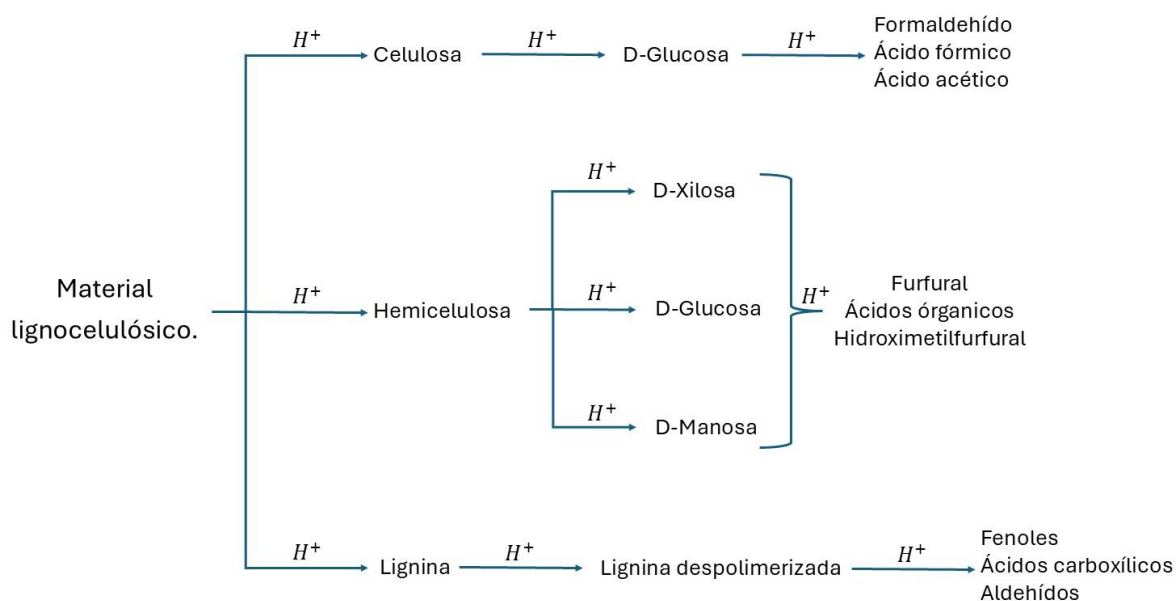


Figura 6. Esquema de la hidrólisis ácida en materiales lignocelulósicos. *Elaboración propia.*

Los principales productos de la hidrólisis en un medio ácido de la celulosa son glucosa y xilosa para la hemicelulosa, las reacciones generadas en la hidrólisis ácida son muy complejas; el sustrato está en fase sólida y el catalizador en fase líquida. Se asume que la holocelulosa (carbohidratos), produce azúcares fermentables, que incluye fracciones de xilosa, manosa y productos de descomposición de las hemicelulosas como furfural, 5-hidroximetilfurfural y ácidos orgánicos, así como lignina soluble en medio ácido [23].

Como se mencionó anteriormente, la hidrólisis de la biomasa lignocelulosa se puede catalizar con ácidos, los cuales se pueden utilizar en forma diluida o concentrada, cada enfoque tiene sus propias ventajas y desventajas las cuales se mencionarán a continuación.

1.3.2 Ácido diluido.

El pretratamiento con ácido diluido es uno de los métodos más comunes y establecidos para el pretratamiento de biomasa lignocelulósica en preparación para la producción de biocombustibles u otras aplicaciones biotecnológicas.

El proceso implica tratar la biomasa con una solución diluida de un ácido fuerte, típicamente ácido sulfúrico (sin embargo, se pueden usar otros ácidos, como el nítrico y el clorhídrico), a temperaturas elevadas [24]. La hidrólisis ácida diluida se produce a una concentración del 0,3 % al 2,5 % (peso/peso) a una temperatura alta de alrededor de 120 °C a 210 °C. [21] El objetivo principal del pretratamiento con ácido diluido es hidrolizar la hemicelulosa y la lignina soluble en ácido, descomponiéndola en los azúcares que la conforman y compuestos fenólicos. Los azúcares resultantes pueden luego valorizarse (mediante fermentación u otras vías) para convertirlos en biocombustibles u otros productos [24].

El pretratamiento con ácido diluido también conduce a una redistribución y eliminación parcial de la lignina, lo que hace que la celulosa restante sea más accesible a la hidrólisis enzimática en pasos posteriores [24].

Características de la hidrólisis con ácido diluido.

- Altos rendimientos de azúcar: en comparación con otros métodos de pretratamiento, el pretratamiento con ácido diluido puede producir grandes cantidades de azúcares fermentables, particularmente de hemicelulosa.
- Condiciones menos severas: el pretratamiento con ácido diluido generalmente requiere condiciones menos severas (es decir, temperaturas y presiones más bajas) en comparación con otros métodos de pretratamiento (por ejemplo, explosión de vapor).
- Simplicidad: el proceso es relativamente sencillo al no requerir equipos complejos.
- Flexibilidad: el pretratamiento con ácido diluido puede ser eficaz para una amplia gama de materias primas lignocelulósicas, incluidas maderas duras, maderas blandas y residuos agrícolas [24].

1.3.3 Ácidos concentrados.

La hidrólisis ácida concentrada, a diferencia de su contraparte diluida, implica el uso de ácidos en altas concentraciones para alterar e hidrolizar los polisacáridos complejos (celulosa y hemicelulosa) presentes en la biomasa lignocelulósica en azúcares más simples y fermentables. El ácido más utilizado en este proceso es el ácido sulfúrico debido a su fuerte acidez, pero se pueden utilizar otros tipos de ácidos (por ejemplo, ácido clorhídrico) [25]. La hidrólisis ácida concentrada ocurre a una concentración del 41 % al 86 % y una temperatura baja de alrededor de 25 °C–70°C [26]. El objetivo es hidrolizar la hemicelulosa en azúcares monoméricos mientras se minimiza la degradación de estos azúcares y se deja el componente de celulosa en gran parte intacto [25].

Características de la hidrólisis con ácido concentrado.

- Temperatura operativa más baja: el proceso normalmente opera a temperaturas más bajas en comparación con la hidrólisis ácida diluida.

- Potencial de recuperación de ácido: aunque la recuperación y reutilización de ácido representan un desafío importante en la hidrólisis ácida concentrada, también ofrecen una ventaja potencial. Si se implementa de manera efectiva, la recuperación de ácido puede reducir significativamente el consumo de ácido del proceso y contribuir a su sostenibilidad económica [26].

1.4 Métodos térmicos.

La definición de análisis térmico es: “un grupo de técnicas en las que se mide una propiedad física de una sustancia y/o de sus productos de reacción en función de la temperatura mientras la sustancia se somete a un programa de temperatura controlado.” Tres métodos que proporcionan información química básica más que información física acerca de las muestras de materiales incluyen la termogravimetría (TG/TGA), el análisis térmico diferencial (DTA) y la calorimetría de barrido diferencial (DSC) [27].

Para propósitos de esta investigación, analizaremos el método termogravimétrico (TGA).

1.4.1 Método termogravimétrico (TGA).

El análisis termogravimétrico es capaz de estimar la cantidad de celulosa, hemicelulosa, lignina, cenizas y compuestos volátiles con una desviación menor al 4% en peso [28].

En un análisis termogravimétrico se registra continuamente la masa de una muestra, colocada en una atmósfera controlada, en función de la temperatura o del tiempo al ir aumentando la temperatura de la muestra (normalmente de forma lineal con el tiempo) [27]. Este análisis permite obtener composiciones con un alto grado de exactitud en tiempos relativamente cortos lo que lo hace un buen método analítico para la determinación de composición en una muestra de biomasa [28].

El principio de operación del análisis por TGA es determinar el porcentaje de masa que se pierde durante el proceso de combustión del material lignocelulósico en una atmósfera oxidante. Primeramente, se observa la separación de los

compuestos volátiles al elevar la temperatura a más de 120°C. En esta etapa se elimina el agua libre y al subir hasta 140°C se vaporiza el agua asociada a la fracción de polisacáridos que contiene el material. Para estimar el porcentaje de hemicelulosa y celulosa se usa la primera y segunda derivada de los datos termogravimétricos lo que facilita la definición de los intervalos de temperatura para tasar el valor de las fracciones de interés sin tener que apoyarse en otro instrumento analítico [28].

La representación de la masa o del porcentaje de masa en función del tiempo se denomina termograma o curva de descomposición térmica [27].

Instrumentación.

Los instrumentos empleados en termogravimetría constan de:

- Una balanza analítica sensible.
- Un horno.
- Un sistema de gas de purga para proporcionar una atmósfera inerte (o algunas veces reactiva).
- Un microprocesador/microordenador para el control del instrumento, adquisición y visualización de datos.

Además, existe la opción de añadir un sistema para cambiar el gas de purga en las aplicaciones en las que este gas debe cambiarse durante el experimento.

La representación de la masa o del porcentaje de masa en función del tiempo, se denomina termograma o curva de descomposición térmica. Los termogramas proporcionan información sobre los mecanismos de descomposición de diversas preparaciones poliméricas. Además, los patrones de descomposición son característicos de cada tipo de polímero y, pueden ser utilizados con finalidades de identificación [27].

1.5 Espectroscopía.

Se denomina espectroscopía a la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe un sistema químico en función de la longitud de onda de la radiación, basada en la interacción materia – radiación electromagnética, y a las mediciones a una determinada longitud de onda [29].

La teoría ondulatoria de la luz propone la idea de que un haz de luz es un flujo de fotones; la luz de una cierta longitud de onda está asociada con los fotones, cada uno de los cuales posee una cantidad definida de energía [29].

La longitud de onda, λ , del movimiento ondulatorio por el cual es transmitida la energía radiante varía en un intervalo extremadamente amplio, la magnitud de esta longitud sirve como medio cómodo para clasificar las diversas formas de radiación electromagnética [29].

1.5.1 Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-VIS).

La espectroscopía UV-VIS es una técnica que involucra la absorción de luz ultravioleta y visible por parte de una molécula promoviendo el paso de un electrón desde un orbital molecular fundamental a un orbital excitado; es decir, se producen transiciones de electrones desde niveles energéticos bajos a niveles más altos. La separación energética entre estos orbitales moleculares corresponde a las longitudes de onda del visible. Dichas longitudes de onda se encuentran aproximadamente entre 190 y 780 nm (situadas en la zona del ultravioleta visible) [29].

La espectrofotometría ultravioleta se encuentra entre los métodos más convenientes y útiles para el análisis cuantitativo y cualitativo de lignina en solución. Debido a su naturaleza aromática, la lignina absorbe fuertemente la luz ultravioleta y exhibe máximos característicos en la región de la luz ultravioleta [30].

La porción ultravioleta del espectro electromagnético adecuada para la espectroscopia de lignina se extiende de 200 a 380 nm. La energía absorbida en esta región produce cambios en la energía electrónica de una molécula de lignina resultantes de transiciones de electrones de valencia en la molécula [30].

Los grupos funcionales en la lignina que se pueden identificar mediante espectroscopía UV-Vis incluyen estructuras aromáticas y conjugadas.

Los grupos funcionales y sus máximos de absorción típicos en espectroscopía UV-Vis en la lignina son:

- Anillos aromáticos. Absorción en el rango de 280-300 nm. Esta banda es prominente y es una característica destacada en el espectro UV-Vis de la lignina [31].
- Grupos fenólicos o estructuras conjugadas. Absorción en el rango de 320-350 nm [31].

1.6 Método DNS.

El método DNS es una técnica colorimétrica que emplea un procedimiento que se basa en una reacción redox que ocurre entre el DNS y los azúcares reductores presentes en la muestra, seguido de la determinación espectrofotométrica a 540 nm de los azúcares reductores [32]. El método se basa principalmente en determinar la cantidad de azúcares reductores presentes en una muestra mediante el ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), el cual reacciona con los azúcares reductores presentes en una muestra a través de calor, reduciendo el ácido a 3-amino-5 nitro salicílico, y cambiando el color (de color amarillo a rojo ladrillo), cuya presencia de azúcar puede detectarse por lectura de la Absorbancia en la zona de 540 nm [33].

Esta técnica es aplicable a todos los procedimientos de sistemas de cultivos de medios líquidos y sólidos cuya molécula de sustrato sean azúcares reductores como glucosa, xilosa, entre otros. La coloración final desarrollada es estable durante 24 horas, sensible y adaptable durante la manipulación de un gran número de muestras a la vez [32].

1.7 Cromatografía líquida de alta resolución.

HPLC o cromatografía líquida de alta resolución es una técnica analítica para identificar y cuantificar sustancias en una solución. Puede aplicarse para medir la concentración de hidratos de carbono como xilosa y glucosa [34].

Consiste en una fase estacionaria no polar (columna) y una fase móvil. La fase móvil actúa como portador de la muestra, esta es inyectada en la columna, los componentes de la solución emigran de acuerdo con las interacciones no-covalentes de los compuestos. Estas interacciones químicas, determinan la separación de los contenidos en la muestra [35].

Un disolvente líquido que contiene la mezcla de las moléculas a identificar se hace pasar a través de una columna densamente empaquetada con pequeñas esferas de resina insoluble. Es necesario emplear bombas de alta presión, ya que la resina está densamente empaquetada y el líquido debe ser bombeado a través de la columna a elevada presión [35].

El detector mide continuamente la fase móvil que fluye a través de la célula de detección. Las sustancias que fluyen en la columna provocan una desviación de la señal, en forma de pico gaussiano. La señal se almacena y se analiza en un cromatograma mediante un software de adquisición de datos en un PC que está conectado al detector. En un sistema HPLC, el tiempo de permanencia en la columna es único para cada sustancia de la mezcla. Este “tiempo de retención” identifica la sustancia [34].

Físicamente, una columna de HPLC es un tubo de acero inoxidable con un diámetro interno uniforme y dentro del cual se encuentra la fase estacionaria [35].

Para pasar una muestra de material lignocelulósico por cualquier técnica de cromatografía, antes debe realizarse una hidrólisis a fin de obtener los monosacáridos correspondientes para así poder ser cuantificados [36].

Como el ácido sulfúrico puede dañar la columna, la muestra debe neutralizarse después de la hidrólisis final. Así pues, básicamente los pasos a realizar para la hidrólisis con ácido sulfúrico son: Hidrólisis con ácido sulfúrico diluido y neutralización de la muestra [36].

La neutralización puede llevarse a cabo sobre una alícuota de la muestra filtrada. Se añade carbonato calcio hasta el cese de burbujeo. El sobrenadante obtenido después de la decantación, se centrifuga. Llegado a este punto, la muestra ya está lista para ser inyectada en el cromatógrafo [36].

Capítulo II.

Metodología.

2.1 Diseño de experimentos.

Para realizar la investigación se decidió aplicar un diseño de experimentos factorial completo 2^2 para estudiar el efecto de la concentración del ácido y la carga de sólidos en la hidrólisis ácida sobre la hoja de plátano, los experimentos se realizaron por triplicado [Anexo 1]. La hidrólisis ácida se llevó a cabo con 50 mL de H_2SO_4 la concentración varía respecto al diseño de experimentos, así como la carga de sólido.

Las condiciones de operación en los experimentos son las siguientes:

Temperatura de reacción = $120^\circ C$.

Tiempo de reacción = 45 minutos.

Presión manométrica en el sistema = 1 kg/cm^2 .

Los niveles en los que se evaluaron los factores en los experimentos se presentan en la Tabla 1 [Anexo 1]:

Tabla 1. Matriz de experimentos a realizar. *Elaboración propia.*

Experimento	Carga	
	sólidos	[H^+]
1. Control.	25%	1.5%
2	15%	0.5%
3	15%	2.5%
4	35%	0.5%
5	35%	2.5%

2.2 Selección del material lignocelulósico.

El material lignocelulósico que se utilizó es la hoja de plátano, la recolección de hojas se hizo de un cultivo familiar de una planta de plátano ubicada en la comunidad de San Bernardino Tlaxcalancingo en el Estado de Puebla, México.

2.3 Preparación del material lignocelulósico.

El acondicionamiento del material lignocelulósico consistió en tres etapas, corte del material en trozos, secado y molienda con un molino para granos.

Corte. Las hojas de la palmera de plátano fueron cortadas con tijeras en trozos de aproximadamente 2 cm x 4 cm.

Secado. Este paso se realizó en un horno "Quincy Lab 20 GC", a una temperatura de 200 °C por un tiempo de 4 horas. Los trozos se colocan en charolas colocando una capa homogénea del material.

Molienda. Las hojas secas fueron procesadas en un molino para granos manual. La molienda se realizó por 3 ocasiones hasta obtener un polvo fino.

2.4 Determinación del tamaño de partícula.

El material lignocelulósico molido se colocó en una superficie donde se realizó un cuadrado de espesor uniforme y se hizo utilizando el método de cuarteo. Se aplicaron 2 cuarteos y se obtuvieron 16 cuadrados. De estos, se seleccionaron 8 de manera aleatoria.

Se tomó la masa inicial del material lignocelulósico contenido en la primera muestra utilizando una balanza analítica OHAUS Adventurer AX223. Esta porción se tamizó usando 3 mallas de diferentes tamaños (2 mm, 0.841 mm y 0.15 mm). Al término del tamizado, se determinó la masa del material contenido en cada malla del tamiz y el material que paso las tres mallas que se encontraba en un contenedor en la parte inferior. Este proceso se realizó con las 8 muestras seleccionadas [Anexo 2].

2.5 Preparación de la solución de ácido sulfúrico.

La cantidad de H₂SO₄ a usar en el diseño experimental fue de 50 mL para cada experimento. Las concentraciones de la solución ácida que se utilizaron fueron: 0.5%, 1.5%, 2.5% v/v. Todas se prepararon a partir de ácido sulfúrico al 50% peso.

2.5.1 Determinación de la carga de sólidos de la hoja de planta de plátano.

Se presentan los cálculos para determinar la carga de sólidos de 15% de material lignocelulósico en 50 mL de H₂SO₄:

$$15\% \text{ en carga de sólidos} = \left(\frac{15 \text{ g}_{\text{material}}}{100 \text{ mL}_{\text{H}_2\text{SO}_4}} \right) (50 \text{ mL}_{\text{H}_2\text{SO}_4})$$

$$15\% \text{ en carga de sólidos} = 7.5 \text{ g}_{\text{material}}$$

Para una carga de sólidos de 25% de material lignocelulósico en 50 mL de H₂SO₄:

$$25\% \text{ en carga de sólidos} = \left(\frac{25 \text{ g}_{\text{material}}}{100 \text{ mL}_{\text{H}_2\text{SO}_4}} \right) (50 \text{ mL}_{\text{H}_2\text{SO}_4})$$

$$25\% \text{ en carga de sólidos} = 12.5 \text{ g}_{\text{material}}$$

Para una carga de sólidos de 35% de material lignocelulósico en 50 mL de H₂SO₄:

$$35\% \text{ en carga de sólidos} = \left(\frac{35 \text{ g}_{\text{material}}}{100 \text{ mL}_{\text{H}_2\text{SO}_4}} \right) (50 \text{ mL}_{\text{H}_2\text{SO}_4})$$

$$35\% \text{ en carga de sólidos} = 17.5 \text{ g}_{\text{material}}$$

Tabla 2. Matriz del diseño experimental con cantidades de material a utilizar en cada experimento. *Elaboración propia.*

Experimento	Carga sólidos	[H ⁺]
1 (control)	12.5 g	50 mL de H ₂ SO ₄ al 1.5% v/v
2	7.5 g	50 mL de H ₂ SO ₄ al 0.5% v/v
3	7.5 g	50 mL de H ₂ SO ₄ al 2.5% v/v

4	17.5 g	50 mL de H ₂ SO ₄ al 0.5% v/v
5	17.5 g	50 mL de H ₂ SO ₄ al 2.5% v/v

2.6 Hidrólisis ácida del material de la hoja de plátano en una autoclave.

En frascos de laboratorio para cultivo con una capacidad de 250 mL se agregó el material lignocelulósico con 7.5 g, 12.5 g y 17.5 g según corresponda a cada experimento. Después se agregaron 50 mL de H₂SO₄ de la concentración correspondiente de 0.5%, 1.5% y 2.5%, se etiquetaron los frascos (Tabla 2) y se sellaron con cinta aislante para evitar fugas.

Se colocaron los frascos de dilución en la autoclave. En este caso se utilizó una autoclave eléctrica de marca “All American”, modelo NO. 75X. A continuación, se menciona detalladamente el proceso que se siguió para llevar a cabo la hidrólisis ácida en el equipo:

Se llenó el contenedor interior de agua a 1 cm aproximadamente de la reja de soporte interna. Se ajustó la perilla de temperatura en el nivel 2. Los frascos sellados con el material se ingresaron a la autoclave. Se cerró y selló la autoclave apretando los tornillos de forma cruzada, se ajustó la perilla en el nivel 5 de temperatura con la válvula de control abierta para permitir la liberación de aire.

Una vez eliminado el aire dentro de la autoclave, es decir, se tiene una atmósfera saturada de vapor, se baja la temperatura a nivel 2 y se cierra la válvula. La autoclave alcanzó las siguientes condiciones: Presión = 1 kg / cm² y Temperatura = 120 °C. El tiempo para alcanzar estas condiciones fue de aproximadamente 25 minutos, se procede a bajar el nivel de temperatura al nivel 1 para mantener las condiciones constantes.

Inmediatamente se empezó a contar el tiempo de reacción hasta transcurrir 45 minutos, una vez cumplido ese tiempo se apaga la autoclave y se deja enfriar el sistema hasta que la presión dentro del sistema fuera de 0 kg / cm². Posteriormente, se sacaron los frascos con el material lignocelulósico hidrolizado y se procedió a separar la suspensión reactante mediante filtración a vacío.

2.7 Filtración de hidrolizados.

Para separar el material pretratado del licor de hidrolizado, se optó por realizar el método de filtración al vacío. El procedimiento se llevó a cabo de la siguiente manera:

Montaje del equipo: Se conectó la bomba de vacío al matraz Kitasato y se colocó en el embudo Büchner con un adaptador de goma, se procedió a introducir el embudo al matraz. Dentro del embudo se ingresó un trozo circular de papel filtro de poro mediano y se humedeció con un poco de agua desionizada antes de encender la bomba al vacío.

Proceso de filtración: El contenido de los frascos se depositó dentro del embudo con ayuda de una espátula, el material restante que quedó en el frasco se arrastró con agua desionizada y se vertió en el embudo. Con ayuda del agua y la espátula se enjuagó el material pretratado. El total del agua desionizada que se utilizó fue de 150 mL. La filtración finalizó cuando ya no caía líquido en el matraz y el material pretratado se observaba seco. Este proceso se repitió con cada uno de los frascos con material hidrolizado, siempre lavando el material que se utilizó para evitar contaminación de la muestra anterior.

Una vez finalizado el proceso, se midió el volumen de hidrolizado obtenido con una probeta, y se reservó en frascos con tapa. El material pretratado se pesó antes y después de pasarlo al horno para eliminar la humedad restante. Para tener datos exactos del material degradado también se pesó el papel filtro antes y después de la filtración.

2.8 Cuantificación de lignina por espectroscopía UV/VIS.

Se realizó un barrido con lignina alcalina grado reactivo para identificar la señal máxima de absorción en la región ultravioleta-visible en el espectro y se obtuvo un resultado del pico máximo en 275 nm. El espectrómetro UV/VIS usado fue Perkin Elmer, modelo Lambda 35. Se realizó una curva de calibración con este estándar, se llevó a cabo con las concentraciones en ppm a: 2, 5, 10, 20, 50, 100.

Para correr las muestras hidrolizadas se realizaron 3 pruebas, la primera fue sin diluir, la segunda usando una proporción 1:20 y por último la que fue más factible

1:9. El blanco fue agua destilada. La lectura se realizó en el rango de 200-500 nm para cada experimento. Para preparar las muestras a analizar se agregó 1 mL de hidrolizado y se aforó con agua destilada hasta 10 mL. Se corrieron los espectros de UV/Vis y se determinó la concentración de la lignina ácida en los licores del hidrolizado.

2.9 Cuantificación de azúcares reductores por el método DNS.

Para realizar este método se tomaron 2 mL de estándar o muestra a medir, 1 mL del reactivo preparado de DNS y 3 g de agua destilada. Las soluciones se introdujeron en tubos Falcón de 15 mL, estos se colocaron dentro de un vaso de precipitado en baño de agua a 80 °C, el agua se calentó previamente. Los tubos se dejaron dentro del vaso durante 10 min, durante ese tiempo la coloración de las soluciones cambió de amarillo a naranja.

Transcurrido el tiempo de reacción se enfriaron los tubos en un baño de hielo por 20 minutos. Después de ese tiempo las muestras estuvieron listas para realizar la cuantificación de azúcares reductores por espectroscopia UV/VIS en un rango de 400-800 nm. La longitud de onda utilizada para la cuantificación fue de 510 nm.

Preparación de reactivo DNS

La preparación del reactivo DNS se realizó utilizando 1 g ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), 20 mL de solución 2N NaOH, 40.28 g tartrato Na-K·4H₂O y agua destilada [37]. El procedimiento fue el siguiente:

Se preparó un baño agua a 60 °C con una parrilla de calentamiento y un recipiente de vidrio (refractario), se ingresó al baño de agua un frasco de vidrio, en el que se agregaron 50 mL de agua destilada con un agitador magnético y se procedió a encender la agitación.

Se añadió 1 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico e inmediatamente se observó un cambio de coloración a verde limón fosforescente, posteriormente se agregaron 20 mL NaOH 2N, el color cambió a naranja fosforescente. Se agregaron 40.28 g de tartrato Na-K·4H₂O. Una vez disueltos se sacaron del baño de agua.

La preparación de DNS se aforó a 200 mL. El reactivo se almacenó en un frasco ámbar para protegerlo de la luz.

Curva de calibración xilosa.

Se realizó una disolución de 25 mL a una concentración de 4 g/L. Y se procedió a hacer diluciones hasta obtener concentraciones de 2 g/L, 1g/L, 0.7 g/L, 0.5 g/L y 0.4 g/L. Se procede a hacer una curva de calibración con las soluciones mencionadas siguiendo el método de cuantificación por DNS. Para la muestra que se definió como blanco se realizó el mismo procedimiento, pero sin xilosa, sólo agua.

Cuantificación de azúcares reductores en hidrolizados.

Una vez realizada la curva de calibración de xilosa, se procedió a realizar el método DNS para los hidrolizados. En el espectro UV/VIS se tomaron los datos a 510 nm. La dilución que se hizo a las muestras fue 1:10, es decir, 1 mL de hidrolizado en 9 mL de agua.

2.10 Análisis TGA.

Se tomaron muestras del material pretratado y se pulverizó en un mortero.

La estabilidad térmica de las muestras se realizó en un TGA Q50 de TA Instruments. El análisis termogravimétrico se realizó desde temperatura ambiente (20 °C – 26 °C) hasta la temperatura de descomposición de los materiales lignocelulósicos (700 °C) a una velocidad de calentamiento de 20 °C/min. El estudio experimental se llevó a cabo en ausencia de flujo de aire constante, se realizó en una atmósfera regular ya que el objetivo era permitir que el proceso de combustión ocurriera como un proceso natural sin aporte de oxígeno.

Se determinó la primera y segunda derivada de los datos termogravimétricos y se identificaron las fracciones correspondientes para la celulosa, hemicelulosa, lignina, cenizas y componentes volátiles. Por último, se realizaron los balances de materia correspondientes cuantificar la composición del material sin pretratamiento

y los materiales que presentaron mayor degradación durante el proceso de hidrólisis ácida.

2.11 HPLC.

Los hidrolizados se neutralizaron con CaCO_3 [36] en una parrilla de agitación sin calor hasta obtener un $\text{pH} = 5 - 6$. Llegado a ese punto, se realizaron diluciones 1:5 con agua HPLC. Para realizar el método HPLC, el líquido de las muestras se pasó por filtros de jeringa con membrana MCE de $0.22 \mu\text{m}$ a tubos de ensayo Falcón.

La metodología para la identificación y cuantificación de los monosacáridos y el ácido acético que componen los hidrolizados es la siguiente: se utilizó una columna Aminex HPX-87H, 300 mm (Catálogo #125-0140), como fase móvil se utilizó ácido sulfúrico al 0.005 M con un flujo total de $0.6 \text{ mL} / \text{min}$. La identificación se realizó en un detector RID (índice de refracción) a 45°C , la temperatura en el horno fue 45°C y una polaridad positiva. Se inyectó $5 \mu\text{L}$ de la muestra previamente filtrada en filtros Agilent de $0.45 \mu\text{m}$. El equipo utilizado es un HPLC Infinity II 1260 de la marca Agilent.

Capítulo III.

Resultados y discusión.

3.1 Tamaño de partícula.

La determinación del tamaño de partícula se realizó con 4 diferentes rangos de tamaño: (2 mm, ∞), [2 mm, 0.841 mm), [0.841 mm, 0.15 mm) y ($-\infty$, 0.15 mm]. Los cuartetos se tamizaron y se obtuvieron los datos de la tabla 3.

Tabla 3. Masa de las muestras obtenidas después del proceso de cribado.

	> 2 mm	≤ 2 mm, > 0.841 mm	≤ 0.841 mm, > 0.15 mm	≤ 0.15 mm	Σ masa
Muestra.	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]
1	0.144	0.414	10.208	5.630	16.396
2	0.101	0.413	8.932	5.043	14.489
3	0.038	0.456	10.826	6.057	17.377
4	0.114	0.515	10.404	6.638	17.671
5	0.114	0.582	9.672	5.078	15.446
6	0.076	0.371	10.529	5.743	16.719
7	0.066	0.397	10.432	5.795	16.690
8	0.079	0.387	10.531	5.473	16.470

Se obtuvo el porcentaje en masa de cada muestra mediante la razón de la masa del material en un rango de tamaño con respecto a la suma de la masa total de la muestra (tabla 4), la fórmula se muestra a continuación.

$$\% \text{ masa} = \frac{\text{masa tamaño } i}{\text{masa total muestra}} \times 100$$

Tabla 4. Porcentaje de masa de las muestras obtenidas después del tamizaje.

Tamaño partícula	> 2 mm	≤ 2 mm, > 0.841 mm	≤ 0.841 mm, > 0.15 mm	≤ 0.15 mm
	% masa.			
Muestra.	[%]	[%]	[%]	[%]
1	0.88	2.53	62.26	34.34
2	0.70	2.85	61.65	34.81
3	0.22	2.62	62.30	34.86
4	0.65	2.91	58.88	37.56
5	0.74	3.77	62.62	32.88
6	0.45	2.22	62.98	34.35
7	0.40	2.38	62.50	34.72
8	0.48	2.35	63.94	33.23

El promedio de las masas en porcentaje y la desviación estándar de los datos se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Promedio del porcentaje de masa que representa cada tamaño de partícula.

Tamaño de partícula.	Porcentaje masa.		
	[%]		
> 2 mm	0.56	±	0.21
≤ 2 mm, > 0.84 mm	2.70	±	0.49
≤ 0.841 mm, > 0.15 mm	62.14	±	1.48
≤ 0.15 mm	34.59	±	1.41

Al analizar los datos, se obtuvo que, el mayor porcentaje de tamaño de partícula cae en el rango de [0.841 mm, 0.15 mm) con 62.14% de masa, seguido de $(-\infty, 0.15 \text{ mm}]$ con 34.59% de masa y los otros intervalos de tamaño alcanzaron el 3.26% en conjunto. Según la curva granulométrica (Figura 8) la muestra presenta una granulometría bien gradada.

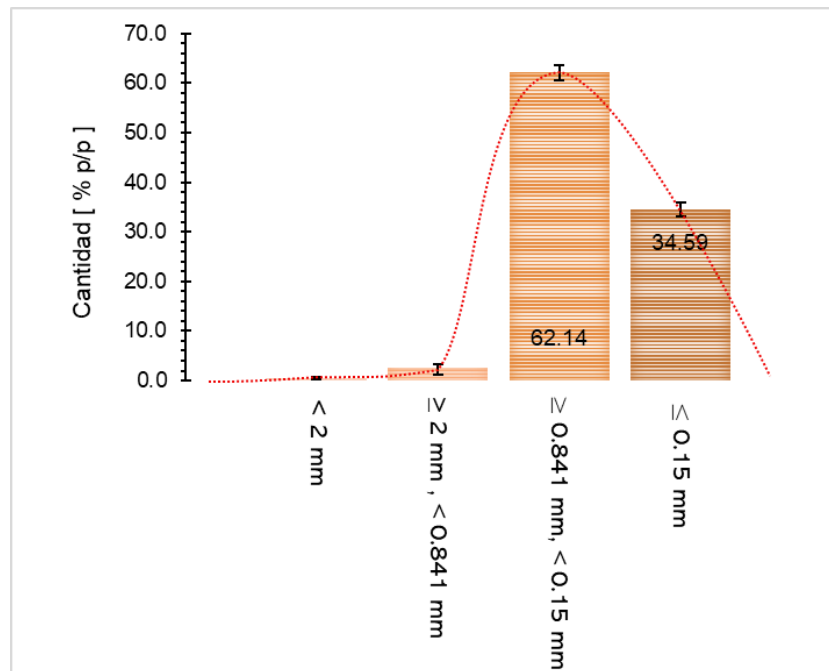


Figura 7. Gráfico de la distribución de tamaño con mallas de 2 mm – 0.15 mm.

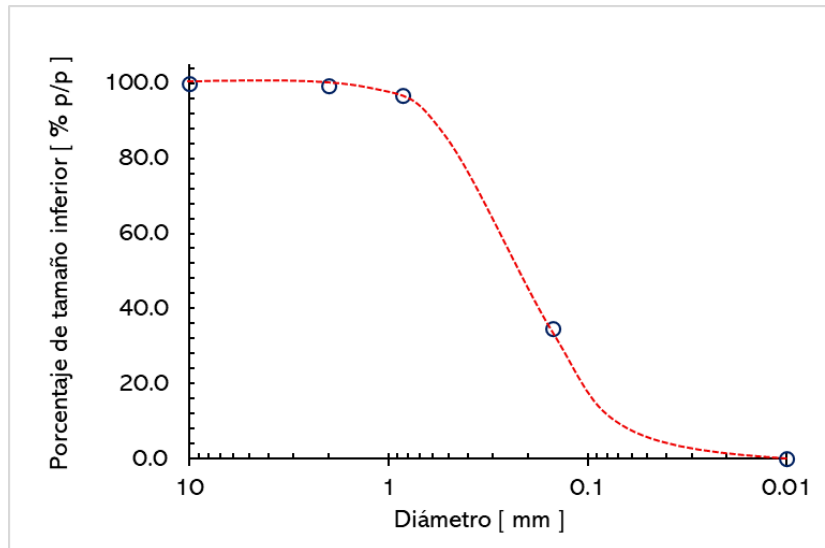


Figura 8. Curva granulométrica del tamaño de partícula de hoja de plátano

Por lo tanto, se logró obtener tamaños de partícula pequeños debido al pretratamiento físico de reducción de tamaño de partícula. Las ventajas que nos pueden favorecer son:

- Aumentar la superficie de contacto de la muestra, permitiendo una mayor exposición de la solución ácido y mejorando la eficiencia de la hidrólisis.
- Facilitar la penetración de los ácidos en la estructura de las partículas, lo que mejora la velocidad y eficiencia de la hidrólisis.
- Disminuir la cristalinidad de la celulosa y el grado de polimerización.

En resumen, el pretratamiento físico de reducción de tamaño de partícula ha sido fundamental para mejorar las condiciones de la hidrólisis ácida, lo que se traduce en una mayor eficiencia y efectividad en la hidrólisis ácida de las muestras [18, 19].

3.2 Material degradado.

Después de la hidrólisis ácida se filtró el material sólido y se obtuvo la masa del material que se degradó mediante la diferencia del material lignocelulósico agregado al inicio y del material restante después de la hidrólisis, los datos se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Datos del material degradado después de la hidrólisis.

Repetición	1		2		3	
	Material restante	Material degradado	Material restante	Material degradado	Material restante	Material degradado
Experimento	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]
1	8.705	3.795	8.202	4.298	8.557	3.943
2	5.626	1.874	5.465	2.035	5.656	1.844
3	4.648	2.852	4.522	2.978	4.696	2.804
4	14.27	3.23	15.943	1.557	14.366	3.134
5	11.997	5.503	13.715	3.785	12.312	5.188

La Tabla 7 muestra el promedio del porcentaje del material degradado de los experimentos realizados, este se determinó como la cantidad restante después del pretratamiento con respecto al material inicial antes de aplicar la hidrólisis ácida.

Tabla 7. Porcentaje promedio de material degradado de cada experimento.

Experimento	% Material degradado		
1	32.10	±	2.07
2	25.57	±	1.37
3	38.37	±	1.20
4	15.09	±	5.37
5	27.57	±	5.23

Como se puede observar, el experimento que tuvo una mayor degradación de material es el tercero con 38.37% (C.S 15%, [H⁺]=2.5%) y el que menos material degradado es el cuarto experimento con 15.09% (C.S 35%, [H⁺]=0.5%).

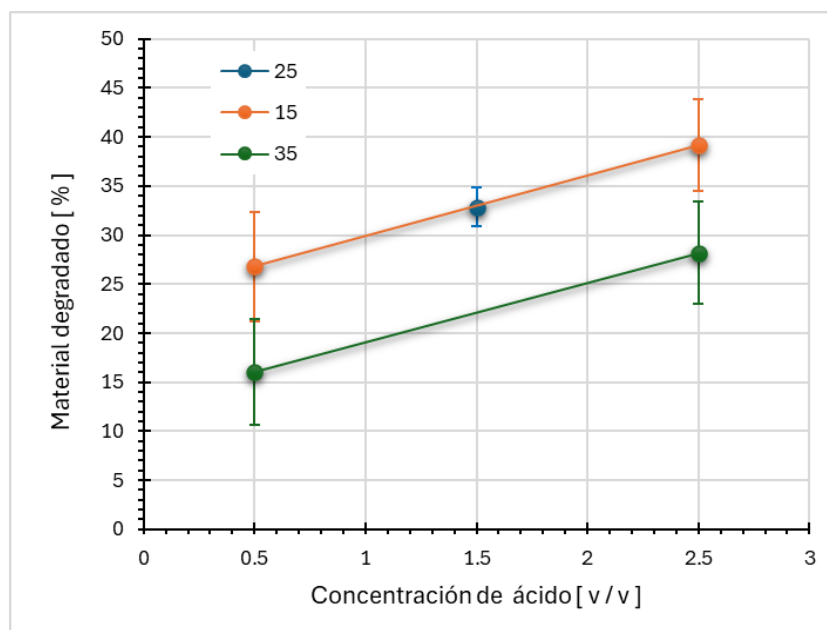


Figura 9. Gráfica comparativa entre material degradado contra concentración de ácido.

En la figura 9, se aprecia la influencia que tiene la concentración de ácido y la carga de sólidos en el material degradado. Tomando de ejemplo una misma carga de sólidos de 25% se obtienen distintos porcentajes de material degradado, al hidrolizar el material con concentraciones de ácido al 0.5% se degrada menor cantidad de material y con una concentración de 2.5% se degrada más material. Haciendo la comparación con una misma concentración de ácido, por ejemplo, 0.5% se logra degradar más material con una carga de sólidos menor que con una carga de sólidos mayor.

Por lo que, a mayor carga de sólidos con una baja concentración de ácido, la hidrólisis que se lleva a cabo tiene poca efectividad. Mientras tanto, las concentraciones de ácido altas y cargas de sólido bajas logran degradar una mayor cantidad de material lignocelulósico.

3.3 Lignina.

Se midió la concentración de lignina soluble en medio ácido utilizando como estándar la lignina alcalina mediante la medición de los espectros de ultravioleta visible del estándar y las muestras de hidrolizado del tratamiento ácido. Se midió la absorbancia de muestras de lignina en concentraciones de 2, 5, 10, 20, 50, 100 ppm a 275 nm para realizar una curva de calibración, obteniendo los resultados de la tabla 8.

Tabla 8. Valores de absorbancia a 275 nm para lignina.

Concentración [ppm]	Absorbancia [UA]
100	2.951
50	1.559
20	0.619
10	0.333
5	0.165
2	0.058

Se procedió a graficar la curva de calibración y se determinó la curva de ajuste respectiva para la posterior determinación de la concentración de la lignina en los hidrolizados (Figura 9).

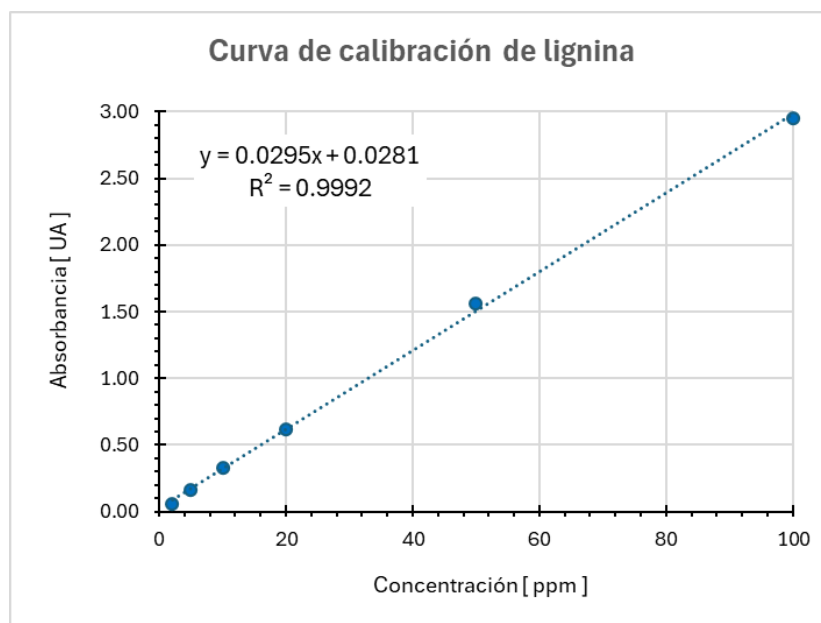


Figura 10. Curva de calibración de lignina.

Sustituyendo la ecuación de la recta pendiente, $y = mx + b$ con los valores de la ecuación de la curva de calibración $y = 0.0295x + 0.0281$, donde $x =$ concentración en ppm, $y =$ absorbancia en UA. La concentración en ppm se obtiene con la ecuación: $x = (y - 0.0281) / 0.0295$. Los resultados de cada experimento para cada repetición se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Absorbancias en UA y concentraciones de lignina en ppm de los hidrolizados.

Repetición.	1		2		3	
Experimento.	UA	ppm	AU	ppm	UA	ppm
1	1.466	48.75	1.326	44.00	1.316	43.67
2	1.117	36.92	0.761	24.84	0.566	18.24
3	1.176	38.91	1.032	34.05	0.844	27.67
4	0.573	18.50	1.243	41.20	1.407	46.77
5	1.971	65.86	2.379	79.71	1.655	55.17

El porcentaje promedio de lignina liberada de todas las repeticiones y experimentos con respecto a la concentración de ácido se muestra en la tabla 10.

Tabla 10. Porcentaje de concentración de lignina.

Experimento.	[H ⁺]	% Concentración.		
1	1.5	1.282	±	0.059
2	0.5	1.212	±	0.440
3	0.5	1.625	±	0.248
4	2.5	0.692	±	0.287
5	2.5	1.313	±	0.240

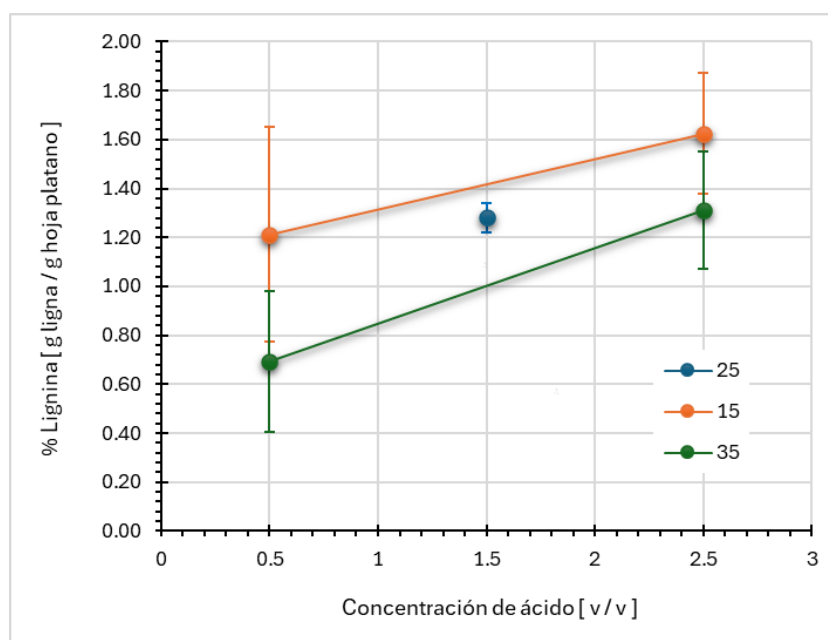


Figura 11. Grafica de porcentaje de concentración de lignina y concentración de ácido.

Al comparar los datos (Tabla 10, Figura 11) se observa que la concentración de ácido que libero mayor cantidad de lignina fue al 2.5% v/v. La liberación de lignina en función de la carga de solidos sigue el siguiente orden: el 15%, 25% y por último del 35%. El incremento en la concentración de ácido sulfúrico favorece el fraccionamiento de la lignina y su despolimerización en otros componentes. [38]

3.4 Xilosa.

Se realizó una curva de calibración con xilosa siguiendo el método DNS (Tabla 11, Figura 12). Para posteriormente determinar la cantidad de azúcares reductores en los hidrolizados del pretratamiento.

Tabla 11. Datos de absorbancia de la curva de calibración de xilosa por método DNS.

XILOSA.

Concentración [g/L]	Absorbancia [UA]
0.0	0.000
0.4	0.551
0.5	0.608
0.7	0.751
1.0	1.111
2.0	2.050

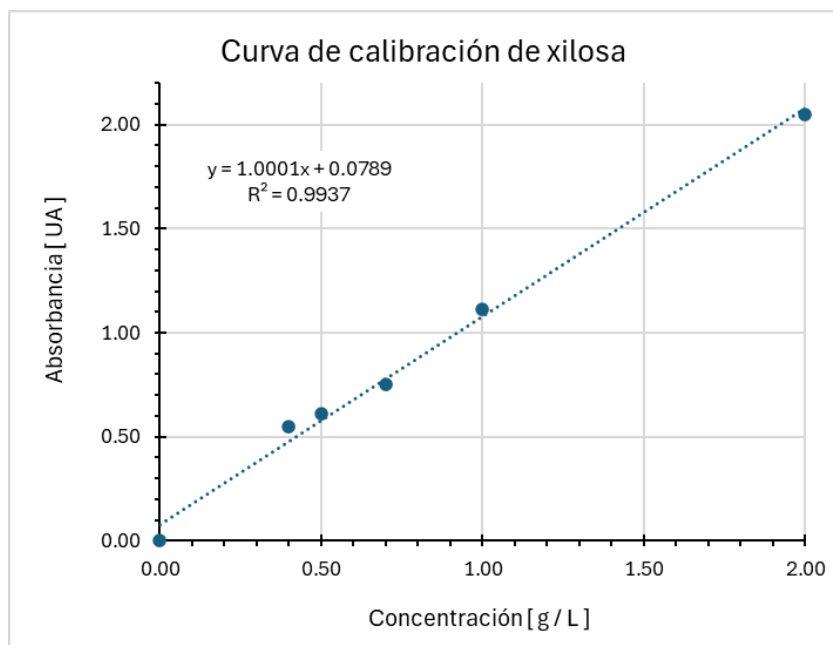


Figura 12. Curva de calibración de xilosa.

El método DNS se aplicó en los hidrolizados por triplicado para determinar la cantidad de azúcares reductores, los datos de absorción en el espectrómetro UV/VIS se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Datos de absorbancia de los hidrolizados.

Experimento	Absorbancia [UA]		
	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
1	0.729	1.188	1.176
2	0.386	0.447	0.400
3	0.512	0.844	0.568
4	0.306	0.498	0.432
5	1.034	1.418	1.042

Sustituyendo la ecuación de la recta, $y = mx + b$ con los valores de la ecuación de la curva de calibración $y = 1.0001 x + 0.0789$, donde $x =$ concentración en g/L, $y =$ absorbancia en UA. Obtenemos la concentración en ppm con esta ecuación: $x = (y - 0.0789) / 1.0001$. Se obtuvieron los datos de las concentraciones de cada repetición, los datos se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Concentraciones de azúcares reductores en cada repetición.

Experimento.	Concentración (g/L).		
1	6.51	11.10	10.97
2	3.08	3.68	3.22
3	4.33	7.66	4.89
4	2.28	4.19	3.53
5	9.55	13.39	9.64

Se procede a calcular la concentración promedio de cada repetición con la desviación estándar de cada experimento (Tabla 14). En el caso de azúcares

reductores se observa que la concentración de ácido con la que se obtuvo mayor cantidad fue con una concentración del 35% seguida de 25% y por último del 15%. La elevada concentración de ácido sulfúrico puede despolimerizar más azúcares.

Tabla 14. Concentraciones de azúcares reductores para cada experimento.

Experimento	Carga sólidos [%]	[H^+]	Concentración [g/L]		
1	25	1.5	9.53	±	2.61
2	15	0.5	3.33	±	0.32
3	15	2.5	5.63	±	1.78
4	35	0.5	3.33	±	0.97
5	35	2.5	10.86	±	2.19

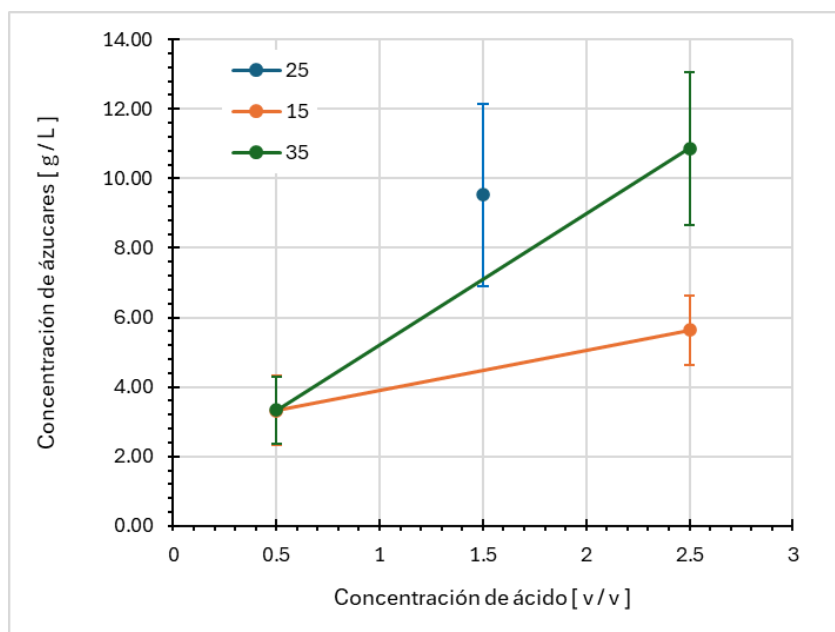


Figura 13. Concentración de azúcares reductores.

3.5 TGA.

Los análisis de este método se muestran en la tabla 15. Los datos muestran un mayor porcentaje en la cantidad de hemicelulosa, este polímero está constituido principalmente por pentosas, hexosas y ácidos de azúcar. Lo que hace viable seleccionar este material lignocelulósico para llevar a cabo una hidrólisis y para obtener azúcares.

Con base a los resultados de TGA después de aplicar los tratamientos ácidos se puede asegurar que una concentración alta de ácido permitió degradar una mayor cantidad de hemicelulosa y lignina. Pero estos materiales pretratados presentan una mayor concentración de celulosa comparados con el material inicial. Esto se puede deber principalmente al proceso hidrólisis de la hemicelulosa y la lignina. Sin embargo, no existe certeza por este método de caracterización para distinguir entre la hemicelulosa y celulosa de este material sin pretratamiento porque posiblemente las cadenas que componen ambos polisacáridos tienen características similares en peso molecular lo que no permite poder asegurar la concentración inicial de ambas fracciones.

Tabla 15. Composición de hoja de plátano y los pretratamientos con ácido diluido.

Composición [%]					
Componente	Compuestos volátiles	Hemicelulosa	Celulosa	Lignina	Cenizas
Hoja de plátano sin pretratamiento	6.15	55.33	5.71	20.66	12.28
Experimento 3:					
CS = 15% p / v	3.78	1.48	62.35	22.62	9.75
[H ₂ SO ₄] = 2.5% v / v					
Experimento 1:					
CS = 25% p / v	5.51	1.96	60.47	21.01	11.02
[H ₂ SO ₄] = 1.5% v / v					
Experimento 5:					
CS = 35% p / v	5.66	2.83	53.04	27.55	10.89
[H ₂ SO ₄] = 2.5% v / v					

3.6 Determinación de azúcares y ácido acético por HPLC.

La Figura 14 presenta las curvas de calibración para glucosa, xilosa, arabinosa y ácido acético. Estas curvas se utilizaron para calcular la concentración de los 4 compuestos. Sin embargo, no fue posible calcular la concentración de glucosa y ácido acético, ya que las áreas determinadas en los cromatogramas fueron insuficientes para una cuantificación precisa. Por lo tanto, los resultados de glucosa y ácido acético se reportan como menores al límite inferior de sus respectivas curvas de calibración.

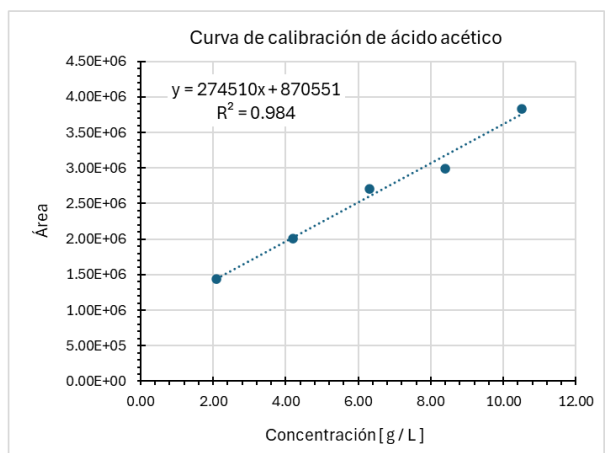
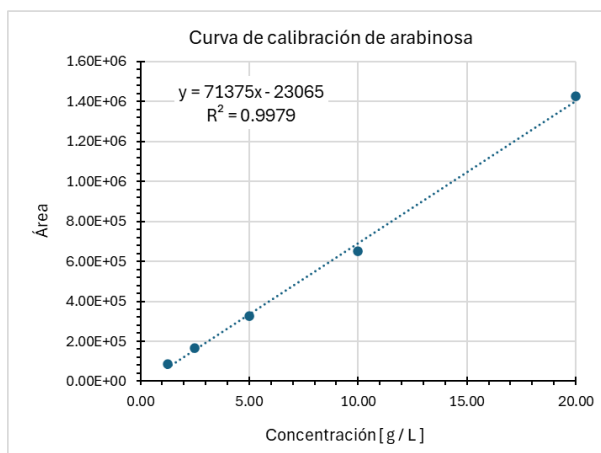
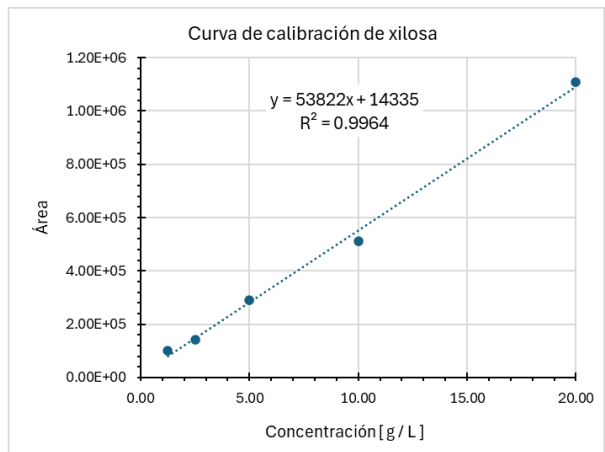
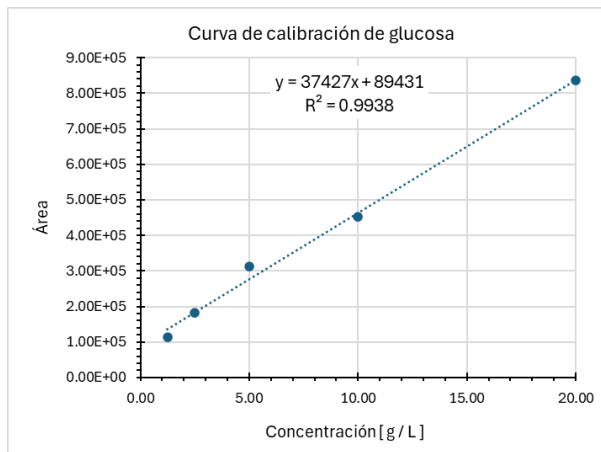


Figura 14. Curvas de calibración de HPLC para glucosa, xilosa, arabinosa y ácido acético.

En la Figura 15 muestra el cromatograma del licor de hidrolizado del experimento 1. Con base en los tiempos de retención de los estándares, la glucosa, la xilosa, la arabinosa y el ácido acético se presentan a 8.28, 8.90, 9.80 y 14.42 minutos respectivamente. También se aprecian unos picos en 5.63, 6.13, 6.54 y 7.16 minutos que pueden ser asignados a oligómeros de hemicelulosa que es la fracción más atacada por el ácido, pero no se puede identificar cada una de estas especies.

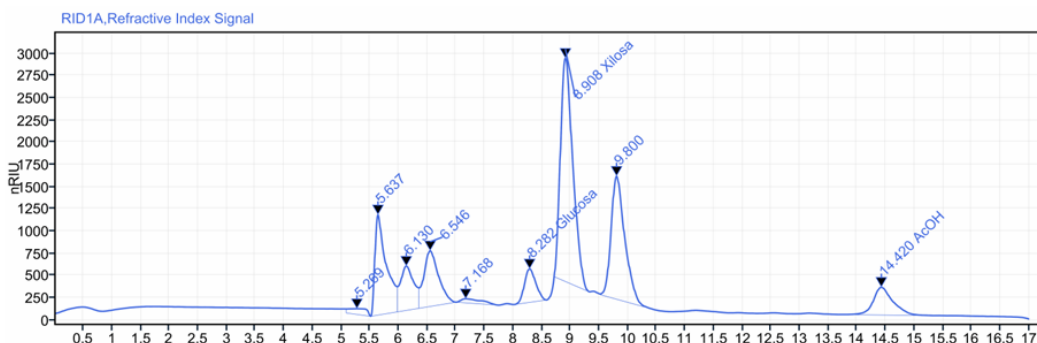


Figura 15. Cromatograma del experimento 1, se muestran las señales para glucosa (RT: 8.28 min), xilosa (RT: 8.90 min), arabinosa (RT: 9.80 min) y ácido acético (RT: 14.42 min).

La Tabla 15 muestra que el pretratamiento que libero la mayor cantidad de azúcares, xilosa y arabinosa, fue el experimento 5 con una concentración de 5.91 g/L. Comparando este resultado con la cantidad de azúcares reductores determinados por DNS podemos estimar que la cantidad de oligómeros de hemicelulosa (xilanos) que existen en el licor de hidrolizado fueron 4.95 g/L.

Tabla 15. Composición de hoja de plátano y los pretratamientos con ácido diluido.

Experimento	Glucosa [g / L]	Xilosa [g / L]	Arabinosa [g / L]	Ácido acético [g / L]
1: CS = 25% [H ⁺] = 1.5%	< 1.25	2.56 ± 0.97	0.72 ± 0.02	< 2.1
2: CS = 15% [H ⁺] = 0.5%	< 1.25	0.48 ± 0.27	0.59 ± 0.01	< 2.1
3: CS = 15% [H ⁺] = 2.5%	< 1.25	2.94 ± 0.63	0.65 ± 0.10	< 2.1
4: CS = 35% [H ⁺] = 0.5%	< 1.25	0.90 ± 0.53	0.77 ± 0.05	< 2.1
5: CS = 35% [H ⁺] = 2.5%	< 1.25	5.02 ± 1.27	0.89 ± 0.04	< 2.1

De acuerdo con los resultados se observó que la arabinosa es una ramificación de la hemicelulosa porque es el monosacárido que se cuantificó cuando la concentración de ácido sulfúrico es menor sin importar la carga de sólidos. También se observó la liberación de glucosa y ácido acético que también son ramificaciones del polisacárido. En el caso de los oligómeros de hemicelulosa también se observó una mayor cantidad de estas especies cuando la concentración de ácido es baja debido al inicio del proceso de hidrólisis. En cambio, cuando aumentó la concentración del ácido se libera xilosa que proviene de las cadenas principales de la hemicelulosa.

Conclusiones.

A partir de los resultados obtenidos en los experimentos, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

El pretratamiento con ácidos sulfúrico diluido hidroliza la hoja de plátano liberando tanto glucosa, xilosa, arabinosa y ácido acético que son componentes de la hemicelulosa presente en la pared celular vegetal. Además, se observó y cuantifico la liberación de lignina soluble en ácido que se encuentra asociada a la fracción de hemicelulosa hidrolizada.

Las condiciones de operación para obtener una mayor hidrólisis de la hoja de plátano son: 15 % p/v carga de sólidos con una concentración de ácido del 2.5% v/v alcanzando concentraciones de azúcares reductores de 5.63 ± 1.78 g/L pero presenta la concentración más alta de lignina ácida de 1.625 ± 0.248 % respecto a la hoja de plátano antes del pretratamiento. Además, se hidrolizó el 38.37 ± 1.20 % del material inicial.

Si el interés del proceso es generar una mayor cantidad de azúcares reductores las mejores condiciones de operación son 35% p/v de carga de sólidos y 2.5% v/v de solución ácida que generó 10.86 ± 2.19 g/L de los cuales 5.02 ± 1.27 g/L son de xilosa y 0.89 ± 0.04 g/L de arabinosa, un licor rico en pentosas. El material degradado de este tratamiento fue del 27.57 ± 5.23 % y una liberación de lignina ácida del 1.313 ± 0.240 respecto a la hoja de plátano antes del pretratamiento.

Desde un punto de vista económico las mejores condiciones para realizar la operación de hidrólisis ácida de la hoja de plátano son las que consideran los niveles altos de los factores estudiados, carga de sólido y concentración de ácido.

Respecto a la cinética de reacción podemos asegurar que el aumento en la concentración del ácido y la carga de sólido favorece la producción de monosacáridos, pero no favorece a la hidrólisis de lignina ácida. Este efecto se puede explicar debido a que en el medio líquido existe la presencia de oligómeros

de hemicelulosa, y estos comienzan a hidrolizarse a monosacáridos lo que aumenta su concentración.

La determinación de la composición de las hojas de plátano permitió evaluar el desempeño del tratamiento ácido sobre el material y podemos distinguir que este es capaz de degradar la hemicelulosa de la pared celular vegetal y se mantiene la celulosa en el material pretratado y esto es congruente a los resultados de las especies de monosacáridos que en su mayoría son pentosas. Además, la concentración lignina incrementó en los materiales pretratados lo que puede dar indicio de que se atacó toda la lignina soluble en ácido y sólo permanece la lignina alcalina en el sólido.

Por último, podemos idear la secuencia de pasos elementales involucrados en la reacción de hidrólisis ácida del material lignocelulósico sigue las siguientes rutas: en la primera etapa el ácido ataca las ramificaciones y zonas amorfas de la hemicelulosa lo que produce arabinosa, glucosa y ácido acético, al mismo tiempo se ataca a la lignina que es reactiva en este medio y que se libera como lignina ácida. Así mismo, existe la evidencia de que el medio ácido ataca a las cadenas principales de hemicelulosa generando oligómeros que posiblemente son ricos en xilosa. Con base en la evidencia se puede afirmar que no existe ataque directo a la celulosa debido a que la concentración de glucosa en los licores de los hidrolizados es baja, esto se puede confirmar con la cuantificación de la fracción de celulosa en los materiales pretratados.

Bibliografía.

1. Höök, M., & Tang, X. (2013). Depletion of fossil fuels and anthropogenic climate change—A review. *Energy Policy*, 52, 797-809. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2012.10.046>.
2. Galgani, P., Woltjer, G., de Adelhart Toorop, R., & de Groot Ruiz, A. (2021). Fossil fuel and other non-renewable material depletion: Impact-specific module for true price assessment: True pricing method for agri-food products.
3. United Nations. (2012). Renewable resources and conflict. Toolkit and guidance for preventing and managing land and natural resources conflict, 54. Recuperado de <https://www.un.org/en/land-natural-resources-conflict/renewable-resources.shtml>
4. LLanes-Gil-López, D. I., Lois-Correa, J. A., Sánchez-Pardo, M. E., & Orta-Guzman, V. N. (2017). Panorámica en México de la utilización de los residuos agroindustriales: residuos fibrosos de la caña de azúcar. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 51(1), 39-42.
5. De Agricultura y Desarrollo Rural, S. (2021). *Aumentó 2.9 por ciento producción de plátano mexicano en 2020*. gob.mx. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/aumento-2-9-por-ciento-produccion-de-platano-mexicano-en-2020?idiom=es>
6. De Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, I. N. (s. f.). *Elaboración de lixiviados con pseudotallo de plátano macho*. gob.mx. <https://www.gob.mx/inifap/articulos/elaboracion-de-lixiviados-con-pseudotallo-de-platano-macho#:~:text=Despu%C3%A9s%20de%20la%20cosecha%2C%20solo,si%20no%20se%20manejan%20adecuadamente>.
7. Valdez-Vázquez I, Acevedo-Benítez J A & Hernández-Santiago C (2010) Distribution and potential of bioenergy resources from agricultural activities in Mexico. *Renew. Sust. Energy Rev.* 14: 2147-2153.
8. Yaashikaa, P. R., Kumar, P. Senthil, Varjani, Sunita. (2022). Valorization of agro-industrial wastes for biorefinery process and circular bioeconomy: A critical review. *Bioresource Technology*, 343, 126126. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126126>
9. M. Rivas-González, P. B. Zamudio-Flores y L. A. Bello-Perez, (2009). Efecto del grado de acetilación en las características morfológicas y fisicoquímicas del almidón de plátano. *Revista mexicana de ingeniería química*, 291 – 297.
10. Reddy, N., & Yang, Y. (2014). Fibers from Banana Pseudo-Stems. En *Springer eBooks* (pp. 25-27). https://doi.org/10.1007/978-3-662-45136-6_7
11. Ferdous, T., Quaiyyum, M. A., Jin, Y., Bashar, M. S., Arafat, K. M. Y., & Jahan, M. S. (2021). Pulping and bleaching potential of banana pseudo stem, banana leaf and banana peduncle. *Biomass Conversion And Biorefinery*, 13(2), 893-904. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01219-6>
12. Mankar, A. R., Pandey, A., Modak, A., & Pant, K. K. (2021). Pretreatment of lignocellulosic biomass: A review on recent advances. *Bioresource Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125235>.

13. Anukam, A., & Berghel, J. (2020). Biomass Pretreatment and Characterization: A Review. IntechOpen.
14. Tecnología del agua, i. m. (2012). Filtración de aguas residuales con contaminantes recalcitrantes. <https://www.gob.mx/imta/articulos/filtracion-de-aguas-residuales-con-contaminantes-recalcitrantes-para-remocion-de-macronutrientes#:~:text=los%20contaminantes%20recalcitrantes%20son%20aquellos,degradaci%3%b3n%2c%20sea%20biol%3%b3gico%20o%20qu%3%ad mico>.
15. IEA Bioenergy Task 42. (2022). Global Biorefinery Status Report 2022. Recuperado de <https://task42.ieabioenergy.com/publications/global-biorefinery-status-report-2022/>
16. Millan, G. (2015). Biorrefinerías, sistemas integrados para el futuro. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/277774313_Desarrollo_de_biorrefinerias_en_el_mundo_Biorefineries_development_a_worldwide_review
17. Cortes Ortiz, W. G. (2011). Materiales lignocelulósicos como fuente de biocombustibles y productos químicos. Ciencia y Poder Aéreo.
18. Anukam, A., & Berghel, J. (2020). Biomass Pretreatment and Characterization: A Review. IntechOpen. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/344452463_Biomass_Pretreatment_and_Characterization_A_Review
19. María, E. N. A., Mailín, L. G. L., Lourdes, C. G. N., María, E. N. A., Mailín, L. G. L., & Lourdes, C. G. N. (2021). Pretratamiento de biomasa lignocelulósica: breve revisión de los principales métodos utilizados. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612021000300108
20. Dilute-Acid hydrolysis of lignocellulosic biomass - Bioprocess development. (n.d.). <https://www.celignis.com/bioprocess-dilute-acid.php>
21. Morales, S. (2015). Hidrólisis ácida de celulosa y biomasa lignocelulósica asistida con líquidos iónicos [Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Madrid]. https://digital.csic.es/bitstream/10261/132717/1/morales_de_la_rosa_silvia.pdf
22. Encinas Soto, K. (2016). Determinación del mecanismo de hidrólisis ácida de hemicelulosa de Cenchrus ciliaris [Universidad de Sonora]. http://www.repositorioinstitucional.uson.mx/bitstream/20.500.12984/520/1/encinas_sotokareenkrizzand.pdf
23. Noé, A. R. (n.d.). Modelo cinético de la hidrólisis del residuo de cosecha cañero. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-81702010000200001
24. Dilute-Acid Pretreatment of Biomass - Bioprocess development. (n.d.). <https://www.celignis.com/acid-pretreatment.php>
25. Concentrated acid hydrolysis of lignocellulosic biomass - Bioprocess development. (n.d.). <https://www.celignis.com/bioprocess-concentrated-acid.php>
26. Saadon, S. Z. A. H., Osman, N. B., & Yusup, S. (2022). Pretreatment of fiber-based biomass material for lignin extraction. En *Elsevier eBooks* (pp. 105-135). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-824388-6.00024-5>
27. Secretaría de Energía. (2019). Estrategia Nacional de Bioenergéticos 2019-2030. Recuperado de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/894193/166-329.pdf>

28. Toribio, C et al. (2019) Determinación rápida de la composición química en residuos agroindustriales por medio de termogravimetría. INIFAP. XXXI reunión científica tecnológica forestal y agropecuaria tabasco 2019 y VIII simposio internacional en producción agroalimentaria tropical.
29. Arévalo H. (2006). Evaluación de un método por espectroscopía uv-vis para la detección de contaminantes orgánicos en agua. https://www.researchgate.net/profile/Ana-Arevalo-5/publication/262010980_EVALUACION_DE_UN_METODO_POR_ESPECTROSCOPIA_UV-VIS_PARA_LA_DETECCION_DE_CONTAMINANTES_ORGANICOS_EN_AGUA/links/00b7d53658221d05c1000000/EVALUACION-DE-UN-METODO-POR-ESPECTROSCOPIA-UV-VIS-PARA-LA-DETECCION-DE-CONTAMINANTES-ORGANICOS-EN-AGUA.pdf?__cf_chl_tk=RwnQCepTmu5SnwEHaz7pGICUeMvkmipfDBpqjZ8gPbg-1738098300-1.0.1.1-6el8VbeeXdfxFPKuHYf_ZWYXY59WZuBvYqw5NVSqd_w
30. Lin, S.Y. (1992). Ultraviolet Spectrophotometry. In: Lin, S.Y., Dence, C.W. (eds) *Methods in Lignin Chemistry*. Springer Series in Wood Science. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-74065-7_15
31. Lu, Y., Lu, Y., Hu, H., Xie, F., Wei, X., & Fan, X. (2017). Structural Characterization of Lignin and Its Degradation Products with Spectroscopic Methods. *Journal Of Spectroscopy*, 2017, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2017/8951658>
32. María, D. C. Y. (2020, February 15). Determinación del contenido de azúcares, proteínas y nitrógeno presentes en medios de cultivos modificados para el crecimiento in vitro del hongo *colletotrichum sp* fitopatógeno del ñame (*Dioscorea alata*) en Montería-Córdoba. Repositorio Institucional Unicordoba. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/entities/publication/3621204b-db8e-4a1e-a4ec-468e7d41e1e2>
33. Montañez, L. J. B. (2019). Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico. *Questionar Investigación Específica*, 7(1), 57–66. <https://doi.org/10.29097/23461098.308>
34. Antec Scientific. (2023). ¿Qué es la HPLC? <https://antecscientific.com/es/productos/tecnicas/que-es-la-hplc/>
35. VIRESA (2022). ¿Qué es el HPLC y para qué funciona? https://viresa.com.mx/blog_que_es_hplc#:~:text=%C2%BFQ%C3%9AE%20ES%20HPLC?,los%20contenidos%20en%20la%20muestra.
36. Vidal, L. T. (2001). Determinación de los Hidratos de Carbono Presentes en la Pasta Mediante la Técnica de HPLC. Tesis Doctorals En Xarxa. <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/6489/14Brv14de20.pdf;jsessionid=9EE6C8C76925817311C09A0D2068F88?sequence=14>
37. Hoa-Hung Lam et al (2021) Quantification of total sugars and reducing sugars of dragon fruit-derived sugar-samples by UV-Vis spectrophotometric method. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 947 012041 <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/947/1/012041/pdf>
38. Tanis, M.H.; Wallberg, O.; Galbe, M.; Al-Rudainy, B. (2024) Lignin traction by Using Two-Step cractionation: A Review. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules29010098>

Anexos.

Anexo 1. Diseño de experimentos factorial.

En un diseño factorial, cada nivel de cada factor se combina para así realizar todas las combinaciones posibles. Esto produce que los experimentos sean más eficientes, dado que se puede proporcionar información de los efectos de todos los factores.

El modelo más práctico para el diseño factorial 2^k es el modelo 2^2 , el cual cuenta con dos factores de dos niveles cada uno. Estos factores en nuestro caso serán A = Concentración de ácido y B = Carga de sólidos, los cuales tienen cada uno dos niveles a los que trabajar, alto y bajo denominados arbitrariamente. Las unidades experimentales se obtienen tomando las cuatro posibles combinaciones de ambos factores y replicándolo n veces, con $n > 1$ [1].

Experimento.	Factor.	
	A	B
1. Control.	0	0
2	-	-
3	-	+
4	+	-
5	+	+

Tabla 1. Anexo 1. Matriz de diseño para experimento factorial 2^2 con un experimento de control. *Elaboración propia.*

Factores base de control.		Variación.	
A	Carga sólidos.	25%	± 10
B	Concentración de ácido [H ⁺].	1.5%	± 1

Tabla 2. Anexo 1. Matriz de factores con los niveles a variar. *Elaboración propia.*

	Factores base de control.		
	-		+
A	15%	25%	35%
B	0.5%	1.5%	2.5%

Tabla 3. Anexo 1. Matriz con variación en los niveles. *Elaboración propia.*

Procedemos a llenar nuestra matriz como se indica en la “Tabla 1. Anexo 1” y de acuerdo con los datos de la “Tabla 3. Anexo 1”.

Experimento.	Carga sólidos.	[H ⁺]
1. Control.	25%	1.5%
2	15%	0.5%
3	15%	2.5%
4	35%	0.5%
5	35%	2.5%

Tabla 4. Anexo 1. Matriz de experimentos a realizar. *Elaboración propia.*

Anexo 2. Determinación de tamaño de partícula.



Figura 1. Anexo 2. Material lignocelulósico extendido en cuadrado con espesor uniforme.



Figura 2. Anexo 2. División en 16 cuadrados del material lignocelulósico.



Figura 3. Anexo 2. Tamiz de pruebas físicas.



Figura 4. Anexo 2. Material en malla con abertura de 2 mm.



Figura 5. Anexo 2. Material en malla con abertura de 0.841 mm.



Figura 6. Anexo 2. Material en malla con abertura de 0.15 mm.



Figura 7. Anexo 2. Material menor a abertura de malla de 0.15 mm.

Anexo 3. Determinación de material degradado.

		C.S.	Peso (g).	[H+]	Volumen ácido (mL).	Volumen agua agregado en filtración (mL).
Base.	1	25%	12.5	0.015	50	150
	2	15%	7.5	0.005	50	150
	3	15%	7.5	0.005	50	150
	4	35%	17.5	0.025	50	150
	5	35%	17.5	0.025	50	150

Tabla 1. Anexo 3. Matriz de experimentos con volúmenes de ácido agregado y agua destilada agregada en la filtración.

Material filtrado.	Volumen final (mL).	Volumen degradado (mL).	Peso material húmedo (g).	Peso material seco (g).	Peso papel filtro (g).	Peso papel con material seco (g).	Material en papel.	Material restante.	Material degradado.
1	172	22.00	23.15	8.594	0.804	0.915	0.111	8.705	3.795
2	174	24.00	14.145	5.532	0.799	0.893	0.094	5.626	1.874
3	180	30.00	14.934	4.579	0.821	0.89	0.069	4.648	2.852
4	175	25.00	32.791	14.092	0.835	1.013	0.178	14.27	3.23
5	173	23.00	28.044	11.881	0.805	0.921	0.116	11.997	5.503

Tabla 2. Anexo 3. Masa de material hidrolizado primer repetición.

Material filtrado.	Volumen final (mL).	Volumen degradado (mL).	Peso material húmedo (g).	Peso material seco (g).	Peso papel filtro (g).	Peso papel con material seco (g).	Material en papel.	Material restante.	Material degradado.
1	182	32.00	22.418	8.111	0.8	0.891	0.091	8.202	4.298
2	156	6.00	15.03	5.363	0.832	0.934	0.102	5.465	2.035
3	180	30.00	15.501	4.471	0.819	0.87	0.051	4.522	2.978
4	167	17.00	38.959	15.772	0.835	1.006	0.171	15.943	1.557
5	171	21.00	31.723	13.603	0.831	0.943	0.112	13.715	3.785

Tabla 3. Anexo 3. Masa de material hidrolizado segunda repetición.

Material filtrado.	Volumen final (mL).	Volumen degradado (mL).	Peso material húmedo (g).	Peso material seco (g).	Peso papel filtro (g).	Peso papel con material seco (g).	Material en papel.	Material restante.	Material degradado.
1	175	25.00	23.646	8.469	0.835	0.923	0.088	8.557	3.943
2	183	33.00	13.873	5.57	0.838	0.924	0.086	5.656	1.844
3	186	36.00	12.46	4.633	0.819	0.882	0.063	4.696	2.804
4	172	22.00	39.979	14.219	0.843	0.99	0.147	14.366	3.134
5	171	21.00	34.071	12.215	0.822	0.919	0.097	12.312	5.188

Tabla 3. Anexo 3. Masa de material hidrolizado tercera repetición.

Para obtener el volumen degradado se restó el volumen final menos el volumen de agua agregado en la filtración (150 mL).

El material el papel se obtiene de restar el peso del papel con material seco y peso del papel filtro.

La suma del material en papel con el peso del material seco resulta en el peso del material restante. Y, el material degradado se obtiene al restar el peso de material inicial de la carga de sólidos y el material restante.

Experimento.	% Promedio de material degradado.	% Desviación estándar.
1	32.10	± 2.07
2	25.57	± 1.37
3	38.37	± 1.20
4	15.09	± 5.37
5	27.57	± 5.23

Tabla 4. Anexo 3. Porcentaje promedio de material degradado con el porcentaje de desviación estándar de cada repetición en cada experimento.

Anexo 4. Determinación de cantidad de lignina.

Se realizó la medida de lignina a los 5 experimentos de cada ronda en espectroscopía UV/VIS localizando los valores de absorbancia a 275 nm.

nm	1 A	2 A	3 A	4 A	5 A
285	1.36369	1.01693	1.08084	0.49434	1.80014
284	1.38024	1.02797	1.09832	0.5012	1.82825
283	1.39598	1.03836	1.11493	0.50824	1.85543
282	1.41128	1.04915	1.12939	0.51558	1.88295
281	1.42331	1.05911	1.14123	0.52296	1.90265
280	1.43306	1.06876	1.15085	0.53032	1.92084
279	1.44088	1.078	1.15851	0.5381	1.9356
278	1.44848	1.08742	1.1646	0.54631	1.94854
277	1.45481	1.09713	1.16945	0.55497	1.95788
276	1.45993	1.10702	1.1729	0.56385	1.96397
275	1.46623	1.11746	1.17603	0.57387	1.97119
274	1.47141	1.12971	1.17834	0.58438	1.98033
273	1.47569	1.14152	1.17899	0.59507	1.98893
272	1.47932	1.15339	1.17872	0.60592	1.99453
271	1.48263	1.16494	1.17744	0.61649	1.99314
270	1.48327	1.17587	1.17387	0.62676	1.99033
269	1.48605	1.1866	1.17106	0.63648	1.98952
268	1.48654	1.19612	1.16698	0.64551	1.98638
267	1.48869	1.20521	1.16328	0.65343	1.98237
266	1.49015	1.21419	1.15974	0.66116	1.98534
265	1.49174	1.22237	1.1556	0.6676	1.98012
264	1.4945	1.2294	1.15091	0.67266	1.9752
263	1.49556	1.23551	1.14655	0.67701	1.97045
262	1.49783	1.24129	1.14254	0.68074	1.968
261	1.50075	1.24752	1.13915	0.68411	1.96218
260	1.50453	1.2536	1.13658	0.687389	1.95846

Tabla 5. Anexo 4. Datos de absorbancia por UV/VIS para cuantificar lignina, primera ronda.

nm	1 A	2 A	3 A	4 A	5 A
284	1.24918	0.73358	0.93798	1.14266	2.17721
283	1.26901	0.7399	0.96062	1.15795	2.22103
282	1.28681	0.7454	0.98106	1.1718	2.27429
281	1.30027	0.74983	0.99781	1.18411	2.30958
280	1.31067	0.7531	1.01118	1.1953	2.33534
279	1.3179	0.75564	1.02131	1.2063	2.359
278	1.32335	0.75763	1.02848	1.21662	2.37425
277	1.32611	0.75919	1.03265	1.2259	2.38608
276	1.32616	0.760159	1.03359	1.23398	2.37743

275	1.32628	0.76114	1.03266	1.24357	2.37966
274	1.32348	0.76217	1.02998	1.25221	2.38674
273	1.31915	0.76268	1.02397	1.26026	2.37076
272	1.31325	0.76312	1.01623	1.26808	2.35875
271	1.30554	0.76326	1.0064	1.27566	2.34046
270	1.29668	0.76325	0.99479	1.28262	2.31958
269	1.28656	0.76295	0.98151	1.28853	2.29409
268	1.27506	0.76304	0.96728	1.29395	2.25744
267	1.2642	0.76327	0.95215	1.29819	2.22503
266	1.25276	0.76351	0.93637	1.30417	2.19933
265	1.24108	0.76402	0.91967	1.3087	2.16728
264	1.22914	0.76473	0.90277	1.31262	2.13161
263	1.21764	0.76554	0.88547	1.31624	2.09449
262	1.20649	0.767	0.86851	1.31962	2.05865
261	1.19642	0.76878	0.85173	1.323	2.02473
260	1.18639	0.77123	0.8352	1.32655	1.98643

Tabla 6. Anexo 4. Datos de absorbancia por UV/VIS obtenidos de espectroscopía UV/VIS para cuantificar lignina, segunda ronda.

nm	1 A	2 A	3 A	4 A	5 A
285	1.23582	0.52521	0.76347	1.27441	1.49206
284	1.25066	0.53074	0.77963	1.28937	1.52123
283	1.26584	0.53592	0.79445	1.30364	1.55112
282	1.27898	0.54089	0.8075	1.31861	1.57676
281	1.28939	0.54521	0.8181	1.33296	1.59776
280	1.29722	0.54918	0.82689	1.34608	1.6146
279	1.30387	0.55292	0.83338	1.35869	1.62799
278	1.30863	0.55635	0.83846	1.37125	1.6391
277	1.31188	0.55969	0.84183	1.3837	1.64656
276	1.31398	0.56301	0.84387	1.39538	1.65047
275	1.31647	0.56621	0.84437	1.40791	1.65562
274	1.31788	0.57001	0.84444	1.42158	1.65714
273	1.31822	0.5734	0.84256	1.43434	1.65709
272	1.31688	0.57685	0.8398	1.44806	1.65478
271	1.3159	0.58025	0.83624	1.4601	1.64996
270	1.31349	0.58324	0.83075	1.47101	1.64258
269	1.31053	0.58631	0.82526	1.48238	1.63455
268	1.30724	0.58912	0.81862	1.49296	1.62403
267	1.30535	0.59166	0.81161	1.50184	1.61424
266	1.30258	0.59444	0.80464	1.51341	1.60358
265	1.29967	0.59694	0.79736	1.52226	1.59175

264	1.29782	0.59907	0.78979	1.52936	1.57922
263	1.29544	0.60124	0.78213	1.53785	1.56639
262	1.29377	0.60354	0.77458	1.54467	1.55432
261	1.29371	0.60586	0.76759	1.55221	1.54288
260	1.29368	0.60859	0.76074	1.55885	1.53133

Tabla 7. Anexo 4. Datos de absorbancia por UV/VIS para cuantificar lignina, tercera ronda.

Sustituyendo la absorbancia en la ecuación de la curva de calibración, obtenemos la concentración en ppm.

Los resultados de cada experimento para cada repetición se muestran en la tabla 8.

Repetición Experimento	1		2		3	
	A	PPM	A	PPM	A	PPM
1	1.46623	48.75016949	1.32628	44.0061017	1.31647	43.6735593
2	1.11746	36.92745763	0.76114	24.8488136	0.56621	18.2410169
3	1.17603	38.91288136	1.03266	34.0528814	0.84437	27.6701695
4	0.57387	18.50067797	1.24357	41.2023729	1.40791	46.7732203
5	1.97119	65.86745763	2.37966	79.7138983	1.65562	55.1701695

Tabla 8. Anexo 3. Absorbancia y concentraciones de lignina en ppm de cada experimento.

La concentración en ppm se convierte a mg multiplicando el volumen obtenido de la hidrólisis por la concentración en ppm por 20 ya que la disolución para medir la lignina en UV/VIS se realizó 1:20. Después, de mg pasamos a g dividiendo entre 1000. Por último, el porcentaje de gramos liberados de lignina con respecto a la carga de sólidos se halla mediante una división de los gramos de lignina entre el peso de la carga de sólidos y ese resultado se multiplicó por 100. Los resultados se muestran en las tablas 9, 10 y 11.

Material filtrado	Volumen final (L)	PPM	mg Lignina	g Lignina	% g lignina liberado/material lignocelulósico
1	0.172	48.75016949	167.7005831	0.167700583	1.34160466
2	0.174	36.92745763	128.5075525	0.128507553	1.71343403
3	0.18	38.91288136	140.0863729	0.140086373	1.86781831
4	0.175	18.50067797	64.75237288	0.064752373	0.37001356
5	0.173	65.86745763	227.9014034	0.227901403	1.30229373

Tabla 9. Anexo 4. Lignina liberada en la primera repetición.

Material filtrado	Volumen final (L)	PPM	mg Lignina	g Lignina	% g lignina liberado/material lignocelulósico
1	0.182	44.00610169	160.1822102	0.16018221	1.28145768
2	0.156	24.84881356	77.52829831	0.077528298	1.03371064
3	0.18	34.05288136	122.5903729	0.122590373	1.63453831
4	0.167	41.20237288	137.6159254	0.137615925	0.78637672
5	0.171	79.71389831	272.6215322	0.272621532	1.55783733

Tabla 10. Anexo 4. Lignina liberada en la segunda repetición.

Material filtrado	Volumen final (L)	PPM	mg Lignina	g Lignina	% g lignina liberado/material lignocelulósico
1	0.175	43.6735593	152.8574576	0.152857458	1.222859661
2	0.183	18.2410169	66.76212203	0.066762122	0.890161627
3	0.186	27.6701695	102.9330305	0.102933031	1.372440407
4	0.172	46.7732203	160.899878	0.160899878	0.919427874
5	0.171	55.1701695	188.6819797	0.18868198	1.078182741

Tabla 11. Anexo 4. Lignina liberada en la tercera repetición.

[H+]	% g lignina liberado/material lignocelulósico		% Promedio		Desviación estándar
1.5	1.341604664	1.281457681	1.22285966	1.281974002	± 0.05937419
0.5	1.713434034	1.033710644	0.89016163	1.212435435	± 0.43977412
0.5	1.867818305	1.634538305	1.37244041	1.624932339	± 0.24782861
2.5	0.370013559	0.786376717	0.91942787	0.691939383	± 0.28662315
2.5	1.302293734	1.557837327	1.07818274	1.312771267	± 0.23999888

Tabla 12. Anexo 4. Porcentaje promedio de lignina liberada y desviación estándar de los datos.

Anexo 5. Determinación de cantidad de azúcares reductores.

La curva de calibración con xilosa se realizó a concentraciones de 2 g/L, 1g/L, 0.7 g/L, 0.5 g/L y 0.4 g/L. Los resultados de la espectroscopía UV/VIS se muestran a continuación.

nm	A	A	A	A	A
	0.4	0.5	0.7	1	2

520	0.44548	0.47156	0.5876	0.8425	1.52573
519	0.45846	0.48503	0.60406	0.86636	1.56717
518	0.47244	0.4989	0.6213	0.890599	1.60866
517	0.48593	0.51226	0.63812	0.91452	1.64844
516	0.49989	0.52593	0.65515	0.93888	1.68876
515	0.51343	0.5393	0.6719	0.96272	1.72809
514	0.52824	0.55332	0.68958	0.98777	1.7688
513	0.54198	0.56699	0.70679	1.01167	1.80575
512	0.55656	0.58055	0.72389	1.03528	1.83665
511	0.57104	0.59459	0.74125	1.05997	1.87625
510	0.585979	0.60859	0.75878	1.085	1.91384
509	0.60035	0.62196	0.77645	1.1081	1.94603
508	0.6153	0.636	0.79373	1.13208	1.96981
507	0.62928	0.6494	0.81033	1.15547	1.99568
506	0.64461	0.6627	0.82736	1.17854	2.02133
505	0.65902	0.67544	0.84367	1.20017	2.03369
504	0.67313	0.68826	0.85903	1.2208	2.04055
503	0.68754	0.70018	0.87461	1.23904	2.03418
502	0.701489	0.71162	0.88925	1.25888	2.03887
501	0.71444	0.72222	0.90354	1.275	2.03227
500	0.7279	0.7323	0.91642	1.2884	2.01278

Tabla 13. Anexo 5. Datos de absorbancia por UV/VIS para curva de calibración xilosa primera repetición.

nm	A 0.4	A 0.5	A 0.7	A 1	A 2
520	0.42932	0.45028	0.56868	0.89391	1.61375
519	0.44142	0.46342	0.58441	0.91851	1.65792
518	0.45407	0.47672	0.60122	0.94401	1.6991
517	0.46632	0.48992	0.61725	0.96873	1.74139
516	0.47874	0.5032	0.633719	0.99442	1.78206
515	0.491	0.5162	0.64985	1.01878	1.82301
514	0.50401	0.52987	0.66675	1.04489	1.86341
513	0.5163	0.54338	0.68344	1.06938	1.89657
512	0.528919	0.55666	0.69999	1.09394	1.93283
511	0.54158	0.57	0.71675	1.11981	1.97038
510	0.55484	0.58384	0.73412	1.14623	2.00986
509	0.5669	0.59724	0.75038	1.16921	2.03435
508	0.57989	0.61055	0.76728	1.19349	2.06563
507	0.59196	0.62357	0.78383	1.21725	2.08422
506	0.60516	0.63698	0.80021	1.24015	2.10215
505	0.6168	0.64968	0.81594	1.26211	2.11966

504	0.62864	0.6614	0.83122	1.28312	2.12027
503	0.64003	0.67373	0.84598	1.30234	2.10774
502	0.65158	0.68504	0.86064	1.32134	2.12082
501	0.66134	0.69592	0.87408	1.33523	2.10027
500	0.6716	0.70625	0.8868	1.34787	2.0736

Tabla 14. Anexo 5. Datos de absorbancia por UV/VIS para curva de calibración xilosa segunda repetición.

nm	A 0.4	A 0.5	A 0.7	A 1	A 2
520	0.39933	0.48641	0.58634	0.86027	1.82253
519	0.4107	0.50042	0.60328	0.883719	1.86788
518	0.42237	0.51509	0.62081	0.90809	1.9164
517	0.43356	0.52937	0.63793	0.93224	1.96206
516	0.44527	0.54372	0.65526	0.95683	2.0045
515	0.45645	0.55787	0.67233	0.98071	2.0484
514	0.46874	0.573	0.69054	1.00558	2.09061
513	0.47988	0.58762	0.70818	1.02983	2.12887
512	0.49146	0.60227	0.72553	1.05358	2.15701
511	0.50315	0.61697	0.7439	1.07795	2.18519
510	0.51501	0.63271	0.76192	1.10357	2.22801
509	0.52584	0.64714	0.77957	1.12585	2.24718
508	0.53767	0.66239	0.79777	1.14953	2.2732
507	0.54875	0.67688	0.8156	1.17411	2.27965
506	0.56016	0.69218	0.83291	1.19596	2.29196
505	0.57041	0.7065	0.85026	1.21791	2.29137
504	0.58137	0.7203	0.86656	1.23729	2.26131
503	0.59113	0.733739	0.88287	1.25773	2.24727
502	0.60075	0.74775	0.899259	1.27568	2.23809
501	0.60921	0.75999	0.9129	1.29151	2.21696
500	0.617839	0.7724	0.92784	1.30576	2.17503

Tabla 15. Anexo 5. Datos de absorbancia por UV/VIS del método DNS para curva de calibración xilosa tercera repetición.

Se tomo en cuenta el promedio de los datos para los resultados finales de la curva de calibración.

nm	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5
520	0.58696	0.31009	0.41029	0.27189	0.830539

519	0.60089	0.31724	0.4201	0.27578	0.85041
518	0.61505	0.32463	0.43026	0.27978	0.87067
517	0.62907	0.33179	0.4403	0.2836	0.89072
516	0.64349	0.33945	0.45059	0.28747	0.91122
515	0.65743	0.34676	0.46036	0.29121	0.93098
514	0.67187	0.35466	0.47078	0.29451	0.95194
513	0.68638	0.36231	0.48097	0.29779	0.97221
512	0.70038	0.37021	0.49134	0.3008	0.99242
511	0.71513	0.37806	0.50156	0.30377	1.01299
510	0.72973	0.38651	0.51218	0.30666	1.03448
509	0.74422	0.39459	0.5224	0.30878	1.05409
508	0.75874	0.40312	0.53284	0.31102	1.07511
507	0.77307	0.41173	0.54326	0.31264	1.09467
506	0.78696	0.42022	0.55365	0.31403	1.11463
505	0.80055	0.42866	0.56306	0.31482	1.13403
504	0.81314	0.43751	0.57323	0.315	1.15008
503	0.82608	0.44607	0.58222	0.31536	1.16991
502	0.83875	0.45474	0.59193	0.31475	1.18666
501	0.85088	0.46302	0.60074	0.31331	1.20186
500	0.8616	0.47143	0.60916	0.31134	1.21475

Tabla 16. Anexo 5. Datos de absorbancia por UV/VIS del método DNS en hidrolizados primera repetición.

nm	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5
520	0.94016	0.36235	0.67206	0.41464	1.13374
519	0.96445	0.37092	0.68899	0.42302	1.16189
518	0.98921	0.37951	0.70618	0.43198	1.19068
517	1.01402	0.38802	0.72341	0.4403	1.21871
516	1.03848	0.3967	0.74067	0.44925	1.24755
515	1.06321	0.40494	0.757719	0.45767	1.2758
514	1.08842	0.41351	0.77534	0.46621	1.30403
513	1.11332	0.42207	0.79278	0.4742	1.33336
512	1.13738	0.4305	0.80958	0.48225	1.36085
511	1.16351	0.43911	0.82719	0.49026	1.3886
510	1.18852	0.44734	0.8449	0.49829	1.41836
509	1.21369	0.45593	0.86183	0.50544	1.44699
508	1.23807	0.46393	0.87929	0.51312	1.4731
507	1.26217	0.47205	0.89597	0.51976	1.50062
506	1.28711	0.4799	0.91269	0.526479	1.52473
505	1.31008	0.48733	0.92849	0.53248	1.54849
504	1.32917	0.49442	0.94387	0.53765	1.5685

503	1.34939	0.50115	0.95814	0.54309	1.58744
502	1.37143	0.50769	0.9736	0.54738	1.60882
501	1.39003	0.51354	0.98656	0.55038	1.62504
500	1.40491	0.51889	0.998279	0.55349	1.63382

Tabla 17. Anexo 5. Datos de absorbancia por UV/VIS del método DNS en hidrolizados segunda repetición.

nm	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5
520	0.93791	0.33375	0.45715	0.36891	0.84893
519	0.96097	0.34054	0.46803	0.37566	0.86803
518	0.98499	0.34757	0.4795	0.38234	0.88787
517	1.00865	0.35427	0.49047	0.38903	0.9068
516	1.03272	0.36113	0.50186	0.39577	0.9263
515	1.05594	0.36769	0.51281	0.40218	0.9456
514	1.08052	0.37453	0.52418	0.40852	0.96496
513	1.1037	0.38128	0.5355	0.41464	0.98439
512	1.1273	0.38764	0.5463	0.42056	1.00379
511	1.15189	0.39393	0.5574	0.42682	1.02304
510	1.17641	0.40066	0.56842	0.4323	1.04278
509	1.19959	0.40662	0.5796	0.43755	1.0616
508	1.2233	0.41288	0.59079	0.44293	1.08028
507	1.24653	0.41898	0.60118	0.44747	1.0988
506	1.26864	0.42448	0.6118	0.45208	1.11735
505	1.29075	0.42986	0.62146	0.45598	1.13342
504	1.31157	0.43463	0.63119	0.45932	1.14865
503	1.32919	0.43933	0.6405	0.46217	1.16702
502	1.34983	0.44352	0.64882	0.46477	1.1818
501	1.36519	0.44719	0.65656	0.46595	1.19402
500	1.37904	0.45014	0.66386	0.46721	1.20476

Tabla 17. Anexo 5. Datos de absorbancia por UV/VIS del método DNS en hidrolizados tercera repetición.

Los datos de absorbancia finales se tomaron del promedio de las absorbancias de cada experimento en cada repetición.

Bibliografía de anexos.

1. Fernández, S. B (2020). Diseño de experimentos: Diseño factorial. Tesis de Máster. Universidad Politécnica de Catalunya. https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/339723/TFM_Fernandez_Bao_Sheila.pdf