



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®



Instituto Tecnológico de Toluca

**“OBTENCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES A PARTIR DE RESIDUOS
AGRÍCOLAS DEL ESTADO DE MÉXICO”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**PRESENTA:
M. EN C. DANIELA GUTIÉRREZ LÓPEZ
No. CONTROL:
1928D1240**

**DIRECTORA:
DRA. MARÍA DEL CARMEN CARREÑO DE LEÓN**

**CO-DIRECTOR:
DR. MARCOS JOSÉ SOLACHE RÍOS**

METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, JUNIO DE 2023



Metepec, Edo. de México, 05/junio/2023

**DR. JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE**

Por este medio comunicamos a usted que la comisión Revisora designada para analizar la tesis denominada "OBTENCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES A PARTIR DE RESIDUOS AGRÍCOLAS DEL ESTADO DE MÉXICO", que como parte de los requisitos para obtener el grado académico de Doctor en Ciencias Ambientales presenta la C. DANIELA GUTIERREZ LOPEZ con número de control 1928D1240 para sustentar el acto de Recepción Profesional, ha dictaminado que dicho trabajo reúne las características de contenido y calidad para proceder a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica®
"Educación, integridad y ciencia"*

Dra. María del Carmen Carreño de León
DIRECTOR DE TESIS

Dr. Marcos José Solache Ríos
CODIRECTOR DE TESIS

Dr. Isaías de la Rosa Gómez
REVISOR DE TESIS

Dra. María Guadalupe Macedo Miranda
REVISOR DE TESIS

Dr. Francisco Javier Illescas Martínez
REVISOR DE TESIS

Dr. Fredy Cuellar Robles
REVISOR DE TESIS

JLGR/RCR



Metepec, Edo. de México, 05/junio/2023
DEPI-3200-DCAM-77/2023

**DANIELA GUTIERREZ LOPEZ
CANDIDATO AL GRADO DE DOCTOR EN
CIENCIAS AMBIENTALES
PRESENTE**

De acuerdo con los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México y las disposiciones en este Instituto, habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su Trabajo de Tesis titulado **"OBTENCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES A PARTIR DE RESIDUOS AGRÍCOLAS DEL ESTADO DE MÉXICO"**, la División de Estudios de Posgrado e Investigación de este Instituto, concede la Autorización para que proceda a la impresión del mismo.

Sin más por el momento, quedo de usted.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica
"Educación, integridad y ciencia"

**JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN**



ccp. Archivo
JLGR/RCR



Av. Tecnológico S/N, Col. Agrícola Bellavista, Metepec, Edo. de México, C.P.52149. Tels. Dirección:
722 208 72 05, Subd. Académica: 722 208 7207, Subd. de Planeación: 208 7206, Subd. Administrativa:
722 208 7208, Conmut.: 722 208 72 00, e-mail: info@toluca.tecnm.mx. tecnm.mx | toluca.tecnm.mx



2023
Año del
**Francisco
VILLA**

El presente trabajo se llevó a cabo en el **Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Toluca**, en el Laboratorio de Investigación en Ingeniería Ambiental del Instituto Tecnológico de Toluca bajo la asesoría de la Dra. María del Carmen Carreño de León, responsable del laboratorio de biosorción donde se llevó a cabo la parte experimental de esa investigación.

La investigación también se realizó bajo la Codirección del Dr. Marcos José Solache Ríos del Departamento de Química de la Gerencia de Ciencias Básicas del **Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares**.

AGRADECIMIENTOS

A mis **asesores, Dra. Carmen y Dr. Marcos** por todo el apoyo brindado en la realización del presente trabajo, por su paciencia, por compartir sus conocimientos, por siempre creer en mí. Gracias.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT** por la beca otorgada para la realización de los estudios de posgrado.

Al **Instituto Tecnológico de Toluca** y al **Laboratorio de Ingeniería Ambiental** de la misma institución por las instalaciones brindadas para desarrollar presente trabajo de investigación.

A los **revisores de Tesis** Dr. Isaías, Dra. Lupita, Dr. Javier y Dr. Fredy por sus valiosas observaciones y sugerencias que enriquecieron el contenido y sirvieron de soporte en esta investigación.

A **mis padres** por su invaluable apoyo, amor, tiempo y dedicación.

Por impulsarme a seguir adelante día tras día y siempre motivarme a ser mejor persona e hija. Gracias por nunca soltarme la mano.

A ti mi amor **NFA**, sin duda fuiste un pilar importante, gracias por tu motivación, por siempre impulsarme a crecer profesionalmente, por compartir tu vida conmigo, además de compartir tu experiencia y conocimientos. Gracias infinitas por tu paciencia.

RESUMEN

A medida que la población mundial aumenta, el consumismo produce un problema ambiental respecto a la generación de residuos orgánicos de todo tipo, no solamente en la inadecuada gestión, disposición y tratamiento final, sino también en la salud humana y daños a los ecosistemas.

La emisión a la atmósfera de gases de efecto invernadero derivados del consumo excesivo de combustibles fósiles, ha hecho necesaria la búsqueda de fuentes energéticas ambientalmente amigables y eficientes para ello en este proyecto se utilizaron residuos agrícolas como el tallo de rosa (TR), la coronilla de piña (CP) y el olote de maíz (OM), capaces de producir azúcares reductores; sin embargo, debido a su compleja estructura requiere tratamientos previos como la hidrólisis ácida.

En el presente trabajo tres de los residuos agrícolas más importantes en el Estado de México (OM, CP y TR) fueron estudiados para evaluar su capacidad para producir azúcares reductores por hidrólisis ácida con H_2SO_4 y H_3PO_4 , debido a que estos materiales han demostrado un alto potencial como materia prima en la obtención de biocombustibles, también se estudió la caracterización de los residuos antes y después de la hidrólisis ácida.

Cada material fue probado con los dos ácidos antes mencionados a tres concentraciones diferentes de ácido (1, 1.5 y 2 M) y tres temperaturas (105, 120 y 150 °C); todas las pruebas se realizaron con un tiempo de reacción de 300 min, el rendimiento de azúcares se incrementó al aumentar tanto la temperatura, como la concentración del ácido, alcanzando los rendimientos más altos con H_2SO_4 ; sin embargo, la producción de furfural fue menor con H_3PO_4 . El material que presentó un mayor potencial para la obtención de azúcares reductores fue la CP. Por otra parte, se observó una disminución en la producción de azúcares al aumentar la temperatura a 150 °C para el H_3PO_4 , esto posiblemente se debió a la degradación de azúcares.

ABSTRACT

As the world population increases, consumerism produces an environmental problem regarding the generation of organic waste from different sources, inadequate management, disposal, and final treatment, and human health and damage to ecosystems.

The emission of greenhouse gases derived from the excessive consumption of fossil fuels has made it necessary to search for environmentally friendly and efficient energy sources. For this purpose, in the present work agricultural residues such as rose stem (TR), the crown of pineapple (CP), and corn cob (OM), can produce reducing sugars; however, due to their complex structure, they require previous treatments such as acid hydrolysis.

In the present work, three agricultural residues in the State of Mexico (OM, CP, and TR) were studied to evaluate their ability to produce reducing sugars by acid hydrolysis using a diluted solution of H_2SO_4 and H_3PO_4 , since these materials have shown high potential to obtain biofuels, the characterization of residues before and after acid hydrolysis was also presented.

Each material was tested with the two acids at three different concentrations (1, 1.5, and 2 M) and temperatures (105, 120, and 150 °C); all the tests were carried out at a reaction time of 300 min, and the yield of sugars increased with increasing both the temperature and the concentration of the acid, reaching the highest yields with H_2SO_4 ; however, furfural production was lower with H_3PO_4 . The material showed potential for obtaining reducing sugars from CP. A decrease in the production of sugars was observed when the temperature increased to 150 °C for H_3PO_4 , this is possibly due to the degradation of the sugars produced.

Contenido

INTRODUCCIÓN	1
1. FUNDAMENTOS	3
1.1 Residuos sólidos urbanos.....	3
1.2 Residuos agrícolas	3
1.2.1 Impacto ambiental	3
1.2.2 Maíz	4
1.2.3 Piña.....	4
1.2.4 Rosa.....	5
1.3 Biomasa lignocelulósica	5
1.3.1 Celulosa	6
1.3.2 Hemicelulosa.....	7
1.3.3 Lignina	7
1.4 Pretratamientos de biomasa lignocelulósica	9
1.4.1 Biológicos.....	10
1.4.2 Físicos.....	10
1.4.3 Químicos	11
1.4.4 Tratamientos fisicoquímicos	11
1.5 Hidrólisis.....	12
1.5.1 Azúcares reductores.....	15
1.5.2 Inhibidores.....	15
1.6 Mecanismo de reacción de la hidrólisis ácida	16
2. MÉTODO	19
2.1 Obtención del sustrato.....	19
2.2 Caracterización del sustrato	20
2.2.1 Determinación de holocelulosa.....	20
2.2.2 Determinación de lignina	20
2.2.3 Análisis por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)	20
2.2.4 Análisis por microscopia electrónica de barrido (SEM)	21
2.3 Extracción de azúcares reductores; cinética de reacción	21
2.3.1 Análisis cinético y termodinámico	21

2.5 Caracterización del sustrato después de la hidrólisis	24
3. RESULTADOS	25
3.1 Caracterización del sustrato sin hidrolizar	25
3.1.1 Determinación de humedad, holocelulosa y lignina	25
3.1.2 Análisis por microscopia electrónica de barrido (SEM)	26
3.1.3 Análisis por FTIR.....	28
3.2 Producción de azúcares reductores por hidrólisis ácida	31
3.2.1 Parámetros cinéticos y termodinámicos de la hidrólisis ácida.....	37
3.3 Análisis de varianza factorial de la hidrólisis ácida	43
CONCLUSIONES	47
5. REFERENCIAS.....	49

INTRODUCCIÓN

El Estado de México tiene gran diversidad climática, lo que propicia, una gran diversidad de cultivos tanto para alimento como para uso ornamental, todos estos productos al término de su vida útil generan residuos como cáscaras, tallos, hojas y pétalos que no son dispuestos adecuadamente propiciando la erosión del suelo y la emisión de gases contaminantes a la atmósfera debido a su descomposición natural. Aunado a lo anterior, dichos residuos generan plagas que afectan la salud del hombre. Los residuos agrícolas pueden ser considerados como residuos lignocelulósicos debido a su alto contenido de holocelulosa y lignina. La holocelulosa está compuesta por celulosa y hemicelulosa, los cuales son respectivamente homo y heteropolisacáridos con alto potencial biotecnológico ya que pueden utilizarse para la producción de una amplia gama de compuestos de interés tales como fármacos, textiles, combustibles, plásticos y bioelectricidad (Behera *et al.*, 2014). Con la finalidad de incrementar la fermentabilidad de la holocelulosa presente en los residuos lignocelulósicos es necesario someterlos a un proceso de hidrólisis, la idea principal de dicho tratamiento es despolimerizar a la celulosa y hemicelulosa, disminuir la cristalinidad de los materiales, incrementar el área superficial y remover parcial o totalmente a la lignina, la cual actúa como una barrera física que inhibe la actividad metabólica de los microorganismos. Los tratamientos de la biomasa lignocelulósica se clasifican en físicos, biológicos y químicos, siendo estos últimos los más estudiados debido a su alta eficiencia y rápida formación de azúcares. La hidrólisis ácida ha sido uno de los tratamientos químicos más empleados debido a que puede utilizarse como un método de pretratamiento que antecede a la hidrólisis enzimática o como un medio para producir azúcares monoméricos a partir de una hidrólisis directa, este método químico resulta eficiente para la despolimerización de la fracción holocelulósica (Solarte-Toro *et al.*, 2019).

En algunos trabajos se ha reportado el potencial de los ácidos para pretratar la biomasa lignocelulósica e incrementar el rendimiento de la hidrólisis enzimática; sin embargo, estudios enfocados a la producción de azúcares monoméricos a partir de la hidrólisis

ácida directa de la biomasa lignocelulósica, así como el cálculo de los parámetros cinéticos y termodinámicos de dicha reacción aún son muy escasos.

Por ello, el objetivo general del presente trabajo fue extraer azúcares reductores por hidrólisis ácida de residuos agrícolas que pueden ser útiles en la producción de biocombustibles y los objetivos específicos fueron: obtener el “sustrato” a partir de los residuos agrícolas así como la extracción de intermediarios orgánicos con disolventes; caracterizar el sustrato mediante las técnicas por FTIR y SEM; determinar los contenidos de celulosa hemicelulosa y lignina; determinar el efecto del tipo y concentración de ácido para establecer el rendimiento de azúcares reductores mediante hidrólisis ácida de los residuos; determinar el efecto de la hidrólisis ácida en los residuos, mediante la caracterización de los residuos agroindustriales por las técnicas FTIR y SEM, para conocer los cambios estructurales y morfológicos en el material y determinar las cinéticas de la hidrólisis ácida y ajustar los datos experimentales a través del modelo cinético de Saeman.

El presente trabajo está compuesto por tres secciones, la primera presenta los fundamentos relacionados con los azúcares reductores a partir de biomasa lignocelulósica y el estudio químico y cinético de la hidrólisis ácida. La segunda sección describe la metodología empleada durante la hidrólisis ácida de los residuos agrícolas, así como las técnicas y métodos analíticos utilizados. Finalmente, en la tercera sección se muestran y discuten los resultados obtenidos.

1. FUNDAMENTOS

1.1 Residuos sólidos urbanos

Se usa el término residuo sólido urbano (RSU) para referirse a aquellos que se producen específicamente dentro de los núcleos urbanos y sus zonas de influencia. Estos residuos suelen ser producidos en los domicilios particulares (casas, apartamentos, etc.), las oficinas o las tiendas.

De acuerdo con la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR), estos se clasifican en: residuos peligrosos (RP), residuos sólidos urbanos (RSU) y de manejo especial (ME), los RSU a su vez comprenden a los derivados de los materiales de construcción, agrícolas, pesqueros, forestales, silvícolas, avícolas y residuos de centros comerciales (LGPGIR, 2015).

1.2 Residuos agrícolas

Es aquella fracción de un cultivo que no cumple con los requisitos de calidad mínima para ser comercializada como tal. Estos residuos se obtienen de los restos de la cosecha o de limpiezas que se hacen del campo para evitar las plagas. La agricultura genera cantidades considerables de desechos (rastros), y aunque es necesario reciclar un porcentaje de la biomasa para proteger el suelo de la erosión y mantener el nivel de nutrientes orgánicos, una cantidad importante es desechada en basureros y tiraderos a cielo abierto causando así grandes problemas ambientales (Casco & Herrero, 2008).

1.2.1 Impacto ambiental

La generación de residuos agrícolas, frutícolas y florícolas (desechos agroindustriales) se ha incrementado de manera proporcional al crecimiento poblacional, ya que la demanda alimenticia y de ornamenta propicia una mayor cantidad de hectáreas cultivadas. Se considera que la agricultura y la industria de procesamiento de alimentos son los principales contribuyentes a la producción anual total de desechos sólidos.

El problema de los residuos agrícolas radica en su mala disposición, el vertido incontrolado de los desechos, así como la eliminación mediante la quema, generándose problemas como:

- Contaminación atmosférica: para disminuir la cantidad de residuos generados, los agricultores optan por la eliminación mediante la quema, provocando gases de efecto invernadero.
- Deterioro del paisaje: gran parte de los residuos sólidos se vierten en tiraderos a cielo abierto para descomponerse, ofreciendo un hogar para las ratas y otros organismos portadores de enfermedades. Además, pueden producirse lixiviados que se filtran en el agua subterránea contaminándola.
- Riesgos para la salud: los desechos arrojados al aire libre atraen moscas, ratas, entre otras plagas que actúan como vectores de las enfermedades y las propagan entre los seres humanos.

1.2.2 Maíz

En México, el maíz es el cultivo más importante desde el punto de vista alimentario; de igual manera, es el más significativo por la superficie sembrada y el volumen de producción, se estima que por cada kilogramo de grano producido se obtiene 1 kg de residuo (Muro *et al.*, 2013). La producción de maíz neta anual es de más de 27 millones de toneladas en el año 2022 (INEGI 2023, datos preliminares al 25/05/2023). El Estado de México tuvo una producción de más de 1.7 millones de toneladas en el 2021 (SIAP, 2021, datos preliminares). Los residuos provenientes del cultivo de maíz constan de hojas, olote y tallos, los cuales están compuestos en su mayoría por lignocelulosa (Cao *et al.*, 2018).

1.2.3 Piña

Con una producción promedio en la última década de 741 mil toneladas, México se afianza en el “*Top Ten*” de máximos productores de piña a nivel mundial. Los principales estados productores de piña en México son Veracruz, con una participación del 64.9%

del volumen nacional; Oaxaca, 12.8%; Tabasco, 6.2%; Quintana Roo, 4.6%, y Jalisco, 2.8%. En el Estado de México el 100% de su producción se encuentra en el municipio de Amatepec con un reporte de 142 toneladas en el 2019 (SIAP, 2019). La porción de hoja que permanece en el campo después de la cosecha de fruta es de aproximadamente 30% de su producción total, una parte de la cual se usa generalmente en la fabricación de fibras de cuerda y las industrias de papel (Banerjee *et al.*, 2017); los residuos después de su consumo son la cáscara y la coronilla.

1.2.4 Rosa

En el Estado de México, la producción de flores de rosa de invernadero alcanzó los 11 millones de gruesas (1 gruesa contiene 12 docenas de rosas) en 2021, esto genera alrededor del 37% de residuos (SIAP, 2021 datos preliminares). Los residuos se originan durante la clasificación, selección y envasado de las flores, se componen o abandonan en las zonas de producción donde se suelen mezclar con envases de plástico y residuos de invernadero (Ventura-Cruz & Tecante, 2019).

1.3 Biomasa lignocelulósica

La biomasa se define como el conjunto de materia orgánica renovable de origen vegetal, animal o procedente de la transformación natural o artificial de la misma (Mateos, 2006). Esta se puede clasificar, atendiendo a su origen en biomasa vegetal, animal y residual. La vegetal incluye la biomasa lignocelulósica y a los productos de la agricultura conteniendo azúcares, almidones y proteínas, como granos, frutos y otros (Abril & Navarro, 2012).

La biomasa lignocelulósica está constituida fundamentalmente por celulosa, hemicelulosa, lignina (75%) y extractivos (mezcla de diferentes compuestos orgánicos) y algunos componentes inorgánicos, que se transforman en cenizas después de la combustión del material. Se excluyen en este caso la biomasa constituida principalmente por almidón, proteínas y azúcares, como son los casos de los granos, cereales, mieles y otros (Agbor *et al.*, 2011; Abril & Navarro, 2012). La biomasa de origen lignocelulósico es

el material orgánico más abundante en la tierra y tienen la ventaja de ser biodegradables y renovables. Bajo este enfoque, su empleo como combustibles representa una forma sostenible y amigable con el medio ambiente (Yi *et al.*, 2014).

Las principales fuentes de la biomasa son los bosques, cultivos agrícolas, residuos de cosechas y otros residuos industriales como los de la industria de la madera, los de la industria del papel y el papel reciclado. Las primeras aplicaciones de la biomasa de origen lignocelulósico fueron como combustible y como alimento animal.

1.3.1 Celulosa

La celulosa, que es el biopolímero formado por D-glucosa, es el material orgánico más abundante sobre la corteza terrestre; además, es el principal componente estructural de la pared celular de las plantas, la cual otorga resistencia mecánica y estabilidad química. Las moléculas largas de celulosa llamadas microfibrillas, forman haces por los puentes de hidrógeno que se crean entre los numerosos grupos –OH de los anillos de glucosa (Roy & Kumar, 2013). Las moléculas están unidas por enlaces glicosídicos β -1,4, disposición bastante rígida y muy estable. En la Figura 1.1, se muestra una estructura parcial de la celulosa. La longitud del polímero es altamente variable y dependiente de la fuente de la cual la celulosa haya sido obtenida, así como de la edad y estado metabólico al momento de la extracción (Singh *et al.*, 2014).

Las moléculas de celulosa tienen diferentes orientaciones a lo largo de su estructura, esto le confiere una región amorfa y una cristalina, siendo la cristalina difícilmente biodegradable (Yi *et al.*, 2014). Algunos microorganismos son capaces de producir celulasas, enzimas que permiten utilizar de manera directa la celulosa presente en las plantas, sin embargo, los métodos de pretratamiento de celulosa son necesarios en aplicaciones industriales, con el fin de hacer sustentable, eficiente y económicamente viable el proceso.

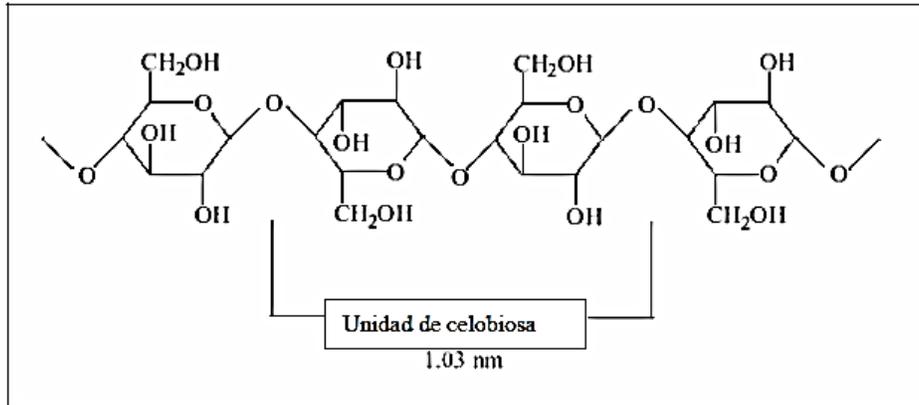


Figura 1.1 Cadena de celulosa (Singh *et al.*, 2014).

1.3.2 Hemicelulosa

Es el segundo polímero más abundante (20-50%) de la biomasa lignocelulósica, es heterogénea y está compuesta por pentosas, hexosas y azúcares acetilados (Agbor *et al.*, 2011). El peso molecular de la hemicelulosa, el grado de cristalinidad y la resistencia mecánica son mucho menores que los de la celulosa. La hemicelulosa es un polímero ramificado y su composición en términos de monosacáridos difiere mucho de especie a especie (Kalia *et al.*, 2011). La hemicelulosa presente en residuos agrícolas está constituida principalmente por xilosa, mientras que los residuos forestales presentan en su mayoría manosa (Agbor *et al.*, 2011).

1.3.3 Lignina

La lignina es un polímero hidrocarbonado complejo que posee constituyentes aromáticos y alifáticos, su principal monómero es el fenil propano unido de diferentes formas. Este polímero es amorfo, hidrofóbico, termoplástico, no hidrolizable por ácidos y presenta propiedades mecánicas inferiores a la celulosa (Kalia *et al.*, 2011). La lignina puede separarse de la biomasa lignocelulósica aumentando el contacto entre microorganismos y holocelulosa; sin embargo, no puede ser degradada fácilmente por medios biológicos, razón por la cual la delignificación es considerada una fase primordial en el proceso de

digestión anaerobia de materia lignocelulósica (Taherzadeh & Karimi, 2008). La Figura 1.2 muestra la distribución del material lignocelulósico en las plantas.

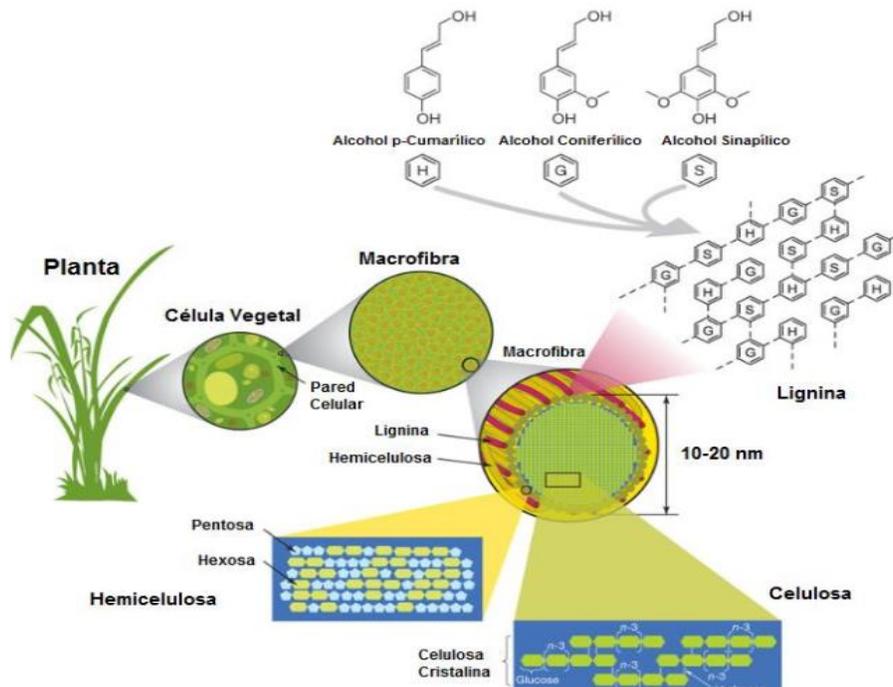


Figura 1.2 Distribución de holocelulosa y lignina en las plantas (Karimi, 2008).

En la Tabla 1.1 se muestran las fracciones de celulosa, hemicelulosa y lignina presentes en los residuos agrícolas de interés en este trabajo.

Tabla 1.1 Fracciones de celulosa, hemicelulosa y lignina presentes en residuos agrícolas de interés reportados por otros autores.

Residuo	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)	Referencia
OM	45.00	35.00	15.00	Saratale <i>et al.</i> , 2019
CP	41.15	21.02	35.20	Rintu <i>et al.</i> , 2017
TR	46.96	24.12	16.36	Ventura-Cruz & Tecante, 2019

1.4 Pretratamientos de biomasa lignocelulósica

El pretratamiento tiene como objetivo preparar la materia prima para alcanzar el máximo rendimiento en la etapa de producción y eliminar cualquier sustancia que pueda interferir en el proceso (inhibidores). Las características principales que debe cumplir este pretratamiento son las siguientes (Roy & Kumar, 2013; Barroso 2010):

- Aumentar el área superficial del material.
- Disminuir la presencia de sustancias que dificulten las etapas de hidrólisis y de fermentación.
- Reducir el grado de cristalización de la celulosa y dissociar el complejo lignina celulosa evitando, en la medida de lo posible, la degradación de los carbohidratos.
- Tener bajos costos de operación y de requerimientos energéticos.

Por su naturaleza, los pretratamientos se pueden dividir en cuatro grupos: físicos, fisicoquímicos, químicos y biológicos (Sun & Cheng, 2004; Oliva, 2003). La Figura 1.3 muestra el efecto del pretratamiento sobre la materia orgánica. La selección del pretratamiento afecta el costo y el rendimiento de la hidrólisis subsecuente y de la fermentación (Saratale *et al.*, 2019).

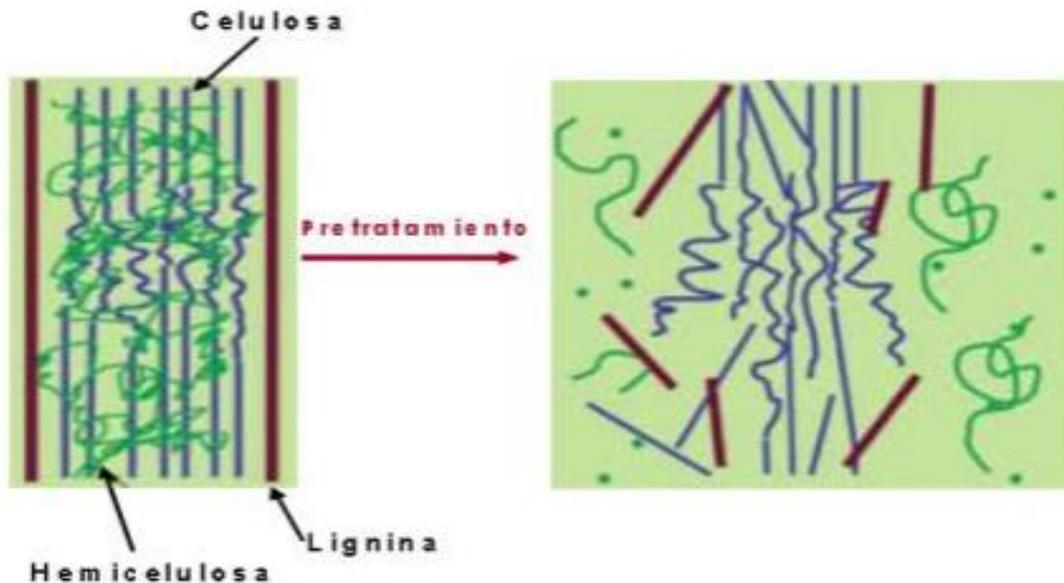


Figura 1.3 Efecto del pretratamiento sobre la materia orgánica (Oliva, 2003).

1.4.1 Biológicos

Existen hongos capaces de degradar la lignina y la celulosa para obtener sus constituyentes individuales, ejemplo de ellos: *Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete sordida*, *Pycnoporus cinnabarinus*, etc., que logran degradar el residuo lignocelulósico en pocas semanas. Este tratamiento presenta la ventaja de que requiere muy poco consumo de energía, es limpio con el medio ambiente, conserva azúcares debido a la nula cantidad de inhibidores producidos, por otro lado, tiene el inconveniente de actuar a una velocidad muy baja y además de un control estricto de las condiciones de crecimiento de los microorganismos, razones por las cuales no es considerado como un pretratamiento sustentable (Yi *et al.*, 2014, Romero *et al.*, 2003, Taherzadeh & Karimi, 2008).

1.4.2 Físicos

Lo que se busca en un pretratamiento físico es preparar la materia para facilitar los procesos posteriores. En una primera etapa se elimina la mayor cantidad posible de agua, normalmente con aire caliente, aunque hay otros métodos, como la liofilización, pero son más costosos (Oliva, 2003). Normalmente el segundo paso es la trituración mecánica, mediante el cual se produce la reducción de tamaño del residuo, a la vez que se incrementa la superficie de ataque hidrolítico. Mediante este proceso se consigue incrementar la digestibilidad de la biomasa, pero conlleva un consumo de energía que es mayor cuanto más pequeño se requiera el tamaño final del material (Romero *et al.*, 2003; Rodriguez *et al.*, 2015).

Existen otros pretratamientos como son la radiación de alta energía, el ultrasonido y las microondas, no obstante, el mayor inconveniente de estos es la dificultad de su aplicación técnica debido a la baja densidad de los materiales y las altas dosis que se necesitan, lo que obliga al diseño de instalaciones complejas y con un costo elevado, además de que el efecto sobre la biomasa es muy superficial (Thakur *et al.*, 2013; Waleed *et al.*, 2013).

1.4.3 Químicos

Los métodos químicos se refieren al uso de sustancias tales como ácidos, bases, líquidos iónicos (ejemplo: sales de azufre, sodio), entre otros, que alteran las características físicas y químicas de la biomasa (Yi *et al.*, 2014). Entre ellos se encuentran: ácidos, alcalinos, líquidos iónicos, disolventes orgánicos, ozonólisis, oxidación húmeda y ataque con peróxido. Este pretratamiento se ha convertido en el método más prometedor para mejorar la biodegradabilidad de la celulosa, remover lignina, disminuir el índice de cristalinidad y reducir el grado de polimerización de la biomasa lignocelulósica; sin embargo, investigaciones recientes muestran que los tratamientos ácidos o alcalinos combinados con tratamientos físicos mejoran drásticamente la eficiencia de la hidrólisis y reducen la producción de residuos químicos (Cheng *et al.*, 2011; Behera *et al.*, 2014).

1.4.4 Tratamientos fisicoquímicos

Los pretratamientos que combinan los procesos físicos y químicos para alterar la estructura de la lignocelulosa y aumentar la accesibilidad microbiana de la celulosa se denominan pretratamientos fisicoquímicos. Esta categoría incluye los métodos de exposición con vapor, agua caliente en fase líquida, líquidos calientes catalizados, oxidación húmeda catalizada, exposición de amonio (Agbor *et al.*, 2011; Waleed *et al.*, 2013).

Las ventajas son que se requiere un mayor tamaño de partícula, lo que reduce los costos de la molienda, y que no necesita catalizadores ácidos, lo que reduce los efectos medioambientales. Entre sus limitaciones está la destrucción de parte de los xilanos de las hemicelulosas, la incompleta rotura de la matriz lignina-carbohidrato y la generación de compuestos que pueden resultar tóxicos para los microorganismos de la etapa de fermentación. Para evitarlo, el material debe ser lavado con agua para eliminar las sustancias inhibitoras (Rodríguez *et al.*, 2015).

1.5 Hidrólisis

Es el proceso mediante el cual las cadenas de polisacáridos que forman la biomasa se transforman en sus monómeros elementales mediante el uso de soluciones ácidas o alcalinas, también mediante el empleo de enzimas.

Hidrólisis alcalina

Es la adición de bases diluidas a la biomasa y su eficiencia depende del contenido de lignina de los materiales, siendo más eficiente en la biomasa lignocelulósica con bajo contenido de lignina como en los residuos agrícolas y agroindustriales (Singh *et al.*, 2014). Las principales ventajas de este tratamiento son su alta eficiencia para solubilizar la lignina, la baja corrosión y toxicidad de los reactivos utilizados, y la aplicación de esta tecnología en condiciones ambientales (Kim *et al.*, 2016). El mecanismo de la hidrólisis alcalina de la biomasa parece estar basada en la saponificación de los enlaces ésteres intramoleculares que unen los xilanos de la hemicelulosa y otros componentes (Singh *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2016).

Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática es un proceso catalizado por un grupo de enzimas denominadas genéricamente celulasas, que son en realidad, una mezcla de distintas actividades enzimáticas cuya acción conjunta produce la degradación de la celulosa. Las plantas superiores, algunos invertebrados y principalmente microorganismos (hongos y bacterias) son productores de este tipo de enzimas. Las celulasas de origen fúngico, principalmente de los géneros *Trichoderma*, *Phanerochaete* y *Fusarium*, han sido las más estudiadas por la capacidad de estos microorganismos de producirlas en grandes cantidades y de forma extracelular, facilitando su separación en los medios de cultivo (Oliva, 2003; Thakur *et al.*, 2013).

Si se añaden celulasas al material lignocelulósico la hidrólisis de la celulosa es demasiado lenta, debido a la asociación de esta con la lignina que constituye una barrera física a la penetración de los enzimas. Otros factores como la porosidad (área superficial accesible), la cristalinidad de la celulosa, el grado de polimerización y el contenido en lignina y

hemicelulosa dificultan la accesibilidad de las celulasas reduciendo la eficiencia de la hidrólisis. Todos estos factores hacen necesaria una etapa de pretratamiento, previa a la hidrólisis de la celulosa, que altere la estructura del material lignocelulósico facilitando la acción de las enzimas (Thakur *et al.*, 2013; Waleed *et al.*, 2013).

Hidrólisis ácida

La hidrólisis ácida consiste en un proceso químico que, mediante el empleo de catalizadores ácidos, transforma las cadenas de polisacáridos que forman la biomasa (hemicelulosa y celulosa) en sus monómeros elementales. La hidrólisis ácida de los materiales lignocelulósicos es un proceso conocido desde 1819 (Larsson *et al.*, 2000). Este tipo de hidrólisis puede realizarse empleando diferentes clases de ácidos como el sulfuroso, clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico y fórmico (Galbe & Zacchi, 2002). Sin embargo, sólo los ácidos clorhídrico y sulfúrico han sido empleados a escala industrial.

Los procesos de hidrólisis ácida pueden agruparse en dos tipos: los que emplean ácidos concentrados y los que utilizan ácidos diluidos. Los procesos que implican ácidos concentrados operan a baja temperatura, pudiendo obtenerse altos rendimientos de hidrólisis (superiores al 90% de la glucosa potencial), entre sus ventajas están mayor índice de despolimerización de carbohidratos y la mínima formación de inhibidores, a pesar de esto, la gran cantidad de ácido empleado en la impregnación del material a tratar y lo costoso de su recuperación, unido a los efectos corrosivos de los ácidos concentrados que obliga a altas inversiones en los equipamientos, hacen que el proceso no sea rentable. Además, tiene el problema asociado de que es necesario una costosa etapa de neutralización antes de la fermentación (Keller, 1996; Cao *et al.*, 2018; Yi *et al.*, 2014).

Los procesos que emplean ácidos diluidos tienen su principal ventaja en el relativamente bajo consumo de ácidos. Sin embargo, se requieren relativamente altas temperaturas para alcanzar rendimientos aceptables de conversión de celulosa a glucosa. El máximo rendimiento en glucosa se consigue a altas temperaturas y tiempos de residencia cortos.

Las temperaturas que se emplean en estos procesos originan, por un lado, una mayor corrosión de los equipos empleados y, por otro lado, aumentan la tasa de degradación de los azúcares hemicelulósicos los cuales pueden afectar a la posterior etapa de fermentación; además, la formación de sustancias que inhiben la actividad metabólica de los microorganismos (Oliva, 2003; Lenihan *et al.*, 2010). La producción de azúcares a partir de biomasa lignocelulósica ha sido estudiada durante los últimos años, algunos residuos agrícolas tales como rastrojo de maíz, cáscara de papa y bagazo de caña de azúcar, en la Tabla 1.2 se resumen algunos rendimientos de azúcares reductores reportados en la literatura, así como el tipo de ácido y las condiciones de operación.

Tabla 1.2 Rendimientos de azúcares reductores por hidrolisis acida

Referencia	Residuo/Relación sólido-líquido	Tipo / Concentración de ácido		Temperatura (°C)	Rendimiento (g/100g)
Li <i>et al.</i> , 2016	Diferentes partes del maíz/1:15	H ₂ SO ₄	2%v	121	Olote 42.72 Hojas 30.42
Gaur <i>et al.</i> , 2016	Tallo de algodón/-	H ₂ SO ₄	1.07%w	157	6.84
Lenihan <i>et al.</i> , 2010	Cascara de papa/-	H ₃ PO ₄	6.25%v	135	55.50
Panagiotopoulos <i>et al.</i> , 2017	Cebada/1:12	H ₃ PO ₄	1%v	160	29.10
Hong <i>et al.</i> , 2016	Bambú/1:10	H ₃ PO ₄	6%v	170	23.90
Linares, 2018	Colza/1:12	H ₃ PO ₄	0.19%v	202	12.60
Gaxiola <i>et al.</i> , 2018	Agave/-	H ₂ SO ₄ /	0.5%v	180	68
Brazil <i>et al.</i> , 2019	Tallo de girasol/1:10	H ₂ SO ₄	72%v	30	44.60
Gamez <i>et al.</i> , 2015	Bagazo de caña de azúcar/1:8	H ₃ PO ₄	4%w	122	18.21

1.5.1 Azúcares reductores

La idea básica de la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica es la obtención de azúcares fermentables provenientes de la celulosa y hemicelulosa, en donde el componente principal de la celulosa es la glucosa y de la hemicelulosa es la xilosa. Tanto la glucosa como la xilosa son monosacáridos capaces de formar estructuras cíclicas y fácilmente fermentables por los microorganismos (Lenihan *et al.*, 2010).

Los azúcares reductores son biomoléculas que funcionan como agentes reductores; esto es, que pueden donar electrones a otra molécula con la que reaccionan. En otras palabras, un azúcar reductor es un carbohidrato que contiene un grupo carbonilo (C=O) en su estructura, por ejemplo, glucosa, fructosa, lactosa y maltosa (Lenihan *et al.*, 2010).

1.5.2 Inhibidores

Durante el tratamiento del material lignocelulósico no sólo se obtienen los azúcares provenientes de la hidrólisis, sino que, debido a las condiciones en las que se desarrolla, se originan una serie de compuestos que pueden actuar como inhibidores potenciales de la fermentación. La naturaleza y concentración de estos compuestos depende del tipo de materia prima, del pretratamiento utilizado, de las condiciones del proceso (temperatura y tiempo) y de la utilización o no de catalizadores ácidos (Olsson & Hahn-Hägerdal, 1996). Los productos de degradación, que son potenciales inhibidores de la fermentación, pueden dividirse en tres grupos (Larsson, 2000): derivados del furano, ácidos alifáticos de bajo peso molecular y derivados fenólicos.

Como consecuencia de las altas temperaturas empleadas en los pretratamientos, los azúcares originados en la hidrólisis, principalmente de la hemicelulosa, se degradan originando dos compuestos derivados del furano: el furfural, formado a partir de la degradación de las pentosas (xilosa y arabinosa) y el 5-hidroximetilfurfural (HMF), formado como consecuencia de la degradación de las hexosas (glucosa, manosa y galactosa), los cuales a su vez se descomponen generando ácido fórmico, levulínico y acético (Behera *et al.*, 2014; Yi *et al.*, 2014). Durante el pretratamiento, una parte de la lignina también se degrada originando una gran variedad de compuestos fenólicos.

1.6 Mecanismo de reacción de la hidrólisis ácida

La hidrólisis ácida de la celulosa es un proceso complicado, durante el cual la celulosa sufre la ruptura de los enlaces de hidrógeno (descristalización), hinchamiento de la fibra, despolimerización, formación de monosacáridos, reacciones de repolimerización (Yu & Wu, 2010). El ácido concentrado juega un doble papel en la hidrólisis de polisacáridos; por una parte, hincha y disuelve la fibra de polisacárido, y por otra rompe el enlace glucosídico para llevar a cabo la despolimerización y la hidrólisis (Binder & Raines, 2010). La descristalización es importante para la posterior hidrólisis de la celulosa, que se logra mediante la disolución de la celulosa en ácidos concentrados.

Primero, las moléculas de ácido penetran en las microfibrillas e interactúan con la celulosa provocando la hinchazón de las fibras de celulosa. Una vez que el poder de la disolución ácida es lo suficientemente grande (correspondiente a una concentración de ácido lo suficientemente alta), las cadenas de celulosa individuales se separan entre sí, dando como resultado un estado disuelto. En este estado, la red de enlaces se interrumpe y la celulosa se convierte en un estado completamente amorfo, lo que la hace más accesible a los reactivos (Xiang & Kruse, 2016). En la Figura 1.4, se muestra el mecanismo de reacción para la hidrólisis del enlace glucosídico, dando como resultado una disminución significativa en la densidad de empaquetamiento molecular de la celulosa (Vinogradov *et al.*, 2002) y acelera la penetración de la molécula de ácido en las redes cristalinas de celulosa.

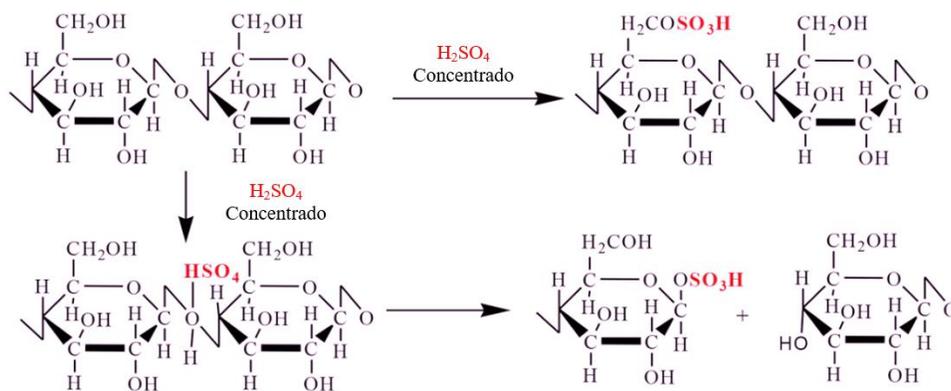


Figura 1.4 Hidrólisis de la celulosa catalizada por ácido (Vinogradov *et al.*, 2002).

Según Roman & Winter (2014), los grupos sulfato se introducen durante la hidrólisis de la celulosa con H_2SO_4 concentrado, y su contenido aumenta con la concentración de ácido, la relación ácido-celulosa y el tiempo de hidrólisis. Según Conte *et al.*, (2009), cuando la celulosa se trata con H_3PO_4 concentrado, se forman puentes C-O-P entre el H_3PO_4 y la celulosa, seguidos de un proceso de hinchamiento con separación de las fibrillas celulósicas.

Por lo tanto, se puede concluir que la ruptura de los puentes de hidrógeno como resultado de la formación de complejos y ésteres y la despolimerización de las cadenas macromoleculares, es el paso más importante para la disolución de la celulosa en las soluciones concentradas (Ioelovich, 2012). La hidrólisis del enlace β -1-4 glucosídico tiene lugar inevitablemente durante la disolución de la celulosa en ácidos concentrados (Zhang *et al.*, 2016).

De acuerdo con la bibliografía existen dos posibles rutas para la hidrólisis ácida (Figura 1.5) que se componen principalmente de tres pasos. En la ruta 1, el primer paso es una protonación rápida del oxígeno glucosídico con formación de un ácido conjugado. La carga positiva se transfiere aún más a la posición 1 y da como resultado la formación de un ion carbonio cíclico y la ruptura del enlace glucosídico. Finalmente, la molécula de agua ataca rápidamente al ion carbonio para liberar moléculas de azúcar libres y regenerar el protón (Wertz *et al.*, 2010). En la ruta 2, la protonación ocurre en el átomo de oxígeno piránico, seguida de la transferencia de carga positiva a la posición 1 para formar un ion carbonio acíclico, pero sin ruptura del enlace glucosídico. En el tercer paso, el ion carbonio acíclico es atacado por agua para formar dos moléculas de azúcar y regenerar el protón. En ambas vías, la formación del ion carbonio intermedio es un paso crucial y limitante de la velocidad, y se cree que el ion carbonio se forma más rápidamente al final que en el medio de la cadena de polisacáridos (Xiang *et al.*, 2016).

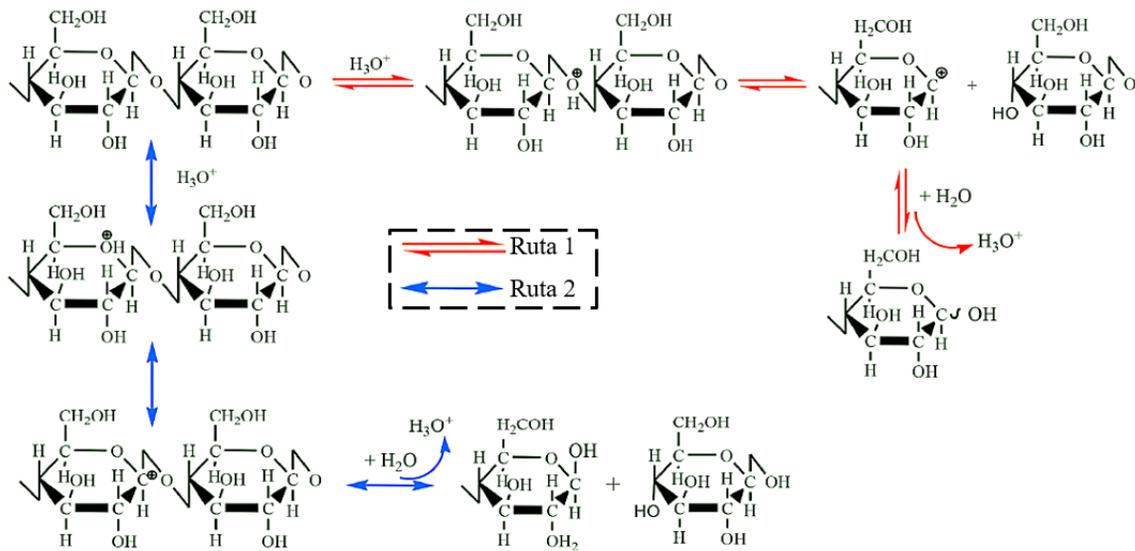


Figura 1.5 Posibles mecanismos de reacción para la hidrólisis ácida (Xiang *et al.*, 2016).

Además de la celulosa, la hemicelulosa también es importante para la producción de azúcares. En el proceso de hidrólisis ácida, la hemicelulosa es propensa a hidrolizarse primero para formar azúcares monoméricos y luego ocurre la hidrólisis de la celulosa (Solarte-Toro *et al.*, 2019), sin embargo, los azúcares obtenidos a partir de la hemicelulosa como la xilosa se exponen al medio de reacción durante un largo tiempo dando como resultado su degradación y pérdida. Por lo tanto, comprender la cinética de hidrólisis es importante para maximizar el rendimiento de los azúcares.

2. MÉTODO

En la Figura 2.1 se presenta la metodología para la extracción de azúcares reductores a partir de residuos agrícolas.

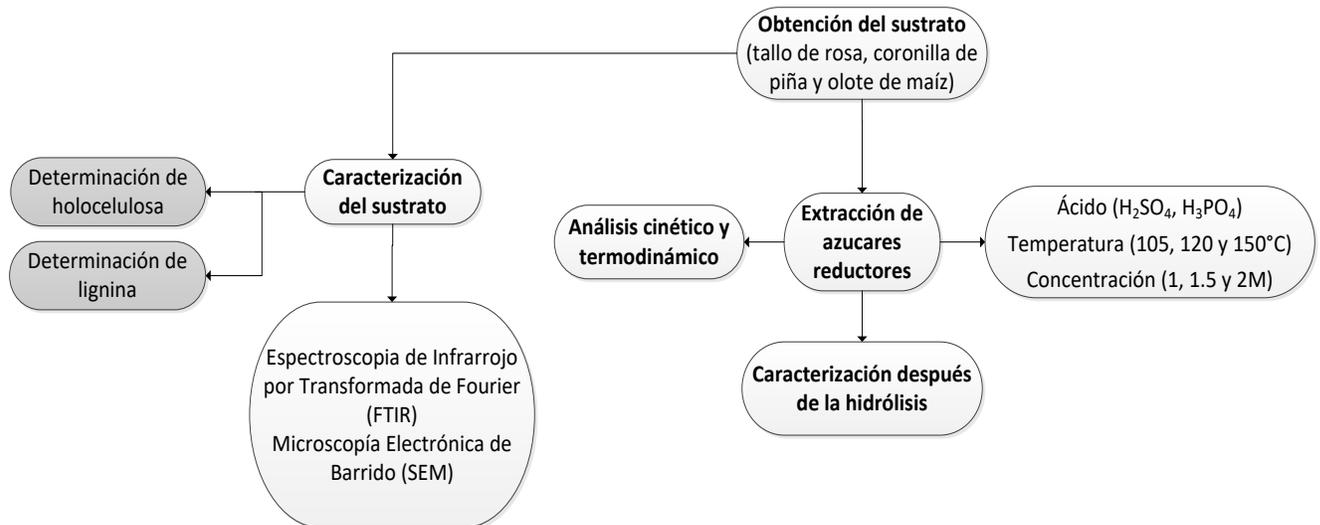


Figura 2.1 Diagrama de flujo para la extracción de azúcares reductores.

2.1 Obtención del sustrato

Debido a que en el Estado de México se cultivan una gran variedad de productos como el maíz, la rosa y la piña, los desechos de dichos cultivos como el OM, el TR y la CP se utilizaron como materia prima para la producción de azúcares monoméricos.

Los residuos se secaron a una temperatura de 35 °C en una estufa de recirculación por 72 h, y se molieron a tamaño de partícula menores a 250 µm. Para obtener la muestra libre de extractivos (sustrato), se utilizaron 4 g de residuo seco y se colocaron en contacto con los disolventes: 60 mL de una mezcla etanol-benceno (1:2) y 60 mL de agua caliente, en un equipo de extracción soxhlet durante 4h; dejando secar al aire libre entre uno y otro disolvente por 16 h (TAPPI, 1994). Finalmente, las muestras sólidas se recuperaron y se secaron a 50 °C durante 24 h, hasta obtener peso constante. La diferencia de peso final y peso inicial reflejó la cantidad de extractivos presentes en la muestra (Yi *et al.*, 2014).

2.2 Caracterización del sustrato

Para determinar los principales grupos funcionales se utilizó la técnica de FTIR y para observar la morfología se usó la técnica de SEM. Por otra parte, se estableció el porcentaje de holocelulosa y lignina en la muestra para determinar si es viable o no la extracción de los azúcares reductores, de acuerdo con Abril & Navarro (2012), el porcentaje de lignina debería ser menor al 20 % y la holocelulosa mayor al 60 %, ya que un alto contenido de lignina evita el ataque de los ácidos en la estructura, provocando bajo rendimiento en la producción de azúcares.

2.2.1 Determinación de holocelulosa

Cada sustrato se mantuvo en reflujo por 30 min en un matraz de bola de 50 mL con: 6 mL de acetil-acetona, 2 mL de dioxano y 1 mL de HCl concentrado. Luego se filtró y se lavó por separado con 10 mL de cada uno de los siguientes disolventes: metanol, dioxano y éter etílico, además de 5 mL agua destilada. Finalmente, la muestra se secó en una estufa a 103°C por 16 h, y el peso final determinó la cantidad de holocelulosa presente en la muestra (TAPPI, 1994).

2.2.2 Determinación de lignina

Una muestra de sustrato se mezcló con 15 mL de ácido sulfúrico al 72 %, se agitó cada 10 min durante 2 h. Después, la mezcla se diluyó al 3 % añadiendo 350 mL de agua destilada, se mantuvo en reflujo durante 4 h y el residuo se dejó en la estufa a 103 °C por 16 h. El peso que quedó fue la lignina insoluble en ácido (TAPPI, 1994).

2.2.3 Análisis por espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

Los residuos se secaron a 45 °C durante una noche y se trituraron con un mortero. Las muestras se analizaron en un espectrómetro FTIR marca *Varian 640* y se utilizó un rango espectral de 500 a 4000 cm⁻¹ y una resolución de 4 cm⁻¹.

2.2.4 Análisis por microscopia electrónica de barrido (SEM)

Los residuos se secaron a 45 °C durante una noche y se trituraron en un mortero. Para el análisis se utilizó un microscopio electrónico de la marca JEOL JSM-590-LD de bajo vacío, hasta 1000 aumentos.

2.3 Extracción de azúcares reductores; cinética de reacción

La hidrólisis ácida se realizó con H_2SO_4 a concentraciones de 1.0, 1.5 y 2.0 M y a las temperaturas de 105, 120 y 150 °C. Por otra parte, se realizaron pruebas con H_3PO_4 a las mismas condiciones; cada prueba se realizó durante 300 min de tiempo de reacción. Cada una de las muestras se preparó mezclando 0.5 g de residuo agrícola con 7.5 mL de solución ácida a la concentración deseada (1.0, 1.5, ó 2.0 M) en tubos de ensaye con rosca (tipo HACH) para evitar evaporación de la muestra, posteriormente los viales se colocaron en un digestor de la marca HANNA® instruments a la temperatura deseada (105, 120 ó 150 °C) y se dejaron reaccionar, se agitó suavemente cada vial en intervalos de 15 min, dos muestras se tomaron cada 30 min hasta llegar a los 300 min. Al término de la hidrólisis, los viales se dejaron enfriar a temperatura ambiente, las fases se separaron mediante filtración y en la fase líquida (hidrolizado) se determinó el contenido de azúcares reductores, así como de furfural.

2.3.1 Análisis cinético y termodinámico

La cantidad de azúcares reductores se determinó mediante el método del ácido 3-5 dinitro salicílico (DNS). Los datos de la producción de azúcares se ajustaron al n de Saeman (1945); este fue el primer modelo cinético para la hidrólisis con ácido sulfúrico de la madera, considerando que el proceso involucra una serie de reacciones relacionadas con la producción de azúcares monoméricos (k_1) y su transformación en aldehídos inhibidores (k_2). Considerando que estas reacciones son irreversibles y de primer orden, el modelo cinético propuesto por Saeman (1945) permite predecir la concentración de monosacáridos en función del tiempo de reacción, de acuerdo con la ecuación 2.1.

$$M = \left[\frac{k_1 P_0}{k_2 - k_1} \right] (e^{-tk_1} - e^{tk_2}) \quad \text{Ecuación 2.1}$$

Cuando los datos experimentales no muestran la etapa de deshidratación térmica de los azúcares, el modelo de Saeman puede reducirse a la ecuación cinética de primer orden, la cual se muestra en la ecuación 2.2

$$M = P_0(1 - e^{-k_1 t}) \quad \text{Ecuación 2.2}$$

donde:

M : es la concentración de azúcares reductores (g de azúcar / 100 g de materia prima),

P_0 : la concentración inicial de holocelulosa (g de holocelulosa / 100 g de materia prima),

t : el tiempo de contacto (min),

k_1 : constante cinética para la formación de los azucares (min^{-1}),

k_2 : constante cinética para la degradación de los azucares (min^{-1}).

De acuerdo con Saeman (1945) y con Ranganathan *et al.* (1985), las constantes cinéticas obtenidas a partir del modelo de Saeman pueden ser utilizadas para calcular la relación entre ambas (k_r), la cual muestra el efecto de la temperatura y de la concentración del ácido; posteriormente, dicha relación puede utilizarse para determinar el tiempo óptimo de reacción para la producción de azúcares (ecuación 2.3).

$$t_{op} = \frac{1}{k_2(k_r - 1)} \ln(k_r) \quad \text{Ecuación 2.3}$$

Los datos de la producción de azúcares obtenidos en cada uno de los experimentos se ajustaron al modelo cinético descrito utilizando una regresión no lineal en el software Origin 8.6.

Las constantes de velocidad obtenidas a partir del modelo cinético fueron utilizadas para el cálculo de los parámetros termodinámicos tales como la energía de activación (E_a), cambio en la entalpía (ΔH), cambio en la entropía (ΔS) y energía libre de Gibbs (ΔG), los cuales se calcularon a fin de conocer los cambios energéticos a nivel molecular y comprender la naturaleza de la hidrólisis de los residuos agrícolas con los ácidos

propuestos. Para el cálculo de E_a y A se utilizó la ecuación de Arrhenius, la forma exponencial y lineal de dicha ecuación se muestra en las ecuaciones 2.4 y 2.5

$$k = Ae^{\frac{-E_a}{RT}} \quad \text{Ecuación 2.4}$$

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad \text{Ecuación 2.5}$$

donde:

K : es la constante cinética (min^{-1}),

A : el factor de frecuencia (min^{-1}),

E_a : la energía de activación (J mol^{-1}),

R : la constante de los gases ideales ($8.3144 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$),

T : la temperatura absoluta (K),

Un gráfico que correlaciona a T^{-1} en el eje de las abscisas y a $\ln k$ en el eje de las ordenadas permitió calcular los parámetros termodinámicos a partir de la pendiente; E_a/R y de la ordenada al origen; $\ln(A)$.

El cálculo de ΔH y de ΔS se realizará con ayuda de la ecuación de Eyring, cuya forma lineal se muestra en la ecuación 2.6.

$$\ln\left(\frac{k}{T}\right) = \ln\frac{k_B}{h_p} + \frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{RT} \quad \text{Ecuación 2.6}$$

donde:

k : es la constante cinética (seg^{-1}),

K_B : la constante de Boltzmann ($1.3807 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$),

h_p : la constante de Planck ($6.6261 \times 10^{-34} \text{ J seg}$),

ΔS : el cambio en la entropía ($\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$),

ΔH : el cambio en la entalpía (J mol^{-1}),

R y T : tienen el mismo significado y unidades que en la ecuación de Arrhenius

La gráfica de $\ln(k/T)$ en función de $1/T$ permitió calcular los valores de ΔS y de ΔH a partir de la ordenada al origen y de la pendiente de la línea recta respectivamente. Finalmente, ΔG se calculó a partir de la relación termodinámica mostrada en la ecuación 2.7 (Saratale *et al.*, 2019).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad \text{Ecuación 2.7}$$

2.5 Caracterización del sustrato después de la hidrólisis

La fase sólida que se obtuvo de las cinéticas de la hidrólisis se lavó con agua destilada a 50 °C para remover el exceso de iones atribuidos al ácido, se secó por 2 días a 45 °C y se caracterizó mediante las técnicas de FTIR y SEM, para determinar los cambios de morfología en la estructura del material.

3. RESULTADOS

3.1 Caracterización del sustrato sin hidrolizar

A continuación, se muestran los resultados de la caracterización de los residuos agrícolas antes y después del proceso de hidrólisis con las condiciones más severas de operación (concentración de ácido 2.0 M y temperatura de 150 °C).

3.1.1 Determinación de humedad, holocelulosa y lignina

La Tabla 3.1 resume la caracterización de los residuos agrícolas de OM, CP y TR antes de la hidrólisis ácida.

Tabla 3.1 Caracterización de los residuos agrícolas

PARÁMETRO	OM (%)	CP (%)	TR (%)
Humedad	5.11 ±0.26	6.4±0.17	3.87±0.21
Extractivos	7.05 ±0.07	6.28±0.09	5.47±0.09
Holocelulosa	70.17 ±0.58	69.36±0.45	63.89±0.74
Lignina	17.61 ±0.69	17.85±0.75	20.14±0.69

El mayor contenido de holocelulosa se encontró en el OM con un porcentaje de 70.17 %, menor que el reportado por Saralate *et al.*, (2019). El TR fue el residuo con menor porcentaje de holocelulosa alcanzando 63.89 %, este valor fue similar al reportado por Ventura-Cruz & Tecante (2019), que fue de 62.17 %. El porcentaje de lignina, en el OM y la CP presentaron valores alrededor del 17 %; siendo similares a los reportados por Saralate *et al.*, (2019) y Rintu *et al.*, (2017); el TR presentó el mayor porcentaje alcanzando 20.14 % que es menor al 35.20 % reportado por Ventura-Cruz & Tecante (2019). Debido a lo anterior, el residuo que podría presentar el menor rendimiento de azúcares reductores en comparación con el OM y la CP es el TR ya que presentó el mayor porcentaje de lignina y el menor porcentaje de holocelulosa, sin embargo, de acuerdo con Abril & Navarro (2012), es viable trabajar con el material. La diferencia en los porcentajes de lignina y holocelulosa encontrados puede atribuirse a las características propias de cada material.

3.1.2 Análisis por microscopía electrónica de barrido (SEM)

En la Figura 3.1 se presentan las micrografías de los residuos agrícolas, antes y después del proceso de hidrólisis con H_2SO_4 y H_3PO_4 , a las condiciones más severas de operación (150 °C, 2 M y 300 min de reacción) y de arriba abajo el OM, la CP y el TR; todas tomadas a 1000 aumentos.

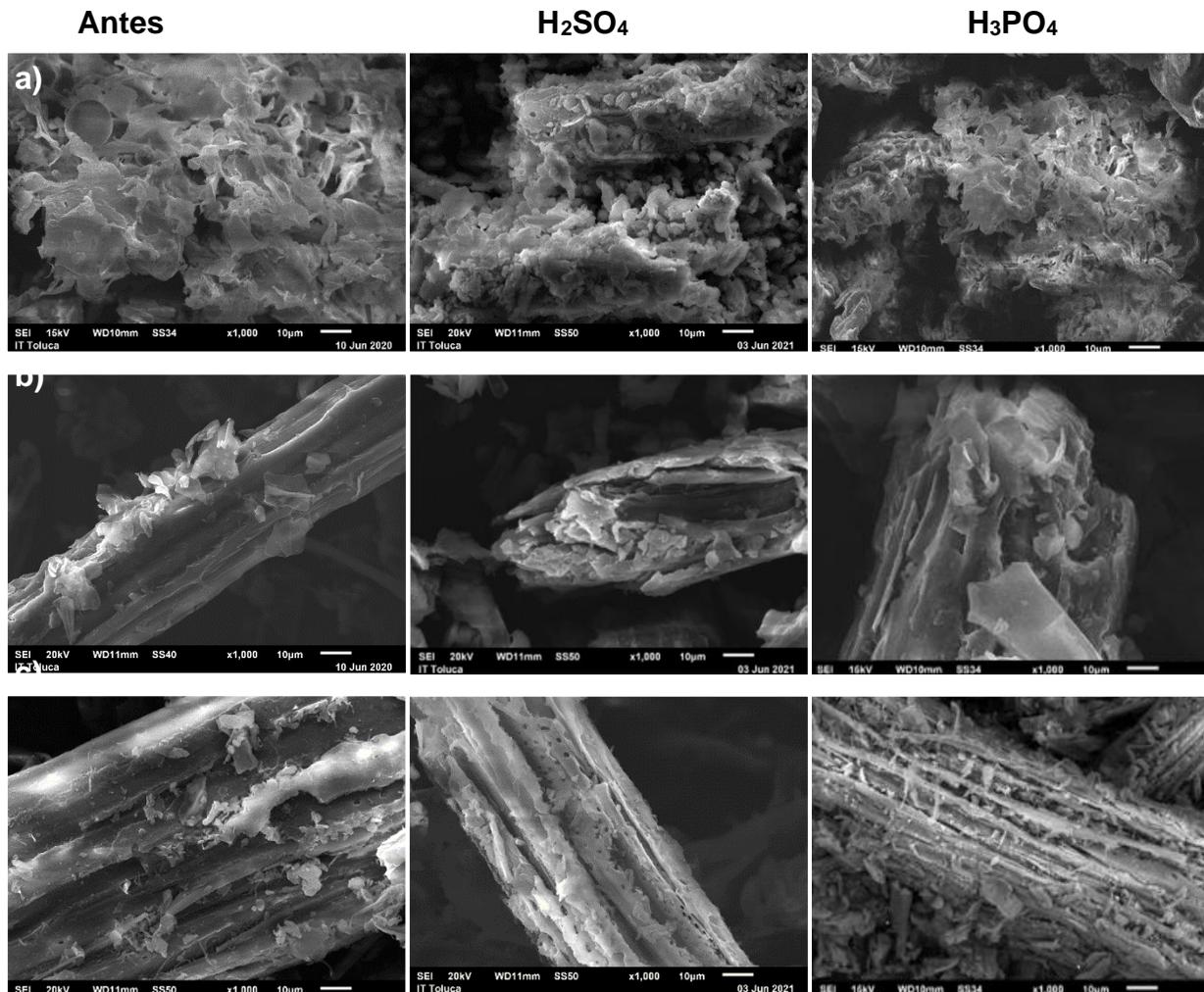


Figura 3.1 Micrografías de los residuos agrícolas a) OM, b) CP y c) TR antes (izquierda) y después de la hidrólisis con H_2SO_4 (centro) y con H_3PO_4 (derecha).

Las micrografías observadas en la Figura 3.1 mostraron cambios en las estructuras de las microfibrillas después de la hidrólisis para los tres residuos, la superficie del OM sin pretratamiento era lisa, consistente, firme, regular y homogénea. Por el contrario, en la

superficie del OM tratada se visualiza que está abierta e irregular, esto posiblemente a la eliminación parcial de hemicelulosas y lignina (Zhang *et al.*, 2011).

En las micrografías del OM y TR tomadas después de la hidrólisis con H_3PO_4 se puede observar más formación de poros a lo largo de las microfibrillas lo cual puede atribuirse a la descomposición de la fracción holocelulósica, la hidrólisis con este ácido promovió aún más la ruptura de las fibras de carbohidratos presentes en los materiales dejándolas más expuestas para su posterior transformación, este comportamiento sugiere que los azúcares producidos provinieron principalmente de las fibras de carbohidratos que no estaban entrelazadas entre sí, es decir de la fase amorfa de la celulosa. Con el fin de aprovechar al máximo el TR y la CP para la producción de azúcares reductores, una hidrólisis previa con ácido concentrado o un tratamiento enzimático posterior podría ser una alternativa prometedora (Jang & Choi, 2018).

Los cambios morfológicos y estructurales mostrados en las micrografías de la Figura 3.1 fueron similares a los reportados previamente por Boontum *et al.* (2019), Li *et al.* (2016), Sahoo *et al.* (2018) y Sun *et al.* (2015), quienes observaron la ruptura y el reordenamiento de las microfibrillas de carbohidratos debido a una hidrólisis ácida o alcalina, además de un aumento tanto en el volumen del poro como en el área superficial del material, lo cual favoreció a una subsecuente hidrólisis enzimática.

3.1.3 Análisis por FTIR

En las Figuras 3.2 y 3.3 se observan los espectros FTIR de los residuos agrícolas antes y después del proceso de hidrólisis con H_2SO_4 y H_3PO_4 respectivamente, ambos a las condiciones más severas de reacción (2 M, 105 °C y 300 min de reacción).

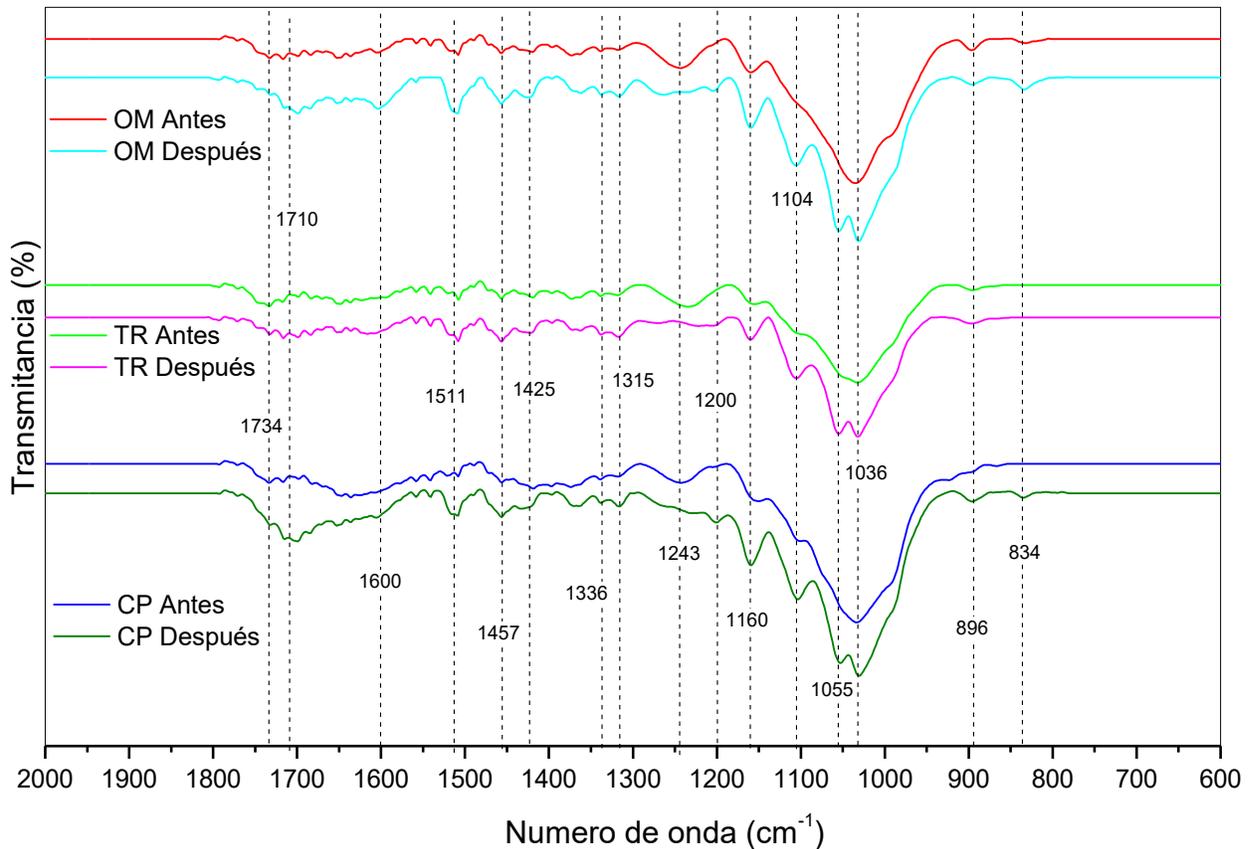


Figura 3.2 Espectros FTIR de los residuos orgánicos antes y después del proceso de hidrólisis con H_2SO_4

En la Tabla 3.2 se muestra el número de onda de los principales picos presentes en los espectros de FTIR antes y después del proceso de hidrólisis en los residuos agrícolas. El enlace β -1-4 glucosídico se observó en cada uno de los espectros a un número de onda de 896 cm^{-1} (Sahoo *et al.*, 2018). Las bandas características de la hemicelulosa se observaron en 1243 y en la región $1734\text{-}1710\text{ cm}^{-1}$, asociados a la flexión C–O en los xilanos y al enlace C=O propio de los grupos acetilo, respectivamente (Gaur *et al.*, 2016; Sewsynker-Sukai *et al.*, 2018), las vibraciones observadas a 1036 , 1104 y 1160 cm^{-1}

hacen referencia a los enlaces C-O y C-C de la celulosa. Finalmente, la lignina presentó las bandas características del anillo aromático en 1511 y 1600 cm^{-1} , mientras que los enlaces C-H correspondientes a la parte alifática se observaron en 1425 y 1457 cm^{-1} (Li *et al.*, 2016).

Tabla 3.2 Principales picos de los espectros FTIR antes y después del proceso de hidrólisis en residuos agrícolas

Número de onda (cm^{-1})	Tipo de vibración	Fuente
834	C-H	Lignina
896	β 1-4-glucosídico	Celulosa
1036, 1104 y 1160	C-O y C-C	Celulosa
1200, 1315	O-H y C-H ₂	Hemicelulosa y celulosa
1336	O-H y C-H	Lignina, celulosa y hemicelulosa
1243, 1726-1732	C-O y C=O	Hemicelulosa
1425, 1457	CH ₃ -O	Lignina
1511, 1600	Anillo aromático	Lignina

La intensidad de las bandas de vibración características de la hemicelulosa y la celulosa disminuyeron después del contacto con el ácido, mientras que la región característica de la celulosa (1200 - 950 cm^{-1}) se hizo más definida y además mostró la aparición de una banda a 1055 cm^{-1} después de la hidrólisis ácida. La aparición de dicha banda aunada al incremento en la intensidad de la vibración observada en 1511 cm^{-1} sugiere que la fracción másica de la lignina aumentó a consecuencia de la despolimerización de la holocelulosa, es decir, el contacto entre los residuos y el ácido sulfúrico diluido resultó eficiente para recuperar azúcares a partir de la celulosa y hemicelulosa, mientras que la estructura de la lignina permaneció casi inalterada (Xu *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2016).

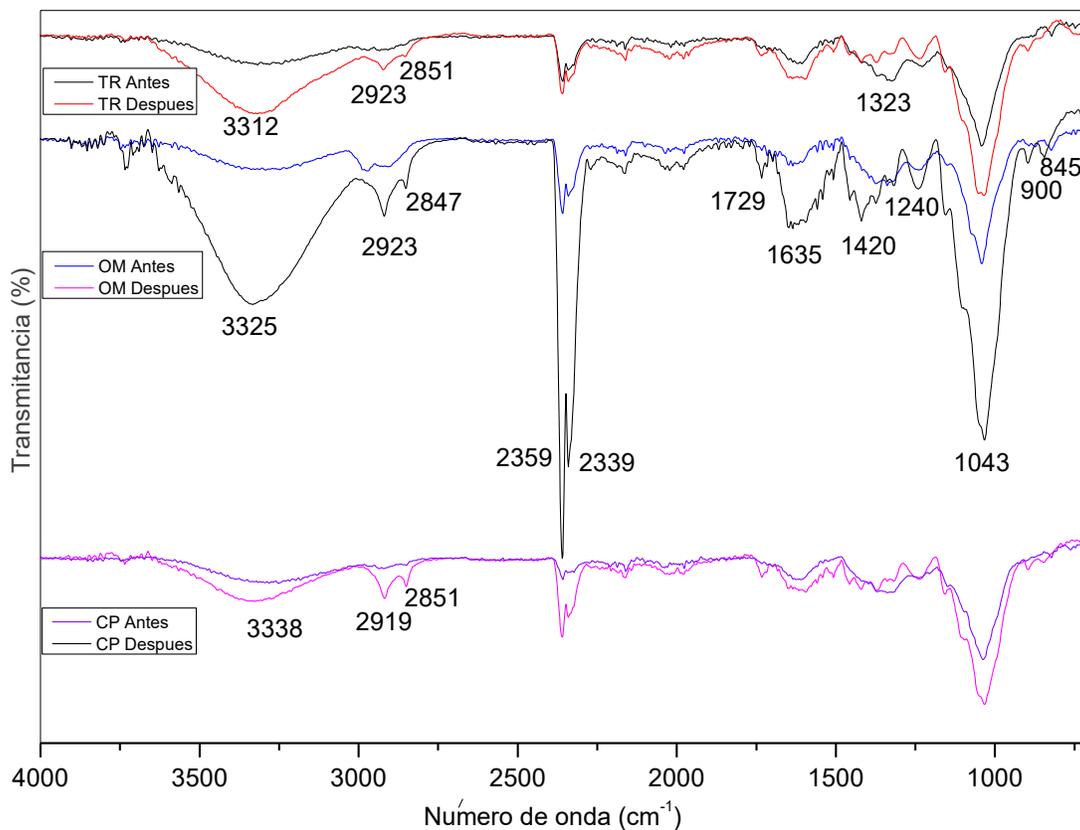


Figura 3.3 Espectros FTIR de los residuos orgánicos antes y después del proceso de hidrólisis con H_3PO_4 .

Para la hidrólisis con H_3PO_4 se observó una banda en cada espectro entre 3338 y 3312 cm^{-1} atribuido a vibraciones de estiramiento de los grupos -OH presentes en la celulosa (Coates, 2000). Los picos a 2923-2919 cm^{-1} y 2851 a 2847 cm^{-1} fueron atribuidos a vibraciones del estiramiento de los enlaces C-H (Lu & Hsieh, 2010). Las bandas entre 2359 a 2339 cm^{-1} sugieren la presencia de silanos (Si-H), propios del proceso de adsorción de nutrientes de las plantas. El pico a 1729 cm^{-1} se relaciona con los enlaces C=O de cetonas no conjugadas presentes en la hemicelulosa, mientras que los picos en 1635 son asignados a flexión del enlace O-H del agua adsorbida (Dai y Fan, 2010; Morán et al., 2008). El pico de 1043 cm^{-1} es atribuido posiblemente a la flexión de enlace OH de los grupos C-OH, correspondientes a la hemicelulosa y la lignina, y finalmente el pico en 900 cm^{-1} fue asignado a la vibración de estiramiento simétrico de C-O-C, lo que indica

que la estructura de xilano estaba unida por enlaces glucosídicos β -1-4. Como se puede observar en el espectro de IR después del proceso de hidrólisis se intensificaron algunas bandas posiblemente debido a la ruptura de las cadenas de los componentes del material lignocelulósico que expone a los grupos funcionales como los OH, Si-H, C-OH y O-H.

3.2 Producción de azúcares reductores por hidrólisis ácida

La producción de azúcares reductores a partir de residuos agrícolas se realizó con base a experimentos de hidrólisis ácida, la Figura 3.4 muestra las curvas para cada residuo probado con H_2SO_4 a tres concentraciones (1, 1.5 y 2 M) y tres temperaturas (105, 120 y 150 °C).

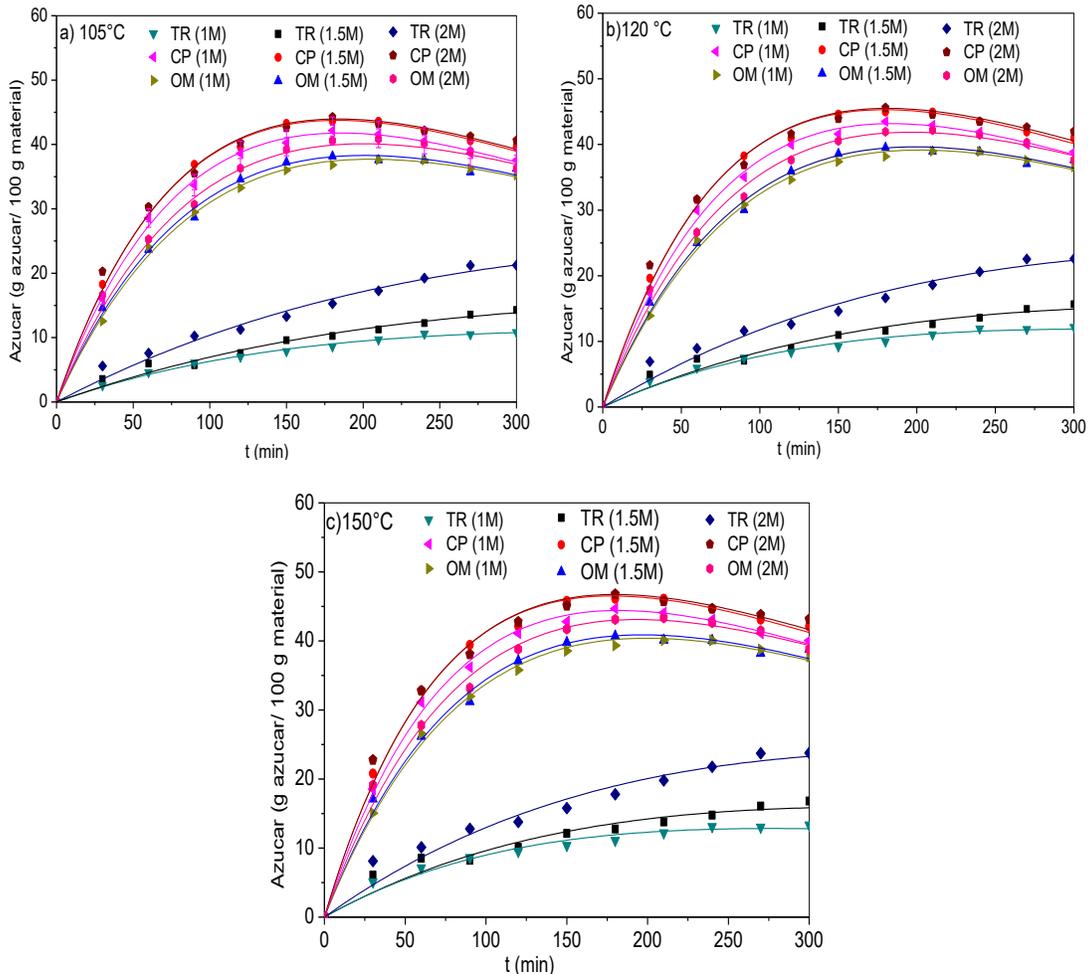


Figura 3.4 Producción de azúcares reductores con H_2SO_4 a tres temperaturas: a) 105, b)120 y c)150 °C

En la Figura 3.5 se presentan las curvas de los experimentos con H_3PO_4 a las mismas concentraciones y temperaturas; todas las pruebas se realizaron con un tiempo de reacción de 300 min. El rendimiento máximo de azúcares obtenido fue con H_3PO_4 y alcanzó 50.14 g de azúcar / 100 g de CP a una temperatura de 120 °C y concentración de ácido 2 M a un tiempo de 120 min de reacción. Esta producción resultó ligeramente superior a la obtenida con el H_2SO_4 bajo las mismas condiciones de operación (45.60 g de azúcar / 100 g de CP), pero a un tiempo de 180 min. La producción de azúcares más baja se logró con H_2SO_4 1 M y 105 °C con TR alcanzando un rendimiento de 10.81 g azúcar / 100 g TR después de 300 min; por otro lado, el rendimiento con H_3PO_4 a las mismas condiciones fue de 15.23 g azúcar/ 100 g TR.

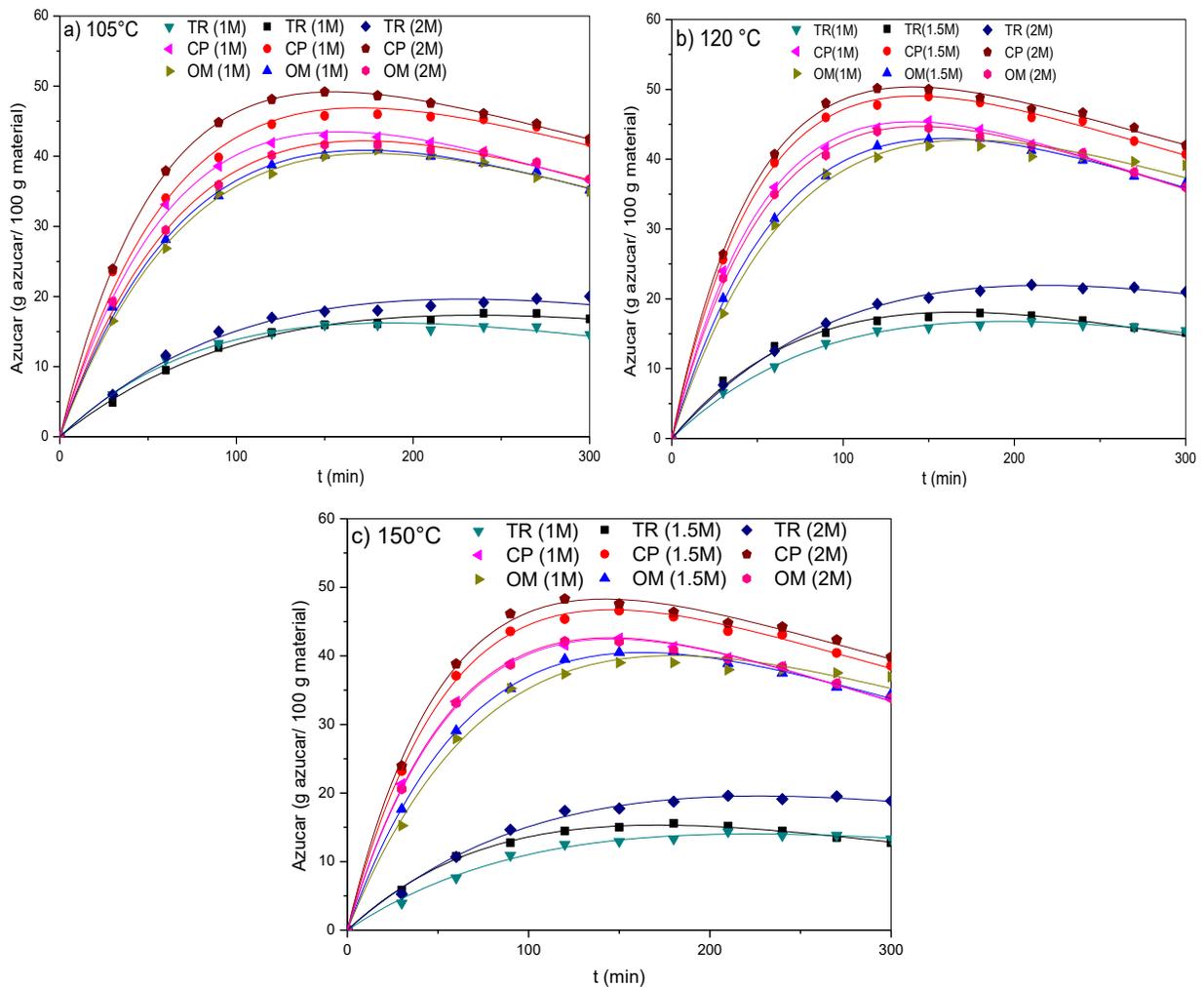


Figura 3.5 Producción de azúcares reductores con H_3PO_4 a tres temperaturas a) 105, b) 120 y c) 150 °C.

En general, para la CP y el OM los rendimientos máximos de producción de azúcares obtenidos en las hidrólisis con el H_3PO_4 resultaron ligeramente mayores que con el H_2SO_4 ; además, el tiempo de reacción fue menor, considerando que el H_3PO_4 es menos corrosivo que el H_2SO_4 , y que el tiempo de reacción fue mayor con el H_2SO_4 y su uso involucra el empleo de reactores resistentes a la corrosión, lo cual incrementa el costo del proceso (Woiciechowski *et al.*, 2020). Finalmente, se observó que el H_3PO_4 a temperaturas de 105 y 120 °C tuvo un mayor potencial para la obtención de azúcares del OM, CP y TR por hidrólisis ácida.

El comportamiento de producción de azúcares con ambos ácidos para el TR fue diverso, ya que a diferencia del H_2SO_4 , donde no se alcanzó la degradación de los azúcares, con el H_3PO_4 sí se observó en los datos experimentales; además, los rendimientos incrementaron hasta en un 40 % comparado con el H_2SO_4 . Este comportamiento sugiere que la producción de azúcares se ve favorecida con el uso de H_3PO_4 para el TR; sin embargo, el rendimiento sigue siendo bajo en comparación con el obtenido para el OM y la CP.

En la Tabla 3.3, se muestran los datos de producción a un tiempo de reacción de 180 min en el caso del H_2SO_4 y de 120 min para el caso del H_3PO_4 , tiempo en el cual se observó un mayor rendimiento y donde comienza la degradación de los azúcares producidos, las condiciones óptimas para los tres materiales se encontraron a una temperatura de 120 °C y una concentración 2 M de H_3PO_4 . Para la CP, OM y TR el rendimiento máximo fue 50.14 y 44.48 y 21.54 g azúcar/100 g de material, respectivamente; sin embargo, esta producción de azúcares no fue muy distinta a la obtenida a la misma concentración de ácido y una temperatura de 105 °C para los mismos tiempos (CP: 48.10, OM: 40.60 y TR 16.98 g de azúcar /100 g de material), por lo que, si se considera el suministro de energía para elevar la temperatura, sería posible considerar como mejor opción la temperatura de 105 °C. También se observó que al incrementar la temperatura de 120 a 150 °C la producción de azúcares disminuyó ligeramente para los tres materiales con el H_3PO_4 , esto posiblemente a que la degradación de los azúcares aumenta con altas temperaturas (Saha *et al.*, 2018).

Tabla 3.3 Producción de azúcares reductores (g de azúcar /100 g de material) a un tiempo de 120 y 180 min, respectivamente.

Concentración		1.0 M		1.5 M		2.0 M	
Temperatura y material		H ₃ PO ₄	H ₂ SO ₄	H ₃ PO ₄	H ₂ SO ₄	H ₃ PO ₄	H ₂ SO ₄
		120 min	180 min	120 min	180 min	120 min	180 min
105 °C	CP	42.16	41.89	44.56	43.59	48.10	44.26
	OM	37.50	36.82	38.74	38.18	40.60	40.15
	TR	14.76	8.59	14.89	10.25	16.98	15.27
120 °C	CP	44.48	43.51	47.75	44.95	50.14	45.60
	OM	40.26	38.16	41.89	39.53	44.48	41.94
	TR	15.43	9.94	16.85	11.60	21.54	16.61
150 °C	CP	41.58	44.67	45.35	46.11	45.29	46.77
	OM	37.36	39.33	39.49	40.70	42.15	43.11
	TR	12.52	11.11	14.45	12.13	17.4	17.78

Díaz-Blanco *et al.*, (2018), observaron que la producción de azúcares aumentó al incrementar la concentración del ácido y al disminuir la temperatura, en la hidrólisis del Agave lechuguilla con H₂SO₄ diluido, este comportamiento resultó similar a lo reportado por Cao *et al.*, (2018), quienes observaron la misma tendencia a una temperatura de 120 °C; sin embargo, en el presente trabajo el rendimiento de producción de azúcares aumentó al modificar la temperatura de 105 a 120 °C. Saha *et al.*, (2018) reportaron que la producción de azúcares mediante hidrólisis con ácido acético (CH₃COOH) de los residuos de frutas resultó mayor a baja temperatura, (62.5 °C), un tiempo de contacto de 30 min y una concentración de ácido de 0.2 M; mientras que Castro *et al.*, (2014) reportaron que la mayor producción de azúcares por la hidrólisis de la especie *Eucalyptus benthamii* con H₃PO₄, se obtuvo empleando la temperatura más alta (200 °C) y el nivel medio de la concentración del ácido (0.14 M). La producción de azúcares reductores a partir del bambú y del bagazo de caña de azúcar mediante ácido sulfúrico diluido fue estudiada por Timung *et al.*, (2015), ambos materiales mostraron el mayor rendimiento a los niveles más altos tanto de la temperatura como del tiempo de reacción. Jung *et al.*, en 2013, evaluaron la producción de azúcares por hidrólisis ácida de racimos de frutas, concluyendo que un incremento tanto de la concentración del ácido como de la temperatura asociado a un decremento en los tiempos de operación favoreció el

rendimiento, y ambos comportamientos se observaron en el presente trabajo. Las diferencias en la producción de azúcares observadas entre las investigaciones antes mencionadas y el presente estudio pueden atribuirse principalmente a la naturaleza de la biomasa, al tipo de ácido y a las condiciones de la hidrólisis.

En la Tabla 3.4, se muestran los resultados de producción de furfural durante la hidrólisis ácida a un tiempo de reacción de 150 y 300 min para el H_2SO_4 y a un tiempo de 120 y 300 min para el ácido fosfórico. Como se observa en esta Tabla, el incremento de la temperatura y tiempo de reacción aumentaron la producción de furfural. Al relacionar estos datos con la producción de azúcares (Tabla 3.3) en los tiempos mencionados, se puede ver que representan un porcentaje bajo con respecto a los azúcares obtenidos.

Se observó una disminución en la producción de furfural al utilizar el H_3PO_4 con la CP y el OM para las temperaturas de 105 y 120 °C esto aunado a los incrementos en el rendimiento de azúcares y disminución del tiempo de reacción, confirmó que el H_3PO_4 tuvo un mayor potencial para el proceso de hidrólisis, disminuyendo la descomposición de los azúcares producidos. Sin embargo, al aumentar la temperatura a 150 °C la producción de furfural aumentó significativamente, esto posiblemente a la disminución de los azúcares por la degradación debido a la temperatura. Para el caso del TR se observó un ligero aumento en la producción de furfural con el H_3PO_4 , lo cual estuvo asociado a la disminución en la producción de azúcares después de los 120 min observada en la Figura 3.5.

Tabla 3.4. Producción de furfural (g de furfural/100 g de material) a tres temperaturas y tres concentraciones

Ácido	Temperatura y Material	1.0 M		1.5 M		2.0 M		
		150 min	300 min	150 min	300 min	150 min	300 min	
H ₂ SO ₄	105 °C	CP	1.02±0.12	1.11±0.07	1.01±0.07	1.09±0.04	1.13±0.08	1.19±0.01
		OM	0.90±0.05	0.97±0.02	0.98±0.00	1.21±0.00	0.98±0.04	1.08±0.05
		TR	0.03±0.04	0.13±0.08	0.09±0.01	0.25±0.01	0.21±0.06	0.48±0.01
	120 °C	CP	1.23±0.00	1.27±0.04	1.14±0.01	1.47±0.14	1.14±0.07	1.26±0.00
		OM	1.10±0.12	1.26±0.01	1.11±0.05	1.24±0.01	1.03±0.04	1.06±0.04
		TR	0.16±0.00	0.37±0.07	0.17±0.01	0.25±0.08	0.29±0.04	1.10±0.02
	150 °C	CP	1.24±0.09	1.29±0.05	1.16±0.01	1.43±0.08	1.23±0.01	1.39±0.04
		OM	1.07±0.07	1.19±0.01	1.13±0.14	1.35±0.04	1.14±0.04	1.25±0.08
		TR	0.23±0.08	0.37±0.07	0.18±0.06	0.29±0.04	0.35±0.08	0.65±0.04
		120 min	300 min	120 min	300 min	120 min	300 min	
H ₃ PO ₄	105 °C	CP	0.45±0.03	0.84±0.03	0.60±0.10	0.95±0.08	0.76±0.03	1.00±0.00
		OM	0.40±0.10	1.06±0.01	0.76±0.07	0.98±0.02	0.85±0.02	0.74±0.10
		TR	0.12±0.04	0.21±0.06	0.18±0.01	0.30±0.08	0.25±0.07	0.45±0.11
	120 °C	CP	0.75±0.08	1.10±0.04	0.79±0.09	1.11±0.01	0.80±0.01	1.16±0.02
		OM	0.70±0.01	1.12±0.08	0.90±0.11	1.21±0.39	1.00±0.08	1.14±0.05
		TR	0.30±0.03	0.50±0.03	0.35±0.14	0.40±0.09	0.50±0.10	1.25±0.09
	150 °C	CP	1.59±0.02	1.69±0.06	1.41±0.08	1.78±0.04	1.50±0.04	1.69±0.03
		OM	1.30±0.01	1.45±0.07	1.25±0.09	1.65±0.06	1.35±0.06	1.48±0.07
		TR	0.60±0.08	0.80±0.05	0.48±0.02	0.60±0.05	0.50±0.09	0.70±0.10

3.2.1 Parámetros cinéticos y termodinámicos de la hidrólisis ácida

Los parámetros cinéticos y el tiempo óptimo de reacción de los experimentos de hidrólisis con H₂SO₄ y H₃PO₄, obtenidos usando el modelo de Saeman, se presentan en la Tabla 3.5 y 3.6, respectivamente.

Tabla 3.5. Parámetros cinéticos para la obtención de azúcares reductores con H₂SO₄ obtenidos con el modelo de Saeman.

Condiciones operación	Material	k_1	k_2	R ²	k_r	t_{op}
		(min ⁻¹) x10 ³				
1 M, 105 °C	CP	9.36	2.73	0.998	3.43	185.6
	OM	7.37	3.03	0.998	2.51	205.1
	TR	1.33	4.68	0.994	0.25	379.5
1.5 M, 105 °C	CP	10.25	2.53	0.995	4.01	183.0
	OM	7.59	3.01	0.995	2.62	200.8
	TR	1.34	2.84	0.980	0.91	526.7
2 M, 105 °C	CP	10.2	2.48	0.990	4.08	184.0
	OM	8.3	2.78	0.993	3.01	200.1
	TR	1.96	1.83	0.973	0.41	504.9
1 M, 120 °C	CP	9.89	2.58	0.998	3.83	183.8
	OM	7.82	2.89	0.998	2.70	201.9
	TR	1.72	5.45	0.982	0.31	309.2
1.5 M, 120 °C	CP	10.83	2.37	0.998	4.57	179.6
	OM	8.06	2.87	0.995	2.80	199.0
	TR	1.71	3.62	0.955	0.47	392.7
2 M, 120 °C	CP	10.79	2.32	0.990	4.65	181.5
	OM	8.79	2.64	0.994	3.33	195.6
	TR	2.31	2.25	0.968	1.02	438.6
1 M, 150 °C	CP	10.67	2.45	0.997	4.35	179.0
	OM	8.43	2.77	0.997	3.04	196.6
	TR	2.08	5.84	0.966	0.35	274.56
1.5 M, 150 °C	CP	11.55	2.24	0.996	5.15	176.2
	OM	8.67	2.74	0.994	3.16	194.3
	TR	2.04	4.09	0.937	0.49	339.31
2 M, 150 °C	CP	11.42	2.20	0.988	5.19	178.6
	OM	9.41	2.51	0.993	3.74	191.5
	TR	2.62	2.51	0.956	1.04	389.9

El modelo cinético de Saeman (ecuación 2.2) ha sido utilizado para estudiar la producción de azúcares a partir de biomasa lignocelulósica. Dicho modelo involucra el uso de dos constantes cinéticas, la primera asociada a la formación de hexosas y pentosas a partir de la celulosa y la hemicelulosa, mientras que la segunda hace referencia a la descomposición térmica de los azúcares en aldehídos y ácidos orgánicos de bajo peso molecular.

El tiempo óptimo (t_{op}) estimado con la ecuación 2.4 para los experimentos con TR y H_2SO_4 se encuentra por encima del último tiempo de reacción (300 min) en la experimentación, esto podría explicar por qué no se observa una degradación de los azúcares en la Figura 3.3, en cambio en las hidrólisis con el H_3PO_4 el t_{op} se redujo considerablemente lo que provocó una disminución en la producción observada en la Figura 3.3 después de 120 min de reacción.

Los valores de la constante cinética k_1 incrementaron en función de la temperatura, mostrando el valor más bajo de $1.33 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ para el TR en el experimento con H_2SO_4 1 M y $105 \text{ }^\circ\text{C}$, caso contrario el valor más alto encontrado fue de $18.76 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ para la CP en la hidrólisis con H_3PO_4 2 M y $150 \text{ }^\circ\text{C}$. La relación entre la temperatura y la constante cinética de producción de azúcares fue estudiada por Zhang *et al.*, (2011) y por Sarkar *et al.*, (2013), quienes observaron un incremento de la constante cinética a mayor temperatura. Guerra-Rodríguez *et al.*, (2012), estudiaron la hidrólisis de la paja de trigo con H_2SO_4 diluido y observaron un incremento de la constante de velocidad en función de la temperatura. Este mismo comportamiento se observó en los experimentos realizados en el presente trabajo.

El factor k_r observado en las Tablas 3.5 y 3.6 se define como la relación numérica (k_1/k_2) existente entre las constantes cinéticas k_1 y k_2 , este denota cuál de las dos reacciones (formación o descomposición) predomina durante la hidrólisis. Si $k_r > 1$ predomina la producción de azúcares y si $k_r < 1$ predomina la reacción de descomposición de azúcares en furfural y en HMF (Thakur *et al.*, 2013). k_r resultó menor a la unidad en los experimentos con el TR y H_2SO_4 para las tres temperaturas, y el caso contrario se observó con el ácido fosfórico; sin embargo, el valor es pequeño comparado con la CP y OM.

Tabla 3.6. Parámetros cinéticos para la obtención de azúcares reductores con H₃PO₄ utilizando el modelo de Saeman

Condiciones operación	Material	k_1 k_2		R ²	k_r	t_{op}
		$(\text{min}^{-1}) \times 10^3$				
1 M, 105 °C	CP	13.69	1.82	0.9979	7.52	169.9
	OM	10.91	2.58	0.9926	4.23	173.1
	TR	6.85	3.75	0.9931	1.83	194.3
1.5 M, 105 °C	CP	16.32	1.68	0.9979	9.71	155.3
	OM	11.5	2.41	0.9947	4.77	171.9
	TR	5.54	3.17	0.9998	1.75	235.5
2 M, 105 °C	CP	12.96	2.41	0.9988	5.38	159.4
	OM	10.46	2.58	0.986	4.05	177.6
	TR	4.91	3.67	0.9982	1.34	234.7
1 M, 120 °C	CP	15.67	2.43	0.9987	6.45	140.7
	OM	11.64	2.32	0.9938	5.02	173.0
	TR	7.31	3.71	0.996	1.97	188.4
1.5 M, 120 °C	CP	17.66	1.86	0.999	9.49	142.4
	OM	12.73	2.49	0.9986	5.11	159.3
	TR	7.57	4.66	0.9921	1.62	166.7
2 M, 120 °C	CP	18.76	1.69	0.9989	11.1	141.0
	OM	14.86	2.46	0.9984	6.04	145.0
	TR	5.16	4.21	0.9977	1.23	214.2
1 M, 150 °C	CP	13.85	2.79	0.9988	4.96	144.9
	OM	10.23	2.61	0.9916	3.92	179.3
	TR	6.79	2.76	0.9929	2.46	223.4
1.5 M, 150 °C	CP	15.89	2.15	0.9986	7.39	145.6
	OM	11.46	2.8	0.999	4.09	162.7
	TR	8.32	3.89	0.9974	2.14	171.6
2 M, 150 °C	CP	17.23	1.97	0.997	8.75	142.1
	OM	13.66	2.8	0.9985	4.88	145.9
	TR	5.2	3.68	0.9943	1.41	227.5

Para el caso de la CP y OM predomina la producción de azúcares reductores en cualquiera de las condiciones de temperatura y concentración y tipo de ácido, incluso muestran que la CP mejora la producción de azúcares reductores a medida que se incrementa la temperatura; sin embargo, el incremento es relativamente pequeño y no justifica el suministro de energía. Esto también se presenta para el OM, lo que podría

sugerir que las condiciones óptimas serían con H_3PO_4 , 2 M y una temperatura de 105 °C para ambos materiales.

Los valores más altos de las constantes cinéticas se observaron a la temperatura de 120 °C con ácido fosfórico, y en el caso del OM y la CP, para cada una de las temperaturas y tipo de ácido, la constante k_1 fue mayor en comparación con la constante k_2 . Este comportamiento sugiere que las condiciones de hidrólisis propuestas favorecieron la producción de azúcares por encima de la descomposición de estos. Las constantes cinéticas se utilizaron para el cálculo de los parámetros termodinámicos (Tablas 3.7 y 3.8), tanto para la producción de azúcares (k_1) como para la descomposición de estos (k_2) para ello se utilizaron las ecuaciones lineales de Arrhenius y de Eyring.

En la Tablas se observa que la E_a muestra valores relativamente bajos para el caso de la CP y OM (3.67 en promedio), lo que indica una mayor facilidad para ser hidrolizados, en comparación con los valores de E_a para el TR que estuvieron 8.254 y 12.60 kJ/mol, lo cual se puede ver gráficamente en las Figura 3.3 y 3.4 con la baja producción de azúcares en el intervalo de temperatura en que se realizaron los experimentos. Este fenómeno se observó también en la magnitud de los valores de entalpía obtenidos tanto para la producción como la descomposición, mostrando un requerimiento de energía relativamente elevado para el TR (Fockink *et al.*, 2018) en comparación con la CP y el OM. Estos resultados sugieren la posibilidad de que la CP y el OM pueden ser hidrolizados a altas temperaturas por debajo de 105 °C y concentraciones de ácido menores a 1 M (Ajala *et al.*, 2020). Los resultados obtenidos para el OM fueron similares a los reportados por Adeogun *et al.*, (2019) quienes trabajaron en un rango de temperatura de 70 a 95 °C obteniendo valores de E_a de 6.12 kJ/mol para OM pretratado con NaOH, y de 19.19 kJ/mol para OM sin pretratamiento, ambos sometidos a hidrólisis con H_2SO_4 en un rango de concentración de 0.5 a 5% (5.35 a 10.71% para este trabajo). Con base en los valores positivos calculados de ΔH y la ΔG de la hidrólisis ácida para la producción de los azúcares de los residuos resultó ser un proceso endotérmico (Adeogun *et al.*, 2019) y no espontáneo. El valor negativo y relativamente bajo de la entropía obtenido para cada conjunto de condiciones de operación corroboran la estabilidad de los productos formados en el proceso de hidrólisis (Sarma *et al.*, 2014).

Tabla 3.7. Parámetros termodinámicos para la hidrólisis con H₂SO₄ de CP, OM y TR.

Concentración y Material	T (K)	Producción (kJ/mol)				Descomposición (kJ/mol)			
		E _a	ΔH	ΔS	ΔG	E _a	ΔH	ΔS	ΔG
1.0 M, CP	378.15				120.4				153.1
	393.15	3.82	0.49	-0.317	125.2	-3.103	-6.435	-0.347	159.2
	423.15				134.7				171.3
1.5 M, CP	378.15				120.5				143.0
	393.15	3.46	0.13	-0.318	125.3	-3.482	-6.814	-0.348	148.6
	423.15				134.8				160.0
2.0 M, CP	378.15				120.6				131.3
	393.15	3.33	0.076	-0.319	125.4	-3.413	-6.745	-0.348	136.5
	423.15				135.0				146.9
1.0 M, OM	378.15				121.1				131.2
	393.15	3.91	0.581	-0.320	125.9	-2.570	-5.902	-0.344	136.5
	423.15				135.5				146.9
1.5 M, OM	378.15				121.0				131.9
	393.15	3.86	0.53	-0.320	125.8	-2.703	-6.035	-0.345	137.1
	423.15				135.4				147.6
2.0 M, OM	378.15				121.0				131.9
	393.15	3.64	0.31	-0.319	125.8	-2.939	-6.271	-0.346	137.1
	423.15				135.4				147.6
1.0 M, TR	378.15				64.1				130.4
	393.15	12.60	9.36	-0.310	66.7	6.151	2.819	-0.317	135.6
	423.15				71.7				145.9
1.5 M, TR	378.15				61.6				130.5
	393.15	11.92	8.58	-0.312	64.0	10.177	6.845	-0.311	135.7
	423.15				68.9				146.1
2.0 M, TR	378.15				71.9				131.0
	393.15	8.254	4.92	-0.319	74.7	8.835	5.503	-0.318	136.2
	423.15				80.4				146.6

Los valores de ΔG durante la degradación fueron más altos que durante la hidrólisis, esto implica que la degradación es un proceso menos favorable que la formación de azúcares reductores (Adeogun *et al.*, 2019). Se observa que para el TR la E_a y ΔH resultaron positivas para la degradación a diferencia de la tendencia obtenida con la CP y el OM, esto se atribuye a que no hay una degradación remarcada como se observa en la Figura

3.4 para el caso del CP y el OM; sin embargo, la degradación es simultánea a la producción (Saeman, 1945; Tizazu & Moholkar, 2018).

Tabla 3.8 Parámetros termodinámicos para la hidrólisis con H₃PO₄ de CP, OM y TR.

Concentración y Material	T (K)	Producción (kJ/mol)				Descomposición (kJ/mol)			
		E _a	ΔH	ΔS	ΔG	E _a	ΔH	ΔS	ΔG
1.0 M, CP	378.15				120.4				125.8
	393.15	0.37	3.69	-0.33	125.2	-11.8	-8.56	-0.31	130.5
	423.15				134.7				139.8
1.5 M, CP	378.15				120.5				126.3
	393.15	1.27	4.60	-0.33	125.3	-7.22	3.89	-0.32	131.1
	423.15				134.8				140.8
2.0 M, CP	378.15				120.6				125.5
	393.15	6.96	3.64	-0.31	125.4	-4.43	-7.76	-0.35	130.8
	423.15				135.0				141.4
1.0 M, OM	378.15				121.1				125.1
	393.15	2.38	5.71	-0.33	125.9	-0.94	-2.40	-0.34	130.1
	423.15				135.5				140.2
1.5 M, OM	378.15				121.0				125.2
	393.15	0.66	3.99	-0.33	125.8	-4.55	-1.22	-0.33	130.1
	423.15				135.4				139.9
2.0 M, OM	378.15				121.0				125.0
	393.15	6.50	3.17	-0.31	125.8	-2.83	0.50	-0.33	130.0
	423.15				135.4				140.0
1.0 M, TR	378.15				64.1				123.6
	393.15	10.63	3.96	-0.33	66.7	9.60	12.93	-0.36	129.0
	423.15				71.7				139.9
1.5 M, TR	378.15				61.6				123.9
	393.15	11.12	7.80	-0.30	64.0	4.36	1.02	-0.32	128.7
	423.15				68.9				138.5
2.0 M, TR	378.15				71.9				123.6
	393.15	11.53	1.79	-0.33	74.7	0.66	3.99	-0.34	128.7
	423.15				80.4				138.8

3.3 Análisis de varianza factorial de la hidrólisis ácida

Se realizó un análisis de varianza factorial con un nivel de confianza de 95 % para cada material (CP, OM y TR) utilizando 3 factores con diferentes niveles. Los factores fueron tipo de ácido (H_2SO_4 y H_3PO_4), concentración (1, 1.5 y 2 M) y temperatura (105, 120 y 150 °C), cada uno con dos réplicas. El número total de experimentos fue de 36, valor obtenido a partir de las interacciones de cada uno de los niveles de cada una de las variables y sus réplicas. La cantidad de azúcares reductores máxima (Tabla 3.3) obtenida fue seleccionada como variable dependiente o respuesta.

Las Tablas 3.9, 3.10 y 3.11 resumen el ANOVA obtenido para la producción de azúcares de la CP, OM y TR, respectivamente.

Tabla 3.9 ANOVA obtenido para la obtención de los azúcares a partir de la CP.

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Valor p
Modelo	17	1064.75	62.632	0.90	0.588
Lineal	5	423.95	84.789	1.21	0.343
Ácido (A)	1	15.35	15.347	0.22	0.645
Conc. (B)	2	133.98	66.989	0.96	0.403
Temp. (C)	2	274.62	137.311	1.96	0.169
Interacciones 2 términos	8	638.40	79.800	1.14	0.384
AB	2	18.17	9.083	0.13	0.879
AC	2	6.67	3.337	0.05	0.954
BC	4	613.56	153.389	2.19	0.008
Interacciones 3 términos	4	2.41	0.601	0.01	1.000
ABC	4	2.41	0.601	0.01	1.000
Error	18	1259.52	69.974		
Total	35	2324.27			

De acuerdo con el valor-p, para la CP la interacción BC (concentración-temperatura) tiene efecto significativo (valor-p < 0.05) sobre la obtención de azúcares reductores, mientras que el resto de los factores y sus interacciones resultaron estadísticamente insignificantes ya que mostraron un valor-p > 0.05.

Tabla 3.10 ANOVA de la obtención de los azúcares a partir del OM

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Valor p
Modelo	17	123.003	7.2354	2.44	0.034
Lineal	5	100.824	20.1648	6.81	0.001
Ácido (A)	1	4.094	4.0939	1.38	0.255
Concentración (B)	2	94.436	47.2178	15.96	0.001
Temperatura (C)	2	2.295	1.1473	0.39	0.684
Interacciones 2 términos	8	21.004	2.6255	0.89	0.546
AB	2	3.012	1.5059	0.51	0.610
AC	2	14.677	7.3387	2.48	0.112
BC	4	3.315	0.8287	0.28	0.887
Interacciones 3 términos	4	1.175	0.2937	0.10	0.981
ABC	4	1.175	0.2937	0.10	0.981
Error	18	53.268	2.9593		
Total	35	176.271			

Para el caso del OM y el TR se concluyó que el factor B (concentración) tiene efecto significativo sobre la producción de azúcares reductores, además, para el caso del TR el factor A (ácido) y la interacción de los factores AC (ácido-temperatura) también resultaron significativos para el proceso.

Tabla 3.11 ANOVA de la obtención de los azúcares a partir del TR

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Valor p
Modelo	17	914.28	53.781	2.22	0.051
Lineal	5	738.05	147.610	6.09	0.002
Ácido (A)	1	94.85	94.851	3.91	0.063
Conc. (B)	2	543.01	271.507	11.20	0.001
Temp. (C)	2	100.18	50.091	2.07	0.719
Interacciones 2 términos	8	175.13	21.892	0.90	0.220
AB	2	6.13	3.067	0.13	0.223
AC	2	16.52	8.258	0.34	0.036
BC	4	152.48	38.121	1.57	0.929
Interacciones 3 términos	4	1.10	0.274	0.01	0.965
ABC	4	1.10	0.274	0.01	0.965
Error	18	436.53	24.252		
Total	35	1350.81			

En el Figura 3.6 se presentan la gráfica de interacción para los 4 factores del proceso: tipo de ácido (A), concentración (B), temperatura (C) y tipo de material (D).

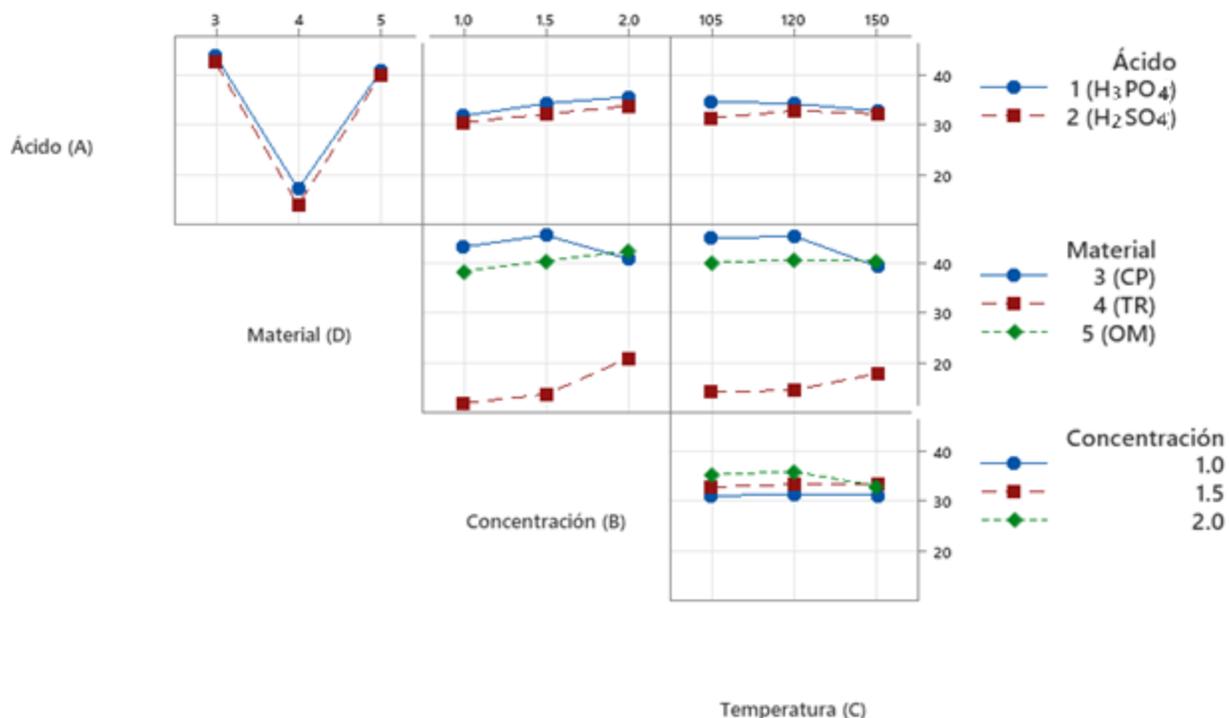


Figura 3.6 Gráfica de interacción para la obtención de azúcares reductores.

En la interacción AD, se observa que para los dos tipos de ácido el TR es el material que menos producción de azúcares presenta (>20 g/100 g material), por otra parte, con el OM y la CP se obtienen producciones arriba de 40 g azúcar/100 g de material, lo cual se puede observar en las Figuras 3.4 y 3.5, en las interacciones AB y AC no presentan influencia significativa en la obtención de azúcares; sin embargo, con el H_3PO_4 se obtiene un ligero incremento en la producción de azúcares.

En cuanto a las interacciones DB y DC se observa nuevamente que el TR presentó producciones de azúcar muy bajas comparadas con la CP y el OM y, además, para la CP el incremento en la concentración y temperatura de 1 a 1.5 M y de 105 a 120 °C no influyó significativamente en el proceso de hidrólisis, pero al aumentar a 2 M y 150 °C los azúcares disminuyeron, caso contrario para el OM en el cual se observa que la concentración y la temperatura no tuvieron influencia significativa. Lo anterior coincide con el Análisis ANOVA realizado para cada material (Tablas 3.8, 3.9 y 3.10). Por último,

se observó que para la interacción BC la temperatura influyó más con una mayor concentración de ácido.

Revisando el análisis estadístico y el gasto energético (Sección 3.2) se concluye que, de los materiales y las condiciones de operación probados, en los que se obtuvo una mayor cantidad de azúcares reductores fueron la CP y el OM con H_3PO_4 a una concentración 1.5 M y una temperatura de 105 °C a un tiempo de 120 min (47.75 y 41.89 g azúcar/100 g material, respectivamente).

CONCLUSIONES

Se investigó la hidrólisis ácida diluida de tres de los residuos agrícolas más importantes que se generan en el Estado de México (CP, OM y TR) con dos tipos de ácido (H_3PO_4 y H_2SO_4). El análisis de los materiales reveló un contenido significativo de holocelulosa: CP 69.36%, OM 70.17% y TR 63.89%.

El rendimiento de azúcares reductores se vio favorecido con un incremento tanto de la concentración del ácido (de 1 a 1.5 M) como de la temperatura (de 105 a 120 °C) asociado con un decremento en los tiempos de reacción.

La CP y el OM mostraron un mayor potencial para la producción de azúcares reductores en relación con el TR, siendo la mejor condición de operación para la CP y el OM a 105 °C y una concentración 2 M de H_3PO_4 , para los tres materiales; sin embargo, la producción obtenida con condiciones menos severas (105 °C y 2.0 M) se logran resultados similares por lo que tendría que evaluarse el costo beneficio para establecer las condiciones de operación más adecuadas.

Se observó una disminución en la producción de furfural al utilizar H_3PO_4 para la CP y el OM, esto aunado a los incrementos en el rendimiento de azúcares y la disminución de los tiempos; también, se observó que el H_3PO_4 tuvo un mayor potencial para la hidrólisis de los residuos.

De acuerdo con los perfiles de producción se observó la descomposición de los azúcares reductores a tiempos por arriba de los 120 min con H_3PO_4 y 180 min con H_2SO_4 . La cinética de hidrólisis para los tres materiales utilizados se modeló mediante la ecuación de Saeman, las constantes cinéticas mostraron que la reacción de producción fue predominante ($k_1 > k_2$, $k_r > 1$) sobre la de descomposición de azúcares reductores con la CP y el OM, mientras que, para el TR, predominó la de descomposición.

El proceso de hidrólisis con H_2SO_4 para los tres materiales resultó ser endotérmico y no espontáneo, de acuerdo con los valores positivos de la entalpía y la energía libre de Gibbs tanto en la producción como en la descomposición de los azúcares reductores. La energía de activación resultó mayor para el TR en comparación con la CP y el OM, lo que indica

que el TR es un material complejo y con bajo potencial para la obtención de azúcares reductores. Las tendencias de los parámetros termodinámicos obtenidos mostraron que la temperatura presentó una mayor influencia sobre la producción y la descomposición de azúcares reductores en comparación con la variación de la concentración del H_2SO_4 , esto para la CP y el OM; sin embargo, en el caso del TR se observó la influencia de ambos parámetros.

5. REFERENCIAS

Abril A., Navarro E. (2012). Etanol a partir de biomasa lignocelulósica. Editorial Aleta. 101 paginas

Adeogun A., Agboola B., Idowu A., Shittu A., (2019). ZnCl₂ enhanced acid hydrolysis of pretreated corncob for glucose production: Kinetics, thermodynamics, and optimization analysis, *Journal of Bioresources and Bioproducts*, Vol. 4, 149-158.

Agbor V., Cicek N., Sparling R., Berlin A., Levin D. (2011). Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances*. Vol. 29, 675-685.

Ajala O., Ajala A., Tijani A., Adebisi A., Suru I. (2020). Kinetics modelling of acid hydrolysis of cassava (*Manihot esculenta* Cranz) peel and its hydrolysate chemical characterization, *Journal of King Saud University Science*. Vol. 32, 2284-2292.

Banerjee R., Chintagunta A. D., Ray S. (2017). A cleaner and eco-friendly bioprocess for enhancing reducing sugar production from pineapple leaf waste, *Journal of cleaner production*, Vol. 149, 387-395.

Barroso C. M. (2010). Pretratamiento de biomasa celulósica para la obtención de etanol en el marco de una biorrefinería, Universidad Politécnica de Madrid, España

Behera S., Arora R., Nandhagopal N., Kumar S. (2014). Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renewable and sustainable energy reviews*, Vol. 36, 91-106.

Binder J., & Raines T. (2010). Fermentable sugars by chemical hydrolysis of biomass. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 107(10), 4516-4521.

Boontum A., Phetsom J., Rodiahwati W., Kitsubthawee K., Kuntothom T. (2019). Characterization of diluted-acid pretreatment of Water hyacinth. *Applied Science and Engineering Progress*. Vol. 12, 253-263.

Brazil O., Vilanova-Neta J., Silva N., Vieira I., Lima Á., Ruzene D., Figueiredo R., (2019). Integral use of lignocellulosic residues from different sunflower accessions: Analysis of the production potential for biofuels. *Journal of Cleaner Production*, Vol. 221, 430-438.

Cao G., Ren N., Wang A., Lee D., Guo W., Liu B., Feng Y., Zhao Q. (2018). Acid hydrolysis of corn stover for Biohydrogen production using *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16 *International Journal of Hydrogen Energy*. Vol. 34, 7182-7188.

Casco J. M. & Herrero R. H., (2008). *Compostaje*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 530p.

Castro E., Nieves I. U., Mullinnix M. T., Sagues W. J., Hoffman R. W., Fernández Sandoval M. T., Tian Z., Rockwood D. L., Tamang B., Ingram L. O. (2014). Optimization of dilute phosphoric acid steam pretreatment of *Eucalyptus benthamii* for biofuel production. *Applied Energy*. Vol. 125, 76-83.

Cheng C., Lo Yung C., Lee Kuo S., Lee Duu J., Lin Chiu Y., Chang Jo S., (2011). Biohydrogen production from lignocellulosic feedstock. *Bioresource Technology*. Vol. 102, 8514-8523.

Coates J. 2000. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. R. A. Meyers (Ed.), Ed. JohnWiley&Sons Ltd, Chichester.

Conte P., Maccotta A., De Pasquale C., Bubici S., Alonzo G. (2009). Dissolution mechanism of crystalline cellulose in H₃PO₄ as assessed by high-field NMR spectroscopy and fast field cycling NMR relaxometry. *Journal of agricultural and food chemistry*, Vol. 57(19), 8748-8752.

Dai D., & Fan M. (2010). Characteristic and performance of elementary hemp fibre. *Materials Sciences and Applications*, Vol. 1(06), 336.

Díaz-Blanco D. I., De la Cruz J. R., López-Linares J.C., Morales-Martínez T. K., Ruiz E., Ríos-González L. J., Romero I., Castro E. (2018). Optimization of dilute acid pretreatment of Agave lechuguilla and ethanol production by co-fermentation with *Escherichia coli* MM160. *Industrial Crops and Products*. Vol. 114, 154-163.

Fockink D. H., Sánchez J. H., Ramos L. P. (2018). Comprehensive analysis of sugarcane bagasse steam explosion using autocatalysis and dilute acid hydrolysis (H₃PO₄ and H₂SO₄) at equivalent combined severity factors. *Industrial Crops and Products*, Vol. 123, 563-572.

Galbe M. & Zacchi G. (2002). A review of the production of ethanol from softwood. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 59, 618-628.

Gámez S., González-Cabriaes J. J., Ramírez J. A., Garrote G., Vázquez M. (2015). Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid. *Journal of food engineering*, Vol. 74(1), 78-88.

Gaur R., Soam S., Sharma S., Gupta R. P., Bansal V. R., Kumar R., Tuli D. K. (2016). Bench scale dilute acid pretreatment optimization for producing fermentable sugars from cotton stalk and physicochemical characterization. *Industrial Crops & Products*, Vol. 83, 104-112.

Gaxiola E., Avila-Gaxiola J., Velarde-Escobar O., Ramos-Brito F., Atondo-Rubio G., Yee-Rendon C. (2018). Effect of drying temperature on Agave tequilana leaves: a pretreatment for releasing reducing sugars for biofuel production. *Journal of Food Process Engineering*, Vol. 40(3), 24-55.

Guerra-Rodríguez E., Portilla-Rivera O. M., Jarquín-Enríquez L., Ramírez J. A., Vázquez M. (2012). Acid hydrolysis of wheat straw: A kinetic study. *Biomass & Bioenergy*, Vol. 36, 346-355.

Hong B., Xue G., Weng L., & Guo X. (2016). Pretreatment of moso bamboo with dilute phosphoric acid. *BioResources*, Vol. 7(4), 4902-4913.

INEGI. 2019. (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). Cuéntame Economía y Agricultura. (Consultada el 8 de octubre del 2019). <http://cuentame.inegi.org.mx/economia/primarias/agri/default.aspx?tema=E>

Ioelovich M. (2012). Study of cellulose interaction with concentrated solutions of sulfuric acid. *International Scholarly Research Notices*. Vol. 2012.

Jang M. & Choi G. (2018). Techno-economic analysis of butanol production from lignocellulosic biomass by concentrated acid pretreatment and hydrolysis plus continuous fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 134, 30-43.

Jung Y. H., Kim I. J., Kim H. K., Kim K. H. (2013). Dilute acid pretreatment of lignocellulosic for whole slurry ethanol production fermentation. *Bioresource Technology*. Vol. 132, 109-114.

Kalia S., Dufresne A., Cherian B. M., Kaith B. S., Avérous L., Njuguna J., Nassiopoulos E. (2011). Cellulose-based bio-and nanocomposites: a review. *International journal of polymer science*, Vol. 2011.

Keller F. A. (1996). Integrated bioprocess development for bioethanol production. In: Wyman CE (ed) Handbook on bioethanol: production and utilization. Taylor and Francis, Bristol, pp. 351-35

Kim J. S., Lee Y. Y., Kim T. H. (2016). A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, Vol. 199, 42-48.

Larsson S., Quintana-Sáinz A., Reimann A., Nilvebrant N. O., Jönsson L. J. (2000). The influence of lignocellulose-derived aromatic compounds on oxygen-limited growth and ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* Vol. 84-86: 617-632.

Lenihan P., Orozco A., O'Neill E., Ahmad M. N. M., Rooney W., Walker G. M. (2010). Dilute Acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Chemical Engineering Journal*. Vol. 156, 395-403.

LGPGIR. Ley General Para la Prevención y Gestión Integral de los Residuo publicada en el diario oficial de la federación, 8 de octubre de 2003, Última reforma publicada DOF 22-05-2015 (2015).

Li P., Cai D., Luo Z., Qin P., Chen C., Wang Y., Tan T. (2016). Effect of acid pretreatment on different parts of corn stalk for second generation ethanol production. *Bioresource technology*, Vol. 206, 86-92.

Linares J., (2018). Aprovechamiento integral de la paja de colza mediante fraccionamiento de sus componentes (Doctoral dissertation, Universidad de Jaén).

Lu P., & Hsieh Y. L. (2010). Preparation and properties of cellulose nanocrystals: rods, spheres, and network. *Carbohydrate polymers*, Vol. 82(2), 329-336.

Mateos M. I. (2006). Aprovechamiento De Residuos Agrarios <http://www.eeci.net> - <http://www.ciemat.es/eng/proyectos/pderbiocombus>

Morán J. I., Alvarez V. A., Cyras V. P., & Vázquez A. (2008). Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose*, Vol. 15, 149-159.

Muro R., Camacho V., Guevara-Hernández F. (2013). Rastrojos: manejo, uso y mercado en el centro y sur de México.

Oliva Domínguez., (2003). Efecto de los productos de degradación originados en la explosión por vapor de biomasa de chopo sobre *Kluyveromyces marxianus*, Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, Facultad de ciencias biológicas.

Olsson L. & Hahn-Hägerdal B. (1996). Fermentation of lignocellulosehydrolysates for ethanol production. *Enzyme Microbiol. Technol.* Vol. 18: 312-331.

Panagiotopoulos I. A., Bakker R. R., De Vrije T., Koukios, E. G. (2017). Effect of pretreatment severity on the conversion of barley straw to fermentable substrates and the release of inhibitory compounds. *Bioresource technology*, Vol. 102(24), 11204-11211.

Ranganathan S., McDonald D. G., Bakhsi N. N. (1985). Kinetic studies of wheat straw hydrolysis using sulphuric acid. *Canadian Journal of Chemical Engineering*. Vol. 63, 840-844.

Rintu B., Chintagunta A., Ray S. (2017). A cleaner and eco-friendly bioprocess for enhancing reducing sugar production from pineapple leaf waste. *Journal of Cleaner Production*, Vol. 149, 387-395.

Rodríguez L., Gallardo Aguilar I., Nieblas Morfa C., Medina Macola J., Ortiz Fernández W. (2015). Obtención de jarabes dextrinizados mediante hidrólisis enzimática del almidón de sorgo. *Centro azúcar*, Vol. 42(4), 49-58.

Roman M., & Winter W. (2014). Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. *Biomacromolecules*, Vol. 5(5), 1671-1677.

Romero A.J., Molina A., Garcia P., Ruiz-Colorado A.A., Linares-Solano A., Salinas-Martínez de Lecea C. (2003). "Phosphoric acid activation of recalcitrant biomass originated in ethanol production from banana plants". *Biomass and Bioenergy*, Vol. 35 (3), 1196–1204.

Roy Anindita & Kumar Ashwani. (2013). Pretreatment methods of lignocellulosic materials for biofuel production. A review. *Journal of Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences*. Vol. 2, 181-193.

Saeman J. F. (1945). Kinetics of wood saccharification: Hydrolysis of cellulose and decomposition of sugars in dilute acid at high temperature. *Industrial and Engineering Chemistry*. Vol. 37, 43-52.

Saha S., Jeon B. H., Kurade M. B., Jadhav S. B., Chatterjee P. K., Chang S. W., Govindwar S. P., Kim S. J. (2018). Optimization of dilute acetic acid pretreatment of mixed fruit waste for increased methane production. *Journal of Cleaner Production*. Vol. 190, 411-421.

Sahoo D., Ummalyma S. B., Okram A. K., Pandey A., Sankar M., Sukumaran R. K (2018). Effect of dilute acid pretreatment of wild rice grass (*Zizania latifolia*) from Loktak Lake for enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*. Vol. 253, 252-255.

Saratale T. G., Chen S., Lo Y., Saratale, R., & Chang J., (2019). Outlook of biohydrogen production from lignocellulosic feedstock using dark fermentation—a review.

Sarkar N., Aikat K. (2013). Kinetic study of acid hydrolysis of rice straw. *ISRN Biotechnology*. Vol. 2013, 1-5.

Sarma P. N., Reddy M. V., Amulya K., Rohit M. V., Mohan S. V. (2014). Valorization of fatty acid waste for bioplásticos production using *Bacillus tequilensis*: Integration with dark fermentative hydrogen production process. *International Journal of Hydrogen Energy*. Vol. 39, 7616-7626.

Sewsynker-Sukai Y., Suinyuy T. N., Kana E. G. (2018). Development of a sequential alkalic salt and dilute acid pretreatment for enhanced sugar recovery from corn cobs. *Energy Conversion and Management*. Vol. 160, 22-30.

SIAP, Servicio Agroalimentaria y Pesquera; Food, Agriculture and Fishing Information Service, 2021, 2da ed., México.

Singh S., Cheng G., Sathitsuksanoh N., Wu D., Varanasi P., George A., Balan V., Gao X., Kumar R., Dale B. E., Wyman C. E., Simmons B. A. (2014). Comparison of different biomass pretreatment techniques and their impact on chemistry and structure. *Frontiers in Energy Research*. Vol. 2, 1-12.

Solarte-Toro J. C., Romero-García J. M., Martínez-Patiño J. C., Ruiz-Ramos E., Castro-Galiano E., Cardona-Alzate C. A. (2019). Acid pretreatment of lignocellulosic biomass for energy vectors production: A review focused on operational conditions and techno-economic assessment for bioethanol production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Vol. 107, 587-601.

Sun S. L., Sun S. N., Wen J. L., Zhang X. M., Peng F., Sun R. C. (2015). Assessment of integrated process based on hydrothermal and alkaline treatments for enzymatic saccharification of sweet sorghum stems. *Bioresource Technology*. Vol. 175, 473-479.

Sun Y. & Cheng J. (2004). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*. Vol. 83: 1-11.

Taherzadeh M., & Karimi K. (2008). Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *International journal of molecular sciences*, Vol. 9(9), 1621-1651.

TAPPI Technical Association of the Pulp and Paper Industry. (1994). *Tappi Test Methods 1994*. Tappi press, Atlant

Thakur S., Shrivastava B., Ingale S., Kuhad C., Gupte, A. (2013). Degradation and selective ligninolysis of wheat straw and banana stem for an efficient bioethanol production using fungal and chemical pretreatment. *3 Biotech*, Vol. 3(5), 365-372.

Timung R., Mohan M., Chilukoti B., Sasmal S., Banerjee T., Goud V. V. (2015). Optimization of dilute acid and hot water pretreatment of different lignocellulosic biomass: A comparative study. *Biomass & Bioenergy*. Vol. 81, 9-18.

Tizazu B.Z., & Moholkar V. S. (2018). Kinetic and thermodynamic analysis of dilute acid hydrolysis of sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*. Vol. 250, 197-203.

Ventura-Cruz S., & Tecante A. (2019). Extraction and characterization of cellulose nanofibers from Rose stems (*Rosa* spp.). *Carbohydrate polymers*, Vol. 220, 53-59.

Vinogradov V. V., Mizerovskii L. N., Akaev O. P. (2002). Reaction of cellulose with aqueous solutions of orthophosphoric acid. *Fibre Chemistry*, Vol. 34(3), 167-171.

Waleed K., Ibrahim M., Abdel-Fattah R., Soliman N., Mahmoud M. (2013). Acid and enzyme hydrolysis to convert pretreated lignocellulosic materials into glucose for ethanol production. *Carbohydrate polymers*, Vol. 84(3), 865-871.

Wertz J., Bédué O., & Mercier J. (2010). *Cellulose science and technology*. EPFL press.

Woiciechowski A. L., Dalmas-Neto C. J., De Souza V. L. P., Carvalho N. D. P., Novak S. A. C., Junior L. L.A., Karp S. G., Zevallos T. L. A., Soccol C. R. (2020). Lignocellulosic biomass: Acid and Alkaline pretreatments and their effect on biomass recalcitrance. Conventional processing and recent advances. *Bioresource Technology*. Vol. 304, 122848.

Xiang Y., & Kruse N. (2016). Tuning the catalytic CO hydrogenation to straight-and long-chain aldehydes/alcohols and olefins/paraffins. *Nature Communications*, Vol. 7(1), 13058.

Xu F., Yu J., Tesso T., Dowell F., Wang D. (2013). Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques. A mini review. *Applied Energy*. Vol. 107, 94-99.

Yi Zheng, Jia Zhao, Fuqing Xu, Yebo Li. (2014). Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*. Vol. 42, 35-53.

Yu Y., & Wu H. (2010). Significant differences in the hydrolysis behavior of amorphous and crystalline portions within microcrystalline cellulose in hot-compressed water. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, Vol. 49(8), 3902-3909.

Zhang, H., Jin, Q., Xu, R., Yan, L., & Lin, Z. (2011). Kinetic studies of xylan hydrolysis of corn stover in a dilute acid cycle spray flow-through reactor. *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, Vol. 5, 252-257.

Zhang X., Zhang D., Sun Z., Xue L., Wang X., Jiang Z. (2016). Highly efficient preparation of HMF from cellulose using temperature-responsive heteropolyacid catalysts in cascade reaction. *Applied Catalysis B: Environmental*, Vol. 196, 50-56.

Zhu Z., Rezende C., Simister R., McQueen-Mason X., Macquarrie D. J., Polikarpov I., Gomez L., (2016). Efficient sugar production from sugar cane bagasse by microwave assisted acid and alkali pretreatment. *Biomass & Bioenergy*. Vol. 93, 269-278.