

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**  
**Departamento de Agroindustria Alimentaria**  
**Ingeniería en Agroindustria Alimentaria**



Proyecto Especial de Graduación

**Efecto de la temperatura y concentración de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) en  
la producción de azúcares en el pretratamiento de rastrojos de maíz  
(*Zea mays*)**

Estudiante

Irma Maria Janania Gámez

Asesores

Raúl Espinal, Ph.D.

Luis Maldonado, Ph.D.

Honduras, julio 2021

**Autoridades**

**TANYA MÜLLER GARCÍA**

Rectora

**ANA M. MAIER ACOSTA**

Vicepresidenta y Decana Académica

**ADELA M. ACOSTA MARCHETTI**

Directora Departamento de Agroindustria Alimentaria

**HUGO ZAVALA MEMBREÑO**

Secretario General

## Contenido

Contenido .....	3
Índice de Cuadros.....	4
Índice de Figuras .....	5
Resumen .....	6
Abstract.....	7
Introducción.....	8
Materiales y Métodos .....	10
Resultados y Discusión .....	16
Conclusiones .....	24
Recomendaciones .....	25
Referencias .....	26

### Índice de Cuadros

Cuadro 1. Descripción del diseño experimental .....	13
Cuadro 2. Niveles codificados de las variables independientes del experimento.....	14
Cuadro 3. Descripción del diseño experimental, valores codificados y reales de cada tratamiento. ...	15
Cuadro 4. Humedad del tallo de rastrojo de maíz en piezas. ....	16
Cuadro 5. Contenido de fibra del rastrojo de maíz pulverizado.....	17
Cuadro 6. Coeficientes de regresión, probabilidad, valor R2 para el pH del hidrolizado en función de la temperatura y concentración de H2SO4.....	17
Cuadro 7. Coeficientes de regresión, probabilidad, valor R2 para °Brix del hidrolizado en función de la temperatura y concentración de H2SO4.....	19
Cuadro 8. Coeficientes de regresión, probabilidad, valor R2 para azúcares totales del hidrolizado en función de la temperatura y concentración de H2SO4.....	21

### Índice de Figuras

Figura 1. Efecto de temperatura y concentración de ácido H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> en el pH del hidrolizado.....	18
Figura 2. Efecto de la temperatura y concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> en el contenido °Brix del hidrolizado. .....	20
Figura 3. Efecto de la temperatura y concentración de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> en el porcentaje de azúcares totales del hidrolizado.....	22
Figura 4. Función de utilidad para la optimización del pretratamiento con ácido sulfúrico para tallos de rastrojo de maíz.....	23

### Resumen

En la actualidad, la producción de bioetanol es una de las energías renovables mayormente utilizadas. La accesibilidad a biomasa es amplia en el rubro agrícola, lo cual facilita la producción del bioetanol. Sin embargo, al avanzar las capacidades tecnológicas para la obtención de etanol, se busca mejorar también el rendimiento de la materia prima. Se han implementado diferentes pretratamientos para promover la producción de azúcares fermentables. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de temperatura y concentración de ácido sulfúrico en la hidrólisis ácida del rastrojo de maíz para obtener una mayor cantidad de azúcares. Se utilizó la metodología de superficie de respuesta con un modelo rotacional y se definieron las siguientes variables independientes: Temperatura y concentración de ácido sulfúrico. Como variables dependientes, se establecieron las siguientes: pH, °Brix y azúcares totales. De las tres regresiones matemáticas generadas, tres probaron ser tendenciosas y una predictiva. El tratamiento que produjo mayor cantidad de °Brix y azúcares totales se basó en una temperatura de hidrólisis de 130 °C y una concentración de ácido de 4.50%.

Palabras clave: Bioetanol, hidrólisis ácida, azúcares fermentables.

### **Abstract**

Bioethanol production is one of the most common renewable energies currently used. The access to biomass is wide in the agricultural sector, which facilitates the production of ethanol. Nonetheless, due to the progress made with regards to the technological abilities for obtaining ethanol, the improvement of the efficiency of the raw material is also of high interest. Different pretreatments have been implemented in order to promote the production of fermentable sugars. The objective of this study is to evaluate the effect of temperature and concentration of sulfuric acid in the acid hydrolysis of corn stover in order to obtain a higher amount of sugars. The method utilized was response surface with a rotational model and the following independent variables were defined: temperature and concentration of sulfuric acid. For the dependent variables, the following were established: pH, °Brix, and total sugars. Out of the 3 mathematical regressions generated, two of them were considered of tendentious nature and one of them was of predictive nature. The treatment which provided the highest amount of °Brix and total sugars, was based on a temperature of 130°C for the hydrolysis combined with a concentration of sulfuric acid of 4.50%.

Keywords: Bioethanol, acid hydrolysis, fermentable sugars.

## Introducción

La producción de etanol es una de las energías renovables capaces de competir con la combustión de fósiles. Esta bioenergía toma un puesto considerable en el mercado y su expansión es imparable, por lo que la importancia de optimizar el rendimiento de los biocombustibles es significativa. De igual manera, esta energía renovable tiene como beneficios la reducción de gases de efecto invernadero, generación de empleos y la sustitución de la importación de combustibles fósiles (Islas et al., 2007). A medida que se expande el mercado, crece también la tecnología en este ámbito con el objetivo de hacer avances relevantes y así obtener una oportunidad de desarrollo económico en diferentes países.

Los biocombustibles se pueden clasificar en primera, segunda y tercera generación según su origen, sin embargo, debido a que los biocombustibles de primera generación son aquellos provenientes de cultivos destinados para el consumo humano, su uso no se recomienda. Por el contrario, los biocombustibles de segunda generación no compiten con la seguridad alimentaria debido a que se obtienen de partes de cultivos no consumidas por humanos (Cavieres, 2008). Un ejemplo de materia prima de esta segunda generación es el rastrojo de maíz (*Zea mays*), el cual, se reconoce como un residuo agrícola abundante y de costo relativamente bajo. El rastrojo de maíz toma en consideración las hojas, tallo, marlos, tallas y panojas de la planta (Acevedo A, 2013).

La pared celular de los tallos de maíz se contiene altos contenidos de material lignocelulósico, el cual se compone mayormente de celulosa, hemicelulosa y lignina (Cuaspud Caliz O., 2017). Todos estos materiales son primordiales para la elaboración de etanol como biocombustible (Oliva C, Lopetry M, González S, Pedraza G., 2004). El proceso de producción de etanol se divide en cuatro etapas generales, comenzando por el pretratamiento. En este caso, el pretratamiento es la etapa de interés debido a que se encarga de transformar la estructura del material lignocelulósico para hacer más accesible la celulosa. El hecho de utilizar ácido sulfúrico a temperaturas elevadas en la hidrólisis permite una redistribución de la lignina, la eliminación de hemicelulosa y mejora la digestibilidad de

la celulosa al promover su realineamiento (González Rentería SM., Soto Cruz, NO., Rutiaga Quiñones OM., Medrano Roldán H., Rutiaga Quiñones JG., Lopez Miranda J., 2011).

El método comúnmente utilizado en el pretratamiento es la hidrólisis de ácido diluido debido a su eficiencia y bajo costo. Al ser un método tan reconocido, se realizan muchos estudios para optimizar el proceso para la extracción de azúcares totales del material lignocelulósico. El ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) es el ácido comúnmente utilizado para la hidrólisis de ácido diluido debido a que solubiliza efectivamente la celulosa y otros azúcares compuestos para mejorar la conversión de la celulosa (Sanchez et al., 2004). Posteriormente, la celulosa extraída se fermenta y se obtienen monosacáridos en forma de azúcares que se utilizan para la elaboración del combustible (Sun y Cheng, 2002).

En este estudio se evaluó la influencia de diferentes temperaturas y concentraciones de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) en la hidrólisis que se lleva a cabo en el pretratamiento, con el objetivo de comprobar cual optimiza más la accesibilidad de los componentes deseados. Se busca mejorar el rendimiento del material para llegar a obtener una mayor cantidad de azúcares y así, una mayor cantidad de bioetanol de segunda generación.

Los objetivos de la investigación fueron los siguientes:

Analizar el efecto de diferentes temperaturas y concentraciones de ácido sulfúrico en la hidrólisis de ácido diluido sobre el tallo de rastrojos de maíz (*Zea mays*).

Determinar los valores óptimos de las variables evaluadas en el pretratamiento para una mayor producción de azúcares.

Mejorar el rendimiento del tallo de rastrojo de maíz para la producción de bioetanol a partir de los azúcares producidos.

Una de las mayores limitaciones del estudio es el alto costo de los análisis y, por lo tanto, el presupuesto disponible para realizar el estudio.

## Materiales y Métodos

### Ubicación

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ), de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, ubicado en el departamento Francisco Morazán, Km 30 carretera Tegucigalpa a Danlí, Honduras. El rastrojo de maíz fue proporcionado por el departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria.

### Fase I

#### ***Determinación de Material de Muestra de Rastrojo de Maíz***

La obtención del material fue de rastrojo entero de maíz, por lo que se comenzó con el cortado en partes más pequeñas. Por consiguiente, se seleccionaron diferentes porciones de tallos para obtener una muestra homogénea con diferentes porcentajes de humedad. Los tallos contienen de cuatro a cinco veces más azúcares solubles que el resto de la planta, por lo tanto, se utilizó solamente esta parte del rastrojo (Treviño et al., 1974). El origen del rastrojo de maíz utilizado procedía de una tesis establecida en los campos de la universidad, específicamente en el lote #11 del área denominada Zona 2.

#### ***Determinación de Humedad***

Los tallos se cortaron en piezas de 4-6 cm de largo para el proceso de secado. Se pesaron tres muestras del material cortado, pesando 100 g cada una de las muestras. Luego, se colocaron en bandejas de aluminio previamente secadas, identificadas y pesadas (36, 33 y 36 g) en una balanza OHAUS Defende™. Posterior al pesado de las muestras, estas se secaron en el horno DOPCO modelo 630 por 30 horas a 60 °C. Al retirar las bandejas del horno, se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente durante 15 minutos previo al pesado. Una vez enfriadas las muestras, estas se pesaron en la misma balanza OHAUS y se determinó la humedad aparente de cada una con la Ecuación 1:

$$\%Ha = \left[ 1 - \left( \frac{(\text{Peso bandeja+muestra seca}) - (\text{Peso bandeja vacía})}{(\text{Peso bandeja+muestra húmeda}) - (\text{Peso bandeja vacía})} \right) \right] \times 100 \quad [1]$$

### ***Preparación de la Muestra***

La muestra deshidratada se trituró con el molino Thomas-WILEY Laboratory Mill Model 4 utilizando una boquilla de 2 mm hasta reducir su tamaño total (Castillo Saldarriaga CR., Velásquez Lozano ME., 2018). Posteriormente, se intercambió la boquilla por una de 1 mm de manera que se obtuvo rastrojo pulverizado con un tamaño de entre 1-2 mm.

### ***Análisis de Fibra Ácido Detergente y Fibra Neutro Detergente***

Para la determinación de fibra se realizó un solo análisis utilizando la harina de rastrojo. Se utilizó el FOSS NIRSystem para el análisis, con la opción de pastos para obtener el dato de fibra neutro (FND) y ácido detergente (FAD).

### ***Hidrólisis de Ácido Diluido***

Se pesaron  $5.5 \pm 0.03$  g de muestra de tallo de rastrojo de maíz pulverizado y se colocó en un tubo del digestor Kjeltec. Se utilizó ácido sulfúrico a una concentración del 95% para todas las diluciones. Con el objetivo de mantener una relación de 1:20 (materia seca: dilución de ácido sulfúrico), se agregaron 110 mL de cada dilución a su determinado porcentaje (1.67, 2.5, 4.5, 6.5 y 7.33%). Se controló la temperatura (115, 120, 130, 140 y 144 °C) de cada tanda dependiente del tratamiento a establecer y se mantuvo en el digestor por 2 horas. El digestor utilizado fue el equipo de destilación para análisis de proteínas Kjeltec™ 8200 Foss.

Posterior a la finalización de la digestión, los tubos se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente por media hora. El filtrado de los hidrolizados se realizó tres veces utilizando un embudo y papel filtro con un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Se midió el volumen del hidrolizado restante con una probeta de 100 mL. Por consiguiente, se extrajeron 10 mL con una pipeta volumétrica para la neutralización del pH.

### ***Determinación de pH y Grados Brix***

A los 10 mL de hidrolizado extraídos se les midió el pH con el potenciómetro OHAUS Starter 2100 y se neutralizó hasta un pH de 7 utilizando NaOH al 1 N y al 0.1 N. El hidrolizado neutralizado se

pasó a matraces volumétricos de 100 mL y se aforó con agua desionizada (González E et al., 2012). Para la medición de grados Brix se tomó una pipeta Pasteur para agregar unas gotas al Fisher Scientific Portable Refractometer, visualizando la línea blanca en la escala.

#### ***Análisis de Azúcares Totales por Método AOAC 982.14***

La concentración de azúcares totales se midió por medio del método AOAC 982.14 utilizando el Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución (HPLC). Se comenzó realizando la curva estándar utilizando los estándares de glucosa, fructosa, galactosa y celulosa. El hidrolizado se acondicionó a temperatura ambiente, verificando su pH de 7. Se centrifugó la muestra a 600 rpm por 10 minutos y se extrajeron 2 mL con una jeringa de 5 mL. Por consiguiente, se agregaron 1.5 mL de muestra en los viales para la lectura del HPLC. La configuración del cromatógrafo líquido fue de un solo solvente en la fase móvil, utilizando agua desionizada y filtrada, una velocidad de flujo de 0.6 mL/min y un tiempo de corrido de 50 min por muestra. De igual manera, se utilizó la columna Hi-plex Ca 600 × 7.7 mm a una temperatura de 80 °C, y por último, el detector IR. El área bajo la curva se reemplazó utilizando la ecuación de la curva de calibración de acuerdo con el azúcar encontrado y se multiplicó el resultado por el factor de dilución de materia seca: solución de ácido sulfúrico. De esta manera, solamente se dividió entre 10 para obtener el resultado final y que fuese plasmado como g de azúcar/100 g de rastrojo.

#### **Fase II**

Para el diseño experimental se utilizó la metodología de análisis de superficie de respuesta con un modelo rotacional para dos factores: temperatura y concentración de ácido sulfúrico, utilizando una probabilidad de 5%. Para el ajuste del modelo, las variables independientes fueron estudiadas a través de tres niveles (-1, 0, +1) y fueron calculados en base a la Ecuación 2.

$$X_i = (X_i \times Z \Delta x_i) \quad [2]$$

Dónde:

$x_i$  = Valor codificado de la variable  $x_i$

$X_i$  = Valor real de la variable

$Z$  = Valor real de la variable en el punto central

$\Delta x_i$  = Valor del intervalo de la variable  $x_i$

Los dos niveles de variables axiales se codificaron como  $+\alpha$  y  $-\alpha$ . Los valores para alfa, dependen del número factorial ( $F=2^k$ ) y del número de variables independientes ( $K=2$ ) del diseño, definidos por la Ecuación 3.

$$\pm\alpha = (F)^{1/4} = (2K)^{1/4} = (2 \times 2)^{1/4} = 1.4142 \quad [3]$$

El número de tratamientos se determinaron en base a un diseño factorial completo definido por la Ecuación 4 y se describen en el Cuadro 1

$$n=2^k+2k+m \quad [4]$$

### Cuadro 1

*Descripción del diseño experimental.*

Expresiones	Cantidad de tratamientos	Puntos
$2^k = 2^2$	4	Factoriales
$2K = 2 \times 2$	4	Axiales
$m$	6	Centrales
Total	14	Unidades experimentales

Se obtuvieron 14 unidades experimentales, con cuatro puntos factoriales ( $2^k$ ), cuatro puntos axiales ( $2k$ ) y seis puntos centrales ( $m$ ). El punto central se obtuvo en base a la literatura citada, utilizando el tratamiento óptimo de un estudio que evaluó el efecto de la concentración de ácido sulfúrico y temperatura en la producción de azúcares en rastrojo de maíz (Cevallos Chamorro Z.V. y Chariguaman Chilibingua E.A., 2016). El modelo utilizado describió el comportamiento de la combinación entre las variables dependientes y las variables independientes.

Para la predicción del comportamiento de las variables, se ajustaron a través de un análisis de regresión lineal con un polinomio cuadrático con las variables ( $X_k$ ) y para cada respuesta (Y). Para la predicción del comportamiento de cada respuesta se utilizó la Ecuación 5.

$$Y_i = (\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \epsilon) \quad [5]$$

Dónde:

$Y_i$  = Función respuesta.

$\beta_0$  = Coeficiente relativo a la interpretación con la respuesta en el eje.

$X_1$  y  $X_2$  = Valores de las variables independientes.

$\beta_1$  y  $\beta_2$  = coeficientes lineales estimados por el mínimo cuadrado.

$\beta_{11}$  y  $\beta_{22}$  = Coeficientes para variables cuadráticas.

$\beta_{12}$  = Coeficiente de interacción entre variables independientes

$\epsilon$  = Error experimental

En el Cuadro 2 se observan los niveles codificados (-1, 0, +1) y los niveles axiales ( $-\alpha$ ,  $+\alpha$ ) del diseño experimental.

## Cuadro 2

*Niveles codificados de las variables independientes del experimento.*

Variables	Niveles				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Temperatura	115.86	120.00	130.00	140.00	144.14
Conc. Ácido Sulf	1.67	2.50	4.50	6.50	7.33

Los niveles codificados y reales se muestran en el Cuadro 3, donde se incluyen también los niveles reales de las variables independientes: Temperatura y concentración de ácido sulfúrico. Las variables dependientes que se evaluaron por cada tratamiento fueron: pH, °Brix y azúcares totales.

### Cuadro 3

*Descripción del diseño experimental, valores codificados y reales de cada tratamiento.*

Tratamientos	Niveles codificados		Niveles reales	
	Temperatura	Conc. Ácido Sulf	Temperatura	Conc. Ácido Sulf
1	-1	-1	120.00	2.50
2	-1	1	120.00	6.50
3	1	-1	140.00	2.50
4	1	1	140.00	6.50
5	-1.41	0	115.86	4.50
6	1.41	0	144.14	4.50
7	0	-1.41	130.00	1.67
8	0	1.41	130.00	7.33
9 ©	0	0	130.00	4.50
10 ©	0	0	130.00	4.50
11 ©	0	0	130.00	4.50
12 ©	0	0	130.00	4.50
13 ©	0	0	130.00	4.50
14 ©	0	0	130.00	4.50

*Nota. ©: Punto central del experimento*

Las variables codificadas, los coeficientes de regresión de variables decodificadas y los análisis realizados de las mismas, se obtuvieron por medio del programa Statistica 7. Al evaluar el ajuste al modelo lineal y para determinar si los resultados demostraban un modelo tendencioso o predictivo, se utilizó un  $R^2$  mayor a 0.70. Al encontrarse el  $R^2$  de los modelos por debajo de 0.70, se consideraron modelos tendenciosos y para aquellos por encima de 0.70, se consideraron modelos predictivos (Rocha 2009).

#### **Análisis Estadístico**

El ANDEVA llevado a cabo se realizó con el mismo programa, empleando una probabilidad del 5% de nivel de significancia.

#### **Fase III**

De acuerdo con los resultados de la función de utilidad del método de superficie de respuesta, se realizó el tratamiento establecido como tratamiento óptimo. De igual manera, se comenzó con la hidrólisis ácida siguiendo las variables escogidas de temperatura y concentración de  $H_2SO_4$ , siguiendo con la determinación de pH y grados Brix, además del perfil de azúcares por HPLC.

## Resultados y Discusión

### Determinación de Humedad

En el Cuadro 4 se muestra el contenido de la humedad de la materia prima de las tres repeticiones, donde se obtuvo niveles arriba del 50% en todos los casos (58, 60 y 60% respectivamente); por lo tanto, se llevó a cabo el proceso de secado del rastrojo con el que se realizaron el resto de los análisis. Estos resultados no van de acorde a la literatura, que menciona que, por lo general el porcentaje de humedad debería a ser inferior a 30% (Gould K, 2007).

### Cuadro 4

*Humedad del tallo de rastrojo de maíz en piezas.*

Muestra	Humedad (%) $\pm$ DE
Tallo de rastrojo de maíz	59.33 $\pm$ 1.15

*Nota. DE: Desviación Estándar.*

### Análisis de Fibra Ácido Detergente y Fibra Neutro Detergente

El Cuadro 5 muestra el contenido de fibra ácido (FAD) y neutro detergente (FND) en base a tres repeticiones. Los resultados obtenidos muestran concordancia con la investigación de Holgado F.D., Hernández M.E., Torres J.C. y Fernández J.L., (2010), la cual indica que se suele encontrar un mayor contenido de FND (88.71, 89.13 y 89.46%) en comparación a FAD (58.7, 59.01 y 59.69% respectivamente). Según la literatura, el contenido de ambos tiende a ser relativamente menor, no obstante, la diferencia no es tan grande. El contenido de lignina indica que se pueden formar compuestos fenólicos. Estos compuestos pueden actuar como inhibidores del crecimiento de microorganismos en las etapas futuras de fermentación si se encuentran en altas concentraciones (Loow et al., 2016). No obstante, las concentraciones encontradas en los hidrolizados son muy inferiores como para causar problemas (Palmqvist et al., 1996).

## Cuadro 5

*Contenido de fibra del rastrojo de maíz pulverizado.*

Muestra	ADF $\pm$ DE	NDF $\pm$ DE
Tallo de rastrojo de maíz pulverizado	59.13 + 0.51	89.1 + 0.38

DE: desviación estándar

## Determinación de pH del Hidrolizado

El pH del hidrolizado se muestra significativamente más ácido a medida que aumenta la concentración de ácido sulfúrico y en un rango de temperatura de entre 130 – 140 °C (Figura 1).

La variable cuadrática para la temperatura fue significativa ( $P < 0.05$ ) indicada en el Cuadro 6, de manera que hay una disminución de pH al alcanzar cierta temperatura. La variable de concentración no tuvo mayor efecto ( $P > 0.05$ ). No obstante, la interacción de las variables demuestra ser significativa ( $P < 0.05$ ), de manera que la distribución de valores de una variable difiere con los valores de la otra. El  $R^2$  se encuentra por debajo de 0.70, con un 57% de los datos que se ajustan al modelo en un modelo tendencioso, pero no predictivo.

## Cuadro 6

*Coefficientes de regresión, probabilidad, valor R2 para el pH del hidrolizado en función de la temperatura y concentración de H2SO4.*

Variable	Coefficiente de Regresión	Valor P
Intercepto	-26.2100	0.005333*
X <sub>1</sub>	0.4482	0.175163
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-0.0019	0.002152*
X <sub>2</sub>	-1.1914	0.992298
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0.0042	0.625462
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.0089	0.009580*
R <sup>2</sup>		0.57

Nota. \*: posee diferencia significativa en el modelo ( $P < 0.05$ ). R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación. X<sub>1</sub>: temperatura. X<sub>2</sub>: concentración de ácido sulfúrico.

La Ecuación matemática 6 representa el pH, basado en los resultados significativos del Cuadro

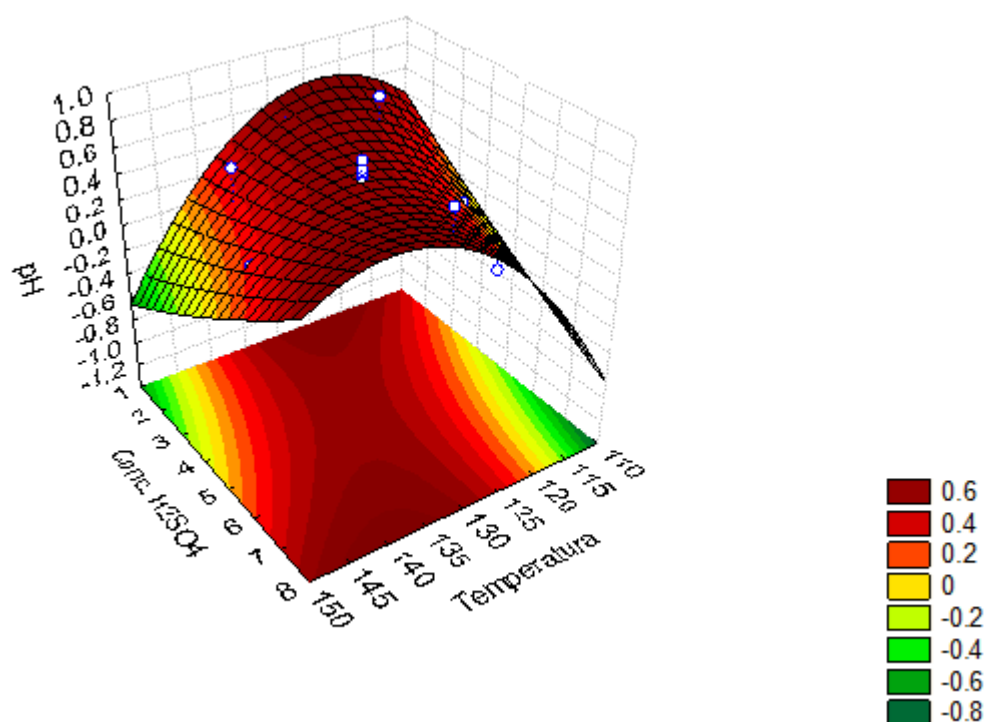
6.

$$\text{pH} = -26.21 - 0.0019 X_1^2 - 0.0089 X_1 * X_2 \quad [6]$$

La Figura 1 muestra la gráfica de superficie de respuesta para pH, basado en la Ecuación 5. El pH del hidrolizado disminuye a medida que disminuye la concentración de ácido sulfúrico y aumenta la temperatura del hidrólisis. De igual manera, a una temperatura promedio de 140 °C, aumenta el pH del hidrolizado independientemente de la concentración de ácido. Sin embargo, la importancia del pH del hidrolizado es casi nula debido a que siempre se neutraliza para llevar a cabo el proceso de producción de bioetanol (Dagnino et al., 2013). De acuerdo con Sievers et al. (2017), el pH del hidrolizado suele variar en rangos de  $\pm 0.1$  al evaluar el efecto de ácidos diluidos en el pretratamiento en rastrojo de maíz.

**Figura 1**

*Efecto de temperatura y concentración de ácido H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en el pH del hidrolizado.*



### Determinación de Grados Brix

Los °Brix aumentaron a medida que aumentó la concentración de ácido y a medida que aumentaba la temperatura de igual manera como indicado en el Cuadro 7.

La variable lineal y cuadrática de temperatura fueron significativas con una  $P < 0.05$  como se muestra en el Cuadro 7, por lo que, a mayor temperatura, mayor contenido de °Brix. En el caso de la concentración de ácido sulfúrico, solamente la variable lineal se demostró significativa, teniendo la variable cuadrática una  $P > 0.05$ . Es decir, a mayor concentración de ácido, mayor contenido de °Brix. El ajuste de  $R^2$  fue mayor de 0.94, demostrando que el 94% de los datos se ajustan al modelo, por lo que, se considera un modelo predictivo.

### Cuadro 7

*Coefficientes de regresión, probabilidad, valor R2 para °Brix del hidrolizado en función de la temperatura y concentración de H2SO4.*

Variable	Coefficiente de Regresión	Valor P
Intercepto	-61.2012	0.009571*
X <sub>1</sub>	0.8959	0.000751*
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-0.0031	0.015195*
X <sub>2</sub>	2.1792	0.000001*
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-0.0281	0.249632
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	-0.0050	0.432711
R <sup>2</sup>		0.94

*Nota. \*: posee diferencia significativa en el modelo ( $P < 0.05$ ). R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación. X<sub>1</sub>: temperatura. X<sub>2</sub>: concentración de ácido sulfúrico.*

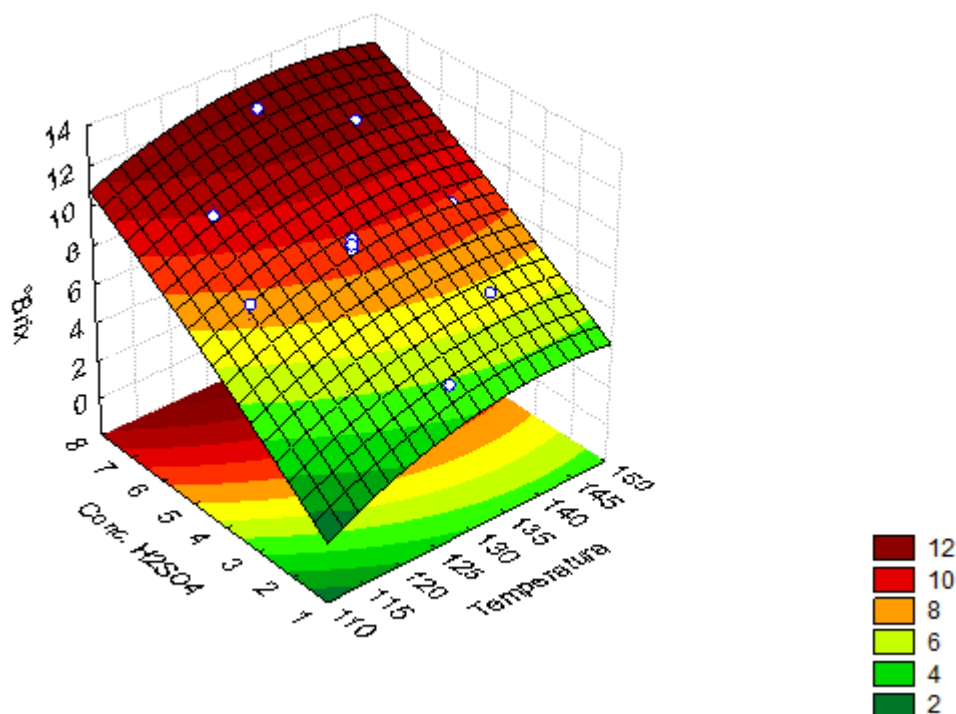
La Ecuación matemática 7 representa los °Brix, basado en los resultados significativos del Cuadro 7.

$$^{\circ}\text{Brix} = -61.20 + 0.8959 X_1 - 0.0031 X_1^2 + 2.18 X_2 \quad [7]$$

El gráfico de superficie de respuesta para los °Brix mostrado en la Figura 2 se realizó en base a la Ecuación matemática 7. El contenido de °Brix tiene un comportamiento directamente proporcional a la concentración de ácido sulfúrico y la temperatura del hidrólisis. A medida que aumenta la concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, aumentaron los niveles de °Brix. Estos resultados concuerdan con el estudio de Cevallos Chamorro Z.V. y Chariguaman Chilibingua E.A., 2016, quienes reportan que, a mayor concentración de ácido, se obtiene mayor cantidad de °Brix.

**Figura 2**

*Efecto de la temperatura y concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en el contenido °Brix del hidrolizado.*



Los valores reportados de °Brix se encuentran dentro de lo recomendado, debido a que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* se ve afectada por la presión osmótica al haber alto contenido de sólidos solubles (Olivero R.E. et al., 2010). La interferencia con el metabolismo de las levaduras retrasa la fermentación de los azúcares que encuentran. Según Lucero Méndez Pedro D. (2015), el alto contenido de °Brix puede hasta llegar a afectar la cantidad de alcohol producida, de manera que aún a mayor nivel de sólidos solubles, pueden producir menor cantidad de alcohol.

### **Determinación de Azúcares Totales**

El contenido de azúcares totales aumentó de manera general a medida que aumentó la temperatura y concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> como se muestra en la Figura 3.

En el Cuadro 8 se observa que la variable cuadrática de concentración de ácido sulfúrico resultó significativa al tener una probabilidad  $P < 0.05$ . Es decir que, a mayor concentración de ácido, mayor contenido de azúcares totales con una disminución de los mismos eventualmente al seguir

aumentando el ácido. El ajuste de  $R^2$  fue inferior a 0.70, con un 64% de los datos que se ajustan al modelo. Por lo tanto, se considera un modelo tendencioso.

### Cuadro 8

*Coefficientes de regresión, probabilidad, valor R2 para azúcares totales del hidrolizado en función de la temperatura y concentración de H2SO4.*

Variable	Coefficiente de Regresión	Valor P
Intercepto	-137.555	0.287995
X <sub>1</sub>	2.548	0.439877
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-0.01	0.183278
X <sub>2</sub>	3.036	0.592121
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-0.542	0.022424*
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.016	0.74452
R2		0.64

*Nota. \*: posee diferencia significativa en el modelo ( $P < 0.05$ ). R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación. X<sub>1</sub>: temperatura. X<sub>2</sub>: concentración de ácido sulfúrico.*

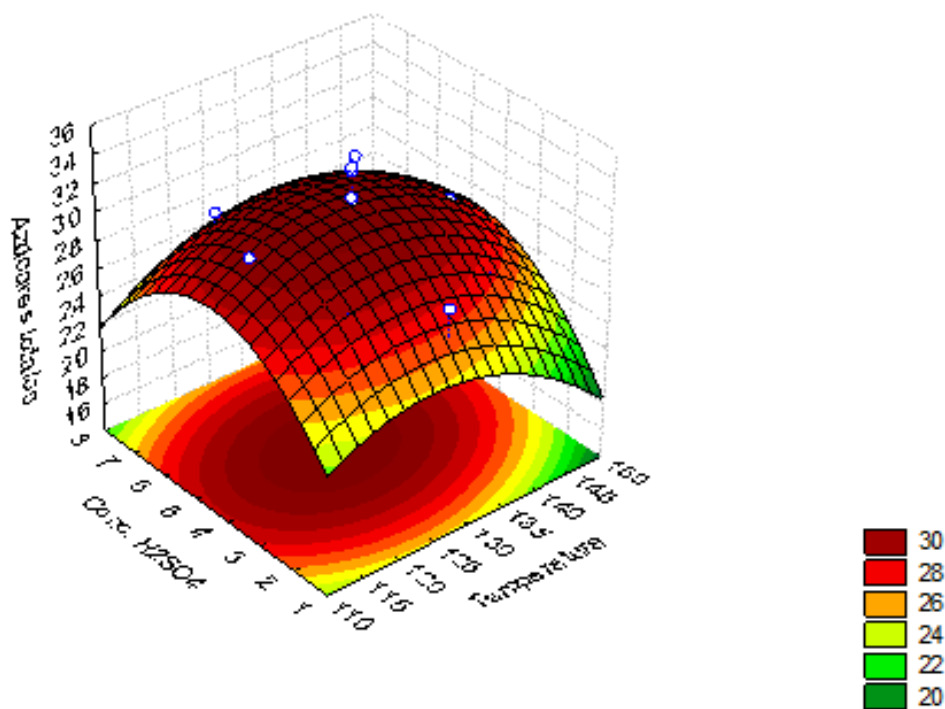
La Ecuación matemática 8 representa el porcentaje de azúcares totales, basado en los resultados significativos del Cuadro 8.

$$\text{Azúcares totales} = -0.542 X_2^2 \quad [8]$$

El gráfico de la superficie de respuesta para los azúcares totales de la Figura 3, se llevó a cabo en base a la Ecuación matemática 7. Se observó una producción de azúcares totales óptimo a concentraciones intermedias (4.50-6.00%) y temperaturas en un rango de 125-135 °C. Esto demuestra que hay que mantener un balance entre la concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> utilizada y la temperatura empleada. A concentraciones de ácido muy bajas y temperaturas muy altas se obtiene el menor porcentaje de azúcares totales.

**Figura 3**

Efecto de la temperatura y concentración de  $H_2SO_4$  en el porcentaje de azúcares totales del hidrolizado.



Según Fonseca Santanilla E.B., Oviedo A.M., Vargas I.J. (2006), cuyo estudio compara la concentración de ácido sulfúrico y tiempo de hidrólisis, a mayor concentración, mayor producción de azúcares totales. Redding et al., (2011) manifiesta que las temperaturas y concentraciones de ácido más severas hidrolizan con mayor facilidad, lo que provee una mejor producción de azúcares. Sin embargo, en un estudio para el efecto de concentración de  $H_2SO_4$  y temperatura para pasto maralfafa *Pennisetum glaucum x Pennisetum purpureum*, las temperaturas muy altas reducían el contenido de glucosa debido a que ocasionaban su degradación (Garlock et al., 2011).

Debido a la tendencia de la gráfica de superficie de respuesta, se debe de tomar en cuenta ambos la temperatura como concentración del ácido para una hidrólisis óptima. Debido a que los mayores porcentajes de azúcar de aproximadamente 30%, se pueden obtener en un rango de temperatura intermedio con concentraciones medias de ácido. Se busca la hidrólisis completa de la hemicelulosa para la obtención de los azúcares sin degradar los mismos (Redding et al., 2011).

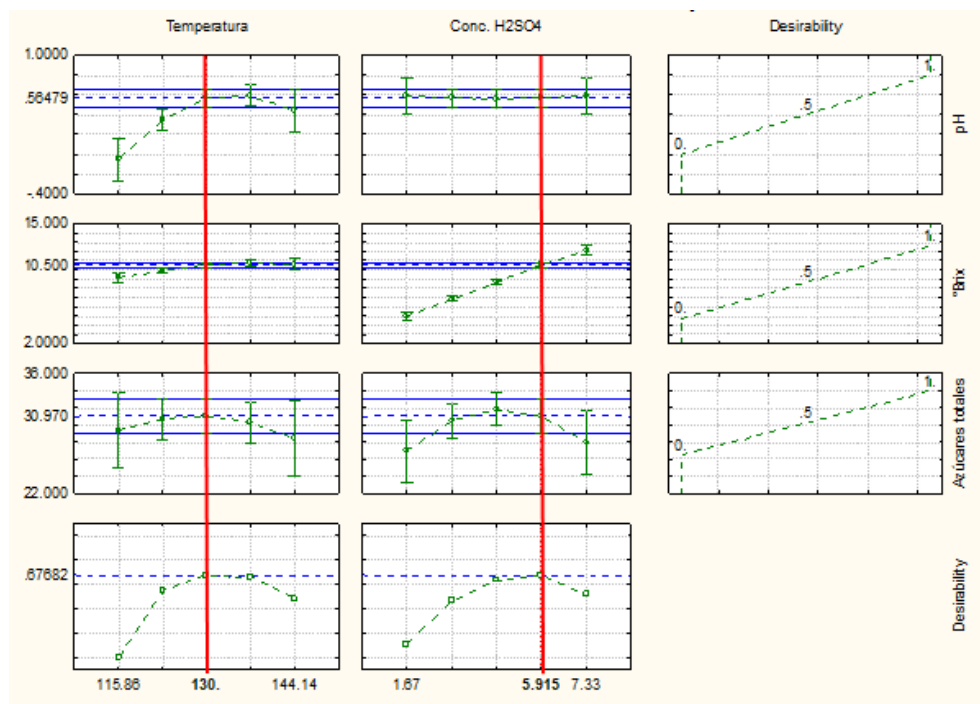
**Función de Utilidad**

De acuerdo con las variables utilizadas y el método de diseño experimental, surge una función de deseabilidad, la cual establece el tratamiento óptimo a partir de los evaluados. De acuerdo a Calado V, (2003), siempre se busca identificar estos valores óptimos para que estos sean empleados en las operaciones.

La función de utilidad, se obtuvo a partir de un procedimiento de optimización con restricción. Se consideraron valores de cero para las respuestas no deseadas y uno para las deseadas, de acorde a la Figura 4. De esta manera, se obtuvieron y seleccionaron las variables independientes que ofrecieron las respuestas de variables dependientes deseadas. Para la selección de las mismas, se consideraron las siguientes variables dependientes: pH, °Brix, y porcentaje de azúcares totales.

**Figura 4**

*Función de utilidad para la optimización del pretratamiento con ácido sulfúrico para tallos de rastrojo de maíz.*



### **Conclusiones**

El mayor porcentaje de azúcares totales se obtuvo a 130 °C y con una concentración de ácido sulfúrico de 4.50% en la hidrólisis ácida.

Los valores óptimos para las variables evaluadas fueron de 130 °C para temperatura y 5.15% para concentración de ácido sulfúrico en base a la función de utilidad.

Se mejoró el rendimiento del tallo de rastrojo de maíz, al ser este sometido a un pretratamiento de hidrólisis ácida, ya que el porcentaje de azúcares obtenidos llegó hasta 33%.

### **Recomendaciones**

Comprobar la capacidad calorífica de los azúcares obtenidos en el pretratamiento de hidrólisis ácida.

Realizar un análisis de costos para comprobar la factibilidad económica del estudio.

Realizar un estudio considerando diferentes materiales genéticos de maíz.

Reemplazar el equipo HPLC del LAAZ para futuros estudios.

### Referencias

- Acevedo A. (2013). *Biocombustibles: tipos, generaciones y biomásas empleadas para su elaboración*.
- Calado V, M. C.D. (2003). *Planeamiento de experimentos usando Statistica 1*.  
[https://www.researchgate.net/publication/285012998\\_Planeamiento\\_de\\_experimentos\\_usando\\_Statistica\\_1](https://www.researchgate.net/publication/285012998_Planeamiento_de_experimentos_usando_Statistica_1)
- Castillo Saldarriaga CR., Velásquez Lozano ME. (2018). Efecto del pretratamiento con ácido sulfúrico diluido sobre la hidrólisis enzimática del *Panicum maximum*. *Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 16. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v16n1/1692-3561-bsaa-16-01-00068.pdf>
- Cavieres, P. (2008). *Biocombustibles de primera generación*.  
<http://www.emb.cl/electroindustria/articulo.mvc?xid=959>
- Cevallos Chamorro Z.V. y Chariguaman Chilingua E.A. (2016). *Efecto de la temperatura y concentración de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> en la producción de azúcares en el pretratamiento de rastrojos de maíz (Zea mays)*. EAP Zamorano, Honduras.
- Cuaspu Caliz O. (2017). *Obtención de bioetanol a partir de tallos de maíz*. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.  
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/62315/1053790403.2017.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Dagnino, E. P., Chamorro, E. R., Romano, S. D., Felissia, F. E. y Area, M. C. (2013). Optimization of the acid pretreatment of rice hulls to obtain fermentable sugars for bioethanol production. *Industrial Crops and Products*, 42, 363–368. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.019>
- Fonseca Santanilla E.B., Oviedo A.M., Vargas I.J. (2006). *Hidrólisis ácida de sustratos residuales agroindustriales colombianos*. <https://www.redalyc.org/pdf/304/30400802.pdf>

- Garlock, R. J., Balan, V., Dale, B. E., Pallapolu, V. R., Lee, Y. Y., Kim, Y., Mosier, N. S., Ladisch, M. R., Holtzaple, M. T., Falls, M., Sierra-Ramirez, R., Shi, J., Ebrik, M. A., Redmond, T., Yang, B., Wyman, C. E., Donohoe, B. S., Vinzant, T. B., Elander, R. T., . . . Warner, R. E. (2011). Comparative material balances around pretreatment technologies for the conversion of switchgrass to soluble sugars. *Bioresource Technology*, 102(24), 11063–11071. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.002>
- González E, Chandler C, Villalobos N, Arenas E, Mármol Z, Ríos J y Aiello Mazzari C. (2012). *Hidrólisis ácida diluida en dos etapas de bagazo de caña de azúcar para la producción de azúcares fermentables*. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90426810002>
- González Rentería SM., Soto Cruz, NO., Rutiaga Quiñones OM., Medrano Roldán H., Rutiaga Quiñones JG., Lopez Miranda J. (2011). Optimización del proceso de hidrólisis enzimática de una mezcla de pajas de frijol de cuatro variedades (Pinto villa, Pinto saltillo, Pinto mestizo y Flor de mayo). *Revista Mexicana De Ingeniería Química*, 10. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v10n1/v10n1a3.pdf>
- Gould K. (2007). *Corn Stover Harvesting*. <https://www.canr.msu.edu/uploads/236/58572/CornStoverHarvesting.pdf>
- Holgado F.D., Hernández M.E., Torres J.C. y Fernández J.L. (2010). *Composición de maíz: Composición morfológica y química de los componentes de la planta de maíz*. INTA. [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_holgado\\_composicion\\_morfologica.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_holgado_composicion_morfologica.pdf)
- Islas, J., Manzini, F. y Masera, O. (2007). A prospective study of bioenergy use in Mexico. *Energy*, 32(12), 2306–2320. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2007.07.012>
- Loow, Y.-L., Wu, T. Y., Md. Jahim, J., Mohammad, A. W. y Teoh, W. H. (2016). Typical conversion of lignocellulosic biomass into reducing sugars using dilute acid hydrolysis and alkaline pretreatment. *Cellulose*, 23(3), 1491–1520. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-0936-8>
- Lucero Méndez Pedro D. (2015). *Efecto del uso de levaduras y concentración de °Brix en las características fisicoquímicas y sensoriales de vino de fresa con miel*. Escuela Agrícola

Panamericana, Zamorano, Honduras.

[https://www.google.com/search?q=composici%C3%B3n+qu%C3%ADmica+del+tallo+de+ma%C3%ADz&source=lmns&bih=657&biw=1366&rlz=1C1CHBD\\_esHN779HN779&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwj57oGY2PXwAhXDeDABHURDBB8Q\\_AUoAHoECAEQAA](https://www.google.com/search?q=composici%C3%B3n+qu%C3%ADmica+del+tallo+de+ma%C3%ADz&source=lmns&bih=657&biw=1366&rlz=1C1CHBD_esHN779HN779&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwj57oGY2PXwAhXDeDABHURDBB8Q_AUoAHoECAEQAA)

Oliva C, Lopetry M, González S, Pedraza G. (2004). *Posibilidades técnico-económicas de producir bioetanol de caña considerando el uso de residuos lignocelulósicos.*

Olivero R.E., Aguas Y. y Cury K. (2010). *Evaluación del efecto de diferentes cepas de levadura (Montrachet, K1-V1116, EC-1118, 71B-1122 y IVC GRE ®) y clarificantes sobre los atributos sensoriales del vino de naranja criolla (Citrus sinensis).*

Palmqvist, E., Hahn-Hägerdal, B., Galbe, M. y Zacchi, G. (1996). The effect of water-soluble inhibitors from steam-pretreated willow on enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. *Enzyme and Microbial Technology*, 19(6), 470–476. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(95\)00234-0](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(95)00234-0)

Redding, A. P., Wang, Z., Keshwani, D. R. y Cheng, J. J. (2011). High temperature dilute acid pretreatment of coastal Bermuda grass for enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 102(2), 1415–1424. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.053>

Sanchez, G., Pilcher, L., Roslander, C., Modig, T., Galbe, M. y Liden, G. (2004). Dilute-acid hydrolysis for fermentation of the Bolivian straw material Paja Brava. *Bioresource Technology*, 93(3), 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.11.003>

Sun, Y. y Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, 83(1), 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00212-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7)

Treviño, J., Hernández, T. y Caballero, R. (1974). *Estudio del valor nutritivo de las hojas y tallo del maíz híbrido de tallo azucarado E-10.* Instituto de Alimentación y Productividad Animal, Madrid.