



***EVALUACIÓN DE LA OBTENCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES A PARTIR
DEL TALLO DE MAÍZ DE UN CULTIVO UBICADO EN EL MUNICIPIO
GUTIERREZ, CUNDINAMARCA.***

Área de Investigación:

Gestión y productividad sustentable

Línea de Investigación:

Gestión integral sustentable

Química Ambiental

Sara Ramos Buitrago

Director

Juan Pablo Bonilla Gaviria

Co-director

William Giovanni Cortés Ortiz

Universidad El Bosque
Facultad de Ingeniería
Programa Ingeniería Ambiental
Bogotá D.C

Octubre 16 de 2019

***EVALUACIÓN DE LA OBTENCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES A PARTIR
DEL TALLO DE MAÍZ DE UN CULTIVO UBICADO EN EL MUNICIPIO
GUTIERREZ, CUNDINAMARCA.***

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

Ingeniero Ambiental

Área de Investigación:

Gestión y productividad sustentable

Línea de Investigación:

Gestión integral sustentable

Química Ambiental

Sara Ramos Buitrago

Director

Juan Pablo Bonilla Gaviria

Co-director

William Giovanni Cortés Ortiz

Universidad El Bosque

Facultad de Ingeniería

Programa Ingeniería Ambiental

Bogotá, Colombia

2019

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Dedicatoria

Dedico este logro a mis queridos padres, a ellos que con su amor y paciencia lograron inculcar en mí los mejores valores para ser una mujer integra. Además, le agradezco a mi hermano y a todos mis familiares y amigos...que siempre están para mí en cualquier adversidad que se me presenta en la vida.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Agradecimientos

Le agradezco a toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento me impulsaron a culminar esta etapa de mi vida. Le agradezco a Dios por la familia que me dio y como nunca me ha dejado desfallecer a pesar de las adversidades que se me han presentado en la vida para la realización de mis metas y deseos.

De igual manera, quiero agradecer a mis profesores, a mi director, Juan pablo y a mi codirector William, por el apoyo y la incondicionalidad con respecto a las inquietudes y problemáticas que se presentaron con respecto al proyecto en mención. Adicionalmente, agradezco a la Universidad El bosque ya que me generó los espacios necesarios para la realización de la investigación en cuestión.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Tabla de contenido

Agradecimientos	4
Resumen	11
Palabras claves	11
Abstract	11
Keywords	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
3. JUSTIFICACIÓN	14
4. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECIFICOS	16
4.1. Objetivo general	16
4.2. Objetivos específicos	16
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	16
6. MARCO DE REFERENCIA	16
6.1 Estado del arte	16
6.2 Marco conceptual	21
6.2.1 Maíz.....	21
6.2.2 Residuo agrícola	21
6.2.3 Biomasa lignocelulósica	21
6.2.4 Celulosa	21
6.2.5 Hemicelulosa	22
6.2.6 Lignina	22
6.2.7 Azúcares reductores.....	22
6.2.8 Análisis próximo	22
6.2.9 Humedad.....	22
6.2.10 Sólidos totales	23
6.2.11 Cenizas.....	23
6.2.12 Normas ASTM.....	23
6.2.13 Pretratamiento a biomasa lignocelulosíca.....	23
6.2.14 Método DNS.....	30
6.3 Marco teórico	30

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

6.3.1 Química verde	30
6.3.2 Sustentabilidad Ambiental	31
6.4 Marco geográfico.....	31
6.5 Marco Normativo.....	34
7. MARCO METODOLÓGICO.....	38
7.1 Enfoque	38
7.2 Método.....	38
7.3 Alcance.....	38
8. METODOLOGÍA.....	39
8.1 Para dar cumplimiento al primer objetivo específico “Realizar el análisis próximo para identificar la humedad, cenizas y sólidos totales del tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca “se plantea la siguiente metodología.....	39
8.1.1 Elección del lugar y recolección de la materia prima.....	39
8.1.2 Pretratamiento físico de la materia prima	39
8.1.2.1 Disminución de tamaño	39
8.1.2.2 Secado	39
8.1.2.3 Triturado.....	39
8.1.2.4 Tamizado	40
8.1.3 Análisis próximo de la materia prima.....	41
8.1.3.1 Sólidos totales y humedad	41
8.1.3.2 Análisis de cenizas	44
8.2 Para dar cumplimiento al segundo objetivo específico, “Implementar un tratamiento de impregnación ácida y básica para el fraccionamiento del tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca.” Se planteó la siguiente metodología:	46
8.2.1 Definición de variables	47
8.2.2 Pre- tratamiento de ácido diluido y alcalino.....	48
8.2.2.1 Preparación de reactivos.....	48
8.2.3 Impregnación a temperatura ambiente	52
8.2.4 impregnación acida y alcalina	52
8.2.5 Centrifugación	53
8.3 Para dar cumplimiento al tercer objetivo específico, “Identificar la obtención de azúcares reductores en la fracción líquida proveniente del tratamiento aplicado al tallo	

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

<i>de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca”.</i> <i>Se planteó la siguiente metodología:</i>	53
8.3.1 Preparación de glucosa	53
8.3.2 Implementación del método DNS	54
8.4 Matriz marco metodológico	55
8.5 Plan de trabajo: Cronograma	59
9. RESULTADOS Y ANALISIS	62
9.1 Objetivo 1: Realizar el análisis próximo para identificar la humedad, cenizas y sólidos totales del tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca	62
9.1.1 Elección del lugar y recolección de la materia prima	62
9.1.2 Pretratamiento físico de la materia prima	63
9.1.2.1 Disminución de tamaño	63
9.1.2.2 Secado	64
9.1.2.3 Tamizado	65
9.1.3 Análisis próximo de la materia prima	69
9.1.3.1 Humedad y sólidos totales	69
9.1.3.2 Análisis de cenizas	70
Análisis de resultados	70
9.2 Objetivo 2: “Implementar un tratamiento de impregnación ácida y básica para el fraccionamiento del tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca “	73
9.2.1 Pre- tratamiento de ácido diluido y alcalino	73
9.2.1.1 Preparación de reactivos	73
9.2.2 Impregnación a temperatura ambiente	79
9.2.3 impregnación ácida y alcalina	80
9.2.4 Centrifugación	81
9.3 Objetivo 3: “Identificar la obtención de azúcares reductores en la fracción líquida proveniente del tratamiento aplicado al tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca.”	83
9.3.1 Preparación de solución patrón de glucosa	83
9.3.2 Implementación del método DNS	83
Análisis de resultados	91
10. CONCLUSIONES	93
11. RECOMENDACIONES	94

12. BIBLIOGRAFÍA..... 95

Lista de tablas

Tabla 1: Pretratamientos a biomasa lignocelulósica. Fuente: (Autor,2019)	26
Tabla 2: Marco normativo. Fuente: (Autor,2019)	34
Tabla 3: Condiciones para el pretratamiento ácido y alcalino. Fuente: (Autor,2019).....	48
Tabla 4: Matriz del marco metodológico. Fuente : (Autor,2019)	56
Tabla 5: Cronograma. Fuente: (Autor,2019)	59
Tabla 6: Resultados de humedad y solidos totales. Fuente: (Autor,2019)	69
Tabla 7: Resultado de prueba de cenizas. Fuente: (Autor,2019).....	70
Tabla 8: Comparación de porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina con otros autores. Fuente: (Autor,2019)	71
Tabla 9: Comparación de porcentajes de humedad y solidos totales con otros autores. Fuente: (Autor,2019)	72
Tabla 10: Comparación de porcentajes de cenizas con otros autores. Fuente: (Autor,2019)	73
Tabla 11: Estandarización del NaOH. Fuente: (Autor,2019)	77
Tabla 12: Estandarización del HCl. Fuente: (Autor,2019).....	78
Tabla 13: Datos de curva de calibración. Fuente: (Autor,2019)	84
Tabla 14: Cuantificación de azúcares a 4 horas. Fuente: (Autor,2019)	86
Tabla 15: Cuantificación de azúcares a 8 horas. Fuente: (Autor,2019)	87
Tabla 16: Cuantificación de azúcares a 12 h. Fuente: (Autor,2019).....	88
Tabla 17: Relación del tiempo y promedio de concentración del extracto. Fuente: (Autor,2019)	89

Lista de imágenes

Imagen 1: <i>Efectos del pretratamiento en el material lignocelulósico. Tomado y adaptado de (Cortínez, 2010)</i>	24
Imagen 2 : Pretratamientos aplicables a materiales lignocelulósicos. Tomado y adaptado de (Pi & Lozano, 2016)	25
Imagen 3 : Localización de Gutiérrez en Cundinamarca. Tomada de (Cundinamarca, 2018).....	32
Imagen 4: Localización del cultivo de maíz. Tomada de (Google Earth,2019)	33
Imagen 5: Procedimiento para preparar el HCl. Fuente: (Autor,2019).....	49
Imagen 6: Procedimiento para la estandarización del ácido clorhídrico.Tomado y adoptado de (IDEAM, 1999).....	50
Imagen 7: Procedimiento para preparar el NaOH. Fuente: (Autor,2019).....	51
Imagen 8 : Procedimiento para la estandarización del ácido clorhídrico. Tomado y adoptado de (IDEAM, 1999)	52
Imagen 9: Preparación de la glucosa (2g/L). Fuente: (Autor,2019).....	54

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Imagen 10: Procedimiento del método DNS. Tomado y adaptado de (Bello Gil, D., Carrera Bocourt, E., & Díaz Maqueira, 2006).....	55
Imagen 11: <i>Cultivo de maíz ubicado en Gutiérrez, Cundinamarca. Fuente:(Autor, 2019)</i>	62
Imagen 12: Apariencia del tallo de maíz con hojas y sin hojas. Fuente: (Autor, 2019).....	63
Imagen 13: Reducción del tamaño del tallo de maíz. Fuente: (Autor, 2019).....	64
Imagen 14: Secado del tallo de maíz. Fuente: (Autor, 2019).....	64
Imagen 15: Tamices utilizados. Fuente: (Autor, 2019).....	65
Imagen 16: Hidróxido de sodio utilizado. Fuente: (Autor, 2019).....	74
Imagen 17: Ácido clorhídrico utilizado. Fuente: (Autor, 2019).....	75
Imagen 18: Estandarización del NaOH. Fuente: (Autor, 2019).....	77
Imagen 19: Estandarización del HCl. Fuente: (Autor, 2019).....	79
Imagen 20: Impregnación por 12 horas. Fuente: (Autor, 2019).....	80
Imagen 21: Agitación continua en el agitador orbital. Fuente: (Autor, 2019).....	81
Imagen 22: Proceso de centrifugación. Fuente: (Autor, 2019).....	81
Imagen 23: <i>Decoloración de soluciones de la curva de calibración. Fuente:(Autor,2019)</i>	85
Imagen 24 : Conversión de azúcares reductores por el método DNS. Tomado y adaptado de (Garriga et al., 2017).....	93

Lista de gráficos

Gráfico 1: Porcentajes del tamizado 1. Fuente: (Autor,2019).....	66
Gráfico 2: Porcentajes de tamizado. Fuente: (Autor,2019).....	67
Gráfico 3: Porcentaje del tamizado 3. Fuente: (Autor,2019).....	68
Gráfico 4: Curva de calibración de la glucosa. Fuente: (Autor,2019).....	85
Gráfico 5: Tiempo vs concentración en medio ácido. Fuente: (Autor,2019).....	90
Gráfico 6: Tiempo vs concentración en medio básico. Fuente: (Autor,2019).....	90
Gráfico 7: Tiempo vs concentración en medio neutro. Fuente: (Autor,2019).....	91

Lista de diagramas

Diagrama 1: Árbol de problemas.....	14
Diagrama 2: Triturado de la materia prima. Tomado y adaptado de (States, 2011).....	40
Diagrama 3: Triturado de la materia prima. Tomado y adaptado de (States, 2011).....	41
Diagrama 4: Procedimiento de solidos totales y humedad. Tomado y adaptado (ASTM, 2011).....	43
Diagrama 5: Procedimiento de cenizas. Tomado y adaptado de (ASTM International, 2014).....	46

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Lista de anexos

Anexo 1: Valores reportados por el laboratorio de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia de la Universidad Nacional de celulosa, hemicelulosa y lignina **¡Error!**
Marcador no definido.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Resumen

El objetivo de esta investigación fue evaluar la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca, Para ello, se inició con una recolección de la materia prima, se realizó el análisis próximo para determinar humedad, solidos totales y cenizas con el fin de pre tratar la biomasa para posteriores procedimientos y observar su composición ; Luego, se implementó una impregnación en medio ácido y básico, en donde las condiciones fueron: *HCl* y *NaOH* como agentes impregnantes , una molaridad de 0,5 M , una temperatura de 60°C y una agitación continua por 3 periodos de tiempo diferentes (4,8,12 horas) se realizó dicha impregnación para encontrar y comparar el método más efectivo para fraccionar la matriz lignocelulósica de la biomasa ; Posteriormente, se identificó los azúcares reductores por medio de una técnica colorimétrica que emplea 3,5-ácido dinitrosalicílico para la cuantificación de azúcares en la fracción liquida del pretratamiento empleado. Dentro de los resultados obtenidos se encontró que el medio que más favoreció la fragmentación de la matriz lignocelulósica y genero mayor liberación de azúcares en el medio fue la impregnación ácida a 8 horas con una concentración de 83,7029 (g/l).

Palabras claves

Biomasa lignocelulósica, azúcares reductores, método DNS, impregnación, maíz

Abstract

The objective of this investigation was to evaluate the obtaining of reducing sugars from the corn stalk of a crop located in the municipality of Gutiérrez, Cundinamarca. For this, it began with a collection of the raw material, the next analysis was carried out to determine moisture, total solids and ashes in order to pre-treat the biomass for subsequent procedures and observe its composition; Then, an impregnation was implemented in acidic and basic medium, where the conditions were: HCl and NaOH as impregnating agents, a molarity of 0.5 M, a temperature of 60 ° C and continuous stirring for 3 different time periods (4,8,12 hours) said impregnation was performed to find and compare the most effective method to fractionate the lignocellulosic matrix of biomass; Subsequently, the reducing sugars were identified by means of a colorimetric technique that uses 3,5-dinitrosalicylic acid for the quantification of sugars in the liquid fraction of the pretreatment used. Among the results obtained, it was found that the medium that most favored the fragmentation of the lignocellulosic matrix and generated greater release of sugars in the medium was the acid impregnation at 8 hours with a concentration of 83,7029 (g / L).

Keywords

Lignocellulose biomass, reducing sugars, DNS method, impregnation, corn

1. INTRODUCCIÓN

Los desechos lignocelulósicos son aquellos que provienen de los restos de cosechas y sus derivados (Cuadros, 2007). Estos representan la más abundante fuente global de biomasa renovable (Ramirez & Sanchez, 2009). Tienen una estructura compleja que consta de dos polímeros de carbohidratos, la celulosa (35-50%) y la hemicelulosa (15-25%), y un polímero fenólico; la lignina (20-25%). A partir de estos polímeros, se pueden obtener unidades monómeras de glucosa, lo que le confiere un gran potencial a la biomasa lignocelulósica como materia prima para la producción de glucosa que puede ser aprovechada en diversos usos industriales (Cortes Ortiz, Ibla Gordillo, Calderon Velasquez, & Herrera Bueno, 2015).

Se plantea el tallo de maíz como residuo lignocelulósico, ya que el maíz es un cereal que representa una alta producción promedio en el mundo con 1020 millones de toneladas anuales (Food and agriculture organization of the united nations., 2014). En Colombia, el maíz es uno de los cereales más importantes de la producción agrícola, concentra el 13% del área agrícola. El área cultivada de maíz de 2010 al 2017 fue en promedio de 224.290 hectáreas, ocupando el tercer lugar en área en cultivos transitorios (FENALCE, 2018). Debido a esto, se asume que los residuos generados por este tipo de cultivos son de proporciones grandes.

De igual manera, en Colombia se desperdicia el potencial energético proveniente de los residuos agrícolas tanto de cosecha como industriales, es por esto que es necesario desarrollar métodos por los cuales se pueda extraer el máximo potencial energético, por lo general el método de tratamiento de dichos residuos es su quema o implementación en la alimentación de animales de granja (Suaréz, 2017). A partir de esto, se plantea como alternativa de aprovechamiento la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz por medio de la implementación de una impregnación ácida, alcalina para así llevarlos a otros procesos y generar productos químicos, como por ejemplo la producción de etanol.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

La materia prima con la que se trabajó experimentalmente fue recolectada en Gutiérrez, Cundinamarca, debido a la inadecuada disposición de los residuos en el municipio. Además, se realizó la recolección en dicho municipio ya que según el DANE, en el departamento de Cundinamarca, el municipio que más produce maíz es Gutiérrez con un área sembrada de 2000 (ha), un área cosechada de 1.600 (ha) y una producción en grano seco de 4000 toneladas al año en 2017 (DANE, 2017).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La generación de residuos agroindustriales en las diversas etapas de los procesos productivos es actualmente una problemática mundial, puesto que en la mayoría de los casos no son procesados o dispuestos adecuadamente, situación que contribuye al proceso de contaminación ambiental (Vargas-Corredor & Pérez-Pérez, 2018).

Los residuos agrícolas y agroindustriales en su gran mayoría corresponden a biomasa lignocelulosa que contiene celulosa, hemicelulosa y lignina, esta última, en las paredes de los vegetales. Estos residuos registran una velocidad de degradación muy baja y al no ser sometidos a un proceso de aprovechamiento, en la mayoría de los casos, presentan una disposición final deficiente, depositándose principalmente en lotes baldíos o espacios verdes sin ningún control (Mejía L, Martínez H, 2007). De acuerdo con (Barragán B, 2008) algunos de los residuos agroindustriales y agrícolas son quemados o vertidos en rellenos sanitarios, lo que produce una gran liberación de dióxido de carbono (CO_2), contaminación de cuerpos de aguas, tanto en fuentes superficiales como subterráneas, molestias por presencia de olores y proliferación de vectores como ratas y moscas.

Adicionalmente, acompañado de la inadecuada disposición, se evidencia la quema del rastrojo, generando una notable modificación del ecosistema y una alteración en los equilibrios ecológicos ya que disminuyen significativamente las poblaciones de agentes bióticos del área quemada. De esta manera, una gran parte de los organismos mueren directamente por acción del fuego, y otra parte por falta de alimento (Taladriz, A.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Schwember, 2012). Al realizar la quema de rastrojos se desaprovecha del 98 a 100 % del nitrógeno contenido en el residuo de cosecha, 20 a 40 % del fósforo y potasio y 70 a 90 % del azufre(Taladriz, A. Schwember, 2012). A continuación se ilustra el diagrama 1, en donde se evidencia el problema principal con sus causas y consecuencias.



Diagrama 1: Árbol de problemas

3. JUSTIFICACIÓN

El presente proyecto se realiza con el fin de evaluar la viabilidad de un aprovechamiento de los residuos de maíz en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca y así tratar de minimizar las diferentes problemáticas ambientales, sociales y económicas originadas por la generación y disposición de estos residuos. La preocupación para aprovechar los recursos naturales sin causar perjuicios al medio ambiente es creciente; por lo que existe una búsqueda de nuevos productos y tecnologías para optimizar los procesos reduciendo costos de producción al darle valor agregado a los residuos(Cury R, Aguas M, Martinez M, Olivero V, & Chams Ch, 2017).

En el ámbito ecológico, la finalidad del proyecto es brindar opciones que permitan mitigar las problemáticas que se generan en las esferas ambientales (hidrosfera, geosfera, atmosfera

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

y biosfera)(Calvo Flores, 2012) las cuales se ven afectadas en el momento de incinerar el rastrojo como método de disposición. Por ejemplo, la contaminación de aire que genera la quema de rastrojo y la infiltración de los residuos de incineración en el suelo y agua. Una de las oportunidades que se presenta es el aprovechamiento de la composición del tallo de maíz para la obtención de azúcares reductores y así poder ver el potencial que tiene para la obtención de productos químicos.

En el ámbito social, con la realización del proyecto se ofrecen iniciativas de aprovechamiento que permitirán disminuir la incomodidad de las personas que se encuentran aledañas al lugar de disposición (visualmente) o incineración de la biomasa (inhalación de gases) así como de las personas que se encargan de dichas actividades ; Según (Guerrero R y Valenzuela L., 2011) la generación de residuos agroindustriales sólidos, líquidos o gaseosos constituye focos potenciales de contaminación y riesgo para la salud. Adicionalmente, el proyecto busca ser fuente de información a la comunidad sobre los métodos de aprovechamiento a los residuos agroindustriales, ya que es una alternativa que impulsa el desarrollo de tecnologías orientadas hacia una transformación sustentable de los recursos naturales (Ramírez S., 2012). Según (González, 2013), en Colombia estos residuos aún no han sido aprovechados eficientemente por la falta de conocimiento sobre los métodos apropiados para la preparación y caracterización de sustancias de mayor valor agregado con la suficiente calidad e inocuidad.

Finalmente, en el ámbito económico, el proyecto se realiza con la intención de brindarle valor agregado a los residuos cuantificando la cantidad de azúcares y observar el potencial que tienen para la obtención de productos químicos que se utilizan en diversos campos de la química. No obstante, el proyecto busca incentivar los negocios verdes con la viabilidad que se observe al realizar el proceso para ver la composición estructural del residuo y determinar la cantidad de los azúcares reductores obtenidos como resultado (Taladriz, A. Schwember, 2012).

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

4. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECIFICOS

4.1. Objetivo general

Evaluar la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca.

4.2. Objetivos específicos

- Desarrollar el análisis próximo para identificar la humedad, cenizas y sólidos totales del tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca.
- Implementar un tratamiento de impregnación ácida y básica para el fraccionamiento del tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca.
- Identificar la obtención de azúcares reductores en la fracción líquida proveniente del tratamiento aplicado al tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Influirá la impregnación en medio ácido o básico en la obtención de azúcares reductores a partir de residuos de tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca?

6. MARCO DE REFERENCIA

6.1 Estado del arte

La obtención de azúcares provenientes de residuos vegetales (biomasa) es una alternativa que permite generar fuentes de energía alternativa al combustible fósil y a la energía convencional (Cuaspud Cáliz, 2017). La producción de energías alternativas no solo

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

repercute de manera positiva sobre el ambiente, sino que además estimula, la producción e investigación (Cuaspuud Cáliz, 2017). Con base en lo anterior, se observa que a lo largo del tiempo se ha evaluado diferentes métodos para la obtención de azúcares reductores con el fin de determinar cuál es el más eficiente. Entre los métodos más destacados se encuentran la hidrólisis ácida y básica además de la explosión con vapor, entre otros.

De esta manera, entre los estudios realizados empleando biomasa con el fin de cuantificar los azúcares reductores presentes se destaca el trabajo realizado por (Mussatto, Dragone, Fernandes, Rocha, & Roberto, 2006) quienes evaluaron la influencia del tratamiento de hidrólisis ácida y alcalina en la estructura del bagazo de malta, buscando la liberación de fibras de celulosa. Dentro de la investigación se reconoce a la celulosa como el biopolímero más abundante y renovable de la tierra el cual compone más de la mitad de todo el carbono orgánico existente en el planeta, por ello es de suma importancia su aprovechamiento (Mussatto et al., 2006). En la investigación se destaca que el bagazo de malta es un subproducto de la industria cervecera. Para la realización de las pruebas, primero se realizó la remoción de residuos con agua (lavado) y posteriormente se secó la biomasa 105 °C. Se evaluaron 3 procesos: el primero de ellos es de hidrólisis ácida; en donde se somete al bagazo de malta a una reacción con ácido sulfúrico diluido; el segundo es hidrólisis alcalina en donde se somete al bagazo de malta a una solución de $NaOH$ 2,0 % p/v. Por último, se realizó la hidrólisis ácida y alcalina durante la cual se somete a un proceso secuencial de los anteriormente mencionados. Al final de cada proceso, el material sólido residual (pulpa) fue separado del licor por centrifugación (hidrólisis ácida) o por filtración en tejido 100 % poliéster (hidrólisis alcalina), posteriormente se realiza un lavado con agua hasta pH neutro y se seca a $50 \pm 5^{\circ}C$ hasta alcanzar 50 % de humedad. Todas las pulpas obtenidas, después de secas, fueron pesadas para determinación del rendimiento total del proceso utilizado (Mussatto et al., 2006). Finalmente, se pudo evidenciar que el proceso secuencial de hidrólisis ácida e hidrólisis alcalina es capaz de promover una eficiente liberación de las fibras de celulosa del bagazo de malta. Esas fibras pueden ser empleadas para la obtención de varios productos, tales como tejidos, papeles, plásticos y derivados de la celulosa, lo que posibilita

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

una serie de alternativas para aprovechamiento de ese subproducto de la industria cervecera (Mussatto et al., 2006).

Continuando con el método de hidrolisis acida y básica, se destaca una investigación realizada en Colombia, donde su objetivo fue evaluar la hidrólisis ácida de yuca y cáscara de banano como alternativa para la producción de jarabe azucarado y su posterior fermentación hasta alcohol (Monsalve, 2016). Para el desarrollo de la metodología, se redujo la cáscara de banano a un tamaño de partícula entre 0.1 y 0.5 mm, posteriormente se realizó el método básico de eliminación de lignina, sumergiendo la biomasa en una solución de $NaOH$ 0,1 N durante 3 horas. Por otra parte, la hidrólisis ácida se llevó a cabo adicionando 50 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 5,0 % v/v por cada 100 gramos de cáscara de banano, a una temperatura de 125 °C, durante 15 minutos. Luego la yuca fue lavada con el fin de eliminar el material particulado proveniente del cultivo y se retiró la cáscara de la pulpa. Se molió en un molino de discos hasta un tamaño de partícula con retención en malla 60 y malla 100; posteriormente, se realizó hidrólisis ajustando el pH a 0.8 con ácido sulfúrico al 20,0 %. El hidrolizado se separó del bagazo pasándolo por un filtro y diluido hasta 90 g/L, luego se filtró suavemente, se neutralizó con NaOH 5,0 N y se almacenó a 8 °C hasta su utilización (Monsalve, 2016).

De los resultados obtenidos se pudo concluir que la cáscara de banano posee un contenido de almidón, celulosa y hemicelulosa que representan más del 80 % de la cáscara, ameritando el estudio de este subproducto como fuente de carbono. No se nota ningún efecto inhibitorio por parte de los cultivos realizados con cáscara de banano y yuca por la presencia de cianuro en la yuca y por la formación de compuestos tóxicos al hidrolizar la celulosa en banano (Monsalve, 2016).

Por otro lado, en la literatura se han reportado diferentes métodos analíticos para la determinación de carbohidratos, basados en la espectrofotometría, en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), en refractometría, entre otras (López-legarda, Taramuel-gallardo, & Arboleda-, 2017). Según (Rodríguez, 2014), la espectrofotometría es el método de análisis óptico más adecuado para la determinación de una concentración en una muestra. Uno de los

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

métodos más utilizados en espectrofotometría es el de Miller o método DNS (ácido 3,5 dinitrosalicílico) donde se puede calcular la concentración de azúcares reductores en distintos materiales. El procedimiento se basa en una reacción redox que ocurre entre el DNS y los azúcares reductores presentes en la muestra, su principal ventaja radica en su alta sensibilidad y productividad debido a que es un método espectrofotométrico (Bello GIL, Daniel; Carrera B., Emilia; Diaz M., 2006).

De esta manera, entre los estudios en donde se utilizó el método DNS para la cuantificación de azúcares reductores a partir de biomasa lignocelulósica esta uno realizado en Cuba en el año 2016 el cual se basó en realizar un procedimiento para la determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar por el método del 3,5 ácido dinitrosalicílico, para ello se prepararon diferentes diluciones del jugo mezclado de caña de azúcar, se centrifugaron 10 mL de cada dilución de jugo a 10000 rpm, por 10 min. Para el desarrollo de las reacciones del DNS, se adicionó en tubos 0,5 mL de muestra y 0,5 mL del reactivo de DNS. Los tubos se colocaron en baño de agua a 100 °C por 5 min. Se enfriaron hasta temperatura ambiente y se le añadió 5 mL de agua destilada y se realizó la lectura a 540 nm en espectrofotómetro (Bello Gil, D., Carrera Bocourt, E., & Díaz Maqueira, 2006).

Los resultados de los análisis realizados arrojaron que el procedimiento de DNS en frío mostró menores o comparables desviaciones a las obtenidas cuando la determinación se realizó por el método de Eynon-Lane. El método del DNS en frío mostró altos coeficientes de correlación g/L de azúcares reductores totales. También se demostró que el método del DNS en frío es más productivo que el método tradicional de Eynon-Lane, siendo ésta una ventaja importante para la posible inclusión de este en la marcha analítica diaria de una destilería de alcohol (Bello Gil, D., Carrera Bocourt, E., & Díaz Maqueira, 2006).

Así mismo, en Argentina, se realizó un estudio utilizando el método DNS, el objetivo del estudio fue validar el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) para la determinación de la reducción de azúcares en las algas marinas (*Undaria pinnatifida*) por espectrofotometría. De esta manera, se desarrollaron pretratamientos a la biomasa para hacer la sacarificación

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

más fácil y así lograr un mayor rendimiento en el proceso. El objetivo principal del pretratamiento es disminuir el grado de cristalinidad de la malla de polisacárido que forma la pared celular y así hacerlos más susceptibles a la sacarificación (Garriga, Almaraz, & Marchiaro, 2017).

La preparación del DNS se realizó de la siguiente manera, se preparó una solución A donde se disolvió 1,0 g de DNS en 20,0 mL de NaOH 2,0 M. De igual manera, se preparó una solución B donde se disolvieron 30,0 g de sodio y tártaro de potasio tetra hidratado en 50 mL de agua destilada. Posteriormente, la solución A sobre B se calentó y se mezcló para homogeneizar, luego se completó el volumen a 100 mL con agua destilada y fue almacenado en un frasco ámbar a 4 °C. Para llevar a cabo la validación del método DNS, se aplicó lo mismo a soluciones de glucosa estándar y extractos de algas *U. pinnatifida*. Los extractos de algas se obtuvieron por hidrólisis de 1,0 g de peso seco de *U. pinnatifida* en 50,0 mL de ácido sulfúrico 0,25 N en un baño a 50 °C durante 1 hora. Para ambas soluciones de glucosa y extractos de algas, el procedimiento fue el siguiente: en tubos de 10 mL, se colocó 1,0 mL de extracto algas y 1,0 mL de reactivo DNS. Luego el pH se llevó a 10, paso siguiente los tubos se llevaron a un baño de maría a 100 °C durante 5 minutos; luego se enfriaron a temperatura ambiente. El volumen se completó con 8,0 mL de agua destilada, se homogeneizó y se hizo la lectura a 540 nm en un espectrofotómetro (Garriga et al., 2017).

De los análisis se pudo concluir que la metodología analítica propuesta para la determinación de azúcares reductores en *U. pinnatifida* por espectrofotometría UV-Visible, cumplió los requisitos para considerarlo validado, demostrando ser un método específico, lineal, preciso y robusto contra posibles variaciones en las condiciones del método, excepto el pH. De esta forma, el método DNS se puede usar de manera confiable en la matriz en la que se pretende aplicar: extractos de algas *U. pinnatifida* para la producción de bioetanol. (Garriga et al., 2017).

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

6.2 Marco conceptual

6.2.1 Maíz

El maíz (*Zea mays L*) es uno de los granos alimenticios más antiguos del mundo, este grano pertenece a la familia de las Poáceas (Gramíneas), tribu Maydeas. El maíz es una de las especies cultivadas más productivas. Es una planta con una alta tasa de actividad fotosintética; tiene el más alto potencial para la producción de carbohidratos por unidad de superficie por día (Ripusudan L. Paliwal, 2001).

6.2.2 Residuo agrícola

Son aquellos que provienen de los restos de cosechas y sus derivados, se genera una gran cantidad de residuos como raíces, hojas, frutos u otros residuos integrados por tallos y, en general, por la parte aérea de la planta (Cuadros, 2007).

6.2.3 Biomasa lignocelulósica

La biomasa lignocelulósica de origen vegetal está constituida por tejidos cuya célula presenta una pared celular constituida a su vez por un entramado de microfibrillas de celulosa formando capas recubiertas de hemicelulosa y sobre las que se deposita la lignina. Esta pared celular permite crear y sostener la estructura de las plantas para captar la radiación solar, confiriéndoles una mayor resistencia mecánica y a posibles patógenos (Morales De La Rosa, 2015).

6.2.4 Celulosa

La celulosa es el principal componente estructural de las paredes celulares de las plantas, es el responsable de la resistencia mecánica, es un polímero altamente estable que consiste en glucosa. La biomasa vegetal contiene 40 a 50% de moléculas de celulosa que se mantienen unidas por enlaces de hidrógeno intermoleculares en estado nativo, la fórmula química del celulosa es ($C_6H_{10}O_5$) (Anwar, Gulfraz, & Irshad, 2014).

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

6.2.5 Hemicelulosa

La hemicelulosa es el segundo polímero heterogéneo más abundante que consiste principalmente en glucuronoxilano, glucomanano. las macromoléculas de hemicelulosa son a menudo polímeros repetidos de pentosas y hexosas, la biomasa hemicelulósica contiene 25 a 35% de hemicelulosa (Anwar et al., 2014).

6.2.6 Lignina

La lignina es la fracción más compleja y pequeña, representando alrededor del 10 a 25% de la biomasa en peso. La lignina se compone de un polímero complejo y grande de fenilpropano, grupos metoxi y una sustancia poli fenólica (no carbohidrato), que une el componente de las paredes celulares. Está presente en toda la biomasa vegetal (Anwar et al., 2014).

6.2.7 Azúcares reductores

Son aquellos azúcares que poseen su grupo carbonilo intacto, a través de este pueden reaccionar como reductores con otras moléculas que actúan como oxidantes. Esta propiedad permite determinar la concentración de una disolución de azúcar midiendo la cantidad de agente oxidante que es reducido (Lehninger, 1988).

6.2.8 Análisis próximo

Es la determinación de humedad residual, materia volátil y cenizas mediante la pérdida de peso de las muestras después del calentamiento en un ambiente controlado de temperatura, atmósfera y peso (Peña Urueña, 2011).

6.2.9 Humedad

La humedad se puede expresar de varias maneras, relación de peso (gravimétrica), relación de volumen (volumétrica) o con relación al volumen de poros ocupados por agua (Zamora Cardona & Cristancho, 2013).

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

6.2.10 Sólidos totales

Se definen como la materia que permanece como residuo después de la evaporación y secado a 103 - 105 °C. El valor de los sólidos totales incluye materias disueltas (sólidos disueltos totales: porción que pasa a través del filtro) y no disuelto (sólidos suspendidos totales: porción de sólidos totales retenidos por un filtro) (IDEAM, 2007).

6.2.11 Cenizas

Se define como el porcentaje en masa del residuo que queda después de secado (ASTM International, 2014). Este procedimiento se realiza con el fin de determinar la cantidad de cenizas de la masa y la cantidad de minerales que contiene (Maderables, Rea, Del, & Amva, 2006).

6.2.12 Normas ASTM

ASTM International es una de las mayores organizaciones de desarrollo de normas voluntarias en el mundo; es una organización sin fines de lucro que proporciona un foro para el desarrollo y publicación de normas de consenso internacionales para materiales, productos, sistemas y servicios. Con las normas, se desarrollan documentos técnicos que son la base de la fabricación, gestión, compras, códigos y reglamentos para los sectores industriales (ASTM, 2019).

6.2.13 Pretratamiento a biomasa lignocelulósica

El objetivo del pretratamiento es alterar la estructura de la biomasa lignocelulósica para mejorar la accesibilidad de la celulosa a las enzimas que convierten los carbohidratos estructurales para su posterior uso en otras aplicaciones. El éxito del pretratamiento se mide en función de la diferenciación de la lignina y la hemicelulosa como un indicador de la disociación de la matriz celulosa-lignina (Mateus, Hernández, Velásquez, & Díaz, 2012). la imagen 1 es una representación esquemática ideal del pretratamiento en biomasa. La lignina, hemicelulosa y celulosa están representadas por los colores rosado, verde y negro, respectivamente. Se distinguen tres etapas:

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

- (a) Remoción de la lignina
- (b) Remoción de la hemicelulosa
- (c) Eliminación de la cristalinidad de la fracción de celulosa

El paso 1 incluye el punto (a) y (b), y el paso 2, el punto (c).

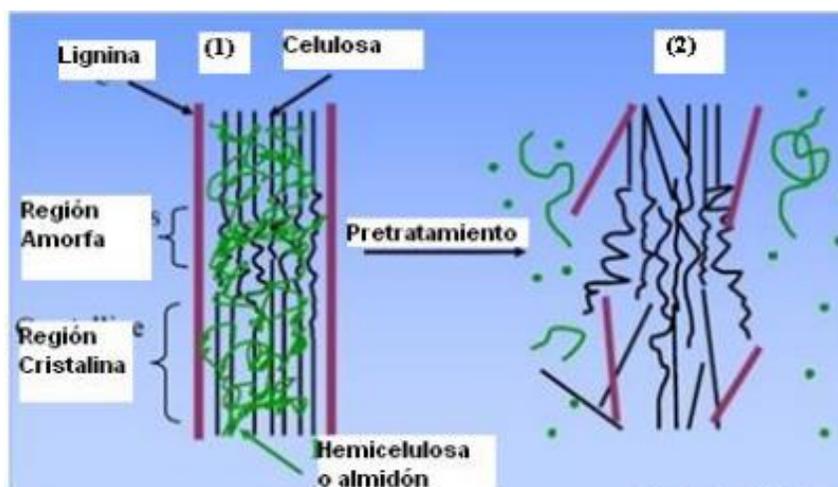


Imagen 1: Efectos del pretratamiento en el material lignocelulósico. Tomado y adaptado de (Cortínez, 2010)

6.2.13.1 Tipos de pretratamientos

A continuación, en la imagen 2 se presenta los tipos de pretratamiento que se pueden emplear para lograr el fraccionamiento de la biomasa. Se destaca la clasificación en pretratamientos físicos, químicos, físicos y químicos y biológicos.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

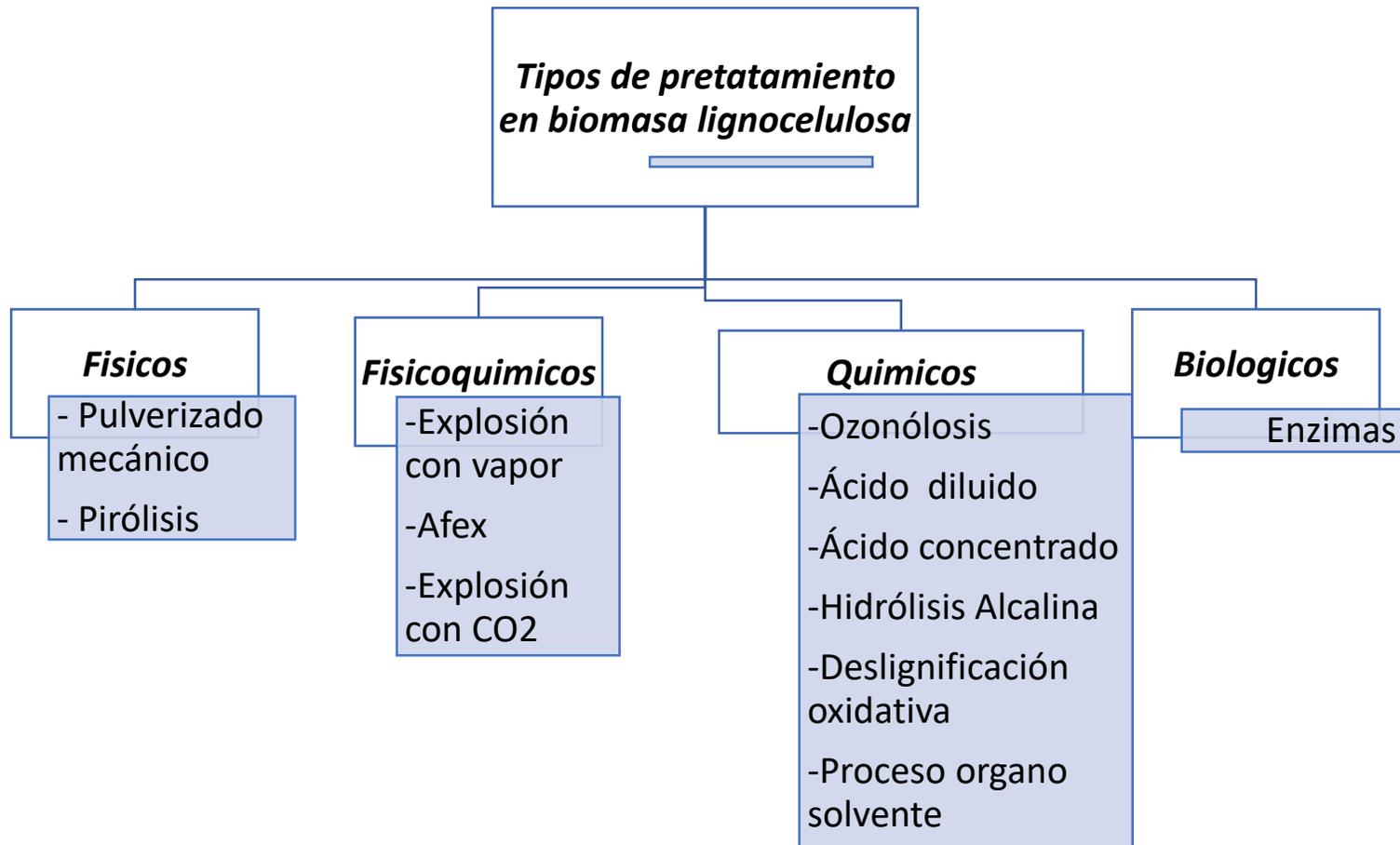


Imagen 2 :Pretratamientos aplicables a materiales lignocelulósicos. Tomado y adaptado de (Pi & Lozano, 2016)

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Una vez identificados los tipos de tratamiento en la tabla 1 se presenta la descripción del proceso de cada uno de ellos relacionado con los efectos que produce el proceso en la matriz lignocelulósica en la biomasa.

Tabla 1: Pretratamientos a biomasa lignocelulósica. **Fuente:** (Autor,2019)

Tipo de pretratamiento	Pretratamiento	Descripción	Efectos en la matriz lignocelulósica	Referencia
Físicos	Pulverizado mecánico	Se trata de reducir el tamaño de las astillas triturando o moliendo a través de un molino de bolas cuyo tamaño final alcanza valores entre 0,2-2 mm.	Disminuye el índice de cristalinidad y el grado de polimerización de la celulosa y aumenta la superficie de contacto del material	(Cortinez, 2010) (Pi & Lozano, 2016)
	Pirólisis	Se somete la biomasa a temperaturas superiores a 300 °C, lo que lleva a la liberación de compuestos volátiles.	Descomponer la celulosa	(Cortinez, 2010)
	Explosión con vapor	El proceso se basa en el contacto de la biomasa con vapor de agua	Rompimiento incompleto de la matriz de lignina-carbohidrato.	(Cortinez, 2010)

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Fisicoquímicos		saturado a temperaturas que oscilan entre 160 y 260 °C por períodos de segundos o varios minutos		(Pi & Lozano, 2016)
	Afex	Es un pretratamiento análogo a la expansión a vapor en combinación con base o cal. La biomasa se impregna con amoniaco y se somete a altas presiones, pero a temperaturas cercanas a 65 °C y tiempos cortos	Degradación de la hemicelulosa y la lignina, por lo que aumenta el potencial de hidrolizar la celulosa.	(Cortinez, 2010) (Pi & Lozano, 2016)
	Explosión con CO_2	Es un proceso similar a la explosión por vapor. La explosión con dióxido de carbono se basa en que el CO_2 forma ácido carbónico e incrementa las tasas de hidrólisis. Este	Este pretratamiento produce líquidos que pueden ser ácidos, estos ácidos hidrolizan especialmente la hemicelulosa.	(Cortinez, 2010) (A. M. Sánchez Riaño, A. I. Gutiérrez Morales, J.A. Muñoz

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

		lo que aumenta la tasa de hidrólisis.		Hernández, 2009)
Químicos	Ozonolisis	El proceso se genera con ozono y la reacción ocurre a temperatura y presión atmosféricas	Degradar la lignina y hemicelulosa. La degradación es principalmente lignina y poca hemicelulosa.	(Cortinez, 2010)
	Ácido diluido	Se utiliza ácido clorhídrico y ácido sulfúrico a temperaturas bajas y a largos tiempos de reacción	favorece la hidrólisis de la celulosa y se hidroliza cerca del 80% de la hemicelulosa. La lignina no se solubiliza	(Cortinez, 2010)
	Ácido concentrado	Se utiliza ácido clorhídrico y ácido sulfúricos concentrados a temperaturas altas y a cortos periodos de tiempo.	Solubilizar los azúcares provenientes tanto de la celulosa como de la hemicelulosa	(Pi & Lozano, 2016)
	Hidrólisis Alcalina	Se utiliza a bajas presiones y temperaturas	Saponificación de los enlaces de hemicelulosa y otras componentes como la lignina.	(Cortinez, 2010) (Pi & Lozano, 2016)

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

	Des lignificación oxidativa	Se utiliza peroxidasa y peróxido de hidrogeno, al 2%(v/v) por 8 horas y a 20 °C	Se presenta solubilización del 50% de la lignina y de casi la totalidad de la hemicelulosa	(Pi & Lozano, 2016)
	Proceso órgano solvente	Se utiliza una mezcla de solventes orgánicos como metanol, etanol, acetona, etilenglicol entre otros	Rompimiento de los enlaces internos de lignina y hemicelulosa, solubilizándolas casi totalmente	(Pi & Lozano, 2016)
Biológicos	Enzimas	Acción de hongos capaces de generar enzimas	Degradación de la lignina, las hemicelulosas y los polifenoles presentes en la biomasa	(Virginia & Rubio, 2018)

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

6.2.14 Método DNS

Es una técnica colorimétrica que emplea 3,5-ácido dinitrosalicílico para la hidrólisis de polisacáridos presentes en una muestra, seguido de la determinación espectrofotométrica a 540 nm de los azúcares reductores. Esta técnica sirve para cuantificar los azúcares reductores producidos durante una fermentación o para cuantificar los productos de una reacción enzimática (Ávila Núñez, R., Rivas Pérez, B., Hernández Motzezak, R., & Chirinos, 2012).

6.3 Marco teórico

El desarrollo de este proyecto se basa en la teoría de química verde y sustentabilidad ambiental.

6.3.1 Química verde

Según (Sierra, A. Meléndez, L. Ramírez, A. Arroyo, 2014) el concepto de Química Verde se relaciona con el diseño de procesos y productos químicos que reduzcan o eliminen el uso y generación de sustancias peligrosas, en el uso eficiente de materiales y energía, y en el desarrollo de recursos renovables. Cuenta con 12 principios donde su principal objetivo es valorar como es el comportamiento de una reacción, un proceso o un producto químico con el medio ambiente (Sierra, A. Meléndez, L. Ramírez, A. Arroyo, 2014).

Uno de los principios que interviene en el tema de investigación es el **Principio 3**, el cual se basa en procurar usar metodologías que usen y generen sustancias con poca o ninguna toxicidad para el ser humano y para el ambiente. El uso de químicos diluidos y agua es una metodología que no genera una alta toxicidad. No obstante, otro principio que se relaciona es el **Principio 4** el cual se centra en diseñar productos químicos que mantengan la eficiencia en su función, pero con una toxicidad reducida. Al realizar la cuantificación de azúcares, se puede observar como un residuo como el tallo de maíz puede llegar a tener un gran potencial para la producción más limpia de químicos. Adicionalmente, otro principio es el **Principio 7**

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

el cual trata sobre incentivar el uso de materias primas renovables respecto a las agotables. Al usar el tallo de maíz como materia prima se está realizando un aprovechamiento significativo del residuo que se genera.

6.3.2 Sustentabilidad Ambiental

Se entiende como una condición de entendimiento armónico de la sociedad y su ambiente, donde la población actual puede mejorar su bienestar usando los recursos naturales disponibles, pero sin comprometer la calidad de vida de las generaciones venideras (Calderón Hinojosa, 2007). Existen diferentes enfoques de sustentabilidad, uno de ellos es la sustentabilidad económica que se entiende como una serie de prácticas económicamente rentables y éticamente justas, regida por criterios de responsabilidad social y ambiental; otro de los enfoques es la sustentabilidad social, que se entiende como equidad en los estratos sociales que se beneficien con el crecimiento económico; se trata de brindar a toda la población la posibilidad de acceder a una calidad de vida óptima y a las mismas oportunidades (Calderón Hinojosa, 2007). Por último, está el enfoque energético, entendida ésta como una condición de equilibrio entre la seguridad energética, la equidad social, y la mitigación del impacto ambiental (Calderón Hinojosa, 2007).

6.4 Marco geográfico

El municipio de Gutiérrez está ubicado en la Provincia de Oriente del Departamento de Cundinamarca; se encuentra a 75km de Bogotá. Cuenta con una población de 3.836 habitantes, limita por el norte con los municipios de Une y Fosca; por el oriente con el municipio de Guayabetal; por el sur occidente con la parte rural del distrito Capital de Bogotá, correspondiente a la localidad del Sumapaz y por el sur oriente con el departamento del Meta; posee 22 veredas, su altitud es de 2400 m.s.n.m, presenta un clima frío a muy frío con una temperatura media de 15°C; Una precipitación total anual media entre 1000 y 1500 mm en el sector occidental y de 1500 y 2000 mm en el sector centro en un corredor de sur a norte (Cundinamarca, 2018).

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

El proyecto se enfoca en un cultivo ubicado en la vía Fosca – Gutiérrez a 24 Km de la cabecera municipal. Las coordenadas del predio son: 4.333766, -73.987434.

En la imagen 3, se ilustra el mapa de la ubicación de Gutiérrez en Cundinamarca.

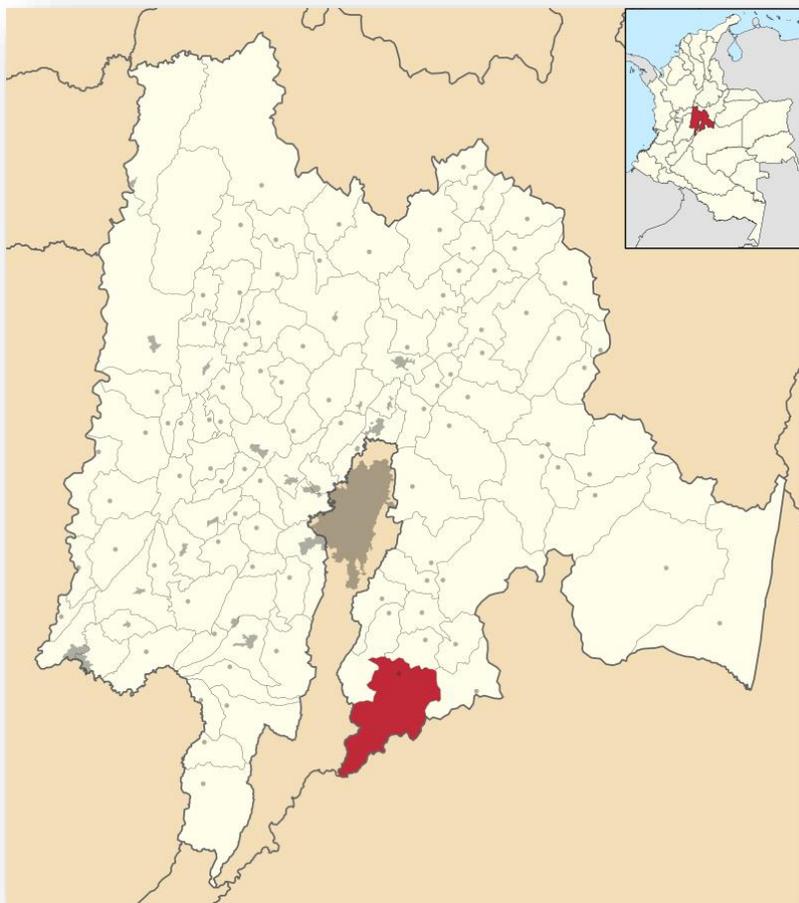


Imagen 3 : Localización de Gutiérrez en Cundinamarca. Tomada de (Cundinamarca, 2018)

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

En la imagen 4, se ilustra la ubicación del lugar de recolección, es decir el cultivo de maíz.



Imagen 4: Localización del cultivo de maíz. Tomada de (Google Earth,2019)

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

6.5 Marco Normativo

A continuación, en la tabla 2, se denotan las normas, leyes y decretos que están relacionados con el tema de investigación.

Tabla 2: Marco normativo. Fuente: (Autor, 2019)

Tipo de norma	Norma	ARTICULO	COMENTARIO
Nacionales	Constitución política de Colombia 1991	Artículo 27	El Estado garantiza las libertades de enseñanza, aprendizaje, investigación y cátedra
		Artículo 67	La educación es un derecho de la persona y un servicio público que tiene una función social: con ella se busca el acceso al conocimiento, a la ciencia, a la técnica, y a los demás bienes y valores de la cultura.
		Artículo 69	El Estado fortalecerá la investigación científica en las universidades oficiales y privadas y ofrecerá las condiciones especiales para su desarrollo
		Artículo 70	El Estado tiene el deber de promover y fomentar el acceso a la cultura de todos los colombianos en igualdad de oportunidades, por medio de la educación permanente y la enseñanza científica, técnica, artística.
		Artículo 79	Todas las personas tienen derecho a gozar de un ambiente sano.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Nacionales		Artículo 80	“El Estado planificará el manejo y aprovechamiento de los recursos naturales, para garantizar su desarrollo sostenible, su conservación, restauración o sustitución. Además, deberá prevenir y controlar los factores de deterioro ambiental, imponer las sanciones legales”
	Decreto ley 2811 de 1974	Artículo 246	Toda persona que posea aproveche, transporte, transforme, almacene o comercialice semillas forestales, material vegetal forestal o productos forestales deberá someterse a control fitosanitario.
	Resolución 532 de 2015		Requisitos, condiciones y obligaciones para la quema controlada de residuos agroindustriales
	Decreto 1496 de 2018		Por el cual se adopta el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos y se dictan otras disposiciones en materia de seguridad química
	Ley 1259 de 2007		“Por medio de la cual se aprueba el “Convenio de Rotterdam para la Aplicación del Procedimiento de Consentimiento Fundamentado previo a ciertos Plaguicidas y Productos Químicos Peligrosos, objeto de comercio internacional.”
	Ley 55 de 1993		Por medio de la cual se aprueba el "Convenio No. 170 y la Recomendación número 177 sobre la Seguridad en la Utilización de los Productos Químicos en el trabajo

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

	Ley 29 de 1990		Por la cual se dictan disposiciones para el fomento de la investigación científica y el desarrollo tecnológico.
	Ley 99 de 1993		Por medio de la cual se crea el Ministerio del Medio Ambiente y se establece formalmente el Sistema Nacional Ambiental. Se responsabiliza a todos y cada uno de los actores del desarrollo de la tarea de conservar y aprovechar de manera racional los recursos naturales y el ambiente.
	Ley 697 de 2001		Se centra en el uso racional de energía, que define como propósito nacional avanzar hacia la utilización de fuentes renovables en pequeña escala.
	Ley 788 de 2002		Exime del impuesto a la renta a las ventas de energía con fuentes renovables.
	Ley 1215 de 2008		Permite a cualquier ciudadano que lo desee y que esté en capacidad de hacerlo, volverse un participante activo de la oferta de generación eléctrica a pequeña y mediana escala.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

	Ley 1715 de 2014		Se define el marco normativo para promover el uso de las energías no convencionales en el país
	Plan de negocios verdes		Definir los lineamientos y proporcionar herramientas para la planificación y toma de decisiones que permitan el desarrollo, fomento y promoción tanto de la oferta como de la demanda de los negocios verdes y sostenibles en el país
Internacionales	NMX-SAST-004- IMNC-2004 (Responsabilidad social)		Por medio del cual se reglamenta que, si un proceso biotecnológico que se pretende implementar para el aprovechamiento de un subproducto o residuo deberá ser menos contaminante que aquel que le dio origen.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

7. MARCO METODOLÓGICO

7.1 Enfoque

Se propone el uso de un enfoque mixto (cualitativo y cuantitativo); el enfoque cuantitativo debido a que el proyecto es secuencial y probatorio. Cada etapa precede a la siguiente sin eludir pasos (Collado, 2014). De la misma manera, se derivan objetivos y preguntas de investigación, se realiza una revisión bibliográfica y se construye un marco o una perspectiva teórica con respecto a los azúcares reductores y los posibles productos químicos que se puede obtener a partir de estos. De igual manera, el proyecto se considera cuantitativo ya que se hace una recolección y el análisis de los datos en la fase experimental (Collado, 2014).

7.2 Método

El proyecto plantea un método inductivo ya que utiliza el razonamiento para obtener conclusiones que parten de hechos particulares, aceptados como válidos para llegar a conclusiones cuya aplicación es de carácter general. El método se inicia con la observación individual de los hechos, se analiza la conducta y características del fenómeno, se hacen comparaciones y experimentos (Mexico, 2019). Para la realización del proyecto es necesario plantear una pregunta de investigación y seguir los pasos de la metodología para poder concluir y demostrar si la idea de investigación resulta o no efectiva.

7.3 Alcance

El proyecto tiene un alcance correlacional ya que tiene como finalidad conocer la relación o grado de asociación que exista entre dos o más conceptos, categorías o variables en una muestra o contexto en particular (Collado, 2014). El proyecto busca identificar si el tratamiento de impregnación y el pH influyen en la obtención de azúcares reductores a partir de residuos de tallo de maíz.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

8. METODOLOGÍA

8.1 Para dar cumplimiento al primer objetivo específico “Realizar el análisis próximo para identificar la humedad, cenizas y sólidos totales del tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca” se plantea la siguiente metodología.

8.1.1 Elección del lugar y recolección de la materia prima

Cuando ya se realiza la elección de la materia prima, se lleva a cabo la elección del lugar en donde se va a recolectar, debe ser un lugar donde se evidencie alta producción de residuos del cultivo de maíz.

8.1.2 Pretratamiento físico de la materia prima

8.1.2.1 Disminución de tamaño

Luego de la recolección de la materia prima, se hace la disminución de tamaño del tallo de maíz. Este procedimiento se realiza haciendo cortes con un cuchillo convencional de aproximadamente 2 mm a la materia prima recolectada.

8.1.2.2 Secado

Ya disminuido el tamaño del tallo del maíz, se debe secar a 105 °C por 48 h, se hace con el fin de quitarle gran parte de la humedad y así proceder al triturado y tamizado

8.1.2.3 Triturado

Luego de realizar la disminución de tamaño y el secado, se conduce a realizar un pretratamiento al residuo seleccionado, teniendo en cuenta las normas ASTM (American Society for Testing and Material). Específicamente, se utilizó la norma **ASTM E1757** la cual hace énfasis en la “Práctica estándar para la preparación de biomasa para análisis compositivo” (States, 2011). El procedimiento se basa en introducir en un molino de cuchillas, la materia

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

prima, la cual, se debe moler para que pase a través de una pantalla de 2 mm. En el diagrama 2 se presenta la metodología a seguir.



Diagrama 2: Triturado de la materia prima. Tomado y adaptado de (States, 2011)

8.1.2.4 Tamizado

El tamizado se configura apilando los tamices en el siguiente orden comenzando en la parte inferior: se comienza con la bandeja, luego se apila el tamiz de malla 80, seguido por el tamiz de malla 20. El material molido se coloca a no más de 7 cm de profundidad en el tamiz de 20 mallas. Luego, se coloca la cubierta en la pila de tamices y se asegura la pila en el agitador de tamices. Los tamices deben agitarse durante 15 min. Al final del período de tiempo, se retiran los tamices. La fracción retenida en el tamiz de malla 20 debe reprocesarse. La fracción retenida en el tamiz de malla 80 debe conservarse para el análisis de la composición. El material en la bandeja inferior (malla –80) se conserva para el análisis de cenizas (States, 2011). En el diagrama 3 se ilustra el procedimiento anteriormente mencionado.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

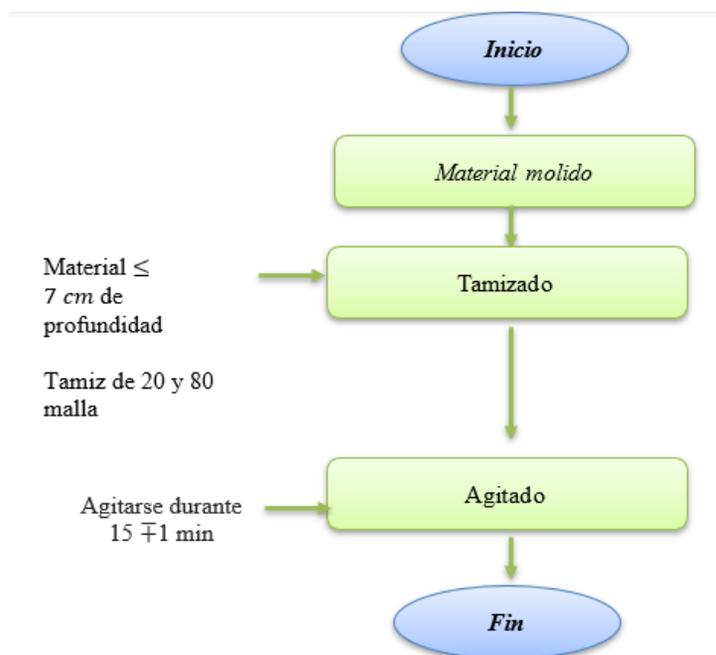


Diagrama 3: Triturado de la materia prima. Tomado y adaptado de (States, 2011)

8.1.3 Análisis próximo de la materia prima

8.1.3.1 Sólidos totales y humedad

En este procedimiento, se usa la materia prima sin tamizar ni triturar, se utiliza la norma **ASTM 1756** la cual consiste en: “La determinación de sólidos totales en biomasa”. El contenido total de sólidos se utiliza para ajustar la masa de la biomasa para que todos los resultados analíticos puedan ser reportados sobre una base libre de humedad.

El procedimiento consiste, en primer lugar, en marcar un recipiente adecuado para la práctica, puede ser una bandeja de pesaje de aluminio o un vaso de precipitados de 50 mL. Luego se coloca el recipiente en el horno de secado a 105 °C durante al menos una hora, se deja enfriar en el desecador a temperatura ambiente y se toma la masa en la balanza analítica al 0,1 mg más cercano. Registrar este peso como la masa tarada (m_t). En segundo lugar, se pesa 1,0 g de muestra en el recipiente tarado, este peso se registra como la masa de la biomasa más el contenedor como la masa inicial (m_{i1}).

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Ya obteniendo la masa inicial, se procede a registrar la masa final, la cual consiste en colocar la muestra en el horno de secado a 105 °C durante 3 h. Luego, se espera a que se enfríe en un desecador a temperatura ambiente, para así, pesar la muestra y registrar la masa. Después de pesar, se debe devolver la muestra al horno de secado a 105 °C durante 1 h y dejar enfriar nuevamente en el desecador y pesar nuevamente. Se debe Repetir este paso hasta que la masa de la muestra varié en menos de 0,3 mg del anterior peso. Finalmente, se registra esa masa como la masa final, (m_{f1}) (ASTM, 2011). En el diagrama 4 se ilustra el procedimiento anteriormente mencionado.



Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

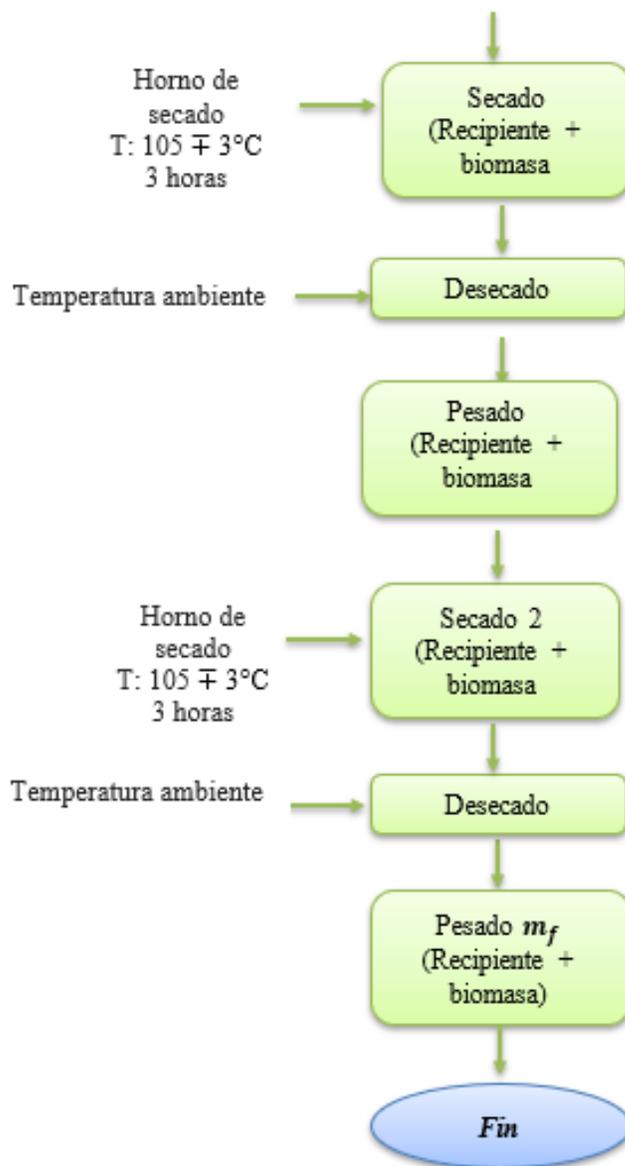


Diagrama 4: Procedimiento de sólidos totales y humedad. Tomado y adaptado (ASTM, 2011)

El cálculo de este análisis se describe a continuación:

$$\%T_{105^{\circ}\text{C}} = \frac{(m_{f1} - m_t)}{(m_{i1} - m_t)} \times 100$$

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Donde:

$$\%T_{105^{\circ}\text{C}} = \text{Porcentaje de sólidos totales en la muestra secada a } 105^{\circ}\text{C}$$

$$m_t = \text{Peso del recipiente seco}$$

$$m_{i1} = \text{Peso inicial del recipiente y biomasa}$$

$$m_{f1} = \text{Peso final del recipiente y biomasa seca}$$

Para el cálculo de humedad se muestra a continuación:

$$\% \text{humedad}_{105^{\circ}\text{C}} = \frac{(W_i - W_f)}{(W_i)} \times 100$$

Donde:

$$\% \text{ humedad} = \text{Porcentaje de humedad en la muestra secada a } 45^{\circ}\text{C}$$

$$W_f = \text{Peso final de la biomasa}$$

$$W_i = \text{Peso inicial de la biomasa}$$

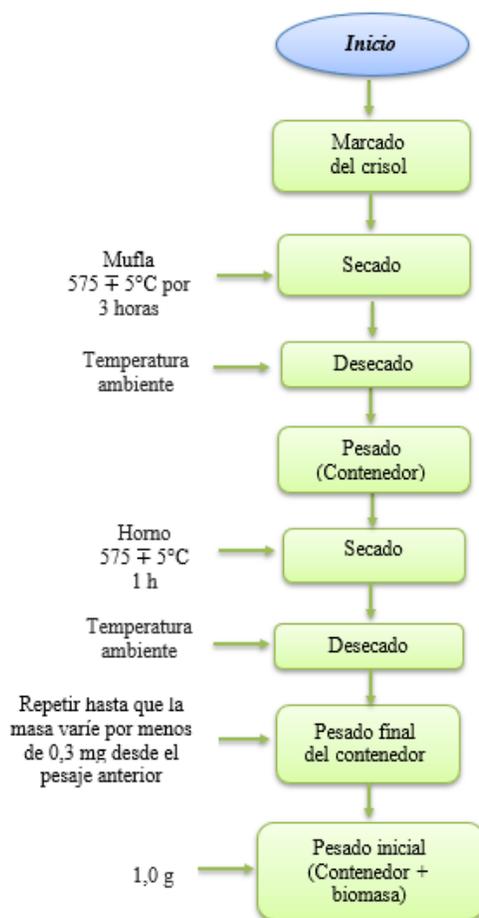
8.1.3.2 Análisis de cenizas

Finalmente, se realiza el análisis de cenizas, en donde es necesario tener en cuenta la norma **ASTM E1755** la cual consiste en “El método de prueba estándar para ceniza en biomasa” Este método de prueba cubre la determinación de cenizas, expresado como el porcentaje en masa del residuo que queda después de secado (ASTM International, 2014). Este procedimiento se realiza con el fin de determinar la cantidad de cenizas de la masa y la cantidad de minerales que contiene (Maderables et al., 2006).

En este proceso inicialmente se marca el crisol que se desea utilizar. Luego, se coloca en el horno de mufla a 575°C por 3 horas. Se retira el crisol del horno y se deja enfriar a temperatura ambiente en un desecador, para luego, pesar al 0,1 mg más cercano. Después de pesar, se devuelve el crisol al horno durante 1 hora a 575°C , se debe enfriar nuevamente en el desecador y se vuelve a pesar; Se repite este paso hasta que la masa del crisol varíe por

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

menos de 0,3 mg desde el pesaje anterior. (Registrar esa masa como la masa final del crisol). Posteriormente, se debe pesar aproximadamente de 0.5 a 1.0 g de biomasa, registrar la masa (recipiente + masa de muestra) como la masa inicial. Seguidamente a esto, se coloca el recipiente y el contenido en la mufla y se enciende a 575 °C durante un mínimo de 3 h, o hasta que se elimine el carbono. Para evitar las llamas, inicialmente, se debe calentar la muestra a 250 °C y mantener durante 30 min. Antes de aumentar la temperatura a 575 °C, evitar el calentamiento por encima de la temperatura máxima indicada. Finalmente, se debe retirar el crisol con su contenido a un desecador a temperatura ambiente y pesare a 0.1 mg más cercano y registrar la masa. Se debe repetir el calentamiento durante períodos de una hora hasta que la masa después del enfriamiento sea constante hasta dentro de 0,3 mg. Se debe registrar la masa de la ceniza como la masa del (contenedor + masa de ceniza) (ASTM International, 2014). En el diagrama 5, se muestra el procedimiento anteriormente expuesto.



Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

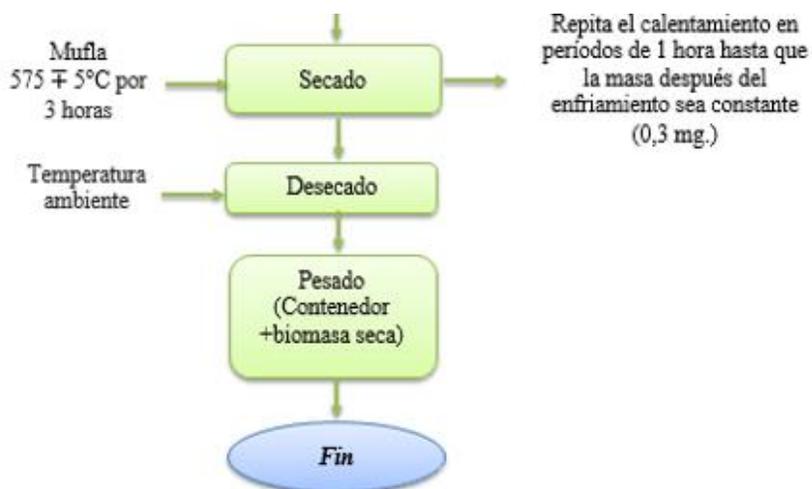


Diagrama 5: Procedimiento de cenizas. Tomado y adaptado de (ASTM International, 2014)

Se hace el cálculo del porcentaje de cenizas como se muestra a continuación:

$$\% \text{ Cenizas} = \left[\frac{(m_{\text{ceniza}} - m_{\text{cont}})}{(m_{\text{od}} - m_{\text{cont}})} \right] \times 100$$

Donde:

% de ceniza = porcentaje en masa de ceniza
masa ceniza = masa de ceniza y contenedor (g)
masa cont = masa del recipiente (g)
mod = masa inicial de muestra seca y recipiente

8.2 Para dar cumplimiento al segundo objetivo específico, “Implementar un tratamiento de impregnación ácida y básica para el fraccionamiento del tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca.” Se planteó la siguiente metodología:

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

8.2.1 Definición de variables

Consiste en realizar una revisión bibliográfica en donde se identifiquen estudios previos relacionados con el fraccionamiento de biomasa lignocelulosa, se tendrán en cuenta criterios como: bases de datos en inglés (Science direct) y base de datos en español en donde se buscarán palabras claves como: **Fraccionamiento de biomasa, impregnación, hidrolisis ácida y básica**. De los artículos, se necesitarán datos como: (temperatura, tiempo de reacción, velocidad y concentración de reactivos).

Se plantea un pretratamiento diluido con ácido y un pretratamiento alcalino para el fraccionamiento de la materia prima. Según Solarte, Romero, Martínez, Ruiz (Solarte-Toro, J. C., Romero-García, J. M., Martínez-Patiño, J. C., Ruiz-Ramos, E., Castro-Galiano, E., & Cardona-Alzate, 2019), el proceso de pretratamiento con ácido diluido es considerado como la tecnología de pretratamiento más cercana a la comercialización, debido a su simplicidad, bajos costos de reactivos y efectividad, *Las condiciones de funcionamiento implican el uso de temperaturas relativamente altas (120–215 °C), presiones (2–10 atm) y bajas concentraciones de ácido (0,1 % p/p – 5,0 % p/w)* Además, **el tiempo de residencia varía de 10 a 120 minutos**. Sin embargo, se hacen algunas modificaciones en el tiempo y en la temperatura debido al gasto energético que se produce. Se elige el ácido clorhídrico y el hidróxido de sodio, ya que, se hace una investigación sobre cuales reactivos son más eficientes al momento de romper la matriz lignocelulósica. Una investigación realizada en Manizales, Colombia proporciona una visión general del pretratamiento con ácido considerando aspectos importantes relacionados con la operación, condiciones, rendimientos, mejoras futuras y el uso potencial para mejorar la biomasa, en el documento se ilustra una tabla en donde se evidencian 3 artículos en donde se usa el *HCl* como reactivo en el pretratamiento de ácido diluido al tallo de maíz (Solarte-Toro, J. C., Romero-García, J. M., Martínez-Patiño, J. C., Ruiz-Ramos, E., Castro-Galiano, E., & Cardona-Alzate, 2019). Por otro lado, para la elección de la base, se hizo la misma revisión con respecto al ácido y se evidenció que en un estudio realizado en Pakistán, que el pretratamiento alcalino usa principalmente hidróxido de sodio y amonio (Anwar et al., 2014). De acuerdo con lo anterior,

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

se plantean las condiciones presentadas en la tabla 3. Se destaca la relación 1:10 biomasa/solución garantizado que la biomasa quede completamente impregnada, la temperatura definida es 60 °C con el fin de evitar la posterior hidrólisis o deshidratación de los azúcares y se evaluarán tres tiempos (4, 8 y 12 horas) para identificar la influencia de este parámetro en la obtención de azúcares reductores.

Tabla 3: Condiciones para el pretratamiento ácido y alcalino. **Fuente:** (Autor,2019)

Relación biomasa/solución	Temperatura (°C)	Tiempo (h)		
		4	8	12
1:10	60	4	8	12

8.2.2 Pre- tratamiento de ácido diluido y alcalino

8.2.2.1 Preparación de reactivos

Para la preparación de los reactivos en primer lugar, se debe realizar el cálculo para preparar 50 mL de HCl y $NaOH$ a 0,5 M, ya realizado el cálculo de los gramos y mililitros que se deben diluir se procede a realizar el siguiente procedimiento. En cuanto al ácido clorhídrico, es necesario utilizar un balón aforado de 50 mL en el cual se debe adicionar 10 mL de agua, luego, se añade los mililitros calculados del ácido concentrado. Posteriormente, se adiciona agua destilada hasta el aforo del balón y se obtienen 50 mL de ácido clorhídrico diluido. En la imagen 5 se puede observar el procedimiento previamente explicado.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

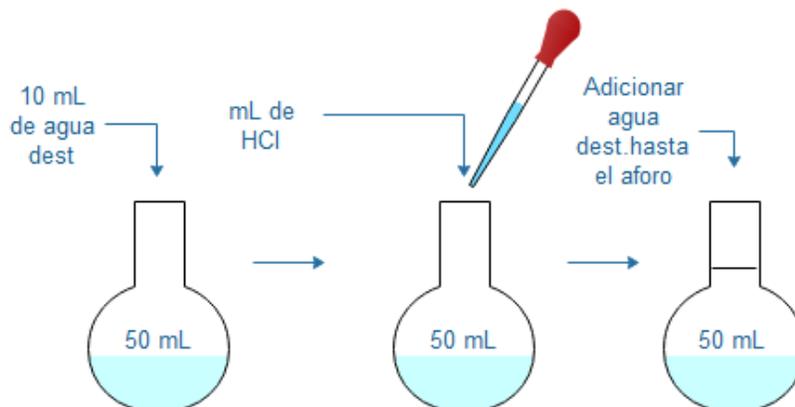


Imagen 5: Procedimiento para preparar el HCl. Fuente:(Autor,2019)

En seguida de realizar la solución ácido clorhídrico en agua, se procede a la estandarización del reactivo para verificar su molaridad, la metodología de la estandarización se describe a continuación: En primer lugar, se debe pesar 0,200 g de patrón primario (Carbonato de sodio Na_2CO_3) previamente es conveniente secar el patrón primario durante 30 min a 110 °C ; Luego, se debe transferir a un erlenmeyer de 100 mL y agregar 50 mL de agua destilada, al erlenmeyer se debe añadir 2 o 3 gotas de indicador (naranja de metilo).

En la bureta adicionar la solución de HCl ; Se valora la solución, lentamente con agitación constante hasta que la disolución adquiera una tonalidad de amarillo a naranja- rojo; Se anota el volumen gastado para así calcular la concentración real de la solución de ácido clorhídrico con la siguiente ecuación:

$$M = \frac{M * 1000}{Eq * V_{gastado}}$$

Donde:

N = Concentración real de la solución, expresada en términos de normalidad

M = gramos pesado de patrón primario(Carbonato de sodio)

Eq = peso equivalente del carbonato de sodio(53.00 g)

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

$$V_{Gastado} = \text{Volumen gastado de la solución en a valoración, expresado en mL}$$

En la imagen 6, se observa el proceso de estandarización previamente descrito.

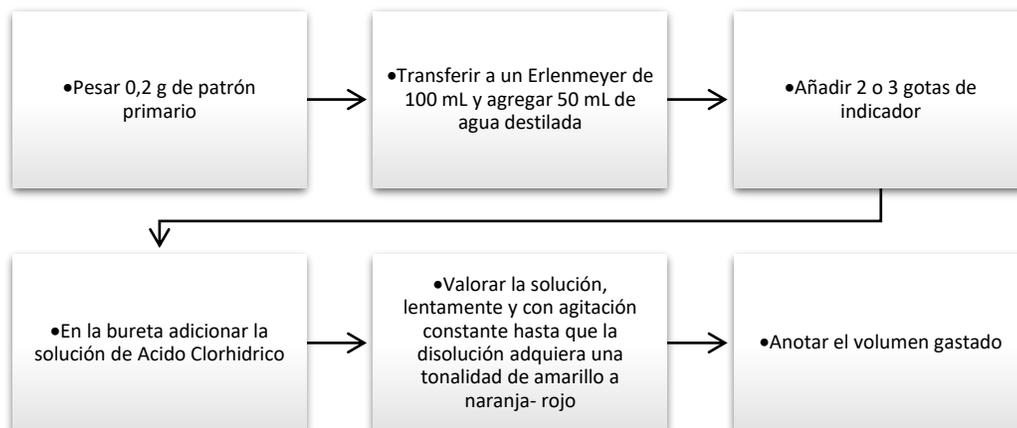


Imagen 6: Procedimiento para la estandarización del ácido clorhídrico. Tomado y adoptado de (IDEAM, 1999)

Por otro lado, para la preparación del hidróxido de Sodio, en primer lugar, se adiciona a un vaso de precipitados los gramos previamente calculados de la base, seguido a esto se le adiciona aproximadamente 15 mL de agua destilada y se procede a agitar para disolver el $NaOH$. Posteriormente, se lleva a un balón aforado de 50 mL y se realizan tres lavados más al vaso de precipitados que se adicionan al balón. En la imagen 7, se ilustra el procedimiento planteado anteriormente.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

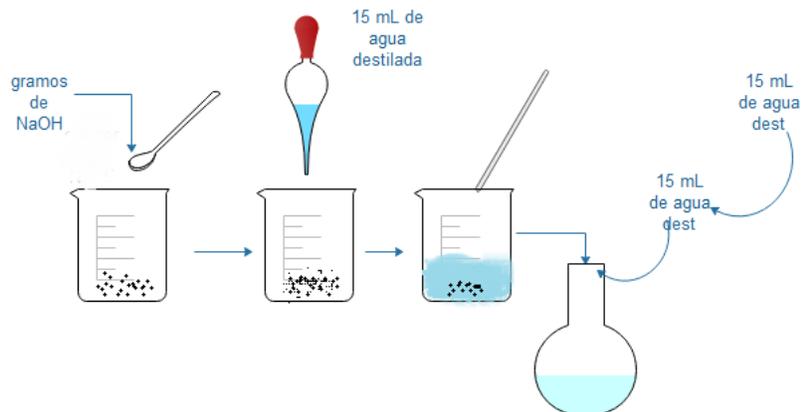


Imagen 7: Procedimiento para preparar el NaOH. Fuente:(Autor,2019)

Luego de realizar la solución de hidróxido de sodio en agua, se procede a la estandarización del reactivo para verificar su molaridad, la metodología de la estandarización se describe a continuación:

En primer lugar, se debe pesar 0,600 g de patrón primario (Ftalato ácido de potasio) previamente es conveniente secar el patrón primario durante 30 min a 110 °C. Se debe transferir a un erlenmeyer de 100 mL y agregar 50 mL de agua destilada; Posteriormente, se debe añadir 2 o 3 gotas de indicador (Fenolftaleína 1,0 %).En la bureta adicionar la solución de hidróxido de sodio, se valora la solución, lentamente con agitación constante hasta que la disolución adquiera una tonalidad rosa o fucsia persistente; Se debe anotar el volumen gastado para así, calcular la concentración real de la solución de hidróxido de sodio con la siguiente ecuación:

$$N = \frac{M * 1000}{Eq * V_{gastado}}$$

Donde:

N = Concentración real de la solución, expresada en términos de normalidad

M = gramos pesado de patrón primario (Ftalato ácido de potasio)

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

$E_q = \text{peso equivalente del ftalato ácido de potasio} (204,23g)$

$V_{Gastado} = \text{Volumen gastado de la solución en la valoración, expresado en mL}$

En la imagen 8, se ve el proceso de estandarización previamente descrito.

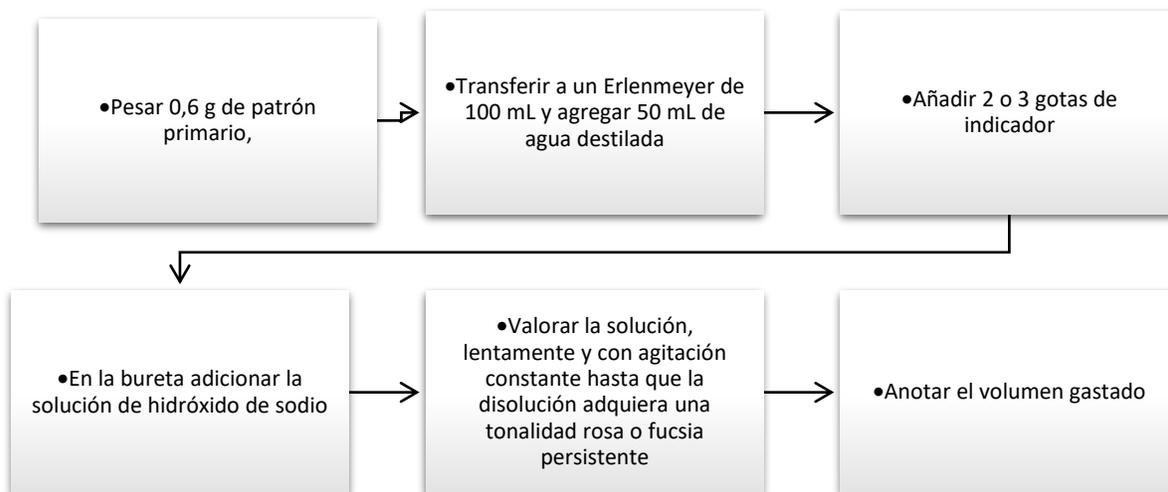


Imagen 8 : Procedimiento para la estandarización del ácido clorhídrico. Tomado y adoptado de (IDEAM, 1999)

8.2.3 Impregnación a temperatura ambiente

Posteriormente, se genera la impregnación, la cual consiste en adicionar en un tubo de ensayo una relación 1:10 biomasa/ácido, biomasa/base o biomasa/agua. es decir, se agrega 1,0 gramo de la biomasa pretratada y 10 mL de cada reactivo diluido y preparado, se dejan en tubos de ensayo en un lugar oscuro por 12 horas.

8.2.4 impregnación acida y alcalina

Luego de realizar la impregnación, se procede a realizar la agitación continua a 60 °C a los tubos de ensayo con las muestras impregnadas; se introducen los tubos en el agitador orbital,

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

a las condiciones expresadas en la tabla 3 y se dejan por tres periodos de tiempo diferentes; se debe realizar 27 pruebas, las cuales se dividen en 3 tubos de ensayo por cada pH (agua, ácido y base) en los 3 periodos de tiempo propuestos. Se selecciona el medio neutro (agua) como blanco del procedimiento.

8.2.5 Centrifugación

Posteriormente, al uso del agitador orbital, se realiza una centrifugación de cada prueba realizada a los tiempos estipulados. Este proceso se hace con el fin de separar el soluto del solvente.

8.3 Para dar cumplimiento al tercer objetivo específico, *“Identificar la obtención de azúcares reductores en la fracción líquida proveniente del tratamiento aplicado al tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca”*. Se planteó la siguiente metodología:

8.3.1 Preparación de glucosa

Inicialmente, se realiza el cálculo para preparar 25 mL de glucosa (2,0 g/L), ya realizado el cálculo de los gramos del azúcar, se adiciona la masa a un vaso de precipitados y se procede de la misma manera que se preparó el hidróxido de sodio. En la imagen 9, se ilustra el procedimiento previamente explicado.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

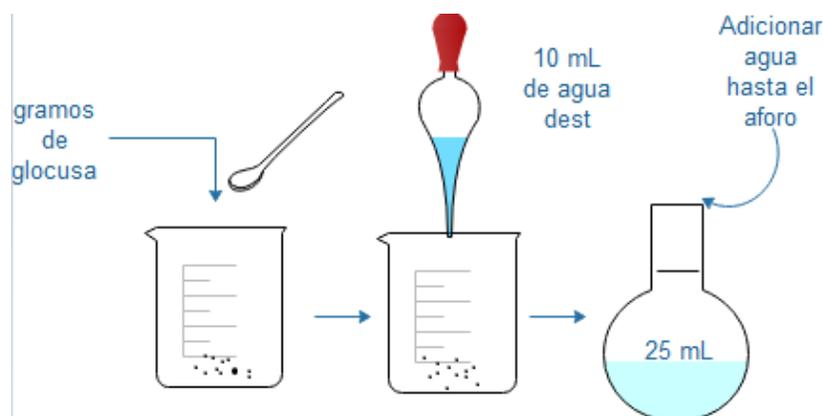


Imagen 9: Preparación de la glucosa (2g/L). **Fuente:**(Autor,2019)

8.3.2 Implementación del método DNS

En primer lugar, se debe realizar la curva de calibración, en donde se deben tomar seis muestras de la solución patrón , en la primera muestra se deben tomar 1000 μL de agua destilada, en la segunda muestra 200 μL de solución patrón en 800 μL de agua destilada, en la tercera muestra 400 μL de solución patrón en 600 μL de agua destilada, en la cuarta muestra 600 μL de solución patrón en 400 μL de agua destilada, en la quinta 800 μL de solución patrón en 200 μL de agua destilada y en la sexta se agrega 1000 μL de la solución patrón, tomando esta última como el blanco de la curva de calibración. Posteriormente, se halla la concentración 2 con ayuda de la siguiente ecuación:

$$C_1V_1=C_2V_2$$

donde :

$$C_1 = \text{concentracion de la glucosa} \left(\frac{2g}{L} \right)$$

$$V_1 = \text{Volumen de cada ensayo}$$

$$V_2 = \text{Volumen de la solucion total (glucosa + agua)}$$

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Ya realizada la preparación de la curva de calibración, se efectúa el método DNS, para la curva de calibración y la fracción líquida ya centrifugada, en donde se adiciona 0.5 mL de 3,5-ácido dinitrosalicílico y 0,5 mL de la muestra en tubos de ensayo, en seguida, se colocan los tubos en baño de maría a 100 °C por 5 min y se dejan enfriar a temperatura ambiente; Finalmente, se elabora la lectura a 540 nm en el espectrofotómetro para saber la absorbancia. En la imagen 10, se muestra la metodología planteada anteriormente.

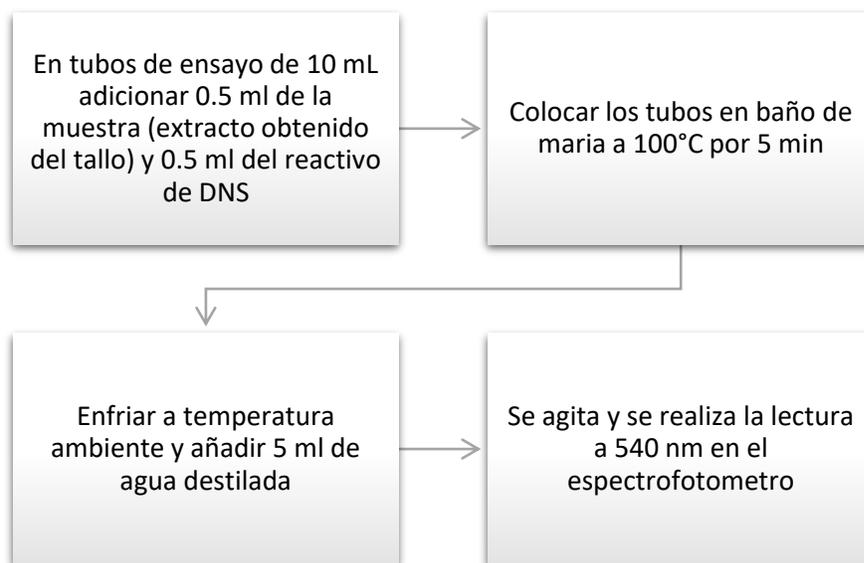


Imagen 10: Procedimiento del método DNS. Tomado y adaptado de (Bello Gil, D., Carrera Bocourt, E., & Díaz Maqueira, 2006)

8.4 Matriz marco metodológico

A continuación, se ilustra la tabla 4 en donde se presentan los objetivos, con sus actividades, técnicas instrumentos y resultados esperados.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Tabla 4: Matriz del marco metodológico. Fuente : (Autor, 2019)

Objetivo general:				
Evaluar la producción de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca.				
Objetivos específicos	Actividad	Técnica verificar	Instrumentos	Resultado esperado
1. Realizar el análisis próximo al tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca para identificar la	Recolección de muestra (cultivo ubicado en Gutiérrez, Cundinamarca)	La técnica que se utilizará para el cumplimiento de este objetivo es la recolección de datos.	Computador	Materia prima disponible para realizarle el pretratamiento
	Disminución de tamaño		Materiales de laboratorio (Horno de secado, capsulas Desecador, mufla)	
	Secado			
	Triturado			
	Tamizado			

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

humedad, cenizas y sólidos totales.	Determinación de humedad y solidos totales			
	Determinación de ceniza			
2. Implementar un tratamiento de impregnación ácida y básica para el fraccionamiento del tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca.	Definición de Variables	La técnica que se utilizará para el cumplimiento de este objetivo es la recolección de datos.	Computador	Materia prima tratada
	Preparación de reactivos		Materiales de laboratorio (tubos de tapa rosca, capsula, balanza, centrifuga)	
	Impregnación a temperatura ambiente		Reactivos	

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

	Impregnación ácida y alcalina			
	Centrifugación			
3. Identificar la obtención de azúcares reductores en la fracción líquida proveniente del tratamiento aplicado al tallo de maíz obtenido de un	Realización curva de calibración de la glucosa	La técnica que se utilizará para el cumplimiento de este objetivo es el análisis de datos	Computador	Cuantificación de azúcares reductores
	Lectura en el espectrofotómetro		Resultados	

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca.	Cuantificación de azúcares reductores			
---	---------------------------------------	--	--	--

8.5 Plan de trabajo: Cronograma

En la tabla 5 se presenta, el cronograma del plan de trabajo

Tabla 5: Cronograma. Fuente: (Autor,2019)

Actividad	Año 2019									
	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre
Identificación de la problemática						X				
Búsqueda de información						X	X	X	X	
Organización de la información								X	X	

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Construcción del documento										
Realizar el análisis próximo al tallo de maíz										
Recolección de muestra (cultivo ubicado en Gutiérrez, Cundinamarca)								X		
Disminución de tamaño									X	
Secado									X	
Triturado									X	
Tamizado									X	
Determinación de humedad y sólidos totales									X	
Determinación de ceniza									X	
Implementar un tratamiento de impregnación ácida y básica para el fraccionamiento del tallo de maíz										

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Definición de condiciones de tiempo y temperatura										X	
Preparación de reactivos										X	
Impregnación										X	
Impregnación ácida y alcalina										X	
Centrifugación										X	
Identificar la obtención de azúcares reductores en la fracción líquida proveniente del tratamiento aplicado											
Realización curva de calibración de la glucosa										X	
Lectura en el espectrofotómetro										X	
Cuantificación de azúcares reductores										X	

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

9. RESULTADOS Y ANALISIS

9.1 Objetivo 1: Realizar el análisis próximo para identificar la humedad, cenizas y sólidos totales del tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca

9.1.1 Elección del lugar y recolección de la materia prima

La recolección de la materia prima se hizo en un cultivo de maíz ubicado a en la vía Fosca – Gutiérrez a 24 Km de la cabecera municipal. En la imagen 11, se ilustra el lugar de recolección.



Imagen 11: Cultivo de maíz ubicado en Gutiérrez, Cundinamarca. Fuente:(Autor, 2019)

Posterior a la recolección de la materia prima, se extrajo las hojas, espiga y residuos de mazorca presentes en el tallo para así continuar con la preparación de la muestra para el análisis próximo. En la imagen 12, se ilustra la apariencia del tallo de maíz recolectado.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.



Imagen 12: Apariencia del tallo de maíz con hojas y sin hojas. Fuente:(Autor, 2019)

9.1.2 Pretratamiento físico de la materia prima

9.1.2.1 Disminución de tamaño

Teniendo el tallo listo para su preparación, se redujo el tamaño como se muestra en la imagen 13 dejando la materia prima lista para el secado, se hizo esta reducción para facilitar el manejo del material y garantizar la pérdida completa de agua.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.



Imagen 13: Reducción del tamaño del tallo de maíz. **Fuente:** (Autor, 2019)

9.1.2.2 Secado

Ya disminuido el tamaño del tallo del maíz, se secó a 105 °C por 48 h la materia prima, para así, quitarle gran parte de la humedad y así proceder al triturado y tamizado. En la imagen 14, se puede ver el secado del tallo de maíz.



Imagen 14: Secado del tallo de maíz. **Fuente:** (Autor, 2019)

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

9.1.2.3 Tamizado

Luego de haber pasado la materia prima por el molino de cuchillas se hizo el tamizaje; en donde se utilizó tres tamices, el primero # 5 con abertura en micras de (4.00), el segundo # 18 con abertura en micras de (1.00) y el ultimo tamiz # 40 con abertura en micras de (0,425); se realizó una agitación continua por 10 minutos. En la imagen 15 se puede observar los tamices utilizados para esta actividad.



Imagen 15: Tamices utilizados. **Fuente:** (Autor, 2019)

Se realizó 3 pruebas en donde se utilizó 20 gramos en cada una de ellas; Se agito dichos tamices por 10 minutos y se anotó las masas que quedaron en los tamices después de la agitación, los resultados se presentan en los gráficos 1, 2 y 3. Para el primer procedimiento de tamizaje se observa que la mayor fracción quedo en el tamiz número 18 (54,82 %) seguido del tamiz número 40 (27,02 %), el fondo de los tamices (16,29 %) y por último el tamiz

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

número 5 (1,86%). En conclusión, el tamiz que más biomasa recolecto fue el tamiz #40 (0,425 μm).

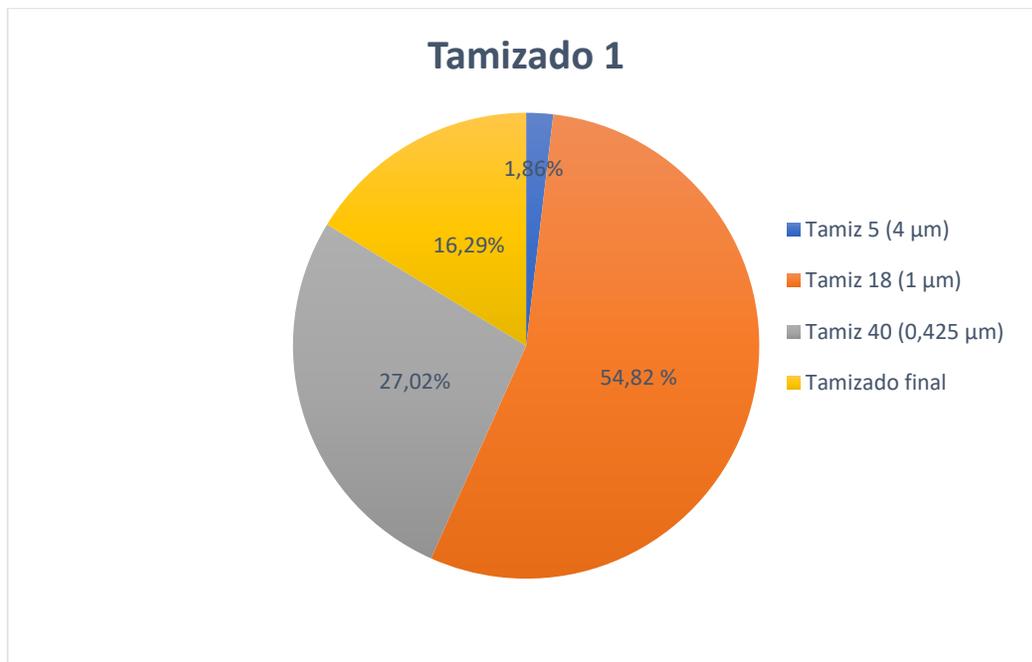


Gráfico 1: Porcentajes del tamizado 1. **Fuente:** (Autor,2019)

Para el segundo procedimiento de tamizaje se observa que la mayor fracción quedo en el tamiz número 18 (49,10 %) seguido del tamiz número 40 (30,83 %), el fondo de los tamices (19,39 %) y por último el tamiz número 5 (0,68%). En conclusión, de igual manera al primer procedimiento de tamizaje, el tamiz que más biomasa recolecto fue el tamiz #40 (0,425 μm).

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

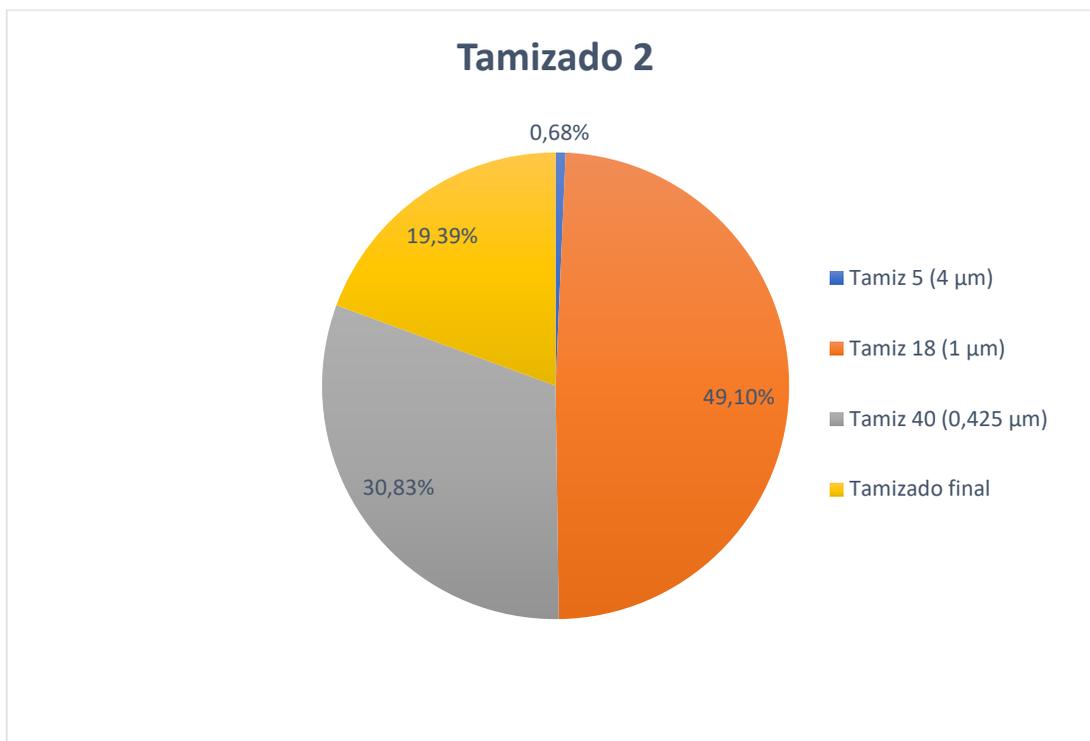


Gráfico 2: Porcentajes de tamizado 2. **Fuente:** (Autor,2019)

Para el tercer procedimiento de tamizaje se observa que la mayor fracción quedó en el tamiz número 18 (53,31 %) seguido del tamiz número 40 (32,95 %), el fondo de los tamices (10,54 %) y por último el tamiz número 5 (3,20%). En conclusión, el tamiz que más biomasa recolecta es el mismo que se dio en los dos procedimientos analizados anteriormente.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

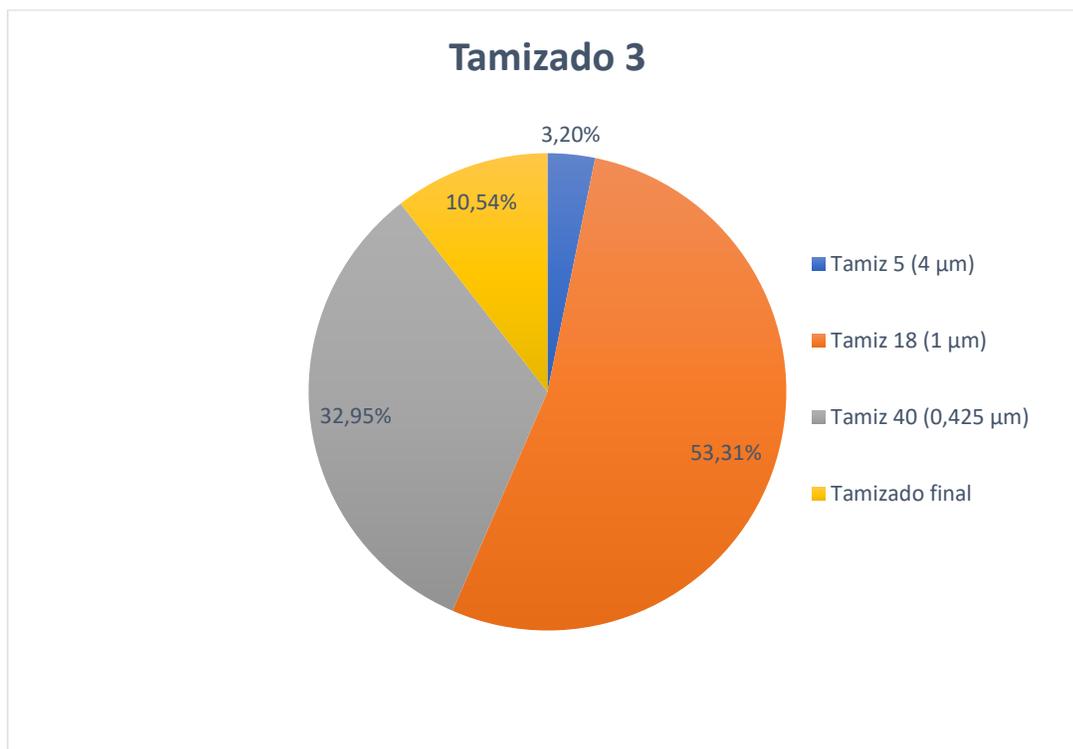


Gráfico 3: Porcentaje del tamizado 3. **Fuente:** (Autor, 2019)

Es importante resaltar que el tamiz que más recolecta muestra no se relaciona con la consistencia de esta, para los ensayos que se planean realizar, se toma la muestra que queda en el tamiz número 40 con abertura en micras de (0,425). Se realiza la elección de este tamiz, ya que este recolecta muestra con mejor consistencia en comparación con los otros tamices utilizados, la consistencia de la muestra es de vital importancia para los procedimientos posteriores en la investigación debido a que se necesita una muestra que genere una mayor superficie de contacto con el agente impregnante.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

9.1.3 Análisis próximo de la materia prima

9.1.3.1 Humedad y sólidos totales

En este procedimiento, se usó la materia prima sin tamizar ni triturar, se realizó la metodología descrita anteriormente por triplicado. En la tabla 6 se presentan los resultados obtenidos de humedad y sólidos totales.

Tabla 6: Resultados de humedad y sólidos totales. **Fuente:** (Autor,2019)

Numero de capsula	Peso (g)de capsulas calentadas (105°C)	Peso de biomasa (1g)	Peso (g) de (Capsulas + biomasa (1g)) sin calentar	Peso (g)de (Capsulas + biomasa (1g)) calentadas (105°C 24 h)	Biomasa seca (g)	Masa agua perdida (g)	Porcentaje de humedad 24h (105°C)	Porcentaje de Sólidos totales (24h (105°C))
1	52,2243	1,0248	53,2491	52,4299	0,2056	0,8192	79,9375	20,0625
2	49,8676	1,0767	50,9443	50,0547	0,1871	0,8896	82,6228	17,3772
3	50,4048	1,0053	51,4101	50,5797	0,1749	0,8304	82,6022	17,3978
Promedio (%)							81,7209	18,2791
Desviación estándar (%)							1,5444	1,5444
Coficiente de variación (%)							1,8899	8,4491

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

9.1.3.2 Análisis de cenizas

De igual manera que el análisis anterior, se siguió la metodología establecida por triplicado, en la tabla 7 se presentan los resultados de cenizas.

Tabla 7: Resultado de prueba de cenizas. Fuente:(Autor,2019)

Numero de capsula	Peso de capsulas calentadas (575°C 3h)	Peso de (Capsulas + biomasa (1g)) sin calcinar	Peso (g)de (Capsulas + biomasa (1g)) calentadas (575°C 3 h)	Cenizas (%)
1	44,0633	44,2467	44,0734	5,5071
2	54,0733	54,2400	54,0817	5,0390
3	65,0999	65,2940	65,1113	5,8733
Promedio (%)				5,4731
Desviación estándar (%)				0,4182
Coefficiente de variación (%)				7,6405

Análisis de resultados

La humedad es una de las variables de mayor importancia atribuidas a la biomasa y a los productos obtenidos de esta, ya que la eliminación de agua permite el aprovechamiento óptimo de la capacidad energética de la biomasa (Garzón, 2018). Además, es uno de los factores más influyentes en la biosíntesis de carbohidratos en la planta, ya que el agua es fundamental en el proceso de fotosíntesis (Navarro & Navarro, 2003). Por otro lado, el agua influye en el grado de madurez y crecimiento de la planta, reflejándose en la relación $\frac{C}{N}$; los

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

mayores contenidos de nitrógeno en las plantas se encuentran en los tejidos jóvenes, a medida que la planta avanza en edad, la proporción de celulosa aumenta y el porcentaje de nitrógeno disminuye y se eleva el contenido de carbono ligado a la producción de polisacáridos es decir se aumenta el contenido de celulosa hemicelulosa y lignina. Con respecto a esto, en el (anexo 1) se puede observar el contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina de la biomasa tamizada seca, valores reportados por el laboratorio de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia de la universidad nacional. Los porcentajes reportados para celulosa, hemicelulosa y lignina fueron respectivamente 16,0 %,18,4 %, 11,8 % estos porcentajes comparados con otros autores (tabla 8) son bajos. Según (Cuaspud Cáliz, 2017) el porcentaje de hemicelulosa, celulosa y lignina varía de acuerdo con la edad y tipo de planta. Para una planta adulta de maíz, por ejemplo, mayor de ocho meses, se han reportado valores de 30, 35 y 45%, respectivamente, deduciendo entonces que el contenido de carbohidratos es bajo comparado con otros autores debido a la edad y al tipo de la planta que se utilizó en esta investigación.

Tabla 8: Comparación de porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina con otros autores. **Fuente:** (Autor,2019)

Fibra	Resultado	(Nag, 2008)	(Esteghlalian, 1997)	(Tucker, 2003)
Celulosa	16,0%	35,0%	36,0%	38,0 %
Hemicelulosa	18,4%	45,0%	44,3%	42,0%
Lignina	11,8 %	15,0%	19,7%	20,0%

Se realizó el análisis de sólidos totales y humedad, en donde la biomasa fue sometida a secado, con el fin de facilitar el homogenizado de la muestra para obtener así, una base seca para los procedimientos posteriores y con esto reducir posibles errores. Los resultados obtenidos de humedad y sólidos totales fueron respectivamente 81,72 % y 18,28 %, se realizó la prueba por triplicado dando como resultado un coeficiente de variación menor a 10 %, según la norma NTC- ISO/IEC 17025:2005, si el coeficiente de variación calculado es menor

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

al 10 % se concluye que los experimentos realizados son precisos a nivel de repetibilidad (Baird & Eaton, 2019). Los resultados se aproximan a otros estudios que reportan un porcentaje de humedad alto en tallo de maíz (tabla 9). Los factores que influyen en el alto contenido de humedad se relacionan con i) la edad de la planta, ii) el sitio de recolección de la materia prima y iii) la especie de la planta. No obstante, con respecto al porcentaje obtenido se puede observar que la planta se encuentra en una etapa de crecimiento temprana, ya que en esta etapa la planta requiere mayor contenido de agua para la biosíntesis de carbohidratos funcionales para una posterior etapa adulta (Navarro & Navarro, 2003).

Tabla 9: Comparación de porcentajes de humedad y solidos totales con otros autores.

Fuente: (Autor,2019)

Parámetro	Resultado	(Leask & Daynard, 1973)	(Lizotte, Savoie, Lefsrud, & Allard, 2015)	(Igathinathane, Womac, Sokhansanj, & Pordesimo, 2006)
Humedad	81,7209%	65%	84%	72,6%
Solidos totales	18,2791%	-	-	-

Al igual que la humedad, en cuanto al análisis de cenizas, se obtuvo un coeficiente de variación menor a 10 % el cual es un valor preciso a nivel de repetibilidad. El porcentaje de cenizas reportado por otros autores se relaciona en la tabla 10. Se observan valores muy cercanos a los obtenidos, sugiriendo una similitud en los porcentajes de minerales que contiene el maíz. La obtención de minerales está íntimamente ligada con la producción de carbohidratos al igual que la humedad, ya que, según Navarro, la velocidad de absorción de estos nutrientes es más alta en etapas tempranas, requeridos para la biosíntesis de polímeros funcionales como carbohidratos(Navarro & Navarro, 2003).

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Tabla 10: Comparación de porcentajes de cenizas con otros autores. **Fuente:** (Autor,2019)

Parámetro	Resultado	(Lanzetta & Blasi, 1998)	(Aksoġan, Binici, & Ortlek, 2016)	(Suaréz, 2017)
Cenizas	5,4731%	5%	5%	5%

En conclusión, se obtuvo 81,7209 % de humedad, 18,2791 % de sólidos totales y 5,4731 % de cenizas, valores cercanos a los reportados previamente. La similitud en los valores obtenidos permite inferir que estos parámetros (humedad, sólidos totales y cenizas) no son afectados marcadamente por las condiciones climáticas y tipo de suelo. Lo anterior debido a que los estudios reportados emplearon biomasa de lugares diferentes al clima colombiano.

9.2 Objetivo 2: “Implementar un tratamiento de impregnación ácida y básica para el fraccionamiento del tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca “

9.2.1 Pre- tratamiento de ácido diluido y alcalino

9.2.1.1 Preparación de reactivos

Antes de preparar la solución de los reactivos se realizó los cálculos para obtener la molaridad de cada reactivo.

En primer lugar, se hizo el cálculo para obtener 200 mL de NaOH 2 %

En la imagen 16, se puede observar el reactivo utilizado:

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

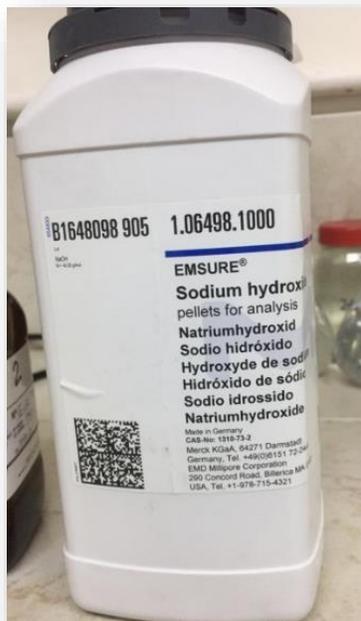


Imagen 16: Hidróxido de sodio utilizado. Fuente: (Autor, 2019)

Se halló la molaridad:

$$1 \text{ g NaOH} \times \frac{1 \text{ mol}}{40 \text{ g NaOH}} = 0,025 \text{ mol de NaOH}$$

$$50 \text{ mL} * \left(\frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \right) = 0,0500 \text{ L}$$

$$M = \frac{0,025 \text{ mol}}{0,0500 \text{ L}} = 0,5 \text{ M de NaOH}$$

Hallada la molaridad, se hizo el cálculo para preparar 200 mL, ya que se desea realizar una estandarización para verificar la molaridad de la solución y se requiere una gran cantidad para esta prueba.

$$200 \text{ mL de H}_2\text{O} \times \frac{1 \text{ g de NaOH}}{50 \text{ mL de H}_2\text{O}} = 4 \text{ g de NaOH}$$

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Seguido a esto se realizó el cálculo de la molaridad (M) del *HCl* Comercial

$$M = \frac{\text{moles de soluto}}{L \text{ de solución}}$$

$$\partial = \frac{m}{v}$$

En primer lugar, se halló los moles del soluto:

En la imagen 17, se puede observar el ácido utilizado



Imagen 17:Ácido clorhídrico utilizado. **Fuente:** (Autor, 2019)

$$37 \text{ gHCl} \times \frac{1 \text{ mol}}{36,5 \text{ g HCl}} = 1,01 \text{ mol de HCl}$$

En segundo lugar, se encontró el volumen de la solución:

$$v = \frac{m}{\partial}$$

$$100 \text{ g sln} ; \partial = 1,18 \frac{\text{g}}{\text{mL}}$$

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

$$v = \frac{100g}{1,18 g/mL} = 84,74 mL \text{ sln} \times \left(\frac{1L}{1000 mL} \right) = 0,085 L$$

Y posteriormente, se halló la Molaridad del reactivo:

$$M = \frac{\text{moles de soluto}}{L \text{ de solución}}$$
$$M = \frac{1,01mol}{0,0874 L} = 11,5 M$$

Ya obtenida la Molaridad (M) de *HCl* comercial se realizó el cálculo para saber cuánto volumen que se necesita para preparar *HCl* a una concentración de 0.5 M en 200 mL:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$
$$11,5M * V_1 = 0,5M * 200mL$$
$$V_1 = \frac{0,5M * 200mL}{11,5M} = 8,69 mL \text{ de } HCl$$

Ya realizada la solución se procedió a hacer la estandarización, se hizo por triplicado, los resultados obtenidos del hidróxido de sodio se ilustran en la tabla 11.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Tabla 11: Estandarización del NaOH. **Fuente:** (Autor, 2019)

Reactivo	Ensayo	Peso (g) del patrón primario	Peso (g) equivalente del patrón primario ($C_8H_5KO_4$)	Volumen gastado de NaOH (mL)	Molaridad (mol/L)
NaOH	1	0,5380	204,23	5,2	0,5066
	2	0,6008	204,23	5,9	0,4986
	3	0,6082	204,23	6,0	0,4963
Promedio					0,5005
Desviación estándar					0,0053
Coefficiente de variación					1,0764

En la imagen 18, se ilustra el proceso de estandarización del hidróxido de sodio

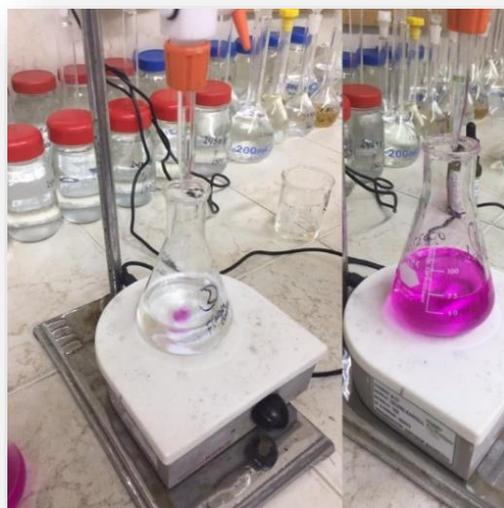


Imagen 18: Estandarización del NaOH. **Fuente:** (Autor, 2019)

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

La estandarización del ácido clorhídrico, al igual que el medio básico, se hizo por triplicado, a continuación, en la tabla 12, se ilustran los resultados obtenidos del ácido clorhídrico:

Tabla 12: Estandarización del HCl. **Fuente:** (Autor,2019)

Reactivo	Ensayo	Peso (g)del patrón primario	Peso (g)equivalente del patrón primario (Na_2CO_3)	Volumen gastado de HCl (mL)	Molaridad (mol/L)
HCl	1	0,2053	53,00	7,2	0,5380
	2	0,2034	53,00	7,3	0,5257
	3	0,2175	53,00	7,4	0,5546
Promedio					0,5394
Desviación estándar					0,0144
Coficiente de variación					2,6837

En la imagen 19, se ilustra el proceso de estandarización del ácido clorhídrico

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.



Imagen 19: Estandarización del HCl. Fuente: (Autor, 2019)

En conclusión, de acuerdo con los resultados obtenidos de estandarización, se puede observar que la molaridad en ambos medios (ácido y base) dio similar al valor hallado en la preparación de los reactivos.

9.2.2 Impregnación a temperatura ambiente

Posteriormente, a la estandarización se realizó la impregnación siguiendo una relación 1:10 biomasa/ácido, biomasa/base. Así mismo, se hizo la prueba con agua como blanco para identificar el comportamiento. Realizado el proceso de impregnación se dejaron los tubos de ensayo por 12 horas. En la imagen 20 se ilustra el procedimiento descrito.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.



Imagen 20: Impregnación por 12 horas. Fuente: (Autor, 2019)

9.2.3 impregnación ácida y alcalina

Después de realizada la impregnación, se realizó la agitación continua a 60 °C a los tubos con las muestras impregnadas; se introdujo los tubos en el agitador orbital, a las condiciones expresadas en la tabla 3 y se dejó por tres periodos de tiempo diferentes, como esta expresado en la metodología. Esto con el fin realizarse un hinchamiento y una disociación de la matriz lignocelulósica. En la imagen 21 se ilustra el procedimiento denotado.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.



Imagen 21: Agitación continua en el agitador orbital. Fuente: (Autor, 2019)

9.2.4 Centrifugación

Finalmente, se centrifugó cada tubo con el fin de separar la fracción sólida de la fracción líquida. En la imagen 22, se observa el proceso de centrifugación



Imagen 22: Proceso de centrifugación. Fuente: (Autor, 2019)

Análisis de resultados

Al preparar los reactivos se hizo una estandarización con el fin de conocer la concentración de las soluciones y trabajar con un grado de certeza confiable, se realiza este procedimiento ya que en la preparación de soluciones pueden ocurrir errores, debido al material utilizado, a la pesada o la calidad del reactivo (España, Quintero, & Reyes, 2017). Por otro lado, la impregnación de la biomasa con los reactivos previamente normalizados consistió en almacenar las muestras en un lugar oscuro durante un periodo de tiempo determinado a temperatura ambiente, se puede deducir que este pretratamiento genera en el caso del pretratamiento con ácido a temperatura ambiente una mejora en la digestibilidad anaerobia, facilitando la degradación de la muestra a compuestos más fraccionados. El objetivo de este pretratamiento es solubilizar la hemicelulosa, y lograr con esto mejor acceso a la celulosa (Hendriks & Zeeman, 2009). En el caso del pretratamiento alcalino a temperatura ambiente, las primeras reacciones que tienen lugar son la solvatación y saponificación, provocando que la biomasa se expanda (Cortes, 2014).

En cuanto al proceso de impregnación alcalina se estima que se haya producido un hinchamiento de la biomasa, lo que conduce a un aumento del área superficial interna, un descenso de la cristalinidad, una separación de las uniones estructurales entre la lignina y los carbohidratos y una rotura de la estructura de la lignina (Hendriks & Zeeman, 2009). Además, un cambio de la estructura de celulosa a una forma más densa y termodinámicamente más estable que la celulosa (Hendriks & Zeeman, 2009). En el caso de la impregnación con ácido diluido se estima que se haya producido una solubilización de hemicelulosa con el fin de incrementar la digestibilidad de la celulosa (Pi & Lozano, 2016). De igual manera, en la impregnación con agua, lo que se espera que ocurra es que se produzca la solubilización de la hemicelulosa con el fin de tener acceso a la celulosa y evitar la formación de inhibidores. (Cortes, 2014)

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Luego de la impregnación con agua, ácido y base, se realiza la centrifugación con el fin de separar el sólido del líquido debido a la diferencia de densidad mediante la fuerza centrífuga que se realiza por el movimiento de rotación que produce la sedimentación de los sólidos o de las partículas de mayor densidad (Mercado, 2014).

9.3 Objetivo 3: *“Identificar la obtención de azúcares reductores en la fracción líquida proveniente del tratamiento aplicado al tallo de maíz obtenido de un cultivo ubicado en el municipio de Gutiérrez, Cundinamarca.”*

9.3.1 Preparación de solución patrón de glucosa

Inicialmente para lograr la cuantificación de los azúcares reductores presentes en la fracción líquida obtenida de la impregnación de la biomasa se prepara una solución de un azúcar conocido. Para el caso particular se preparó una solución de glucosa. El cálculo para obtener 25 mL de glucosa ($C_6H_{12}O_6$) (2g/L) se presenta a continuación:

$$25 \text{ mL de agua destilada} \times \frac{2 \text{ g de glucosa } (C_6H_{12}O_6)}{1000 \text{ mL de agua destilada}} \\ = 0,05 \text{ g de glucosa } (C_6H_{12}O_6)$$

Realizado el cálculo, se procedió a preparar la solución, descrita previamente en la metodología.

9.3.2 Implementación del método DNS

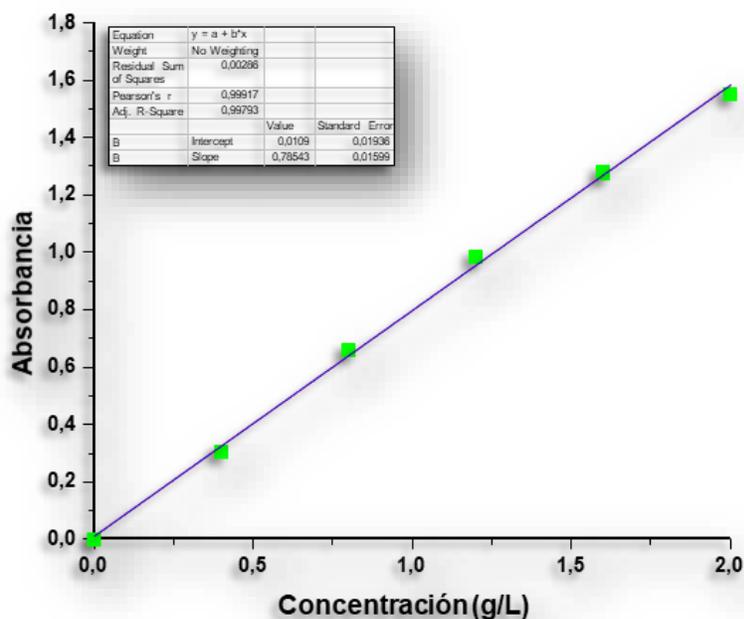
Posteriormente a la preparación de la glucosa, se implementó el método DNS, en donde en primer lugar se realizó la curva de calibración. En la tabla 13 se ilustran las 6 muestras de solución patrón con su concentración.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Tabla 13: Datos de curva de calibración. **Fuente:** (Autor,2019)

Número de muestra	Sln glucosa (2 g/L) μL	H ₂ O μL	Concentración (g/L)
1	1000	0	2
2	800	200	1,6
3	600	400	1,2
4	400	600	0,8
5	200	800	0,4
6	0	1000	0

A cada una de las muestras se adicionó 1000 μL de DNS y se llevó a baño de maría para que el ácido reaccionara con la glucosa. En la siguiente grafica se puede observar la curva de calibración a partir de una solución de glucosa de (2 g/L).



Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Gráfico 4: Curva de calibración de la glucosa. **Fuente:** (Autor,2019)

En la imagen 23, se ilustra la decoloración de las distintas soluciones de la curva de calibración, esta decoloración se debe a la reacción que ocurre entre la glucosa y el 3.5 ácido dinitro salicilico, ya que entre más solución de glucosa haya, mayor intensidad en el color.

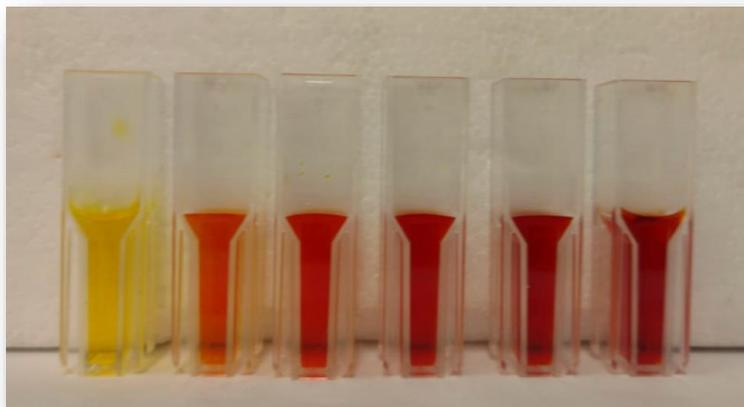


Imagen 23: Decoloración de soluciones de la curva de calibración. **Fuente:**(Autor,2019)

Luego de realizar la curva, se procedió a implementar el método DNS en las muestras ya pretratadas, cada ensayo se realizó por triplicado. De esta manera, de cada ensayo se extrajo 100 μL de la fracción líquida centrifugada y se adicionó este volumen en tubos para la reacción del ácido con los azúcares; Posteriormente, se adicionó 1000 μL de DNS y 1000 μL de agua, se llevaron los tubos a baño de maría durante 10 minutos y finalmente se adicionó a los tubos de ácido y agua 5000 μL y así llevar esa disolución final a la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro.

En las tablas 14, 15 y 16, se presentan los valores de absorbancias de las muestras tratadas a los tres tiempos estipulados en la metodología (4 h, 8h, 12h). De igual manera, se presenta la concentración inicial, la cual fue hallada, realizando una división de la absorbancia sobre la pendiente de la curva de calibración (Gráfico 4) y adicionalmente, se presenta la concentración del extracto de cada muestra utilizada, para ser este cálculo se realizó una

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

multiplicación entre la concentración inicial y el volumen de la solución final para luego así dividirlo entre el volumen total del extracto.

Tabla 14: Cuantificación de azúcares a 4 horas. **Fuente:** (Autor,2019)

<i>Agente impregnante</i>	<i>Número de prueba</i>	<i>absorbancia</i>	<i>Concentración inicial (g/L)</i>	<i>Concentración extracto (g/L) *</i>
HCl	1	0,8320	1,0493	64,0081
	2	0,1630	0,2056	12,5400
	3	0,5940	0,7491	45,6981
	Promedio			40,7487
NaOH	1	0,0160	0,0202	0,2220
	2	0,00	0,0000	0,0000
	3	0,00	0,0000	0,0000
	Promedio			0,0740
H ₂ O	1	0,3660	0,4616	28,1574
	2	0,6950	0,8765	53,4683
	3	0,4150	0,5234	31,9271
	Promedio			37,8509

*Concentración real, luego aplicar el factor de dilución.

En la tabla 14, se puede evidenciar que el medio que más genero un alto contenido de azúcares fue el medio ácido con una concentración promedio de 40,74 (g/L) seguido por el medio neutro con una concentración promedio de 37,85 (g/L), el medio básico no reporto gran concentración de azúcares con un promedio de 0,07 (g/L).

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Tabla 15: Cuantificación de azúcares a 8 horas. **Fuente:** (Autor,2019)

<i>Agente impregnante</i>	<i>Número de prueba</i>	<i>absorbancia</i>	<i>Concentración inicial (g/L)</i>	<i>Concentración extracto (g/L) *</i>
HCl	1	1,2750	1,6080	98,0893
	2	0,8790	1,1086	67,6239
	3	1,1100	1,3999	85,3954
	Promedio			83,7029
NaOH	1	0,0510	0,0643	0,7075
	2	0,0500	0,0631	0,6937
	3	0,0520	0,0656	0,7214
	Promedio			0,7075
H ₂ O	1	0,4050	0,5108	31,1578
	2	0,7380	0,9308	56,7764
	3	0,3230	0,4074	24,8493
	Promedio			37,5945

*Concentración real, luego aplicar el factor de dilución.

En la tabla 15, se puede evidenciar que el medio que más genero un alto contenido de azures fue el medio acido con una concentración promedio de 83,70 (g/L) seguido por el medio neutro con una concentración promedio de 37,59 (g/L), el medio básico no reporto gran concentración de azúcares con un promedio de 0,70 (g/L).

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Tabla 16: Cuantificación de azúcares a 12 h. **Fuente:** (Autor, 2019)

<i>Agente impregnante</i>	<i>Número de prueba</i>	<i>absorbancia</i>	<i>Concentración inicial (g/L)</i>	<i>Concentración extracto (g/L) *</i>
HCl	1	0,4450	0,3528	21,5233
	2	0,9580	0,7596	46,3355
	3	0,6600	0,5233	31,9222
	Promedio			33,2603
NaOH	1	0,0570	0,0452	0,4971
	2	0,0670	0,0531	0,5844
	3	0,0610	0,0484	0,5320
	Promedio			0,5379
H ₂ O	1	0,5640	0,4472	27,2789
	2	0,4240	0,3362	20,5076
	3	0,3840	0,3045	18,5729
	Promedio			22,1198

*Concentración real, luego aplicar el factor de dilución.

En la tabla 16, se puede evidenciar que el medio que más generó un alto contenido de azúcares fue el medio ácido con una concentración promedio de 33,26 (g/L) seguido por el medio neutro con una concentración promedio de 22,11 (g/L), el medio básico no reportó gran concentración de azúcares con un promedio de 0,5379 (g/L).

Luego de haber realizado los cálculos, se realizó la relación de temperatura y concentración del extracto de cada agente de impregnación empleado. En la tabla 17 se presentan los tiempos utilizados en cada medio de impregnación y el promedio de concentración de azúcares obtenido en cada uno de ellos.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Tabla 17: Relación del tiempo y promedio de concentración del extracto. **Fuente:** (Autor,2019)

<i>Solvente</i>	<i>Tiempo (h)</i>	<i>Promedio de Concentración del extracto (g/L)</i>
HCl	4	40,7487
	8	83,7029
	12	33,2603
NaOH	4	0,0740
	8	0,7075
	12	0,5379
H ₂ O	4	37,8509
	8	37,5945
	12	22,1198

En la tabla 16 se evidencia que la impregnación acida a 8 horas genera más concentración de azúcares con un promedio de 83,70 (g/L), seguido a esta esta la impregnación con ácido a 4 horas con una concentración de 40,74(g/L). De igual manera, se evidencia altas concentraciones con la impregnación en medio neutro, la impregnación a 4 horas con una concentración promedio de 37,85 (g/L), seguida de la impregnación a 8 horas con 37,59 (g/L) en concentración de azúcares reductores. En medio básico, no se generan valores significantes en cuanto a la concentración de azúcares.

En el gráfico 5 se puede observar la dispersión para el medio acido. En donde la tendencia varia en relación con el tiempo, a 4 horas registra un contenido de azúcares, posteriormente a las 8 horas sube el contenido y a las 12 horas baja la concentración.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

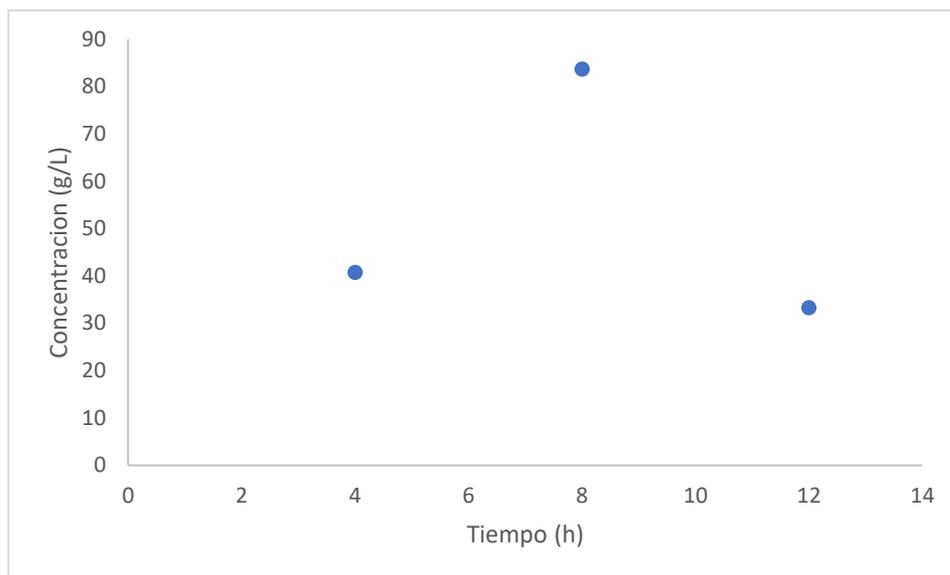


Gráfico 5: Tiempo vs concentración en medio ácido. **Fuente:** (Autor, 2019)

En el gráfico 6, al igual que el medio ácido se puede observar que la tendencia varía en relación con el tiempo, a 4 horas registra un contenido de azúcares, posteriormente a las 8 horas sube el contenido y a las 12 horas baja la concentración.

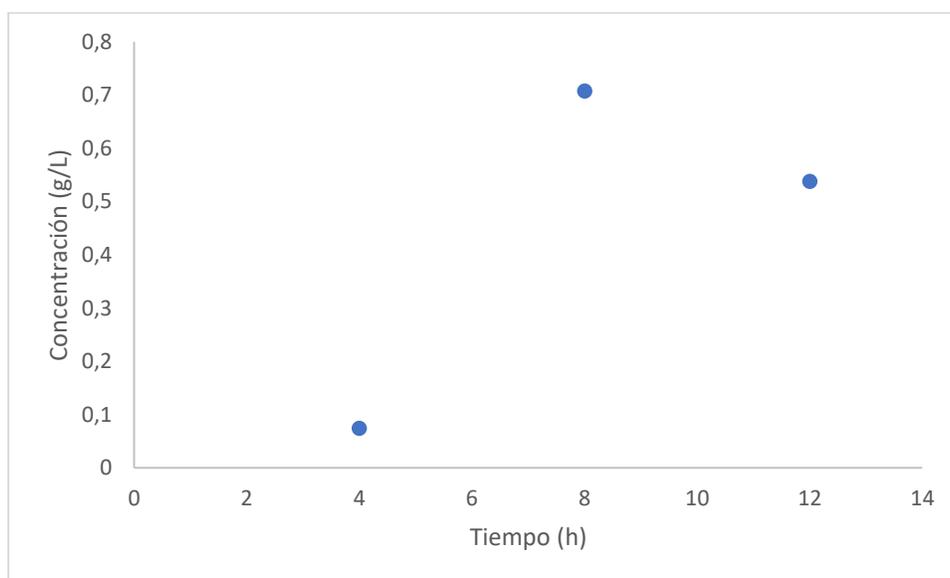


Gráfico 6: Tiempo vs concentración en medio básico. **Fuente:** (Autor, 2019)

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

En el grafico 7, se evidencia una tendencia en decadencia ya que a 4 horas se reporta un valor, a las 8 horas se reporta un valor similar y a las 12 horas reporta un valor menor.

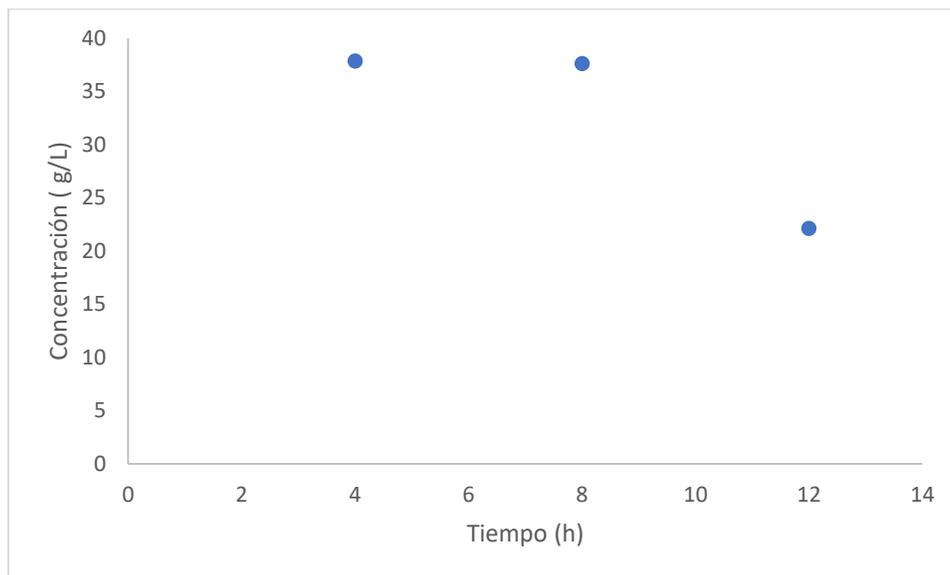


Gráfico 7: Tiempo vs concentración en medio neutro. **Fuente:** (Autor,2019)

Análisis de resultados

Según los resultados obtenidos, se encontró que la mayor concentración (g/L) de azúcares reductores se obtuvo con el proceso de impregnación acida a un tiempo de 8 horas, reportando un valor de (83,70 g/L) siendo este valor muy parecido al reportado por (Espinoza et al., 2017) en donde se realizó una cuantificación de azúcares reductores después de una hidrolisis con ácido sulfúrico, dando como resultado (82,94g/L). La concentración de azúcares es similar, sin embargo, los procesos son diferentes, en el artículo reportado por (Espinoza et al., 2017) se realizó una impregnación con mayor temperatura y mayor concentración, pero a un periodo de tiempo corto, en el caso particular, la metodología planteada las condiciones son inversas, tiempo largo de reacción pero a concentraciones bajas de ácido. Por lo tanto, se infiere que el tiempo es un factor importante en el aumento de monosacáridos, producto de estos procesos degradativos.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Adicionalmente, se pudo observar, analizando los resultados, que en medio básico no se genera una concentración alta de azúcares reductores, siendo estos valores similares a los reportados por (Espinoza et al., 2017). Debido a esto, A pH básico la matriz lignocelulósica sufre procesos en el cual se hincha, solubilizando los azúcares presentes y conduciendo a un aumento del área superficial de la biomasa y descenso de la cristalinidad, dejando así más accesible la celulosa a la acción enzimática. De esta manera, el rendimiento para extraer los azúcares reductores como la glucosa es mucho menor que la de los ácidos (Lázaro Belanche & Arauzo Pérez, 1994). la anterior afirmación ha sido corroborada por los datos obtenidos en la presente investigación. Por otro lado, en cuanto a la tendencia de concentraciones a los tiempos estipulados, la impregnación alcalina, marco una tendencia de aumento de la concentración en contenido de azúcares reductores a 8 horas y decreció a las 12 horas, deduciendo entonces que se genera una oxidación en el medio de azúcares produciendo una mezcla de ácidos con sales, obteniendo más sales que monosacáridos (Lederkremer, 2003). En el caso de la impregnación a 4 horas se puede deducir que no supero la concentración de 8 horas, debido a que no hubo una impregnación completa.

En el caso de la impregnación ácida, la tendencia de los datos experimentales fue igual que la reportada en medio básico. se observa una concentración baja de azúcares a 4 horas luego aumento a 8 horas y finalmente disminuyo a las 12 horas. en el caso de la impregnación a 4 horas se puede sugerir que la impregnación no se completó lo cual genero un valor menor a comparación del dato reportado a 8 horas, en el periodo de 12 horas lo que pudo ocurrir fue que la glucosa al estar más tiempo en contacto con el ácido, comenzó a deshidratarse y paso otros productos (Morales De La Rosa, 2015). Finalmente, con respecto al tratamiento en medio acuoso a pH neutro, se pudo observar que a menor tiempo se da una concentración mayor generándose entonces un mejor fraccionamiento de la matriz lignocelulósica.

Por otro lado, con respecto a la impregnación en medio neutro se pudo observar en la tabla 17 que la tendencia fue bajando mediante el tiempo aumentaba, esto se puede producir debido a que los tiempos de reacción cortos de la impregnación con agua caliente conduce a mejores

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

resultados en términos de rendimiento de pentosas junto con una minimización de la formación de inhibidores (Carvalho, Duarte, Gírio, & Moniz, 2016)

En cuanto a la reacción que genera el 3,5-ácido dinitrosalicílico con la glucosa, es una conversión de azúcares reductores como se muestra en la imagen 24 en donde el 2-hidroxí-3,5-ácido dinitrobenzoico, actúa como oxidante, el tartrato de sodio-potasio, que previene la disolución de oxígeno en el reactivo y sodio hidróxido que proporcionar el medio requerido para la reacción a ocurrir. La intensidad de color es proporcional a la cantidad de azúcares(Garriga et al., 2017).

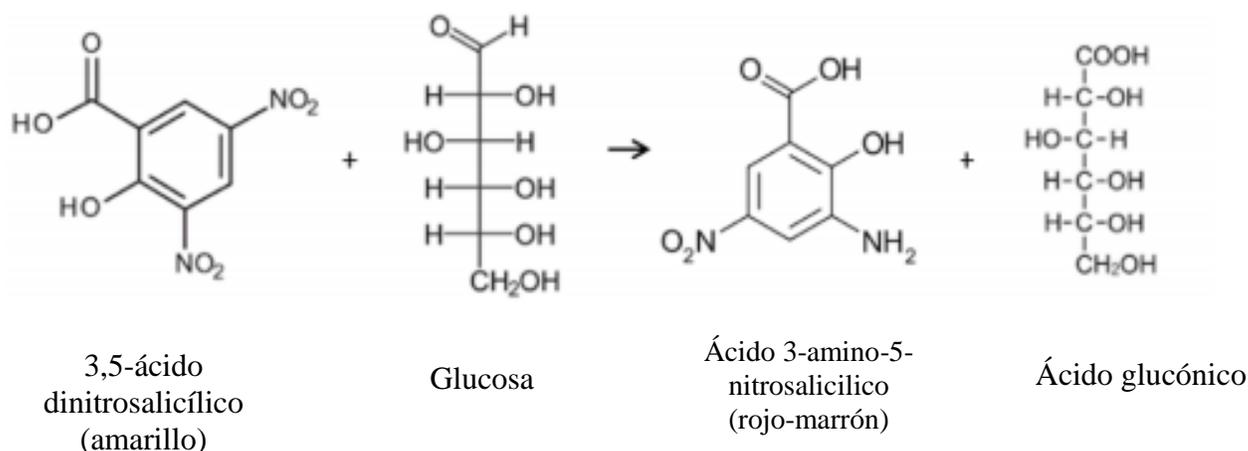


Imagen 24 : Conversión de azúcares reductores por el método DNS. Tomado y adaptado de (Garriga et al., 2017)

10. CONCLUSIONES

La biomasa residual de maíz (tallo) presenta 81,7209 % de humedad, 18,2791 % de sólidos totales. Son valores similares comparados con otros autores, lo cual permite inferir que estos parámetros son afectados por la edad de la planta, el sitio de recolección de la materia prima, la especie de la planta y el periodo de recolección. Adicionalmente, La biomasa residual de

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

maíz (tallo) presenta 5,47% de ceniza, valor muy similar a otros autores. La cantidad de minerales presentes en la planta no influye en el tipo de cultivo, sin embargo, si influye en la edad de la planta.

Por otro lado, de acuerdo con los resultados, se pudo observar que es de vital importancia someter la biomasa a un proceso de secado, con el fin de facilitar el homogenizado de la muestra para obtener así, una base seca para los procedimientos posteriores y con esto reducir posibles errores. De igual manera, realizar los cálculos por triplicado y hallando un coeficiente de variación reduce posibles errores, dando resultados más verídicos. En el caso de la estandarización, la molaridad en ambos medios (ácido y básico) dio similar al valor hallado en la preparación de los reactivos.

De acuerdo con las variables experimentales, se evidencia que el tallo de maíz sometido a una impregnación ácida durante 8 horas a una temperatura de 60 °C permitió la obtención de un alto contenido de azúcares reductores, con un valor en concentración 83,702 g/L. Este proceso presenta un mayor poder de fraccionamiento de la matriz lignocelulósica en comparación con la impregnación en medio básico y neutro, generando una mayor liberación de azúcares en el medio. Cabe resaltar que el tiempo es un factor influyente en la cuantificación de azúcares reductores tanto en medio Ácido, básico y neutro ya que puede generar un menor rompimiento de los enlaces glucosídicos de la biomasa o la producción de productos secundarios como furfural a partir de los azúcares de cinco átomos de carbono o 5 hidroxi metil furfural a partir de los azúcares de seis átomos de carbono.

11. RECOMENDACIONES

- Evaluar la composición de la fracción sólida resultante del pretratamiento y reconocer sus posibles usos, como materia prima de productos de interés comercial (xilitol, furfural, entre otros).

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

- Evaluar otros métodos de pretratamiento con el fin de comparar los resultados y poder establecer si es viable una propuesta de negocios verdes a partir del tallo residual de maíz.
- Garantizar la manipulación de forma adecuada de los instrumentos de laboratorio, para minimizar errores sistemáticos en el procedimiento.

12. BIBLIOGRAFÍA

- A. M. Sánchez Riaño, A. I. Gutiérrez Morales, J.A. Muñoz Hernández, C. A. R. B. (2009). Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Tumbaga, ISSN-e 1909-4841, Vol. 1, N°. 5, 2010, Págs. 61-91, 1(5)*, 61–91. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3628225>
- Aksoĭan, O., Binici, H., & Ortlek, E. (2016). Durability of concrete made by partial replacement of fine aggregate by colemanite and barite and cement by ashes of corn stalk, wheat straw and sunflower stalk ashes. *Construction and Building Materials, 106*, 253–263. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2015.12.102>
- Anwar, Z., Gulfraz, M., & Irshad, M. (2014). Agro-industrial lignocellulosic biomass a key to unlock the future bio-energy: A brief review. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 7(2)*, 163–173. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2014.02.003>
- ASTM. (2011). Standard Test Method for Determination of Total Solids in Biomass 1. *Annual Book of ASTM Standards, 11(February)*, 1–3. <https://doi.org/10.1520/E1756-08.2>
- ASTM. (2019). ASTM International: Helping our world work better. Retrieved from https://www.astm.org/america_latina/sp/index.html
- ASTM International. (2014). E1755-01 Standard Test Method for Ash in Biomass. *Fuel, 25(4)*, 487–494. <https://doi.org/10.1520/E1755-01R15.2>
- Ávila Núñez, R., Rivas Pérez, B., Hernández Motzezak, R., & Chirinos, M. (2012). Contenido de azúcares totales, reductoras y no reductoras en Agave Cocui. *Multiciencias, 129-135*.
- Baird, R. B., & Eaton, A. D. (2019). Standard methods for the examination of water and

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

- wastewater, Roger B Baird, Andrew D. Eaton, American Water Works Association, Pag 3- 110. *American Water Works Association, 23 edition*, Pag 3-110.
- Barragán B, T. Y. L. A. (2008). Utilización de residuos agroindustriales. *Sistemas Ambientales*.
- Bello Gil, D., Carrera Bocourt, E., & Díaz Maqueira, Y. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. *Instituto Cubano de Investigaciones de Los Derivados de La Caña de Azúcar (ICIDCA)*, 45-50.
- Bello GIL, Daniel; Carrera B., Emilia; Diaz M., Y. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3.5 dinitro salicilico. *Icidca*, 40, 45–50.
- Calderón Hinojosa, F. (2007). Sustentabilidad Ambiental. *1er. Informe de Gobierno*, (January), 315–330. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.14999.98728>
- Calvo Flores. (2012). *Química del medio ambiente 2º curso de Ciencias Ambientales Química del medio ambiente*.
- Carvalho, F., Duarte, L. C., Gírio, F., & Moniz, P. (2016). *Hydrothermal/Liquid Hot Water Pretreatment (Autohydrolysis): A Multipurpose Process for Biomass Upgrading. Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802323-5.00014-1>
- Collado, C. F. (2014). *Metodología de la investigación*.
- Cortes Ortiz, W. G., Ibla Gordillo, J. F., Calderon Velasquez, L. M., & Herrera Bueno, A. F. (2015). Cuantificación de azúcares reductores en las cáscaras de naranja y banano. *Revista de Tecnología*, 12(2). <https://doi.org/10.18270/rt.v12i2.772>
- Cortes, W. (2014). Tratamientos Aplicables a Materiales Lignocelulósicos para la Obtención de Etanol y Productos Químicos Applicable to Treatment Materials for Obtaining Lignocellulosic Ethanol and Chemicals. *Revista de Tecnología*, 13, 39–44. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6041572>
- Cortinez, V. (2010). *COMPARACIÓN DE PRETRATAMIENTOS EN RESIDUOS FORESTALES PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN: HIDRÓLISIS ÁCIDA Y LÍQUIDOS IÓNICOS*. Victoria.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

- Cuadros. (2007). Residuos agrícolas, forestales y lodos. *EOI Escuela de Negocios*.
- Cuaspud Cáliz, O. J. (2017). Obtención De Bioetanol a Partir De Tallos De Maíz, 93.
Retrieved from <http://bdigital.unal.edu.co/61352/1/1053790403.2017.pdf.pdf>
- Cundinamarca, A. de G. (2018). Nuestro Municipio: Gutiérrez, Cundinamarca.
- Cury R, K., Aguas M, Y., Martínez M, A., Olivero V, R., & Chams Ch, L. (2017).
Residuos agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 9(S), 122.
<https://doi.org/10.24188/recia.v9.ns.2017.530>
- DANE. (2017). *Cundinamarca : Principales cultivos por área sembrada en 2017*.
- España, M., Quintero, F., & Reyes, S. (2017). *Estandarización de soluciones*.
- Espinoza, K. C., Gamboa, C. A. G., Matara, J. C., Torres, L., Barragán, J. A., & Rodríguez, C. N. (2017). Extracción de azúcares reductores totales ART por métodos físicos y químicos de planta de *Zea mays* (Poaceae) “maíz amarillo duro.” *Arnaldoa*, 24(1), 289–300. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.241.24112>
- Esteghlalian, A. (1997). Modeling and optimization of the dilute-sulfuric-acid pretreatment of corn stover, poplar and switchgrass. *Bioresource Technology*, 59(2), 129–136.
Retrieved from [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(97\)81606-9](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(97)81606-9)
- FENALCE. (2018). *Cultivo de maíz en Colombia*.
- Food and agriculture organization of the united nations. (2014). *Perspectivas de cosechas y situación alimentaria*.
- Garriga, M., Almaraz, M., & Marchiaro, A. (2017). Determination of reducing sugars in extracts of *Undaria pinnatifida* (harvey) algae by UV-visible spectrophotometry (DNS method). *Actas de Ingeniería*, 3, 173–179. Retrieved from <http://fundacioniai.org/actas>
- Garzón, G. (2018). Evaluación del proceso de pirolisis de material lignoceluloso proveniente del eucalipto en atmósfera de dióxido de carbono. *Instname: Universidad Libre*, 80. Retrieved from <https://repository.unilibre.edu.co/handle/10901/11026>
- González, D. (2013). *Aprovechamiento de residuos agroindustriales para la producción de alimentos funcionales: una aproximación desde la nutrición animal*.
- Guerrero R y Valenzuela L. (2011). Agroindustria y medio ambiente. *Ciencia Tecnología Sociedad*, 63–83.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

- Hendriks, A. T. W. M., & Zeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, *100*(1), 10–18.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.027>
- IDEAM. (1999). *Protocolo de estandarización de métodos analíticos*.
- IDEAM. (2007). Sólidos Totales. *Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales*, 2. Retrieved from <http://www.ideam.gov.co/>
- Igathinathane, C., Womac, A. R., Sokhansanj, S., & Pordesimo, L. O. (2006). MASS AND MOISTURE DISTRIBUTION IN ABOVEGROUND COMPONENTS OF STANDING CORN PLANTS, *49*(2004), 97–106.
- Lanzetta, M., & Blasi, C. Di. (1998). Pyrolysis kinetics of wheat and corn straw, *44*, 181–192.
- Lázaro Belanche, L., & Arauzo Pérez, J. (1994). Aprovechamiento de residuos de la industria de conservas vegetales: Hidrólisis enzimática. *Zubía*.
- Leask, W. C., & Daynard, T. B. (1973). EFFECTS OF PERCENT MOISTURE AND COMPACTION PRESSURE ON THE ENSILIJYG OF CORN STOVER IN LABORATORY SILOS. *Department of Crop Science, (University Of Guelph, Guelph, Ontario)*.
- Lederkremer, R. (2003). Acid and other products of oxidation of sugars. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*.
- Lehninger, A. L. (1988). *Principios de la química*.
- Lizotte, P. L., Savoie, P., Lefsrud, M., & Allard, G. (2015). Yield and moisture content of corn stover components in Québec, Canada. *Canadian Biosystems Engineering / Le Genie Des Biosystems Au Canada*, *56*(1), 8.1-8.9.
<https://doi.org/10.7451/CBE.2014.56.8.1>
- López-legarda, X., Taramuel-gallardo, A., & Arboleda-, C. (2017). Comparación de métodos que utilizan ácido sulfúrico para la determinación de azúcares totales. *Revista Cubana de Química*, *29*(2), 180–198.
- Maderables, S., Rea, D. E. L. Á., Del, M., & Amva, Á. (2006). a Para La Caracterizaci Ó N De Combustibles Aburrá “ Amva ”, *Aburr*, *59*(2), 3557–3564.
- Mateus, L., Hernández, O., Velásquez, M., & Díaz, J. D. J. (2012). Evaluación del

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

- pretratamiento con ácido sulfúrico diluido del pasto maralfalfa (*Pennisetum glaucum* x *Pennisetum purpureum*) para la producción de etanol Dilute sulfuric acid pretreatment of goliath grass (*Pennisetum glaucum* x *Pennisetum purpureum*) for. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(1), 1–11.
- Mejía L, Martínez H, B. J. y C. C. (2007). Aprovechamiento de residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica* L.) para obtener azúcares fermentables. *Ingeniería y Ciencia*.
- Mercado, A. (2014). *Centrifugación*. Retrieved from <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/4190/IAmemead001.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mexico, U. nacional autonoma de. (2019). Metodología de la Investigación Metodo inductivo. Retrieved from <http://profesores.fi-b.unam.mx/list.php?paginas=profesores>
- Monsalve, J. F. (2016). *PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE LA CÁSCARA DE BANANO Y DE ALMIDÓN DE YUCA*.
- Morales De La Rosa, S. (2015). *HIDRÓLISIS ÁCIDA DE CELULOSA Y BIOMASA LIGNOCELULÓSICA ASISTIDA CON LÍQUIDOS IÓNICOS MEMORIA* Para aspirar al grado de.
- Mussatto, S. I., Dragone, G., Fernandes, M., Rocha, G. J. M., & Roberto, I. C. (2006). Efecto de los tratamientos de hidrólisis ácida e hidrólisis alcalina en la estructura del bagazo de Malta para liberación de fibras de celulosa. *XXII Interamerican Congress of Chemical Engineering, CHIQ 2006 and V Argentinian Congress of Chemical Engineering, CAIQ 2006 - Innovation and Management for Sustainable Development*.
- Nag, A. (2008). *Biofuels Refining and Performance*. New York: McGraw-Hill Education.. Retrieved from <https://accessengineeringlibrary.com/browse/biofuels-refining-and-performance>
- Navarro, G., & Navarro, S. (2003). *Química Agrícola : El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*.
- Peña Urueña, M. L. (2011). Caracterización de cenizas de algunos carbones colombianos in situ por retrodispersión gamma-gamma, 110. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/5298/>

Evaluación de la obtención de azúcares reductores
a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado
en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

- Pi, Y., & Lozano, J. T. (2016). *BIOMASA LIGNOCELULÓSICA EN COLOMBIA, PRETRATAMIENTOS Y PRODUCTOS DE VALOR AGREGADO*.
- Ramirez, K., & Sanchez, S. (2009). HIDRÓLISIS DE HOJA DE MAÍZ CON NaOH PARA LA OBTENCIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES, (2000), 43830.
- Ramírez S. (2012). *Aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de arroz (Oriza sativa) y residuos de papa (Solanun tuberosun) para la producción de Trichoderma spp.*
- Ripusudan L. Paliwal. (2001). *EL MAÍZ EN LOS TRÓPICOS: Mejoramiento y producción*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/X7650S/x7650s02.htm>
- Rodriguez, G. (2014). *Determinación de azúcares reductores por espectrofotometría (método dns)*. Nuevo Chimbote-Peru.
- Sierra, A. Meléndez, L. Ramírez, A. Arroyo, M. (2014). La Química Verde Y El Desarrollo Sustentable. *Red de Revistas Científicas de América Latina*, VI(9), 1–12. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/4981/498150317001.pdf>
- 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*.
- States, U. (2011). Standard Practice for Preparation of Biomass for Compositional Analysis 1. *Annual Book of ASTM Standards, 01*(Reapproved 2007), 12–15. <https://doi.org/10.1520/E1757-01R07.2>
- Suaréz. (2017). *EVALUACIÓN DE TRATAMIENTOS ALCALINOS E HIDROTÉRMICOS ASISTIDOS CON MICROONDAS PARA LA OBTENCIÓN DE AZÚCARES A PARTIR DE TALLO DE MAÍZ*.
- Taladriz, A. Schwember, A. (2012). ¿ Qué hacer con los rastrojos ? *Agronomía y Forestal*, 46, 25–27.
- Tucker, M. P. (2003). Effects of temperature and moisture on dilute-acid steam explosion pretreatment of corn stover and cellulase enzyme digestibility. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 105–108, 165–177.

Evaluación de la obtención de azúcares reductores a partir del tallo de maíz de un cultivo ubicado en el municipio Gutiérrez, Cundinamarca.

Vargas-Corredor, Y., & Pérez-Pérez, L. I. (2018). Use of Agro-Industrial Waste in Improving the Quality of the Environment. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 14(1), 1–14. <https://doi.org/10.18359/RFCB.3108>

Virginia, M., & Rubio, A. (2018). Autohidrólisis y deslignificación organosolv de madera de *Pinus radiata* para la recuperación de hemicelulosas y lignina con aprovechamiento de la fracción celulósica por vía enzimática.

Zamora Cardona, J. C., & Cristancho, F. (2013). La Humedad en las Propiedades Físicas del Suelo. *Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia*, 1.