

CARACTERIZACIÓN Y VALORACIÓN QUÍMICA DEL OLOTE: DEGRADACIÓN HIDROTÉRMICA BAJO CONDICIONES SUBCRÍTICAS

JHON ALEXANDER CÓRDOBA^{ac}, EDUARDO SALCEDO^b, RAMÓN RODRÍGUEZ^a, JUAN FRANCISCO ZAMORA^a,
RICARDO MANRÍQUEZ^b, HÉCTOR CONTRERAS^b, JORGE ROBLEDOS^b, EZEQUIEL DELGADO^{*b}

(Recibido Abril 2013; Aceptado Octubre 2013)

ABSTRACT

Corn cob was characterized chemically and hydrothermally treated under subcritical conditions to modify their recalcitrance and render a solid fraction of cellulose and lignin and a soluble fraction rich in xylose. The chemical characterization of carbohydrates was carried out by HPLC, while lignin and xylan were characterized by means of FTIR-ATR and ¹³C-NMR. The hydrothermal treatment was performed in bullet-type reactors heated in a muffle furnace at 160, 230 and 300°C at times of 30, 45 and 60 min, with hydromodules of 1.7, 2.0 and 2.5 w/v. The yield was determined from the insoluble fraction of the corn cob and the concentration of carboxylic groups was measured in the soluble fraction. The results indicated that corn cob contained 45% of cellulose, 15.8% lignin (p-hydroxyphenyl, guaiacyl and syringyl units) and 33.6% hemicelluloses. Temperature and time of reaction showed significant effects on yield and generation of carboxylic groups. It was possible to convert up to 43% of the corn cob to hemicelluloses and lignin compounds soluble in aqueous medium, under hydrothermal treatment at subcritical conditions, while increasing the concentration of carboxylic groups in the soluble fraction to 29.3 meq/100 g of corn cob. *www.relaquim.com.mx*

Key words: Biomass, recalcitrance, carboxylic groups, hemicellulose, cellulose and lignin.

RESUMEN

Se caracterizó químicamente el olote y se trató hidrotérmicamente bajo condiciones subcríticas para modificar su forma recalcitrante y obtener una fracción sólida compuesta principalmente de celulosa y lignina, además de una fracción soluble rica en xilosa. La caracterización química de los carbohidratos se realizó mediante HPLC, así como con FTIR-ATR y RMN-¹³C, para lignina estructural y la xilana

^aDepartamento de Botánica, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, ^bDepartamento de Madera, Celulosa y Papel, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería, Universidad de Guadalajara-México, ^cPrograma de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Tecnológica del Chocó "Diego Luis Córdoba" *ezedelfor@gmail.com, Tel: 044 (33)14312649.

respectivamente. La degradación hidrotérmica, se llevó a cabo en reactores tipo bala calentados en una mufla a 160, 230 y 300°C, tiempos de 30, 45 y 60 min, con hidromódulos de 1.7, 2.0 y 2.5 w/v. Se determinó el rendimiento de la fracción insoluble del olote y la concentración de grupos carboxílicos en la fracción soluble. El estudio indicó que el olote contiene celulosa 45%, lignina 15.8% (p-hidroxifenilo, guayacilo y siringilo) y hemicelulosas 33.6%. Los factores que tuvieron efectos significativos sobre el rendimiento y la generación de grupos carboxílicos fueron la temperatura y el tiempo de reacción. Se evidenció el carácter recalcitrante del olote, pero fue posible reducir hasta un 43% del mismo a compuestos de hemicelulosas y lignina solubles en medio acuoso, bajo condiciones subcríticas, incrementando la concentración de grupos carboxílicos en la fracción soluble hasta 29.3 meq/100 g de olote. *www.relaquim.com.mx*

Palabras clave: Biomasa, recalcitrancia, grupos carboxílicos, hemicelulosas, celulosa, lignina

INTRODUCCIÓN

El olote del maíz (*Zea mays*) se encuentra entre las fuentes de recursos no maderables con un alto contenido de xilanas, por lo que ha sido considerado de interés como fuente alternativa de diferentes compuestos químicos de interés comercial o industrial, entre otras fuentes de biomasa (Córdoba *et al*, 2010, Samanta *et al*, 2012, Oliveira *et al*, 2010). El olote es un residuo o subproducto agrícola que se genera en grandes cantidades en el proceso de separación del grano de la mazorca y se estima que por cada tonelada de maíz se obtienen 170 kg de olote (CIMMYT, 1995).

Es importante señalar que el término *residuo* hace alusión a aquellas materias originadas en las actividades de producción y consumo que no han alcanzado, en el contexto en que se producen, ningún valor económico; ello puede deberse tanto a la falta de tecnología adecuada para su transformación y aprovechamiento, así como a la existencia de un limitado mercado para los productos recuperados (Costa *et al*, 1991). De datos recientes sobre la producción mundial de maíz en el 2010 (844 millones de toneladas) puede estimarse que se generan alrededor de 144 millones de toneladas de olote por año (FAOSTAT, 2012).

En este sentido, el uso o aplicación química del olote ha estado muy restringido debido a la dificultad que existe para acceder a sus componentes (carácter recalcitrante) e incompleta caracterización química, así como la valoración de sus principales productos (lignina, celulosa y hemicelulosas). Estos aspectos han limitado su utilización y conducido a la quema del olote como recurso o al esparcimiento de sus residuos a la intemperie, generando un problema de contaminación ambiental. Entre los usos del olote que han sido reportados en la literatura se encuentran la aplicación como forraje para rumiantes, soporte para disminuir la erosión en la tierra y también como sustratos para la producción de la enzima xilanasa (Knob and Cano-Carmona, 2010). Sin embargo, hay pocos reportes en la literatura sobre su potencial para la obtención de compuestos orgánicos (Córdoba *et al*, 2010, Radlein *et al*, 1997) u otros productos de uso industrial (Ingram *et al*, 1998, Dien *et al*, 2003, Gray *et al*, 2006).

Por otro lado, el alto contenido de hemicelulosas (34%) del olote, del cual aproximadamente el 94% corresponde a xilanas, hacen muy atractivo este residuo para el desarrollo de fertilizantes nitrogenados con acción prolongada o de lenta

liberación (Caro and Frank, 1929, Radlein *et al*, 1997, Coca *et al*, 1984, Martínez *et al*, 1992, Simón *et al*, 2005, Castro *et al*, 2006, González *et al*, 2006, Mora-Ravelo *et al*, 2007, Kabel *et al*, 2007).

Tradicionalmente para la conversión de los materiales lignocelulósicos y la obtención de productos químicos de valor agregado, se ha recurrido a métodos químicos (hidrólisis con ácidos minerales) y/o enzimáticos (Duff and Murray, 1996), explosión con vapor (Clark and Mackie, 1987), tratamientos con ozono, peróxido-alcalino y la oxidación húmeda (Córdoba *et al*, 2010). Sin embargo, los métodos anteriores de conversión presentan algunos inconvenientes y son costosos en materia de reactivos y consumo de energía, teniendo en cuenta que frecuentemente incluyen etapas de neutralización y separación (en los casos donde se utilizan catalizadores) y/o problemas de corrosión, entre otros.

Por tanto, en esta investigación se propone tratar el olote hidrotérmicamente (solo con agua como reactivo) bajo condiciones subcríticas, esto es, a temperaturas menores a 300 °C y presiones menores a 100 atmósferas (Castro *et al*, 2007, Miyazawa *et al*, 2008, Sánchez *et al*, 2012), como un proceso de conversión alternativo para degradar la forma recalcitrante del olote e identificar los productos químicos con potencial valor agregado (lignina, celulosa, xilana y compuestos orgánicos) (Buranov and Mazza, 2008, Sánchez *et al*, 2012, Samanta *et al*, 2012). Las investigaciones sobre este tipo de tratamiento para el olote llevan como objetivo preparar el olote (entre otras fuentes de biomasa de interés) para utilizarlo en una etapa subsecuente de condensación con fuentes de nitrógeno NH_4OH y/o H_2NCONH_2 (40% y 46% en peso respectivamente), como principio para la formulación de diferentes productos químicos nitrogenados de aplicación en procesos de fertilización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Clasificación por tamaño de partículas.

El olote fue molido y tamizado en un clasificador de astillas Modelo Helsinki Sf-00561, marca Lorenszen & Wettre AB.

Caracterización química del olote. La composición química se determinó siguiendo las siguientes normas de la Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI): Cenizas (Tappi 211, 1993), extraíbles (Tappi 204 cm, 1997, Tappi 207 cm, 1999) lignina klason (Tappi 222, 1998) y lignina estructural (Björkman, 1956), holocelulosa (Wise *et al*, 1946), hemicelulosas (Timell, 1961) y α -Celulosa (Tappi 9m, 1954). El contenido de nitrógeno total se determinó mediante técnicas de la AOAC (AOAC 954.04, 1984) y la concentración de grupos carboxílicos (Tappi 237 om, 1993) se llevó a cabo en un equipo detector de carga polielectrolítica PCD-03 Mütek, con algunas modificaciones.

El contenido de carbohidratos, se analizó a partir de hidrolizados de holocelulosa mediante un equipo de cromatografía HPLC, con una columna Aminex HPX-87P, 300 mm $\times$ 7.8 mm, con una presión de 272 psi (19 kg/cm²) a 85°C; la fase móvil fue agua grado HPLC a un flujo de 0.60 mL/min. Se empleó una bomba Waters 6000 y un detector de índice de refracción Modelo 401 (Waters Associated Inc.). El porcentaje de cada carbohidrato se calculó de acuerdo a procedimientos publicados previamente (Córdoba *et al*, 2010). La asignación de las señales se realizó por comparación con estándares de celobiosa, glucosa, xilosa, arabinosa y manosa. También se caracterizaron la xilana, celulosa y grupos funcionales de la lignina estructural del olote mediante RMN-¹³C, FTIR con ATR y SEM.

Aislamiento de xilana de olote a partir de holocelulosa. Se tomaron 83.83 g base seca de holocelulosa y se le añadieron 600 mL de una solución de KOH al 24% (aproximadamente 7.15 mL/g de holocelulosa) y se dejó reaccionar bajo agitación

durante 24 horas. Luego se filtró y se separó en dos partes; una parte soluble (hemicelulosas) y otra parte insoluble (α -Celulosa). La parte soluble se precipitó gota a gota en una solución de etanol y ácido acético (cuatro partes de etanol y 0.4 partes de ácido acético/mL de hidrolizado) y se filtró bajo succión para posteriormente secarla en una estufa de vacío a 60°C.

De las hemicelulosas recuperadas se tomaron 13.04 g base seca y se disolvieron en una solución de 250 mL de KOH al 10% bajo agitación; posteriormente se adicionó gota a gota una solución de 500 mL de BaOH al 5% y se precipitó mediante centrifugación a 4000 rpm. La fracción de xilana se recuperó a partir del sobrenadante, mediante precipitación con 3300 mL de la solución de etanol-ácido acético ya descrita. El precipitado se lavó con etanol, se filtró mediante vacío y finalmente se secó en una estufa de vacío a 60°C.

Análisis de infrarrojo FTIR-ATR. Se realizó con un espectrómetro Perkin-Elmer, modelo Spectrum GX con un aditamento PIKE MIRacle de reflectancia total atenuada horizontal (HATR) de reflexión simple y con cristal de diamante. Se obtuvieron espectros por duplicado en una ventana espectral de 4000 a 550 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} y 16 barridos.

RMN- ^{13}C de xilana de olote. Xilana (20 mg) se colocó en un tubo de RMN y se disolvió en 0.75 mL de DMSO- d_6 . El espectro de RMN- ^{13}C se obtuvo en un espectrómetro de RMN de 200 MHz Varian Gemini 2000 de banda ancha, con una frecuencia de análisis para el ^{13}C de 50.29 MHz.

Morfología y análisis de tamaño de partícula de celulosa y xilana de olote mediante SEM. La celulosa y xilana se analizaron mediante SEM, en un microscopio Tabletop TM-1000 (Hitachi High-Technologies Inc., Japón) para determinar la longitud de la fibra y el tamaño de partícula.

Tratamiento hidrotérmico del olote. Muestras de olote integral (0.5 g) se mezclaron con agua destilada grado HPLC (hi-

dromódulo variable ajustado a 2.5%, 2.0% y 1.7% (w/v) con respecto al peso del olote) y se colocaron en reactores de acero inoxidable con capacidad máxima de 35 mL, en una Mufla marca TE-M12D. La temperatura se varió en el intervalo de 160 a 300°C (160, 230 y 300°C) con tiempos de 30 a 60 min (30, 45 y 60 min) (Kilzer and Broido, 1965, Clark and Mackie, 1987, Flaig and Söchtig, 1973, Flaig, 1972, Miletzky and Schiene, 1985, Meier *et al*, 1994). La presión alcanzada fue calculada bajo estas condiciones (1.2, 3.7 y 84.8 atm respectivamente), las cuales están por debajo del punto crítico del agua (punto crítico 374 °C y 218 atm). Posteriormente el producto de la reacción se filtró y se secó en un horno a 45°C hasta peso constante para determinar el rendimiento de los sólidos insolubles.

Se planteó un diseño factorial multinivel 3^k ($3^3 = 3 \times 3 \times 3$) con 2 repeticiones para el primer tratamiento y un 3^k ($3^2 = 3 \times 3$) para el segundo tratamiento hidrotérmico y la generación de grupos carboxílicos solo se consideraron la temperatura y el tiempo, ya que estos fueron los que tuvieron mayor influencia en la primera parte del experimento. Para analizar las variables estudiadas se empleó el programa Statgraphics® plus 5.1.

Tratamiento hidrotérmico para la generación y cuantificación de grupos carboxílicos. Se trataron muestras de 0.5 g de olote integral, a 160, 230 y 300°C, tiempos de 30, 45 y 60 min con 25 mL de agua grado HPLC. Luego se filtró con membranas de 0.45 μm . Posteriormente, se tomaron muestras de 5 mL, diluidas con 5 mL de agua grado HPLC y colocadas en la celda de medición del Mutek. La concentración aniónica se calculó utilizando un polielectrólito catiónico Poly-DADMAC (Cloruro de polidialildimetil amonio) en la neutralización, a una concentración de 0.001 mol/L y flujo potencial de 0 mV.

$$C_f = \frac{V_{FP}C}{v} \times 1000$$

Donde; C_f es la concentración de carga (meq / 100 g), v es el volumen de la muestra que se titula (mL), y VFP y C son el volumen de solución (mL) y su concentración (N), respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química del olote. A la fracción de olote retenida en la malla de 250 μm (figura 1), se le determinó la composición química, donde se muestran los componentes más importantes (Cuadro 1), entre los cuales están la celulosa, hemicelulosas y lignina. La suma de holocelulosa (H_{ol}), lignina total (L_t), extractivos (E_x) y cenizas (C_z) hacen aproximadamente el 100% del olote integral. El contenido de cenizas y extraíbles totales arrojaron valores que coinciden con los reportados en la literatura (Rowell *et al*, 2000, Yang *et al*, 2006, Rodríguez *et al*, 2008, Córdoba *et al*, 2010, Tappi 204 cm, 1997, Tappi 207 cm, 1999).

$$Ex(4) + L_t(15.8) + H_{ol}(78.67) + C_z(2) = 100.4\%$$

En cuanto al contenido de celulosa, la discrepancia comparada con lo reportado por otros autores, obedece probablemente a la retención de trazas de lignina y hemicelulosas, ya que no se practicó una

corrección al respecto. La composición de azúcares en el producto de la hidrólisis ácida de holocelulosa analizado mediante HPLC arrojó contenidos de glucosa (41%), xilosa (35%) y en menor proporción arabinosa. Es de destacar que en este análisis apareció celobiosa (5%), lo cual indica que la hidrólisis no fue completa. Estos resultados confirman que el olote es un material lignocelulósico con un alto contenido de hemicelulosas, particularmente xilosa (Córdoba *et al*, 2010, Rowell *et al*, 2000, Yang *et al*, 2006, Samanta *et al*, 2012, Oliveira *et al*, 2010).

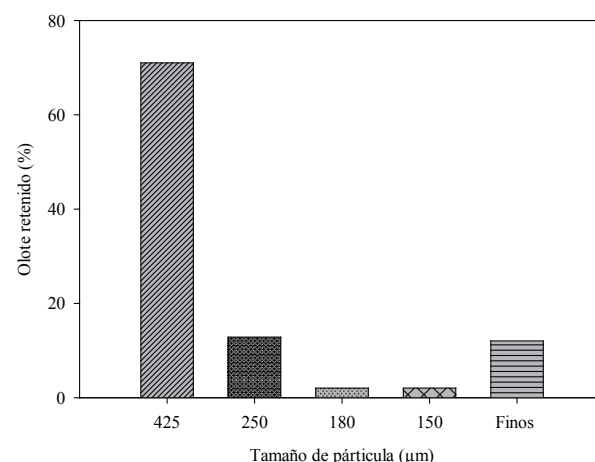


Figura 1. Distribución del tamaño de partícula de olote molido en molino de martillos.

Cuadro 1. Comparación de la composición química del olote (%) del presente estudio con datos reportados por otros autores.

Componentes (%)	Olote*	Referencias		
		(Garrote <i>et al</i> , 2007a)	(Rivas <i>et al</i> , 2004)	(Thompson, 1995)
Hemicelulosas	33.6	31.1	39.0	33.7 - 41.2
Celulosa	45 ⁺	34.3	34.3	30.0 - 41.7
	50 ⁺⁺			
Lignina Klason	15.8	18.8	14.4	4.5 - 15.9
Cenizas	2.0	No reporta	No reporta	No reporta

*= presente investigación; ⁺(Determinado según Timell, 1961); ⁺⁺(Determinado según Tappi 9m, 1954)

Es importante resaltar, que partiendo de un contenido de 78.7% de holocelulosa del olote (método de Wise *et al*, 1946) y las concentraciones de glucosa (glucosa más dos unidades de glucosa por la presencia de celobiosa) y xilosa, obtenidas bajo el análisis de HPLC, el cálculo del contenido de celulosa y hemicelulosas en olote base seca arroja valores de 40.2% y 28% respectivamente. Estos valores son notoriamente menores a los contenidos de celulosa reportados en la Tabla 1 según el método de Timell (Timell, 1961) e hidrólisis alcalina para el caso del contenido de xilana.

Análisis de FTIR-ATR de la xilana, lignina al Dioxano de olote y olote modificado hidrotérmicamente. El espectro de la xilana (figura 3) muestra bandas típicas de azúcares, se muestran las bandas de 3422, 2927, 1421, 1228, 1049, 986 y 897 cm^{-1} , las cuales están asociadas con las señales características de la xilana (Samanta *et al*, 2012, Oliveira *et al*, 2010). La banda en 1161 cm^{-1} junto a la banda fuerte a 1045 cm^{-1} es asignada a las vibraciones de estiramientos C-O, la cual es característica de grupos glicosídicos como el presente en hemicelulosas (Sánchez *et al*, 2012, Sun *et al*, 2002, Oliveira *et al*, 2010).

En el caso de la lignina aislada al dioxano (figura 4), se observan señales atribuibles a los monómeros de la lignina (H, G y S), como es el caso de la vibración del esqueleto aromático a 1603 y 1513 cm^{-1} (Lapierre *et al*, 1995, Baucher *et al*, 1998, Buranov and Mazza, 2008). Además se aprecian bandas a 1425 y 1328 cm^{-1} que corresponden la deformación en el plano del enlace C-H de la parte alifática de la cadena de fenilpropano. Las señales en la región de 1300 a 1000 cm^{-1} corresponden a estiramientos del tipo C-O provenientes de grupos fenólicos y alcóxidos presentes en las H, G y S (figura 4). La banda alrededor de 833 cm^{-1} es típica de los enlaces C-H fuera del plano y se relaciona directamente con los grupos H, G y S (Faix, 1992, Monteil-Rivera *et al*, 2013).

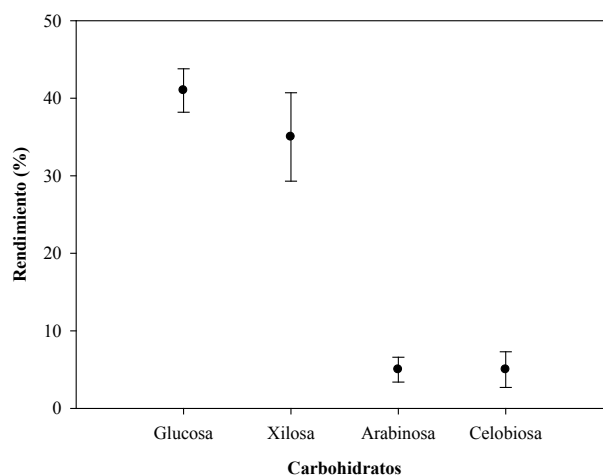


Figura 2. Contenido de azúcares en hidrolizado ácido de holocelulosa analizado mediante HPLC.

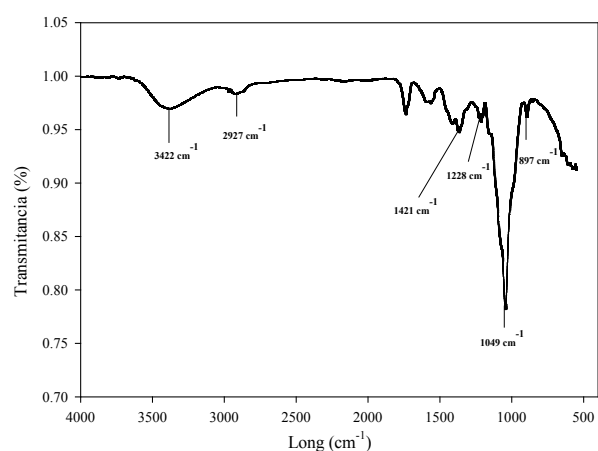


Figura 3. Espectro FTIR- ATR de xilana aislada de olote mediante hidrólisis alcalina.

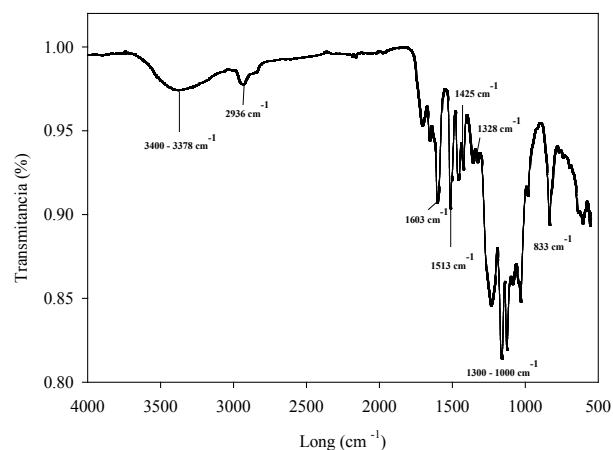


Figura 4. Espectro FTIR-ATR de lignina al dioxano de olote.

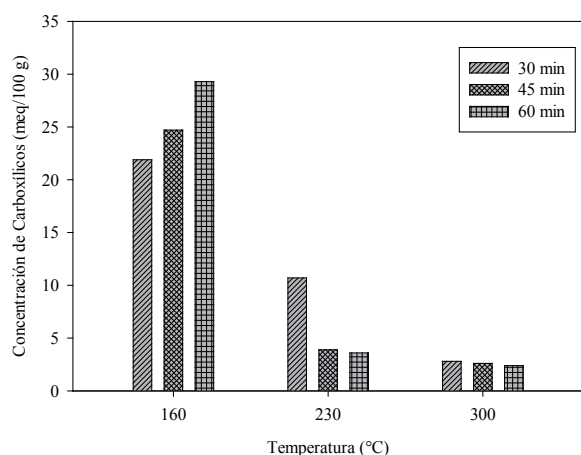


Figura 5. Concentración de grupos carboxílicos en la fracción soluble (meq/100 g) del tratamiento hidrotérmico del olote.

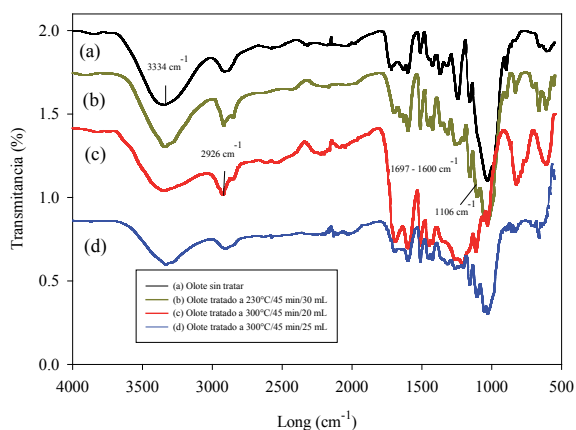


Figura 6. Comparativo de espectros FTIR-ATR de olote: a) sin tratar b) tratado hidrotérmicamente a 230°C/45 min/30 mL de agua, c) 300°C/45 min/20 mL y d) 300°C/45 min/25 mL.

La asignación de las principales bandas en el espectro del olote después del tratamiento hidrotérmico se muestra en el cuadro 2. La comparación de espectros FTIR del olote tratado hidrotérmicamente con respecto al olote sin tratar (figura 6 a-d) muestra que las bandas en 1603 y 1106 cm^{-1} se encuentran mejor definidas después del tratamiento. En principio, estas bandas corresponden a la vibración asimétrica C-O-C del anillo hemiacetal de las unidades monoméricas de los carbohidratos (figura 6 b, c, d).

Se pudo observar en los tratamientos a 300°C, 45 min y 20 mL (figura 6c), un incremento significativo entre las bandas 1452-1697 cm^{-1} (grupos carboxilos), a la vez que se observa una reducción marcada entre las bandas 900-1115 cm^{-1} correspondientes a estiramientos C-O de grupos OH y éteres de azúcares presentes en las muestras. Esta reducción está relacionada con la oxidación de grupos OH a grupos carbonilos (ácidos carboxílicos, aldehídos y cetonas) como resultado del tratamiento térmico.

Se observó también una mayor concentración de grupos carboxílicos cuando se trabajó con temperaturas de 160°C en todos sus tiempos (30, 45 y 60 min); esto era de esperarse teniendo en cuenta que a esta temperatura comienza la degradación de las hemicelulosas, conduciendo a la formación de fragmentos de cadena corta, conteniendo grupos carboxílicos (figura 5).

Cuadro 2. Bandas (cm^{-1}) de FTIR para el olote modificado hidrotérmicamente.

Asignación	Olote modificado (Longitud)	Referencia
O-H estiramientos de los grupos hidroxilos	3300-3640	
C-H estiramientos en CH_2 y CH_3	2936	(Fengel and Ludwig, 1991, Sánchez <i>et al</i> , 2012)
C-O-C vibración asimétrica del anillo hemiacetal de las unidades monoméricas de los carbohidratos	1603 y 1106,	
C-H vibración del esqueleto aromático 3 bandas característica de lignina	1603, 1513 y 1455	(Monteil-Rivera <i>et al</i> , 2013, Faix, 1992, Hergert, 1971, Heitner <i>et al</i> , 1941)
C=O Carbonilos	1510 y 1600	
C=O-R grupos carboxilos	1452 a 1697	

El objetivo del diseño experimental fue lograr la generación de una gran cantidad de estos grupos, para utilizarlos en la fijación de nitrógeno en un etapa subsecuente de condensación (Bhargava *et al*, 2006).

En los trabajos de Radlein (Radlein *et al*, 1997) sobre pirólisis de diversos tipos de biomasa se reportan contenidos de grupos carboxilos entre 6 y 11 moles de grupos carboxilo, carbonilo y grupos fenólicos disponibles para su posterior reacción con una fuente de nitrógeno (amoníaco, urea o compuestos de amonio en general).

RMN- ^{13}C de la xilana de olote. En el espectro de RMN de la xilana de olote en la figura 8, se observan señales características para hemicelulosas (Kumar and Negi, 2012). Este espectro muestra cinco señales de carbonos y entre estas se puede ver a campo más bajo (δ 101.7 ppm) la señal característica de carbonos acetálicos (C-1) correspondiente a la D-xilopiranosas de unidades de xilana. Las tres señales siguientes en δ 75.4, 74 y 72.6 ppm, corresponden a los carbonos C-2, C-3 y C-4, respectivamente del anillo piranósico, así como la última

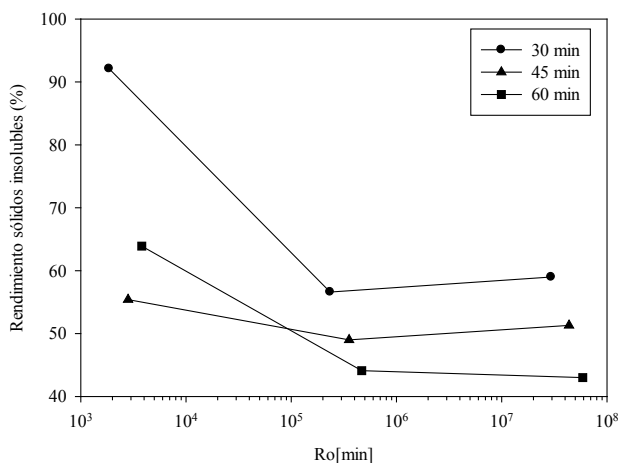


Figura 7. Rendimiento de sólidos insolubles resultante del tratamiento hidrotérmico del olote y su relación con el factor de severidad (Ro).

señal a 63.2 ppm que es atribuida al C-5 de este mismo sistema. Este resultado demuestra claramente que la xilana aislada se logró obtener de forma purificada mediante el proceso de extracción alcalina, mientras que frecuentemente las preparaciones de xilanas pueden presentar otros azúcares en las cadenas laterales (Ebringerova and

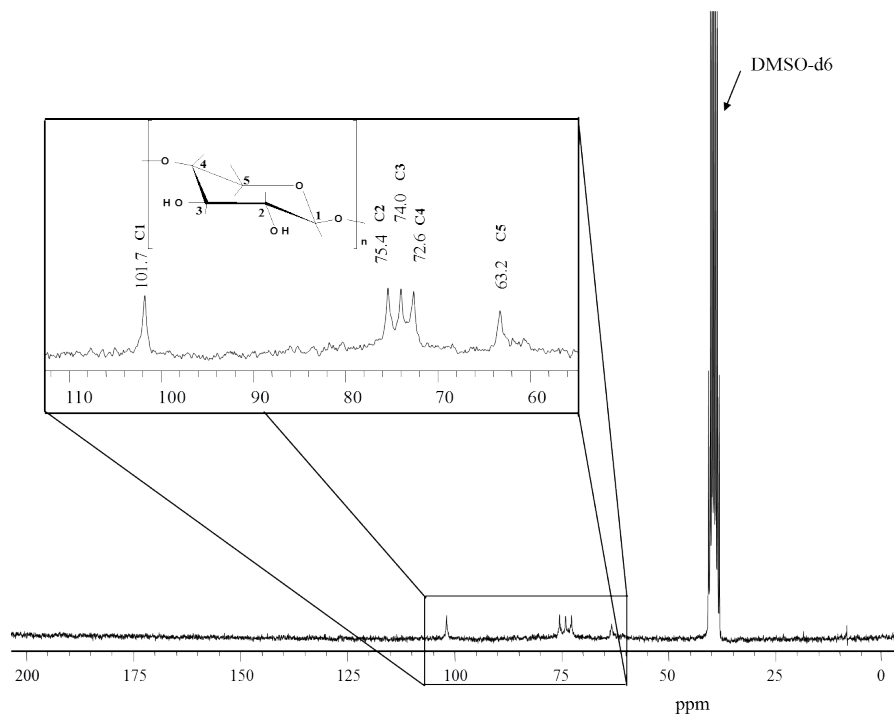


Figura 8. Espectro RMN- ^{13}C de xilana de olote con ampliación de la zona entre 110 a 55ppm.

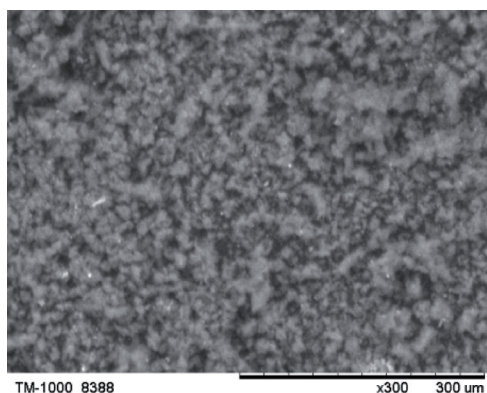


Figura 9. Microfotografía SEM de xilana aislada de olote.

Hromadkova, 1999, Garcia *et al*, 2000, Karučáková *et al*, 1994, Silva *et al*, 1998, Whistler and Smart, 1953). Según estos resultados, la xilana del olote reportada en esta investigación pertenece al tipo arabinoglucuronoxilana con pocas ramificaciones e insoluble en agua (WIS-X) (figura 3 y 8).

Morfología de celulosa y xilana a partir de holocelulosa. En la figura 9, se observan las partículas de xilana en formas agregadas y no agregadas con morfología irregular y algunas de forma esférica.

En el caso de la celulosa (figura 10), se observó una mezcla de fibras agregadas y no agregadas con morfología irregular y se distribuye de manera uniforme por arriba del valor promedio con una distribución

unimodal. El tamaño medio de la longitud de las fibras fue de $102.74 \pm 50.98 \mu\text{m}$, con un diámetro de $11.62 \pm 3.0 \mu\text{m}$. En el caso del diámetro el 17% de la fibra es menor que el promedio con $9.5 \pm 0.3 \mu\text{m}$. Las características observadas en la morfología y el tamaño de las partículas de celulosa se atribuyen a condiciones específicas del aislamiento empleado (Narayan and Hancock, 2005).

Degradación hidrotérmica del olote.

Los factores que tuvieron efectos significativos en la degradación hidrotérmica fueron la temperatura y el tiempo (nivel de confianza de 95%). El rendimiento de los sólidos insolubles (43%, 44% y 49%) obtenido puede considerarse satisfactorio, ya que fue posible degradar casi el 50% del olote a temperaturas entre 230°C y 300°C en el intervalo de tiempo de 45 a 60 min.

En relación al factor de severidad, los mejores resultados fueron en condiciones superiores a 3.55×10^5 (Ejemplo: combinaciones de 230°C con 60 y 45 min y 300°C con 45 y 60 min con $\text{Ro}[\text{min}]$ de 4.68×10^5 min, 3.55×10^5 min, 4.37×10^7 min y 5.89×10^7 min respectivamente (figura 7 y 11). En general se observó que a mayor temperatura, el $\text{Ro}[\text{min}]$ también se incrementa proporcionalmente. Sin embargo, el olote sigue siendo muy recalcitrante a pesar de haber tenido un tratamiento hidrotérmico

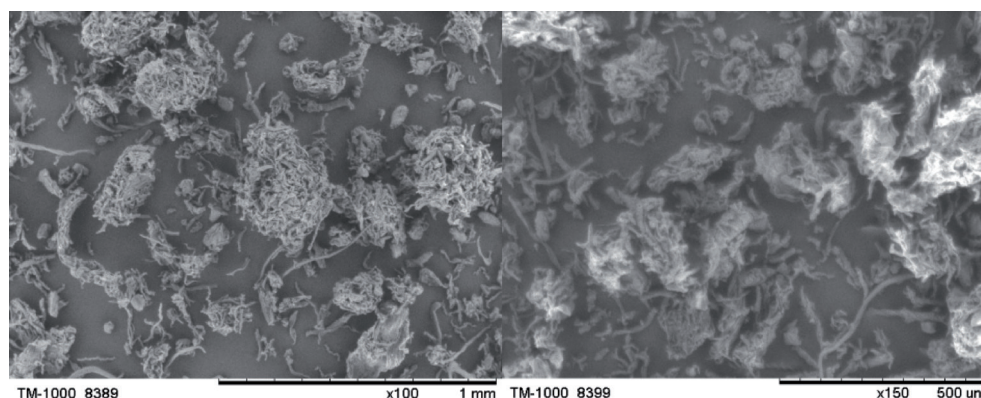


Figura 10. Microfotografía SEM de celulosa aislada de olote.

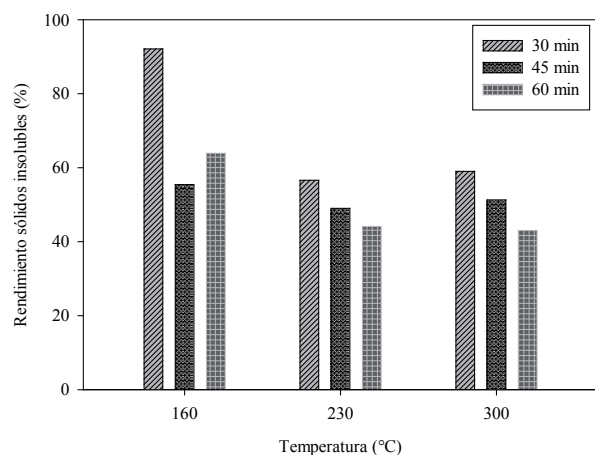


Figura 11. Rendimiento de la fracción insoluble del olote después del tratamiento hidrotérmico.

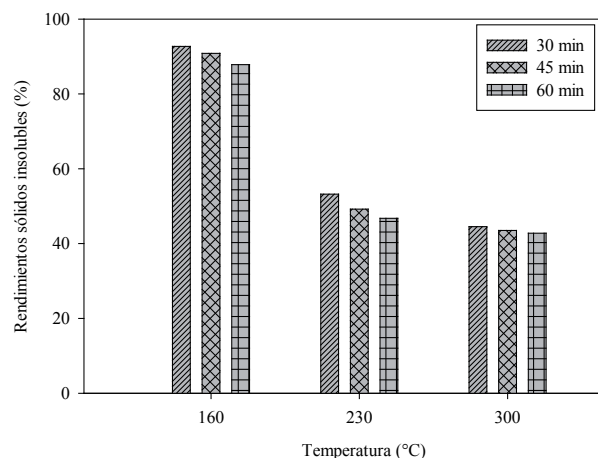


Figura 12. Rendimiento de la fracción insoluble del olote en la generación de grupos carboxílicos después del tratamiento hidrotérmico.

severo. Algunos autores reportan que esta recalcitrancia es atribuida a los vestigios de ferulatos de la lignina estrechamente ligada con heteroxilanas o complejos carbohidratos de arabinoxilana (Ralph *et al*, 1998a, Lapierre *et al*, 2001). Fue interesante observar que a 160°C y 45 minutos se obtuvo uno de los mejores rendimientos (55.4%) empleando un R_o [min] superior 3.45×10^3 (figura 7).

Rendimientos de sólidos insolubles en la generación de grupos carboxílicos.

Para este experimento, la temperatura fue el único factor que influyó significativamente con $p < 0.05$ y tuvo influencia apreciable sobre el rendimiento de los sólidos insolubles. Los mejores resultados obtenidos fueron 42.8%, 43.5% y 44.5% encontrados bajo las condiciones de 300°C con 60, 45 y 30 min, respectivamente, seguido del 46.8% bajo las condiciones de 230°C con 60 min (figura 12).

CONCLUSIONES

Se demostró, que es posible degradar un 50-60% la forma recalcitrante de un material lignocelulósico como el olote, mediante degradación hidrotérmica, utilizando sólo agua bajo condiciones subcríticas, a temperaturas por debajo de los 300°C y tiempos menores a una hora.

Este método de conversión de biomasa, mostró ser eficiente en el rendimiento, tanto de la fracción insoluble (celulosa y lignina), como de la soluble (fragmentos de xilana y lignina), con una apreciable concentración de grupos carboxílicos (29.3 meq/100g de olote).

En este proceso los grupos hidroxilos de las hemicelulosas y lignina se oxidaron a aldehídos y carboxilos de cadena corta pasando a formar parte de la fracción soluble después del tratamiento hidrotérmico. Este hecho es potencialmente de valor en reacciones posteriores de condensación para obtener productos de valor agregado (p. ej. compuestos nitrogenados).

El análisis estadístico de los datos experimentales de los tratamientos hidrotérmicos mostró que la temperatura y el tiempo de reacción fueron los factores con un impacto significativo sobre los rendimientos de los sólidos insolubles del olote, mientras que la temperatura es el único factor que tiene influencia directa sobre la generación de grupos carboxílicos en la fracción soluble.

AGRADECIMIENTOS

El autor principal agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por financiar los años de mis estudios de Doctorado en México, tiempo en el que se realizó esta investigación. Al posgrado BE-MARENA y el DMCyP de la Universidad de Guadalajara por sus instalaciones y a la Universidad Tecnológica del Chocó “DLC” por el apoyo brindado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC 954.04. (1984). Metodos y Analisis Oficiales de Nitrógeno Total. *Métodos y Análisis Oficiales de la Asociación Oficial de Químicos Analíticos*, 13 th Edition.
- BAUCHER, M., MONTIES, B., VAN MONTAGU, M. & BOERJAN, W. (1998). Biosynthesis and genetic engineering of lignin. *Crit. Rev. Plant Sci. Total Environ*, 17, 125-197.
- BHARGAVA, S., TARDIO, J., PRASAD, J., FÖGER, K., AKOLEKAR, D. & GROCOTT, S. (2006). Wet oxidation and catalytic wet oxidation Reviews. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 45, 1221-1258.
- BJÖRKMAN, A. (1956). Studies on finely divided wood. Part I. Extraction of lignin with neutral solvents. *Svensk. Papperstidn*, 13, 477- 485.
- BURANOV, A. U. & MAZZA, G. (2008). Lignin in straw of herbaceous crops. *Ind. crop. prod.*, 28, 237-259.
- CARO, N. & FRANK, A. R. (1929). Procesos para la producción de fertilizantes orgánicos nitrogenados por procesos de amoxidación. *British patent application* (No.347641).
- CASTRO, L. I., GAVI, R. F., PEÑA-CABRIALES, J. J., NÚÑEZ, E. R. & ETCHEVERS, B. J. D. (2006). Eficiencia de recuperación de N y K de tres fertilizantes de lenta liberación. *Terra Latinoamericana*, 24, 277-282.
- CASTRO, V. A., RODRÍGUEZ, V. L. & DÍAZ, V. J. (2007). Conversión hidrotémica subcrítica de residuos orgánicos y biomasa. Mecanismos de reacción. *Redalyc*, (27), 41-50.
- CIMMYT (1995). Manejo de los ensayos e informes de los datos para el Programa de Ensayos Internacionales de Maíz, México DF, ISBN: 970-648-045-5, 20 p.
- CLARK, T. A. & MACKIE, K. L. (1987). Steam explosion of the soft-wood *Pinus radiata* with sulphur dioxide addition. I. Process optimization. *J. Wood Chem. Technol*, 7, 373-403.
- COCA, J., ALVAREZ, R. & FUERTES, B. (1984). Production of a nitrogenous humic fertilizer by the oxidation-ammoniation of lignite. *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev*, 23, 620- 624.
- CÓRDOBA, A., DELGADO, F. & TORIZ, G. (2010). Generación de compuestos orgánicos en el olote, mediante la oxidación en húmedo. *Investigación, Biodiversidad y Desarrollo*, 29, 186 -200.
- COSTA, F., García C., Hernández T. & Polo A. (1991). Residuos orgánicos urbanos, manejo y utilización. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. *Centro de Edafología y Biología Aplicada de Segura*. Murcia - España, 181 p.
- DIEN, B. S., COTTA, M. A. & JEFFRIES, T. W. (2003). Bacteria engineered for fuel ethanol production: current status. *Appl. Microbiol. Biot.*, 63, 258-266.

- DUFF, S. J. B. & MURRAY, W. (1996). Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol. *Bioresource. Technol.*, 55, 1–33.
- EBRINGEROVA, A. & HROMADKOVA, Z. (1999). Xylans of industrial and biomedical importance. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, 16, 325–346.
- FAIX, O. 1992. Characterization in the Solid State, Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In: LIN, S. & DENCE, C. (eds.) *Methods in Lignin Chemistry*. Berlin: Springer-Verlag.
- FAOSTAT. (2012). Producción mundial de maíz. Available: <http://http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
- FENGEL, D. & LUDWIG, M. (1991). Möglichkeiten und Grenzen der FTIR-Spektroskopie bei der Charakterisierung von Cellulose Teil 1. Vergleich von verschiedenen Cellulose-fasern und Bakterien-Cellulose. *Das Papier*, 45, 45–51.
- FLAIG, W. (1972). Verwertung eines Abfallproduktes der Zellstoffindustrie als Düngemittel – Eing Beitrag zur umweltfreundlichen Technik. *Landb – Forsh. Völkenrode*, 86 -93.
- FLAIG, W. & SÖCHTIG, H. (1973). Wirkung organischer Boden substanzen und Ertragssicherung Landb – Forsh. *Völkenrode*, 23, 19–28.
- GARCIA, R. B., GANTER, J. & CARVALHO, R. R. (2000). Solution properties of D-xylans from corn cobs. *Eur. Polym. J.*, 36, 783–787.
- GARROTE, G., FALQUÉ, E., DOMÍNGUEZ, H. & PARAJO, J. C. (2007a). Autohydrolysis of agricultural residues: study of reaction byproducts. *Bioresorce. Technol*, 98, 1951–1957.
- GONZÁLEZ, M., RIEUMONT, J., QUINTANA, I., RODRÍGUEZ, C., CUESTA, C., SARDINAS, C. & MORALES, A. (2006). Obtención de un material polimérico mejorado empleado como recubrimiento para la obtención de fertilizantes de liberación lenta. *Congreso Iberoamericano de Metalurgia y Materiales*, Habana- Cuba, 655-660.
- GRAY, K. S., ZHAO, L. & EMPTAGE, M. (2006). Bioethanol. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 10, 141-146.
- HEITNER, C., DIMMEL, D. & SCHMIDT, J. A. (1941). *Lignin and lignans: advances in chemistry*, New York, Taylor and Francis Group.
- HERGERT, H. (1971). Infrared Spectra. In: SARKANEN, K. & LUDWIG, C. (eds.) *Lignins: Occurrence, Formation, Structure and Reactions*. New York: *Wiley-Interscience*.
- HROMADKOVA, Z., KOVACIKOVA, J. & EBRINGEROVA, A. (1999). Study of the classical and ultrasound-assisted extraction of the corn cob xylan. *Ind. Crops Prod.*, 9, 101–109.
- INGRAM, L. O., GOMEZ, P. F., LAI, X., MONIRUZZAMAN, M., WOOD, B. E., YOMANO, L. P. & YORK, S. W. (1998). Metabolic engineering of bacteria for ethanol production. *Biotechnol. Bioeng.*, 58, 204–214.
- KABEL, M. A., BOS, G., ZEEVALKING, J., VORAGEN, A. G. J. & SCHOLS, H. A. (2007). Effect of pretreatment severity on xylan solubility and enzymatic breakdown of the remaining cellulose from wheat straw. *Bioresource. Technol.*, 98, 2042.
- KARUCÁKOVA, M., EBRINGEROVA, A., HIRSCH, J. & HROMADKOVA, Z. (1994). Infrared study of arabinoxylans. *J. Sci. Food Agric.*, 66, 423–427.
- KILZER, F. J. & BROIDO, A. (1965). Speculations on the nature of cellulose pyrolysis. *Pyro-dynamics*, 2, 151–163.
- KNOB, A. & CANO-CARMONA, E. (2010). Purification and characterization of two extracellular xylanases from *Penicillium sclerotiorum*: A novel acidophilic xylanase. *Appl Biochem Biotechnol*, 162, 429-443.
- KUMAR, S. & NEGI, Y. S. (2012). Corn Cob Xylan-based Nanoparticles: Ester Prodrug of 5-Aminosalicylic Acid for Possible Targeted Delivery of Drug. *J. Pharm. Sci. & Res*, 4, 1995 - 2003.
- LAPIERRE, C., POLLET, B. & ROLANDO, C. (1995). New insights into the molecular architecture of hardwood lignins by chemical degradative methods. *Res. Chem. Intermed.*, 21, 397–412.

- LAPIERRE, C., POLLET, B., RALET, M. C. & SAULNIER, L. (2001). The phenolic fraction of maize bran: evidence for lignin-heteroxytan association. *Phytochem.*, 57, 765-772.
- MARTÍNEZ, G., ZÚÑIGA, V., DELGADO, E., CAMACHO, A., GONZÁLEZ, V. & ALLAN, G. (1992). Producción de fertilizantes nitrogenados mediante oxi-amoniación en corteza de pino en lecho fluidizado. *Tecnol. Ciencia Ed. (IMIQ)*, 8, 21-26.
- MEIER, D., ZÚÑIGA, V., RAMÍREZ, F., HAHN, N. & FAIX, O. (1994). Conversion of technical lignins into slow-release nitrogenous fertilizers by ammoxidation in liquid phase. *Biore-source Technol.*, 49, 121-128.
- MILETZKY, F. & SCHIENE, R. (1985). Über die oxidative Ammonolyse von sulfitablauge- Untersuchungen zur kinetic. *Zellst. Papier*, 34, 186 -8.
- MIYAZAWA, T., OHTSU, S. & FUNAZUKURI, T. (2008). Hydrothermal degradation of polysaccharides in a semi-batch reactor: product distribution as a function of severity parameter. *J. Mater. Sci.*, 43, 2447-2451.
- MONTEIL-RIVERA, F., PHUONG, M., YE, M., HALASZ, A. & HAWARI, J. (2013). Isolation and characterization of herbaceous lignins for applications in biomaterials. *Ind. Crop. Prod.*, 41, 356- 364.
- MORA-RAVELO, S. G., GAVI, F. R., PEÑA, C. J., PÉREZ, M. J., TIJERA, C. L. & VAQUERA, H. (2007). Desnitrificación de un fertilizante de liberación lenta y urea + fosfato monoamónico aplicados a trigo irrigado con agua residual o de pozo. Montecillo. *Rev Int Contam. Ambie.*, 23, 25-33.
- NARAYAN, P. & HANCOCK, B. C. (2005). The influence of particle size on the surface roughness of pharmaceutical excipient compacts. *Mater. Sci. Eng. A.*, 407, 226-233.
- OLIVEIRA, E. E., SILVA, A. E., NAGASHIMA, T. J., SALGADO, G. M. C., AGUIAR, L. M., RODRIGUES, M. H., BATISTA, A. I., BAYER, M. P., RICARDO, M. P. S. N., GOMES, O. A. & TABOSA, E. E. S. (2010). Xylan from corn cobs, a promising polymer for drug delivery: Production and characterization. *Bioresource Technol.*, 101, 5402-5406.
- RADLEIN, A. G., PISKORZ, J. K. & MAJERSKI, P. A. (1997). Method of producing slow release nitrogenous organic fertilizer from biomass. Ontario, Canada *patent application* No. 5,676.727.
- RALPH, J., HATFIELD, R. D., GRABBER, J. H., JUNG, H. G., QUIDEAU, S. & HELM, R. F. (1998a). Cell wall cross-linking in grasses by ferulates and diferulates. In: LEWIS, N. G., SARKANEN, S. (ed.) Lignin and Lignan Biosynthesis. Washington, DC: *J. Am. Chem. Soc.*, 209-236.
- RIVAS, B., MOLDES, A. B., DOMÍNGUEZ, J. M. & PARAJO, J. C. (2004). Lactic acid production from corn cobs by simultaneous saccharification and fermentation: a mathematical interpretation. *Enzyme Microb. Technol*, 34, 627-634.
- ROWELL, R. M., HAN, J. S. & ROWELL, J. S. (2000). Characterization and factors affecting fiber properties. In E. Frollini, A.L. Leão and L.H.C. Mattoso (2000). *Natural Polymers and agro-fibers composites preparation, properties and application*, San Carlos Brazil, ISBN: 85-86463-06-X, 292 p.
- SAMANTA, A. K., SENANIA, S., KOLTE, A. P., SRIDHARA, M., SAMPATHA, K. T., JAYAPALA, N. & DEVIA, A. (2012). Production and in vitro evaluation of xylooligosaccharides generated from corn cobs. *Food Bioprod. Process.*, 90, 466-474.
- SÁNCHEZ, C., EGÜÉS, I., GARCÍA, A., LLANO-PONTE, R. & J., L. (2012). Lactic acid production by alkaline hydrothermal treatment of corn cobs. *Chem. Eng. J.*, 181-182, 655-660.
- SILVA, S. S., CARVALHO, R. R., FONSECA, J. L. C. & GARCIA, R. B. (1998). Extração e caracterização de xilanas de sabugo de milho. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 2, 1-9.

- SIMÓN, O., SINGH, B. K. & WEIL, M. J. (2005). Elaboración y caracterización de lignosulfonatos amonificados a partir de pinzote de banano y aserrín de laurel (*Cordia alliodora*) para utilizarse como fertilizante de liberación lenta. *EARTH-Tierra Tropical*, 1, 21-26.
- SUN, X.-F., SUN, R.-C., LU, Q., XU, F. & LIN, L. (2002). Fractional Isolation and Physico-Chemical Characterization of Hemicelluloses by a Two-Stage Treatment from *Haloxylon ammodendron* and *Elaeagnus angustifolia*. *J. Agric. Food Chem*, 50, 6400-6407.
- TAPPI 9M (1954). Celulosa Cross y Bevan. *Technical Association of the Pulp and Paper Industry*, 54, 1.
- TAPPI 204 CM (1997). Solvent extractives of wood and pulp. *Tech. Assoc. Pap.*
- TAPPI 207 CM (1999). Water solubility of wood and pulp. *Tech. Assoc. Pap.*
- TAPPI 211 (1993). Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 525°C. . *Tech. Assoc. Pap.*, 1-4.
- TAPPI 222 (1998). Acid-insoluble lignin in wood and pulp. *Tech. Assoc. Pap.*, 1-2.
- TAPPI 237 OM (1993). Carboxyl content of pulp. *Tech. Assoc. Pap.*, 1-3.
- THOMPSON, N. S. (1995). Hemicellulose. In: KIRK-OTHMER (ed.) *Encycl. Chem. Technol.* New York: John Wiley & Sons.
- TIMELL, T. E. (1961). Isolation of galactoglucomannans from the wood of gymnosperms. *Tech. Assoc. Pap.*, 44, 88 - 96.
- WHISTLER, R. L. & SMART, C. L. (1953). *Polysaccharide Chemistry*, New York.
- WISE, L., MARPHY, M. A. & ADIECO, D. (1946). Chlorite Holocellulose, its Fractionation and Beating on Summative Wood Analysis and on Studies on the Hemicelluloses. *Paper Trade J.* , 122, 2 - 35.