



Extracción de glucosa y azúcares hemicelulosicos de tule (*typha dominguensis*) utilizando un reactor Batch y su cuantificación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Fabiola Lizeth Hernandez Delgado^a, Minerva A.M. Zamudio^{a*}, Nancy Patricia Diaz Zavala^a, Erick Heredia Olea^b y M. Cristina Luna^a

^a Instituto Tecnológico de Ciudad Madero. Av. Primero de Mayo S/N, Col. Los Mangos, 89440, Cd. Madero, Tamaulipas, Mexico

*minerva.za@cdmadero.tecnm.mx,

^b EIC Escuela de Ingeniería y Ciencias. Tecnológico de Monterrey, Monterrey, Nuevo León, México

Recibido 12 de diciembre 2023, Aceptado 20 de diciembre 2023

Resumen

Se realizó la extracción de azúcares fermentables de la fase líquida (hemicelulosa) y fase sólida (celulosa) de la especie vegetal tule (*Typha dominguensis*) utilizando autohidrólisis e hidrólisis ácido-diluida y su cuantificación por espectroscopia UV, así mismo, la cuantificación de glucosa-xilosa y compuestos de degradación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Los análisis realizados para la caracterización de la especie vegetal tule (*Typha dominguensis*), fueron: porcentaje de humedad, extraíbles con etanol, extraíbles en agua caliente, lignina Klason, holocelulosa, α -celulosa y cenizas. Se realizó como pretratamiento fisicoquímico, una autohidrólisis y se continuó el proceso con la hidrólisis ácida. El mayor rendimiento de azúcares reductores totales (ART) de la planta tule (*Typha dominguensis*), fue de 7.66% en autohidrólisis y 13.08% en hidrólisis ácida de la fase líquida. Las condiciones de autohidrólisis que favorecieron la extracción de azúcares en hidrólisis ácida de la fase líquida fueron un tamaño de partícula malla #14 a 180 °C por 40 minutos, obteniendo 6.917 mg/mL de azúcares totales equivalentes a: 4.165 mg/mL de xilosa, 1.302 mg/mL de arabinosa, 0.955 mg/mL de galactosa, 0.476 mg/mL de glucosa y 0.019 mg/mL de celobiosa. La concentración de los compuestos de degradación obtenidos en la reacción anterior fueron 4.878 mg/mL equivalentes a: 4.453 mg/mL de ácido acético y 0.425 de 5-HMF. Por otro lado, las condiciones de autohidrólisis que favorecieron la extracción de azúcares en la hidrólisis ácida de la fase sólida del tule fueron un tamaño de partícula malla #40 a 180 °C por 40 minutos obteniendo 14.36 mg/mL de glucosa y 5.857 mg/mL de compuestos de degradación equivalentes a: 2.735 mg/mL de ácido acético, 2.111 mg/mL de 5-HMF y 0.911 mg/mL de furfural.

Abstract

The extraction of fermentable sugars from the liquid phase (hemicellulose) and solid phase (cellulose) of the plant species tule (*Typha dominguensis*) was carried out using autohydrolysis and acid-dilute hydrolysis and their quantification by UV spectroscopy, as well as the quantification of glucose-xylose and degradation compounds by high performance liquid chromatography (HPLC). The analyses performed for the characterization of the tule plant species (*Typha dominguensis*) were percentage of moisture, ethanol extractables, hot water extractables, Klason lignin, holocellulose, α -cellulose and ash. As a physicochemical pretreatment, an autohydrolysis was performed and the process was continued with acid hydrolysis. The highest yield of total reducing sugars (ART) of the tule plant (*Typha dominguensis*) was 7.66% in autohydrolysis and 13.08% in acid hydrolysis of the liquid phase. The autohydrolysis conditions that favored the extraction of sugars in acid hydrolysis of the liquid phase were a particle size #14 mesh at 180 °C for 40 minutes obtaining 6.917 mg/mL of total sugars equivalent to: 4.165 mg/mL xylose, 1.302 mg/mL arabinose, 0.955 mg/mL galactose, 0.476 mg/mL glucose and 0.019 mg/mL cellobiose. The concentration of the degradation compounds obtained in the above reaction were 4.878 mg/mL equivalent to: 4.453 mg/mL of acetic acid and 0.425 of 5-HMF. On the other hand, the autohydrolysis conditions that favored the extraction of sugars in the acid hydrolysis of the solid phase of tule were a particle size #40 mesh at 180 °C for 40 minutes obtaining 14.36 mg/mL of glucose and 5.857 mg/mL of degradation compounds equivalent to: 2.735 mg/mL of acetic acid, 2.111 mg/mL of 5-HMF and 0.911 mg/mL of furfural.

Keywords: Autohydrolysis, Acid-dilute hydrolysis, HPLC, UV spectroscopic quantification.

1. Introducción

El consumo global de combustibles genera enormes cantidades de gases de efecto invernadero y partículas que son emitidas al ambiente, cuyas concentraciones ponen en riesgo la salud humana, debido a esto, aumentó la necesidad de disminuir la dependencia hacia el petróleo promoviendo fuentes alternas de energía renovable para la generación de combustibles (Hernández, C. A. S. et al., 2020). La Organización Mundial de la Salud estima que cerca de siete millones de personas mueren cada año por la exposición a aire contaminado, cuyo principal contribuyente es la quema de combustibles fósiles (Silva-Hernández Cinthia Alejandra, et al., 2018). La producción actual de bioetanol se basa en etanol a partir de almidón y jarabes azucarados (Niño López, L et al., 2013), por lo que es necesaria la búsqueda y utilización de nuevas fuentes de recursos naturales renovables.

Es aquí donde la biomasa lignocelulósica se revela como fuente de recurso para la obtención de monosacáridos. Desde tiempos remotos las maderas se han empleado como materiales de construcción y, sufriendo una reacción química, también para proporcionar calor. Posteriormente, la celulosa se aprovechó para fabricar papel, y del aguarrás de la madera se obtuvieron adhesivos, saborizantes y fragancias. En la primera mitad del siglo XX se aplicó hidrólisis ácida sobre maderas para obtener azúcares simples y, con ellos, vía fermentativa, etanol que fue usado para accionar motores de combustión interna durante la Segunda Guerra Mundial (Marwa, Saleh. 2014).

Los materiales lignocelulósicos se encuentran constituidos de tres componentes principales: celulosa, hemicelulosa y lignina. La celulosa, es el principal polímero natural, compuesto por D-glucosa unida por enlaces glucosídicos β -1,4 que se estructuran en largas cadenas lineales unidas por puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals intramoleculares (Vele Salto, A. M. et al., 2021). La hemicelulosa está constituida principalmente de azúcares, que pueden ser fácilmente obtenidos por medio de hidrólisis ácida, sus grupos funcionales están compuestos por un grupo carbonilo en el primer carbono y grupos hidroxilo en otros (Lisong Hu et al., 2020). Por su parte, La lignina es un heteropolímero que forma parte de la pared celular del tejido vascular de las plantas (Agustín Maceda et al., 2021) su estructura está formada por compuestos fenólicos ramificados, entrecruzados y entrelazados con carbohidratos (Jacob Salomon Abreu Sherrer, 2013)

El tule (*Typha dominguensis*) es un residuo lignocelulósico, planta acuática, herbácea, enraizada, emergente, perenne. Esta crece en ambientes lénticos de agua dulce como lagos, presas, pantanos, zonas

inundadas, y de ambientes lóticos como manantiales, zanjas y canales. En ocasiones sus poblaciones rebasan el 35% de la superficie del embalse, considerándose como una planta acuática invasora, ya que constituye un problema en los usos o explotación de los cuerpos de agua (Martínez Leal Mónica E. 2018).

Para la conversión de biomasa lignocelulósica en etanol se requiere un tratamiento previo para modificar la composición química y estructural de los residuos lignocelulósicos con el fin de facilitar la hidrólisis de los hidratos de carbono en azúcares fermentables (Hernández, C. A. S. et al., 2020). Esto se debe a que las microfibrilas de celulosa se encuentran impregnada en una matriz de hemicelulosa y lignina, actuando estos dos últimos como barreras protectoras de la celulosa.

El fraccionamiento de la biomasa se puede llevar a cabo mediante el uso de hidrólisis química catalizada, tratamientos físicos como las tecnologías de explosión de vapor y su combinación (Lisong Hu et al., 2020).

El proceso de autohidrólisis se realiza con agua líquida a temperaturas cercanas a los 200°C, condición en la cual el agua presenta características ácidas (Vargas R. R. A & Vecchiatti, A. R. 2015). Esta operación favorece la exposición del sustrato a la segunda etapa del proceso, la hidrólisis, la cual puede ser ácida o enzimática.

La hidrólisis ácida es un proceso de transformación en medio acuoso, que tiene por objetivo transformar las moléculas complejas en azúcares simples mediante reactivos químicos, durante esta reacción química, los ácidos empleados actúan como catalizadores, y transforman las cadenas de polisacáridos en sustancias más simples (Jessica Paola Pilco Rojas 2022). El tratamiento puede utilizar ácidos concentrados o diluidos, con altas temperaturas (≥ 180 °C) o bajas temperaturas (≤ 120 °C) durante tiempos cortos o prolongados de reacción (30 a 90 minutos) (Jacob Salomon Abreu Sherrer, 2013).

Sin embargo, cuando los materiales lignocelulósicos se someten a condiciones severas durante el pretratamiento se forman y/o liberan una amplia gama de compuestos tóxicos que inhiben a los microorganismos, derivados de la degradación de la lignina y de los azúcares, ya sean hemicelulósicos o celulósicos: las pentosas pueden ser degradadas a furfural y las hexosas a 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) (Jessica Paola Pilco Rojas 2022; Vergara Rodríguez H. R. et al., 2020).

Los ácidos generados son principalmente el ácido acético, producido a partir de los restos acetilo de las hemicelulosas, y el ácido fórmico, procedente de la degradación del furfural y 5-HMF (Vergara Rodríguez H. R. et al., 2020).

La determinación de los azúcares reductores compuestos por grupos carbonilos se realiza mediante una reacción colorimétrica utilizando el método DNS (ácido 3,5 dinitrosalicílico) en medio alcalino, el cual permite identificar los grupos carbonilos en los azúcares por medio de la reducción y desplazamiento del grupo nitro de los extremos del DNS, dando como resultado la formación de un ácido (Malagón Micán, M. L et al., 2017).

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es un método de separación que se basa en la distribución de los componentes de la muestra a analizar en dos fases inmiscibles, una fase estacionaria y otra móvil (Andrés Camilo Iriarte Perdigón. 2022). Para la determinación de carbohidratos el sistema de HPLC debe ser acoplado a un detector de índice de refracción, este mide la diferencia de índice de refracción entre el solvente puro y el solvente que contiene la muestra (Andrea Candelaria Foitzich Molina 2013).

En este estudio se sientan las bases para futuras investigaciones que conlleven a optimizar el rendimiento de azúcares de la planta de tule (*Typha dominguensis*) y de esta manera, su existencia en un manto acuífero se convertiría en oportunidades económicas para la región, mediante la elaboración de subproductos a partir de estos residuos lignocelulósicos, como la producción de etanol de segunda generación, edulcorantes como xilitol, polimerización de la glucosa para la elaboración de plásticos tipo PET, obtención de nanocristales y nanofibras, la elaboración de papel artesanal y cartón, emplearlo como componente en la obtención de composta y la extracción de lignina para aplicaciones en industria.

Typha dominguensis es el nombre científico de la planta que pertenece a la familia typhaceae, también es conocida con nombres comunes como espadaña, tule, masa de agua, cola de gato, entre otros. Es una especie perenne, originaria de Europa, Asia y América. Su altura puede alcanzar más de tres metros, (Roberto García-Acevedo et al., 2023).

Esta especie es ampliamente estudiada en humedales naturales y construidos para el tratamiento de diversos efluentes debido a su elevada resistencia a los contaminantes (A.V. Dordio et al., 2011; María de las Mercedes Mufarregue 2012).

2. Materiales y métodos.

2.1 Materiales.

El Ácido Sulfúrico concentrado al 98 %, Etanol, Hidróxido de Sodio, Acetona, Ácido Acético 2 N, Clorito Sódico, Agua destilada y desionizada, DNS.

2.2 Métodos.

Las pruebas realizadas en la caracterización de la especie

vegetal tule (*Typha dominguensis*) se encuentran descritas en las normas TAPPI (Technical Association of the Pulp & Paper Industry) correspondientes a cada prueba realizada.

2.3 Caracterización de tule (*Typha dominguensis*).

Preparación de tule (*Typha dominguensis*). La especie de tule (*Typha dominguensis*) utilizada como materia prima en la presente investigación, fue recolectada de la laguna “El conejo”, ubicado al sur de Tamaulipas en el municipio de Altamira (22°25'13.5"N - 97°52'51.6"W). El tule se cortó en tres partes: alta, baja y media. Se utilizó la media, y se secó a temperatura ambiente siguiendo la técnica y procedimiento indicado en la norma Tappi T 257 cm-02.

Humedad. Esta metodología sigue las especificaciones de la norma TAPPI T 412 om-06. La determinación de porcentaje de humedad del material vegetal lignocelulósico tule (*Typha dominguensis*) se llevó a peso constante vasos de precipitado en una estufa a 105° C y se agregaron de 1 a 3 g de tule. Los vasos de precipitado fueron llevados a la estufa a 105° C durante 24 horas y se registró el peso del vaso más el tule seco.

Extraíbles con etanol. Se realizó una extracción tipo Soxhlet con etanol, siguiendo la normativa Tappi T 204 cm-07. Se pesaron 20 gr. de tule (*Typha dominguensis*) en base seca en un cartucho de papel filtro y se introdujo en el equipo Soxhlet. Se agregó sifonada y media de etanol al 96% al matraz balón previamente tarado. Se realizaron extracciones hasta no apreciar coloración en el sifón, no debiendo sobrepasar las 6 horas de ensayo. Terminando la reacción, se retiró el cartucho del extractor Soxhlet y se recuperó la mayor cantidad de disolvente del matraz, este se introdujo a la estufa 24 hrs. y se registró su peso.

Extraíbles en agua caliente. Siguiendo la técnica descrita en la norma Tappi T 207 cm-08 se pesaron 2 gr. de tule (*Typha dominguensis*) en base seca, en un vaso de precipitado y se añadieron 100 mL de agua, se calentó en baño de agua a 100°C por 3 hrs. Se filtró en placa N°2 previamente tarada y se hicieron lavados con agua caliente. Se secó en una estufa a 105° C durante 24 hrs y se registró el peso final de la placa.

Lignina Klason. La metodología para la extracción y cuantificación de lignina se presenta en la norma Tappi T 222 om-06. Se pesaron 0.5 gr. de tule (*Typha dominguensis*) en base seca, en un tubo de ensayo y se le añadieron 5 mL de H₂SO₄ al 72%. Se colocó en baño de agua a 30°C por 1 hr. Se transfirió el contenido de los tubos a frascos y se diluyó el H₂SO₄ al 4}5 con H₂O destilada. Se introdujeron a la autoclave a 2 atm. durante 1 hora y de filtró en crisol de placa porosa N° 3. Se seco

en la estufa a 105°C durante 24 hrs. y se registró su peso final.

Holocelulosa. La determinación se realizó por el método descrito por Wise en 1946. Se pesaron 5 gr de tule (*Typha dominguensis*) en base seca, en un matraz Erlenmeyer y se añadieron 160 mL de agua destilada, se colocó en baño de agua a 75-80 °C. Se añadieron 1.5 gr de clorito sódico y 10 gotas de ácido acético glacial cada hora hasta un total de tres tratamientos. Se enfrió en agua fría y se filtró en una placa N° 2. Se realizaron lavados con acetona y al final con agua destilada. Se secó en la estufa a 105 °C durante 24 hrs. y se registró su peso.

α -Celulosa. Se pesaron 3 ± 0.001 g de tule (*Typha dominguensis*) en base seca en un matraz Erlenmeyer y se colocó en un baño de agua a 20 °C. Se agregaron 75 mL de NaOH al 17.5% y se añadieron de la siguiente manera:

- 15 mL y agitación durante 1 minuto
 - 10 mL y agitación durante 45 segundos
 - 10 mL y agitación durante 15 segundos
- Se dejó reposar durante 1 minuto.
- 10 mL y agitación durante 2.5 minutos
 - a los 2.5 minutos añadir 10 mL
 - a los 2.5 minutos añadir 10 mL
 - a los 2.5 minutos añadir 10 mL y agitar 2.5 minutos.

Al terminar se cubrió con un vidrio de reloj y se dejó reposar 30 minutos, se añadieron 100 mL de agua, agitó vigorosamente, se dejó reposar durante 30 minutos y se filtró en placa N° 2; se lavó el vaso con 25 mL de NaOH al 8.3% y se filtró durante 5 minutos. Posteriormente se realizaron 5 lavados con 50 mL de agua y en otro kitasato se hizo nuevamente un lavado con 400 mL de agua. Sin vacío, se llenó la placa con ácido acético 2 N y se dejó reposar 5 minutos antes de aspirar. Se lavó con agua hasta pH neutro. Finalmente se secó en estufa a 105 °C por 24 horas, y pesó la placa con la muestra seca.

Cenizas. Se siguió la técnica y procedimiento descrito en la norma Tappi 413 om-93. Se pesó 2 ± 0.001 g de tule (*Typha dominguensis*) base seca en un crisol de peso seco conocido. Posteriormente se colocó en la mufla y se mantuvo a una temperatura de 575 °C hasta alcanzar peso constante, se enfrió en un desecador y se pesó.

2.4 Obtención de azúcares en tule (*Typha dominguensis*), por proceso de autohidrólisis utilizando un reactor Parr (modelo 5100).

Se inicia con el proceso de autohidrólisis, donde se obtienen dos fases: la fase sólida con un gran contenido de humedad y la fase líquida. La primera contiene

sólidos insolubles en agua principalmente celulosa, lignina y alguna fracción de hemicelulosa y la fase líquida se tienen principalmente agua, xilooligosacáridos, xilosa, gluco-oligosacáridos, glucosa, furfural, 5-Hidroximetilfurfural (HMF) y ácido acético. Para una mayor concentración de azúcares es necesario descomponer los oligosacáridos en monosacáridos. Esta descomposición se puede realizar mediante una segunda etapa de hidrólisis ácida, con 4% peso de H₂SO₄ en autoclave para la fase líquida y para la fase sólida se utiliza H₂SO₄ al 1.2% v/v en un reactor.

Diseño de experimentos. Se realizaron reacciones preliminares a diferentes temperaturas, tiempos y relación sólido-líquido, esto con el objetivo de establecer valores para el diseño experimental Tabla 1, en base al rendimiento del reactor y de celulosa al final de la reacción.

Tabla 1. Diseño de experimentos para autohidrólisis.

N° de reacción	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Tamaño de partícula
1	160	40	2.5cm
2	180		
3	190		
4	160	60	
5	180		
6	190		
7	160	40	Malla 14
8	180		
9	190		
10	160	60	
11	180		
12	190		
13	160	40	Malla 40
14	180		
15	190		
16	160	60	
17	180		
18	190		

Autohidrólisis de tule. Se agregó a la vasija de reactor PARR (modelo 5100) el tule (*Typha dominguensis*) y agua; se cerró el reactor y el sistema de calentamiento. Se midió el tiempo una vez alcanzado la temperatura indicada y se mantuvo constante toda la reacción. Se retiró el sistema de calentamiento y se abrió el sistema de enfriamiento, se filtró el material autohidrolizado, se separó sólido y líquido para su análisis posterior. El sólido obtenido se secó a temperatura ambiente, la fase líquida se refrigeró durante 24 horas para sedimentación y el líquido sobrenadante fue conservado a -4 °C.

Hidrólisis ácida de fase líquida. Los líquidos obtenidos de la autohidrólisis se descongelaron y se pesaron 10 g. se añadió H₂SO₄ hasta lograr una concentración de 4%

en peso y se introdujo en la autoclave (All American modelo N°25X) a 2 atm por 20 minutos, se sacó y enfrió en baño de agua a temperatura ambiente. Los hidrolizados se filtraron con acrodiscos y los tubos se almacenaron a -4 °C en tubos cónicos para centrifuga.

Hidrólisis ácida de fase sólida. Se pesaron 100 g en base seca de la fase sólida obtenida de autohidrólisis. Se añadió a la vasija del reactor PARR tipo batch 1000 mL de H₂SO₄ al 1.2%, se cerró el reactor y el sistema de calentamiento y las condiciones de reacción fueron 170 °C durante 20 minutos. Se retira el sistema de calentamiento y se abrió el sistema de enfriamiento. Una vez que la presión fue igual a cero, se abrió el reactor. Se filtró el contenido de la vasija en tamiz malla 200, separando el líquido hidrolizado filtrándose nuevamente a vacío para ser almacenado en tubos cónicos a -4 °C para centrifuga.

Cuantificación de azúcares por HPLC.

Preparación de muestras. Las muestras líquidas obtenidas de los procesos de autohidrólisis e hidrólisis ácida se neutralizaron con CaCO₃ y se centrifugaron a 4,000 rpm durante 10 minutos. Para la cuantificación de las muestras líquidas antes mencionadas, se utilizó un cromatógrafo líquido de alta resolución acoplado a un detector de índice de refracción Waters 1515 (HPLC_IR) y las condiciones de operación de este se presentan en la tabla 3.

Tabla 2. Condiciones de operación del HPLC-IR para azúcares y compuestos de degradación.

Muestra	Temp. de horno	Flujo de fase móvil	Columna	Tiempo de corrida	Vol. de inyección
Azúcares	80°C	0.6 mL/min	Shodex SUGAR SP-G (6 mm x 50 mm) + Shodex SP0810 (8 MMX 300 mm)	30 min	10 µL

3. Resultados.

3.1 Caracterización fisicoquímica del tule.

Los resultados de las pruebas para la caracterización fisicoquímica de la materia prima tule (*Typha dominguensis*), realizadas bajo técnicas y métodos descritos en la normatividad correspondiente a cada una de las pruebas, se representan en la tabla 3.

Tabla 3. Porcentajes de las pruebas de caracterización fisicoquímica de la materia prima tule *Typha Dominguensis*.

Tule (<i>Typha dominguensis</i>)	(%)	Tule (<i>Typha dominguensis</i>)	(%)
Humedad	89.21	Extraíbles en agua caliente	11.08
Sequedad	10.79	Lignina Klason	22.32
Cenizas	7.44	Holocelulosa	77.88
Extraíbles de etanol	11.33	α-Celulosa	40.11

Cuantificación de azúcares ART contenidos en los licores de autohidrólisis de tule *Typha Dominguensis*. Los licores se analizaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Los azúcares presentes y sus concentraciones expresados en mg/ml, se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados de azúcares en licores de autohidrólisis de tule *Typha Dominguensis* cuantificados por HPLC.

N° Reacción	Concentración de azúcares (mg/mL)					
	Arabinosa	Celobiosa	Glucosa	Xilosa	Galactosa	Total
1	0.328	0.036	0.257	0.211	0.351	1.17
2	0.216	0.091	0.02	0.277	0.049	0.654
3	ND	0.351	0.142	0.408	0.225	1.125
4	0.996	0.032	0.227	0.196	ND	1.451
5	0.13	0.129	0.215	0.206	0.351	1.03
6	0.997	0.363	0.173	0.308	0.196	2.037
7	1.696	ND	0.34	0.123	ND	2.159
8	1.198	ND	ND	0.533	0.447	2.177
9	1.154	0.292	0.567	0.299	ND	2.312
10	1.752	ND	0.395	0.272	0.303	2.722
11	0.078	0.073	0.111	0.128	ND	0.39
12	0.168	0.051	0.172	0.192	ND	0.583
13	1.425	ND	0.528	0.214	0.187	2.354
14	0.288	0.202	0.105	0.257	0.065	0.917
15	0.149	0.317	0.422	0.411	ND	1.298
16	1.436	0.013	0.279	0.187	ND	1.915
17	0.171	0.152	0.031	0.392	0.013	0.759
18	0.457	0.052	0.17	0.257	0.068	1.005

En la gráfica mostrada en la figura 1, se representa el comportamiento de la Glucosa y la Xilosa, de tule (*Typha Dominguisensis*) respecto a las concentraciones en las diferentes condiciones de autohidrólisis y analizadas en equipo HPLC.

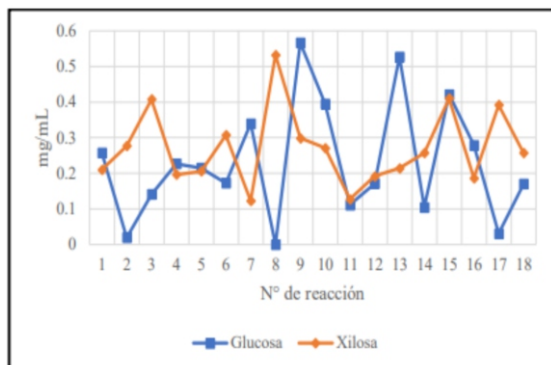


Figura 1. Concentraciones de glucosa y xilosa obtenidas en autohidrólisis cuantificadas por HPLC.

Cuantificación de compuestos de degradación en autohidrólisis por HPLC. Se cuantificaron los compuestos de degradación en los licores de autohidrólisis y se analizó su comportamiento a las diferentes condiciones como el tamaño de partícula, temperatura y tiempo. La tabla 5 muestra las concentraciones obtenidas de tulle (*Typha dominguensis*).

Tabla 5. Resultados de compuestos de degradación en licores de autohidrólisis cuantificados por HPLC.

Nº Reacción	Concentración de compuestos de degradación (mg/mL)			Total
	Ácido Acético	Furfural	5-HMF	
1	0.063	ND	ND	0.063
2	0.449	ND	ND	0.449
3	2.984	0.928	0.928	3.929
4	0.358	ND	ND	0.358
5	0.676	ND	0.12	0.796
6	3.186	0.044	0.997	4.228
7	0.812	ND	ND	0.812
8	2.907	ND	0.224	3.131
9	1.997	ND	0.654	2.651
10	0.732	ND	ND	0.732
11	0.448	ND	0.102	0.55
12	1.524	ND	0.437	1.961
13	0.7	ND	ND	0.7
14	0.822	ND	ND	0.822
15	1.289	ND	0.304	1.593
16	0.468	ND	ND	0.468
17	0.533	ND	0.099	0.633
18	1.415	ND	0.424	1.839

3.2 Hidrólisis ácida de la fase líquida.

Cuantificación de azúcares de la hidrólisis ácida de fase líquida por HPLC. Las concentraciones de cada azúcar obtenidas de la hidrólisis ácida de los licores de autohidrólisis leídas en HPLC se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Resultados de azúcares en licores hidrolizados de tulle.

Nº Reacción	Concentración de azúcares (mg/mL)					Total
	Arabinosa	Celobios	Glucosa	Xilosa	Galactosa	
1	1.542	0.354	0.612	0.332	0.725	3.564
2	1.534	0.061	0.624	3.775	0.826	6.821
3	0.462	0.252	0.345	0.808	0.253	2.119
4	1.743	0.019	0.476	4.165	0.955	6.917

Las concentraciones de glucosa y xilosa obtenidas al realizar la hidrólisis ácida de la fase líquida se muestran en la figura 2.

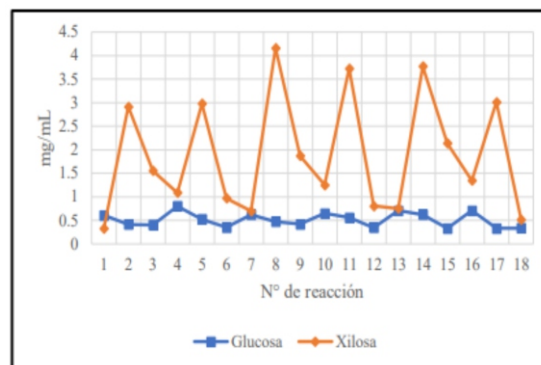


Figura 2. Concentraciones de glucosa y xilosa de los licores hidrolizados.

Cuantificación de compuestos de degradación en hidrólisis ácida de fase líquida por HPLC. Los compuestos de degradación formados se analizaron por HPLC los licores hidrolizados. La tabla 7 muestra las concentraciones obtenidas de los compuestos de degradación en los licores hidrolizados de tulle.

Tabla 7. Resultados de compuestos de degradación en licores hidrolizados de tule cuantificados por HPLC.

Nº Reacción	Concentración de compuestos de degradación (mg/mL)			
	Ácido Acético	Furfural	HMF	Total
1	1.022	ND	0.004	1.026
2	3.644	ND	0.314	3.958
3	4.627	ND	0.713	5.34
4	2.071	ND	0.083	2.154
5	4.767	ND	0.441	5.208
6	5.258	0.007	0.762	6.027
7	1.263	ND	0.056	1.32
8	4.453	ND	0.425	4.878
9	4.395	ND	0.795	5.19
10	1.779	ND	0.101	1.879
11	5.502	0.046	0.838	6.386
12	6.134	ND	0.898	7.033
1	1.432	ND	0.048	1.48
14	3.865	ND	0.295	4.16
15	4.655	ND	0.631	5.286
16	1.871	ND	0.098	1.969
17	3.982	ND	0.539	4.521
18	4.76	0.007	0.724	5.49

3.3 Hidrólisis ácida de fase sólida (celulosa hidrolizada) de tule (*Typha Dominguisis*), Cuantificación de azúcares en HPLC

Cuantificación de azúcares de hidrólisis ácida a la fase sólida, cuantificados por HPLC.

Materia con autohidrólisis. La cuantificación de las concentraciones de los azúcares obtenidos de la fase sólida (celulosa hidrolizada) con autohidrólisis, se realizó en HPLC. las concentraciones de los azúcares se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Resultados de azúcares en hidrólisis ácida de la fase sólida de tule con autohidrólisis analizados por HPLC.

Nº Reacción	Concentración de azúcares (mg/mL)				
	Arabinosa	Glucosa	Xilosa	Galactosa	Total
1	2.009	11.062	1.427	0.69	15.28
4	1.574	10.574	0.909	ND	13.06
8	0.449	11.542	ND	ND	11.99
11	1.088	9.886	1.983	0.607	13.56
14	ND	14.359	ND	ND	14.36
15	ND	14.141	ND	ND	14.14

El comportamiento de las concentraciones de glucosa y xilosa en la hidrólisis ácida de la fase sólida con autohidrólisis de tule *Typha Dominguisis* se muestran en la gráfica de la figura 3.

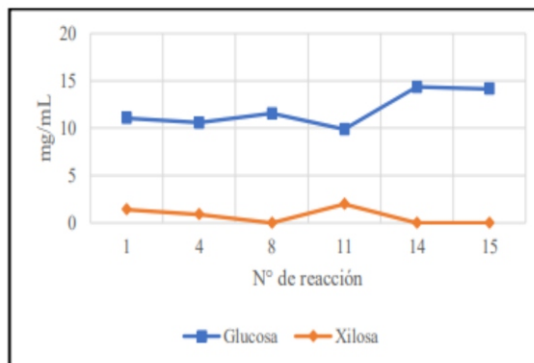


Figura 3. Concentraciones de glucosa y xilosa obtenidas en hidrólisis ácida de la fase sólida con autohidrólisis, de tule *Typha Dominguisis*

Se realizó hidrólisis ácida a la materia prima sin autohidrólisis, en tres tamaños diferentes de partícula sin tratamiento previo y los resultados se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Resultados de azúcares en hidrólisis ácida de tule *Typha Dominguisis* sin autohidrólisis analizados por HPLC.

Nº Reacción	Concentración de azúcares (mg/mL)					Total
	Arabinosa	Celobios	Glucosa	Xilosa	Galactosa	
2.5 cm	2.259	0.041	3.026	1.959	0.902	8.187
Malla 14	0.817	0.004	2.944	0.632	0.412	4.809
Malla 40	2.282	0	6.922	3.204	1.137	13.55

El contenido de glucosa y xilosa a los diferentes tamaños de tule (*Typha dominguensis*) sin autohidrólisis se representan en la gráfica de la figura 4.

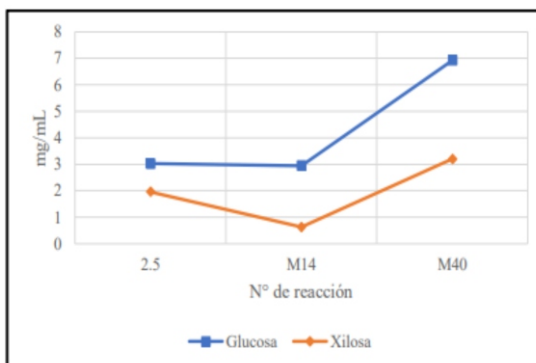


Figura 4. Concentraciones de glucosa y xilosa obtenidas en hidrólisis ácida de la materia sólida sin autohidrólisis realizada en HPLC.

Cuantificación de compuestos de degradación en hidrólisis ácida de fase sólida con autohidrólisis, por HPLC.

Materia con autohidrólisis. Los resultados obtenidos en el HPLC de los compuestos de degradación formados en la hidrólisis ácida de la celulosa con se muestran en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados de compuestos de degradación en hidrólisis ácida de la fase sólida con autohidrólisis analizados por HPLC.

N° Reacción	Concentración de compuestos de degradación (mg/mL)			
	Acido Acético	Furfural	5-HMF	Total
1	7.509	0.971	6.493	14.97
4	7.446	0.965	6.486	14.9
8	2.722	1.127	1.257	6.107
11	5.681	0.834	4.866	11.38
14	2.735	0.911	2.211	5.857
15	1.236	0.96	0.867	3.063

Cuantificación de compuestos de degradación en hidrólisis ácida de fase sólida sin autohidrólisis, por HPLC.

Materia sin autohidrólisis. Los resultados de los compuestos de degradación obtenidos en las reacciones de hidrólisis ácida de la celulosa sin autohidrólisis se representan en la tabla 11.

Tabla 11. Resultados de compuestos de degradación en hidrólisis ácida de tule sin autohidrólisis analizados por HPLC.

N° Reacción	Concentración de compuestos de degradación (mg/mL)			
	Ácido Acético	Furfural	5-HMF	Total
2.5 cm	4.308	0.365	2.333	7.006
Malla 14	3.019	0.477	1.597	5.093
Malla 40	7.546	0.758	3.996	12.3

Discusión.

Con referencia de los resultados obtenidos en la caracterización de tule *Typha Dominguensis* como materia prima, Tabla 3, la determinación de porcentaje de humedad indicado en la norma Tappi T 412 om-06, el valor obtenido fue de 10.79% siendo el 89.21% de sequedad.

El contenido de extraíbles en etanol (ceras, grasas, resinas, aceites, clorofilas, gomas, restos de fluidos biológicos, etc.) determinados por la norma Tappi T 204 cm-07, que forman parte de la estructura lignocelulósica de los residuos vegetales de un 2.7 al 16.99% (María T. García et al. 2017; Pepijn Prinsen, 2010). De la planta tule se obtuvo un 11.33%, valor que resulta aceptable si

consideramos que se extrajo algún otro compuesto insoluble que sería necesario identificar.

En los residuos vegetales, el contenido de extraíbles en agua caliente oscila entre 7.3-17.5% (María T. García et al. 2017). En la planta tule, los extraíbles en agua caliente se obtuvieron en un 11.08%, valor aceptable, desde el punto de vista que la planta sería sometida a autohidrólisis, y que el agua caliente solubiliza componentes como sales o taninos que pudieran estar presentes, además de que provoca la despolimerización de los polisacáridos a azúcares.

La cantidad de lignina Klason presente en la planta tule es de 22.32% este un valor alto y aceptable, ya que es el segundo polímero natural más abundante del mundo vegetal, representando del 12.0-26.91% en los materiales lignocelulósicos (María T. García et al. 2017; Pepijn Prinsen 2010). Este resultado abre un panorama a la producción de productos químicos (polímeros o adhesivos) a la partir de la lignina de la planta del tule.

El contenido holocelulosa en los residuos vegetales representa del 60 al 76.6% (María T. García et al. 2017). En la planta tule se obtuvo un 77.68% de contenido de holocelulosa, del cual el 40.11% representa la fracción de α -celulosa (norma Tappi T 203 cm-09) siendo un valor aceptado para la producción de papel.

En los resultados obtenidos en el equipo HPLC, de los licores de autohidrólisis, Tabla 4, se confirmó la presencia de azúcares: glucosa, xilosa, arabinosa, galactosa y celobiosa. La cantidad total de azúcares extraídos fue 2.722 mg/mL con la reacción N°10 (malla #14, 160 °C y 60 min), en la cual la mayor concentración es de arabinosa (1.752 mg/mL). En el caso de la arabinosa la variable significativa fue la temperatura siendo 160 °C la óptima para la extracción de este azúcar.

El análisis de los datos obtenidos en el equipo HPLC, del comportamiento en las diferentes condiciones de autohidrólisis respecto a la Glucosa y Xilosa, Figura 1. El gráfico muestra mayor concentración de glucosa extraída en autohidrólisis (0.567 mg/mL) con la reacción N°9 (malla #14, 190 °C y 40 min), la disminución de tamaño de partícula y tiempos cortos (40 min) benefician la extracción de glucosa. La mayor concentración de xilosa fue de 0.533 mg/mL con la reacción N°8 (malla #14, 180 °C y 40 min), concluyendo que tiempos cortos de reacción (40 min) a altas temperaturas (180 °C y 190 °C) favorecen la extracción de este azúcar.

Respecto a la concentración de compuestos de degradación de tule *Typha Dominguensis*, Tabla 1, en fase sólida de autohidrólisis, se obtuvo en la reacción N° 6 (2.5 cm, 190 °C y 60 min) con 4.228 mg/mL, el equivalente a: 3.186 mg/mL es ácido acético, el 0.997 mg/mL es 5-HMF y 0.044 mg/mL es furfural. La segunda reacción con la concentración más alta fue la N°3, tamaño de partícula 2.5 cm (190 °C y 40 min) con 3.929 mg/mL equivalentes a: 2.984 mg/mL de ácido acético, 0.928 es 5-HMF y 0.016 mg/mL es furfural. Por lo tanto, el resultado en el proceso de autohidrólisis el



tamaño de partícula 2.5 cm a alta temperatura (190 °C) beneficia la formación y liberación de compuestos de degradación.

En el caso de los ART de la hidrólisis de la fase líquida, la reacción N°14 en autohidrólisis obtuvo un rendimiento del 4.41% y la misma reacción procesada con hidrólisis ácida incrementó el rendimiento a 13.08%. La reacción N°11 en autohidrólisis obtuvo un rendimiento de 4.60% y procesada con hidrólisis ácida incrementó el rendimiento a 11.37%.

Se cuantificaron los azúcares por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en los licores hidrolizados. Tabla 6. Los azúcares cuantificados fueron: arabinosa, celobiosa, glucosa, xilosa y galactosa. La reacción N°8 tiene la mayor cantidad total de azúcares con 6.917 mg/mL, en la cual se extrajo la mayor concentración de xilosa con 4.165 mg/mL y galactosa con 0.955 mg/mL. En la reacción N°4 se extrajo la mayor concentración de arabinosa y glucosa con 2.308 mg/mL y 0.802 mg/mL, respectivamente.

La mayor concentración de compuestos de degradación que se formó en la hidrólisis ácida de la fase líquida, procesado en HPLC, Tabla 7. Se obtuvo en la reacción N°12 con 7.033 mg/mL equivalente a: 6.134 mg/mL de ácido acético y 0.898 mg/mL de 5-HMF. La segunda reacción con la concentración más alta fue la N°11 con 6.386 mg/mL, equivalente a: 5.502 mg/mL de ácido acético, 0.838 de 5-HMF y 0.046 mg/mL de furfural.

4. Conclusiones.

Se concluye que la hidrólisis ácida de la fase líquida aumentó la concentración de los azúcares obtenidos en la autohidrólisis. Las condiciones para autohidrólisis son: tule como materia prima a un tamaño de malla #14, relación sólido-líquido (1:14), temperatura de 180 °C y un tiempo de reacción de 40 minutos. Tabla 1, y posteriormente hidrólisis ácida con H₂SO₄ concentrado al 4% en peso, en autoclave a 2 atm (121 °C) durante 20 minutos, siendo este proceso el óptimo para una mayor extracción de azúcares en hemicelulosa de la planta tule, donde la xilosa y arabinosa son los azúcares predominantes.

En hidrólisis ácida de la fase sólida con autohidrólisis, Tabla 8, la mayor concentración de glucosa fue 14.359 mg/mL, mientras que la materia de la fase sólida con hidrólisis ácida y sin autohidrólisis la concentración de glucosa fue 6.922 mg/mL. Por lo tanto, se concluye que el proceso de autohidrólisis como tratamiento previo a la materia favoreció la extracción de glucosa. Las condiciones óptimas para autohidrólisis de tule como materia prima a un tamaño de malla #40 fueron: relación sólido-líquido (1:14), temperatura de 180 °C y un tiempo de reacción de 40 minutos y posteriormente el sólido recuperado someterlo a hidrólisis ácida en reactor con H₂SO₄ al 1.2% a una relación sólido-líquido (1:10), temperatura de 170 °C y un tiempo de 20 minutos.

Los compuestos de degradación en la hidrólisis de la fase sólida con autohidrólisis, Tabla 10, la reacción N°1 obtuvo la mayor concentración con 14.973 mg/mL equivalente a: 7.509 mg/mL de ácido acético, 6.493 mg/mL de 5-HMF y 0.971 mg/mL de furfural. Mientras que en la hidrólisis ácida sin autohidrólisis, Tabla 11, la mayor concentración se obtuvo en la reacción con la materia a un tamaño de malla #40 con 12.3 mg/mL equivalente a: 7.546 mg/mL de ácido acético, 3.996 mg/mL de 5-HMF y 0.758 mg/mL de furfural. Se concluye que las mayores concentraciones de 5-HMF y furfural se obtuvieron en las reacciones de hidrólisis ácida de la materia con autohidrólisis.

En general la autohidrólisis como pretratamiento para la materia prima acompañado de la hidrólisis ácida, favoreció la conversión de polisacáridos a azúcares obteniendo mayores concentraciones y a su vez, no utiliza reactivos agregados, siendo así un proceso más amigable con el medio ambiente.

5. Referencias.

- [1] A.V. Dordio, M. Belo, D. Martins Teixeira, A.J. Palace Carvalho, C.M.B. Dias, Yolanda Picó, A.P. Pinto. (2011). Evaluation of carbamazepine uptake and metabolism by *Typha* spp., a plant with potential use in phytotreatment. *Biores. Technol.* (112): 7827- 7834.
- [2] Acevedo, R. G., Rodríguez, E. G., & Amezcua, N. E. P. (2023). Remoción de contaminantes del agua en humedales artificiales de flujo subsuperficial, utilizando *Typha domingensis*, tezontle y grava triturada y su relación con la conductividad hidráulica. *Ciencia Nicolaita*, (87).
- [3] Agustín Maceda, Marcos Soto-Hernández, Cecilia B. Peña-Valdivia, Carlos Trejo y Teresa Terrazas (2021). Lignina: composición, síntesis y evolución. *Madera y bosques*, 27(2).
- [4] Andrea Candelaria Foitzich Molina. Desarrollo y validación de una metodología para determinar azúcares simples en matrices orgánicas mediante HPLC- IR. Tesis de Licenciatura. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile 2013.
- [5] Andrés Camilo Iriarte Perdigón. Historia, desarrollo y últimos avances en cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Tesis para optar por el título de Tecnólogo en Química Industrial, Corporación Tecnológica De Bogotá, 2022.
- [6] Cinthia Alejandra Silva Hernández+Claudia Gutiérrez Antonio+Juan Fernando García Trejo+Ana Angélica Feregrino Pérez (2020). Revalorización de residuos agrícolas para la producción de pellets combustibles en el estado de Querétaro. *Digital Ciencia@ UAQRO*, 3(4), p 36-45.
- [7] Hernández, C. A. S., Antonio, C. G., Trejo, J. F. G., & Pérez, A. A. F. (2020). Revalorización de residuos agrícolas para la producción de pellets combustibles en el estado de Querétaro. *Digital Ciencia@ UAQRO*, 3(4), p 36-45.



- [8] Jacobo Salomon Abreu Sherrer. Aprovechamiento de bagazo de Agave tequilana Weber para la producción de bio-hidrógeno, Tesis grado de maestro en Ciencias Ambientales. Instituto Potocino de Investigación Científica y Tecnología, A. C. San Luis Potosí 2013.
- [9] Jessica Paola Pilco Rojas. Obtención de pectina a partir de la hoja de sábila (*Aloe Barbadensis* Miller) por el método de hidrólisis ácida. Tesis de Licenciatura, Escuela Superior Politécnica De Chimborazo Facultad De Ciencias, Ecuador. 2022.
- [10] Lisong Hu, Xuezhi Fang, Menghao Du, Fan Luo, Shaohai Guo
Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang, China. (2020). Hemicellulose-Based Polymers Processing and Application. *American Journal of Plant Sciences*, (11), p 2066-2079.
- [11] Malagón Micán, M. L., Paéz Morales, A. I., Lache Muñoz, A., Santos Aguilar, J., & Zabala García, D. A. (2017). Producción de bioetanol a partir de diferentes mezclas de los residuos orgánicos generados en una empresa alimentos.
- [12] María T. García, Ascension Alfaro, Juan C. García, Minerva A. M. Zamudio, Ana B. Morales And Francisco López. (2017). Obtainment Of Hemicellulose Derivatives and Cellulose Pulp from Wheat Straw Following Cold Alkaline Extraction. *Cellulose Chemistry And Technology*. (51). 465-475.
- [13] Martínez Leal Mónica E. Obtención de un glicopolímero a partir de glucosa de tule (*typha domingensis*). Tesis para obtener grado de maestría. Instituto tecnológico de ciudad madero, madero Tamaulipas. 2018.
- [14] Marwa Saleh. Tratamiento a Presión E Hidrólisis Del Hueso De Aceituna. Jaén. Tesis Doctoral Universidad De Jaén, España, 6 de marzo 2014.
- [15] María de las Mercedes Mufarрге. Tolerancia y eficiencia de *Typha domingensis* Pers. en la retención de metales y nutrientes de efluentes industriales. Tesis para obtener el grado de Doctor, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral. Argentina, 2012.
- [16] Niño López, L., Cárdenas, A. A., & Zambrano, R. G. (2013). Evaluación de pretratamientos químicos para la hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Revista Facultad de Ingeniería*, (69), p 317–326.
- [17] Pepijn Prinsen. Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas. The Fungal Population. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla. Sevilla 2010.
- [18] Vargas, R. R. A., & Vecchietti, A. R. (2015). Fermentables a Partir De *Eucalyptus Globulus*. Asociación Argentina de Ingenieros Químicos.
- [19] Vele Salto, A. M., Abril González, M. F., Zalamea Piedra, T. S., & Pinos Vélez, V. P. (2021). Mini revisión: aplicación de líquidos iónicos en hidrólisis ácida de material lignocelulósico para la obtención de azúcares. *Ciencia en Desarrollo*, 12(1), p 55-67.
- [20] Vergara Rodríguez, H. R., Aguilera Palacios, E. X., & Martínez Zambrano, J. J. (2020). Oxidación de 5-hidroximetilfurfural para la producción de ácido 5-(hidroximetil) furan-2-carboxílico usando catalizadores heterogéneos. *Investigación Joven*, 7.