



## BIOMASA DE *Urochloa humidicola* COMO MATERIA PRIMA PARA PRODUCIR BIOCOMBUSTIBLE

### BIOMASS OF *Urochloa humidicola* AS RAW MATERIAL TO PRODUCE BIOFUEL

Joel Ventura-Ríos<sup>1\*</sup>, Mario Alberto Santiago-Ortega<sup>2</sup>, María de los Ángeles Maldonado-Peralta<sup>3</sup>, Perpetuo Álvarez-Vázquez<sup>4</sup>, Ramiro Maldonado-Peralta<sup>5</sup>, Iliana Barrera-Martínez<sup>6</sup> y Claudia Yanet Wilson-García<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Departamento de Producción Animal, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. <sup>2</sup>Centro de Desarrollo Tecnológico "Tantakin", Tzucacab, Yucatán, México. <sup>3</sup>Universidad Autónoma de Guerrero, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No 2. Cuajinicuilapa, Guerrero, México. <sup>4</sup>UAAAN, Departamento de Recursos Naturales, Buenavista, Saltillo Coahuila, México. <sup>5</sup>Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico Superior de Guasave, Ejido Burriónquito, Guasave, Sinaloa, México. <sup>6</sup>CONACYT-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., Zapopan, Jalisco, México. <sup>7</sup>Universidad Autónoma Chapingo, Sede San Luis Acatlán, San Luis Acatlán, Guerrero, México.

\*Autor de correspondencia (joelventur@gmail.com)

#### RESUMEN

Debido al incremento mundial en la demanda de energía y la preocupación por el calentamiento global y emisiones de gases de efecto invernadero, el interés para producir biocombustibles ha tomado gran importancia. Las materias primas para producirlos es uno de los factores más relevantes. De estas, las fuentes lignocelulósicas y los cultivos energéticos son preferidos, ya que no se usan con fines de alimentación humana. En este trabajo se evaluó el potencial del pasto *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga (Sin. *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick.) como insumo para producir bioetanol. La producción de biomasa, composición química, poder calorífico y el rendimiento teórico de bioetanol se evaluaron a 30, 60, 90 y 120 d después del rebrote. Se realizó un análisis estadístico con el procedimiento GLM (SAS) y con la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) se compararon las medias de los tratamientos. La mayor producción de biomasa, poder calorífico, producción de energía, FDA y LDA ( $P \leq 0.05$ ) se detectó a los 120 d, con 19.5 Mg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, 17.1 MJ kg<sup>-1</sup>, 333.9 GJ ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, 43.6 % y 6.2 %, respectivamente. El mayor contenido de cenizas y PC ( $P \leq 0.05$ ) se obtuvieron en la frecuencia de corte de 30 y 60 d, con 11.7 y 6.9 %, respectivamente. La mayor producción de celulosa, hemicelulosas, FDN y producción de bioetanol ( $P \leq 0.05$ ) se alcanzó a los 90 d, con 38.3 %, 22.4 %, 65.6 % y 233.6 L Mg<sup>-1</sup> MS, respectivamente. De acuerdo con el rendimiento de biomasa y la composición química del pasto *Urochloa humidicola*, la biomasa de esta especie puede ser utilizada como fuente bioenergética en climas tropicales.

**Palabras clave:** *Urochloa*, bioetanol, biomasa, composición química, valor calorífico.

#### SUMMARY

Due to the worldwide increase in energy demand and concern about global warming and greenhouse gas emissions, the interest in producing biofuels has taken on great importance. The raw materials to produce them is one of the most relevant factors. Of these, lignocellulosic sources and energy crops are preferred as they are not used for human food purposes. In this work, the potential of *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga (Sin. *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick.) as an input to produce bioethanol was evaluated. Biomass production, chemical composition, calorific value and theoretical bioethanol yield were evaluated at 30, 60, 90 and 120 d after regrowth. A statistical analysis was carried out with the GLM procedure (SAS)

and with the Tukey test ( $P \leq 0.05$ ) the means of the treatments were compared. The highest biomass production, calorific value, energy production, ADF and LDA ( $P \leq 0.05$ ) was detected at 120 d, with 19.5 Mg ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>, 17.1 MJ kg<sup>-1</sup>, 333.9 GJ ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>, 43.6 % and 6.2 %, respectively. The highest ash and PC content ( $P \leq 0.05$ ) were obtained at the cutoff frequency of 30 and 60 d, with 11.7 and 6.9 %, respectively. The highest production of cellulose, hemicelluloses, NDF and bioethanol production ( $P \leq 0.05$ ) was reached at 90 d, with 38.3 %, 22.4 %, 65.6 % and 233.6 L Mg<sup>-1</sup> MS, respectively. According to the biomass yield and the chemical composition of the *Urochloa humidicola* grass, the biomass of this specie can be used as a bioenergetic source in tropical climates.

**Keywords:** *Urochloa*, bioethanol, biomass, calorific value, chemical composition.

#### INTRODUCCIÓN

En México, el rápido crecimiento industrial y comercial ha llevado a una creciente demanda de energía, donde el 88.5 % proviene de petróleo y gas natural y 7 % de energías renovables. De acuerdo con la Agencia Internacional de Energía, en el año 2016 se reportaron 13,760.81 millones de toneladas equivalentes de petróleo (MMtep), donde las mayores aportaciones son de China, Estados Unidos, Rusia, Arabia Saudita e India, mientras que México solo aportó el 1.3 % del total. En Norte América, del total de producción de biocombustibles Estados Unidos aportó 82 %, Canadá 11 % y México 7.3 % (IEA, 2020).

Por otro lado, las emisiones del gas efecto invernadero, el cambio climático y la incertidumbre en los precios del crudo, han despertado el interés por buscar otras alternativas de combustibles líquidos a partir de biomasa lignocelulósica. El bioetanol, en particular, tiene potencial para ser complemento y oxigenante de la gasolina, su uso reduce la emisión de CO<sub>2</sub>, una de las causas del calentamiento global (Rengsirikul *et al.*, 2013). Sin embargo,

es primordial que las materias primas para producir etanol sean de segunda generación (residuos agroindustriales y cultivos energéticos), dado que las de primera generación han generado escases e incremento en los precios de alimentos usados para dicho fin (Mohammed *et al.*, 2015).

Las gramíneas  $C_4$  contienen un alto porcentaje de celulosa (40 %), hemicelulosas (35 %) y lignina (30 %), por lo que pueden considerarse una materia prima viable para la producción de bioetanol de segunda generación. Sin embargo, su principal limitante es el contenido de lignina, la cual limita la disponibilidad de la celulosa y hemicelulosas. Estos polisacáridos deben ser hidrolizados a azúcares fermentables, de tal manera que los microorganismos puedan utilizarlos de una manera eficiente para producir bioetanol (Mateus *et al.*, 2012; Cardona *et al.*, 2013).

En México, en la última década se han introducido y liberado nuevos híbridos del género *Urochloa*, previamente *Brachiaria* (Cook y Schultze – Kraft, 2015), normalmente utilizado para la alimentación animal. Debido a los altos rendimientos de biomasa (28 t MS  $ha^{-1}$ ; Santiago *et al.*, 2016) y composición química (42 % de celulosa y 29 % de hemicelulosas) puede ser considerado como una fuente para la obtención de bioetanol de segunda generación. En México, los estudios sobre el uso de los pastos a diferentes frecuencias de corte (FC) en la producción de biocombustibles son limitados. Por lo anterior, este trabajo evaluó el rendimiento de biomasa y se caracterizó químicamente el pasto *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga (Sin. *Brachiaria humidicola* Rendle Schweick.), además se calculó el rendimiento teórico de bioetanol del pasto cosechado a diferentes FC.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el sitio experimental “Papaloapan” de INIFAP, a 18° 06' LN y 95° 31' LO y 65 msnm, en Cd. Isla, Veracruz. El clima predominante es  $A_{wo}$ , con una temperatura media de 25.7 °C (García, 2004). El suelo es franco – arenoso con pH de 4 a 4.7 y los elementos presentes en bajas concentraciones en la materia orgánica son: N, Ca, K y niveles intermedios de P y Mg (Enríquez y Romero, 1999). El rendimiento de biomasa, materia seca (MS), N, fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), celulosa, hemicelulosas, lignina digestible en ácido (LDA), extracto etéreo, cenizas, poder calorífico y humedad fueron evaluados y se estimó el rendimiento teórico de bioetanol.

### Establecimiento de parcelas

El pasto se sembró el 22 de julio de 2011, en parcelas experimentales de 5 m de ancho por 16 m de longitud, en

surcos con separación de 0.50 m y tres repeticiones. Se fertilizó a los 43 y 112 días después de la siembra (fórmula 120-80-00  $kg\ ha^{-1}$  de N y  $P_2O_5$ ).

### Rendimiento de biomasa (MS $ha^{-1}$ )

La acumulación de biomasa se determinó por un año en cada unidad de superficie a los 30, 60, 90 y 120 días después del corte de homogeneización en muestreos destructivos. Un marco cuadrado de metal de 1  $m^2$  fue lanzado al azar cinco veces, cortando la planta entera, dejando un remanente de 20 cm para la posterior recuperación de la planta. La biomasa cosechada se pesó en una balanza Ohaus de precisión y previamente calibrada con capacidad de 6.2  $kg \pm 0.1\ g$  (GT-4000®, TEquipment, NJ, EE.UU.). La submuestra se pesó y se secó a 55 °C durante 72 h en una estufa de convección forzada (FE-243<sup>a</sup>, Felisa, México, Méx.); posteriormente se calculó la MS.

### Preparación de las muestras

Las muestras secas se trituraron en un molino Wiley® con malla de 1 mm (Arthur H. Tomas, Philadelphia, PA, EE.UU.) y se tamizaron con mallas 40 (0.42 - 1.00 mm) y 60 (0.25 - 0.42 mm). Estas fueron utilizadas para las determinaciones químicas y el poder calorífico.

### Análisis químico

Las muestras incineradas (2 h a 600 °C) se usaron para obtener el contenido de materia orgánica y cenizas, de acuerdo con la norma ASTM D 1102-84 (ASTM, 2012). Con el método Kjeldahl (N x 6.25) se determinó la concentración de proteína cruda (PC) y con el extractor Soxhlet se obtuvo el extracto etéreo (AOAC, 1990). Para obtener las concentraciones de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) (Van Soest *et al.*, 1991) y de lignina detergente ácido (LDA) (Goering y Van Soest, 1970) se utilizó un analizador de fibras ANKOM<sup>2000</sup> (Ankom Technology, Fairport, NY, EE.UU.), con bolsas filtro Ankom® F57 con un tamaño de poro de 30  $\mu m$ . La FDN se determinó con  $\alpha$ -amilasa y sulfito de sodio para remover el almidón y el nitrógeno, respectivamente. La celulosa (CL) y hemicelulosas (HC) fueron calculadas mediante la siguiente fórmula: CL = FDA – LDA, mientras que HC = FDN – FDA, respectivamente.

### Poder calorífico

El poder calorífico se determinó en un calorímetro de bomba adiabática (Isoperibol, Parr 1266, Parr Instrument Company, IL, EE. UU.) de acuerdo con la norma ASTM (E711) y a las instrucciones de operación del calorímetro (Parr, 1999) a  $30 \pm 0.5\ ^\circ C$ , con pastillas comprimidas de

1 g máximo. Paralelamente, el contenido de humedad se determinó en una termobalanza Ohaus (MB45®, TEquipment, NJ, EE.UU.) previamente calibrada. Se realizaron cinco determinaciones por muestra con 15 repeticiones por FC.

### Rendimiento teórico de bioetanol

El rendimiento teórico de bioetanol (RTE) se determinó de acuerdo con las fórmulas basadas en las ecuaciones químicas y estequiometría de reacción de celulosa y hemicelulosas para producir etanol (Badger, 2002; Dien, 2010).

Celulosa

$$RTE_C = C * C_{g/c} * Ecc * Ret * Efg * D_{et}$$

Hemicelulosas

$$RTE_H = H * H_{x/h} * Ech * Ret * Efx * D_{et}$$

Total

$$RTE = RTE_C + RTE_H$$

donde: RTE: L Mg<sup>-1</sup> MS, C: kg celulosa Mg<sup>-1</sup> biomasa, H: kg hemicelulosas Mg<sup>-1</sup> biomasa, C<sub>g/c</sub>: concentración de glucosa (1.111 kg glucosa kg<sup>-1</sup> celulosa), H<sub>x/h</sub>: concentración de xilosa (1.136 kg xilosa kg<sup>-1</sup> hemicelulosas), Ecc: eficiencia de conversión de la celulosa (0.76), Ech: eficiencia de conversión de las hemicelulosas (0.90), Ret: rendimiento estequiométrico de etanol (0.511 kg etanol/kg glucosa, 0.511 kg etanol kg<sup>-1</sup> xilosa), Efg: eficiencia de fermentación glucosa (0.75), Efx: eficiencia de fermentación xilosa (0.50), D<sub>et</sub>: densidad de etanol (0.78 Mg m<sup>-3</sup>).

El rendimiento teórico anual de bioetanol (L) que produce 1 ha de pasto humidícola se calculó para cada FC, multiplicando el rendimiento teórico de bioetanol por el rendimiento anual de biomasa.

### Análisis estadístico

Los datos se analizaron como un diseño completamente al azar, donde se consideró la frecuencia de corte del pasto humidícola como tratamientos (30, 60, 90 y 120 d) con tres repeticiones por cada tratamiento. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para identificar el efecto de la frecuencia de corte sobre las variables respuesta, mediante el uso del procedimiento GLM/SAS y las medias de tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), utilizando SAS para Windows versión 9.3 (SAS, 2011).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Rendimiento de biomasa

El rendimiento de biomasa se incrementó linealmente a medida que la planta avanzó en su madurez fisiológica. La mayor producción de biomasa se encontró en la FC de corte de 120 d (19.5 Mg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>), significativamente diferente ( $P \leq 0.05$ ) de todas las FC (Cuadro 1). La FC de 120 d presentó un rendimiento de biomasa mayor en 55, 32 y 5 % a las FC 30, 60 y 90 días, respectivamente. En otros trabajos que evalúan el comportamiento del género *Urochloa*, Santiago *et al.* (2016) reportaron rendimientos de 11.1 y 20.7 Mg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> cuando el pasto fue cortado a 30 y 120 d, respectivamente. Estos resultados son similares a lo obtenido en el presente experimento, sin embargo, Rojas *et al.* (2018) reportaron rendimientos de 2.5 Mg ha<sup>-1</sup> a los 56 d de rebrote en el pasto Cobra (*Brachiaria* híbrido BR02/1794). El rendimiento de biomasa fue variable en cada FC, debido a las condiciones de crecimiento y de factores asociados con la fisiología de la planta, siendo la humedad y fertilidad en el suelo los que mayor influencia tienen sobre el rendimiento de biomasa a través del año (Rengsirikul *et al.*, 2013).

### Poder calorífico y contenido de humedad

El menor contenido de poder calorífico se encontró en la FC de 30 d (16.6 MJ kg<sup>-1</sup>), lo que fue significativamente diferente ( $P \leq 0.05$ ) a las demás FC; las FC de 60 d (16.9 MJ kg<sup>-1</sup>), 90 d (17.1 MJ kg<sup>-1</sup>) y 120 d (17.1 MJ kg<sup>-1</sup>) fueron similares ( $P \leq 0.05$ , Cuadro 1). La producción de energía por hectárea está en función del rendimiento de materia seca. La mayor producción se encontró en la FC 120 d (333.9 GJ ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>,  $P \leq 0.05$ ) (Cuadro 1). El poder calorífico de la FC de 120 d fue mayor en 58, 32.5 y 4.5 % a la FC de 30, 60 y 90 d, respectivamente. El poder calorífico en el presente experimento se encontró en un rango de 16.6 a 17.1 MJ kg<sup>-1</sup>, siendo la FC de 90 y 120 d las que mayor concentración de energía mostraron. Los valores obtenidos en este experimento son similares a lo reportado por Chun (2011), quien reportó 16.4, 17.1 y 17.9 MJ kg<sup>-1</sup> en cáscara de arroz, residuos de caña de azúcar y paja de trigo, respectivamente. Por otro lado, Ram y Salam (2012) reportaron en paja de arroz 15.0 MJ kg<sup>-1</sup> y 13.7 MJ kg<sup>-1</sup> en bagazo de sorgo dulce. Por otro lado, en maderas latifoliadas, Khider y Elsaki (2012) reportaron 17.3, 19.1 y 19.3 MJ kg<sup>-1</sup> para *Moringa oleífera*, *Acacia mellifera* y *Acacia senegal*, respectivamente, mientras que Ram y Salam (2012) reportaron concentraciones de 19.3, 20.0 y 21.7 MJ kg<sup>-1</sup> para maderas de álamo (*Populus alba* L.), eucalipto (*Eucalyptus* spp.) y pino (*Pinus* spp.), respectivamente. El

**Cuadro 1. Rendimiento de biomasa y producción de energía del pasto *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga en cuatro frecuencias de cosecha.**

Frecuencia de corte (días)	Rendimiento (Mg ha <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup> )	Poder calorífico (MJ kg <sup>-1</sup> )	Producción de energía (GJ ha <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup> )	Humedad (%)
30	12.6d	16.6b	211.1d	7.5d
60	14.8c	16.9ab	252.0c	9.2a
90	18.6b	17.1a	319.4b	7.9c
120	19.5a	17.1a	333.9a	8.3b
Media	16.3	16.9	279.4	8.2
EE	1.61	0.11	28.8	0.36

EE: error estándar. Medias con la misma letra en cada columna no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

mayor contenido de humedad se presentó en la FC de 60 d (9.2 %) el cual fue diferente ( $P \leq 0.05$ ) a las demás FC (Cuadro 1).

**Proteína cruda**

El valor más alto de contenido de proteína cruda se presentó en la FC de 60 d (6.9 %), que representa una diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con referencia a las demás FC (Cuadro 2). La FC de 60 d superó en 1.7, 0.6 y en 0.5 % a la FC de 120, 90 y 30 d, respectivamente. En otros estudios realizados en zonas tropicales, sin adición de fertilizantes, Rojas *et al.* (2018) reportaron los siguientes resultados en el cultivar Cobra (*Brachiaria* híbrido BR02/1794) a diferentes edades de corte 35 d (11.7 %), 49 d (7.7 %) y 63 d (5.6 %). El contenido de N disminuyó a medida que la planta avanzó en su crecimiento, se redujo en 34 % al pasar de 35 a 49 d y en 52 % al pasar de 35 a 63 d, resultados que siguen la misma tendencia a lo encontrado en el presente experimento. Los macronutrientes (N y K<sup>+</sup>) están íntimamente involucrados en el metabolismo y crecimiento de las plantas. En estos procesos dichos nutrientes participan de manera conjunta en diferentes procesos bioquímicos y fisiológicos en las gramíneas (Carvalho *et al.*, 2014).

**Fibra detergente neutro (FDN)**

La mayor concentración de FDN se encontró en la FC de 90 d (65.6 %), valor que es estadísticamente diferente ( $P \leq 0.05$ ) a las demás FC (Cuadro 2). La FC de 90 d superó en 3.1, 2.4 y 1.2 % a las FC de 30, 60 y 120 días, respectivamente. Alves *et al.* (2014) reportaron 63.7 % y 66.4 % de FDN para el pasto *Brachiaria brizantha* cv. Piata y Xaraes, respectivamente, bajo la adición de fertilizantes. Sin embargo, Rojas *et al.* (2018) reportaron en pasto Cobra (*Brachiaria* híbrido BR02/1794) promedios de 63.5 y 73.6 % de FDN a 35 y 63 d de rebrote, respectivamente, sin adición de fertilizantes. La composición química de los pastos cambia drásticamente cuando la planta avanza

en su madurez fisiológica y está altamente relacionada con la adición de fertilizantes, precipitación y radiación solar. El uso de las fibras de las gramíneas tiene un papel importante en la industria de la pulpa y papel (Madakadze *et al.*, 2010).

**Fibra detergente ácido (FDA)**

El mayor contenido de FDA se encontró en la FC de 120 d (43.6 %), diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) a las demás FC (Cuadro 2). La FC de 120 d superó en 4.0, 3.3 y 1 % a la FC de 60, 30 y 90 d, respectivamente. Estudios realizados en Etiopía y Brasil han reportado concentraciones similares de FDA al presente experimento. Alves *et al.* (2014) reportan concentraciones de 39.3 a 43.0 % de FDA en pasto Marandu y 36.3 a 45 % en pasto *Brachiaria decumbens*, cortados a diferentes edades. Por otro lado, Adnew *et al.* (2018) reportaron promedios de 43.4 % de FDA a diferentes FC en *Brachiaria brizantha* ecotipo Eth.13809. Los contenidos de FDA suelen modificarse por efecto de edad en la planta, especie y zona geográfica de producción. Al respecto, Adnew *et al.* (2018) argumentan que la altitud tiene efecto significativo sobre el contenido de FDA, PC y rendimiento de biomasa.

**Lignina Digestible en Ácido (LDA)**

El mayor contenido de LDA se encontró en la FC de 120 d (6.2 %), diferencia estadísticamente significativa a las demás FC (Cuadro 2). Con respecto al resto de las FC 30, 60 y 90 d, el valor de LDA de 120 d resultó mayor en 1.9, 8.0 y 1.4 %, respectivamente. El contenido de lignina aumenta a medida que avanza la edad en los pastos. El contenido es variable entre especies ya que la secuencia y subunidades de este compuesto varían entre grupo de plantas, los enlaces que no se repiten con frecuencia y tienen una estructura tridimensional particular. La LDA representa del 20 a 35 % en madereras y del 10 al 25 % en especies no-madereras (Bomati y Noel, 2005). El promedio

obtenido en este experimento es similar a otros estudios. Por ejemplo, Wongwatanapaiboon *et al.* (2012) reportaron 4.5 % y 3.1 % en pasto ruzi (*Brachiaria ruziziensis*) y King Grass (*Pennisetum purpureum*), respectivamente. Por otro lado, Burkhardt *et al.* (2013) argumentan que el contenido de lignina puede modificarse debido a la técnica empleada al momento de evaluar este compuesto. Limayen y Ricke (2012) reportan que las maderas de coníferas alcanzan hasta un 60 % de lignina, seguido de las maderas latifoliadas con 25 %, mientras que los residuos agrícolas pueden tener hasta un 15 %. Es necesario destacar que la lignina es un compuesto no útil para la obtención de etanol de segunda generación. Sin embargo, se puede recuperar para la elaboración de subproductos de alto valor agregado.

### Extracto etéreo

En el contenido de extracto etéreo, las FC de 30 y 60 d fueron similares ( $P \leq 0.05$ ) con un valor de 1.8 %. Sin embargo, fueron diferentes de acuerdo con el análisis estadístico ( $P \leq 0.05$ ) a las FC de 90 y 120 d, quienes mostraron un contenido de 1.3 % (Cuadro 2). El contenido de extracto etéreo, que en promedio fue de 1.5 %, es un valor similar al reportado en otros pastos. Por ejemplo, Ventura *et al.* (2019) reportaron 1.3 % en pasto Maralfalfa (*Cenchrus purpureus* Schumach.) Morrone a diferentes FC. El contenido de extractos y otros tipos de sustancias liposolubles presentes en los pastos pueden alterar los resultados de la muestra seca e interfieren en análisis químicos posteriores, por lo que es importante cuantificarlos y retirarlos de la biomasa. Con fines bioenergéticos, los extractos y compuestos lipídicos no son deseables, ya que alteran los procesos de poder calorífico, combustión y rendimientos netos

en la obtención del carbón.

### Cenizas

El mayor contenido de cenizas se encontró en la FC de 30 d (11.7 %), diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) a las demás FC (Cuadro 2). La FC de 30 d fue mayor en 4.0, 3.6 y 3.5 % a la FC de 120, 90 y 60 d, respectivamente. El contenido de cenizas en los pastos en etapas tempranas es alto, disminuyendo a medida que avanza la madurez fisiológica de la planta. En otros trabajos conducidos en zona tropical se han reportado los siguientes valores: 7.0 % en pasto Toledo, 9.4 % en Maralfalfa, 10.6 % en Taiwán, 10.7 % en CT115 y 12.8 % en Roxo (Santiago *et al.*, 2016; Ventura *et al.*, 2017 y Rueda *et al.*, 2016). El contenido de cenizas es variable para cada especie y en plantas herbáceas (14.6 %) y residuos agrícolas (13.7 %) el contenido de cenizas tiende a ser mayor (Somerville *et al.*, 2010). Es necesario recalcar que las cenizas no tienen ningún valor energético y, que al contrario, limitan el poder calorífico y procesos de combustión (Ram y Salam, 2012).

### Celulosa

El mayor contenido de celulosa se encontró en la FC de 90 d (38.3 %), diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) a las demás FC (Cuadro 3). El rendimiento de celulosa por hectárea está relacionado con el rendimiento de biomasa. De acuerdo con lo calculado, el mayor rendimiento se encontró en la FC de 120 d (7.3 Mg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>), el cual fue diferente ( $P \leq 0.05$ ) a las demás FC (Cuadro 3). La FC de 120 d produjo 55, 33 y 3 % más celulosa que la FC de 30, 60 y 90 d, respectivamente.

**Cuadro 2. Composición química del pasto *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga en cuatro frecuencias de cosecha.**

Frecuencia de corte (días)	Componente (%)					
	PC	FDN	FDA	LDA	Extracto Etéreo	Cenizas
30	6.4b	62.5d	42.2c	4.3d	1.8a	11.7a
60	6.9a	63.2c	42.0d	4.4c	1.8a	8.2b
90	6.3c	65.6a	43.2b	4.8b	1.3b	8.1c
120	5.2d	64.6b	43.6a	6.2a	1.3b	7.7d
Media	6.2	64.0	42.7	4.9	1.5	8.9
EE	0.35	0.69	0.38	0.43	0.14	0.93

PC: proteína cruda, FDN: fibra detergente neutro, FDA: fibra detergente ácida, LDA: lignina digestible en ácido. EE: error estándar. Medias con la misma letra en cada columna no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).



El contenido de celulosa en los pastos, según Ventura *et al.* (2019) y Wongwatanapaiboon *et al.* (2012), puede variar desde 32 a 46 %, en maderas de 40 a 47 % y en residuos agrícolas de 37 a 50 % (Limayen y Ricke, 2012). La concentración de celulosa está relacionada con la época de corte, etapa fisiológica y especie (Zhao *et al.*, 2009). El promedio obtenido en este experimento es muy similar a otros resultados. Carroll y Somerville (2009) reportaron 37.6 % en rastrojo de maíz, mientras que Mohammed *et al.* (2015) reportaron 36.3 % en pasto Elefante (*Pennisetum purpureum*). Otros estudios reportaron concentraciones menores de celulosa. Wongwatanapaiboon *et al.* (2012) reportaron 32.1 y 34.5 % en pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) y pasto Ruzi (*Brachiaria ruziziensis*), respectivamente. La cristalinidad de la celulosa se debe a la presencia de puentes de hidrógeno inter e intramoleculares, influyendo en la morfología, rigidez, orientación, resistencia y reactividad. Las regiones cristalinas son difíciles de hidrolizar, mientras que las amorfas (menor cristalinidad) son accesibles y susceptibles a las reacciones químicas y a la degradación enzimática (Jacobsen y Wyman, 2000).

Hemicelulosas

El mayor contenido de hemicelulosas se encontró en la FC de 90 d (22.4 %), lo que representa una diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) a las demás FC (Cuadro 3), por lo que el mayor rendimiento de hemicelulosas por hectárea fue de 4.1 Mg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> con el corte a 90 d. La FC de 90 d produjo 64, 32 y solo 2.5 % más hemicelulosas que la FC de 30, 60 y 90 d, respectivamente. Las hemicelulosas constituyen del 17 al 35 % de la biomasa en gramíneas y están formadas básicamente por D-xilosa, L-arabinosa, D-manosa, D-glucosa, D-galactosa y ácido D-glucoronico.

Las hemicelulosas se clasifican de acuerdo con su cadena principal en xilanos, arabinanos, galactanos y mananos (Scheller y Ulvskov, 2010). El contenido de hemicelulosas varía entre especies y zonas climáticas. Los residuos agrícolas pueden alcanzar hasta 50 % de este compuesto, seguidos de las maderas latifoliadas (40 %) y maderas de coníferas (29 %) (Limayen y Ricke, 2012). En otras evaluaciones con gramíneas se han reportado concentraciones menores al promedio obtenido en este experimento. Por ejemplo, Ventura *et al.* (2019) reportan 17 %, mientras que Mohammed *et al.* (2015) y van Der Weijde *et al.* (2013) reportan 22.1 % y 28 %, respectivamente.

Rendimiento teórico a bioetanol

El mayor rendimiento de etanol celulósico por megagramo de MS se encontró en la FC de 90 d (233.6 L Mg<sup>-1</sup> MS), diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) a las demás FC (Cuadro 4). La FC de 90 d produjo 9.4, 8.7 y 7.3 L Mg<sup>-1</sup> MS más que los cortes a 30, 120 y 60 d, respectivamente. La máxima producción de etanol celulósico por hectárea se alcanzó en la FC de 120 d (4392.3 L ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>), valor estadísticamente diferente ( $P \leq 0.05$ ) a las demás FC (Cuadro 4). Los resultados obtenidos en este trabajo son similares a otras investigaciones conducidas con cultivos y desechos bioenergéticos. Por ejemplo, Chakraborty y Gaikwad (2012) reportaron 250 L Mg<sup>-1</sup> MS en cebada (*Hordeum vulgare*), Santiago *et al.* (2016) reportaron 272 L Mg<sup>-1</sup> MS en *Urochloa brizanta* cv. Toledo y Lima *et al.* (2014) reportaron 311 L Mg<sup>-1</sup> MS en *Brachiaria brizanta*; por otro lado, Piccolo y Bezo (2009) reportaron 284 L Mg<sup>-1</sup> MS en maderas latifoliadas. Las estimaciones en este estudio sobre la producción de etanol (2840 a 4392 L ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>) son similares a lo publicado por Wongwatanapaiboon *et al.*

Cuadro 3. Celulosa y hemicelulosas del pasto *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga en cuatro frecuencias de cosecha.

Frecuencia de corte (días)	Componente			
	Celulosa		Hemicelulosas	
	(%)	(Mg ha <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup> )	(%)	(Mg ha <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup> )
30	37.8b	4.7d	20.2d	2.5d
60	37.5c	5.5c	21.2b	3.1c
90	38.3a	7.1b	22.4a	4.1a
120	37.4d	7.3a	20.9c	4.0b
Media	37.8	6.2	21.2	3.4
EE	0.20	0.62	0.45	0.38

EE: error estándar. Medias con la misma letra en cada columna no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

**Cuadro 4. Rendimiento teórico de bioetanol del pasto *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga en cuatro frecuencias de cosecha.**

Frecuencia de corte (días)	Producción de bioetanol	
	(L Mg <sup>-1</sup> MS)	(L ha <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup> )
30	224.2d	2839.9d
60	226.3b	3365.3c
90	233.6a	4352.3b
120	224.9c	4392.3a
Media	227.2	3737.5
EE	2.16	382.0

EE: error estándar. Medias con la misma letra en cada columna no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

(2012), quienes reportaron 2621 y 4272 L ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> en el pasto Napier (*Pennisetum purpureum*) y Ruzy (*Brachiaria ruziizensis*), respectivamente. En otros estudios con materiales de primera generación se han reportado 3800 L ha<sup>-1</sup> en maíz (Somerville *et al.*, 2010), 2967 a 13,032 L ha<sup>-1</sup> en sorgo (Zhao *et al.*, 2009) y 3000 a 5000 L ha<sup>-1</sup> en caña de azúcar (Almodares y Hadi, 2009).

De acuerdo con al balance estequiométrico de la reacción general para la producción de etanol, el rendimiento máximo teórico es de 0.51 kg y 0.49 kg de dióxido de carbono por kg de glucosa o xilosa (Balat *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2009). La eficiencia de hidrólisis de la celulosa y las hemicelulosas a azúcares fermentables y de conversión de glucosa y xilosa a etanol es de 76 y 90 % y 75 y 50 %, respectivamente (Badger, 2002). La diferencia en el rendimiento teórico de bioetanol se debe principalmente al contenido de azúcares en la biomasa en el momento del corte y determinan el rendimiento teórico de bioetanol (Zhao *et al.*, 2009). Además, el pretratamiento, la hidrólisis y fermentación son procesos ligados al rendimiento de bioetanol.

### CONCLUSIONES

Las condiciones climáticas y el manejo agronómico desarrollado en este estudio permitieron un buen rendimiento de biomasa aérea del pasto *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga, el cual aumentó con el intervalo entre cortes. El contenido de lignina, celulosa y hemicelulosas en la planta se modifican con los días a la cosecha. Los máximos rendimientos de biomasa y producción de bioetanol se alcanzan en la FC de 120 días. Los resultados obtenidos indican que el pasto *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga es una opción viable para la producción de bioetanol en zonas tropicales.

### BIBLIOGRAFÍA

- Adnew W. W., T. B. Abraha, W. A. Tassew and B. A. Limeneh (2018) Evaluation of morphological characteristics, yield and nutritive value of *Brachiaria* grass ecotypes in northwestern Ethiopia. *Agriculture and Food Security* 7:1-10, <https://doi.org/10.1186/s40066-018-0239-4>
- Agencia Internacional de Energía (2020) IEA World Energy Balances 2019, <https://www.iea.org/regions/north-america>. (Marzo, 2020).
- Almodares A. and M. R. Hadi (2009) Production of bioethanol from sweet sorghum: A review. *African Journal of Agricultural Research* 4: 772-780.
- Alves M. G., A. de Phino C. K., S. E. da Costa, E. P. Soares, N. J. Flavio, R. M. Goncalves, ... and G. W. Gomes (2014) Yield and chemical composition of *Brachiaria* forage grasses in the offseason after corn harvest. *American Journal of Plant Sciences* 5: 933-941, <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.57106>
- ASTM, American Society for Testing and Materials (2012) Annual Book of ASTM Standards. Vol. 11.06. Biological effects and environmental fate; biotechnology. ASTM International, West Cornshohocken, PA, USA. 1461 p.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists (1990) Protein (Crude) Determination in Animal Feed. Official Methods of Analysis. 15th ed. Helrich, K. (ed). AOAC. Arlington, VA, U.S.A. pp:72-74.
- Badger P. C. (2002) Ethanol from cellulose: a general review. *Trends in new crops and new uses* 1:17-21.
- Balat M., H. Bala and C. Öz (2008) Progress in bioethanol processing. *Progress in energy and combustion science* 34: 551-573, <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2007.11.001>
- Bomati E. K. and J. P. Noel (2005) Structural and kinetic basis for substrate selectivity in *Populus tremuloides* sinapyl alcohol dehydrogenase. *Plant Cell* 17:1598-1611, <https://doi.org/10.1105/tpc.104.029983>
- Burkhardt S., L. Kumar, R. Chandra and J. Saddler (2013) How effective are traditional methods of compositional analysis in providing an accurate material balance for a range of softwood derived residues? *Biotechnology for Biofuels* 6:1-10, <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-90>
- Cardona M. E., A. J. Ríos, D. J. Peña and A. L. Ríos (2013) Pretratamiento alcalino de pasto Elefante (*Pennisetum sp*) y King grass (*Pennisetum hybridum*) cultivados en Colombia para la producción de bioetanol. *Información Tecnológica* 24:69-80, <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642013000500009>
- Carroll A. and C. Somerville (2009) Cellulosic biofuels. *Annual Review of Plant Biology* 60: 165-182, <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.043008.092125>
- Carvalho L. G. T., E. Pires, R. Saravia, L. Vargas, J. S. Bomfim, A. C. Ballesteros, ... and A. S. Hemerly (2014) Nitrogen fixation in

- grasses – gluconacetobacter activates genes in sugarcane. *BMC Proceedings* 8:1-3.
- Chakraborty S. and A. Gaikwad (2012) Production of cellulosic fuels. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section A: Physical Sciences* 82:59-69, <https://doi.org/10.1007/s40010-012-0007-y>
- Chun Y. Y. (2011) Prediction of higher heating values of biomass from proximate and ultimate analyses. *Fuel* 90:1128-1132, <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.11.031>
- Cook B. G. and R. Schultze-Kraft (2015) Botanical name changes—nuisance or a quest for precision?. *Tropical Grasslands-Forrajeros Tropicales* 3:34-40, [https://doi.org/10.17138/TGFT \(3\)34-40](https://doi.org/10.17138/TGFT (3)34-40)
- Dien B. S. (2010) Mass balances and analytical methods for biomass pre-treatment experiments. In: Biomass to biofuels: strategies for global industries. A. A. Vertès, N. Qureshi, H. Blaschek and H. Yukawa (eds). Wiley, Chichester, United Kingdom. pp. 213-231.
- Enríquez Q. J. F. and M. J. Romero (1999) Tasa de crecimiento estacional a diferentes edades de rebrote de 16 ecotipos de *Brachiaria* spp. en Isla, Veracruz. *Agrociencia* 33: 141-148.
- García E. (2004) Modificación al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 4ª. Edición. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 217 p.
- Goering H. K. and P. J. Van Soest (1970) Forage fiber analyses: apparatus, reagents, procedures, and some applications (No. 379). Agricultural Research Service, US Department of Agriculture.
- Jacobsen S. and C. Wyman (2000) Cellulose and hemicellulose hydrolysis models for application to current and novel pretreatment processes. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 84: 81-96, <https://doi.org/10.1385/ABAB:84-86:1-9:81>
- Khider T. O. and O. Elsaki (2012) Heat value of four hardwood species from Sudan. *Journal of forest products & industries* 1: 5-9.
- Lima M. A., L. D. Gomez, C. G. Steele-King, R. Simister, O. D. Bernardinelli, M. A. Carvalho, ... and I. Polikarpov (2014) Evaluating the composition and processing potential of novel sources of Brazilian biomass for sustainable biorenewables production. *Biotechnology for biofuels* 7:1-19, <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-10>
- Limayen A. and S. C. Ricke (2012) Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. *Prog. Energy Comb. Sci.* 38: 449-467, <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2012.03.002>
- Madakadze I. C., T. M. Masamvu, T. Radiotis, J. Li and D. L. Smith (2010) Evaluation of pulp and paper making characteristics of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum) and switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *African Journal of Environmental Science and Technology* 4: 465-470.
- Mateus L., O. Hernández, M. Velázquez and J. J. Díaz (2012) Dilute sulfuric acid pretreatment of goliath grass (*Pennisetum glaucum* x *Pennisetum purpureum*) for ethanol cellulosic. *Revista Colombiana de Biotecnología* 14: 146-156.
- Mohammed Y. I., A. Y. Abakr, K. F. Kazi, S. Yusup, I. Alshareef and A. S. Chin (2015) Comprehensive characterization of napier grass as a feedstock for thermochemical conversion. *Energies* 8: 3403-3417, <https://doi.org/10.3390/en8053403>
- Parr (1999) 1266 Isoperibol Bomb Calorimeter. Operating Instruction Manual. Technical Note No. 367M. Parr Instrument Company. Moline, IL, USA. p.1.
- Piccolo C. and F. Bezzo (2009) A techno-economic comparison between two technologies for bioethanol production from lignocellulose. *Biomass and Bioenergy* 33:478-491, <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2008.08.008>
- Ram N. D. and P. A. Salam (2012) Estimation of higher heating value of biomass from proximate analysis: A new approach. *Fuel* 99: 55-63, <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.04.015>
- Rojas G. A. R., S. N. Torres, P. M. Maldonado, S. P. Sanchez, B. A. Garcia, Mendoza, ...and G. A. Hernández (2018) Curva de crecimiento y calidad del pasto Cobra (*Brachiaria* híbrido br02/1794) a dos intensidades de corte. *Agroproductividad* 11: 34-38.
- Rengsirikul K., Y. Ishii, K. Kangvansaichol, S. Prapa, V. Punsuvon, Vaithanomsat, ... and T. Sayan (2013) Biomass yield, chemical composition and potential ethanol yields of 8 cultivars of napiergrass (*Pennisetum purpureum* Schumach.) harvested 3-monthly in central Thailand. *Journal of Sustainable Bioenergy Systems* 3:107-112, <https://doi.org/10.4236/jsbs.2013.32015>
- Rueda J. A., E. Ortega-Jiménez, A. Hernández-Garay, J. F. Enríquez-Quiroz, J. D. Guerrero-Rodríguez and A. R. Quero-Carrillo (2016) Growth, yield, fiber content and lodging resistance in eight varieties of *Cenchrus purpureus* (Schumach.) Morrone intended as energy crop. *Biomass and Bioenergy* 88:59-65, <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.03.007>
- SAS Institute (2011) SAS/STAT User's Guide. Release 9.3. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Santiago O. M. A., S. J. A. Honorato, C. A. R. Quero, G. A. Hernández, C. C. López and G. I. López (2016) Biomasa de *Urochloa brizantha* cv. Toledo como materia prima para la producción de bioetanol. *Agrociencia* 50: 711-726.
- Scheller H. V. and P. Ulvskov (2010) Hemicelluloses. *Annual Review Plant Biology* 61: 263-289, <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112315>
- Somerville C., H. Youngs, C. Taylor, S. C. Davis and S. P. Long (2010) Feedstocks for lignocellulosic biofuels. *Science* 329:790-792, <https://doi.org/10.1126/science.1189268>
- van der Weijde, K. Alvim, C. L. Torres, F. A. Vermerris, W. Dolstra, O. Visser, F. G. R. and M. S. Trindade (2013) The potential of C4 grasses for cellulosic biofuel production. *Plant Sci.* 4:1-18, <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00107>
- Van Soest P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. of Dairy Sci.* 74: 3583-3589, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Ventura R. J., S. J. A. Honorato, G. A. Hernández, A. J. A. Aburto, H. Vaquera H. and Q. J. F. Enríquez (2017) Composición química y rendimiento de biomasa de maralfalfa para producción de bioetanol de segunda generación. *Revista Mexicana de ciencias agrícola* 8: 213-219, <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i1.85>
- Ventura R. J., V. I. Reyes, S. A. García, G. C. Muñoz, R. A. Muro, P. M. Maldonado and H. A. Cruz (2019) Rendimiento, perfiles nutrimentales y de fermentación ruminal *in vitro* de pasto maralfalfa (*Cenchrus purpureus* Schumach.) Morrone a diferentes frecuencias de corte en clima cálido. *Acta universitaria* 29:1-11, <https://doi.org/10.15174/au.2019.2204>
- Wongwatanapaiboon J., K. Kangvansaichol, V. Burapatana, R. Inochanon, Winayanuwattikun... and W. Chulalaksananukul (2012) The potential of cellulosic ethanol production from grasses in Thailand. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2012: 1-10, <https://doi.org/10.1155/2012/303748>
- Zhao Y. L., A. Dolat, Y. Steinberger, X. Wang, A. Osman and G. H. Xie (2009) Biomass yield and changes in chemical composition of sweet sorghum cultivars grown for biofuel. *Field Crops Research* 111:55-64, <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.10.006>