

UNIVERSIDAD DE BURGOS
FACULTAD DE CIENCIAS
GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



**“RECUPERACIÓN DE LA FRACCIÓN HEMICELULÓSICA DEL
RASTROJO DE MAÍZ MEDIANTE TRATAMIENTO CON AGUA
SUBCRÍTICA: EFECTO DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN”**

TRABAJO DE FIN DE GRADO
CURSO 2025-2026

Departamento de Biotecnología y Ciencia de los Alimentos

Área de Ingeniería Química

Tutores: Óscar Benito Román y María Teresa Sanz Díez

María Eugenio Pires

Febrero 2026



ANEXO DE SOSTENIBILIZACIÓN CURRICULAR ⁽¹⁾

GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

CURSO 2025-2026

Dña. María Eugenio Pires, estudiante matriculado en el Trabajo Fin de Grado del Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

REFLEXIÓN SOBRE LAS COMPETENCIAS DE SOSTENIBILIDAD DESARROLLADAS EN EL TRABAJO FIN DE GRADO (entre 600 y 800 palabras):

La elevada generación de residuos agroindustriales constituye uno de los principales retos ambientales y económicos del sistema productivo actual. Durante la realización de este Trabajo Fin de Grado (TFG) he podido profundizar en esta problemática, tomando conciencia de que una parte importante de los recursos agrícolas generados no se aprovechan de manera eficiente, a pesar de su elevado potencial como materia prima. En este contexto, el trabajo desarrollado me ha permitido reflexionar sobre la necesidad de replantear los modelos tradicionales de producción y avanzar hacia enfoques más sostenibles, basados en el aprovechamiento integral de los recursos y en los principios de la economía circular.

El TFG se ha centrado en la valorización del rastrojo de maíz, una biomasa lignocelulósica abundante y representativa de los residuos agrícolas del entorno agroalimentario. Mediante el empleo de agua subcrítica como tecnología de tratamiento, el trabajo ha abordado la recuperación selectiva de la fracción hemicelulósica, demostrando que es posible transformar un residuo de bajo valor en una fuente de compuestos de interés. Este planteamiento se alinea de forma directa con los principios de producción y consumo responsables promovidos por los Objetivos de Desarrollo Sostenible, al considerar los residuos agrícolas como materias primas secundarias.

Uno de los aspectos más relevantes del trabajo ha sido el uso de agua subcrítica como medio de reacción, evitando el empleo de disolventes orgánicos o reactivos químicos tóxicos. A lo largo del desarrollo experimental, he podido comprobar cómo el control de variables como la temperatura, el tiempo de tratamiento y la severidad del proceso permite modular la solubilización de la hemicelulosa y limitar la formación de productos de degradación. Este enfoque me ha permitido reflexionar sobre la importancia de diseñar procesos eficaces desde el punto de vista técnico y respetuosos con el medio ambiente, contribuyendo de forma indirecta a la acción frente al cambio climático y a la reducción del impacto ambiental de los procesos industriales.

El trabajo también ha reforzado mi visión sobre el papel de la innovación tecnológica en la transición hacia modelos productivos más sostenibles. El estudio del fraccionamiento de biomasa mediante agua subcrítica me ha permitido comprender que la investigación en tecnologías alternativas constituye un paso clave para el desarrollo de procesos industriales más eficientes y alineados con los retos actuales. En este sentido, el TFG se enmarca en una perspectiva de innovación orientada a la sostenibilidad, en coherencia con los objetivos establecidos en los ODS en materia de industria, innovación y desarrollo tecnológico.

Asimismo, el aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica me ha permitido reflexionar sobre el papel de los recursos renovables dentro de los sistemas productivos. Aunque el trabajo no se centra en la producción de energía, la obtención de un sólido residual enriquecido en celulosa pone de manifiesto el potencial de valorización integral de la biomasa, favoreciendo su posible utilización en etapas posteriores y contribuyendo a reducir la dependencia de materias primas de origen fósil.

Desde el punto de vista de las competencias adquiridas, la realización de este TFG me ha permitido desarrollar una visión crítica basada en el análisis del proceso desde una perspectiva de sostenibilidad. La evaluación conjunta del consumo energético, la selectividad del tratamiento y la formación de subproductos me ha hecho consciente de la importancia de considerar el ciclo de vida completo de los procesos, identificando compromisos entre rendimiento, impacto ambiental y viabilidad tecnológica. Esta forma de análisis resulta fundamental para la toma de decisiones en el diseño de procesos sostenibles.

En este marco, el trabajo aborda principalmente los ODS 12 (Producción y consumo responsables), 9 (Industria, innovación e infraestructura) y 13 (Acción por el clima), así como contribuciones secundarias a los ODS 7 (Energía asequible y no contaminante) y 8 (Trabajo decente y crecimiento económico)

A partir de la reflexión realizada sobre las competencias de sostenibilidad desarrolladas, se ha llevado a cabo un mapeo del impacto del trabajo en relación con los Objetivos de Desarrollo Sostenible, que permite representar de forma gráfica la intensidad de dicha contribución (*Figura A1*).

Finalmente, el trabajo ha reforzado mi percepción de que la sostenibilidad no debe entenderse como un objetivo puntual, sino como un proceso continuo de mejora. La integración de los Objetivos de Desarrollo Sostenible como marco de referencia ha permitido contextualizar el TFG dentro de los retos globales actuales y ha contribuido a mi formación como futura profesional capaz de aplicar los conocimientos adquiridos de forma responsable. A partir de esta experiencia se han consolidado competencias orientadas al uso eficiente de los recursos, la innovación sostenible y la contribución a modelos productivos más respetuosos con el medio ambiente.

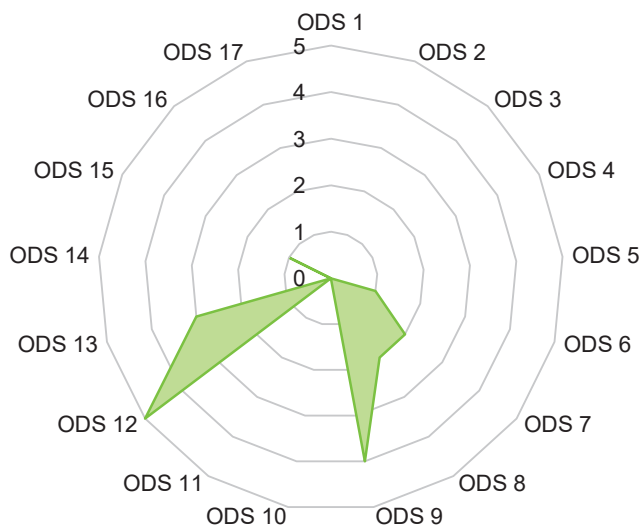


Figura A1. Mapeo del impacto del Trabajo de Fin de Grado sobre los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), representado mediante un diagrama radar en una escala de 0 (sin impacto) a 5 (impacto muy alto).

Burgos, a 12 de febrero de 2026

Fdo.: María Eugenio Pires

(1) Las memorias presentadas deberán contar con el Anexo de Sostenibilización Curricular. A tal efecto, **se incluirá tras el documento con el visto bueno de los tutores del trabajo.** (Reglamento interno de la Facultad de Ciencias para la gestión de la asignatura "Trabajo Fin de Grado" de la Facultad de Ciencias, aprobado en Junta de Facultad de 11 de febrero de 2022, modificado en Junta de Facultad el 7 de junio de 2023)

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	2
2. OBJECTIVES.....	5
3. MATERIALES Y MÉTODOS	5
3.1. Materia prima empleada	5
3.2. Reactivos y soluciones	6
3.3. Equipo para hidrólisis en agua subcrítica	6
3.4. Métodos analíticos	7
3.4.1. Caracterización del efluente líquido	8
3.4.2. Caracterización del residuo sólido: análisis elemental y componentes estructurales	10
3.5. Análisis estadístico de los resultados	11
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
4.1. Caracterización del maíz de partida.....	11
4.2. Curva de calentamiento y energía consumida durante el proceso de hidrólisis.....	12
4.3. Caracterización de la fracción líquida tras hidrólisis en agua subcrítica	13
4.3.1. Carbohidratos solubilizados.....	13
4.3.2. Productos de degradación.....	16
4.3.3. Distribución de pesos moleculares de las hemicelulosas solubilizadas	18
4.3.4. Sólidos disueltos en la fracción líquida	20
4.4. Caracterización de la fracción sólida tras tratamiento subW.....	20
5. CONCLUSIONES	22
6. BIBLIOGRAFÍA	22

RESUMEN

En este trabajo se estudió la valorización del rastrojo de maíz como biomasa lignocelulósica mediante tratamientos de hidrólisis con agua subcrítica, con el objetivo de solubilizar selectivamente la fracción de hemicelulosa y obtener productos de valor añadido en forma oligomérica, así como generar un extracto sólido enriquecido en celulosa. Las pruebas se llevaron a cabo en un reactor discontinuo que funcionaba a una presión constante de 50 bar y a temperaturas de 160, 175 y 190 °C durante 60 min. La relación sólido-líquido se mantuvo en un 5 % (p/p).

La fracción líquida se caracterizó en términos de carbohidratos solubilizados, sólidos disueltos, productos de degradación y distribución del peso molecular. Los resultados mostraron una clara dependencia de la severidad del tratamiento, identificando las condiciones óptimas de funcionamiento: 160 °C durante 60 min, 175 °C durante 50 min y 190 °C durante 20 min, alcanzando concentraciones máximas de hemicelulosa solubilizada de 4,8; 8,7 y 9,0 mg/mL, respectivamente. El análisis de la distribución del peso molecular mostró que, especialmente a 175 °C durante 5 minutos, la fracción líquida se enriqueció en oligómeros con pesos moleculares predominantemente en el rango de 1-5 kDa, considerados de interés para aplicaciones de mayor valor añadido. En condiciones más severas, se observó un aumento de las fracciones de bajo peso molecular (<1 kDa) y de los productos de degradación, principalmente furfural, asociados a la degradación de los oligómeros.

Asimismo, se detectó la formación de ácido acético, atribuida a la desacetilación de la hemicelulosa, junto con una marcada disminución del pH durante los primeros minutos del tratamiento, lo que pone de relieve el papel de la autohidrólisis en el proceso. El análisis del sólido residual reveló una disminución progresiva del contenido de hemicelulosa al aumentar la temperatura, acompañada de un enriquecimiento relativo en celulosa, en consonancia con la solubilización selectiva observada en la fase líquida.

En general, los resultados ponen de manifiesto el potencial del agua subcrítica como estrategia sostenible y eficaz para el fraccionamiento selectivo de los residuos de maíz y la producción de productos de valor añadido a partir de biomasa lignocelulósica.

ABSTRACT

This study investigated the valorization of corn stover as lignocellulosic biomass through subcritical water hydrolysis treatments, with the aim of selectively solubilizing the hemicellulose fraction and obtaining value-added products in oligomeric form, as well as generating a solid extract enriched in cellulose. The tests were carried out in a batch reactor operating at a constant pressure of 50 bar and at temperatures of 160, 175, and 190 °C for 60 min. The solid-liquid ratio was maintained at 5% (w/w).

The liquid fraction was characterized in terms of solubilized carbohydrates, dissolved solids, degradation products, and molecular weight distribution. The results showed a clear dependence on the severity of the treatment, identifying optimal operating conditions: 160 °C for 60 min, 175 °C for 50 min, and 190 °C for 20 min, reaching maximum concentrations of solubilized hemicellulose of 4,8; 8,7 and 9,0 mg/mL, respectively. The molecular weight distribution analysis showed that, especially at 175 °C for 5 min, the liquid fraction was enriched in oligomers with molecular weights predominantly in the range of 1-5 kDa, considered interest for higher value-added applications. Under more severe conditions, an increase in low molecular weight fractions (<1 kDa) and degradation products, mainly furfural, associated with the degradation of oligomers was observed.

Likewise, the formation of acetic acid was detected, attributed to the deacetylation of hemicellulose, together with a marked decrease in pH during the first minutes of treatment, which highlights the role of autohydrolysis in the process. Analysis of the residual solid revealed a progressive decrease in hemicellulose content with increasing temperature, accompanied by a relative enrichment in cellulose, consistent with the selective solubilization observed in the liquid phase.

Overall, the results highlight the potential of subcritical water as a sustainable and effective strategy for the selective fractionation of corn stover and the production of value-added products from lignocellulosic biomass.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas asociados a la industria agroalimentaria es la elevada generación de subproductos y residuos a lo largo de la cadena productiva, desde la cosecha hasta la transformación y distribución. Muchas de estas fracciones vegetales no aptas para el consumo se descartan o se destinan a usos de bajo valor, lo que conlleva un desaprovechamiento de recursos y un impacto ambiental y económico significativo. En este contexto, y ante la creciente preocupación por el agotamiento de recursos y los impactos ambientales, la revalorización de estos residuos como materia prima secundaria para la obtención de productos de mayor valor añadido se plantea como una estrategia clave dentro de esquemas de economía circular y simbiosis industrial, orientados a maximizar el aprovechamiento de los recursos mediante su reincorporación en nuevos procesos productivos [1].

Entre los distintos cultivos que generan grandes volúmenes de biomasa residual, el maíz (*Zea mays*) destaca por su elevada producción tanto a nivel mundial como nacional. En España, la producción de maíz superó los 3,5 millones de toneladas en 2024, situándose Castilla y León como una de las principales regiones productoras, con más de 1,3 millones de toneladas [2]. Durante el cultivo de maíz se genera una cantidad considerable de biomasa residual conocida como rastrojo, formado principalmente por tallos y hojas que permanecen tras la recolección del grano [3]. Este material constituye la fracción no destinada al consumo humano y representa una parte considerable de la biomasa total del cultivo. Gran parte de estos residuos se destina a usos tradicionales de escaso valor añadido o a prácticas de eliminación, como la alimentación animal o la quema, lo que limita su valorización material y puede contribuir a la emisión de contaminantes atmosféricos con impacto ambiental negativo [4].

Sin embargo, el interés de este residuo agrícola reside en su contenido en carbohidratos estructurales a partir de los cuales pueden obtenerse compuestos de alto valor añadido de interés industrial y alimentario [5]. En el caso concreto del rastrojo de maíz, diversos estudios han puesto de manifiesto que presenta un contenido de celulosa comprendido entre 39 y 42 %, hemicelulosa entre 22 y 28 % y de lignina entre 18 y 22 %, valores superiores a los de otros residuos lignocelulósicos de origen agrícola. No obstante, la proporción relativa de estos componentes puede variar significativamente en función del origen de la biomasa [6]. Este elevado contenido en hemicelulosa confiere al rastrojo de maíz un especial interés como materia prima para estrategias de valorización.

La celulosa es el polisacárido predominante en la biomasa lignocelulósica. Está formada por largas cadenas lineales de unidades de D-glucosa unidas mediante enlaces β -(1→4)-glucosídicos. Dichas cadenas se organizan en microfibrillas estabilizadas por extensas redes de enlaces de hidrógeno, generando una estructura altamente cristalina, compacta y resistente a la despolimerización [7–9]. La hemicelulosa, en cambio, es un heteropolisacárido parcialmente soluble en agua, ramificado y amorfo con un grado de polimerización inferior (de 50 a 200), lo que la hace más susceptible a la degradación que la celulosa [7, 8]. Está constituida tanto por hexosas (azúcares de 6 carbonos como es la glucosa, galactosa, fructosa y manosa) como por pentosas (azúcares de 5 carbonos como son la xilosa y la arabinosa) [8]. La lignina, por su parte, es un polímero aromático tridimensional formado por unidades fenilpropanoides que actúa como aglutinante natural entre las fibras de celulosa y hemicelulosa, aportando rigidez, resistencia mecánica y carácter hidrofóbico al tejido vegetal. De este modo forma una matriz protectora que limita la accesibilidad a los polisacáridos estructurales y contribuye de manera significativa a la recalcitrancia de la biomasa lignocelulósica frente a los procesos de conversión [7], entendida como la resistencia inherente de la biomasa a la degradación y despolimerización de sus componentes.

Diversos estudios han demostrado que la hemicelulosa mayoritaria del rastrojo de maíz corresponde a arabinoxilanos [10, 11], un tipo de xilano formado por una cadena principal de unidades de xilosa unidas por enlaces β -1,4-xilosídicos, con ramificaciones de arabinosa, cuya hidrólisis parcial da lugar a xilooligosacáridos (XOS) [12, 13]. Debido a su estructura, estos compuestos no son digeridos por las enzimas del tracto gastrointestinal superior, permitiéndoles alcanzar el intestino grueso (colon), donde pueden ser fermentados selectivamente por microorganismos beneficiosos de la microbiota intestinal, especialmente por bacterias de los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, confiriéndoles un carácter prebiótico [12]. En este sentido, se ha descrito que la eficacia prebiótica de los XOS depende estrechamente de su grado de polimerización, siendo los oligómeros de menor tamaño los que presentan una mayor capacidad para estimular selectivamente el crecimiento de estas bacterias beneficiosas [12]. Además de su interés funcional, presentan propiedades fisicoquímicas favorables, como una elevada estabilidad térmica y al pH ácido, así como una viscosidad relativamente baja, lo que facilita su incorporación en diferentes matrices sin alterar de forma significativa sus propiedades tecnológicas [14]. Estas características han favorecido su aplicación en distintos sectores industriales. A nivel global, estos compuestos se utilizan principalmente en la industria de piensos (49,6 %), seguidos por los sectores sanitario y médico (25,4 %) y el sector alimentario (23,2 %), lo que refleja su versatilidad y su creciente demanda como ingredientes funcionales [14]. Por ello, la valorización de subproductos lignocelulósicos ricos en hemicelulosa para la obtención de XOS con un grado de polimerización controlado resulta de especial interés desde el punto de vista tecnológico y de sostenibilidad.

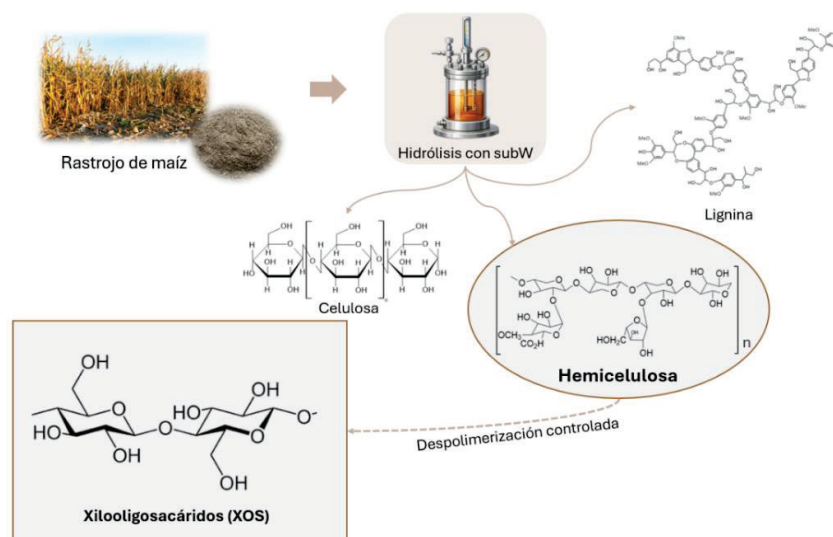


Figura 1. Representación esquemática del tratamiento del rastrojo de maíz mediante hidrólisis con agua subcrítica, mostrando la solubilización selectiva de la fracción hemicelulósica y su despolimerización controlada hacia xilooligosacáridos (XOS).

La elevada recalcitrancia estructural de la biomasa dificulta su ruptura química o enzimática durante los procesos de aprovechamiento. No obstante, a pesar del interés de la hemicelulosa por sus propiedades funcionales, su recuperación se ve dificultada por la complejidad de la matriz lignocelulósica. Por ello, resulta necesario aplicar un tratamiento adecuado que facilite el acceso de los reactivos químicos o enzimáticos a las fibras de celulosa y hemicelulosa, favoreciendo su despolimerización selectiva. Entre las distintas tecnologías disponibles para promover la hidrólisis de la biomasa, se incluyen métodos físicos, químicos, fisicoquímicos y biológicos, cada uno con distintos grados de eficacia y severidad en función del objetivo del proceso [8]. Sin embargo, los métodos convencionales presentan diversas limitaciones, como

el uso de reactivos químicos agresivos y la generación de residuos en la hidrólisis ácida, así como los elevados costes y largos tiempos de proceso asociados a las hidrólisis enzimáticas.

Estas limitaciones han impulsado la búsqueda de alternativas más sostenibles y eficientes, entre las que destacan los tratamientos hidrotermales, que combinan características de métodos físicos y los químicos y se consideran especialmente eficaces para alterar la estructura lignocelulósica y promover la despolimerización de los polisacáridos estructurales [8]. Estos procesos se basan en la interacción directa entre el agua y la biomasa, favoreciendo la solubilización selectiva de los componentes más accesibles, principalmente la hemicelulosa y otros compuestos de bajo peso molecular asociados. Dentro de este grupo, el empleo de agua subcrítica (subW) destaca como una alternativa particularmente atractiva desde el punto de vista ambiental debido a su carácter sostenible y a la ausencia de disolventes orgánicos [8, 15]. Gracias a estas características, el agua subcrítica se ha consolidado como un disolvente verde, ampliamente empleado tanto en la extracción selectiva de compuestos bioactivos como en la degradación controlada de biomasa para la obtención de productos de valor añadido, en línea con los principios de sostenibilidad y economía circular [8, 16].

El agua subcrítica corresponde al agua mantenida entre 100 °C y su temperatura crítica (374 °C), bajo presiones suficientes (entre 1 y 220 bar) para mantenerla en estado líquido, tal y como se muestra en la Fig. 2. En estas condiciones, el agua experimenta cambios fisicoquímicos notables: disminuye su constante dieléctrica, se reduce su viscosidad y tensión superficial, y aumenta su difusividad, así como su constante de ionización. Todo ello permite que el medio actúe como catalizador ácido o básico sin necesidad de añadir reactivos externos. Como consecuencia, el agua se vuelve menos polar y puede comportarse como un disolvente capaz de solubilizar compuestos poco solubles en condiciones acuosas convencionales [16]. Además, dichas propiedades pueden ajustarse de manera precisa mediante el control de la temperatura y la presión. No obstante, dentro de este intervalo amplio de temperaturas, no todas las condiciones resultan igualmente eficaces para la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica en subW. A temperaturas demasiado bajas, la hidrólisis y recuperación de la hemicelulosa son limitadas, mientras que a temperaturas excesivamente elevadas puede producirse una degradación excesiva de los polisacáridos, con la consiguiente formación de productos de degradación indeseados. Diversos estudios sitúan el rango óptimo de operación del proceso en agua subcrítica entre 160 y 190 °C, ya que en este intervalo se favorece la degradación selectiva de la hemicelulosa hacia oligómeros de azúcares, sin una generación significativa de subproductos de degradación [8]. Dado que las fracciones de hemicelulosa con peso molecular controlado y relativamente bajo presentan mayor interés por sus propiedades prebióticas, resulta fundamental un control preciso de las condiciones de operación para obtener fracciones con las características deseadas.

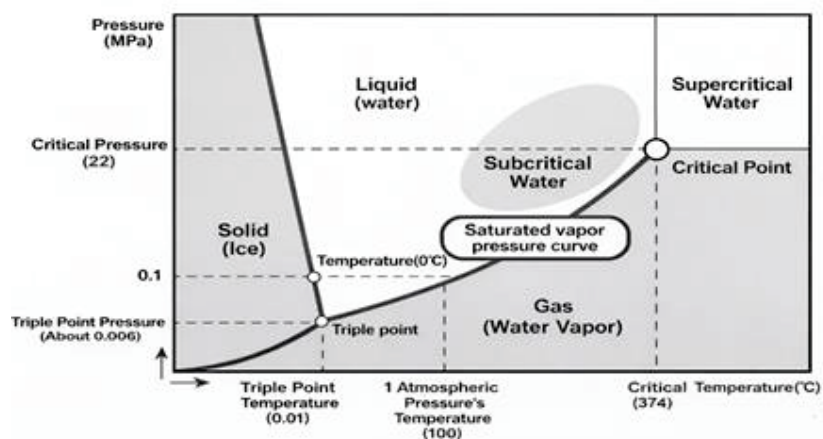


Figura 2. Diagrama de fases del agua en función de la temperatura y la presión, indicando la región de operación del agua subcrítica empleada en este trabajo.

En el presente trabajo, el interés se centra en el empleo de agua subcrítica como estrategia para promover la hidrólisis controlada del rastrojo de maíz, biomasa lignocelulósica de elevada disponibilidad, con el objetivo de recuperar fracciones de hemicelulosa con peso molecular controlado. La naturaleza amorfa de la hemicelulosa y su menor grado de polimerización en comparación con la celulosa favorecen su solubilización bajo condiciones hidrotermales, lo que permite su valorización selectiva, preservando al mismo tiempo la fracción celulósica para posibles aplicaciones posteriores. En este contexto, se estudia el efecto del tiempo y la temperatura de operación sobre las características finales de la hemicelulosa obtenida, así como sobre la composición del residuo sólido tras el tratamiento en agua subcrítica, considerando su potencial aprovechamiento en procesos posteriores.

2. OBJECTIVES

The overall objective of this study was to evaluate treatment with water under subcritical conditions as a strategy for recovering value from corn stover, through selective solubilization of the hemicellulose fraction and obtaining products of interest in oligomeric form. To achieve this overall objective, the following specific objectives were set:

- I. Study the effect of subW treatment operating conditions on the solubilization of the hemicellulose fraction of corn stover.
- II. Characterize the composition of the liquid fractions obtained after treatment, evaluating the release of free sugars and oligomers, the formation of degradation products, and the molecular weight distribution of the oligomeric fractions, to obtain low molecular weight oligomeric fractions (1-5 kDa) of great prebiotic interest.
- III. Evaluate the composition of the residual solid after treatment with subW, to assess the relative enrichment in cellulose following hemicellulose solubilization.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima empleada

El rastrojo de maíz (*Zea mays*), constituido por tallos y hojas, se empleó como materia prima. Esta biomasa fue proporcionada por un agricultor local de Saldaña (Palencia, España), correspondiente a la cosecha del año 2022 [17].



Figura 3. Fotografías del rastrojo de maíz seco (A) y del rastrojo de maíz triturado (B).

Previamente a su utilización, los tallos y hojas se secaron a temperatura ambiente hasta alcanzar humedad constante. Posteriormente, el material se trituró hasta un tamaño de partícula inferior a 0,5 mm utilizando un molino Retsch SM100 con una apertura de poro de 500 μm , siguiendo el procedimiento descrito en trabajos previos del grupo de investigación BIOIND de la Universidad de Burgos. La biomasa así preparada se almacenó en condiciones secas hasta su uso en los ensayos experimentales.

3.2. Reactivos y soluciones

Durante la parte experimental se emplearon los siguientes reactivos y soluciones: agua Milli-Q; agua destilada; hidróxido de sodio (0,2 M); ácido sulfúrico concentrado (98 % p/p, calidad reactivo, VWR, BDH Chemicals); ácido sulfúrico (98 %, calidad HPLC, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania); carbonato cálcico (VWR, BDH Chemicals); acetato de amonio (VWR, BDH Chemicals); estándares comerciales de azúcares: glucosa (Glu, 99,5 %), xilosa (Xyl, 99 %) y arabinosa (Ara, 99 %) suministrados por Sigma-Aldrich (Burlington, MA, EE.UU.); ácidos orgánicos: ácido acético (98 %, VWR Chemicals), ácido fórmico (98 %, Panreac AppliChem), ácido levulínico (98 %, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) y ácido láctico (DL, 90 %, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) y otros productos como furfural (99 %, Sigma-Aldrich) y 5-hidroximetilfurfural (HMF, 97 %), proporcionado por Biosynth Ltd. (Reino Unido).

Todos los reactivos y estándares se utilizaron tal y como fueron suministrados por el fabricante, sin someterse a procesos adicionales de purificación.

3.3. Equipo para hidrólisis en agua subcrítica

La hidrólisis de la biomasa en agua subcrítica se llevó a cabo en un reactor discontinuo de tanque agitado de 0,5 L, fabricado en acero inoxidable y diseñado por el propio equipo de investigación BIOND (Fig. 4).

El calentamiento se realizó cubriendo el reactor con una camisa de calentamiento cerámica (230 V, 4000 W, Ø 95 mm, 160 mm de altura) con el fin de alcanzar y mantener la temperatura deseada. La temperatura se monitorizó mediante sensores situados en el interior del reactor (sensor Pt100) y en la camisa, ambos conectados a un sistema Proporcional-Integral-Derivativo (PID), que permitió el control y la monitorización continua de la temperatura durante el tratamiento. La presión del sistema se monitorizó mediante un manómetro y se ajustó mediante la entrada de N₂, empleado como gas presurizante, regulando la presión de salida de la botella mediante un manorreductor hasta alcanzar la presión de trabajo establecida, que se mantuvo constante manteniendo cerradas las válvulas de salida del sistema. Al finalizar el ensayo, la despresurización controlada del sistema se realizó mediante una válvula de purga, permitiendo la posterior apertura del reactor y la recuperación del extracto. El equipo disponía además de una válvula de salida para la recuperación del extracto líquido durante el tratamiento y de una placa agitadora que aseguró una agitación constante a 500 rpm, manteniendo la biomasa en suspensión y favoreciendo la transferencia de masa entre las fases sólida y líquida.



Figura 4. Fotografía del equipo de extracción utilizado en este trabajo para la hidrólisis con agua subcrítica.

Para cada ensayo se emplearon 10 g de rastrojo de maíz triturado, que se mezclaron con 0,2 L de agua destilada, manteniendo una concentración del 5 %. La suspensión obtenida se transfirió al reactor, asegurando un cierre hermético del sistema para mantener las condiciones de presión y temperatura necesarias durante el tratamiento.

Los ensayos se realizaron a una presión de 50 bar, suficiente para mantener el agua en estado líquido y a tres temperaturas diferentes: 160, 175 y 190 °C, seleccionadas a partir de trabajos previos del grupo BIOIND. La duración total de cada ensayo fue de 60 min. Durante la fase de calentamiento, se registró la evolución de la temperatura del interior del reactor a intervalos de 1 min, hasta alcanzar la temperatura de operación establecida, lo que permitió calcular el gradiente de calentamiento (°C/min). Una vez alcanzada la temperatura objetivo, se tomó una primera muestra líquida con el fin de cuantificar los compuestos generados durante la etapa de calentamiento (t=0). Posteriormente se tomaron muestras líquidas a intervalos regulares de 10 min, las cuales se enfriaron inmediatamente para detener la reacción y se almacenaron para su posterior análisis. Asimismo, se registró la potencia eléctrica consumida (kWh) durante el proceso mediante un vatímetro (model PM01, RS Components Ltd).

Una vez finalizado el tratamiento, el reactor se dejó enfriar hasta temperatura ambiente durante aproximadamente 1,5 h y se procedió a la separación sólido-líquido mediante filtración al vacío. El material retenido en el filtro se lavó con agua destilada para eliminar restos de compuestos solubles y posteriormente se secó en estufa a 105 °C durante 24 h, conservándose para su posterior caracterización estructural. Por su parte, el filtrado se almacenó en recipientes adecuados a -20 °C, con el fin de evitar la degradación de los compuestos solubilizados antes de su análisis. Finalmente, el sistema de extracción se limpió mediante una solución de hidróxido de sodio (0,2 M), seguida de agua destilada, para eliminar residuos orgánicos y evitar contaminaciones en ensayos posteriores.

Con el fin de describir cuantitativamente la intensidad de las condiciones de pretratamiento aplicadas durante el proceso de hidrólisis en subW, se empleó el factor de severidad (R_0), habitualmente expresado como $\log R_0$. Este parámetro integra en un único valor el efecto combinado de temperatura y el tiempo de retención del tratamiento permitiendo la comparación objetiva de distintas condiciones operativas [6]. En este trabajo, el factor de severidad se calculó considerando tanto el periodo de calentamiento como el periodo isoterma del proceso, de acuerdo con la metodología descrita para sistemas batch en tratamientos con subW [18], según la *Ec. (1)*.

$$\log R_0 = \log \left[\int_0^{t_H} \exp \left(\frac{T(t)-100}{14,75} \right) \cdot dt + t \cdot \exp \left(\frac{T(t)-100}{14,75} \right) \right] \quad (1)$$

En la *Ec. (1)*, $T(t)$ representa la temperatura medida experimentalmente en función del tiempo, 100 °C corresponde a la temperatura de referencia, y el valor 14,75 es una constante empírica relacionada con la energía de activación del proceso [6]

3.4. Métodos analíticos

En este trabajo se emplearon distintos métodos analíticos para la caracterización de las muestras líquidas y sólidas obtenidas en los experimentos realizados tras el tratamiento hidrotermal en subW. Como resultado de este proceso, se obtuvieron dos fracciones claramente diferenciadas: una fracción líquida, que contiene los compuestos solubilizados durante el tratamiento, y una fracción sólida, correspondiente a la biomasa no solubilizada. En la *Fig. 5* se presenta un esquema de las fracciones obtenidas y de los principales análisis aplicados, los cuales se describen con mayor detalle en los apartados siguientes.

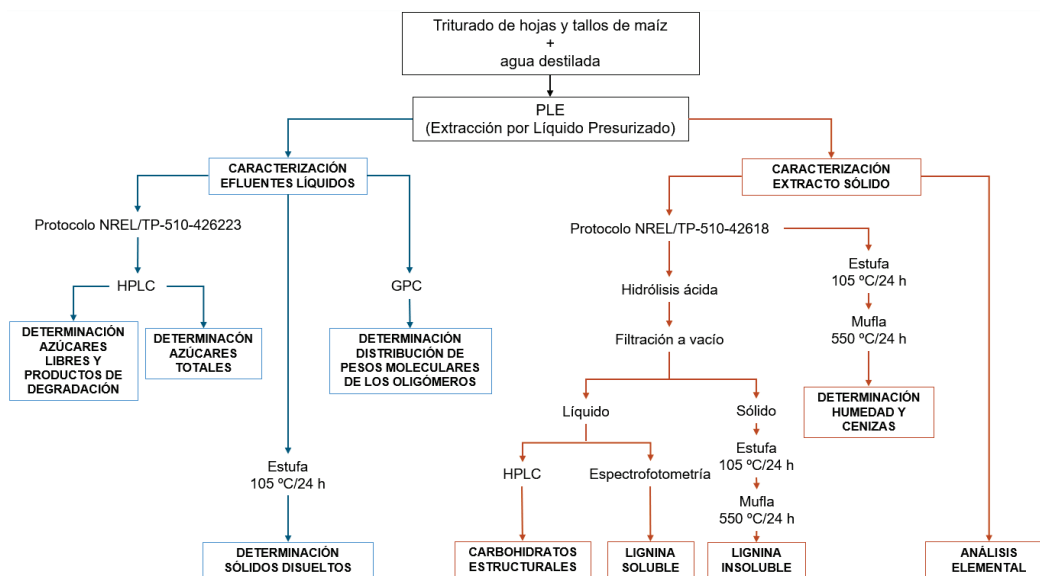


Figura 5. Esquema general del procedimiento analítico seguido en este trabajo.

3.4.1. Caracterización del efluente líquido

En primer lugar, se describen los procedimientos aplicados a la fracción obtenida durante el tratamiento, con el objetivo de evaluar la solubilización de los componentes de la biomasa, así como la naturaleza y el tamaño de los compuestos liberados. Para ello, se aplicaron métodos analíticos que permitieron determinar la composición en azúcares y productos de degradación, cuantificar el contenido total de materia disuelta y caracterizar el peso molecular de las fracciones de hemicelulosa solubilizadas.

3.4.1.1. Determinación de la composición

La caracterización de la composición del efluente líquido obtenido se realizó siguiendo el protocolo del National Renewable Energy Laboratory (NREL/TP-510-42623) para muestras líquidas [19]. De acuerdo con este procedimiento, una parte de las muestras se analizó directamente mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), sin someterse a hidrólisis ácida, con el fin de determinar el contenido de azúcares libres, así como los principales productos de degradación, tales como diversos ácidos orgánicos (ácido acético, fórmico láctico y levulínico), furfural y 5-HMF. Por otra parte, una alícuota del efluente líquido se sometió a una hidrólisis ácida para la determinación del contenido total de azúcares disueltos. La fracción oligomérica presente en el efluente se estimó posteriormente por diferencia entre el contenido de azúcares totales y el de azúcares libres, lo que permitió evaluar el grado de hidrólisis de la hemicelulosa durante la hidrólisis en subW.

❖ Determinación de azúcares libres y productos de degradación

La cuantificación de los azúcares libres y de los productos de degradación presentes en el efluente líquido se llevó a cabo mediante HPLC, utilizando muestras no sometidas a hidrólisis ácida. Previamente al análisis cromatográfico, las muestras líquidas (3-5 mL), recogidas durante el tratamiento hidrotermal, se centrifugaron durante 5 min a 5000 rpm y se filtraron mediante filtros de jeringa con un tamaño de poro de 0,22 μm , ambos pasos con el objetivo de eliminar posibles partículas en suspensión.

El análisis de composición se realizó empleando un sistema HPLC (Agilent Infinity II 1260, Agilent Technologies, CA, EEUU.) equipado con una columna Bio-Rad Aminex-HPX-87H (300x7,8 mm, Bio-Rad) mantenida a 40 °C, un detector de índice de refracción (RID) adecuado para carbohidratos y un detector de longitud de onda variable (VWD) que permite identificar compuestos que presentan absorción en el rango ultravioleta. La fase móvil que utilizó fue una solución acuosa de ácido sulfúrico 5 mM, con un caudal de 0,6 mL/min. El

volumen de inyección fue de 20 μL , con un tiempo total de análisis de 60 min por muestra. La identificación y cuantificación de los compuestos se realizaron mediante la comparación de los tiempos de retención y las áreas de los picos cromatográficos con los patrones correspondientes analizados en las mismas condiciones.

❖ **Determinación de azúcares totales**

El contenido de azúcares totales se determinó tras la aplicación de la hidrólisis ácida siguiendo el protocolo NREL indicado previamente. Mediante este procedimiento, los carbohidratos solubilizados durante el pretratamiento, incluidos aquellos presentes en forma oligomérica, se hidrolizaron completamente hasta sus correspondientes azúcares monoméricos, permitiendo así la cuantificación del contenido total de azúcares en la muestra.

Debido al volumen limitado de muestra obtenido durante el proceso, se tomó una alícuota de 1 mL del efluente líquido, que se diluyó con 4 mL de agua Milli-Q obteniendo un volumen final de 5 mL (factor de dilución 5) antes de aplicar el protocolo de hidrólisis ácida del NREL descrito a continuación [19]: a la muestra líquida se le añadieron 174 μL de ácido sulfúrico al 72% p/p (preparado a partir de ácido sulfúrico concentrado al 98% p/p). Tras la homogeneización, las muestras se sometieron a tratamiento en autoclave a 121 °C durante 60 min, completándose la hidrólisis ácida de los carbohidratos. Al finalizar el tratamiento térmico, las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y se neutralizaron hasta pH 5-6 mediante la adición gradual de CaCO_3 . A continuación, el precipitado formado se dejó sedimentar y se recuperó el sobrenadante, correspondiente a la fracción hidrolizada. Finalmente, las muestras se filtraron mediante filtros de jeringa de 0,22 μm y se analizaron por HPLC bajo las mismas condiciones cromatográficas descritas en el apartado anterior.

3.4.1.2. Determinación del peso molecular de las fracciones de hemicelulosa disueltas

El peso molecular de las fracciones de hemicelulosa solubilizadas durante el tratamiento en subW se determinó mediante cromatografía de permeación en gel (GPC), con el objetivo de evaluar la distribución de tamaños de los oligómeros liberados.

El sistema cromatográfico (Agilent Infinity II 1260, Agilent Technologies, CA, EEUU.), estaba equipado con una bomba isocrática, un inyector automático y un detector de índice de refracción (HPSEC-RID), e incluía una precolumna PL Aquagel enlazada en serie con columnas PL Aquagel-OH 30 y PL Aquagel-OH 40 (Agilent Technologies), con dimensiones de 300 mm \times 7,5 mm y un tamaño de partícula de 8 μm , que permiten la separación de compuestos en rangos de peso molecular de 0,1-60 kDa y 10-200 kDa respectivamente, adecuadas para la separación de carbohidratos de bajo y medio peso molecular. La fase móvil utilizada fue una disolución de acetato de amonio 0,01 M, compatible con el sistema cromatográfico y las muestras analizadas. Los análisis se realizaron a una temperatura de 35 °C, tanto para la columna como para el detector RID, con un caudal de 0,7 mL/min.

La calibración del sistema se realizó mediante estándares de pululano (PSS Polymer Standards Service GmbH, Maguncia, Alemania) con pesos moleculares comprendidos entre 0,342 y 400 kDa, permitiendo establecer la curva de calibrado necesaria para la determinación de la distribución de pesos moleculares de las fracciones de hemicelulosa disueltas y su posterior clasificación en los rangos de interés definidos en este estudio.

Con el fin de evitar interferencias del disolvente y asegurar la compatibilidad con el sistema cromatográfico, las muestras líquidas se sometieron a un proceso de evaporación asistida con nitrógeno mediante un evaporador comercial (Cole-Parmer), recuperándose el residuo sólido correspondiente a los compuestos solubilizados. Posteriormente, dicho residuo se redisolvió en la misma fase móvil empleada en el GPC, garantizando así una correcta separación cromatográfica y una adecuada reproducibilidad de los resultados.

Esas muestras se analizaron en GPC bajo condiciones adecuadas para la separación de carbohidratos de bajo y medio peso molecular, permitiendo la obtención de pesos moleculares

de las fracciones de hemicelulosa disueltas. El tratamiento y análisis de los datos se realizaron mediante el software Agilent OpenLab Data Analysis 2.5. A partir de los cromatogramas obtenidos, los compuestos solubilizados se clasificaron en tres rangos de peso molecular: fracciones de bajo peso molecular (<1 kDa), fracciones oligoméricas de interés (entre 1 y 5 kDa) y fracciones de mayor peso molecular (>5 kDa).

3.4.1.3. Determinación de sólidos disueltos

Para la determinación de sólidos disueltos se utilizó un método gravimétrico basado en el secado de las muestras en estufa, con el objetivo de cuantificar la cantidad total de materia no volátil solubilizada durante el tratamiento hidrotermal. El análisis se realizó sobre los extractos líquidos finales obtenidos tras el proceso de hidrólisis en subW, correspondientes al filtrado final tras la separación sólido-líquido. Para ello, se tomaron volúmenes conocidos (5 mL), por duplicado, de cada extracto líquido final, que se transfirieron a tubos de ensayo previamente tarados. Las muestras se secaron en estufa a 105 °C durante 24 h, hasta la eliminación completa del disolvente. Tras el secado, los tubos se pesaron nuevamente. La masa residual obtenida se empleó para calcular el contenido de sólidos disueltos no volátiles, expresándose como concentración de sólidos disueltos totales (mg/mL) en el extracto líquido, permitiendo así cuantificar la cantidad de biomasa disuelta.

3.4.2. Caracterización del residuo sólido: análisis elemental y componentes estructurales

La materia prima y la fracción sólida obtenida tras el tratamiento con subW se caracterizaron con el fin de evaluar los cambios en la composición estructural de la biomasa lignocelulósica como consecuencia del tratamiento hidrotermal.

El **análisis elemental** (C, H, N y S) de las muestras sólidas se llevó a cabo mediante un analizador elemental FLASH 2000 (Thermo Scientific, EE.UU.), situado en el Parque Científico Tecnológico de la Universidad de Burgos. El contenido de oxígeno de las muestras se determinó por diferencia, teniendo en cuenta el contenido de cenizas de las muestras. A partir de los resultados de este análisis, se calcularon las relaciones molares H/C y O/C de las muestras sólidas, empleadas para evaluar los cambios en la composición química del residuo sólido tras el tratamiento con subW. Asimismo, el poder calorífico superior (HHV) de la materia prima y de los sólidos residuales se estimó a partir de la composición elemental (C, H, O, N y S, en base seca) empleando la *Ec. (2)* [20].

$$HHV \left(\frac{MJ}{kg} \right) = [151,2C + 499,7H + 45,0S - 4,7O + 27,0N] \cdot 2,326 \cdot 10^{-3} \quad (2)$$

En cuanto a la **determinación de los componentes estructurales**, esta se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo del NREL/TP-510-42618 [21], destinado a la determinación de carbohidratos estructurales y lignina en muestras sólidas de biomasa. De acuerdo con este protocolo se determinó en primer lugar el contenido de humedad (valor que sirvió para expresar los resultados de composición en base seca) y cenizas de las muestras. Para la determinación de la humedad, una cantidad de biomasa se secó en estufa a 105 °C durante 24 h en crisoles previamente tarados. La diferencia de pesada tras el secado se atribuyó a la cantidad de agua evaporada. Posteriormente, las mismas muestras secas se sometieron a calcinación en mufla a 550 °C durante 4 h, con el fin de determinar el contenido en cenizas. Tras el tratamiento, los crisoles se enfriaron en el desecador y se pesaron nuevamente. El residuo inorgánico obtenido correspondió al contenido en cenizas de la muestra.

Una vez determinada la humedad, se continuó con la hidrólisis ácida de las muestras sólidas siguiendo el protocolo NREL indicado. De acuerdo con lo descrito en el protocolo, 300 mg de muestra se transfirieron a tubos de vidrio Pyrex, a los que se añadieron 3 mL de ácido sulfúrico al 72 % y se mantuvieron en un baño termostatizado a 30 °C durante 60 min, agitándose periódicamente cada 10 min para favorecer la hidrólisis de la biomasa. Transcurrido este tiempo, el contenido de cada tubo se transfirió cuantitativamente a frascos de vidrio y se diluyó con 84 mL de agua destilada reduciendo la concentración del ácido a aproximadamente 4 %.

A continuación, los frascos se sometieron a un tratamiento térmico en autoclave a 121 °C durante 60 min, completando la despolimerización de los carbohidratos estructurales [21].

Una vez finalizado el tratamiento térmico, las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se procedió a la separación de las fracciones sólida y líquida mediante filtración al vacío, obteniéndose una fase líquida que contiene los carbohidratos estructurales hidrolizados y la lignina soluble, y una fracción sólida que contiene la lignina insoluble en ácido.

3.4.2.1. Determinación de carbohidratos estructurales

Para la determinación de los carbohidratos estructurales, se utilizó una parte de la fase líquida obtenida tras la filtración al vacío posterior a la hidrólisis ácida del residuo sólido, reservándose el volumen restante para la determinación de lignina soluble. Las muestras líquidas se neutralizaron mediante $CaCO_3$ hasta alcanzar un pH entre 5 y 6. El sobrenadante neutralizado se filtró mediante filtros de jeringa de 0,22 μm y se transfirió a viales de HPLC para su análisis.

El análisis cromatográfico se realizó bajo las condiciones descritas en el apartado 3.4.1.1, correspondientes a la determinación de azúcares libres y productos de degradación, permitiendo la cuantificación de los principales carbohidratos estructurales (glucosa, xilosa y arabinosa) presentes en la biomasa sólida tratada.

3.4.2.2. Determinación de lignina soluble en ácido

La lignina soluble se cuantificó mediante espectrofotometría UV-visible a partir de una alícuota del filtrado obtenido tras la separación sólido-líquido del hidrolizado. Las muestras se colocaron en cubetas adecuadas para su análisis UV y se midió su absorbancia a 240 nm, longitud de onda característica para la determinación de lignina soluble según el protocolo NREL. Con el fin de asegurar que los valores de absorbancia se encontraran dentro del rango recomendado (0,7-1,0), las muestras se diluyeron previamente en una proporción 1:5 antes de su análisis.

3.4.2.3. Determinación de lignina insoluble en ácido

Por último, la lignina insoluble en ácido se determinó a partir de la fracción sólida retenida en el filtro. Esta fracción sólida se secó en estufa a 105 °C durante 24 h con el fin de eliminar la humedad residual y se pesó posteriormente. A continuación, el material seco se transfirió a crisoles previamente tarados y se sometió a calcinación en mufla a 550 °C durante 24 h. La pérdida de masa registrada tras el proceso de calcinación permitió determinar el contenido de lignina insoluble.

3.5. Análisis estadístico de los resultados

El análisis estadístico de los resultados experimentales se realizó con el fin de evaluar la significación estadística de las diferencias observadas entre las distintas condiciones estudiadas. Para ello, los datos se analizaron con el test de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD) para la comparación de medias. Las medias que comparten la misma letra no presentan diferencias significativas entre sí, considerando un nivel de confianza del 95%. El análisis estadístico se realizó utilizando el software Statgraphics Centurion (versión 19.6.03).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización del maíz de partida

La composición química del rastrojo de maíz del que se ha partido para la realización de este trabajo se muestra en la *Tabla 1*. Los resultados están expresados en base seca, tras la determinación de la humedad (5,9 %). La biomasa presentó un elevado contenido en carbohidratos estructurales (≈ 64 % de la materia seca), siendo la celulosa la fracción mayoritaria (≈ 40 %), seguida de la hemicelulosa (≈ 24 %). Tal y como se muestra en la *Tabla 1*, la fracción hemicelulósica del rastrojo de maíz de partida está compuesta mayoritariamente por xilanos, con una menor proporción de arabinanos. En cuanto a la lignina, presentó un contenido total de aproximadamente el 25 %, observándose un claro predominio de la fracción

insoluble ($\approx 20\%$) frente a la soluble ($\approx 5\%$). Estos valores son comparables a los reportados por *Candela et al.* [17], quienes describieron una composición similar del rastrojo de maíz.

Tabla 1. Composición química y elemental de la materia prima (rastrojo de maíz) y de los sólidos obtenidos tras la extracción con subW a diferentes temperaturas, incluyendo relaciones molares H/C y O/C y el poder calorífico (HHV). Los resultados se expresan en base seca (g/100 g).

Componente (g/100 g)	Rastrojo de maíz	Fracción sólida tras subW		
		160 °C	175 °C	190 °C
Lignina	24,8 ± 0,3 ^A	28,6 ± 1,3 ^B	27,8 ± 0,4 ^B	33,9 ± 0,8 ^C
Lignina soluble	4,5 ± 0,1 ^B	5,7 ± 0,5 ^D	3,2 ± 0,1 ^A	4,8 ± 0,1 ^C
Lignina insoluble	20,3 ± 0,3 ^A	22,9 ± 0,8 ^B	24,6 ± 0,3 ^C	29,1 ± 0,7 ^D
Celulosa (Glucanos)	40,4 ± 0,2 ^A	44,9 ± 0,7 ^B	54,8 ± 1,1 ^C	56,4 ± 1,5 ^C
Hemicelulosa	23,9 ± 0,3 ^D	17,8 ± 0,4 ^C	12,6 ± 0,2 ^B	4,2 ± 0,2 ^A
Xilanos	20,0 ± 0,2 ^D	15,8 ± 0,2 ^C	11,8 ± 0,1 ^B	3,1 ± 0,1 ^A
Arabinanos	3,9 ± 0,1 ^D	2,0 ± 0,2 ^C	0,8 ± 0,1 ^B	0,1 ± 0,1 ^A
Cenizas	11,3 ± 0,4 ^B	7,3 ± 0,4 ^A	8,4 ± 1,4 ^A	8,2 ± 2,0 ^A
C	44,2 ± 0,7 ^A	47,7 ± 0,1 ^B	48,2 ± 0,4 ^B	50,0 ± 0,2 ^C
H	5,9 ± 0,1 ^A	6,1 ± 0,1 ^B	6,1 ± 0,1 ^B	6,1 ± 0,1 ^B
N	0,7 ± 0,1 ^A	1,4 ± 0,2 ^B	1,5 ± 0,3 ^B	0,9 ± 0,3 ^A
O	37,9 ± 0,7 ^C	37,5 ± 0,2 ^C	35,8 ± 0,6 ^B	34,9 ± 0,3 ^A
Relación H/C	1,59 ± 0,04 ^C	1,54 ± 0,01 ^B	1,52 ± 0,05 ^B	1,47 ± 0,02 ^A
Relación O/C	0,57 ± 0,02 ^D	0,52 ± 0,01 ^C	0,50 ± 0,01 ^B	0,46 ± 0,01 ^A
HHV (MJ/kg)	18,2 ± 0,4 ^A	19,8 ± 0,1 ^B	20,2 ± 0,3 ^B	20,9 ± 0,1 ^C

4.2. Curva de calentamiento y energía consumida durante el proceso de hidrólisis

En la *Tabla 2* y la *Fig. 6* se recogen las curvas de calentamiento y los valores de energía consumida correspondientes a los ensayos realizados a 160, 175 y 190 °C. A partir de los perfiles temperatura-tiempo se determinó la velocidad media de calentamiento, definida como la relación entre el incremento de temperatura y el tiempo total de calentamiento.

Tabla 2. Velocidad media de calentamiento y consumo energético durante el calentamiento y el proceso completo para los ensayos realizados a distintas temperaturas de hidrólisis con subW.

T (°C)	Velocidad calentamiento (°C/min)	E calentamiento (kWh)	E total (kWh)
160	8,2	0,31	0,72
175	7,1	0,37	0,84
190	5,9	0,34	0,90

La *Fig. 6* muestra la evolución de la temperatura del sistema durante la etapa de calentamiento hasta alcanzar la temperatura de trabajo para los distintos ensayos. Dado que el calentamiento no fue lineal, se empleó una velocidad media de calentamiento como parámetro representativo del proceso global. Tal y como se recoge en la *Tabla 2*, la velocidad media de calentamiento disminuyó al aumentar la temperatura de trabajo, mientras que el consumo energético total se incrementó ligeramente, alcanzando un valor máximo 0,90 kWh a 190 °C.

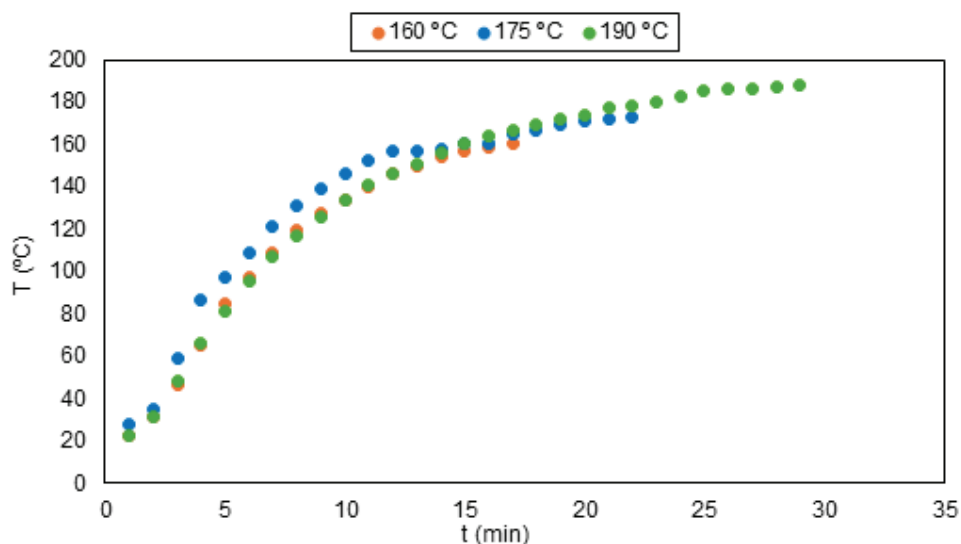


Figura 6. Evolución de la temperatura en función del tiempo durante el calentamiento del sistema hasta alcanzar las temperaturas de trabajo de 160, 175 y 190 °C.

4.3. Caracterización de la fracción líquida tras hidrólisis en agua subcrítica

4.3.1. Carbohidratos solubilizados

La composición de la fase líquida obtenida tras el tratamiento del rastrojo de maíz en agua subcrítica se analizó en términos de los principales azúcares liberados durante el proceso, distinguiendo entre azúcares derivados de la fracción hemicelulósica (C5) y de la fracción celulósica (C6), así como entre formas monoméricas y oligoméricas. La evolución de estos compuestos se evaluó a lo largo del tiempo de operación para las distintas temperaturas ensayadas, con el fin de analizar la cinética de solubilización de los azúcares y su forma de recuperación en la fase líquida.

Tras el tratamiento con subW no se detectó glucosa libre en la fase líquida, lo que indica que las condiciones de operación seleccionadas no fueron suficientes para provocar la solubilización de la celulosa, en concordancia con lo descrito por *Rogalinski et al.* [22], quienes estudiaron la hidrólisis de biomasa lignocelulósica en subW (aproximadamente 160-280 °C), observando que la celulosa presenta una mayor resistencia a la hidrólisis que la hemicelulosa, requiriendo condiciones de mayor severidad para su despolimerización efectiva. En este sentido, bajo las condiciones ensayadas se detectó la presencia de xilosa y arabinosa como fracción disuelta procedente de la hemicelulosa, observándose un claro predominio de la xilosa en todas las condiciones estudiadas. En concreto, la xilosa oligomérica alcanzó concentraciones máximas de 3,9; 7,6 y 8,0 mg/mL a 160, 175 y 190 °C respectivamente, a tiempos de operación de 60, 50 y 20 min. Por el contrario, la arabinosa oligomérica alcanzó valores máximos de 0,9; 1,0 y 1,0 mg/mL a 160, 175 y 190 °C a tiempos de operación de 60, 40 y 20 min. Resultados similares fueron descritos por *Cheng et al.* [23], quienes reportaron una solubilización preferente de fracciones xilánicas durante la extracción, mientras que la arabinosa contribuyó en menor medida a la fracción solubilizada.

Estos resultados obtenidos concuerdan con la composición estructural de la hemicelulosa del rastrojo de maíz, formada mayoritariamente por arabinoxilanos, tal y como se describió en la introducción de este trabajo. Por tanto, la suma de las fracciones oligoméricas de xilosa y arabinosa se consideró representativa del contenido de hemicelulosa disuelta en la fase líquida.

En relación con lo anterior, en la *Fig. 7* se muestra la cinética de extracción de la fracción hemicelulósica en función de las condiciones de operación. A 160 °C, la solubilización aumentó de forma gradual durante todo el tratamiento, alcanzando una concentración máxima

de 4,8 mg/mL tras los 60 min de operación. Al aumentar la temperatura a 175 y 190 °C, se observó una extracción más rápida durante las primeras etapas del proceso, lo que pone de manifiesto el efecto de la temperatura sobre la velocidad de solubilización. En particular, a 175 °C la concentración de hemicelulosa solubilizada aumentó progresivamente hasta alcanzar un valor máximo de 8,7 mg/mL a los 50 min, mientras que a 190 °C se alcanzó un máximo de 9,0 mg/mL a los 20 min, seguido de una disminución progresiva, lo que sugiere la aparición de procesos de degradación de los azúcares solubilizados a tiempos de operación más prolongados. A partir de estos resultados, se determinó que las condiciones óptimas de operación varían con la temperatura, correspondiendo a tiempos de 60 min a 160 °C, 50 min a 175 °C y 20 min a 190 °C para maximizar la concentración de hemicelulosa solubilizada.

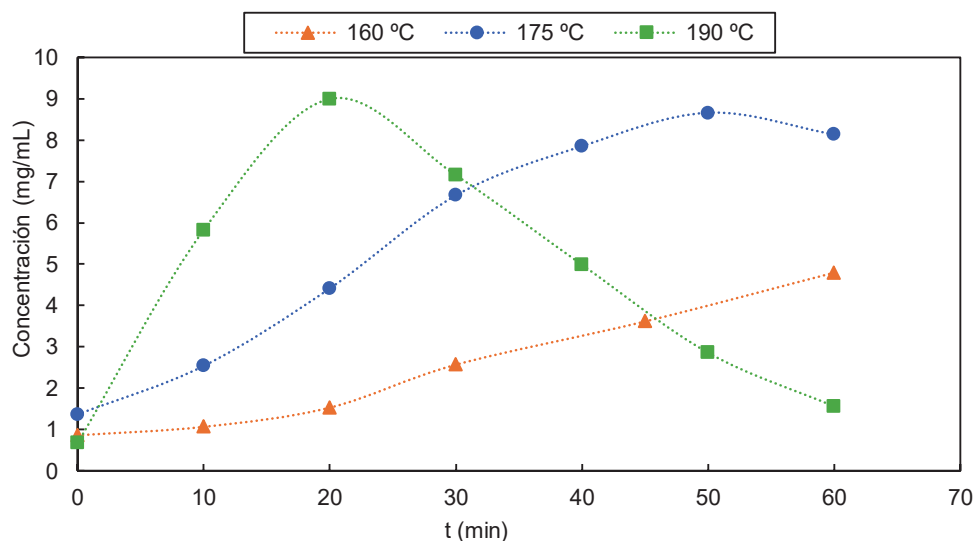


Figura 7. Evolución de la concentración de hemicelulosa solubilizada (xilosa + arabinosa) en la fase líquida en función del tiempo durante el tratamiento con subW a las diferentes temperaturas ensayadas.

Considerando conjuntamente el efecto de la temperatura y del tiempo de operación, los resultados se analizaron en función del factor de severidad ($\log R_0$), que permite evaluar la intensidad global del tratamiento hidrotermal, teniendo en cuenta tanto la contribución de la etapa de calentamiento como la etapa isotérmica acumulada durante el tiempo de operación. En este contexto, la *Fig. 8* muestra la evolución de la concentración de hemicelulosa solubilizada en función de $\log(R_0)$. Se observa que la cantidad de hemicelulosa extraída aumenta con la severidad hasta alcanzar un valor máximo, independientemente de la temperatura de operación. A valores elevados de severidad, especialmente a 190 °C, se aprecia una disminución de la concentración de hemicelulosa solubilizada, lo que indica que bajo condiciones más severas los procesos de degradación de los azúcares solubilizados adquieren relevancia y limitan su acumulación en la fase líquida.

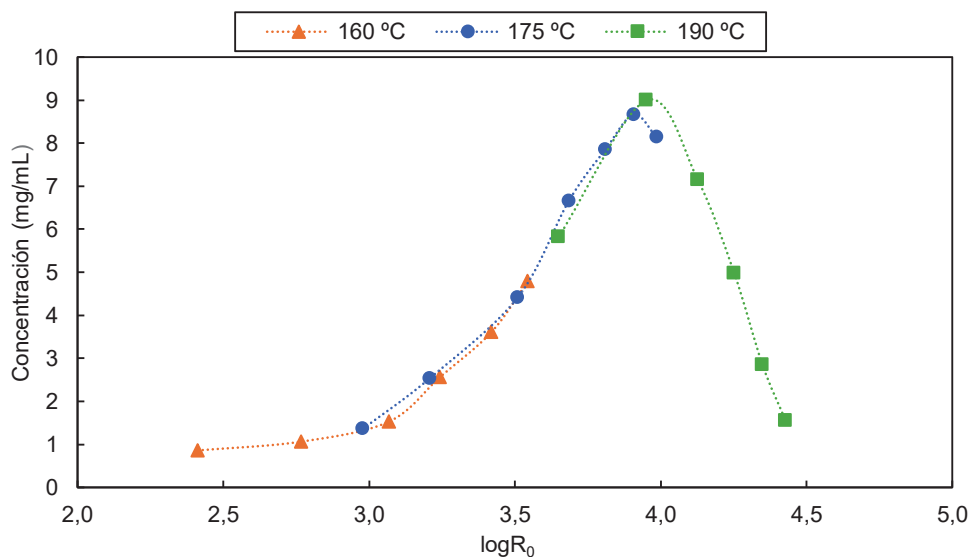


Figura 8. Evolución de la concentración de hemicelulosa total solubilizada (xilosa + arabinosa) en función de $\log R_0$ durante el tratamiento con subW a diferentes temperaturas.

Una vez establecidas las condiciones óptimas de operación para cada temperatura, se analizó la forma en la que la hemicelulosa solubilizada se encontraba en la fase líquida, distinguiendo entre azúcares en forma monomérica (xilosa y arabinosa libres) y oligomérica, con el fin de evaluar el grado de hidrólisis alcanzado durante el tratamiento. Se observó un claro predominio de las fracciones oligoméricas frente a las monoméricas para todas las temperaturas ensayadas, en línea con los resultados descritos por *Cheng et al.* [23], en estudios de extracción de hemicelulosa a partir de rastrojo de maíz. Tal y como se muestra en la *Fig. 9*, aproximadamente el 90 % de la hemicelulosa extraída se encontró en forma oligomérica, mientras que solo un 10 % correspondió a azúcares monoméricos libres, observándose un incremento relativo de estos al aumentar la temperatura. Este comportamiento indica que el tratamiento con subW permite no solo disolver la hemicelulosa, sino también preservar en gran medida su estructura oligomérica, aspecto relevante para su posterior valorización.

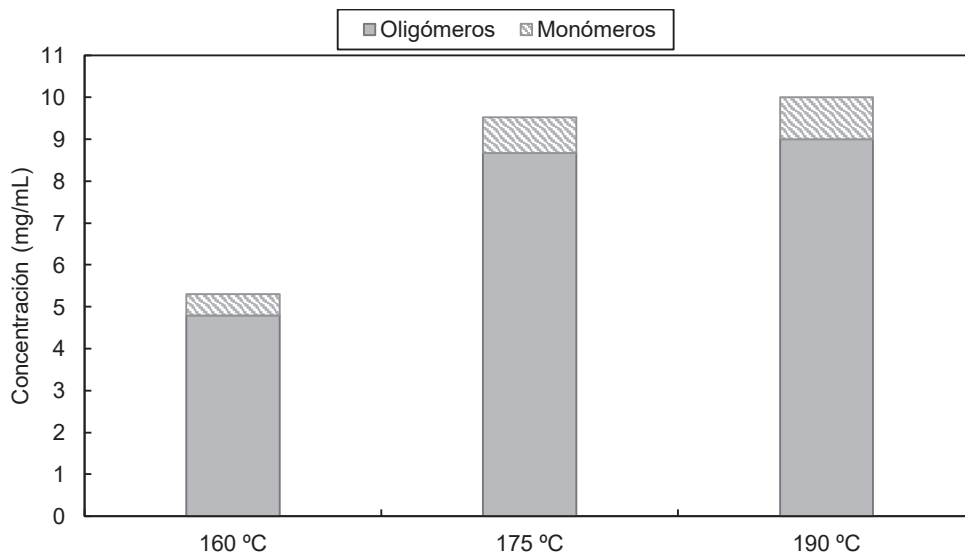


Figura 9. Distribución de azúcares monoméricos y oligoméricos presentes en la fracción líquida obtenida tras el tratamiento con subW del rastrojo de maíz, correspondiente a las condiciones óptimas de operación para cada temperatura (160 °C-60 min, 175 °C-50 min y 190 °C-20 min), definidas como aquellas en las que se alcanza la máxima concentración de hemicelulosa solubilizada.

4.3.2. Productos de degradación

A lo largo del tratamiento con agua subcrítica se detectó la formación de diversos productos de degradación en la fase líquida, incluyendo ácidos orgánicos y compuestos furánicos como el furfural y el 5-HMF. Estos últimos se generan principalmente por reacciones de deshidratación de los azúcares liberados durante la hidrólisis de la fracción hemicelulósica, mientras que los ácidos orgánicos pueden liberarse directamente o bien formarse a través de otras vías de degradación secundarias. La presencia de estos compuestos se relaciona con el aumento de la severidad del tratamiento, en concordancia con el descenso de la cantidad de hemicelulosa recuperada en la fase líquida a condiciones de mayor temperatura.

En este sentido, se observó un descenso acusado del pH del extracto líquido durante los primeros 10 min de tratamiento, pasando de valores iniciales próximos a la neutralidad a valores en torno a 5,5-5,0 en función de la temperatura. A partir de este punto el pH se mantuvo prácticamente constante a lo largo del tratamiento, alcanzándose a los 60 min valores finales comprendidos entre 4,6 (160 °C), 4,3 (175 °C) y 3,4 (190 °C). Este comportamiento refleja que la acidificación del medio se produce principalmente en las etapas iniciales del proceso, asociada a la rápida acumulación de ácidos orgánicos, mientras que el incremento de la temperatura favorece una mayor acidificación final del sistema.

Con el fin de analizar esta relación, en las Fig. 10A y 9B se observa que el incremento en la concentración de ácidos orgánicos con la temperatura del proceso se acompaña de una disminución progresiva del pH del extracto líquido, poniendo de manifiesto la contribución directa de estos compuestos a la acidificación del medio durante el tratamiento hidrotermal.

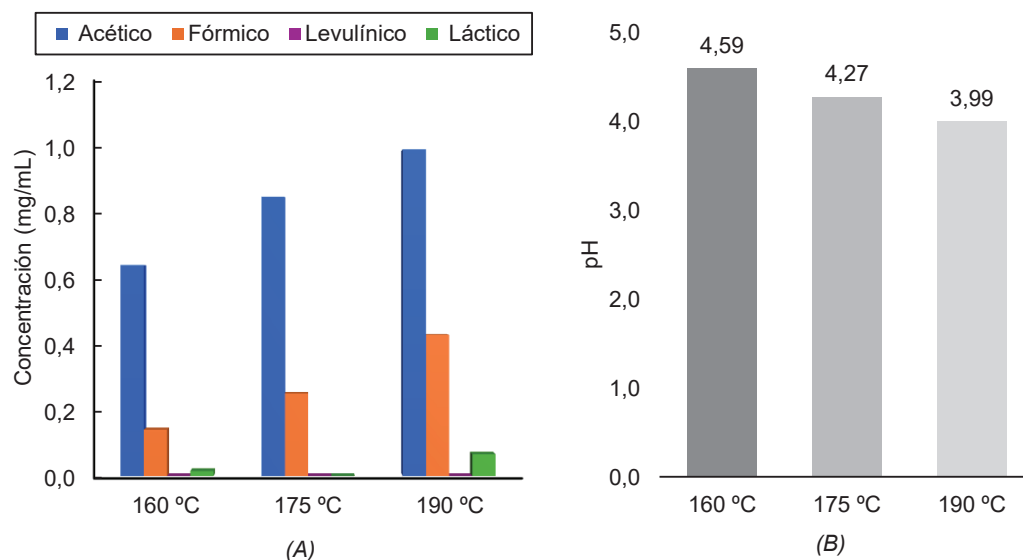


Figura 10. (A) Evolución de la concentración de los principales ácidos orgánicos formados en la fracción líquida durante el tratamiento con subW y (B) pH final de los extractos líquidos, ambos determinados para las condiciones óptimas de operación seleccionadas para cada temperatura (160 °C-60 min, 175 °C-50 min, 190 °C-60 min).

Entre los ácidos analizados, el ácido acético fue el compuesto mayoritario en todas las condiciones estudiadas, mostrando un incremento progresivo con el tiempo de operación y con la temperatura del proceso. A 160 °C, su concentración aumentó de forma gradual a lo largo del tratamiento, mientras que a 175 y 190 °C se alcanzaron valores notablemente superiores, siendo 190 °C la temperatura a la que se registraron las concentraciones más elevadas (1,0 mg/mL). Según Sarker *et al.* [8], las hemicelulosas presentes en biomasa lignocelulósica sometida a tratamientos hidrotermales, en particular los arabinosilanos, contienen grupos acetilo unidos mediante enlaces éster, los cuales se hidrolizan progresivamente, dando lugar a la formación de ácido acético en la fase líquida, lo que explicó el incremento observado en su concentración a temperaturas más elevadas. La liberación de

estos grupos acetilo contribuyó a la acidificación del medio y favoreció la aparición de fenómenos de autohidrólisis, en los que los ácidos generados in situ actuaron como catalizadores de la hidrólisis de la biomasa, promoviendo la despolimerización de los polisacáridos estructurales, tal y como fue descrito en estudios previos [24]. Asimismo, resultados similares fueron reportados por *Benito-Román et al.* [20], quienes observaron que el ácido acético constituyó el principal ácido orgánico generado durante la hidrólisis semicontinua de residuos de piel de cebolla con subW, mostrando también una evolución creciente de su concentración al aumentar la severidad del proceso.

El ácido fórmico y el ácido levulínico se formaron principalmente como consecuencia de la degradación de azúcares C6 derivados de la fracción celulósica. Bajo condiciones hidrotermales, la glucosa se deshidrata formando 5-HMF, el cual puede degradarse posteriormente mediante reacciones de rehidratación, dando lugar simultáneamente a ácido levulínico y ácido fórmico, tal y como se describió en estudios sobre los mecanismos de degradación de azúcares en procesos hidrotermales [25].

El ácido fórmico se detectó en concentraciones inferiores a las del ácido acético, aunque presentó una tendencia similar, con un aumento progresivo al intensificarse las condiciones de operación. A 190 °C, su concentración alcanzó valores claramente más altos que a los registrados a 160 °C, lo que sugiere la contribución de reacciones de degradación más avanzadas de los azúcares solubilizados bajo condiciones de mayor severidad. Resultados similares fueron descritos por *Gao et al.* [26] en estudios de degradación hidrotérmica de celulosa, donde el aumento de la temperatura condujo a mayores rendimientos de ácidos de bajo peso molecular, particularmente ácido fórmico, asociados a reacciones de degradación secundarias bajo condiciones de mayor severidad térmica.

Por su parte, el ácido levulínico se detectó en concentraciones muy bajas en todas las condiciones estudiadas, situándose en el orden de 10^{-2} mg/mL. Su aparición se observó principalmente a las temperaturas más elevadas, lo que indica que, aunque existen rutas de degradación de hexosas, estas no progresan lo suficiente como para favorecer la acumulación significativa de este en el rango de condiciones ensayadas. En los resultados obtenidos por *Čolnik et al.* [16] también mostraron como en las mazorcas de maíz estudiadas este ácido se detectó en concentraciones inferiores al resto de derivados formados, incluso bajo condiciones de operación severas, lo que refuerza que su formación requiere no solo elevada severidad, sino también una disponibilidad suficiente de precursores hexósicos. Finalmente, la concentración de ácido láctico en la fase líquida fue muy baja, siendo prácticamente despreciable a 160 °C, mientras que a 175 y, especialmente, a 190 °C se detectó un incremento progresivo durante el proceso. En este sentido, en el estudio de *Bicker et al.* [27] se describió la formación de ácido láctico a partir de diversos carbohidratos en subW, señalando además que las hexosas presentaron una menor selectividad hacia este producto, lo que respalda la aparición de este compuesto en concentraciones reducidas en el presente trabajo.

Entre los productos de degradación formados, el furfural destacó por su relevancia como indicador del grado de degradación de los carbohidratos solubilizados C5, derivados de la fracción hemicelulósica. Su evolución se analizó en función de la severidad del proceso, tal y como se muestra en la *Fig. 11*.

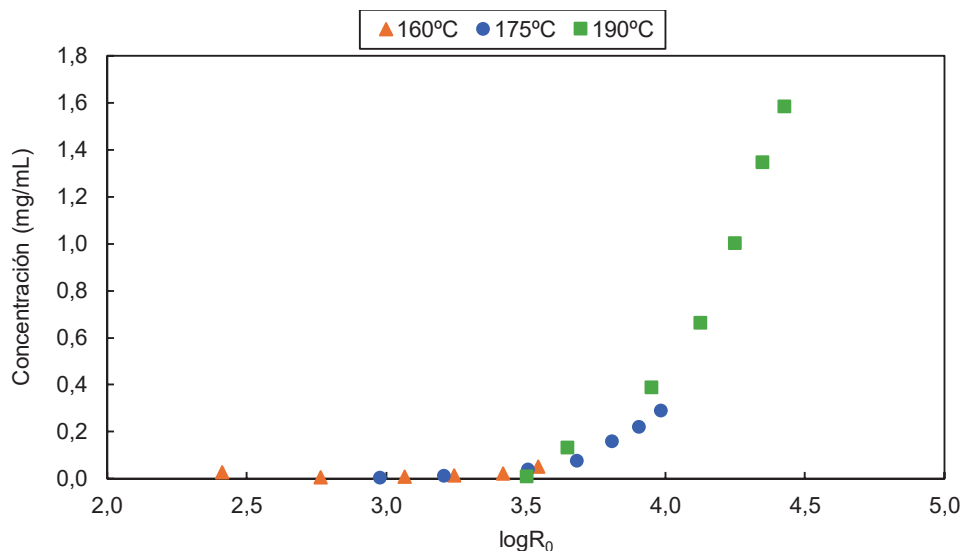


Figura 11. Evolución de la concentración de furfural en la fase líquida en función de $\log R_0$ durante el tratamiento a diferentes temperaturas.

El furfural constituyó el principal producto de degradación detectado en todas las condiciones estudiadas, mostrando un aumento progresivo con el tiempo de operación y la temperatura del proceso. A 160 °C su formación fue limitada, mientras que a 175 °C y especialmente a 190 °C se alcanzaron las concentraciones más elevadas. Este comportamiento fue similar al descrito por *Cheng et al.* [23] en estudios de extracción de hemicelulosa a partir de rastrojo de maíz, donde asociaron el incremento del contenido de furfural con la reducción del rendimiento de la fracción hemicelulósica, lo que concuerda con lo observado en la *Fig. 7* y *Fig. 8*.

En cuanto al 5-HMF, se detectó en concentraciones significativamente inferiores a las del furfural en todo el rango de condiciones ensayadas. A 160 °C, su presencia fue prácticamente despreciable, mientras que a 175 y 190 °C aumentó gradualmente con el tiempo de operación, detectándose una concentración máxima de 0,02 mg/mL a 175 °C a los 60 min, y de 0,2 mg/mL a 190 °C a los 60 min. Esta tendencia también fue observada por *Cheng et al.* [23], quienes reportaron una generación notablemente mayor de furfural frente a 5-HMF bajo condiciones hidrotermales. Este comportamiento resulta esperable, ya que el 5-HMF se produce a partir de la conversión de hexosas mediante etapas intermedias en las que esta puede generarse de forma transitoria sin llegar a acumularse en la fase líquida [28]

Por este motivo, y considerando que el trabajo se centra en la valorización de la fracción hemicelulósica, el furfural se empleó como principal producto representativo de la degradación final de las pentosas solubilizadas.

4.3.3. Distribución de pesos moleculares de las hemicelulosas solubilizadas

En la *Fig. 12* se muestra la distribución global de pesos moleculares (Mw) de los extractos representativos de cada condición estudiada. Los cromatogramas evidenciaron una distribución amplia y multimodal, reflejo de la elevada complejidad de la fracción solubilizada, compuesta por una mezcla de compuestos de bajo, medio y alto Mw. A condiciones de menor severidad (160 °C, 60 min) predominan especies de mayor tamaño, mientras que el aumento de la temperatura y el tiempo de operación provocan un desplazamiento progresivo hacia fracciones de menor tamaño, incluyendo un incremento de especies de muy bajo Mw (<1 kDa), asociadas a la degradación de los oligómeros solubilizados. Este comportamiento ha sido descrito previamente en procesos de extracción con subW de biomasa lignocelulósica rica en hemicelulosa, como en el estudio de *Alonso-Riaño et al.* [18] sobre residuos de malta

cervecera, lo que confirma que se trata de un comportamiento general de las hemicelulosas bajo condiciones hidrotermales de severidad creciente.

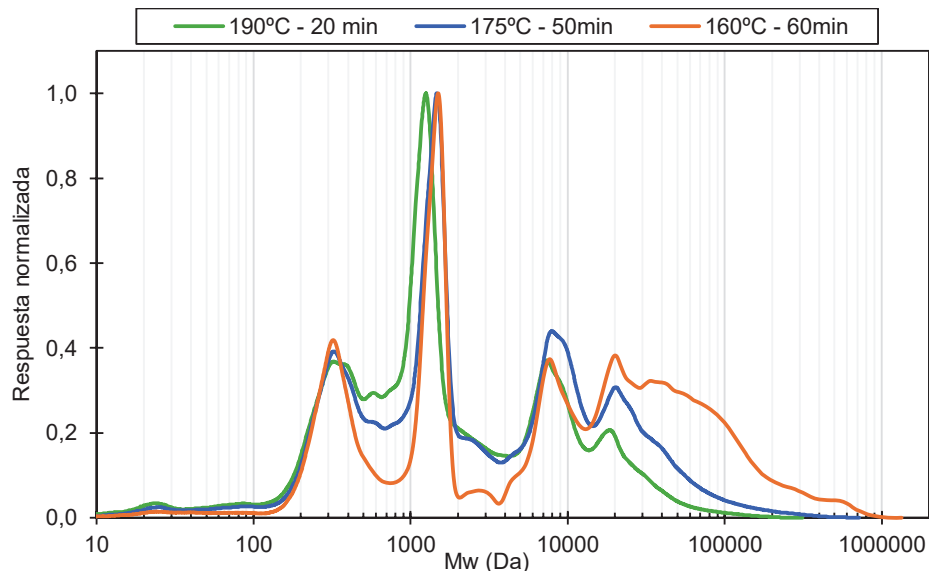


Figura 12. Distribución de Mw obtenida por GPC de los extractos líquidos seleccionados del tratamiento con subW a diferentes condiciones representativas de temperatura y tiempo. Las respuestas se normalizaron respecto a la intensidad máxima para facilitar la comparación entre distribuciones.

Dado el interés funcional como prebióticas de las fracciones oligoméricas de tamaño intermedio, se analizó de forma específica la evolución de la fracción comprendida entre 1 y 5 kDa, representada en la Fig. 13 en función de $\log R_0$. Los resultados mostraron que el contenido relativo de esta fracción aumentó con la severidad del proceso hasta alcanzar un máximo, especialmente a 190 °C, seguido de una ligera estabilización o disminución a valores más elevados de $\log R_0$.

Este comportamiento sugiere la existencia de un compromiso entre la solubilización de la hemicelulosa y la posterior hidrólisis de los oligómeros, de modo que a severidades moderadas se favorece la generación de oligómeros de tamaño intermedio, mientras que a severidades más elevadas estos tienden a degradarse hacia especies de menor Mw.

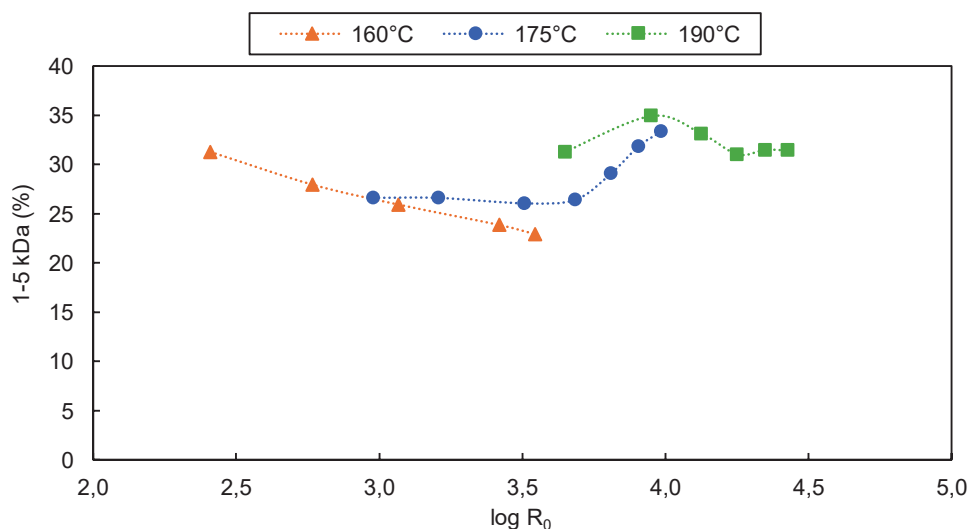


Figura 13. Evolución del contenido relativo de la fracción oligomérica comprendida entre 1-5 kDa en función de $\log(R_0)$ para las distintas temperaturas del tratamiento.

4.3.4. Sólidos disueltos en la fracción líquida

En la *Tabla 3* se recogen los valores de sólidos disueltos determinados en las fracciones líquidas finales obtenidas tras la separación sólido-líquido al finalizar los distintos tratamientos de hidrólisis con subW a 160, 175 y 190 °C. Los resultados se expresaron como concentración de residuo seco (mg/mL), calculada a partir del peso del residuo obtenido tras la evaporación del disolvente.

Tabla 3. Concentración de sólidos disueltos totales en las fracciones líquidas finales obtenidas tras los tratamientos de hidrólisis con agua subW a distintas temperaturas.

T (°C)	Sólidos disueltos totales (mg/mL)
160	11,9 ± 0,7
175	16,8 ± 0,4
190	12,2 ± 0,6

Los valores medios de sólidos disueltos mostraron una clara dependencia con la temperatura de tratamiento. El ensayo realizado a 175 °C presentó la mayor concentración de sólidos disueltos en el extracto final (16,8 ± 0,4 mg/mL), mientras que a 160 °C y 190 °C se obtuvieron valores inferiores. La tendencia observada concuerda con lo descrito en estudios de fraccionamiento de biomasa lignocelulósica mediante subW, en los que se indicó que la temperatura de tratamiento desempeñó un papel determinante en la solubilización de las fracciones lignocelulósicas y en la cantidad de compuestos transferidos a la fase líquida. En este sentido, se ha descrito la existencia de condiciones intermedias de temperatura que maximizan la extracción de compuestos solubles, mientras que a temperaturas más elevadas pueden predominar reacciones de degradación, transformación, repolimerización o incluso gasificación de los compuestos solubilizados reduciendo su presencia en la fase líquida final *Cocero et al.* [24].

4.4. Caracterización de la fracción sólida tras tratamiento subW

La temperatura aplicada durante el tratamiento tuvo un efecto significativo sobre la composición química del sólido obtenido, tal y como se recoge en la *Tabla 1*. En general, el incremento de la temperatura dio lugar a modificaciones significativas en la distribución de las principales fracciones estructurales del material, reflejando una solubilización selectiva de determinados componentes.

En cuanto a los carbohidratos estructurales, se observó una disminución progresiva del contenido de hemicelulosa en el sólido tratado al aumentar la temperatura, siendo especialmente significativa a 190 °C, donde descendió hasta valores cercanos al 4%. Resultados similares han sido descritos en estudios de fraccionamiento de biomasa mediante subW, como el de *Alonso-Riaño et al.* [29], quienes trabajando con bagazo de cervecera, observaron una eliminación preferente de la fracción hemicelulósica asociada a una solubilización mayoritaria de xilanos y arabinanos hacia la fase líquida.

Por el contrario, el contenido de glucanos aumentó progresivamente con la temperatura, alcanzando valores superiores al 56% a 190 °C. Asimismo, el contenido total de lignina en el sólido tratado fue superior al de la materia prima para todas las temperaturas estudiadas, observándose que la fracción de lignina insoluble constituye la mayor parte de la lignina residual. Este enriquecimiento relativo puede atribuirse tanto a la solubilización preferente de los carbohidratos estructurales como a modificaciones estructurales de la lignina inducidas por el tratamiento hidrotermal, favoreciendo reacciones de condensación y un aumento de la fracción insoluble [29].

En cuanto al contenido en cenizas, se observó una disminución en los extractos tratados respecto a la materia prima, manteniéndose valores similares entre las distintas temperaturas ensayadas, lo que indica que la fracción inorgánica no se vio significativamente afectada por el incremento de la temperatura en el rango estudiado.

El **análisis elemental** de la materia prima y de los sólidos residuales obtenidos tras el tratamiento con subW puso de manifiesto una alteración progresiva de la composición química del sólido como consecuencia del tratamiento hidrotérmico. En particular, los resultados recogidos en la *Tabla 1* muestran un enriquecimiento relativo en carbono y una reducción del contenido de oxígeno en los sólidos tratados, siendo estos cambios más acusados a mayores temperaturas. Este comportamiento es coherente con estudios previos sobre conversión térmica e hidrotérmica de biomasa, en los que se ha observado una evolución composicional del sólido asociada al aumento de la severidad del proceso [30]. Estas variaciones reflejan que el tratamiento no solo promueve la solubilización selectiva de determinadas fracciones de la biomasa, sino que también induce una modificación química del sólido residual, asociada a la eliminación preferente de componentes oxigenados y al consiguiente enriquecimiento relativo en carbono.

La evolución de las relaciones atómicas H/C y O/C de la materia prima y de los sólidos residuales obtenidos tras el tratamiento se representa en el diagrama de Van Krevelen (*Fig. 14*), que permite visualizar la dirección y magnitud de los cambios composicionales inducidos por el tratamiento. En dicho diagrama, los sólidos tratados se desplazan hacia valores más bajos de O/C y H/C respecto a la materia prima, evidenciando una transformación sistemática del sólido al aumentar la temperatura del proceso. La disminución de la relación O/C indica una pérdida relativa de oxígeno, mientras que la reducción de H/C sugiere cambios en la naturaleza de los enlaces orgánicos. La trayectoria seguida por las muestras obtenidas en este trabajo muestra que la deshidratación parece ser la principal vía de transformación. Según *Güleç et al.* [30] desplazamientos conjuntos hacia valores menores de H/C y O/C pueden atribuirse principalmente a reacciones de deshidratación o descarboxilación, cuya importancia relativa depende de la severidad del proceso.

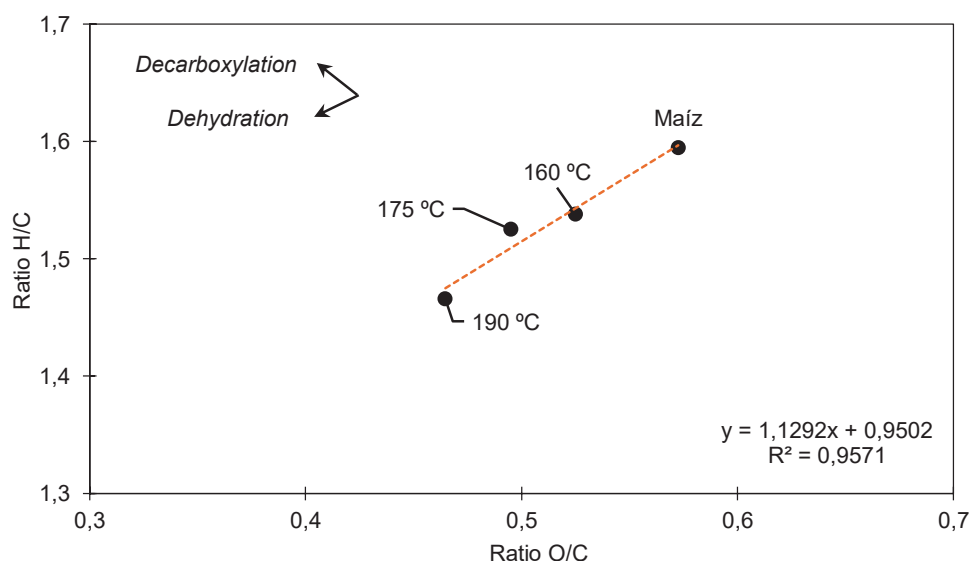


Figura 14. Diagrama de Van Krevelen correspondiente a la materia prima y a los sólidos residuales obtenidos tras el tratamiento hidrotérmico mediante extracción con subW.

Los valores de HHV obtenidos (*Tabla 1*) mostraron un aumento progresivo con la temperatura del proceso, alcanzando el valor máximo para el sólido tratado a 190 °C ($20,9 \pm 0,1$ MJ/kg), lo que se asocia al enriquecimiento relativo en carbono del sólido tras el tratamiento. Valores inferiores de HHV fueron reportados por *Benito-Román et al.* [20] para residuos sólidos obtenidos tras la extracción semicontinua de pectina de cáscara de cebolla con subW ($16,4 \pm 0,2$ MJ/kg). Estas diferencias pueden atribuirse tanto a la naturaleza de la biomasa empleada como a las condiciones del proceso, dado que la cáscara de cebolla presenta una mayor proporción de componentes oxigenados y pécticos, lo que limita el incremento del HHV del sólido.

5. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos y su discusión, se establecen a continuación las principales conclusiones del trabajo:

- a) En este trabajo se ha demostrado el potencial del tratamiento con subW como estrategia de valorización del rastrojo de maíz, permitiendo la solubilización selectiva de la fracción hemicelulósica y la obtención de productos de interés a partir de una biomasa lignocelulósica abundante.
- b) Las condiciones de operación estudiadas influyeron significativamente en la solubilización de la hemicelulosa, observándose un aumento de la liberación de azúcares y oligómeros con la severidad del proceso, lo que permitió seleccionar condiciones óptimas de trabajo, alcanzándose concentraciones máximas de hemicelulosa solubilizada de 4,8 mg/mL a 160 °C (60 min), 8,7 mg/mL a 175 °C (50 min) y 9,0 mg/mL a 190 °C (20 min).
- c) El tratamiento con subW permitió obtener fracciones líquidas ricas en oligómeros de bajo peso molecular (1-5 kDa), asociados en la bibliografía a aplicaciones de mayor valor añadido, especialmente por su potencial interés prebiótico.
- d) El análisis de la fase líquida evidenció la formación de ácido acético, asociado a la desacetilación de la fracción hemicelulósica, así como la generación de furfural como el principal producto de degradación de las pentosas, incrementándose de forma más acusada a condiciones severas y estableciendo un límite operativo para preservar la obtención de oligómeros de interés.
- e) El contenido de sólidos disueltos en las fracciones líquidas finales confirmó la capacidad del tratamiento con subW para promover la solubilización global de los componentes de la biomasa, constituyendo un parámetro representativo del grado de tratamiento alcanzado.
- f) El sólido obtenido tras el tratamiento presentó un enriquecimiento relativo en celulosa como consecuencia de la solubilización selectiva de la fracción hemicelulósica, alcanzándose el mayor grado de enriquecimiento a 175 °C, lo que pone de manifiesto el carácter selectivo del proceso y el potencial del sólido resultante como materia prima para posteriores etapas de valorización.

Considerando de forma conjunta los resultados obtenidos, se identificó la condición de 175 °C y 50 min como la más adecuada para la obtención de fracciones hemicelulósicas de interés en forma oligomérica, al representar un compromiso entre una elevada solubilización de hemicelulosa y la minimización de los fenómenos de degradación. Estas condiciones permitieron maximizar la presencia de oligómeros de bajo Mw (1-5 kDa), limitar la formación de productos de degradación como el furfural y reducir el consumo energético del proceso, alcanzándose un equilibrio óptimo entre rendimiento, calidad del producto y eficiencia del tratamiento.

6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Mirabella N, Castellani V, Sala S. Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. *J Clean Prod.* 2014; 65: 28–41. doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.10.051
- [2] Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Avances de superficies y producciones de cultivos. Abril 2025. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación; 2025. Disponible en: <http://bit.ly/4klYcPw>. Fecha de consulta: enero 2026.
- [3] Miranda MT, García-Mateos R, Arranz JI, Sepúlveda FJ, Romero P, Botet-Jiménez A. Selective use of corn crop residues: energy viability. *Appl Sci.* 2021;11:3284. doi.org/10.3390/app11073284
- [4] Scarlat N, Dallemand J-F, Monforti-Ferrario F, Nita V. The role of biomass and bioenergy in a future bioeconomy: policies and facts. *Environ Dev.* 2015;15: 3–34. doi.org/10.1016/j.envdev.2015.03.006

- [5] Ramírez-Esparza U, Agustín-Chávez MC, Ochoa-Reyes E, Alvarado-González SM, López-Martínez LX, Ascacio-Valdés JA, et al. Recent Advances in the extraction and characterization of bioactive compounds from corn by-products. *Antioxidants*. 2024;13:1142. doi.org/10.3390/antiox13091142
- [6] Pedersen M, Meyer AS. Lignocellulose pretreatment: severity - relating pH to biomatrix opening. *New Biotechnol*. 2010;27(6):739–750. doi.org/10.1016/j.nbt.2010.05.003
- [7] Haq IU, Qaisar K, Nawaz A, Akram F, Mukhtar H, Zohu X, et al. Advances in valorization of lignocellulosic biomass towards energy generation. *Catalysts* 2021;11:309. doi.org/10.3390/catal11030309
- [8] Sarker TR, Pattnaik F, Nanda S, Dalai AK, Meda V, Naik S. Hydrothermal pretreatment technologies for lignocellulosic biomass: a review of steam explosion and subcritical water hydrolysis. *Chemosphere*; 2021;284:131372 doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131372
- [9] Alemdar A, Sain M. Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues - Wheat straw and soy hulls. *Bioresour Technol* 2008; 99: 1664–1671. doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.029
- [10] Zhang Y, Wang H, Sun X, Wang Y, Liu Z. *Separation and characterization of biomass components (cellulose, hemicellulose, and lignin) from corn stalk*. BioResources. 2021;16(4):7205-7219. <http://bit.ly/3O6pyxc>
- [11] Barbosa BM, Vaz S, Colodette JL, de Aguiar AR, Cabral CPT, de Faria BFH, et al. Structural and chemical characterization of lignin and hemicellulose isolated from corn fibers toward agroindustrial residue valorization. *Cellulose* 2022;29:8117–8132. doi.org/10.1007/s10570-022-04769-2
- [12] Valladares-Diestra KK, de Souza Vandenberghe LP, Vieira S, Goyzueta-Mamani LD, de Mattos PBG, Manzoki MC, et al. The potential of xylooligosaccharides as prebiotics and their sustainable production from agro-Industrial by-products. *Foods*; 2023;12:2681. doi.org/10.3390/foods12142681
- [13] de Mello Capetti, de Oliveira Arnoldi Pellegrini V, Espirito Santo MC, Abreu Cortez A, Falvo M, da Silva Curvelo AA, et al. Enzymatic production of xylooligosaccharides from corn cobs: assessment of two different pretreatment strategies. *Carbohydr Polym*. 2023;299:120174. doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120174
- [14] Yan F, Tian S, Du K, Xue X, Gao P, Chen Z. Preparation and nutritional properties of xylooligosaccharide from agricultural and forestry byproducts: a comprehensive review. *Frontiers Nutrition*. 2022;9:977548. doi.org/10.3389/fnut.2022.977548
- [15] Fraguera-Meissimilly H, Bastías-Monte JM, Vergara C, Ortiz-Viedma J, Lemus-Mondaca R, Flores M, et al. New trends in supercritical fluid technology and pressurized liquids for the extraction and recovery of bioactive compounds from agro-industrial and marine food waste. *Molecules* 2023;28:4421. doi.org/10.3390/molecules28114421
- [16] Čolnik M, Irgolič M, Perva A, Škerget M. Hydrolytic decomposition of corncobs to sugars and derivatives using subcritical water. *Processes*. 2025;13(1):267. doi.org/10.3390/pr13010267
- [17] Candela H, Illera AE, Barea P, Ruiz MO, Beltrán S, Sanz M. Optimization of second-generation lactic acid from corn stover by alkaline catalysis in subcritical water reaction medium. *Biofuels, Bioprod Bioref*. 2025;19:1245–1258. doi.org/10.1002/bbb.2785
- [18] Alonso-Riaño P, Ramos C, Trigueros E, Beltrán S, Sanz MT. Study of subcritical water scale-up from laboratory to pilot system for brewer's spent grain valorization. *Ind Crops Prod*. 2023;191:115927. doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115927
- [19] Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter J, Templeton D. Determination of sugars, byproducts, and degradation products in liquid fraction process samples. Laboratory

Analytical Procedure (LAP); Golden (CO): National Renewable Energy Laboratory (NREL); 2008. Report No. NREL/TP-510-42623. Disponible en: <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42623.pdf>. Fecha de consulta: diciembre 2025.

- [20] Benito-Román O, Alonso-Riaño P, Díaz De Cerio E, Sanz MT, Beltrán S. Semi-continuous hydrolysis of onion skin wastes with subcritical water: Pectin recovery and oligomers identification. *J Environ Chem Eng*. 2022;10:107439. doi.org/10.1016/j.jece.2022.107439
- [21] Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter J, Templeton D, Crocker D. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP) Golden (CO): National Renewable Energy Laboratory (NREL); 2008. Report No. NREL/TP-510-42618. Disponible en: <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy13/42618.pdf>. Fecha de consulta: diciembre 2025.
- [22] Rogalinski T, Ingram T, Brunner G. Hydrolysis of lignocellulosic biomass in water under elevated temperatures and pressures. *J Supercrit Fluids*. 2008;47:54–63. doi.org/10.1016/j.supflu.2008.05.003
- [23] Cheng H, Li J, Feng Q, Zhan H, Xie Y. Hot water extraction of corn stover: hemicellulose fraction and its effect on subsequent soda-AQ pulping. *BioResources*. 2014;9(2):2671-2680. Disponible en: <https://bit.ly/4bJbZO6>. Fecha de consulta: enero 2026.
- [24] Cocero MJ, Cabeza Á, Abad N, Adamovic T, Vaquerizo L, Martínez CM, Pazo-Cepeda MV. Understanding biomass fractionation in subcritical & supercritical water. *J Supercrit Fluids*. 2018;133: 550–565. doi.org/10.1016/j.supflu.2017.08.012
- [25] Rasmussen H, Sørensen HR, Meyer AS. Formation of degradation compounds from lignocellulosic biomass in the biorefinery: sugar reaction mechanisms. *Carbohydr Res*. 2014;385:45–57. doi.org/10.1016/j.carres.2013.08.029.
- [26] Gao P, Li G, Yang F, Lv XN, Fan H, Meng L, et al. Preparation of lactic acid, formic acid and acetic acid from cotton cellulose by the alkaline pre-treatment and hydrothermal degradation. *Ind Crops Prod* 2013;48:61–67. doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.002
- [27] Bicker M, Endres S, Ott L, Vogel H. Catalytical conversion of carbohydrates in subcritical water: a new chemical process for lactic acid production. *J Mol Catal A Chem*. 2005;239:151–157. doi.org/10.1016/j.molcata.2005.06.017.
- [28] Atanda L, Konarova M, Ma Q, Mukundan S, Shrotri A, Beltramini J. High yield conversion of cellulosic biomass into 5-hydroxymethylfurfural and a study of the reaction kinetics of cellulose to HMF conversion in a biphasic system. *Catal Sci Technol*. 2016;6:6257–6266. doi.org/10.1039/C6CY00820H.
- [29] Alonso-Riaño P, Amândio MST, Xavier AMRB, et al. Subcritical water as pretreatment technique for bioethanol production from brewer's spent grain within a Biorefinery Concept. *Polymers*. 2022;14(23):5218. doi.org/10.3390/polym14235218
- [30] Güleç F, Samson A, Williams O, Kistas ET, Lester E. Biofuel characteristics of chars produced from rapeseed, whitewood, and seaweed via thermal conversion technologies: Impacts of feedstocks and process conditions. *Fuel Processing Technology*. 2022;238:107492. doi.org/10.1016/j.fuproc.2022.107492.