

BIOMASS AND ENERGY CHARACTERISTICS OF MARALFALFA GRASS (*Cenchrus purpureus* Schumach.) Morrone CULTIVATED IN WARM SUBHUMID CLIMATE TO PRODUCE BIOETHANOL

BIOMASA Y CARACTERÍSTICAS ENERGÉTICAS DEL PASTO MARALFALFA (*Cenchrus purpureus* Schumach.) Morrone CULTIVADO EN CLIMA CÁLIDO SUBHÚMEDO PARA PRODUCIR BIOETANOL

Joel Ventura-Ríos¹, José A. Honorato-Salazar², Mario A. Santiago-Ortega³, Iliana Barrera-Martínez^{4*}

¹Departamento de Producción Animal, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Colonia Buenavista. Saltillo, Coahuila. 25315 México.

²Campo Experimental, San Martinito. km. 56.5, Carretera Federal México-Puebla, Colonia San Martinito, Tlahuapan, Puebla. 74100 México. ³Centro de Desarrollo Tecnológico Tantakin-FIRA, km 4.5, Carretera Tzucacab-Escondido, Tzucacab, Yucatán. 97965 México.

⁴CONACYT-CIATEJ. Camino Arenero 1227, El Bajío. Zapopan, Jalisco. 45019 México (ibarrera@ciatej.mx)

ABSTRACT

Biofuels are a sustainable energy option that can contribute to solve some current environmental problems. For example, it seems imperative to find alternative energy sources; and among them adequate and sustainable raw materials to produce biofuels, such as bioethanol. This study, under the assumption that Maralfalfa grass would be a suitable substrate to produce biofuel, aimed at evaluating the biomass yield, chemical composition, and theoretical bioethanol production of Maralfalfa grass (*C. purpureus* Schumach.) Morrone harvested at three cutting frequencies (CF). Treatments were distributed in a randomized complete blocks design with split-plots arrangement and three replicates. Analysis of variance was done with GLM procedure and means were compared with Tukey test ($p \leq 0.05$). At 120 d, the lignocellulosic material content was the highest ($p \leq 0.05$) with 66% of holocellulose, 30% hemicellulose, 22% lignin, 1.8% acid soluble lignin, 20% acid insoluble lignin, 26% acid insoluble residue, and 6.2% ashes. The highest concentration of extractives compounds was found at 150 d harvest frequency (15.5%; $p \leq 0.05$), while the highest biomass production ($32.6 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$), calorific value (21.0 MJ kg^{-1}), and bioethanol production ($239.9 \text{ L Mg}^{-1} \text{ MS}^{-1}$) was obtained at the 180 d ($p \leq 0.05$). No significant changes were found for crude protein ($p > 0.05$). Results showed that Maralfalfa grass (*C. purpureus* Schumach.) Morrone is an attractive alternative for bioethanol

RESUMEN

Los biocombustibles son una opción energética sostenible que puede contribuir a solucionar algunos problemas ambientales actuales. Por ejemplo, parece imperativo encontrar fuentes de energía alternativas; y entre ellos materias primas adecuadas y sostenibles para producir biocombustibles, como el bioetanol. Este estudio, bajo el supuesto de que el pasto Maralfalfa puede ser un sustrato adecuado para la producción de biocombustible, tuvo como objetivo evaluar el rendimiento de biomasa, la composición química y la producción teórica de bioetanol del pasto Maralfalfa (*C. purpureus* Schumach.) Morrone cosechado en tres frecuencias de corte (CF). Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques completos al azar con un arreglo de parcelas divididas y tres repeticiones. El análisis de varianza se realizó con el procedimiento GLM y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). A los 120 d, el contenido de material lignocelulósico fue el más alto ($p \leq 0.05$) con 66% de holocelulosa, 30% de hemicelulosa, 22% de lignina, 1.8% de lignina soluble en ácido, 20% de lignina insoluble en ácido, 26% de residuo insoluble en ácido y 6.2% de cenizas. La concentración mayor de compuestos extractivos se encontró en la frecuencia de cosecha de 150 d (15.5%; $p \leq 0.05$), mientras que mayor producción de biomasa ($32.6 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$), valor calorífico (21.0 MJ kg^{-1}), y producción de bioetanol ($239.9 \text{ L Mg}^{-1} \text{ MS}^{-1}$) se obtuvieron a los 180 d ($p \leq 0.05$). No se encontraron cambios significativos en proteína cruda ($p > 0.05$). Los resultados mostraron que el pasto Maralfalfa (*C. purpureus* Schumach.) Morrone es una alternativa atractiva para la producción de bioetanol debido a su rendimiento de biomasa alto y composición química en tiempos de cosecha cortos.

* Author for correspondence ♦ Autor para correspondencia.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5391-6299>

Received: September, 2020. Approved: July, 2021.

Published in Agrociencia 55: 389-401. 2021.

production due to high biomass yield and chemical composition at short harvesting times.

Key words: *Cenchrus purpureus*, lignocellulosic characterization, calorific value, bioethanol, cutting frequency.

INTRODUCTION

The need for cleaner energies has incentivized governments around the world to increase the production of biofuels. In 2018, the world biofuel production increased by 9.7%, the greatest increment since 2008. Liquid biofuels from lignocellulosic biomass, such as agricultural and forestry waste and grasses have the potential to be used as substitutes or complement of gasoline (Rengsirikul *et al.*, 2013). The world fuel ethanol production in 2018 was 52.6 billion Mg 2202.256 billion MJ (RFA, 2019), of which USA and Brazil are the largest producers, followed by the European Union and China (OECD/FAO, 2019; RFA, 2019). In order to be competitive and replace fossil fuels, they must be affordable. Feedstock can account for up to 75% of the total cost of bioethanol production, depending on the type of biomass material used to produce it (Brown *et al.*, 2020). Bioethanol is produced from maize (60%), sugar cane (25%), molasses (7%) wheat (4%), and from other grains, cassava or sugar beets (OECD/FAO, 2019), materials considered as first generation sources (Mohammed *et al.*, 2015).

The use of these materials has raised ethical concerns since its usage as feedstock for biofuel production has caused shortages and has increased the cost of materials which are important crops for human food (Mohammed *et al.*, 2015). An alternative is the use of second generation lignocellulosic materials, such as C_4 Gramineae, which contain 40% cellulose, 35% hemicelluloses, and 30% lignin. To make sugars available for bioethanol production through fermentation, a pretreatment is required to remove lignin, followed by a saccharification step to hydrolyze cellulose and hemicelluloses into fermentable sugars (Wongwatanapaiboon *et al.*, 2012).

In Mexico, varieties of *Cenchrus purpureus* (Schum.) Morrone (previously *Pennisetum purpureum*) were introduced in tropical and subtropical regions. This genus is originally from

Palabras clave: *Cenchrus purpureus*, caracterización lignocelulósica, valor calorífico, bioetanol, frecuencia de corte.

INTRODUCCIÓN

La necesidad de energías más limpias ha incentivado a los gobiernos de todo el mundo a aumentar la producción de biocombustibles. En 2018, la producción mundial de biocombustibles aumentó en un 9.7%, el mayor incremento desde 2008. Los biocombustibles líquidos de biomasa lignocelulósica, como los desechos agrícolas y forestales y las gramíneas, tienen el potencial de utilizarse como sustitutos o complementos de la gasolina (Rengsirikul *et al.*, 2013). La producción mundial de etanol combustible en 2018 fue 52.6 mil millones de Mg, equivalentes a 2202.256 mil millones de MJ (RFA, 2019), de los cuales EE.UU. y Brasil son los mayores productores, seguidos por la Unión Europea y China (OCDE/FAO, 2019; RFA, 2019).

Para ser competitivos y reemplazar los combustibles fósiles por biocombustibles, éstos deben ser accesibles. La materia prima puede representar hasta el 75% del costo total de producción de bioetanol, con dependencia del tipo de material de biomasa utilizado para producirlo (Brown *et al.*, 2020). El bioetanol se produce a partir del maíz (60%), caña de azúcar (25%), melaza (7%), trigo (4%) y de otros cereales, mandioca o remolacha azucarera (OCDE/FAO, 2019), materiales considerados como fuentes de primera generación (Mohammed *et al.*, 2015).

El uso de estos materiales ha planteado preocupaciones éticas, ya que su uso como materia prima para la producción de biocombustibles ha provocado escasez y ha aumentado el costo de los materiales, que son cultivos importantes para la alimentación de humanos (Mohammed *et al.*, 2015). Una alternativa es el uso de materiales lignocelulósicos de segunda generación, como las gramíneas C_4 , que contienen 40% de celulosa, 35% de hemicelulosas y 30% de lignina. Para que los azúcares estén disponibles para la producción de bioetanol a través de la fermentación, se requiere un pretratamiento para eliminar la lignina, seguido de una sacarificación para hidrolizar la celulosa y las hemicelulosas en azúcares fermentables (Wongwatanapaiboon *et al.*, 2012).

En México, se introdujeron variedades de *Cenchrus purpureus* (Schumach.) Morrone (antes nombrada *Pennisetum purpureum*) en regiones tropicales

tropical zones in Africa and it is used as animal feed. However, it can be a good source of sugars to produce second generation bioethanol due higher dry matter yields (51 Mg DM ha⁻¹) (Rengsirikul *et al.*, 2013) and chemical composition (46% cellulose and 28% hemicellulose) (Lima *et al.*, 2014). In Mexico, there are few studies with grass biomass at different harvesting frequencies as feedstock to produce biofuels. Therefore, under the assumption that Maralfalfa grass would be a suitable substrate to produce biofuel, the aim of this research study was to evaluate the biomass yield, chemical composition, and theoretical bioethanol production of Maralfalfa grass (*C. purpureus* Schumach.) Morrone harvested at three cutting frequencies (CF).

MATERIALS AND METHODS

Study area

The biomass yield was evaluated at the “Papaloapan” Experimental Site of the INIFAP, at 18° 06' N and 95° 31' W, altitude 65 m, in Cd. Isla, Veracruz, with A_{wo} climate and average temperature of 25.7 °C. The soil is orthic acrisol, sandy loam, with a pH between 4.0 and 4.7, with low organic matter, nitrogen, calcium, or potassium, and medium to high phosphorus and magnesium content. The physicochemical determinations of the dry matter (DM) were done at the Laboratorio de materiales lignocelulósicos under Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), at San Martinito, Puebla, and the Instituto Mexicano del Petróleo, with the exception of N content, which was done at Laboratorio de fertilidad y química ambiental under Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo. Variables evaluated were biomass yield, calorific value, water content, extractives compounds, holocellulose, cellulose, hemicellulose, crude protein, Klason lignin, acid soluble lignin, acid insoluble lignin, acid insoluble residue, and ashes.

Plots of Maralfalfa grass

Sowing was made on July 22, 2011, in rows separated by 0.50 m, in 5 x 16 m experimental plots, with three replicates. Two fertilizations were applied at 43 and 112 d after sowing, using the formula: 120-80-00 kg ha⁻¹ N and P₂O₅.

Biomass yield

Biomass accumulation was determined per area unit for each CF 120, 150, and 180 days after the homogenization cut (dahc),

y subtropicales. Este género es originario de zonas tropicales de África y se utiliza como alimento para animales. Sin embargo, puede ser una buena fuente de azúcares para producir bioetanol de segunda generación debido a rendimientos mayores de materia seca (51 Mg DM ha⁻¹) (Rengsirikul *et al.*, 2013) y composición química (46% celulosa y 28% hemicelulosa) (Lima *et al.*, 2014). En México, son pocos los estudios sobre la aplicación de biomasa de gramíneas en diferentes frecuencias de recolección como materia prima para producir biocombustibles. Por lo tanto, bajo el supuesto de que el pasto Maralfalfa sería un sustrato adecuado para producir biocombustible, el objetivo de esta investigación fue evaluar el rendimiento de biomasa, la composición química y la producción teórica de bioetanol del pasto Maralfalfa (*C. purpureus* Schumach.) Morrone cosechado en tres frecuencias de corte (CF).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El rendimiento de biomasa se evaluó en el Sitio Experimental “Papaloapan” del INIFAP, a 18° 06' N y 95° 31' O, altitud 65 m, en Cd. Isla, Veracruz, con clima A_{wo} y temperatura promedio de 25.7 °C. El suelo es acrisol órtico, franco arenoso, con un pH entre 4.0 y 4.7, con contenido bajo de materia orgánica, nitrógeno, calcio o potasio, y contenido medio a alto de fósforo y magnesio.

Las determinaciones físicoquímicas de la materia seca (DM) se realizaron en el Laboratorio de materiales lignocelulósicos del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), en San Martinito, Puebla, y el Instituto Mexicano del Petróleo, con excepción del contenido de N, que se realizó en el Laboratorio de fertilidad y química ambiental del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Las variables evaluadas fueron rendimiento de biomasa, valor calorífico, contenido de agua, compuestos extractivos, holocelulosa, celulosa, hemicelulosa, proteína cruda, lignina Klason, lignina soluble en ácido, lignina insoluble en ácido, residuo insoluble en ácido y cenizas.

Parcelas de pasto Maralfalfa

La siembra se realizó en julio 22, 2011, en surcos separados por 0.50 m en parcelas experimentales de 5 x 16 m, con tres repeticiones. Dos fertilizaciones se aplicaron a los 43 y 112 d después de la siembra; se utilizó la fórmula: 120-80-00 kg ha⁻¹ N y P₂O₅.

with destructive samplings for a year. In each plot, a 1 m² metal frame was randomly tossed on five occasions and the plants were cut off completely. The remaining plants were left to recover to a height of 20 cm. The collected biomass was weighed (Ohaus, Mod. GT-4000). Subsequently, the fresh weight of a sub-sample was registered, and the sub-sample dried in an oven (Felisa, Mod. FE-243A) at 55 °C until reaching constant weight, and DM was determined.

Sample preparation for analyses

The dried samples were ground in a mill (Wiley) and sifted with No. 40 (0.42 - 1.00 mm) and No. 60 (0.25 - 0.42 mm) sieves. Then, the chemical variables and calorific value were determined.

Lignocellulosic characterization

The TAPPI T-204 standard was used for the release of extractives compounds. The holocellulose content was measured using the acid chlorination method, whereas cellulose content was determined by the ASTM D1103 standard procedure. Hemicellulose content was obtained after extracting cellulose content from holocellulose. The amount of acid soluble lignin (ASL), acid insoluble lignin (AIL), and acid insoluble residue (AIR) were obtained according to Sluiter *et al.* (2012). The sum of ASL and AIL constitutes the Klason lignin of the biomass. Six determinations were done for each cutting frequency and two replicates per sample.

Crude protein (CP)

The CP concentration was measured by the semi-micro-Kjeldahl method (N x 6.25). Six determinations were done for each cutting frequency, two replicates per sample.

Calorific value

The calorific value was determined in an adiabatic pump calorimeter (Isoperibol, Parr 1266), according to the ASTM E711 standard, at 30±0.5 °C with 1 g maximum compressed pellets (ASTM, 2012). The water content (%) was determined using an Ohaus MB45 thermal scale. Five determinations were done per sample and 15 replicates were analyzed per CF.

Theoretical bioethanol yield

The theoretical bioethanol yield (TBY) (equation 3) was determined with the formulas of Badger (2002) and Dien

Rendimiento de biomasa

La acumulación de biomasa se determinó por unidad de área para cada CF 120, 150 y 180 días después del corte de homogeneización (dahc), con muestreos destructivos durante un año. En cada parcela, se arrojó al azar un marco de metal de 1 m² en cinco ocasiones y las plantas se cortaron por completo. Las plantas restantes se dejaron hasta recuperar una altura de 20 cm. La biomasa colectada se pesó (Ohaus, Mod. GT-4000). Después, el peso fresco de una submuestra se registró y la submuestra se secó en un horno (Felisa, Mod. FE-243A) a 55 °C, hasta alcanzar un peso constante y se determinó la DM.

Preparación de muestras para los análisis

Las muestras secas se molieron en un molino (Wiley) y se pasaron por tamices No. 40 (0.42 - 1.00 mm) y No. 60 (0.25 - 0.42 mm). Luego, se determinaron las variables químicas y el valor calorífico.

Caracterización lignocelulósica

El procedimiento estándar TAPPI T-204 se utilizó para la liberación de compuestos extractivos. El contenido de holocelulosa se midió por el método de cloración ácida, mientras que el contenido de celulosa se determinó con el procedimiento estándar ASTM D1103. El contenido de hemicelulosas se obtuvo después de restar el contenido de celulosa extraída de la holocelulosa. Se obtuvieron las cantidades de lignina soluble en ácido (ASL), lignina insoluble en ácido (AIL) y residuo insoluble en ácido (AIR), de acuerdo con Sluiter *et al.* (2012). La suma de ASL y AIL constituye la lignina Klason de la biomasa. Seis determinaciones se realizaron para cada frecuencia de corte y dos repeticiones por muestra.

Proteína cruda (CP)

La concentración de CP se midió con el método semi-micro-Kjeldahl (N x 6.25). Seis determinaciones se realizaron por cada frecuencia de corte, con dos repeticiones por muestra.

Valor calorífico

El valor calorífico se determinó con un calorímetro de bomba adiabática (Isoperibol, Parr 1266), de acuerdo con la norma ASTM E711, a 30±0.5 °C con 1 g de pellets comprimidos como máximo (ASTM, 2012). El contenido de agua (%) se determinó usando una báscula térmica Ohaus MB45. Cinco determinaciones se realizaron por muestra y se analizaron 15 repeticiones por CF.

(2010). The formulas included hydrolysis, chemical and stoichiometry reactions of transformation of cellulose (equation 1) and hemicelluloses (equation 2) into ethanol:

Cellulose

$$TYB_C = C \times C_{glc} \times E_{CC} \times R_{et} \times E_{fg} \times D_{et} \quad (1)$$

Hemicellulose

$$TYB_H = H \times H_{xlb} \times E_{CH} \times R_{et} \times E_{fx} \times D_{et} \quad (2)$$

Total

$$TYB = TYB_C + TYB_H \quad (3)$$

where:

TYB : $LMg^{-1} MS$; C : $kg_{cellulose} Mg^{-1} Mg^{-1} biomass$; H : $kg_{hemicellulose} Mg^{-1} biomass$; C_{glc} : glucose concentration ($1.111 kg_{glucose} kg_{cellulose}^{-1}$); C_{hlc} : concentration of xilose ($1.136 kg_{xilose} kg_{hemicellulose}^{-1}$); E_{cc} : cellulose conversion efficiency (0.76); E_{ch} : hemicelluloses conversion efficiency (0.90); TYB : ethanol stoichiometric yield ($0.511 kg_{ethanol} kg_{xilose}^{-1}$); E_{fg} : glucose fermentative efficiency (0.75); E_{fx} : xilose fermentative efficiency (0.50); D_{et} : ethanol density ($0.78 Mg m^{-3}$).

Where: TYB_C is the theoretical ethanol yield of cellulose ($LMg^{-1} DM^{-1}$) and TYB_H is the theoretical ethanol yield of hemicellulose ($LMg^{-1} DM^{-1}$).

The theoretical production of bioethanol (L) was calculated for 1 ha of Maralfalfa grass at each CF, multiplied TBY by annual biomass yield.

Experimental design and statistical analysis

The experimental design was randomized complete blocks with a split-plot arrangement, the large plot was the genotype and the small plot was the CF (120, 150, and 180 d) with three replicates. Analysis of variance (ANOVA) was done with the GLM procedure and the means were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$). The effect of CF was estimated by the data analysis with SAS v. 9.3 for Windows® (SAS Institute, Inc., 2011).

Rendimiento teórico de bioetanol

El rendimiento teórico de bioetanol (TBY) (ecuación 3) se determinó con las fórmulas de Badger (2002) y Dien (2010). Las fórmulas incluyeron reacciones de hidrólisis, químicas y estequiométricas de transformación de celulosa (ecuación 1) y hemicelulosa (ecuación 2) en etanol:

Celulosa

$$TYB_C = C \times C_{glc} \times E_{CC} \times R_{et} \times E_{fg} \times D_{et} \quad (1)$$

Hemicelulosa

$$TYB_H = H \times H_{xlb} \times E_{CH} \times R_{et} \times E_{fx} \times D_{et} \quad (2)$$

Total

$$TYB = TYB_C + TYB_H \quad (3)$$

donde:

TYB : $LMg^{-1} MS$; C : $kg_{cellulose} Mg^{-1} Mg^{-1} biomass$; H : $kg_{hemicellulose} Mg^{-1} biomass$; C_{glc} : glucose concentration ($1.111 kg_{glucose} kg_{cellulose}^{-1}$); C_{hlc} : concentration de xilose ($1.136 kg_{xilose} kg_{hemicellulose}^{-1}$); E_{cc} : cellulose conversion efficiency (0.76); E_{ch} : hemicelluloses conversion efficiency (0.90); TYB : ethanol stoichiometri yield ($0.511 kg_{ethanol} kg_{xilose}^{-1}$); E_{fg} : glucose fermentative efficiency (0.75); E_{fx} : xilose fermentative efficiency (0.50); D_{et} : ethanol density ($0.78 Mg m^{-3}$).

Donde: TYB_C es el rendimiento teórico de etanol de la celulosa ($LMg^{-1} DM^{-1}$) y TYB_H es el rendimiento teórico de etanol de la hemicelulosa ($LMg^{-1} DM^{-1}$).

La producción teórica de bioetanol (L) se calculó por 1 ha de pasto Maralfalfa en cada CF, con TBY multiplicado por el rendimiento de biomasa anual.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue de bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas; la parcela grande fue el genotipo y la parcela pequeña fue la CF (120, 150 y 180 d) con tres re-

RESULTS AND DISCUSION

Biomass yield

Annual biomass production linearly increased as the number of days to the cutting increased. Biomass production (Megagrams) at 180 d was 32.6 Mg DM ha⁻¹, and it was statistically different ($p \leq 0.05$) to the other CF. It was 25 and 43% respectively higher than those obtained at 120 and 150 d. Between the values at 120 d CF (26.1 Mg DM ha⁻¹) and 150 d (22.8 Mg DM ha⁻¹) there was not ($p > 0.05$) statistical difference (Table 1). Rengsirikul *et al.* (2013) reported 15.4 Mg DM ha⁻¹ of biomass for *P. purpureum* at 240 d, a yield lower than the one obtained in this research. All these grasses are considered a good feedstock for bioenergy, for their higher sugar content and biomass yield (Weijde *et al.*, 2013).

peticiones. El análisis de varianza (ANDEVA) se realizó con el procedimiento GLM y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). El efecto de CF se estimó a partir del análisis de los datos con SAS v. 9.3 para Windows™ (SAS Institute, Inc., 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento de biomasa

La producción anual de biomasa aumentó en forma lineal a medida que aumentaba el número de días hasta el corte. La producción de biomasa (Megagramos) a los 180 d fue de 32.6 Mg DM ha⁻¹, y diferente ($p \leq 0.05$) al resto de CF; superior en 25 y 43% respectivamente, a la biomasa que se obtuvo a los 120 y 150 d. Entre los valores a los 120 d de CF (26.1 Mg DM ha⁻¹) y 150 d (22.8 Mg DM ha⁻¹)

Table 1. Biomass yield, energy value, lignocellulosic characterization, and bioethanol production of *C. purpureus* (Schumach.) Morrone cv. Maralfalfa grass at three cutting frequencies.

Cuadro 1. Rendimiento de biomasa, valor energético, caracterización lignocelulósica y producción de bioetanol de *C. purpureus* (Schumach.) Morrone cv. Hierba Maralfalfa en tres frecuencias de corte.

Variables	Cutting frequency (d)				SE
	120	150	180	Overall Mean	
Biomass yield (Mg ha ⁻¹ y ⁻¹)	26.19 b	22.88 b [†]	32.66 a	27.24	2.87
Energy value:					
Calorific value (MJ kg ⁻¹)	16.77 b	17.15 b	21.01 a	18.31	1.35
Energy production (GJ ha ⁻¹ y ⁻¹)	439.20 b	392.39 b	686.18 a	505.92	91.13
Water content (%)	7.45 a	7.58 a	7.26 a	7.43	0.09
Lignocellulosic components [‡] (%)					
Extractives compounds	11.96 bc	15.58 a	12.55 b	13.36	1.12
Holocellulose	66.31 ab	60.67 c	64.62 b	63.86	1.67
Cellulose	38.56 ab	34.93 b	35.43 ab	36.30	1.13
Hemicellulose	30.00 a	25.83 c	29.91 ab	28.58	1.37
Crude protein	5.0 a	3.27 a	3.36 a	3.87	0.56
Klason lignin	22.01 a	17.61 c	18.13 b	19.25	1.38
Acid soluble lignin	1.79 a	1.42 b	1.41 b	1.54	0.125
Acid insoluble lignin	20.21 a	16.18 c	16.77 b	17.72	1.25
Acid insoluble residue	26.44 a	22.40 c	22.99 b	23.94	1.25
Ashes	6.26 a	5.27 b	4.76 c	5.43	0.44
Bioethanol production:					
L Mg ⁻¹ DM ⁻¹	246.5 a	229.0 a	239.9 a	238.46	5.10
L ha ⁻¹ y ⁻¹	5030.4 b	4292.4 b	6858.2 a	5393.70	762.63

SE: standard error. Different letters show differences per cutting frequency (Tukey; $p \leq 0.05$). [†]Two cuttings at 150 d.

[‡]Values-based on the weight of moisture-free and extractives-free. [‡] SE: error estándar. Letras diferentes indican diferencias por frecuencia de corte (Tukey; $p \leq 0.05$). [†]Dos cortes a los 150 d. [‡]Valores basados en el peso de productos sin agua y sin extractos.

In the last decade, the United States of America and Europe showed interest in Switchgrass and Miscanthus, but their biomass yields are lower than the *Cenchrus* genus. Rocha *et al.* (2017) found yields between 11.53 and 41.37 Mg DM ha⁻¹ of *P. purpureum*. Nevertheless, the biomass yield of Maralfalfa variety and other genotypes of *Cenchrus* genus is related to production and weather conditions.

Calorific value and humidity content

The calorific value per mass unit evaluates the available energy in the biomass. High concentrations of water content in the biomass decreases the efficiency of the combustion system since most of the liberated heat is used to evaporate water. The water content was similar ($p > 0.05$) at different harvest frequencies (Table 1). The energy content was greater at the harvest frequency of 180 d (21.0 MJ kg⁻¹ DM) and different from ($p \leq 0.05$) the other CF. There was no significant difference ($p > 0.05$) between the CF at 120 d (16.7 MJ kg⁻¹ DM) and 150 d (17.1 MJ kg⁻¹ DM) (Table 1). Tumuluru (2015) reported 17.4 to 18.7 MJ kg⁻¹ DM and 17.3 to 17.8 MJ kg⁻¹ DM for Switchgrass and corn stover, respectively. Those results were similar to the value at 150 d.

The caloric values obtained in this research were higher than the reported by Mohammed *et al.* (2015) in Napier grass (*P. purpureum*), which were 18.1, 16.2, and 16.5 MJ kg⁻¹ DM in leaves, stems, and whole plant, respectively. Rocha *et al.* (2017) found values from 17.9 to 18.3 MJ kg⁻¹ DM for *P. purpureum* and the results of Marafon *et al.* (2020) research were 16.3 to 17.2 MJ kg⁻¹ DM for 16 genotypes of *C. purpureus*, similar values were obtained in this study. Other calorific values reported for hardwoods and softwoods biomass were 5.6 to 23.4 MJ kg⁻¹ DM, respectively (Nhuchhen and Salam, 2012); these values are similar to the harvest frequency at 180 d. The highest annual energy production (686.1 Gigajoules; GJ) per hectare for Maralfalfa grass was achieved with 180 d CF (two cuttings per year) (Table 1). This result was higher than the reported by Santiago *et al.* (2016) who obtained yields of 466.6 GJ ha⁻¹ y⁻¹ in Toledo grass (*Urochloa brizantha*).

Extractive compounds

Extractive compounds are natural products that surround the cell wall. They are responsible for

no hubo ($p > 0.05$) diferencia estadística (Cuadro 1). Rengsirikul *et al.* (2013) estimaron 15.4 Mg DM ha⁻¹ de biomasa para *P. purpureum* a los 240 d, un rendimiento menor al obtenido en este estudio. Todos estos pastos se consideran una buena materia prima para la producción de bioenergía, por su contenido alto de azúcares y rendimiento mayor de biomasa (Weijde *et al.*, 2013).

En la última década, Estados Unidos y Europa mostraron interés en Switchgrass y Miscanthus, pero sus rendimientos de biomasa fueron más bajos que los del género *Cenchrus*. Rocha *et al.* (2017) encontraron rendimientos entre 11.53 y 41.37 Mg DM ha⁻¹ de *P. purpureum*. Sin embargo, el rendimiento de biomasa de la variedad Maralfalfa y otros genotipos del género *Cenchrus* se relaciona con la producción y las condiciones climáticas.

Valor calorífico y contenido de humedad.

El valor calorífico por unidad de masa evalúa la energía disponible en la biomasa. Las concentraciones altas de contenido de agua en la biomasa disminuyen la eficiencia del sistema de combustión, ya que la mayor parte del calor liberado se utiliza para evaporar el agua. El contenido de agua fue similar ($p > 0.05$) en las frecuencias de cosecha diferentes (Cuadro 1). El contenido energético fue mayor en la frecuencia de cosecha de 180 d (21.0 MJ kg⁻¹ DM) y diferente de ($p \leq 0.05$) los otros CF. No hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) entre la CF a los 120 d (16.7 MJ kg⁻¹ DM) y 150 d (17.1 MJ kg⁻¹ DM) (Cuadro 1). Tumuluru (2015) consignó 17.4 a 18.7 MJ kg⁻¹ DM y 17.3 a 17.8 MJ kg⁻¹ DM para Switchgrass y rastrojo de maíz, respectivamente. Esos resultados fueron similares al valor registrado a los 150 d.

Los valores calóricos obtenidos en esta investigación fueron superiores a los encontrados por Mohammed *et al.* (2015) en el pasto Napier (*P. purpureum*), 18.1, 16.2 y 16.5 MJ kg⁻¹ DM en hojas, tallos y planta entera, respectivamente. Rocha *et al.* (2017) encontraron valores de 17.9 a 18.3 MJ kg⁻¹ DM en *P. purpureum* y los resultados del estudio de Marafon *et al.* (2020) fueron 16.3 a 17.2 MJ kg⁻¹ DM para 16 genotipos de *C. purpureus*; valores similares se obtuvieron en este estudio. Algunos valores caloríficos reportados para la biomasa de coníferas y latifoliadas fueron de 5.6 a 23.4 MJ kg⁻¹ DM, respectivamente (Nhuchhen y Salam, 2012); estos valores son similares a la frecuencia de cosecha a los 180 d. La pro-

color, odor, and wilt resistance in plants. Before characterizing the lignocellulosic biomass, it is necessary to remove these compounds to avoid interference with others analytical determinations. They are easily eliminated with inert solvents like acetone, a benzene-ethanol solution, cold water, and ether. In this study, the highest extractives compounds content was at the CF of 150 d (15.5%), which was different from ($p \leq 0.05$) and greater than the other harvest frequencies with 11.9 and 12.5% at 120 and 180 d after sowing, respectively (Table 1). In other studies, the values reported were 11.8 and 12.3% for Toledo grass (*U. brizantha*), and Napier grass (*P. purpureum*), respectively (Mohammed *et al.*, 2015; Santiago *et al.*, 2016). The mean in this study was higher than the reported by Santiago *et al.* (2016).

Holocellulose

The holocellulose is the combination of cellulose and hemicellulose and the Gramineae species contain between 68 to 73% (Santiago *et al.*, 2016). The holocellulose concentration in this research showed differences ($p \leq 0.05$) regarding CF (Table 1), the values were between 60.6 and 66.3% (150 and 120 d). In other studies, Rengsirikul *et al.* (2013) reported 67.4% holocellulose for Taiwan grass (*P. purpureum*), similar value to the 120 d of CF. However, the holocellulose concentration obtained in this study was lower than the one estimated by Rocha *et al.* (2017) for *C. purpureus* (67.4 - 69.7%). Santiago *et al.* (2016) measured 73.6% de holocellulose at CF of 180 d in Toledo grass, which was higher than the value obtained at 120 d frequency (66.3%). Other holocellulose values in C4 gramineae were: 62.4% (*P. purpureum* cv. Napier) (Mohammed *et al.*, 2015) and 67.8% (*Megathyrsus maximus*) (Lima *et al.*, 2014).

Cellulose

The highest cellulose content was found at the CF of 120 d (38.5%), although the difference was not significant ($p > 0.05$) from the others CF (Table 1). In other studies the cellulose content of C4 grasses was determined for bioenergetic purposes, for instance Napier grass (*P. purpureum*) 36.3%; *Brachiaria ruziziensis* and *B. brizantha* 34.5% and 45.3%, respectively; Toledo (*U. brizantha*) 42.1%; *P. purpureum* 40.2 to 42.6%; *C. purpureus* 36% (Mohammed *et al.*, 2015; Santiago *et al.*, 2016;

ducción anual mayor de energía (686.1 Gigajulios; GJ) por hectárea para el pasto Maralfalfa se logró con CF a 180 d (dos cortes por año) (Cuadro 1). Este resultado fue superior al de Santiago *et al.* (2016), quienes obtuvieron rendimientos de 466.6 GJ ha⁻¹ y⁻¹ en pasto Toledo (*Urochloa brizantha*).

Compuestos extractivos

Los compuestos extractivos son productos naturales que rodean la pared celular. Y son responsables del color, el olor y la resistencia al marchitamiento en las plantas. Antes de caracterizar la biomasa lignocelulósica es necesario eliminar estos compuestos para evitar interferencias con otras determinaciones analíticas. Estos compuestos se eliminan fácilmente con solventes inertes como la acetona, una solución de benceno-etanol, agua fría y éter. En este estudio, el contenido mayor de compuestos extractivos estuvo en el CF de 150 d (15.5%), el cual fue diferente de ($p \leq 0.05$) y mayor que las otras frecuencias de cosecha con 11.9 y 12.5% a los 120 y 180 d después de la siembra, respectivamente (Cuadro 1). En otros estudios, los valores calculados fueron 11.8 y 12.3% en pasto Toledo (*U. brizantha*) y pasto Napier (*P. purpureum*), respectivamente (Mohammed *et al.*, 2015; Santiago *et al.*, 2016). La media de este estudio fue superior a la obtenida por Santiago *et al.* (2016).

Holocelulosa

La holocelulosa es la combinación de celulosa y hemicelulosa y las especies de Gramineae contienen entre 68 a 73% (Santiago *et al.*, 2016). La concentración de holocelulosa en esta investigación mostró diferencias ($p \leq 0.05$) respecto a la CF (Cuadro 1); los valores estuvieron entre 60.6 y 66.3% (150 y 120 d). En otros estudios, Rengsirikul *et al.* (2013) determinaron 67.4% de holocelulosa en el pasto Taiwán (*P. purpureum*), valor similar a los 120 d de CF. Sin embargo, la concentración de holocelulosa obtenida en este estudio fue menor que la calculada por Rocha *et al.* (2017) para *C. purpureus* (67.4 - 69.7%). Santiago *et al.* (2016) encontraron 73.6% de holocelulosa a CF de 180 d en pasto Toledo, el cual fue superior al valor obtenido en la frecuencia de 120 d (66.3%). Los valores de holocelulosa obtenidos en otras gramineas C4 fueron: 62.4% (*P. purpureum* cv. Napier) (Mohammed *et al.*, 2015) y 67.8% (*Megathyrsus maximus*) (Lima *et al.*, 2014).

Rocha *et al.*, 2017; Marafon *et al.*, 2020). The chemical composition of the plants is variable and related with the species. Moreover, the phenological state is modified by the climate conditions and the planting season. The mean of cellulose concentration in this study was 36.3%, which is similar to the values reported by Mohammed *et al.* (2015), and Marafon *et al.* (2020). However, the cellulose amount in these grasses were lower than the concentration reported by Lima *et al.* (2014), and Santiago *et al.* (2016) in grasses of the *Urochloa* genus.

Hemicelluloses

Hemicelluloses constitute 21 to 50% of the biomass in Gramineae species (Mohammed *et al.*, 2015). These polymers are mostly made up of pentoses and hexoses that can be hydrolyzed into simple sugars like xylose, arabinose, galactose, glucose, and mannose. The highest hemicelluloses concentration was found at 120 d of CF (30.0%). It was statistically different ($p \leq 0.05$) and higher than the 150 d of CF (25.8%), which was the lowest hemicellulose concentration (Table 1). In tropical grasses, other hemicellulose concentration values were 19.6 to 36% (Rengsirikul *et al.*, 2013; Lima *et al.*, 2014; Mohammed *et al.*, 2015; Santiago *et al.*, 2016; Rocha *et al.*, 2017; Marafon *et al.*, 2020). In our study, the mean of hemicellulose concentration was 28.5%, which is similar to that 28% reported by Lima *et al.* (2014) in *Panicum maximum*.

Crude protein

It is necessary to evaluate the protein content since high values of this compound limit the bioconversion of sugars into bioethanol. Crude protein forms bonds with ferulic acid and increases the resistance and insolubility of the whole structure. In our study, the highest CP concentration was 5.0% at 120 d, which was not different ($p > 0.05$) from the other cutting frequencies; however, there was a concentration decrease from 5.0 to 3.2% at 120 and 150 d of CF, respectively (Table 1).

The CP content in this study was lower than others previously reported. Some studies on tropical grasses showed that the CP concentration decreased as the cutting frequency increased. For example, Santiago *et al.* (2016) respectively reported 8.2, 4.8

Celulosa

El contenido mayor de celulosa se encontró en la CF a 120 d (38.5%), aunque la diferencia no fue significativa ($p > 0.05$) de las otras CF (Cuadro 1). En otros estudios, el contenido de celulosa de las gramíneas C4 se determinó con fines bioenergéticos, por ejemplo, pasto Napier (*P. purpureum*) 36.3%; *Brachiaria ruziziensis* y *B. brizantha* 34.5% y 45.3%, respectivamente; Toledo (*U. brizantha*) 42.1%; *P. purpureum* de 40.2 a 42.6%; *C. purpureus* 36% (Mohammed *et al.*, 2015; Santiago *et al.*, 2016; Rocha *et al.*, 2017; Marafon *et al.*, 2020). La composición química de las plantas es variable y relacionada con la especie. Además, el estado fenológico se ve modificado por las condiciones climáticas y la época de siembra. La media de concentración de celulosa en este estudio fue de 36.3%, lo cual es similar a los valores calculados por Mohammed *et al.* (2015) y Marafon *et al.* (2020). Sin embargo, la cantidad de celulosa en estos pastos fue menor que la concentración obtenida por Lima *et al.* (2014) y Santiago *et al.* (2016) en gramíneas del género *Urochloa*.

Hemicelulosas

Las hemicelulosas constituyen del 21 al 50% de la biomasa en las especies de gramíneas (Mohammed *et al.*, 2015). Estos polímeros se componen principalmente de pentosas y hexosas que pueden hidrolizarse en azúcares simples como xilosa, arabinosa, galactosa, glucosa y manosa. La concentración más alta de hemicelulosas se encontró a CF 120 d (30.0%); mostró diferencia estadística ($p \leq 0.05$) y fue mayor que la obtenida en CF 150 d (25.8%), en dicha CF la concentración de hemicelulosa fue menor (Cuadro 1). En gramíneas tropicales, otros valores de concentración de hemicelulosa fueron de 19.6 a 36% (Rengsirikul *et al.*, 2013; Lima *et al.*, 2014; Mohammed *et al.*, 2015; Santiago *et al.*, 2016; Rocha *et al.*, 2017; Marafon *et al.*, 2020). En nuestro estudio, la concentración media de hemicelulosa fue 28.5%, similar al 28% documentado por Lima *et al.* (2014) en *Panicum maximum*.

Proteína cruda

El contenido de proteína se debe evaluar porque valores altos de este compuesto limitan la biocon-

and 2.4% at 30, 60 and 150 d. In our study, the mean of CP concentration was 3.8%, which is lower than the average of values reported by Santiago *et al.* (2016).

Klason lignin, acid soluble lignin, acid insoluble lignin, and acid insoluble residue

The differences in lignin concentration were significant ($p \leq 0.05$) for all CF (Table 1). The highest Klason lignin content was obtained at the 120 d CF (22.2%), followed by 18.1 and 17.6%, at 180 and 150 d CF. Some studies reported lignin concentration of 22.8 and 24.3% for *P. purpureum* and 28% for *Miscanthus* sp, (Zhang *et al.*, 2012; Lima *et al.*, 2014; Mohammed *et al.*, 2015). The harvest frequency of 120 d showed a higher content ($p \leq 0.05$) of acid soluble lignin (1.79%) and acid insoluble lignin (20.2%) than the other harvest frequencies (Table 1).

In a study on Marafalfa grass, Mateus *et al.* (2012) reported 0.13% acid soluble lignin and 16.3% acid insoluble lignin and these results are lower than those found in our study. The lignin content depends on physical maturity and is correlated with harvest frequency and phenological state of the plant. The acid insoluble residue was different ($p \leq 0.05$) and greater at 120 d CF (26.4%) than at 150 and 180 d, which respectively showed 22.4 and 22.9% content.

Ashes

The ash content decreased with grass maturity and changed ($p \leq 0.05$) between cutting frequencies (Table 1). The maximum content (6.2%) was found at the frequency 120 d, while the lower contents (5.2 and 4.7%) corresponded to 150 and 180 d CF. Ash content is variable: 6.06 to 8.34% for *P. purpureum* (Rocha *et al.*, 2017); 2.21 to 6.71% for 16 genotypes of *C. purpureus* (Marafon *et al.*, 2020); 2.5% for Marafalfa (*Pennisetum glaucum* x *Pennisetum purpureum*); 3.8% and 8.9% for Switchgrass (Mateus *et al.*, 2012; Nhuchhen and Salam, 2012).

The average ash content in our study was 5.4%, lower than (6.8%) reported by Rocha *et al.* (2017), and Nhuchhen and Salam (2012); but higher than (4.8%) the value reported by Marafon *et al.* (2020). The content of inorganic material depends on the species, growth conditions and cutting age, and it is higher at the earlier stages of cultivation (Rengsirikul *et al.*, 2013). Ashes (ash, silica, and potassium) reduces

versión de azúcares en bioetanol. La proteína forma enlaces con el ácido ferúlico y aumenta la resistencia e insolubilidad de toda la estructura. En nuestro estudio, la concentración más alta de CP fue de 5.0% a los 120 d, que no fue diferente ($p > 0.05$) de las otras frecuencias de corte; sin embargo, hubo una disminución de la concentración de 5.0 a 3.2% a los 120 y 150 d de CF, respectivamente (Cuadro 1).

El contenido de CP en este estudio fue menor que otros valores documentados en estudios previos. Algunos estudios sobre pastos tropicales mostraron que la concentración de CP disminuía a medida que aumentaba la frecuencia de corte. Por ejemplo, Santiago *et al.* (2016) calcularon respectivamente 8.2, 4.8 y 2.4% a los 30, 60 y 150 d. En nuestro estudio, la media de concentración de CP fue de 3.8%, valor que es menor que el valor medio registrado por Santiago *et al.* (2016).

Lignina Klason, lignina soluble en ácido, lignina insoluble en ácido y residuo insoluble en ácido

Las diferencias en la concentración de lignina fueron significativas ($p \leq 0.05$) para todos los CF (Cuadro 1). El contenido mayor de lignina de Klason se obtuvo a los 120 d CF (22.2%), seguido por 18.1 y 17.6%, a 180 y 150 d CF. Algunos estudios consignaron concentración de lignina de 22.8 y 24.3% en *P. purpureum* y 28% en *Miscanthus* sp, (Zhang *et al.*, 2012; Lima *et al.*, 2014; Mohammed *et al.*, 2015). La frecuencia de cosecha de 120 d mostró un contenido mayor ($p \leq 0.05$) de lignina soluble en ácido (1.79%) y lignina insoluble en ácido (20.2%) que las otras frecuencias de cosecha (Cuadro 1).

En un estudio sobre pasto Marafalfa, Mateus *et al.* (2012) determinaron 0.13% de lignina soluble en ácido y 16.3% de lignina insoluble en ácido, resultados que son más bajos que los encontrados en nuestro estudio. El contenido de lignina depende de la madurez física y se correlaciona con la frecuencia de cosecha y el estado fenológico de la planta. El residuo insoluble en ácido fue diferente ($p \leq 0.05$) y mayor a los 120 d CF (26.4%) que en los 150 y 180 d, los cuales mostraron respectivamente un contenido de 22.4 y 22.9%.

Cenizas

El contenido de ceniza disminuyó con la madurez del pasto y cambió ($p \leq 0.05$) entre las frecuencias de

the energetic value of the feedstock (Nhuchhen and Salam, 2012).

Theoretical bioethanol yield

Based on the saccharification and fermentation of sugars, the theoretical maximum yield of bioethanol is 0.51 kg and 0.49 kg carbon dioxide per kg of glucose or xylose (Badger, 2002; Wongwatanapaiboon *et al.*, 2012). In order to obtain bioethanol, yeasts are used as the fermentation agent. One of the most used yeasts is *Saccharomyces cerevisiae*, which transforms sugars from biomass or lignocellulosic residues into ethanol. However, native *S. cerevisiae* does not metabolize 5-carbon sugars like xylose. Moreover, to achieve an economically feasible ethanol production process, it is necessary to have a microorganism that metabolizes carbohydrates from the pentose family (Barrera *et al.* 2016). Therefore, it is not possible to reach a 100% transformation of sugars.

Based on the formulas proposed by Badger (2002) and Dien (2010), the highest theoretical bioethanol yield was 246.5 L Mg⁻¹ DM⁻¹ at 120 d, which was similar ($p > 0.05$) to the yields at 180 (239.9 L Mg⁻¹ DM⁻¹) and at 150 d (229 L Mg⁻¹ DM⁻¹) (Table 1). The annual bioethanol yield is directly related with the production of harvested biomass, and in our study, the highest yield ($p \leq 0.05$) was found at 180 d (6858.2 L ha⁻¹ y⁻¹), which was 60 and 36% higher than the yields at 150 and 120 d CF.

In other studies with C4 grasses for bioenergetic purposes, estimated yields were respectively 6231, 6922, 7865, 6718 and 6331 L ha⁻¹ y⁻¹ for *Brachiaria brizanta*, *B. ruziziensis*, *Urochloa brizanta*, *Panicum maximum* and *P. purpureum* (Lima *et al.*, 2014; Wongwatanapaiboon *et al.*, 2012; Santiago *et al.*, 2016; Wongwatanapaiboon *et al.*, 2012). While the highest bioethanol yield in our study was 6858.2 L ha⁻¹ y⁻¹, with a mean of 5393 L ha⁻¹ y⁻¹. Thus, these values are similar to those results obtained in other studies with tropical grasses.

CONCLUSIONS

Maralfalfa grass biomass which provided the best substrate, glucose, and xylose per area unit for bioethanol production and combustion capacity was obtained at 180 d of cutting frequency. In earlier ages, the plants contained greater proportions of crude protein, inorganic elements, water content,

corte (Cuadro 1). El contenido máximo (6.2%) se encontró en la frecuencia de 120 d, mientras que los contenidos menores (5.2 y 4.7%) correspondieron a 150 y 180 d CF. El contenido de cenizas es variable: 6.06 a 8.34% en *P. purpureum* (Rocha *et al.*, 2017); 2.21 a 6.71% en 16 genotipos de *C. purpureus* (Marafon *et al.*, 2020); 2.5% en Maralfalfa (*Pennisetum glaucum* x *Pennisetum purpureum*); o 3.8% y 8.9% en Switchgrass (Mateus *et al.*, 2012; Nhuchhen y Salam, 2012).

El contenido medio de cenizas en nuestro estudio fue del 5.4%, inferior al (6,8%) informado por Rocha *et al.* (2017) y Nhuchhen y Salam (2012); pero superior al (4.8%) informado por Marafon *et al.* (2020). El contenido de material inorgánico depende de la especie, las condiciones de crecimiento y la edad de corte, y es mayor en las primeras etapas del cultivo (Rengsirikul *et al.*, 2013). Las cenizas (cenizas, sílice y potasio) reducen el valor energético de la materia prima (Nhuchhen y Salam, 2012).

Rendimiento teórico de bioetanol

Con base en la sacarificación y fermentación de azúcares, el rendimiento máximo teórico de bioetanol es de 0.51 kg y 0.49 kg de dióxido de carbono por kg de glucosa o xilosa (Badger, 2002; Wongwatanapaiboon *et al.*, 2012) Para obtener bioetanol, se utilizan levaduras como agente de fermentación. Una de las levaduras más utilizadas es *Saccharomyces cerevisiae*, que transforma azúcares de biomasa o residuos lignocelulósicos en etanol. Sin embargo, la *S. cerevisiae* nativa no metaboliza azúcares de 5 carbonos como la xilosa. Además, para lograr un proceso de producción de etanol económicamente factible, es necesario contar con un microorganismo que metabolice los carbohidratos de la familia de las pentosas (Barrera *et al.* 2016). Por lo tanto, no es posible alcanzar el 100% de transformación de los azúcares.

Con base en las fórmulas propuestas por Badger (2002) y Dien (2010), el rendimiento teórico de bioetanol mayor fue 246.5 L Mg⁻¹ DM⁻¹ a los 120 d, que fue similar ($p > 0.05$) a los rendimientos a 180 (239.9 L Mg⁻¹ DM⁻¹) y 150 d (229 L Mg⁻¹ DM⁻¹) (Cuadro 1). El rendimiento anual de bioetanol se relaciona en manera directa con la producción de biomasa cosechada, y en nuestro estudio, el rendimiento mayor ($p \leq 0.05$) se encontró a los 180 d (6858.2 L ha⁻¹ y⁻¹), el cual fue 60 y 36% mayor que los rendimientos a 150 y 120 d CF.

and fixed carbon. All these compounds decreased as the phenological stage of the plants increased.}

The theoretical bioethanol yield indicated that Maralfalfa grass would be a suitable option for biofuel production. But in order to achieve this, a microorganism capable of metabolizing 5-carbon carbohydrates should be obtained. Biomass yield and chemical composition of Maralfalfa grass were the better features as a potential alternative to obtain bioethanol in tropical areas.

LITERATURE CITED

- ASTM (American Society for Testing and Materials). 2012. Biological effects and environmental fate; biotechnology. In: Annual Book of ASTM Standards. Vol. 11.06. ASTM International (ed), West Conshohocken, PA, USA. 1461 p.
- Badger, P. C. 2002. Ethanol from cellulose: a general review. Trends in new crops and new uses. 1: 17-21.
- Barrera, I., Amezcua, M., Estupiñán, L., T. Martínez, and J. Aburto. 2016. Technical and economical evaluation of bioethanol production from lignocellulosic residues in Mexico: Case of sugarcane and Blue Agave bagasses. Chem. Eng. Res. Design. 107: 91-101.
- Brown, A., L. Waldheim, I. Landälv, J. Saddler, M. Ebadian, J. D. McMillan, A. Bonomi, and B. Klein. 2020. Advanced Biofuels – Potential for Cost Reduction. Bioenergy Technology Cooperation Programme, Task 41. IEA Bioenergy. 87 p.
- Dien, B. S. 2010. Mass balances and analytical methods for biomass pre-treatment experiments. In: Vertès, A. A., N. Qureshi, H. Blaschek, and H. Yukawa (eds). Biomass to biofuels: strategies for global industries. Wiley, Chichester, United Kingdom. pp: 213-231.
- Lima, M. A., Gomez, D. L., Steele-King, G. C., Simister, R., Bernardinelli, D., Carvalho, M. A., Rezende, A. C., Labate, C. A., R de Azevedo, E., S. J. McQueen-Mason, and I. Polikarpov. 2014. Evaluating the composition and processing potential of novel sources of Brazilian biomass for sustainable biorenewables production. Biotechnol. biofuels. 7: 1-19.
- Mateus, L., O. Hernández, M. Velázquez, and J. De J. Díaz. 2012. Dilute sulfuric acid pretreatment of goliath grass (*Pennisetum glaucum* x *Pennisetum purpureum*) for ethanol cellulosic. Rev. Colomb. Biotechnol. 14: 146-156.
- Marafon, A. C. C., A. F. Amaral, C. Machado, J. Carneiro, N. A. Bierhals, and V. S. Guimaraes. 2020. Elephant grass biomass attributes for bioenergetic applications compared to other feedstocks. SSRN: <https://ssrn.com/abstract=3598084> (Retrieved: September 2020).
- 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.
- Nhuchhen, D. R., and P. A. Salam. 2012. Estimation of higher heating value of biomass from proximate analysis: A new approach. Fuel. 99:55-63.
- En otros estudios con gramíneas C4 para fines bioenergéticos, los rendimientos estimados fueron respectivamente 6231, 6922, 7865, 6718 y 6331 L ha⁻¹ y⁻¹ para *Brachiaria brizanta*, *B. ruziziensis*, *Urochloa brizanta*, *Panicum maximum* y *P. purpureum* (Lima *et al.*, 2014; Wongwatanapaiboon *et al.*, 2012; Santiago *et al.*, 2016; Wongwatanapaiboon *et al.*, 2012). Mientras que el mayor rendimiento de bioetanol en nuestro estudio fue de 6858.2 L ha⁻¹ y⁻¹, con promedio de 5393 L ha⁻¹ y⁻¹. De modo que dichos valores son similares a los resultados obtenidos en otros estudios con gramíneas tropicales.

CONCLUSIONES

La biomasa de pasto Maralfalfa que proporcionó el mejor sustrato, glucosa y xilosa por unidad de área para la producción de bioetanol y la capacidad de combustión se obtuvo a los 180 d de frecuencia de corte. En edades anteriores, las plantas contenían proporciones mayores de proteína cruda, elementos inorgánicos, contenido de agua y carbono fijado. Todos estos compuestos disminuyeron a medida que aumentaba la etapa fenológica de las plantas.

El rendimiento teórico de bioetanol indicó que el pasto Maralfalfa puede ser una opción adecuada para la producción de biocombustible. Pero para lograr esto, se debería obtener un microorganismo capaz de metabolizar penta carbohidratos (5-carbono). El rendimiento de biomasa y la composición química del pasto Maralfalfa fueron las cualidades mejores como alternativa potencial para la obtención de bioetanol en áreas tropicales.

—Fin de la versión en Español—

-----*

OECD/FAO (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos/ Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2019. OECD-FAO Agricultural Outlook 2019-2028, OECD Publishing, Paris/Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Italy. 321 p. DOI: 10.1787/agr_outlook-2019-en

- Rengsirikul, K., Ishii, Y., Kangvansaichol, K., Prapa, S., Punsuvon, V., Vaithanomsat, P., G. Nakamane, and T. Sayan T. 2013. Biomass yield, chemical composition and potential ethanol yields of 8 cultivars of napiergrass (*Pennisetum purpureum* Schumach.) harvested 3-monthly in central Thailand. J. Sustain. Bioenergy Syst. 3:107-112.
- RFA (Renewable Fuels Association). 2019. 2019 Ethanol Industry Outlook. Renewable Fuels Association. USA, p: 32. <https://ethanolrfa.org/wp-content/uploads/2019/02/RFA2019Outlook.pdf>. (Retrieved: June 2020).
- Rocha, J. R. A., S. C. Machado, J. C., Carneiro, S. P. C., Carneiro, C. J., Resende, V. M. D., S. F. J. Ledo, and S. J. E. Carneiro. 2017. Bioenergetic potential and genetic diversity of elephant grass via morpho-agronomic and biomass quality traits. Ind. Crops Prod. 95: 485 – 492.
- Santiago, O. M., A. Honorato S. J., A. Quero C., R. Hernández G. A., C. C. López, and G. I. López. 2016. Biomasa de *U. brizantha* cv. Toledo como materia prima para la producción de bioetanol. Agrobiencia. 50: 711-726.
- SAS Institute, Inc. 2011. Statistical Analysis System. SAS/STAT v.9.0. User's Guide. Cary, N. C. USA. 5136 p.
- Tumuluru, S. J. 2015. Comparison of chemical composition and energy property of torrefied Switchgrass and corn stover. Front. Energy Res. 3:1-11.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., J. Sluiter, and D. Crocker. 2012. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP). Technical Report NREL/TP-510-42618. National Renewable Energy Laboratory, U.S. Department of Energy, Colorado USA. 17 p.
- Weijde, T. V. D., Alvim Kamei, C. L., Torres, A. F., Vermerris, W., Dolstra, O., R. G. F. Visser, and L. M. Trindade. 2013. The potential of C4 grasses for cellulosic biofuel production. Plant Sci. J. 4: 1-18.
- Wongwatanapaiboon, J., Kangvansaichol, K., Burapatana, V., Inochanon, R., Winayanuwattikun, P., T. Yongvanich, and W. Chulalaksananukul. 2012. The potential of cellulosic ethanol production from grasses in Thailand. J. Biomed. Biotech. 2012: 1-10.
- Zhang, T., C. Wyman, K. Jakob, and B. Yang. 2012. Rapid selection and identification of Miscanthus genotypes with enhanced glucan and xylan yields from hydrothermal pretreatment followed by enzymatic hydrolysis. Biotechnol. Biofuels 5:1-14.

